

# PENUNTUN PRAKTIKUM EMBRIOLOGI PERBANDINGAN

Untuk mendukung kelancaran pelaksanaan kurikulum yang baru ini maka perlunya ditingkatkan sarana dan prasana, antara lain melengkapi modul-modul yang berisi kuliah pakar, maupun buku penuntun praktikum dari tiap blok yang berjalan, dengan tujuan agar mempermudah para mahasiswa Kedokteran ataupun bidang ilmu lain, khususnya yang mempelajari tentang Reproduksi dan Embriologi. Sarana dalam bentuk buku cetak tersebut juga diharapkan dapat membantu perkembangan ilmu yang terus meningkat, sehingga pembelajaran dapat dilakukan dimana saja, atau yang dikenal dengan istilah library without wall.

Dengan adanya Penuntun Praktikum Embriologi Perbandingan yang terkait dengan blok yang sedang berjalan yaitu Blok Reproduksi dan Embriologi, diharapkan akan sangat membantu kelancaran berjalannya praktikum yang menggunakan sediaan atau preparat kering dari beberapa jenis hewan, antara lain, sediaan whitefish, sediaan ayam, dan sediaan tikus yang mewakili golongan mamalia.

Tentunya sangat diharapkan oleh penulis bahwa buku ini tidak saja dapat dimanfaatkan oleh mahasiswa fakultas kedokteran saja, namun bagi siapapun yang ingin mengetahui apa yang terjadi di dalam perkembangan sel-sel tubuh kita, baik pada saat sehat maupun dalam keadaan sakit.

Tentunya buku Penuntun Praktikum Embriologi Perbandingan ini masih jauh dari sempurna. Saran dan kritikan pembaca sangat diharapkan untuk dapat memperbaiki dan menyempurnakan buku ini.

PENUNTUN PRAKTIKUM EMBRIOLOGI PERBANDINGAN

Rina Priastini Susilowati, Dr., Dra., MKes, dkk.



# PENUNTUN PRAKTIKUM EMBRIOLOGI PERBANDINGAN

Rina Priastini Susilowati, Dr., Dra., MKes  
Budiman Hartono, dr., MPKed  
Adit Widodo Santoso, Ssi



# **PENUNTUN PRAKTIKUM EMBRIOLOGI PERBANDINGAN**

**Rina Priastini Susilowati, Dr., Dra., MKes  
Budiman Hartono, dr., MPKed  
Adit Widodo Santoso, SSi**



**PT. PENA PERSADA KERTA UTAMA**

**PENUNTUN PRAKTIKUM  
EMBRIOLOGI PERBANDINGAN**

**Penulis:**

Rina Priastini Susilowati, Dr., Dra., Mkes, dkk

**Editor :**

Sugiarsih, Amd

**ISBN:** 978-634-204-357-8

**Design Cover:**

Yanu Fariska Dewi

**Layout:**

Hasnah Aulia

**PT. Pena Persada Kerta Utama**

**Redaksi:**

Jl. Gerilya No. 292 Purwokerto Selatan, Kab. Banyumas  
Jawa Tengah.

Email: penerbit.penapersada@gmail.com

Website: penapersada.id. Phone: (0281) 7771388

**Anggota IKAPI: 178/JTE/2019**

All right reserved

Cetakan pertama: 2 Maret 2025

Hak cipta dilindungi oleh undang-undang. Dilarang  
memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan cara apapun tanpa izin  
penerbit

## **SEKAPUR SIRIH**

Sejak tahun 2004, pemerintah telah menggunakan kurikulum baru untuk Fakultas Kedokteran yang disebut dengan Kurikulum Berbasis Kompetensi yang disingkat dengan nama KBK berdasarkan SK Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi no. 1348/DT/2004. Peraturan yang dikeluarkan dituangkan dalam buku Paradigma Baru Pendidikan Dokter dan Buku Panduan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional Republik Indonesia pada bulan Februari 2005.

Untuk mendukung kelancaran pelaksanaan kurikulum yang baru ini maka perlunya ditingkatkan sarana dan prasana, antara lain melengkapi modul-modul yang berisi kuliah pakar, maupun buku penuntun praktikum dari tiap blok yang berjalan, dengan tujuan agar mempermudah para mahasiswa Kedokteran ataupun bidang ilmu lain, khususnya yang mempelajari tentang Reproduksi dan Embriologi. Sarana dalam bentuk buku cetak tersebut juga diharapkan dapat membantu perkembangan ilmu yang terus meningkat, sehingga pembelajaran dapat dilakukan dimana saja, atau yang dikenal dengan istilah *library without wall*.

Dengan adanya Penuntun Praktikum Embriologi Perbandingan yang terkait dengan blok yang sedang berjalan yaitu Blok Reproduksi dan Embriologi, diharapkan akan sangat membantu kelancaran berjalannya praktikum yang menggunakan sediaan atau preparat kering dari beberapa jenis hewan, antara lain, sediaan whitefish, sediaan ayam, dan sediaan tikus yang mewakili golongan mamalia.

Tentunya sangat diharapkan oleh penulis bahwa buku ini tidak saja dapat dimanfaatkan oleh mahasiswa fakultas kedokteran saja, namun bagi siapapun yang ingin mengetahui apa yang terjadi di dalam perkembangan sel-sel tubuh kita, baik pada saat sehat maupun dalam keadaan sakit.

Tentunya buku Penuntun Praktikum Embriologi Perbandingan ini masih jauh dari sempurna. Saran dan kritikan pembaca sangat diharapkan untuk dapat memperbaiki dan menyempurnakan buku ini.

Semoga buku ini dapat bermanfaat dan membantu meningkatkan prestasi pembaca serta menambah wawasan perkembangan ilmu Biologi Sel yang terus mengalami perbaikan dan penemuan baru. Kiranya Tuhan memberkati usaha-usaha kita dalam memajukan pengetahuan akan

reproduksi dan perkembangan embrio, serta aplikasinya dalam kehidupan kita sehari-hari.

Jakarta, Akir Februari 2025

Penulis

## DAFTAR ISI

SEKAPUR SIRIH .....	iii
DAFTAR ISI.....	v
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
A. Sejarah Embriologi.....	1
B. Siklus Kehidupan.....	3
C. Embriologi Perbandingan.....	5
D. Penamaan Lapisan Germinal dan Organ Awal .....	7
E. Empat Prinsip Karl Ernst Von Baer .....	9
F. Perkembangan Embrio Ayam.....	12
BAB 2 GAMETOGENESIS .....	17
A. Ciri Umum Sel Germinal .....	19
B. Organ Reproduksi Betina .....	22
C. Perkembangan Folikel Ovarium Katak.....	23
D. Oogenesis .....	24
E. Organ Reproduksi Jantan .....	29
F. Spermatogenesis .....	33
G. Struktur Spermatozoa .....	37
BAB 3 FERTILISASI (PEMBUAHAN) .....	51
A. Struktur Gamet.....	52
B. Telur Yang Tidak Dibuahi ( <i>Unfertilized EGGS</i> ) .....	65
C. Telur Yang Dibuahi ( <i>Fertilized EGGS</i> ).....	65
D. Fertilisasi Eksterna.....	74
BAB 4 PERKEMBANGAN AWAL EMBRIO VERTEBRATA .....	78
A. <i>Cleavage</i> .....	78
B. Tahap Awal Segmentasi: <i>Cleavage</i> .....	80

C. Blastula .....	84
D. Gastrula .....	90
BAB 5 PERKEMBANGAN AWAL EMBRIO AYAM .....	98
A. Telur Ayam Dan Pembentukannya .....	101
B. Tahapan Awal Embrio .....	102
C. Organ Indera .....	159
REFERENSI .....	187

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### A. Sejarah Embriologi

**Embriologi** merupakan bagian dari kajian biologi perkembangan. **Biologi perkembangan** adalah ilmu yang mempelajari tentang perubahan progresif struktur dan fungsi tubuh dalam hidup makhluk hidup. Sedangkan embriologi adalah studi mengenai **embrio** dengan penekanan kepada pola-pola perkembangan embrio. Untuk membedakan pemahaman kita tentang embriologi dengan embriologi perkembangan, lebih lanjut akan diuraikan beberapa pemikiran dan pendapat ahli embriologi.

Sadler (2012) mengilustrasikan embriologi dengan sebuah contoh adanya perubahan sebuah **sel** menjadi **fetus** saat masih dalam kandungan ibu, yaitu suatu proses yang menggambarkan bahwa telah terjadi suatu fenomena besar dan kompleks, yang selanjutnya disebut dengan fenomena ini dengan embriologi. Pada proses ini termasuk juga kajian tentang aspek-aspek molekuler, seluler, dan struktural yang saling berkontribusi untuk membentuk **organisme**.

Dalam banyak hal, sejarah embriologi ayam adalah sejarah embriologi itu sendiri karena aksesibilitas ayam yang besar yang menjadikannya favorit untuk dipelajari. Semua kemajuan dan penemuan besar dalam perkembangan ayam memiliki relevansi dengan vertebrata lainnya, termasuk mamalia, dan beberapa telah membawa perubahan dramatis dalam pemahaman yang mendasar tentang perkembangan itu sendiri. Needham [1934], Oppenheimer [1955], Mayer [1939], dan Horder *et al.* [1986] telah menjelaskan tentang pertumbuhan dan proses yang terlibat pada berbagai spesies, terutama pada embriologi ayam.

Selama beberapa abad, banyak ilmuwan yang cukup penasaran untuk membuka telur yang dierami dan mencatat temuannya. Pada abad ke-17, seorang dokter dan ahli anatomi Inggris bernama William Harvey menyatakan teorinya berdasarnya temuannya yaitu tentang pembentukan dan fungsi jantung, serta terjadinya sirkulasi pada perkembangan ayam di

dalam telur. Harvey membuka telur ayam pada berbagai masa inkubasi dan mengamati dengan lensa pembesar berbagai tahap pembentukan jantung dan dimulainya detak jantung Harvey juga mencatat pembentukan pulau-pulau darah (*blood islands*) dan penggabungannya secara bertahap ke dalam sirkulasi. Pada ayam diyakini bahwa jantung dan sirkulasi tidak aktif sampai menetas, sedangkan pada mamalia sampai lahir. Harvey mengamati pembentukan organ-organ lain pada embrio ayam dan juga menggambarkan bagaimana kuning telur digunakan sebagai makanan selama perkembangan.

Baru setelah ditemukannya mikroskop, maka menjadi mungkin untuk memahami tentang apa yang terjadi pada tahap perkembangan paling awal. Ahli Italia bernama Malpighi (1628-1694) menggunakan mikroskop dan yang pertama kali menggambarkan blastoderm ayam, lipatan saraf (*neural folds*) dan bumbung saraf (*neural groove*), vesikula optik, dan tahap awal perkembangan jantung dan somit.

Lebih banyak deskripsi tentang embrio ayam terjadi selama abad ke-17 dan ke-18, adanya pertentangan antara penganut preformasi vs epigenesis. Kaum preformis berpikir bahwa seluruh individu ada dalam bentuk miniatur di dalam sel telur atau di dalam spermatozoa, dan itu hanya tumbuh sampai menetas, dianggap tidak ada diferensiasi, hanya pertumbuhan. Kaum epigenetik menganggap bahwa pertumbuhan dan diferensiasi terlibat dan diperlukan. Teori epigenesis diikuti sampai saat ini. Pertentangan ini diselesaikan oleh Caspar Friedrich Wolff (1753-1794) dengan menggunakan embrio ayam dalam percobaannya di St. Petersburg. Wolff menunjukkan bahwa pembuluh darah di area opaca tidak ada sejak awal inkubasi, melainkan berkembang dari pulau-pulau darah yang bergabung menjadi satu. Para skeptis berpendapat bahwa mungkin pembuluh darah itu selalu ada disana, meskipun tidak terlihat oleh mata manusia. Sekali lagi, Wolff menunjukkan melalui percobaannya, bahwa usus (*gut*) terbentuk dari selembar jaringan datar yang terlipat menjadi tabung, dengan tahapan yang berbeda, yang terlihat jelas. Contoh yang dikemukakan Wolff akhirnya diterima dan menghancurkan argumen kaum preformasi, tidak hanya pada embrio ayam tetapi juga pada semua embrio.

## B. Siklus Kehidupan

Salah satu ciri utama dari embriologi deskriptif adalah gagasan tentang siklus hidup hewan yang dapat digeneralisasi. Setiap hewan, baik cacing tanah atau elang, rayap atau anjing hutan, melewati tahap perkembangan yang serupa. Tahapan perkembangan antara fertilisasi (pembuahan) dan penetasan selanjutnya disebut **embriogenesis**.

Di seluruh kerajaan hewan, terdapat berbagai jenis embrio yang luar biasa, tetapi sebagian besar pola embriogenesis merupakan variasi dari enam proses mendasar, yaitu: fertilisasi, pembelahan cleavage, gastrulasi, organogenesis, metamorfosis, dan gametogenesis.

1. **Fertilisasi**, melibatkan peleburan sel-sel kelamin yang matang, yaitu sel sperma dan sel telur, yang selanjutnya disebut **gamet**. Peleburan sel gamet merangsang sel telur untuk memulai perkembangan dan memulai individu baru. Peleburan inti gamet selanjutnya (keduanya hanya memiliki setengah dari jumlah kromosom normal yang menjadi ciri khas spesies tersebut) memberi embrio **genomnya**, yaitu kumpulan gen yang membantu menginstruksikan embrio untuk berkembang dengan cara yang sangat mirip dengan induknya.
2. **Cleavage**, adalah serangkaian pembelahan mitosis yang sangat cepat yang segera terjadi setelah fertilisasi. Selama cleavage, volume sitoplasma zigot yang sangat besar dibagi menjadi sejumlah sel yang lebih kecil yang disebut **blastomer**. Pada akhir cleavage, blastomer biasanya telah membentuk bola, yang dikenal sebagai **blastula**.
3. Setelah laju pembelahan mitosis melambat, blastomer mengalami pergerakan dramatis dan mengubah posisinya relatif satu sama lain. Rangkaian penataan ulang sel yang ekstensif ini disebut **gastrulasi**, dan embrio dikatakan berada dalam tahap **gastrula**. Sebagai hasil dari gastrulasi, embrio mengandung tiga lapisan germinal (ektoderm, mesoderm, dan endoderm), yang akan berinteraksi untuk menghasilkan organ-organ tubuh.
4. Setelah lapisan germinal terbentuk, sel-sel berinteraksi satu sama lain dan mengatur ulang dirinya sendiri untuk menghasilkan jaringan dan organ. Proses ini disebut **organogenesis**. Banyak organ mengandung sel-sel dari lebih dari satu lapisan germinal, dan bukan hal yang aneh jika bagian luar organ berasal dari satu lapisan dan bagian dalam dari

lapisan lainnya. Sebagai contoh, lapisan luar kulit (epidermis) berasal dari ektoderm, sedangkan lapisan dalam (dermis) berasal dari mesoderm. Juga selama organogenesis, sel-sel tertentu mengalami migrasi panjang dari tempat asalnya ke lokasi akhir. Sel-sel yang bermigrasi ini termasuk prekursor sel darah, sel getah bening, sel pigmen, dan sel kelamin.

5. Pada banyak spesies, organisme yang menetas dari telur atau lahir ke dunia belum matang secara seksual. Sebaliknya, organisme perlu menjalani metamorfosis untuk menjadi dewasa secara seksual. Pada sebagian besar hewan, organisme muda disebut **larva**, dan mungkin terlihat sangat berbeda dari yang dewasa. Pada banyak spesies, tahap larva adalah tahap yang bertahan paling lama, dan digunakan untuk mencari makan atau menyebar. Pada spesies tersebut, dewasa adalah tahap singkat yang tujuan utamanya adalah untuk bereproduksi. Contohnya ada ngengat ulat sutra, ngengat dewasa tidak memiliki mulut dan tidak dapat makan, maka larva harus makan cukup banyak sehingga ngengat dewasa memiliki energi yang tersimpan untuk bertahan hidup dan kawin. Memang, sebagian besar ngengat betina kawin segera setelah keluar dari kepompong, dan terbang hanya sekali - untuk bertelur, kemudian mati.
6. Pada banyak spesies, sekelompok sel disisihkan untuk menghasilkan generasi berikutnya (daripada membentuk embrio saat ini). Sel-sel ini adalah **prekursor gamet**. Gamet dan sel prekursornya secara kolektif disebut **sel germinal**, yang disisihkan untuk fungsi reproduksi. Semua sel tubuh lainnya disebut **sel somatik**. Pemisahan sel somatik (yang membentuk tubuh individu) dan sel germinal (yang berkontribusi pada pembentukan generasi baru) sering kali merupakan salah satu diferensiasi pertama yang terjadi selama perkembangan hewan. Sel-sel germinal akhirnya bermigrasi ke gonad, yang selanjutnya berdiferensiasi menjadi **gamet**. Perkembangan gamet, yang disebut **gametogenesis**, biasanya tidak selesai sampai organisme menjadi dewasa secara fisik. Pada saat dewasa, gamet dapat dilepaskan dan berpartisipasi dalam fertilisasi untuk memulai embrio baru. Organisme dewasa akhirnya mengalami penuaan dan mati, nutrisinya sering kali mendukung embriogenesis awal keturunannya dan ketidakhadirannya memungkinkan lebih sedikit persaingan. Dengan demikian, siklus kehidupan diperbarui.

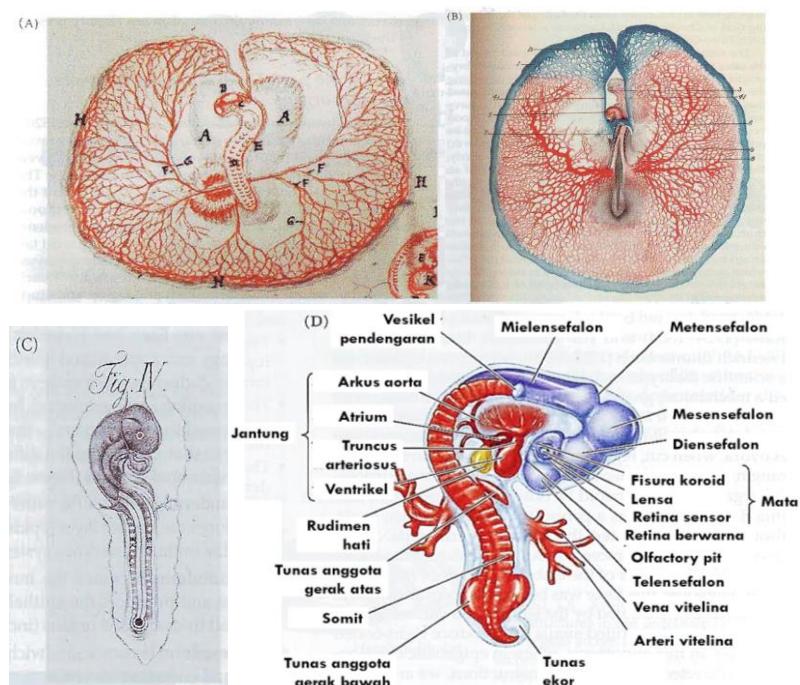
### C. Embriologi Perbandingan

Beberapa proses terjalin bersama untuk membentuk pendekatan anatomi terhadap perkembangan. Proses atau tahapan pertama adalah **embriologi komparatif (embriologi perbandingan)**, yaitu studi atau kajian tentang bagaimana anatomi berubah selama perkembangan organisme yang berbeda. Untaian kedua, berdasarkan yang pertama, adalah **embriologi evolusioner**, adalah studi tentang bagaimana perubahan dalam perkembangan dapat menyebabkan perubahan evolusioner dan bagaimana nenek moyang suatu organisme dapat membatasi jenis-jenis perubahan yang mungkin terjadi. Tahapan ketiga dari pendekatan anatomis terhadap biologi perkembangan adalah **teratologi**, yaitu studi tentang cacat lahir.

Studi pertama yang diketahui tentang anatomi perkembangan perbandingan dilakukan oleh Aristoteles pada abad keempat sebelum Masehi. Dalam “Generasi Hewan”, Aristoteles mencatat beberapa variasi pada tema siklus hidup, yaitu: beberapa hewan dilahirkan dari telur (**oviparitas**, seperti pada burung, katak, dan sebagian besar invertebrata), beberapa melalui kelahiran hidup (**viviparitas**, seperti pada mamalia yang memiliki plasenta), dan beberapa dengan menghasilkan telur yang menetas di dalam tubuh (**ovoviviparitas**, seperti pada reptilia dan ikan hiu). Aristoteles juga mengidentifikasi dua pola pembelahan sel utama yang membentuk embrio, yaitu pola pembelahan cleavage **holoblastik** (di mana seluruh sel telur dibagi menjadi sel-sel yang lebih kecil, seperti yang terjadi pada katak dan mamalia), dan pola pembelahan **meroblastik** (seperti pada ayam, di mana hanya sebagian dari telur yang akan menjadi embrio, sementara bagian lainnya yang disebut **kuning telur (yolk)**, berfungsi sebagai nutrisi untuk embrio). Dan jika ada yang ingin tahu siapa yang pertama kali menemukan fungsi plasenta dan tali pusar, itu adalah Aristoteles.

Hanya ada sedikit sekali kemajuan dalam bidang embriologi selama dua ribu tahun setelah Aristoteles. Baru pada tahun 1651, William Harvey menyimpulkan bahwa semua hewan, bahkan mamalia berasal dari telur. “*Ex ovo omnia*” (semua dari telur) adalah moto di sampul depan buku *On the Generation of Living Creatures* karya Harvey, dan hal ini memperlihatkan adanya **generasi spontan** dari lumpur atau kotoran.

Pernyataan ini tidak dibuat dengan mudah, karena Harvey tahu bahwa hal ini bertentangan dengan pandangan Aristoteles, yang masih dihormati oleh Harvey. Aristoteles berpendapat bahwa cairan menstruasi membentuk materi embrio, sementara air mani memberikan bentuk dan animasi. Harvey juga merupakan orang pertama yang melihat **blastoderm** **embrio ayam** (bagian kecil dari telur yang mengandung kuning telur, dimana sitoplasma bebas yang memunculkan embrio), dan Harvey juga merupakan orang pertama yang melihat bahwa “pulau-pulau” jaringan darah terbentuk sebelum jantung terbentuk. Harvey juga menyarankan bahwa cairan ketuban mungkin berfungsi sebagai “peredam kejut” bagi embrio.



**Gambar 1-1** Penggambaran anatomi perkembangan ayam. A) Tampilan dorsal embrio ayam berumur 2 hari, seperti yang digambarkan oleh Marcello Malpighi pada tahun 1672, B) Tampilan ventral embrio ayam pada tahap yang sama, dilihat melalui mikroskop pembedahan dan dibuat oleh FR Lillie pada tahun 1908, C) Penggambaran Eduard d'Alton tentang embrio ayam berumur 2 hari pada tahap berikutnya yang digambarkan oleh Pander (1817), D) Penggambaran modern dari embrio ayam berusia 3 hari [Gilbert, 2005]

Seperti yang telah diduga, embriologi tetap menjadi spekulasi hingga penemuan mikroskop yang memungkinkan pengamatan yang lebih rinci. Pada tahun 1672, Marcello Mapighi menerbitkan laporan mikroskop pertama tentang perkembangan ayam. Di sini, untuk pertama

kalinya, alur atau bumbung saraf (*neural groove*) adalah prekursor tabung saraf (*neural tube*), somit pembentuk otot, dan sirkulasi arteri dan vena pertama ke dan dari kuning telur telah dapat diidentifikasi.

#### D. Penamaan Lapisan Germinal dan Organ Awal

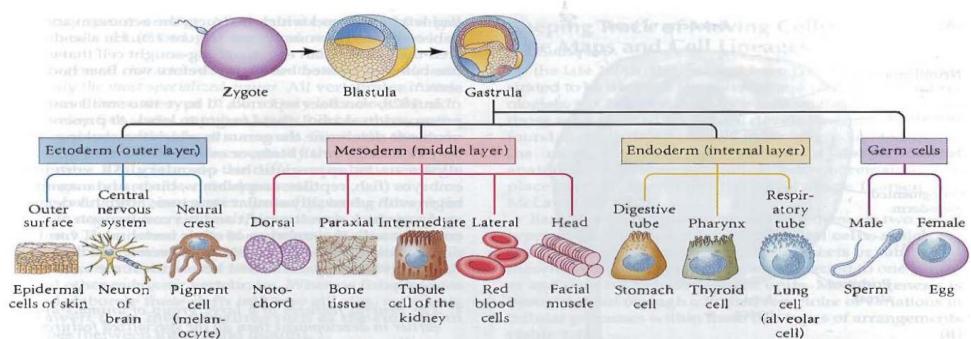
Akhir dari aliran preformasi tidak terjadi hingga tahun 1820-an, ketika telah ditemukan kombinasi teknik pewarnaan baru, mikroskop yang lebih baik, dan reformasi kelembagaan di universitas-universitas Jerman yang menciptakan sebuah revolusi dalam embriologi deskriptif. Teknik-teknik baru ini memungkinkan para ahli mikroskop untuk mendokumentasikan epigenesis struktur anatomi, dan reformasi institusional yang menyediakan audiens untuk laporan-laporan ini dan para siswa untuk melanjutkan tugas yang diberikan oleh gurunya. Di antara yang paling berbakat dari kelompok baru penyelidik mikroskopis ini adalah tiga orang ahli, yang lahir dalam waktu satu tahun satu sama lain, yang semuanya berasal dari wilayah Baltik dan belajar di Jerman bagian utara. Karya Christian Pander, Karl Ernst von Baer, dan Heinrich Rathke mengubah embriologi menjadi cabang ilmu pengetahuan yang terspesialisasi.

Pander mempelajari embrio ayam selama kurang dari dua tahun (sebelum menjadi ahli paleontologi), tetapi dalam 15 bulan tersebut, Pander telah menemukan lapisan germinal, yaitu tiga wilayah berbeda pada embrio yang memunculkan jenis sel yang berbeda dan sistem organ tertentu.

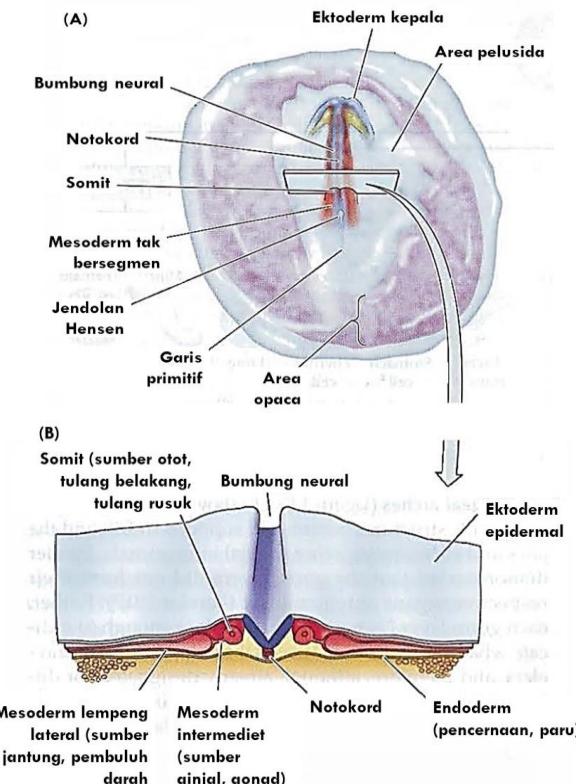
1. **Lapisan ektoderm** merupakan lapisan luar embrio, yang berfungsi menghasilkan lapisan permukaan (epidermis) kulit dan membentuk otak dan sistem saraf.
2. **Lapisan endoderm** adalah lapisan terdalam dari embrio dan menghasilkan epitel tabung pencernaan dan organ-organ terkait (termasuk paru-paru).
3. **Lapisan mesoderm** menjadi terjepit di antara lapisan ektoderm dan lapisan endoderm. Mesoderm menghasilkan darah, jantung, ginjal, gonad, tulang, otot, dan jaringan ikat.

Ketiga lapisan ini ditemukan pada embrio semua hewan **triploblastik** (tiga lapisan). Beberapa filum, seperti Porifera (spons) dan Ctenofor (jeli sisir) tidak memiliki mesoderm sejati dan dianggap sebagai hewan **diploblastik**.

Pander dan Rathke juga melakukan pengamatan yang memberi bobot pada keseimbangan yang mendukung epigenesis. Rathke mengikuti perkembangan rumit tengkorak vertebrata, sistem ekskresi, dan sistem pernapasan, dan menunjukkan bahwa semua ini menjadi semakin kompleks. Rathke juga menunjukkan bahwa kompleksitasnya meliputi lintasan yang berbeda pada kelas vertebrata yang berbeda. Sebagai contoh, Rathke adalah orang pertama yang mengidentifikasi **lengkung faring** (*pharyngeal arches*). Rathke menunjukkan bahwa struktur embrio yang sama ini merupakan penyangga insang pada ikan dan rahang serta telinga (antara lain) pada mamalia. Pander menunjukkan bahwa lapisan-lapisan germinal tidak membentuk organ masing-masing secara mandiri. Sebaliknya, setiap lapisan germinal belum cukup mandiri untuk menunjukkan apa yang sebenarnya, dan masih membutuhkan bantuan dari lapisan yang lainnya yang sama, dan oleh karena itu, meskipun telah dirancang untuk tujuan yang berbeda, ketiga lapisannya saling mempengaruhi satu sama lain secara kolektif sampai masing-masing mencapai tingkat yang sesuai. Pander telah menemukan interaksi jaringan yang sekarang disebut sebagai **induksi**. Tidak ada jaringan yang dapat membangun organ dengan sendirinya, dan harus berinteraksi dengan jaringan lain. Dengan demikian, Pander menunjukkan bahwa pembentukan awal tidak mungkin terjadi, karena organ-organ tubuh terbentuk melalui interaksi antara struktur-struktur yang lebih sederhana.



**Gambar 1-2** Sel-sel yang membelah dari sel telur yang telah dibuahi membentuk tiga lapisan germinal embrio yang berbeda. Masing-masing lapisan germinal memunculkan berbagai jenis sel yang berbeda dan sistem organ yang berbeda. Sel-sel germinal (yang juga merupakan prekursor sperma dan sel telur) disisihkan pada awal perkembangan dan tidak muncul dari lapisan germinal tertentu [Gilbert, 2005]



**Gambar 1-3** Notokord dalam perkembangan ayam. Notokord memisahkan embrio vertebrata menjadi dua bagian kanan dan kiri dan menginstruksikan lapisan ektoderm di atasnya untuk menjadi sistem saraf. A) Tampilan dorsal embrio ayam ,saat inkubasi 24 jam, B) Penampang melintang melalui bagian batang tubuh yang menunjukkan notokord dan tabung saraf yang sedang berkembang [Gilbert, 2005]

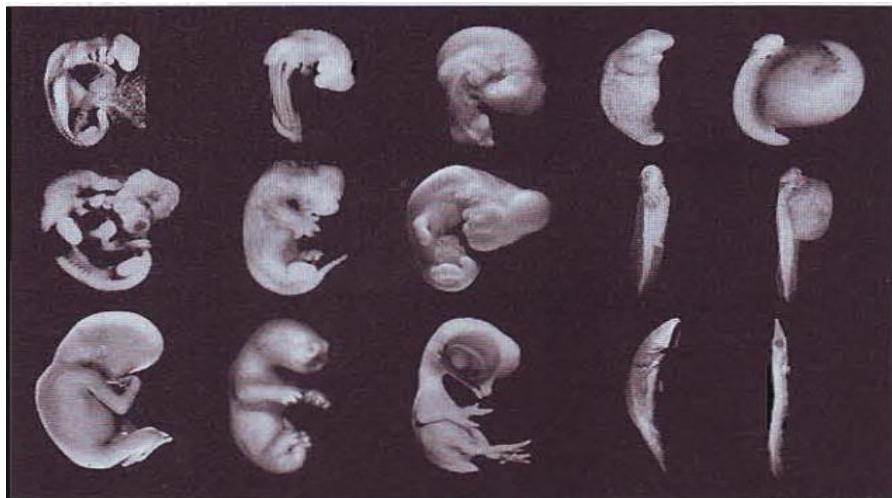
## E. Empat Prinsip Karl Ernst Von Baer

Karl Ernst von Baer adalah ahli yang mengembangkan studi Pander tentang embrio ayam. von Baer menemukan bahwa **notokord**, yang merupakan batang mesoderm paling belakang yang memisahkan embrio menjadi dua bagian kanan dan kiri dan yang menginstruksikan ektoderm di atasnya untuk menjadi **sistem saraf**. von Baer juga menemukan sel telur mamalia, sel yang sudah lama dicari-cari yang diyakini semua orang ada tetapi belum pernah dilihat oleh siapa pun sebelum von Baer.

Pada tahun 1828, von Baer melaporkan, telah memiliki dua embrio kecil yang diawetkan dalam alkohol, yang selanjutnya karena satu dan lain hal lupa diberi label. Saat itu tidak dapat ditentukan genus dari mana asalnya, yang mungkin saja merupakan kadal, burung kecil, atau bahkan mamalia.

Semua embrio vertebrata (ikan, reptil, amfibi, burung, dan mamalia) dimulai dengan struktur yang pada dasarnya serupa. Dari penelitiannya yang mendetail mengenai perkembangan ayam dan perbandingan embrio ayam dengan embrio vertebrata lainnya, von Baer memperoleh empat generalisasi. Sekarang sering disebut sebagai "**hukum von Baer**", yang dimulai di sini dengan beberapa contoh vertebrata:

1. **Ciri-ciri umum dari sekelompok besar hewan muncul lebih awal dalam perkembangannya daripada ciri-ciri khusus dari kelompok yang lebih kecil.** Semua vertebrata yang sedang berkembang tampak sangat mirip setelah gastrulasi. Baru pada perkembangan selanjutnya, ciri-ciri khusus kelas, ordo, dan akhirnya spesies muncul. Semua embrio vertebrata memiliki lengkungan insang, notokord, sumsum tulang belakang, dan ginjal primitif.
2. **Karakter yang kurang umum berkembang dari yang lebih umum, sampai akhirnya muncul karakter yang paling khusus.** Semua vertebrata pada awalnya memiliki jenis kulit yang sama. Baru kemudian kulit berkembang menjadi sisik ikan, sisik reptil, bulu burung, atau rambut, cakar, dan kuku pada mamalia. Demikian pula, perkembangan awal anggota tubuh pada dasarnya sama pada semua vertebrata. Baru kemudian perbedaan antara kaki, sayap, dan lengan menjadi jelas.
3. **Embrio spesies tertentu, alih-alih melewati tahap dewasa hewan yang lebih rendah, malah semakin menjauh darinya.** Cela viseral (*visceral cleft*) pada embrio burung dan mamalia tidak menyerupai celah insang ikan dewasa secara detail. Alih-alih, menyerupai celah viseral menjadi celah insang (*gill slits*) yang sebenarnya, mamalia mengubahnya menjadi struktur seperti saluran eustachius (antara telinga dan mulut).
4. Oleh karena itu, embrio awal hewan yang lebih tinggi tidak pernah seperti hewan yang lebih rendah, tetapi hanya seperti embrio awalnya. Embrio manusia tidak pernah melewati tahap yang setara dengan ikan atau burung dewasa. Sebaliknya, embrio manusia pada awalnya memiliki karakteristik yang sama dengan embrio ikan dan burung. Kemudian, embrio mamalia dan embrio lainnya berbeda, tidak ada yang melewati tahap-tahap yang lain.



**Gambar 1-4** Persamaan dan perbedaan di antara embrio vertebrata saat melanjutkan perkembangannya. Setiap embrio spesies dimulai dengan struktur yang pada dasarnya serupa, meskipun memperoleh struktur ini pada usia dan ukuran yang berbeda. Seiring perkembangannya, spesies-spesies tersebut menjadi tidak terlalu mirip satu sama lain [Gilbert, 2005].

von Baer juga menyadari bahwa ada pola umum pada semua perkembangan vertebrata: masing-masing dari tiga lapisan germinal secara umum memunculkan organ-organ yang sama, yaitu pada ikan, katak, atau ayam.

Anatomi embrionik perbandingan tetap menjadi bidang penelitian yang aktif saat ini, meskipun sekarang dilakukan dalam konteks evolusi. Apa yang dimaksud dengan interaksi embrionik, misalnya, yang menutupi ekor tupai dengan bulu, tetapi memberikan sisik pada ekor tikus? Penelitian yang dilakukan berkaitan dengan bagaimana kura-kura mendapatkan tempurungnya, yang merupakan ciri kerangka yang umumnya terdiri dari 59 tulang yang tidak dimiliki oleh vertebrata lain. Apa hubungan 59 tulang ini dengan tulang yang ditemukan pada buaya dan reptil laut prasejarah? Perubahan apa dalam perkembangan "khas" kerangka vertebrata yang memungkinkan tulang-tulang unik ini terbentuk? Jack Horner dan Hans Larsson meneliti kemiripan antara anatomi perkembangan embrio ayam dan dinosaurus dan menemukan bahwa embrio ayam, tidak seperti dinosaurus, mengalami regresi pada ekornya. Selanjutnya melakukan eksperimen untuk memblokir regresi ini, dan benar-benar berhasil untuk mendapatkan ayam yang lebih mirip dengan nenek moyang dinosaurus.

## F. Perkembangan Embrio Ayam

Deskripsi pertama tentang lapisan germinal (ektoderm, mesoderm, dan endoderm) dibuat dengan menggunakan embrio ayam oleh ahli embriologi Rusia yang bernama Pander (1794-1865). Namun, ilmuwan dari Estonia yang bernama Von Baer (1792-1876) menggunakan embrio dari berbagai spesies dan mikroskop cahaya, menunjukkan bahwa tiga lapisan germinal tidak hanya ada pada embrio ayam tetapi bersifat universal pada Vertebrata. Von Baer sendiri menentang gagasan rekapitulasi yang berkembang di awal abad ke-19 yang menyatakan bahwa tahap-tahap perkembangan dianggap mewakili tahap-tahap evolusi yang progresif. Von Baer menemukan notochord dan mempelajari asimetri pada ayam, serta perjalanan material dari kuning telur dan putih telur ke dalam embrio.

Abad ke-19 menghasilkan ilmuwan embriologi (embriolog) besar, diantaranya Wilhelm Roux (1850-1924) yang disebut juga sebagai bapak embriologi eksperimental. Pengenalamnya akan pendekatan eksperimental terhadap embriologi merupakan langkah besar ke depan, baik secara konseptual maupun teknis, dan selama paruh pertama abad ke-20, catatan deskriptif tentang perkembangan digantikan oleh pendekatan eksperimental.

Percobaan dengan menggunakan embrio mamalia secara teknis tidak memungkinkan untuk dilakukan saat itu, maka digunakanlah embrio ayam. Namun, kuning telur dan kerapuhan blastoderm awal membuat transplantasi jaringan di dalam embrio ayam menjadi sangat sulit. Baru setelah Waddington (1932) mengembangkan prosedur untuk mengeluarkan blastoderm dari telur dan menumbuhkannya secara *in vitro*, dengan menggunakan modifikasi teknik kultur, hal itu menjadi mungkin. Teknik ini kemudian dimodifikasi oleh New (1955), dan sejak saat itu menjadi dasar bagi sebagian besar penelitian eksperimental pada blastoderm awal.

Seperti embrio manusia dan sebagian besar mamalia, embrio unggas sangat berguna untuk mempelajari pembentukan sumbu (*axis*), karena embrio awal unggas memiliki bentuk yang datar [Pasteels, 1940]. Penelitian selama dua dekade terakhir telah menemukan jalur sinyal dan molekul yang terlibat dalam inisiasi pembentukan garis primitif (*primitive*

*streak*) ayam. Salah satu ciri yang sangat luar biasa dari banyak embrio amniotik, termasuk embrio unggas, adalah kemampuan cakram embrionik (*embryonic disc*) sampai saat pembentukan garis primitif dimulai, untuk membentuk embrio yang lengkap ketika diisolasi dari sisi embrio. Ciri ini disebut **regulasi embrionik**. Selama perkembangan normal, hanya satu embrio yang terbentuk, tetapi kemampuan regulatif telah menyediakan alat yang unik untuk membantu kita memahami proses yang memulai perkembangan garis primitif yang normal, untuk menganalisa bagaimana sel-sel berkomunikasi di seluruh embrio, dan mengungkapkan beberapa mekanisme yang memastikan bahwa hanya satu embrio yang secara normal berkembang dari setiap blastoderm.

Setelah *cleavage*, yang terjadi di dalam rahim atau uterus (sebelum peletakan telur, dimana telur menghabiskan waktu sekitar 20 jam), terlihat selembar sel semi-transparan muncul di bagian posterior, kemudian menyebar ke arah anterior dan akhirnya membentuk **pusat embrio**. Bagian pusat epiblas (**ektoderm**) dikenal sebagai area pelusida (yang berarti area yang jernih), dan semua jaringan embrionik pada akhirnya akan muncul dari area itu. Bagian perifer embrio dikenal sebagai area opaca (area buram) dan hanya memunculkan jaringan ekstraembrionik. Yang memisahkan area opaca dan area pelusida adalah **cincin epiblas** (*epiblast ring*) yang dikenal sebagai **zona marjinal**. Zona marjinal berbeda dengan epiblas lainnya, memiliki penampilan yang jernih dan sel-selnya berbentuk kubus, sedangkan sisanya berbentuk silindris. Sel-sel zona marjinal tidak sepenuhnya terlibat dalam pembentukan embrio, sel-selnya tetap menjadi ekstraembrionik.

Pada embrio ayam, bentuk yang paling terlihat dari proses gastrulasi adalah pembentukan garis primitif, yang muncul sebagai penebalan segitiga di perbatasan posterior area pelusida. Tahapan prgaris primitif dilabeli oleh sistem Eyal-Giladi dan Kochav (1976) dengan menggunakan angka Romawi I-XIV. Tahapan selanjutnya diklasifikasikan menurut Hamburger dan Hamilton [1951], yang dimulai dari tahap 2 saat garis primitif pertama kali terlihat. Saat garis primitif memanjang, seluruh embrio memanjang ke arah posterior, berbentuk seperti buah pir. Sepasang somit pertama berasal dari sekitar titik inisiasi garis primitif.

Setelah **gastrulasi**, titik dimana pembentukan garis primitif dimulai menjadi jauh dari tepi posterior area pelusida.

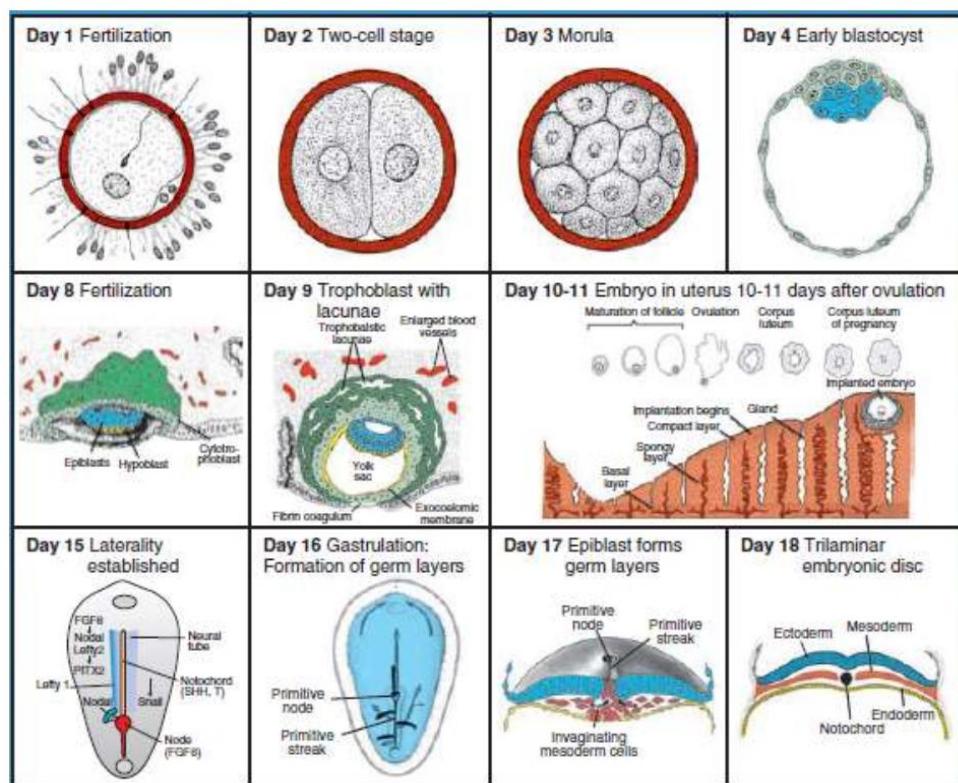
Pada banyak invertebrata dan vertebrata anamniota, masing-masing dari 2 sel embrio tahap 2 sel memiliki potensi untuk membentuk embrio yang lengkap. Sifat ini disebut regulasi embrionik. Pada anamniota, sifat ini hilang setelah cleavage kedua dan ketiga. Hal ini disebabkan karena sel-sel embrio awal memperoleh identitasnya sebagian besar melokalisasi komponen induk. Sebaliknya, embrio unggas dan sebagian besar embrio mamalia mempertahankan kemampuan regulasi embrionik untuk waktu yang lama, bahkan hingga tahap perkembangan ketika embrio mengandung ribuan sel. Hal ini paling jelas terlihat pada embrio unggas, dimana pemotongan embrio menjadi beberapa fragmen dapat menghasilkan embrio yang lengkap dari setiap fragmen. Proses ini dapat dilihat pada embrio ayam sebelum pembentukan garis primitif.

Spratt dan Haas [1960a] melakukan banyak percobaan dengan memotong embrio ayam menjadi beberapa fragmen yang dikultur secara terpisah, mengamati hanya 1/8 area pelusida (dengan zona marjinal yang sesuai) sudah cukup untuk membentuk embrio yang utuh. Percobaan ini menimbulkan pertanyaan: apa yang mencegah blastoderm normal membentuk lebih dari satu embrio, dan mekanisme apa yang terlibat dalam memulai pembentukan embrio utuh dari fragmen blastoderm yang terisolasi. Dalam percobaannya, Spratt dan Haas memotong embrio dengan cara yang berbeda, simetris dan asimetris, dalam posisi dan orientasi yang berbeda.

Ketika embrio dipotong menjadi dua, dengan pemisahan bagian anterior dan posterior, masing-masing bagian membentuk embrio yang lengkap. Bagian posterior selalu mempertahankan polaritas pembentukan sumbunya (*axis*), sedangkan bagian anterior memulai pembentukan garis primitif di bagian paling belakang kiri atau kanan, dekat dengan zona marjinal,  $90^\circ$  terhadap calon sumbu. Percobaan ini juga yang pertama menunjukkan pentingnya zona marjinal untuk perkembangan sumbu, karena pembentukan sumbu dapat dimulai di titik manapun di sepanjang cincin zona marjinal yang tidak di tengah-tengah area pelusida. Karena frekuensi pembentukan embrio yang lebih tinggi dari zona marjinal posterior. Spratt dan Haas [1960a] mengusulkan bahwa gradien dalam

pembentukan embrio ada di zona marginal, yang paling tinggi di bagian belakang, berdekatan dengan garis primitif dan sumbu berikutnya akan muncul.

Spratt [1971] mendefinisikan perkembangan sebagai suatu aksi gen dalam: 1) Pembentukan organisme baru dari beberapa bagian organisme induk, 2) Pemeliharaan atau peningkatan ukuran dari organisme dewasa yang terbentuk secara sempurna, dan 3) Perbaikan terhadap kerusakan akibat kecelakaan atau kehilangan bagian anggota tubuh dari suatu organisme. Sehingga dapat dituliskan perkembangan merupakan suatu perubahan (transformasi) dari suatu keadaan, komposisi atau fungsi dari bagian atau keseluruhan organisme atau bakal organisme yang terjadi secara progresif dan relatif permanen pada kondisi alami.



Gambar 1-5 Tahapan perkembangan manusia hari 1-18 [Sadler, 2012]

Pendapat lain menyebutkan bahwa embriologi menjadi bagian dari ruang lingkup biologi perkembangan. Karena biologi perkembangan ruang lingkupnya lebih luas, sampai kepada perkembangan pasca lahir dengan penekanan kepada masalah, konsep dan prinsip perkembangan.

Sadler (2012) menjelaskan tahapan perkembangan manusia menjadi lima tahap, yaitu:

1. Tahap **gametogenesis**, yaitu tahap terjadinya pembentukan **gamet laki-laki** dan **perempuan** atau konversi **sel germinal spermatozoa** dan **sel telur (ovum)**.
2. Tahap perkembangan minggu pertama, yaitu tahap terjadinya proses **ovulasi** sampai **implantasi**.
3. Tahap perkembangan minggu kedua, yaitu tahap terjadinya pembentukan lapisan **cakram bilaminar** (*bilaminar germ disc*), terlihat embrio dua lapis.
4. Tahap perkembangan minggu ketiga sampai kedelapan, disebut juga dengan periode embrionik, terjadinya pembentukan sistem tubuh.
5. Tahap perkembangan bulan ketiga sampai kelahiran, adalah masa fetus dan berperannya **plasenta** dalam perkembangan manusia.

Dudek (2011) menguraikan perkembangan manusia diawali dari tahap **pre-fertilisasi**, periode mingguan, periode embrionik dan **organogenesis**, yang dapat diuraikan sebagai berikut:

1. Pra-fertilisasi, tahap yang meliputi perkembangan organ reproduksi seksual, perkembangan organ reproduksi seksual, perkembangan kromosom, meiosis, organogenesis, spermatogenesis.
2. Perkembangan minggu pertama (hari ke 1-7), meliputi fertilisasi, pembelahan, blastocyst dan implantasi.
3. Perkembangan minggu kedua, (hari ke 8-14), meliputi pembentukan embrioblast lanjutan, trophoblast lanjutan dan mesoderm ekstraembrionik.
4. Periode embrionik, meliputi pembentukan embrioblast lanjutan, vasculogenesis dan plasentasi.
5. Periode bulan ketiga sampai lahir disebut juga organogenesis sampai parturisi, yaitu terjadinya perkembangan organ dan sistem tubuh dan proses kelahiran.

## BAB 2

# GAMETOGENESIS

Untuk menjelaskan bagaimana sel germinal memiliki potensi membentuk orang dewasa, para penganut **preformasi** di abad ke-18 berasumsi bahwa terdapat seorang miniatur orang dewasa, dan bahwa proses perkembangan pada dasarnya terdiri dari pembesaran dan penyelesaian secara terperinci dari apa yang sudah dibentuk sebelumnya. Oleh karena itu, para ahli memecahkan masalah perkembangan dengan menyangkal keberadaannya: pada mulanya Sang Pencipta tidak hanya menjadikan semua spesies hewan dan tumbuhan yang pada dasarnya adalah bentuknya saat ini, tetapi pada saat yang sama menciptakan sel-sel germinal semua generasi yang pernah ada menjadi ada. Oleh karena itu, sel telur dari spesies apa pun mengandung sel germinal yang yang tidak terlindungi dari generasi berikutnya, demikian juga dengan sel germinal lain dari generasi berikutnya, dan seterusnya hingga akhir **spesies** yang telah ditentukan. Hal ini dikenal sebagai doktrin **evolusi** atau preformasi. Bertentangan dengan konsepsi ini, orang-orang dari periode yang sama yang percaya pada periode **epigenesis** mempertahankan teori bahwa sel-sel germinal itu adalah nyata, dan perkembangannya menjadi aktual. Tetapi, karena tidak ada konsepsi tentang kelangsungan generasi, maka para penganut epigenesis ini pada akhirnya juga mengasumsikan terjadinya generasi spontan dari embrio.

Kemajuan besar atas teori perkembangan preformasi dibuat dalam **teori determinan modern**. Konsepsi ini, yang membentuk dasar teori **pangenesis** Darwin dan juga teori pengembangan plasma germinal Weismann, yang pada dasarnya menyatakan bahwa semua komponen beragam organisme diwakili dalam sel germinal oleh ciri yang berbeda yang merupakan sel germinal dari bagian-bagian tersebut, dan yang terdistribusi dalam proses perkembangannya sehingga menghasilkan semua bagian embrio dalam urutan dan hubungan yang tepat. Ini bukan tempat untuk masuk ke dalam sejumlah variasi yang beragam dari hipotesis penentu. Ini adalah kemajuan dari teori preformasi perkembangan yang sejauh ini dapat diterima melalui pengaturan sel dan teori-teori **protoplasma**, tetapi juga

memiliki hubungan yang nyata dengan teori preformasi karena menyangkal bentuk sel germinal yang sederhana dan menghindari penjelasan nyata tentang modus operandi perkembangan.

Perkembangan adalah proses fisiologis yang benar-benar sebagai sekresi, dan dengan demikian harus dipelajari dengan metode yang sama, terutama eksperimental. Batas pengamatan murni tanpa eksperimen segera dicapai dalam analisis subjek yang kompleks seperti **fisiologi perkembangan**, eksperimen kemudian menjadi perlu untuk mendorong analisis subjek lebih jauh, dan untuk melengkapi interpretasi yang sebenarnya dari pengamatan. Dalam beberapa kasus percobaan telah mengkonfirmasi deduksi fisiologis dari pengamatan yang telah dilakukan, dan dalam banyak kasus telah diputuskan antara pandangan yang bertentangan. Namun, tidak semua eksperimen embriologis merupakan teori dalam arah fisiologi perkembangan, beberapa diarahkan pada pemecahan masalah morfologis, seperti, misalnya, **selubung sel saraf**, atau urutan asal usul **somit**, atau hubungan **garis primitif (primitif streak)** dengan embrio. **Embriologi eksperimental**, oleh karena itu dinyatakan tidak identik dengan fisiologi perkembangan.

Fisiologi perkembangan harus dilanjutkan dari penyelidikan komposisi dan sifat-sifat sel germinal. Penyelidikan yang dilakukan antara lain mengetahui peran pembelahan sel dalam perkembangan, faktor-faktor yang menentukan lokasi, asal, dan sifat-sifat primordia organ, hukum yang menentukan pertumbuhan yang tidak merata, kondisi yang menentukan arah diferensiasi, pengaruh kondisi ekstraorganik pada pembentukan embrio, dan efek dari lingkungan intraorganik, seperti bagian-bagian komponen embrio pada bagian-bagian lain (diferensiasi korelatif). Masing-masing pembagian dari subjek ini mencakup banyak masalah, yang telah menarik perhatian banyak peneliti, sehingga bahan untuk eksposisi yang konsisten dari fisiologi perkembangan embrio dapat dilakukan dengan cepat. Namun, arah penyelidikan di bidang fisiologi perkembangan ini adalah salah satu yang termuda dari perkembangan disiplin ilmu biologi. Akan terlihat sejauh mana bidang ilmu ini dihilangkan dari upaya menjelaskan perkembangan embrio dengan satu prinsip tunggal.

Dalam perkembangannya, ciri-ciri pengaturan yang paling umum muncul lebih dulu, dan yang berturut-turut kurang umum menurut spesialisasinya. Karena itu, untuk setiap struktur, ada periode kemunculan dari sesuatu yang lebih umum. Sel germinal paling awal yang dapat dilihat dari bagian atau organ apa pun dapat disebut primordiumnya. Dalam pengertian ini, sel telur adalah primordium individu, ektoderm primordium dari semua struktur ektodermal, lempeng medula primordium bagian tengah sistem saraf tepi, penebalan pertama ektoderm pada mangkuk optik, primordium dari lensa, dll. Primordia, oleh karena itu, dari semua tingkatan, dan masing-masing muncul dari primordium dengan tingkat umum yang lebih tinggi.

Munculnya primordia melibatkan keterbatasan dalam dua arah, yaitu: 1) Primordia ini sendiri dibatasi secara positif dengan garis diferensiasi tertentu yang lebih istimewa daripada primordia tempatnya tumbuh, dan 2) yang terakhir terbatas secara negatif dengan kehilangan kapasitas untuk memproduksi primordia lain dengan jenis yang sama persis. Kemajuan diferensiasi menetapkan batas dalam semua kasus, dalam perilaku yang ditunjukkan, dan pada diferensiasi selanjutnya, sebuah prinsip yang telah ditetapkan oleh hukum pembatasan genetik Minot.

Hukum ini belum cukup diselidiki secara eksperimental untuk menunjukkan validitas universalnya, tetapi cukup diketahui untuk membangun penerapannya secara umum. Ciri-ciri primordia yang sangat penting pada banyak hewan adalah kapasitasnya untuk pembelahan, masing-masing bagian mempertahankan potensinya secara keseluruhan. Jadi, misalnya, pada beberapa hewan dua atau beberapa embrio dapat diproduksi dari bagian satu sel telur. Demikian pula dua atau lebih anggota badan dapat diproduksi dalam beberapa bentuk dengan membagi tunas anggota badan (limb-bud), dan lain-lain.

#### A. Ciri Umum Sel Germinal

Seperti yang telah dikatakan, sel telur dan spermatozoa memiliki karakter sel tunggal pada semua hewan. Namun, kedua jenis sel germinal tersebut dikhususkan untuk kinerja fungsi masing-masing. Sel telur relatif besar, lembam, dan biasanya berbentuk bulat. Ukurannya disebabkan oleh jumlah protoplasma yang cukup untuk berfungsi sebagai primordia embrio, dan jumlah kuning telur yang lebih besar atau lebih sedikit untuk

nutrisi. Sebaliknya, spermatozoa relatif kecil dan mampu bergerak. Spermatozoa tidak mengandung zat makanan, dan hanya protoplasma yang cukup untuk berfungsi sebagai kualitas transmiter paternal dan untuk organ penggerak.

## 1. Spermatozoa

Spermatozoa adalah sel berflagel memanjang di mana dibedakan menjadi tiga bagian utama yaitu: kepala (*caput*), leher (*collum*) dan ekor (*cauda*). Kepala mengandung nukleus, dan sentrosom leher dari sel induk sperma atau spermatid. Ujung kepala sering diubah menjadi perforatorium. Tiga bagian dapat dikenali di bagian ekor, bagian penghubung (*pars conjunctionis*) di sebelah leher, bagian utama (*pars principalis*) dan bagian akhir atau filamen terminal (*pars terminalis*). Seluruh ekor dilalui oleh filamen aksial, di daerah yang menghubungkan dan bagian utama filamen aksial dikelilingi oleh selubung protoplasma (*involutrum*) yang dapat dimodifikasi secara bervariasi pada hewan yang berbeda. Bagian ujung terdiri dari filamen aksial saja.

## 2. Sel Telur (Ovum)

**Ovum (sel telur).** Sel telur dari berbagai filum dan kelas hewan sangat bervariasi dalam ukuran, dalam pengaturan, dan dalam sifat selubung atau selaputnya. Dengan mempertimbangkan variasi-variasi ini, maka perlunya membatasi diri pada vertebrata. Di dalam **ovarium**, sel telur menerima dua selubung, selubung primer, yang disebut membran vitellina, yang seharusnya disekresikan oleh sel telur itu sendiri, dan sel sekunder atau **folikel**. Secara teoritis perbedaan antara membran vitellina dan **membran folikuler** (membran telur primer dan sekunder) sangat jelas, tetapi dalam banyak kasus tidak mungkin untuk membuat perbedaan seperti itu. Oleh karena itu membran yang mengelilingi sel telur dalam ovarium akan disebut membran vitellina atau zona radiata tanpa mengacu pada mode asal teoretisnya.

Ovum keluar dari ovarium (ovulasi) melalui proses pecahnya dinding folikel, dan, pada sebagian besar vertebrata, diambil oleh saluran telur yang dilewatinya dalam perjalanan ke luar. Di dalam saluran telur itu mungkin dikelilingi oleh membran tersier yang

disekresikan oleh dinding saluran telur itu sendiri. Membran tersier kurang pada beberapa vertebrata, yang lain sangat penting. Jadi pada albumen burung, selaput cangkang dan kulitnya sendiri adalah selaput tersier.

Perbedaan utama yang harus ditekankan dalam sel telur vertebrata adalah, dalam hal jumlah dan susunan kuning telur yang terkandung dalam sel telur. Semua sel telur mengandung kurang lebih kuning telur. Dalam kasus mamalia (kecuali **monotremata** yang memiliki sel telur besar) kuning telur jumlahnya sedikit, dan cukup merata dalam bentuk butiran halus. Sel telur, oleh karena itu, relatif sangat kecil ukurannya pada tikus sekitar 0,059 mm dan pada manusia sekitar 0,17 mm. Telur seperti itu sering disebut **alecithal**, yang berarti secara harfiah tanpa kuning telur. Dalam pengertian literal, tidak ada sel telur yang sepenuhnya alecithal, sehingga akan lebih baik menggunakan istilah yang dikemukakan oleh Waldeyer yaitu **isolecithal**. Pada amfibia, jumlah kuning telur jauh lebih besar dan berpusat pada satu kutub ovum, yang disebut **vesikel germinal** (inti sel telur), yang menempati pusat protoplasma ovum, oleh karena itu dipindahkan ke arah kutub yang berlawanan dari sel telur. Telur seperti itu disebut **telolecithal**. Pada sel telur Selachia, reptil dan burung, kuningnya jauh lebih besar jumlahnya dan akibatnya protoplasma yang mengandung vesikel germinal muncul sebagai cakram kecil, yang disebut **cakram germinal**, pada permukaan massa kuning besar.

Tetapi tidak peduli seberapa besar sel telur menjadi oleh pengendapan kuning telur, karakter uniselulernya tidak berubah. Pengendapan kuning telur hanyalah pemberian nutrisi bagi embrio. Pada mamalia, nutrisi embrio disediakan oleh plasenta, oleh karena itu kuning telur dapat dikeluarkan. Dengan tidak adanya pembagian seperti itu, jumlah kuning telur adalah ukuran panjang periode perkembangan embrionik. Pada amfibia, misalnya, periode ini relatif singkat, karena kuning telur segera habis, dan larva kemudian harus bergantung pada kegiatannya sendiri untuk nutrisi. Oleh karena itu perkembangannya melibatkan metamorfosis: embrio lahir dalam kondisi yang sangat belum selesai, sebagai larva (kecebong dalam

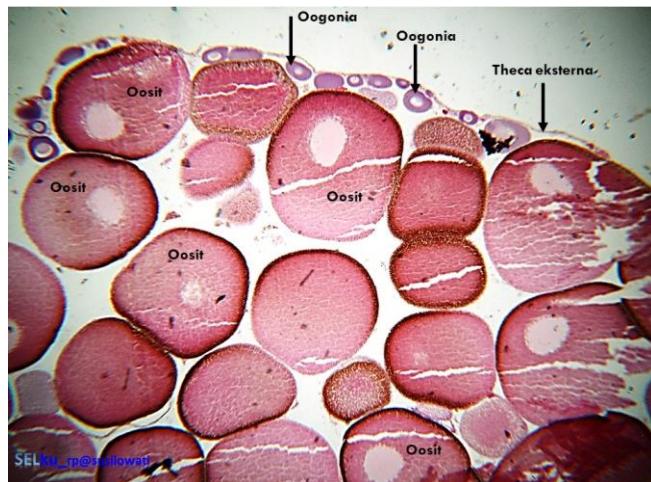
kasus amfibi), yang harus menjalani **metamorfosis** luas untuk mencapai kondisi dewasa. Namun, pada reptil dan burung, jumlah kuning telur cukup untuk membawa perkembangan sampai ke kondisi remaja, sebelum suplai makanan tambahan diperlukan. Metamorfosis, yang terjadi dalam kehidupan bebas di amfibi, terjadi di dalam telur pada reptil dan burung. Bentuk perkembangan pertama dikenal sebagai larva, yang kedua sebagai janin.

## B. Organ Reproduksi Betina

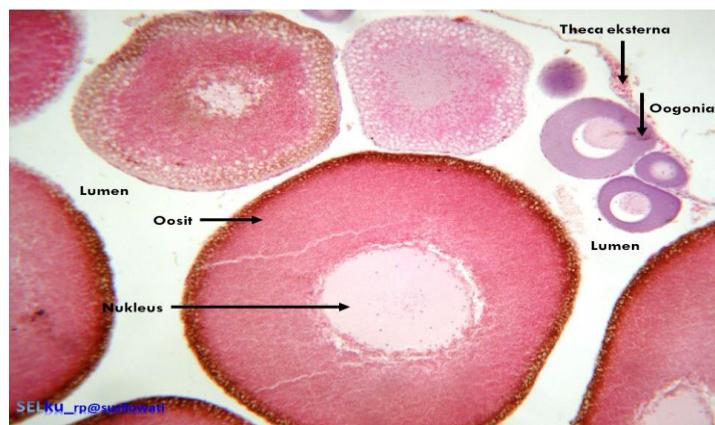
**Folikel ovarium** dengan berbagai ukuran, masing-masing berisi satu **oosit**, terdapat di **stroma korteks**. Ukuran folikel menunjukkan keadaan perkembangan oosit. Tahap awal **oogenesis** terjadi selama kehidupan janin ketika pembelahan mitosis secara besar-besaran meningkatkan jumlah **oogonia**. Oosit yang ada saat lahir tetap tertahan dalam perkembangan pada pembelahan meiosis pertama. Selama masa pubertas, kelompok kecil folikel mengalami pertumbuhan dan pematangan. Ovulasi pertama umumnya tidak berlangsung selama satu tahun atau lebih setelah *menarche*. Pola siklus pematangan folikel dan ovulasi kemudian terbentuk yang berlanjut secara paralel dengan **siklus menstruasi**. Biasanya, hanya satu oosit yang mencapai kematangan penuh dan dilepaskan dari ovarium selama setiap siklus menstruasi. Pematangan dan pelepasan lebih dari satu sel telur saat ovulasi dapat membentuk banyak zigot. Selama masa reproduksi, perempuan hanya menghasilkan sekitar 400 sel telur matang. Sebagian besar sekitar 600.000 hingga 800.000 oosit primer yang ada saat lahir tidak mengalami pematangan lengkap dan secara bertahap hilang melalui proses atresia, yaitu kematian spontan dan resorpsi selanjutnya dari oosit yang belum matang. Proses ini dimulai sejak bulan kelima kehidupan janin dan dimediasi oleh apoptosis selsel di sekitar oosit. **Atresia** mengurangi jumlah oosit primer secara logaritmik sepanjang hidup dari sebanyak 5 juta pada saat janin menjadi kurang dari 20% dari jumlah tersebut saat lahir. Oosit yang tersisa saat **menopause** mengalami degenerasi dalam beberapa tahun.

### C. Perkembangan Folikel Ovarium Katak

Organ reproduksi berfungsi untuk memproduksi dan mengangkut sel germinal (**oosit** dan **sperma**) ke tempat di mana pembuahan dapat terjadi. Organ reproduksi laki-laki adalah **testis**, dan organ reproduksi perempuan adalah **ovarium**. Saluran telur berfungsi untuk mengantarkan sel telur dari indung telur ke lingkungan luar, di mana sel telur akan dibuahi oleh sel sperma.



**Gambar 2-1** Fotomikroskopis ovarium katak (HE, 100x). Ovarium terutama terdiri dari banyak oosit yang dikelompokkan bersama dengan lapisan theca eksterna sebagai pelindungnya



**Gambar 2-2** Oosit sebagian besar mengisi ovarium katak (HE, 100x). Oosit yang matang memiliki panjang sekitar 1,5 mm. Nukleus yang besar dapat diamati pada sebagian besar oosit, dan lapisan butiran pigmen mendasari membran plasma

## D. Oogenesis

Istilah **oogenesis** mengacu pada produksi sel telur. Proses ini dimulai selama perkembangan prenatal ovarium, ketika oogonia diploid berhenti membelah secara mitosis dan membesar menjadi **oosit primer**. Semua oosit primer yang akan dimiliki perempuan sudah terbentuk sebelum kelahirannya. Pada saat ini jumlahnya sekitar 2 juta, tetapi jumlah tersebut berkurang akibat kematian sel menjadi antara 300.000 hingga 400.000 sel pada saat pubertas. Oogenesis berhenti pada saat ini dan semua oosit primer tetap berada di bawah permukaan ovarium.

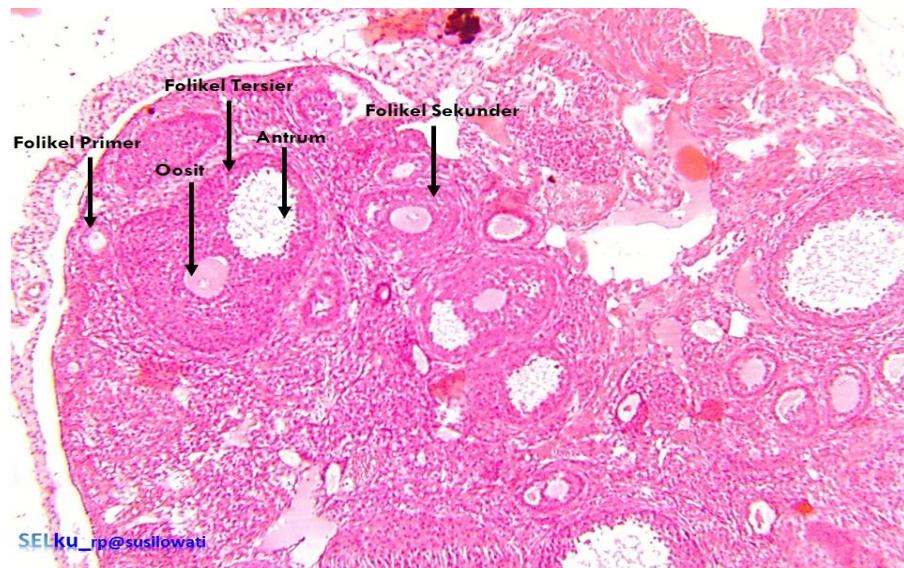
Oosit primer mulai mengalami meiosis dengan cara yang normal pada masa pubertas. Pada masa pubertas dan secara teratur setelahnya, hormon seks menstimulasi oosit primer untuk melanjutkan proses pematangannya, dan mengalami pembelahan meiosis yang pertama. Namun pada telofase I, dua sel yang terbentuk menerima porsi sitoplasma yang tidak sama. Sel yang lebih kecil dari kedua sel tersebut disebut **badan kutub** (*polar body*), dan sel sel haploid yang lebih besar adalah **osit sekunder**. Oosit primer lainnya tetap berada di dalam ovarium. **Ovulasi** dimulai ketika oosit sekunder yang akan segera dilepaskan, terbungkus dalam struktur seperti kantung yang dikenal sebagai **folikel**, tumbuh dan bergerak di dekat permukaan ovarium. Ketika pematangan ini selesai, folikel akan meletus dan oosit sekunder dilepaskan. Oosit sekunder ini tersapu ke dalam saluran telur atau **oviduk (tuba falopii)** oleh sel-sel bersilia dan bergerak menuju rahim (**uterus**). Karena aksi hormon luteinizing, folikel tempat oosit berovulasi berkembang menjadi struktur seperti kelenjar yang disebut **korpus luteum**, yang menghasilkan hormon (progesteron dan estrogen) yang mencegah pelepasan oosit sekunder lainnya.

Jika oosit sekunder dibuahi, maka oosit sekunder akan menyelesaikan meiosis dengan DNA sperma di dalamnya dan menjadi **zigot**. Jika oosit sekunder tidak dibuahi, maka oosit tersebut akan keluar melalui **vagina** ke luar selama menstruasi. Selama masa hidupnya, perempuan melepaskan sekitar 300 hingga 500 oosit sekunder. Tentunya, hanya sedikit dari sel-sel ini yang dibuahi.

Dari tepi preparat atau sediaan ovarium tikus terlihat jelas selapis sel epitel kubus yang disebut **epitel germinativum**, dari epitel ini dibentuk banyak ovum, masing-masing dikelilingi sel-sel folikel. Mula-mula dibentuk folikel primer yang akan berkembang berturut-turut menjadi folikel sekunder - folikel tersier - folikel de Graaf.

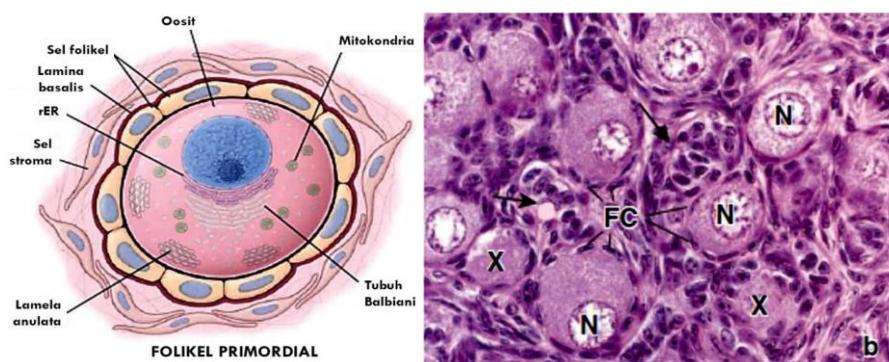
1. **Folikel primordial.** Folikel primordial pertama kali muncul di ovarium selama bulan ketiga perkembangan janin. Pertumbuhan awal folikel primordial tidak tergantung pada stimulasi atau rangsangan **hormon gonadotropin**. Dalam ovarium yang matang, folikel primordial ditemukan di stroma korteks tepat di bawah **tunika albuginea**. Satu lapisan **sel folikel gepeng** mengelilingi oosit. Saat folikel primordial berkembang menjadi folikel yang sedang tumbuh, perubahan terjadi pada oosit, sel folikel, dan stroma yang berdekatan. Awalnya, oosit membesar, dan sel-sel folikel gepeng di sekitarnya berproliferasi dan menjadi kubus. Pada tahap iniyaitu, ketika sel-sel folikel menjadi kubus – folikel diidentifikasi sebagai **folikel primer**. Saat oosit tumbuh, oosit mengeluarkan protein spesifik yang dirakit menjadi lapisan ekstraseluler yang disebut **zona pelusida**. Zona pelusida muncul di antara oosit dan sel-sel folikel yang berdekatan.
2. **Folikel primer.** Ovum hanya dikelilingi selapis sel-sel folikel dan merupakan folikel terkecil.
3. **Folikel sekunder**, ovum dikelilingi lebih dari selapis sel-sel folikel, tetapi belum ada rongga (antrum).
4. **Folikel tersier**, di dalam folikel terdapat rongga yang disebut **antrum**. Selanjutnya, pada preparat ovarium terlihat **corpus luteum** dengan ciri selselnya agak besar dan tersusun rapat. Sedangkan **corpus haemoragicum** dan **corpus albicans** di dalam preparat tidak akan nampak.
5. Pertumbuhan ovum dipelihara oleh sel-sel folikel, yang keduanya samasama berasal dari sel-sel epitel germinal ovarium. Ovum yang sedang tumbuh bersama sel-sel folikel yang memelihara dan terletak sekelilingnya disebut folikel telur atau **folikel de Graaf**, menurut nama penemunya Reinier de Graaf (1672).

6. Folikel de Graaf adalah sel-sel folikel yang terdiri dari beberapa lapis dan memiliki rongga berisi cairan disebut antrum dan cairannya disebut **cairan folliculi**. Pada tahap ini oosit terdesak ke tepi, diselaputi oleh sekelompok sel folikel disebut cumulus oophorus. Sel-sel folikel pada tubuh folikel membentuk lapisan disebut **stratum granulosum**, karena sel-selnya bergranul. Di luar lapisan ada **theca folliculi** yang berasal dari jaringan stroma ovarium. Teka folikuli terdiri dari dua lapis yaitu tunika interna sebelah dalam dan tunika eksterna sebelah luar dan terdiri dari jaringan ikat fibrosa.
7. Apabila folikel telah mencapai tahap pembentukan folikel de Graaf, maka sempurnalah pertumbuhan sel telur dan disebut oosit primer.
8. Kalau ovum telah keluar (ovulasi), maka folikel pemeliharanya dan yang tinggal dalam ovarium menjadi korpus luteum. Badan ini berfungsi menghasilkan progesteron yang menghalangi penggetahan atau sekresi hormon FSH (*Follicle Stimulating Hormone*), sehingga pembentukan folikel baru tertahan, lalu merangsang **endometrium** menebal sampai mencapai lima kali tebal normal.

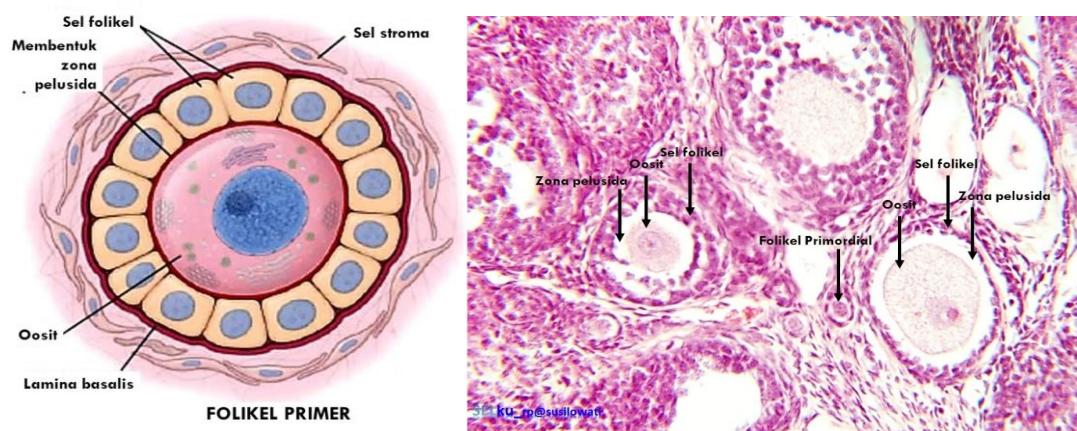


**Gambar 2-3** Sediaan ovarium tikus (HE, 40x). Dari potongan melintang ovarium terlihat perkembangan folikulogenesis, mulai dari folikel primer dan folikel sekunder. Folikel primer adalah sel telur atau oosit yang dikelilingi oleh satu lapisan folikel. Folikel sekunder adalah oosit yang dikelilingi oleh lebih dari satu lapisan sel folikel. Selain itu, juga terlihat folikel tersier, dimana lapisan sel folikelnya sudah sangat banyak dan terbentuk ruang antrum yang berisi cairan folikuli.

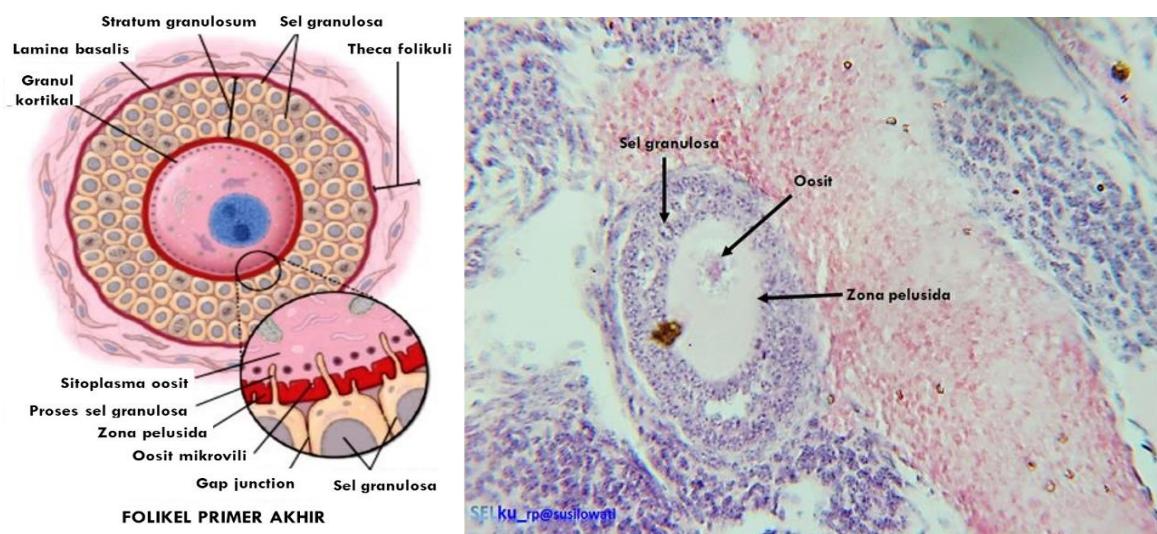
Juga terlihat folikel matang atau folikel de Graaf, dimana lapisan sel folikelnya sudah sangat banyak dan terbentuk ruang antrum yang berisi cairan folikuli. Oosit dikelilingi oleh lapisan sel yang disebut cumulus oophorus



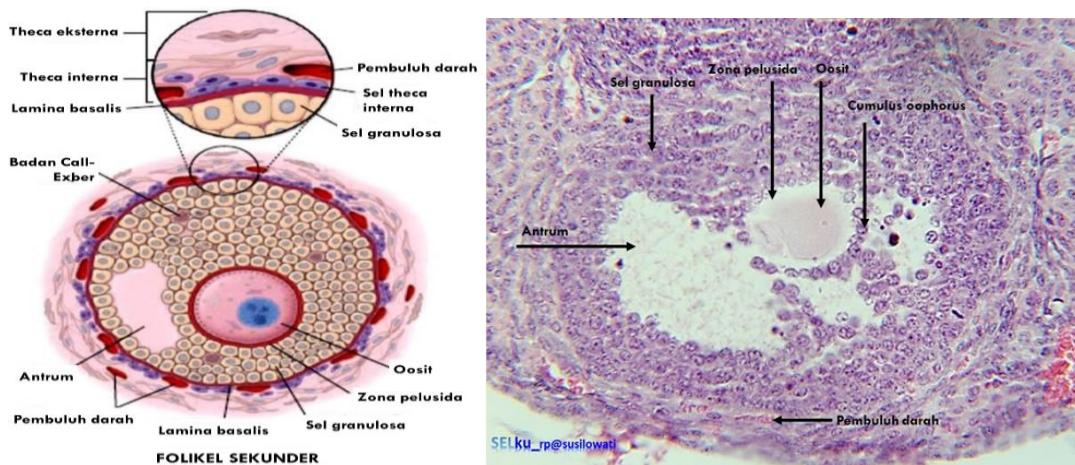
**Gambar 2-4** Folikel primordial. (a) Gambar skema folikel primordial menunjukkan oosit tertahan pada profase pembelahan meiosis pertama. Oosit dikelilingi oleh satu lapis sel folikel pipih. Permukaan luar sel-sel ini dipisahkan dari jaringan ikat oleh lamina basal. (b) Fotomikrograf folikel primordial ini menunjukkan oosit dikelilingi oleh satu lapis sel folikel gepeng. Biasanya inti oosit berada dalam posisi eksentrik. Dua oosit di mana nukleus tidak termasuk dalam bidang potongan ditunjukkan (X). Demikian pula ada dua folikel (panah) di mana sel-sel folikel terungkap dalam tampilan bentuk atau tangensial dan oosit tertutup tidak termasuk dalam bagian tersebut (400x)



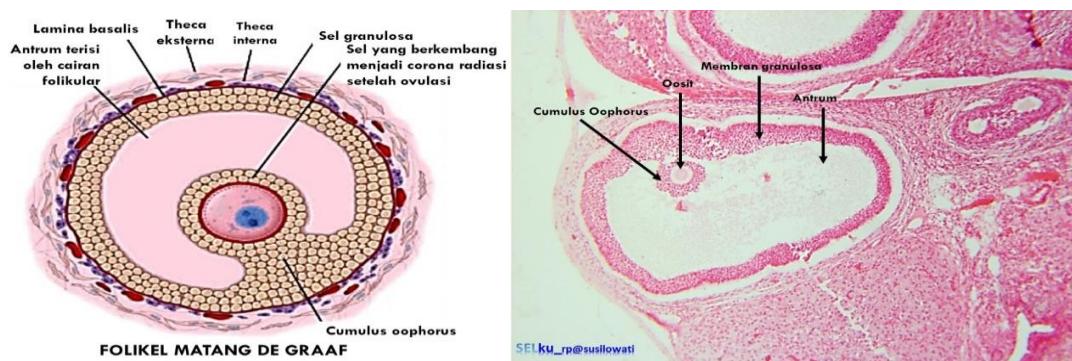
**Gambar 2-5** Folikel primer tahap akhir. (a) Gambar skema folikel primer tahap akhir menunjukkan massa berlapis-lapis sel granulosa yang mengelilingi oosit. Lapisan terdalam sel granulosa berbatasan dengan zona pelusida, dan lapisan terluar sel ini terletak di lamina basal yang berdekatan dengan sel stroma yang disebut teka folikuli. (b) Fotomikroskopis folikel primer akhir di dalam ovarium (HE, 400x). Beberapa lapisan sel granulosa terlihat mengelilingi oosit. Zona pelusida ada di antara oosit dan sel folikel



**Gambar 2-6** Folikel sekunder. (a) Gambar skematis dari folikel sekunder yang menunjukkan antrum berisi cairan, yang muncul dari penggabungan rongga kecil berisi cairan di antara sel-sel granulosa. Perhatikan bahwa folikel yang tumbuh aktif ini memiliki banyak sel granulosa yang membelah. Pembesaran berbentuk lingkaran menggambarkan hubungan sel granulosa, lamina basalis, dan teka interna dan teka eksterna. Sel teka interna berdiferensiasi menjadi sel penghasil steroid yang sangat vaskularisasi. Theca interna dikelilingi oleh lapisan luar sel stroma yang disebut teka eksterna. Lamina basalis memisahkan sel granulosa dari teka interna. (b) Fotomikrograf folikel sekunder. Antrum (A), berisi cairan folikel, terlihat di dalam stratum granulosum (GC). Beberapa lapisan sel teka interna (TI) dan sel teka eksterna (TE) dapat dilihat di luar lamina basal folikel sekunder (400x)



**Gambar 2-7** Fotomikroskopis ovarium rat (HE, 400x), terlihat folikel tersier atau folikel matang, sudah terbentuk ruang antrum yang berisi cairan folikuli (*liquor folliculi*)



**Gambar 2-8** Folikel pada tahap akhir perkembangan. (a) Gambar skema folikel matang (Graaf) dengan antrum besar yang berisi oosit yang tertanam di dalam cumulus oophorus. Sel-sel cumulus oophorus yang mengelilingi oosit tetap bersamanya setelah ovulasi dan disebut sebagai korona radiata. (b) Fotomikroskopis folikel de Graaf. Perhatikan antrum besar berisi cairan dan cumulus oophorus yang mengandung oosit. Sel-sel yang tersisa yang mengelilingi lumen antrum membentuk membrana granulosa

## E. Organ Reproduksi Jantan

### 1. Reproduksi Katak

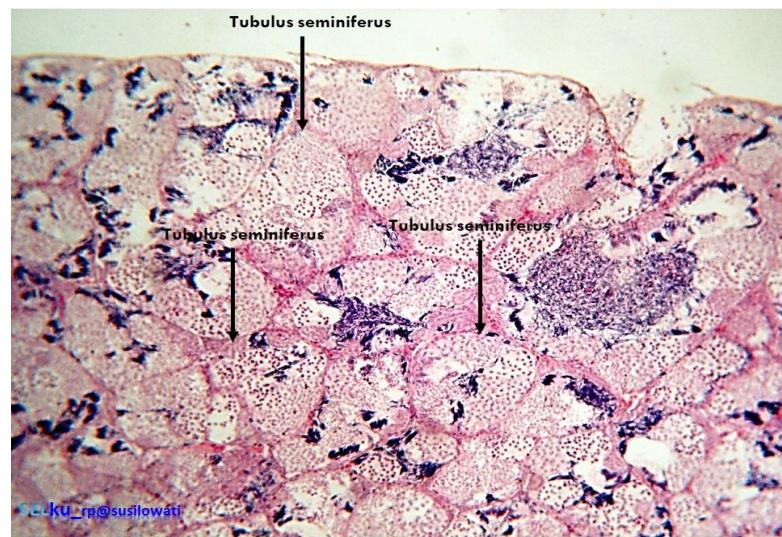
Sistem reproduksi jantan terdiri atas testis, duktus genitalis, kelenjarkelenjar tambahan dan penis. Testis merupakan kelenjar tubuler kompleks yang mempunyai dua fungsi yaitu reproduksi dan hormonal. Testis dikelilingi oleh kapsula jaringan penyambung kolagen yang disebut tunika albugenia. Tunika albugenia mempunyai penebalan pada bagian posterior, mediastinum testis, dimana septum fibrosa menonjol ke dalam kelenjar, membagi kelenjar menjadi sekitar ratusan ruang-ruang piramidal yang disebut lobulus testis atau

**tubulus seminiferus.** Septum ini tidak sempurna, dan sering kali terbentuk hubungan antara lobulus-lobulus. Tiap lobulus ditempati oleh 1 - 4 tubulus seminiferus yang terbenam dalam selaput jaringan penyambung jarang yang kaya akan pembuluh darah dan saraf.

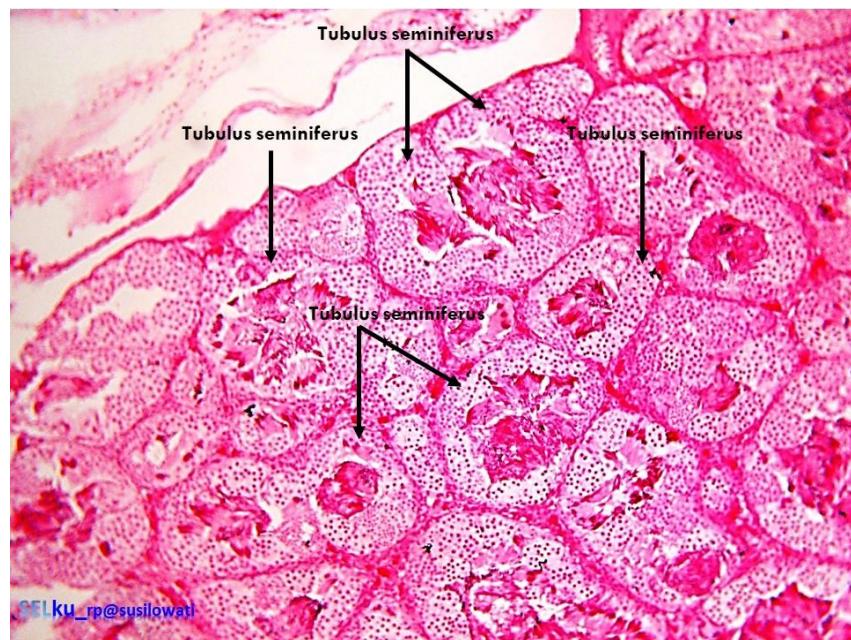
Apabila testis dipotong melintang, maka gambaran histologisnya adalah adanya dinding tipis di sebelah dalam dari tubulus seminiferus. Karena struktur tubulus seminiferus berbelit-belit, maka tiap potongan yang melaluinya akan menghasilkan penampang yang melintang dan penampang yang agak memanjang. Dari tubulus seminiferus akan terbentuk sel-sel kelamin jantan.

Struktur yang harus dicari tidak akan terdapat dalam sebuah penampang dari suatu tubulus, oleh karena itu harus diperiksa dengan teliti (pembesaran besar yaitu 40x10) di seluruh lapangan pandang preparat. Di dalam jaringan pengikat yang menunjang (di luar) tubulus seminiferus terdapat sel-sel interstitial (sel Leydig) yang menghasilkan hormon **testosteron**. Pada testis mamalia tidak dikenal adanya *cell nest* atau sarang sel.

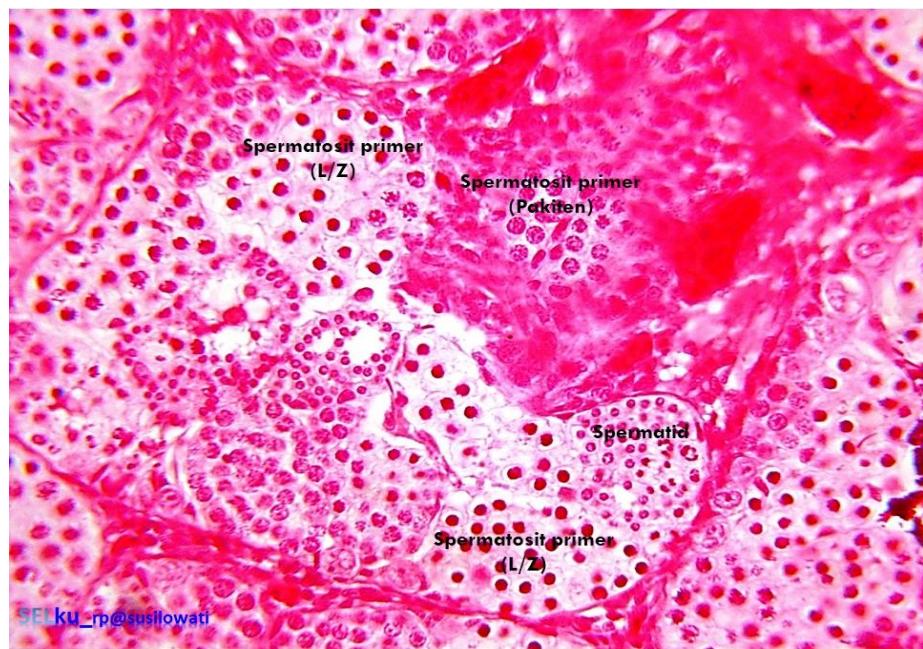
Tubulus seminiferus dikelilingi oleh jaringan ikat yang longgar dan area ini disebut **ruang intertubular**. Pada sediaan testis terlihat ruang antara setiap tubulus seminiferus dan jaringan ikat ruang intertubular merupakan artefak dari proses perendaman parafin (*embedding paraffin*). Tubulus seminiferus bertemu dengan tubulus lurus (juga disebut **tubuli recti**) yang dilalui oleh spermatid menuju rete testis dari mediastinum dan dari sana akan keluar dari testis. Lapisan jaringan ikat padat, yang disebut **tunika albuginea**, berfungsi membungkus testis. Tepat di bawah tunika albuginea terdapat **tubulus seminiferus**.



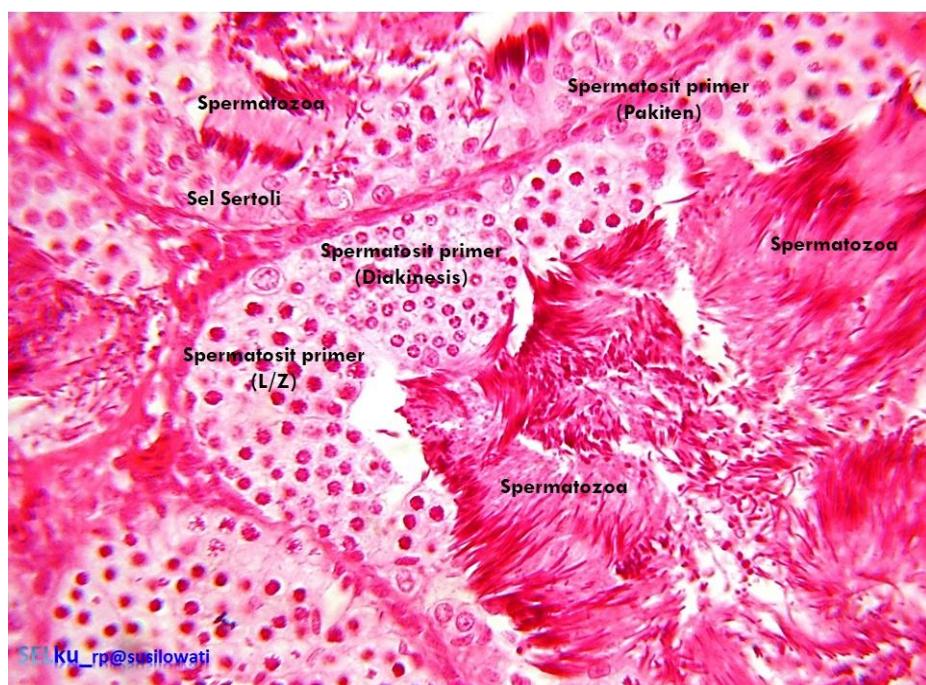
**Gambar 2-9** Fotomikroskopis testis katak (PAS, 40x). Testis dikelilingi oleh kapsul jaringan ikat yang padat. Mediastinum menerima spermatid yang diproduksi di tubulus seminiferus, yang terdiri dari sebagian besar testis



**Gambar 2-10** Fotomikroskopis testis katak (HE, 40x).



**Gambar 2-11** Fotomikroskopis testis katak (HE, 400x). Di dalam tubulus seminiferus terlihat proses spermatogenesis, yaitu proses perkembangan dari sel spermatogonia hingga menjadi sel spermatozoa. Sel spermatosit primer dapat dibedakan berdasarkan tahapannya



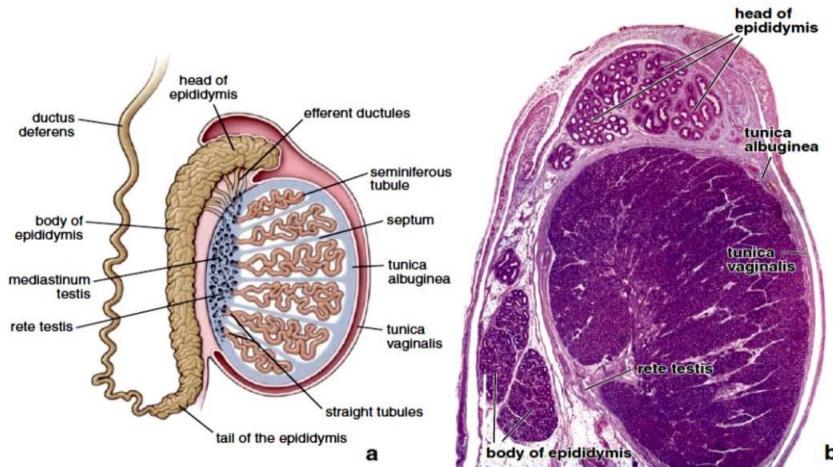
**Gambar 2-12** Fotomikroskopis testis katak (HE, 400x). Di dalam tubulus seminiferus terlihat sel Sertoli yang berfungsi memberi makan spermatozoa

## F. Spermatogenesis

Proses spermatogenesis dibagi menjadi dua yaitu **spermatositogenesis** (proses pembentukan mulai dari spermatogonia sampai dengan **spermatid**) dan **spermiogenesis** (proses pembentukan atau pematangan spermatid menjadi spermatozoa). Proses spermatogenesis dimulai dengan sel benih primitif yang disebut spermatogonia yang terletak dekat dengan lamina atau membran basalis. Spermatogonia merupakan sel yang relatif kecil dengan inti mengandung **kromatin** ireguler, membentuk kelompokkan-kelompokkan kasar. Pada pematangan seksual, sel-sel spermatogonia mengalami serangkaian **mitosis** berurutan, dan sel-sel yang baru terbentuk dapat mengikuti salah satu dari dua jalan, yaitu dapat melanjutkan diri seperti sel induk, setelah satu pembelahan mitosis atau lebih, dan sel-sel spermatogonia A terus menjadi sumber spermatogonia, atau dapat membelah dan tumbuh menjadi lebih besar daripada spermatogonia induk yang nantinya dinamakan spermatogonia B.

**Spermatogonia B** menghasilkan spermatosit primer. Segera setelah spermatosit primer terbentuk, maka sel tersebut berada dalam **profase** pembelahan meiosis pertama. Pada mamalia, spermatosit primer juga mengalami pembelahan menjadi fase **leptopten**, **zigoten**, **pakiten** dan **diakinesis** namun dengan mikroskop cahaya sulit dibedakan, dibandingkan dengan menggunakan preparat testis rana.

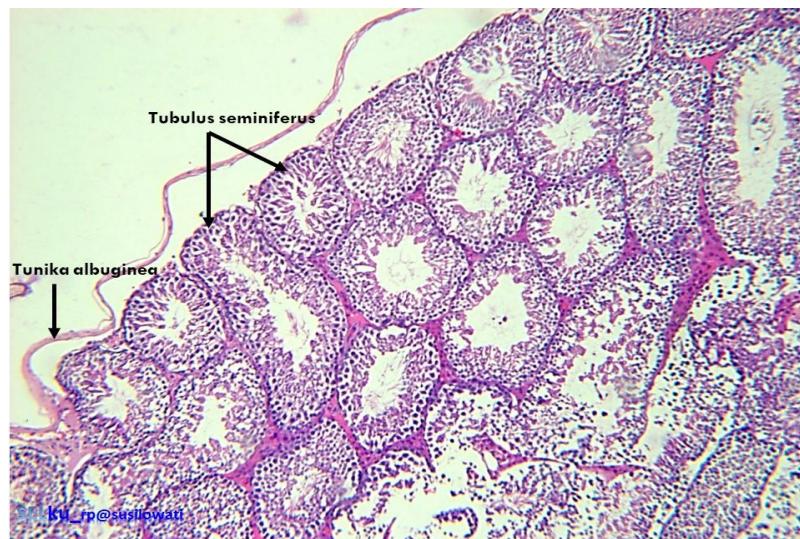
Spermatid adalah sel hasil dari pembelahan **spermatosit sekunder**. Spermatid dapat dibedakan dari ukurannya yang kecil, inti dengan daerah kromatin yang padat, dan terletak dekat bagian tengah **tubulus seminiferus**. Dengan terbentuknya, spermatid, proses spermatositogenesis berakhir. Setelah itu, spermatid mengalami proses diferensiasi yang kompleks yang dinamakan **spermiogenesis**, yang menghasilkan perubahan spermatid menjadi spermatozoa.



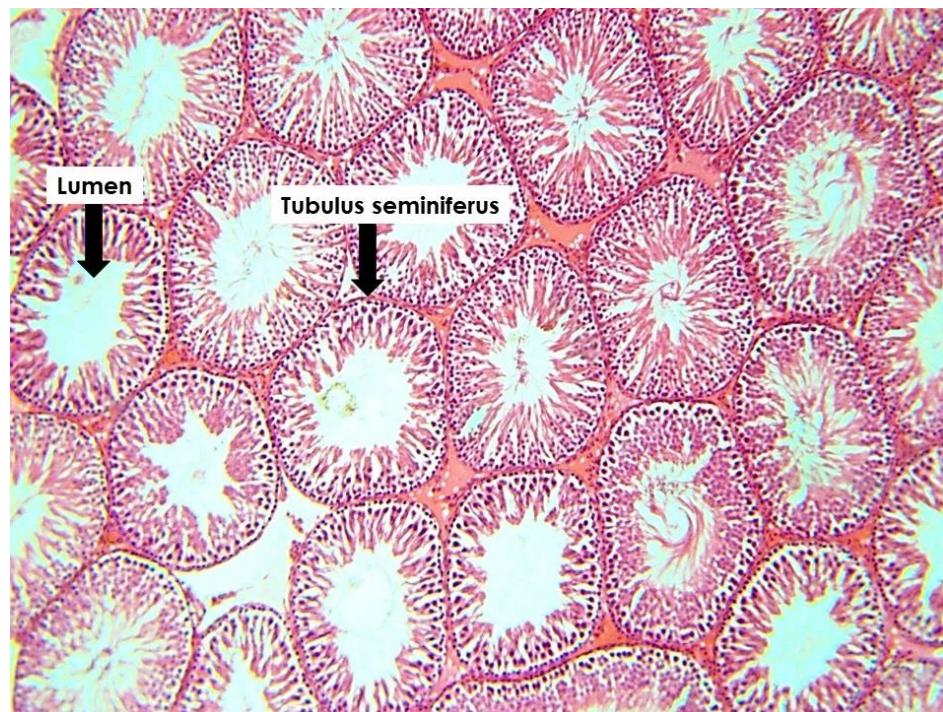
**Gambar 2-13** Potongan sagital testis manusia. (a) Diagram skematik ini menunjukkan bagian midsagital testis manusia. Sistem duktus genital, yang meliputi tubuli recti, rete testis, duktus eferen, duktus epididimis, dan duktus deferens juga ditampilkan. Perhatikan lapisan jaringan ikat yang tebal yang disebut tunika albuginea dan tunika vaginalis di sekitarnya. (b) Bagian sagital dari bagian testis yang diwarnai H&E dan kepala serta badan epididimis. Sekali lagi, perhatikan tunika albuginea dan tunika vaginalis di sekitarnya. Hanya sebagian kecil dari rete testis yang terlihat pada bagian ini. Hubungannya dengan sistem saluran arus tidak terlihat jelas pada bidang bagian ini (3x)

1. **Membran basalis** adalah lapisan tipis yang terdiri atas sel-sel gepeng yang merupakan dinding tubulus.
2. **Spermatosit primer** (spermatosit I), dalam keadaan profase terbagi atas beberapa substadium, diantaranya :
  - a. Leptoten, cirinya inti padat seperti benang wol, terletak pada umumnya lebih ke dalam dan membran basalis, sedangkan spermatogonia dan sel **Sertoli** pada membran basalis.
  - b. Zigoten, cirinya sulit dibedakan dari leptoten. Bentuk dan letaknya sama dengan leptoten.
  - c. Pakiten, cirinya inti bervariasi dari kecil sampai besar. Kromosom jelas berbentuk jaring-jaring. Letaknya agak ke dalam yaitu pada baris kedua dari membrana basalis. Baris pertama terisi oleh spermatogonia A, spermatogonia B dan sel Sertoli.
  - d. Diakinesis, terdapat pada potongan tubulus yang khusus, yaitu dimana terdapat banyak sel-sel dalam keadaan mitosis. Bentuk seperti pakiten yang besar, namun kromosomnya lebih tertarik ke tepi inti, sehingga di tengah relatif kosong.

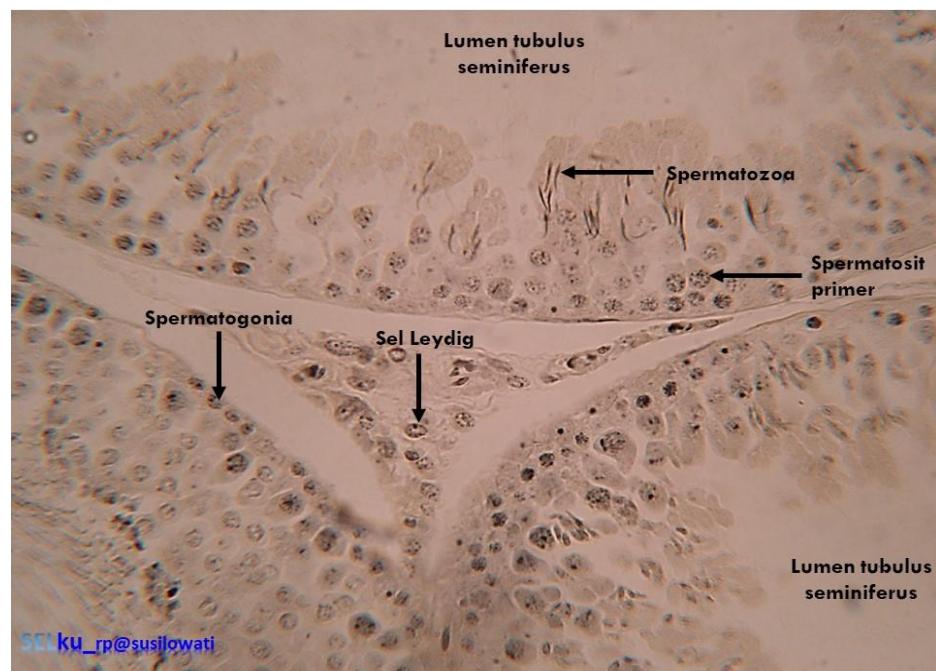
3. Spermatosit sekunder (spermatosit II), cirinya terdapat dalam tubulus bersama-sama dengan diakinesis spermatosit primer. Sel ini merupakan hasil pembelahan spermatosit primer, bentuknya bulat, struktur inti agak halus. Spermatosit sekunder hanya terdapat sebentar saja dan biasanya terus membagi diri dan membentuk tingkatan berikutnya.
4. Spermatid, merupakan hasil pembelahan spermatosit sekunder. Bentuk hampir sama dengan spermatosit sekunder tetapi dengan inti yang lebih kecil dan banyak sekali menempati baris ketiga, keempat, kadang-kadang sampai kelima dari membran basalis di sekitar lumen.
5. Spermatozoa.



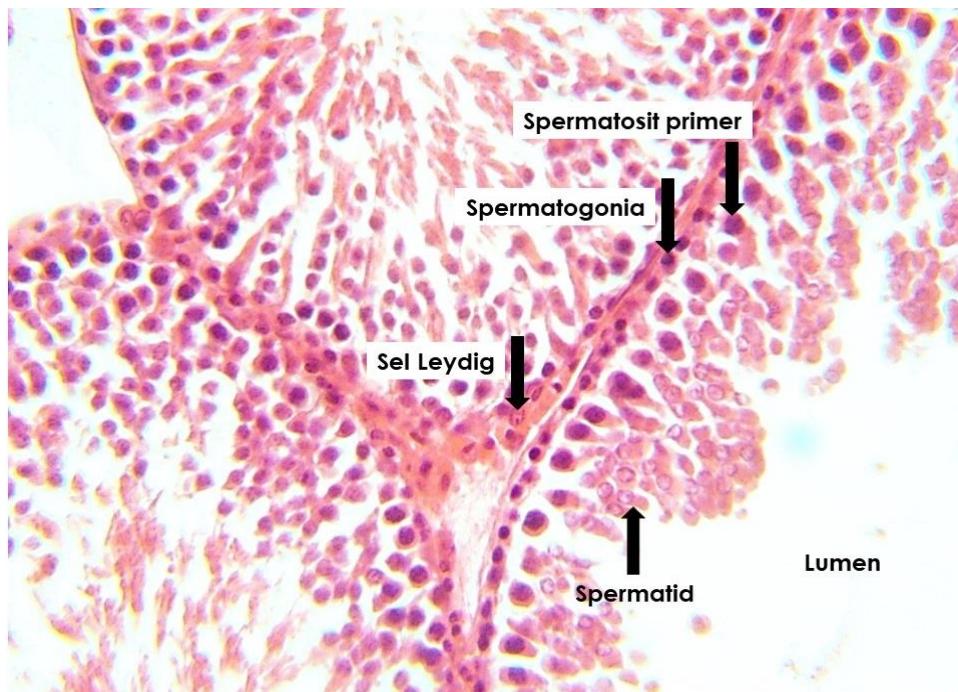
**Gambar 2-14** Fotomikroskopis testis (PAS, 40x), menunjukkan potongan melintang testis yang berisi ratusan tubulus seminiferus dengan lapisan terluarnya yang disebut tunika albuginea



**Gambar 2-15** Fotomikroskopsis testis (HE, 40x), menunjukkan potongan melintang testis yang berisi ratusan tubulus seminiferus dengan lapisan terluarnya yang disebut tunika albuginea



**Gambar 2-16** Fotomikroskopsis testis (PAS, 400x), terlihat sel Leydig atau sel Interstitial terletak di antara tubulus seminiferus. Di dalam tubulus seminiferus terjadi spermatogenesis, yaitu perkembangan sel spermatogonia hingga menjadi spermatozoa



**Gambar 2-17** Fotomikroskopsis testis (HE, 400x), terlihat sel Leydig atau sel Interstitial terletak di antara tubulus seminiferus. Di dalam tubulus seminiferus terjadi spermatogenesis, yaitu perkembangan sel spermatogonia hingga menjadi spermatozoa

## G. Struktur Spermatozoa

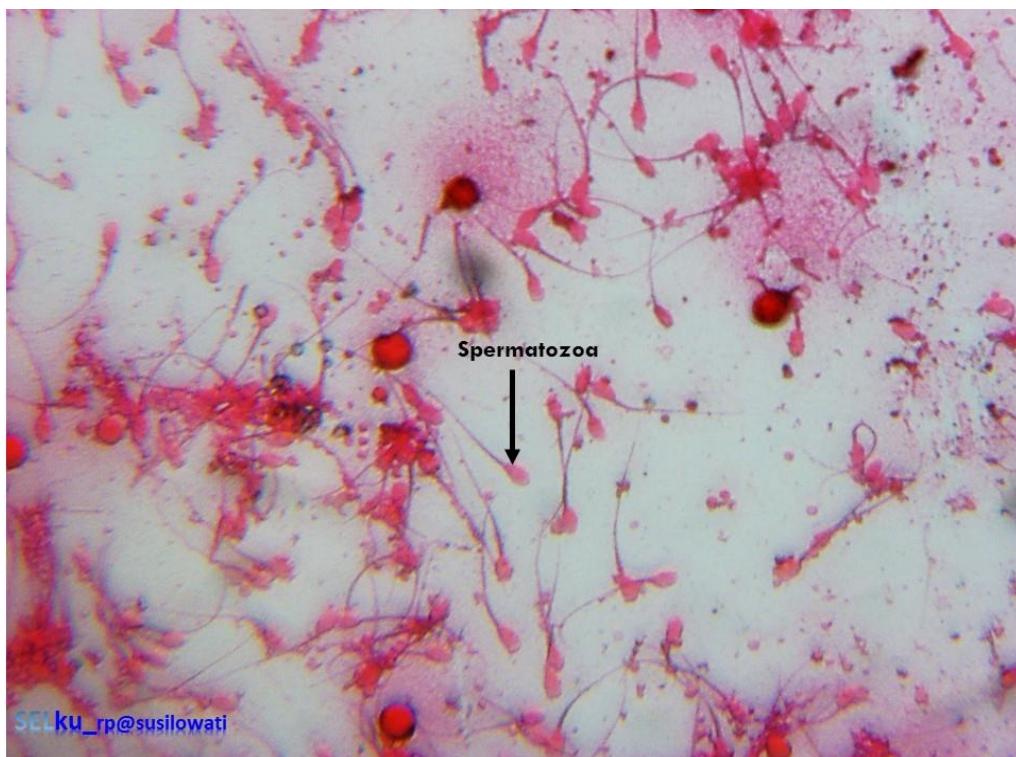
Ditinjau dari pihak laki-laki, **semen** merupakan bagian penting yang dapat digunakan untuk menilai tingkat kesuburan. Semen manusia terdiri dari dua bagian besar yaitu spermatozoa dan **plasma semen**. Spermatozoa diproduksi oleh kelenjar-kelenjar tambahan saluran reproduksi laki-laki. Spermatozoa yang diproduksi **testis** adalah sel tunggal yang terdiri atas kepala, leher serta ekor, dan panjangnya sekitar 50  $\mu\text{m}$ . Kepalanya berbentuk oval (lonjong).

Secara garis besar spermatozoa terdiri atas dua bagian utama yaitu kepala dan ekor, dimana bagian ekor dibagi lagi menjadi bagian tengah, bagian utama dan bagian akhir atau ujung. Spermatozoa mengandung komponen-komponen kimia penting, baik yang terdapat pada permukaan sel maupun yang di dalam sel.

**Akrosom** spermatozoa adalah suatu massa yang terdapat pada bagian anterior spermatozoa yang merupakan struktur berupa selubung yang menutupi kurang lebih dua pertiga daerah kepala spermatozoa. Akrosom penting karena mengandung enzim-enzim yaitu **akrosin**, **hialuronidase**, CPE (*Corona Penetrating Enzyme*). Sebagai contoh, akrosin

merupakan enzim proteolitik utama untuk menembus zona pelusida, hialuronidase berguna untuk menembus **cumulus oophorus**, CPE dipergunakan untuk menembus **corona radiata**. Enzim akrosom yang paling banyak dipelajari adalah akrosin, yaitu suatu proteinase yang selain berperan untuk menembus zona pelusida mungkin berperan dalam transport spermatozoa melalui mukus serviks.

Inti spermatozoa mengandung *Deoxyribonucleic acid* (DNA) dan mungkin *Ribonucleic acid* (RNA). **Vakuola** inti mengandung sejumlah unsur penting. Spermatozoa dapat dibedakan dengan pewarnaan Quinakrin hidroklorida menjadi sperma Y dan sperma X. Aspek leher dan ekor spermatozoa manusia masih sangat sedikit diketahui. Pada bagian *midpiece* atau bagian tengah terdapat **mitokondria** yang mengandung banyak protein dan lipid. Energi pada bagian tengah dalam bentuk *Adenosin Tri Phosphate* (ATP) mengaktifkan sistem **flagela**.



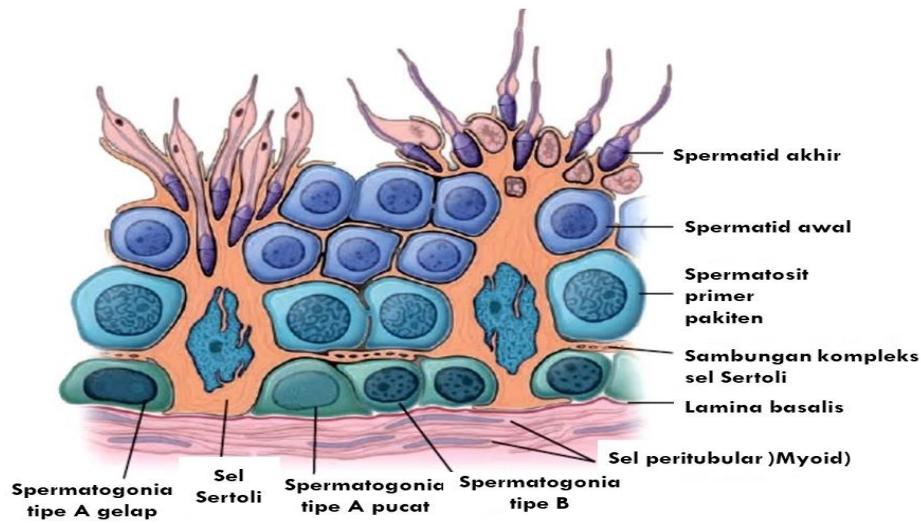
**Gambar 2-18** Struktur spermatozoa (Eosin, 1000x), terlihat kepala dan ekor spermatozoa di dalam semen

## 1. Pemeriksaan Makroskopis

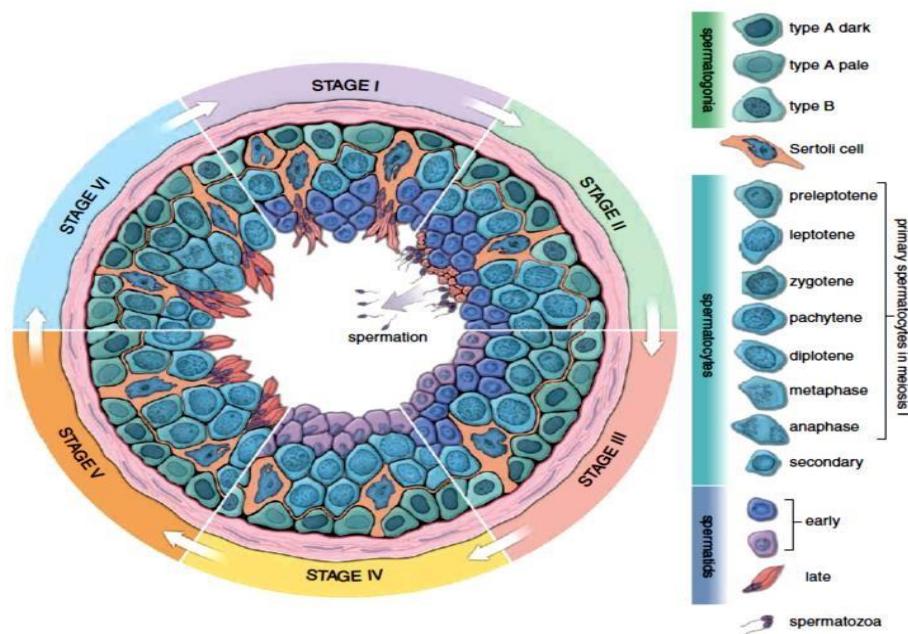
- a. **Volume** dengan normal 2-5 - 5 mL, namun volume diluar kisaran tersebut kurang dikaitkan dengan infertilitas.
- b. **Warna dan kekeruhan** sperma juga biasa diperiksa walaupun hal ini tidak berhubungan dengan jumlah spermatozoa. Sperma normal berwarna putih atau kekuning-kuningan dan terlihat keruh.
- c. **Liquifikasi/Pencairan:** Sperma yang baru dikeluarkan kental sekali dan akan mencair dalam waktu 10 - 20 menit di suhu ruangan. Apabila lewat 20 menit sperma belum mencair merupakan keadaan yang perlu dilaporkan.
- d. **Kekentalan/Viskositas** bisa diamati dari panjangnya tetesan dengan normal < 2cm atau lamanya terbuat tetesan dengan normal < 2 detik.
- e. **pH** diukur dengan kertas indikator dengan nilai normal 7.0 – 7.8.

## 2. Pemeriksaan Mikroskopis

- a. **Uji motilitas**, untuk melihat jumlah persentase spermatozoa yang bergerak aktif dan tidak aktif.
- b. **Uji vitalitas**, untuk membedakan spermatozoa yang hidup atau mati diantara spermatozoa tidak aktif.
- c. **Hitung jumlah**, bertujuan menghitung jumlah spermatozoa dalam 1 mL. Jumlah normal spermatozoa adalah 20 juta per mL hingga 150 juta per mL. Jumlah spermatozoa kurang dari 20 juta per mL dianggap kurang memadai dalam hal fertilitas. Jumlah spermatozoa juga dinyatakan dalam jumlah per ejakulat dengan normal 40 – 300 juta per ejakulat.
- d. **Morfologi spermatozoa**, bertujuan untuk melihat bentuk-bentuk spermatozoa yang ada dan menentukan persentase bentuk abnormal yang ditemukan. Bentuk abnormal yang biasa ditemukan seperti kepala terlalu kecil/besar, ekor yang bengkok, tidak ada ekor, ada dua ekor, ekor amat pendek dll. Jika ditemukan lebih dari 20% bentuk abnormal maka kemungkinan tingkat fertilitas berkurang.



**Gambar 2-19** Gambar skema epitel seminiferus manusia. Gambar ini menunjukkan hubungan sel Sertoli dengan sel spermatogenik. Epitel seminiferus terletak pada lamina basal dan lapisan sel peritubular mengelilingi tubulus seminiferus. Spermatogonia tipe A pucat, tipe A gelap, dan tipe B pucat dan spermatosit preleptoten terletak di ruangan basal epitel seminiferus di bawah kompleks junctional di antara sel Sertoli yang berdekatan. Spermatosit primer pakiten, spermatid awal, dan spermatid akhir dengan sisa sitoplasma yang berpartisi menjadi badan residu, terlihat di atas kompleks junctional di kompartemen abluminal



**Gambar 2-20** Skema tahapan epitel seminiferus manusia. Diagram ini menunjukkan masing-masing dari enam asosiasi sel yang dapat dikenali (tahapan) yang terjadi dalam siklus epitel seminiferus manusia. Tahapan spermatogenesis ini secara artifisial ditentukan menurut perubahan yang diamati pada spermatid selama berbagai langkah diferensiasinya. Pada tahun 1952, enam tahap epitel seminiferus manusia pertama kali dijelaskan oleh Leblond dan Clermont, dan sejak itu, mereka telah diadopsi oleh sebagian besar peneliti. Tahapan diberi label dengan angka Romawi I sampai VI

# PRAKTIKUM JARINGAN REPRODUKSI BETINA

## SEDIAAN: OVARIUM KATAK

Pewarnaan: HE

Gunakan pembesaran 100x untuk melihat proses perkembangan folikel (folikulogenesis) di dalam ovarium. Sebutkan bagian yang ditunjuk:

A. \_\_\_\_\_

B. \_\_\_\_\_

C. \_\_\_\_\_

D. \_\_\_\_\_



## SEDIAAN: OVARIUM TIKUS (FOLIKEL PRIMER)

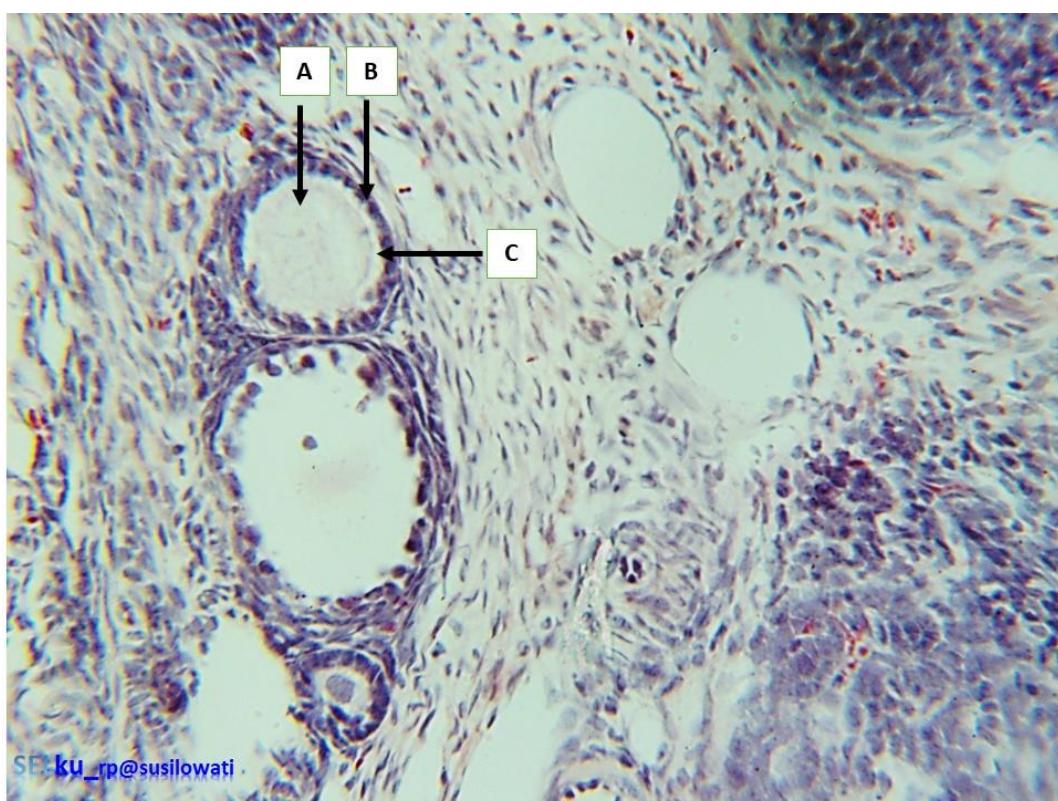
Pewarnaan: PAS

Gunakan pembesaran 100x untuk melihat proses perkembangan folikel (folikulogenesis) di dalam ovarium. Sebutkan bagian yang ditunjuk:

A. \_\_\_\_\_

B. \_\_\_\_\_

C. \_\_\_\_\_



## **SEDIAAN: OVARIUM TIKUS (FOLIKEL SEKUNDER)**

Pewarnaan: HE

Gunakan pembesaran 100x untuk melihat proses perkembangan folikel (folikulogenesis) di dalam ovarium. Sebutkan bagian yang ditunjuk:

A. \_\_\_\_\_

B. \_\_\_\_\_

C. \_\_\_\_\_

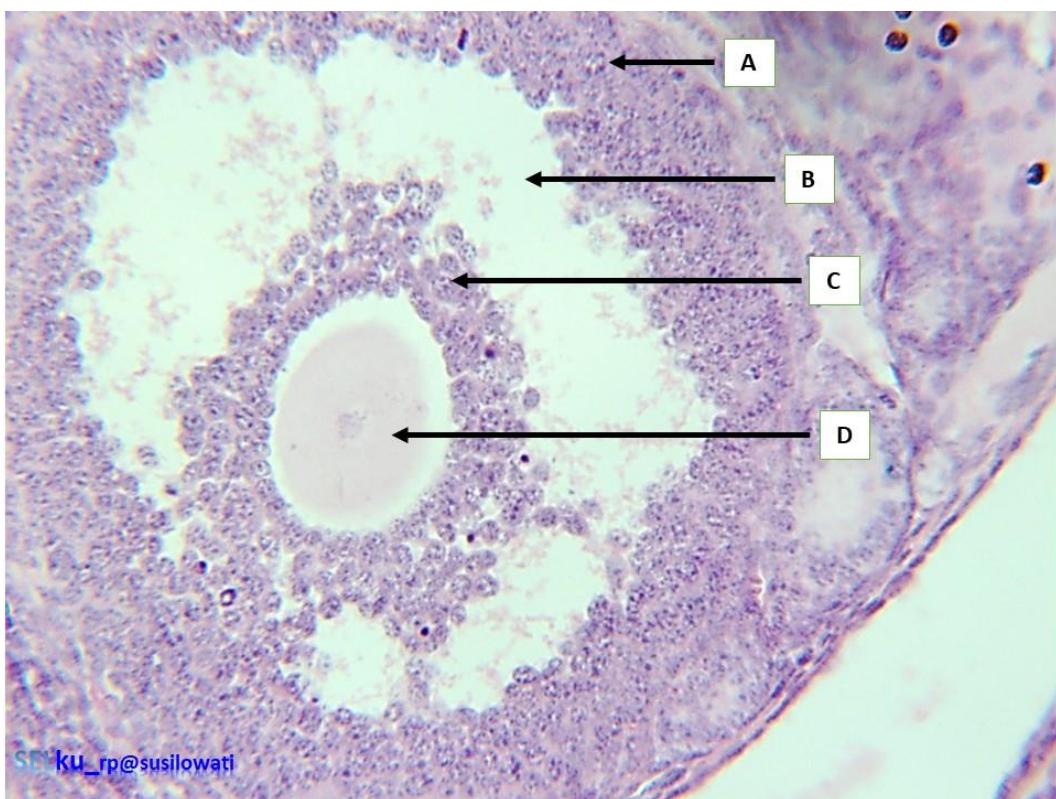


## SEDIAAN: OVARIUM TIKUS (FOLIKEL DE GRAAF)

Pewarnaan: HE

Gunakan pembesaran 100x untuk melihat proses perkembangan folikel (folikulogenesis) di dalam ovarium. Sebutkan bagian yang ditunjuk:

- A. \_\_\_\_\_
- B. \_\_\_\_\_
- C. \_\_\_\_\_
- D. \_\_\_\_\_



# PRAKTIKUM JARINGAN REPRODUKSI JANTAN

## SEDIAAN: TESTIS RANA (KATAK)

Pewarnaan: HE

Dengan menggunakan pembesaran 40x, terlihat potongan melintang testis terdiri dari lapisan pelindung yang disebut tunika albuginea dan tubulus seminiferus.

Sebutkan bagian yang ditunjuk:

A. \_\_\_\_\_

B. \_\_\_\_\_



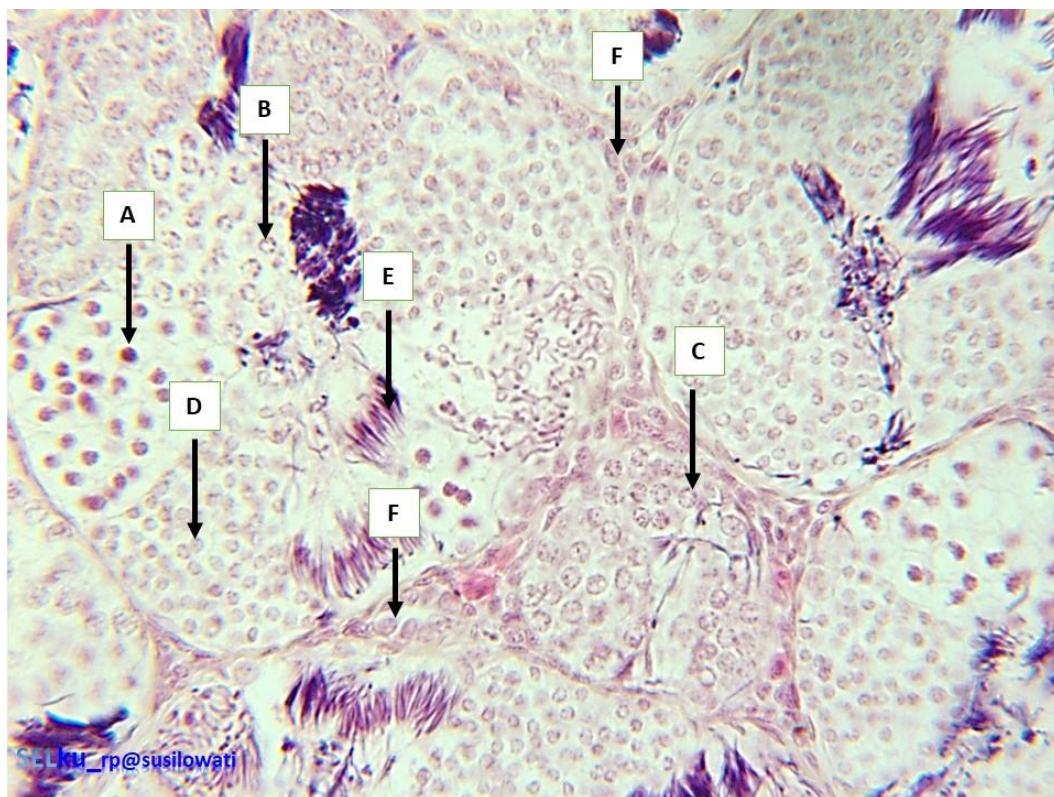
## SEDIAAN: TESTIS RANA (KATAK)

Pewarnaan: PAS

Dengan menggunakan pembesaran 400x, akan terlihat sel-sel spermatogenik baik yang terdapat di dalam tubulus seminiferus maupun di luar tubulus seminiferus. Pada sediaan katak terlihat jelas perbedaan sel spermatosit primer fase pakiten, fase diakinesis dan fase leptoten/zigoten.

Sebutkan bagian yang ditunjuk:

- A. \_\_\_\_\_
- B. \_\_\_\_\_
- C. \_\_\_\_\_
- D. \_\_\_\_\_
- E. \_\_\_\_\_
- F. \_\_\_\_\_



## SEDIAAN: TESTIS RANA (KATAK)

Pewarnaan: HE

Dengan menggunakan pembesaran 400x, akan terlihat sel-sel spermatogenik baik yang terdapat di dalam tubulus seminiferus maupun di luar tubulus seminiferus. Pada sediaan katak terlihat jelas perbedaan sel spermatosit primer fase pakiten, fase diakinesis dan fase leptoten/zigoten.

Sebutkan bagian yang ditunjuk:

- A. \_\_\_\_\_
- B. \_\_\_\_\_
- C. \_\_\_\_\_
- D. \_\_\_\_\_
- E. \_\_\_\_\_
- F. \_\_\_\_\_



## **SEDIAAN: TESTIS RAT (TIKUS)**

Pewarnaan: PAS

Dengan menggunakan pembesaran 40x, terlihat potongan melintang testis terdiri dari lapisan pelindung yang disebut tunika albuginea dan tubulus seminiferus.

Sebutkan bagian yang ditunjuk:

A. \_\_\_\_\_

B. \_\_\_\_\_



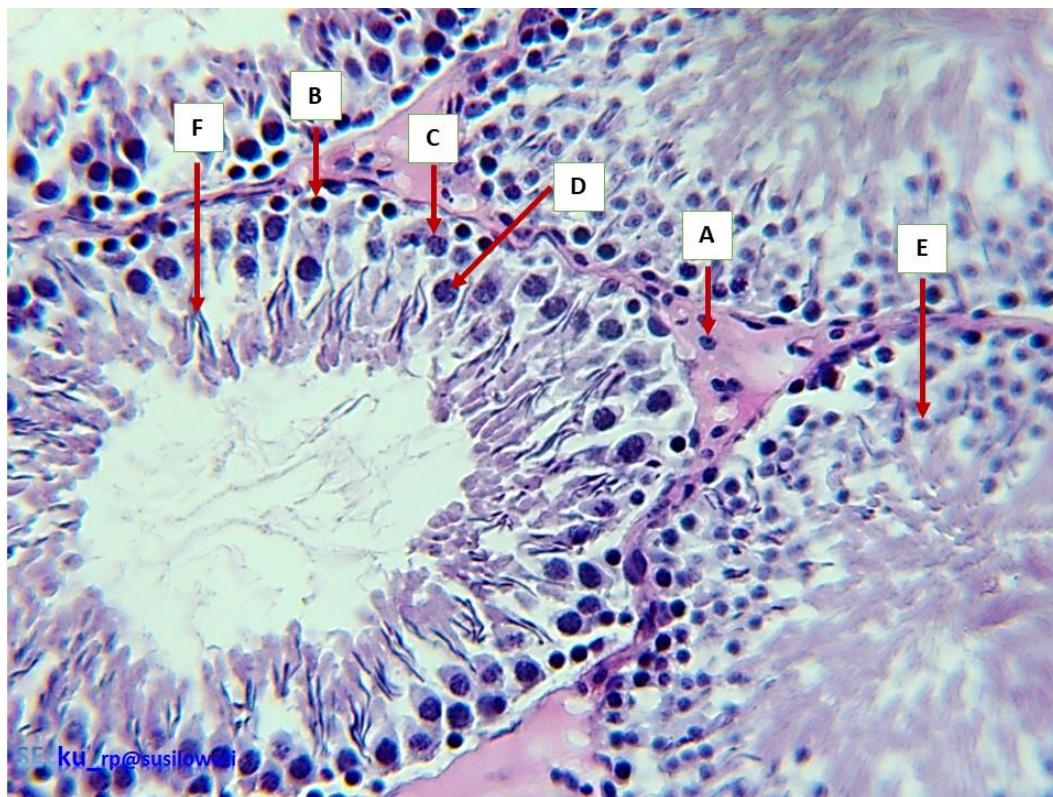
## SEDIAAN: TESTIS RAT (TIKUS)

Pewarnaan: PAS

Dengan menggunakan pembesaran 400x, akan terlihat sel-sel spermatogenik baik yang terdapat di dalam tubulus seminiferus maupun di luar tubulus seminiferus. Proses spermatogenesis diawali dengan perkembangan dari spermatogonia, spermatosit primer, spermatosit sekunder (seringkali sulit diamati di bawah mikroskop), spermatid bulat, dan spermatozoa. Selain itu di dalam tubulus seminiferus juga dijumpai adanya sel Sertoli, sedangkan sel Leydig dijumpai di luar tubulus seminiferus (di antara persimpangan 2-3 tubulus seminiferus).

Sebutkan bagian yang ditunjuk:

- A. \_\_\_\_\_
- B. \_\_\_\_\_
- C. \_\_\_\_\_
- D. \_\_\_\_\_
- E. \_\_\_\_\_
- F. \_\_\_\_\_



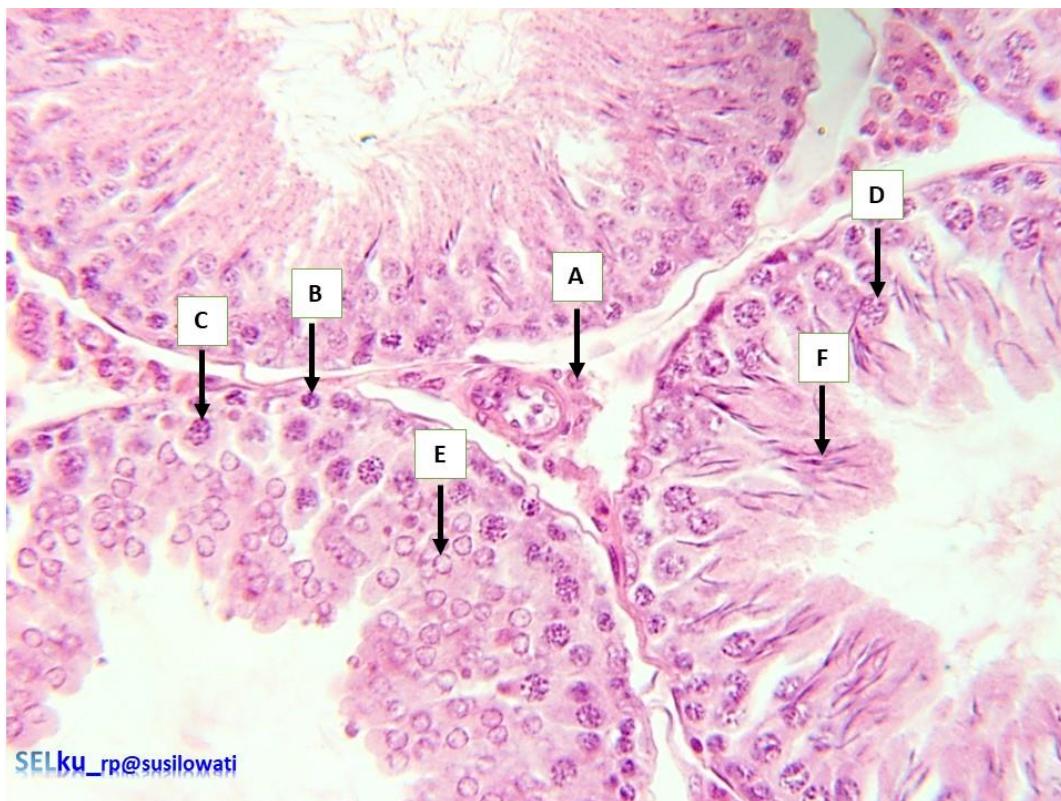
## SEDIAAN: TESTIS RAT (TIKUS)

Pewarnaan: HE

Dengan menggunakan pembesaran 400x, akan terlihat sel-sel spermatogenik baik yang terdapat di dalam tubulus seminiferus maupun di luar tubulus seminiferus. Proses spermatogenesis diawali dengan perkembangan dari spermatogonia, spermatosit primer, spermatosit sekunder (seringkali sulit diamati di bawah mikroskop), spermatid bulat, dan spermatozoa. Selain itu di dalam tubulus seminiferus juga dijumpai adanya sel Sertoli, sedangkan sel Leydig dijumpai di luar tubulus seminiferus (di antara persimpangan 2-3 tubulus seminiferus)

Sebutkan bagian yang ditunjuk:

- A. \_\_\_\_\_
- B. \_\_\_\_\_
- C. \_\_\_\_\_
- D. \_\_\_\_\_
- E. \_\_\_\_\_
- F. \_\_\_\_\_



## BAB 3

# FERTILISASI (PEMBUAHAN)

**Fertilisasi** atau pembuahan adalah proses di mana sperma membuahi sel telur dan hasilnya disebut **zigot**, atau dapat dikatakan gamet yang menyatu untuk memulai penciptaan individu baru yang genomnya berasal dari kedua orang tuanya. Pembuahan memiliki dua tujuan yang berbeda, yaitu: seks (penggabungan gen yang berasal dari dua orang tua) dan reproduksi (generasi organisme baru). Dengan demikian, fungsi pertama fertilisasi adalah untuk mentransmisikan gen dari induk ke keturunannya dan yang kedua adalah untuk memulai reaksi-reaksi di dalam sitoplasma sel telur yang memungkinkan perkembangan lebih lanjut. Proses ini ditandai dengan peristiwa-peristiwa berikut:

1. Fertilisasi atau pembuahan bersifat eksternal.
2. Fertilisasi yang terjadi termasuk golongan monospermia yaitu hanya satu sperma yang menyatu dengan sel telur.
3. Telur yang telah dibuahi berputar sedemikian rupa sehingga hemisfer animal berada di atasnya.
4. Lapisan jeli membengkak dan bertambah tebal.
5. Pembelahan meiosis kedua selesai sehingga terjadi pelepasan *polar body* yang kedua.
6. Sperma memasuki sel telur di hemisfer animal pada sudut 400 dari pusat kutub animal.
7. Segera setelah sperma masuk ke dalam sel telur, membran vitellina menjadi terangkat. Membran ini sekarang disebut membran fertilisasi. Ruang antara membran ini dan permukaan telur disebut ruang perivitellina yang berisi cairan yang disebut cairan perivitellina. Dalam cairan ini, sel telur yang telah dibuahi dapat berputar dengan bebas. Rotasi telur tidak bisa dihindari untuk proses perkembangan normal. Segera setelah pembuahan, kutub animal yang berwarna hitam ditempatkan di atas dan kutub vegetal yang sarat kuning telur di bawah.

8. Sebelum telur dilepaskan ke dalam air, lapisan jelly masih tipis. Saat telur dilepaskan ke dalam air, lapisan jeli menyerap air dan mulai membengkak hingga ketebalan jeli menjadi dua kali diameter telur.
9. Pembelahan pematangan kedua selesai segera setelah pembuahan. Akibatnya, sel telur yang telah dibuahi melepaskan *polar body* kedua.
10. Pronukleus telur dan pronukleus sperma bergabung bersama untuk membentuk inti zigotik. Proses ini disebut *amphimixis*.
11. Di satu sisi tepat di bawah ekuator, muncul daerah seperti bulan sabit (*crescent*) yang berwarna abu-abu. Daerah ini disebut bulan sabit abu-abu (*grey crescent*). Tampaknya berlawanan dengan titik masuknya sperma. Wilayah *grey crescent* akan menjadi sisi posterior dan wilayah yang berlawanan akan menjadi sisi anterior embrio yang akan terbentuk. Hal ini mengarah pada pembentukan simetri bilateral yang pasti pada sel telur yang telah dibuahi. Telur yang tidak dibuahi bersifat simetris secara radial.
12. Sperma menembus sel telur secara tegak lurus (*perpendicular*) dengan korteks. Setelah penetrasi, sperma bergerak di korteks secara tegak lurus, sepanjang radius sel telur. Jalur sperma ini ditandai dengan butiran atau granule berpigmen. Jalur sperma di korteks telur ini disebut jalur penetrasi. Setelah melewati korteks, sperma berubah arah dan bergerak menuju inti sel telur. Jalur yang berubah ini juga ditandai dengan butiran pigmen dan disebut jalur kopulasi.

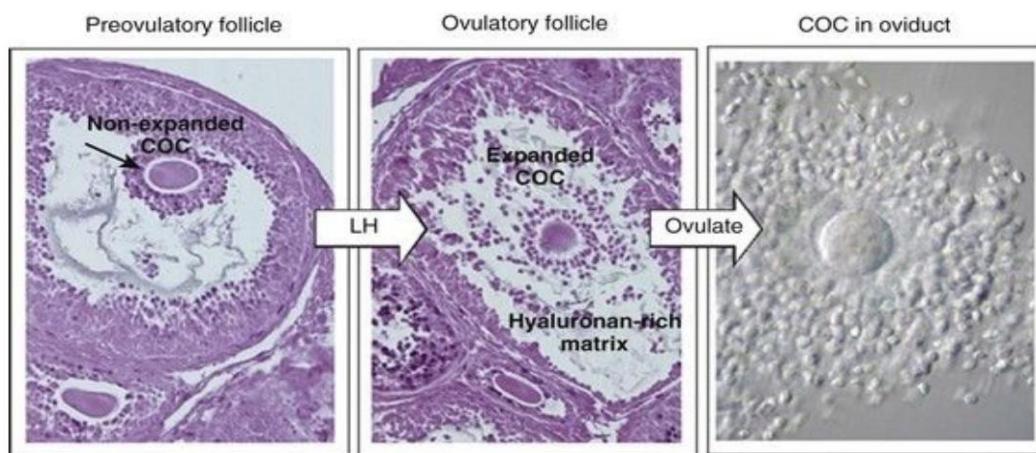
## A. Struktur Gamet

Suatu tahapan struktur yang kompleks terjadi antara sel telur dan sperma. Sel telur mengaktifkan metabolisme sperma yang penting untuk fertilisasi, dan sperma membalasnya dengan mengaktifkan metabolisme sel telur yang diperlukan untuk permulaan perkembangan. Namun sebelum kita membahas aspek-aspek fertilisasi ini, kita perlu mempertimbangkan struktur sperma dan sel telur, yaitu dua jenis sel yang dikhususkan untuk fertilisasi.

### 1. Ovulasi

Menjelang titik tengah siklus menstruasi, folikel de Graaf yang telah matang, yang berisi sel telur yang telah ditangkap pada fase profase pembelahan meiosis pertama, telah berpindah ke permukaan

ovarium. Di bawah pengaruh *follicle stimulating hormone* (FSH) dan *luteinizing hormone* (LH), folikel mengembang secara dramatis. Pembelahan meiosis pertama selesai, dan pembelahan meiosis kedua berlanjut hingga tahap metafase, di mana terjadi penghentian meiosis kedua. Setelah pembelahan meiosis pertama, badan kutub pertama dikeluarkan. Pada titik ini, folikel menonjol dari permukaan ovarium. Puncak tonjolan tersebut adalah **stigma**.



**Gambar 3-1** Perubahan pada *cumulus-oocyte complex* (COC) kelinci selama pematangan folikel dan ovulasi. Pada folikel praovulasi, sel-sel cumulus (panah) dikemas dengan rapat di sekitar oosit. Karena folikel distimulasi oleh hormon (LH) sebelum ovulasi, sel-sel cumulus menghasilkan matriks ekstraseluler dan menjadi tidak terlalu padat pada saat ovulasi. Oosit yang telahiovulasikan masih dikelilingi oleh sel cumulus [Carlson, 2014]

Rangsangan untuk ovulasi adalah lonjakan LH yang dikeluarkan oleh hipofisis anterior pada titik tengah siklus menstruasi. Dalam beberapa jam setelah terpapar lonjakan LH, folikel mengatur ulang program ekspresi gennya dari yang diarahkan pada perkembangan folikel menjadi molekul yang memproduksi molekul yang mengatur proses pecahnya folikel dan ovulasi. Tak lama setelah pengeluaran puncak hormon luteinizing, aliran darah lokal meningkat di lapisan luar dinding folikel. Seiring dengan peningkatan aliran darah, protein plasma mengalir ke dalam jaringan melalui venula pascakapiler, yang mengakibatkan edema lokal. Edema dan pelepasan senyawa aktif farmakologis tertentu, seperti prostaglandin, histamin, vasopresin, dan aktivator plasminogen, memberikan titik awal untuk

serangkaian reaksi yang menghasilkan produksi lokal **matriks metaloproteinase**, kelompok enzim litik yang mendegradasi komponen matriks ekstraseluler.

Pada saat yang sama, sekresi asam hialuronat oleh sel-sel cumulus menghasilkan pelonggaran sel-sel yang mengelilingi sel telur. Kerja enzim litik dari matriks metaloproteinase menghasilkan reaksi seperti inflamasi yang pada akhirnya mengakibatkan pecahnya dinding folikel luar, sekitar 28 hingga 36 jam setelah peningkatan hormon luteinizing. Dalam beberapa menit setelah pecahnya dinding folikel, cumulus oophorus terlepas dari granulosa, dan sel telur dilepaskan dari ovarium.

Ovulasi menghasilkan pengeluaran cairan antrum dan sel telur dari ovarium ke dalam rongga peritoneum. Sel telur (ovum) tidak diovasikan sebagai satu sel tunggal, tetapi sebagai suatu kompleks yang terdiri dari (1) sel telur, (2) zona pelusida, (3) corona radiata setebal dua sampai tiga sel, dan (4) matriks lengket yang mengandung sel-sel di sekelilingnya dari oophorus cumulus. Berdasarkan konvensi, sel-sel cumulus yang menempel disebut sebagai **corona radiata** setelah ovulasi terjadi. Biasanya, satu sel telur dilepaskan pada saat ovulasi. Pelepasan dan fertilisasi dua sel telur dapat menghasilkan **kembar fraternal**.

## 2. Transport Telur

Langkah pertama dalam transportasi sel telur adalah penangkapan sel telur yang telah diovasikan oleh tuba uterina. Sesaat sebelum ovulasi, sel epitel tuba uterina menjadi lebih bersilia, dan aktivitas otot polos di dalam tuba serta ligamentum suspensoriknya meningkat akibat pengaruh hormonal. Pada saat ovulasi, **fimbria tuba uterina** bergerak lebih dekat ke ovarium dan tampak menyapu permukaannya secara berirama. Tindakan ini, di samping arus yang dibentuk oleh silia, secara efisien menangkap kompleks sel telur yang telah diovasikan. Studi eksperimental pada kelinci telah menunjukkan bahwa massa yang disediakan oleh penutup sel telur yang telah diovasikan adalah penting dalam memfasilitasi penangkapan dan pengangkutan sel telur oleh tuba

uterina. Sel telur yang sudah tidak dikelilingi oleh sel folikel, dan merupakan massa yang membengkak dengan ukuran sebesar itu tentunya tidak mudah untuk diangkat. Penangkapan sel telur oleh tuba uterina juga melibatkan interaksi perekat antara kompleks sel telur dan permukaan siliaris tuba uterina.

Bahkan tanpa jenis adaptasi alami ini, kemampuan tuba uterina untuk menangkap sel telur sangatlah luar biasa. Jika ujung tuba uterina yang berfimbriae telah diangkat, maka penangkapan sel telur sangat sering terjadi, dan kehamilan bahkan pernah terjadi pada perempuan yang memiliki satu ovarium dan tuba uterina kontralateral yang telah diangkat. Dalam kasus seperti itu, sel telur yang telah dibuahi harus bergerak bebas di dalam rongga panggul (*pelvic cavity*) untuk jarak yang cukup jauh sebelum memasuki ostium tuba uterina di sisi yang lain.

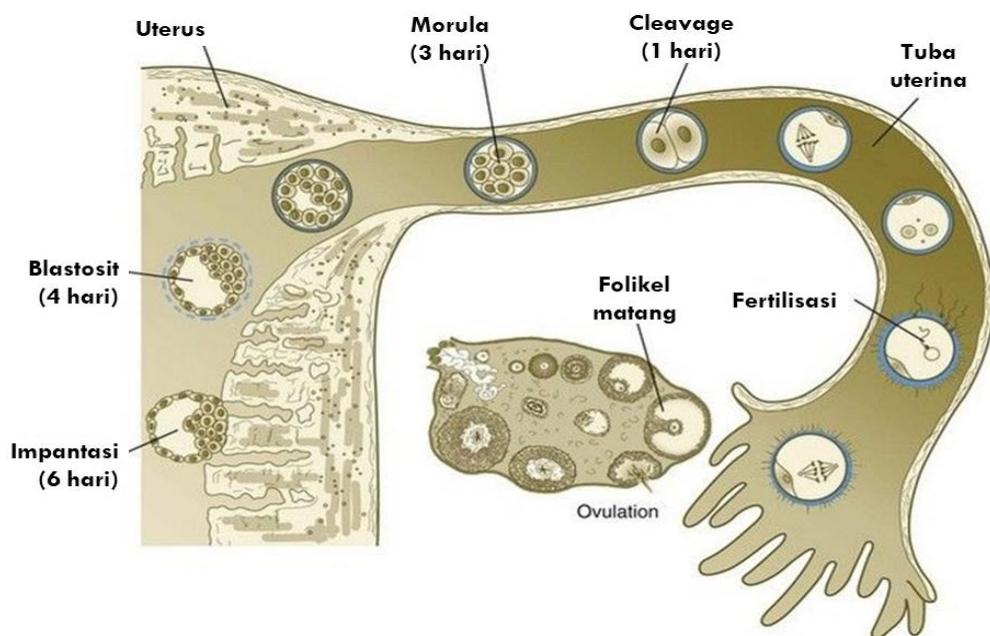
Ketika berada di dalam tuba falopi (tuba uterina), sel telur diangkat menuju uterus, terutama akibat kontraksi otot polos dinding tuba uterina. Meskipun silia yang melapisi mukosa tuba uterina juga dapat berperan dalam pengangkutan sel telur, namun tindakannya tidak wajib karena perempuan dengan **sindrom silia imotil** sering kali subur.

Saat berada di dalam tuba uterina, sel telur berisi **cairan tuba**, yang merupakan kombinasi dari sekresi sel epitel tuba dan transudat dari kapiler tepat di bawah epitel. Pada beberapa mamalia, paparan sekresi oviduk penting untuk kelangsungan hidup sel telur dan untuk memodifikasi komposisi zona pelusida, tetapi peran cairan tuba pada manusia kurang jelas.

Pengangkutan sel telur melalui tuba uterina biasanya memakan waktu 3 sampai 4 hari, baik terjadi fertilisasi atau tidak. Pengangkutan sel telur biasanya terjadi dalam dua fase, yaitu: pengangkutan yang lambat di dalam ampula (sekitar 72 jam) dan fase yang lebih cepat (8 jam) di mana sel telur atau embrio melewati isthmus dan masuk ke dalam uterus. Dengan mekanisme yang kurang dipahami, kemungkinan edema lokal atau berkurangnya aktivitas otot, sel telur untuk sementara waktu dicegah untuk memasuki bagian isthmus tuba

uterina, tetapi di bawah pengaruh progesteron, persimpangan uterotuba mengendur dan memungkinkan masuknya sel telur.

Sekitar 80 jam setelah ovulasi, sel telur yang telah dibuahi atau embrio telah berpindah dari tuba falopi ke dalam uterus. Jika fertilisasi tidak terjadi, maka sel telur akan mengalami degenerasi dan difagositosis.



Gambar 3-2 Perkembangan folikel dalam ovarium, ovulasi, fertilisasi, dan pengangkutan embrio awal ke dalam tuba uterina dan masuk ke dalam uterus [Carlson, 2014]

### 3. Spermatozoa

Hanya dalam 135 tahun terakhir, peran sperma dalam fertilisasi telah diketahui. Anton van Leeuwenhoek, adalah seorang ahli mikroskop Belanda yang turut menemukan sperma pada tahun 1670-an, dan yang pertama kali meyakini bahwa sperma adalah hewan parasit yang hidup di dalam air mani (oleh karena itu disebut spermatozoa, yang berarti "hewan berbiji"). Meskipun pada awalnya van Leeuwenhoek berasumsi bahwa sperma tidak ada hubungannya dengan reproduksi organisme tempatnya ditemukan, Leeuwenhoek kemudian meyakini bahwa setiap sperma mengandung embrio yang telah terbentuk sebelumnya. Leeuwenhoek (1685) menulis bahwa sperma adalah benih (baik sperma maupun air mani berarti "benih"),

dan bahwa perempuan hanya menyediakan tanah yang merupakan nutrisi tempat benih ditanam. Dalam hal ini, Leeuwenhoek kembali ke jaman prokreasi yang dicetuskan oleh Aristoteles 2000 tahun sebelumnya.

Bukti pertama yang menunjukkan pentingnya sperma dalam reproduksi berasal dari serangkaian eksperimen yang dilakukan oleh Lazzaro Spallanzani pada akhir tahun 1700-an. Spallanzani menginduksi katak jantan untuk berejakulasi ke dalam celana taffeta dan menemukan bahwa air mani katak yang telah disaring ternyata tidak mengandung sperma, sehingga air mani tersebut tidak dapat membuahi sel telur. Spallanzani bahkan menunjukkan bahwa air mani harus menyentuh sel telur agar dapat berfungsi. Namun, Spallanzani (seperti banyak orang lain) merasa bahwa "hewan" sperma adalah parasit di dalam cairan, dan berpikir bahwa embrio terkandung di dalam sel telur dan membutuhkan cairan sperma untuk mengaktifkannya.

Kombinasi lensa mikroskopis yang lebih baik dan penjelasan teori sel (bahwa semua kehidupan adalah sel, dan semua sel berasal dari sel yang sudah ada sebelumnya) menghasilkan pandangan baru terhadap fungsi sperma. Pada tahun 1824, JL Prevost dan JB Dumas menyatakan bahwa sperma bukanlah parasit, melainkan agen aktif fertilisasi. Prevost dan Dumas mencatat keberadaan sperma secara universal pada laki-laki yang matang secara seksual dan ketiadaan sperma pada individu yang belum matang dan lanjut usia. Pengamatan ini, ditambah dengan ketiadaan sperma pada keledai yang mandul, meyakinkan bahwa "ada hubungan yang erat antara keberadaan sperma di dalam organ tubuh dan kapasitas pembuahan hewan." Keduanya mengusulkan bahwa sperma memasuki sel telur dan berkontribusi secara material pada generasi berikutnya.

Klaim ini sebagian besar diabaikan hingga tahun 1840-an, ketika Albert von Kolliker menggambarkan pembentukan sperma dari sel-sel dalam testis orang dewasa. Von Kolliker mengejek gagasan bahwa air mani bisa normal namun dapat mendukung sejumlah besar hewan parasit. Meski begitu, von Kolliker menyangkal adanya kontak fisik antara sperma dan sel telur. Kolliker percaya bahwa sperma

mendorong sel telur untuk berkembang dengan cara yang sama seperti magnet mengomunikasikan keberadaannya pada besi. Baru pada tahun 1876, Oscar Hertwig dan Herman Fol secara independen mendemonstrasikan masuknya sperma ke dalam sel telur dan penyatuan inti kedua sel tersebut. Hertwig telah mencari organisme yang cocok untuk pengamatan mikroskopis yang mendetail, dan menemukan bulu babi Mediterania (*Paracentrotus lividus*) yang sempurna untuk tujuan ini. Tidak hanya itu, landak laut Mediterania juga umum ditemukan hampir sepanjang tahun, tetapi telurnya juga tersedia dalam jumlah besar, dan transparan bahkan pada perbesaran tinggi.

Ketika mencampurkan suspensi sperma dengan suspensi sel telur, Hertwig berulang kali mengamati sperma yang memasuki sel telur dan melihat sperma dan inti sel telur bersatu. Hertwig juga mencatat bahwa **hanya satu sperma yang terlihat memasuki setiap sel telur, dan bahwa semua inti dari embrio yang dihasilkan berasal secara mitosis dari inti yang dibuat saat fertilisasi**. Fol melakukan pengamatan serupa dan juga merinci mekanisme masuknya sperma. Fertilisasi akhirnya dikenal sebagai penyatuan sperma dan sel telur, dan penyatuan gamet bulu babi tetap menjadi salah satu contoh fertilisasi yang paling banyak dipelajari.

#### 4. Transport Sperma

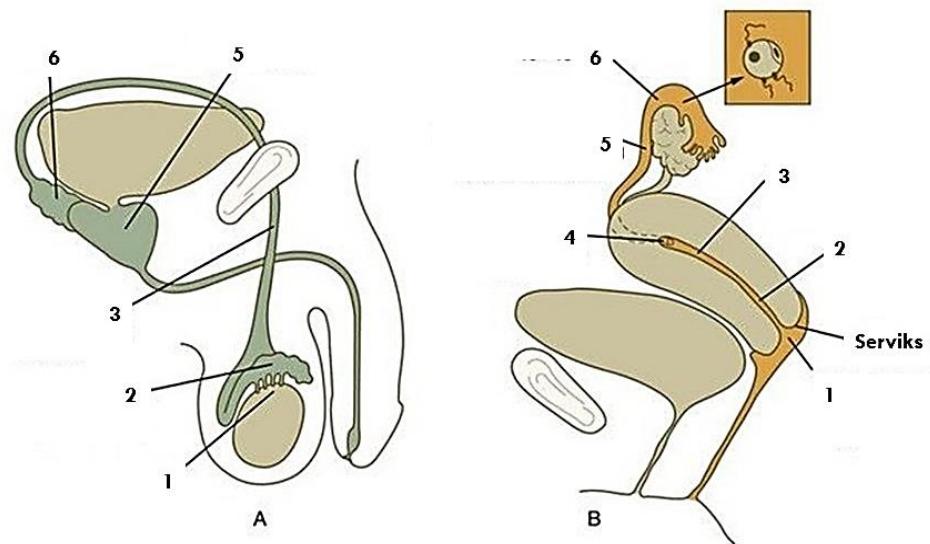
Pengangkutan sperma terjadi pada saluran reproduksi jantan dan saluran reproduksi betina. Pada saluran reproduksi jantan, pengangkutan spermatozoa terkait erat dengan pematangan struktural dan fungsionalnya, sedangkan pada saluran reproduksi betina, spermatozoa harus melewati saluran rahim bagian atas, di mana spermatozoa dapat bertemu dengan sel telur yang telah dibuahi.

Setelah spermiogenesis dalam tubulus seminiferus, spermatozoa menjadi matang secara morfologis tetapi tidak motil dan tidak mampu membuahi sel telur. Spermatozoa diangkut secara pasif melalui cairan testis dari tubulus seminiferus ke caput (kepala) epididimis melalui rete testis dan duktus eferen. Sperma didorong oleh tekanan cairan yang dihasilkan dalam tubulus seminiferus dan dibantu

oleh kontraksi otot polos dan gerakan siliaris dalam duktus eferen. Spermatozoa menghabiskan waktu sekitar 12 hari di dalam duktus atau saluran epididimis yang sangat berbelit-belit, yang berukuran 6 m pada manusia, di mana selama itu akan mengalami pematangan biokimia. Periode pematangan ini dikaitkan dengan perubahan glikoprotein dalam membran plasma kepala sperma. Pada saat spermatozoa telah mencapai cauda (ekor) epididimis, selanjutnya mampu membuahi sel telur.

Pada saat ejakulasi, spermatozoa dengan cepat melewati **ductus deferens** dan bercampur dengan cairan yang berasal dari **vesikula seminalis** dan **kelenjar prostat**. Cairan prostat kaya akan asam sitrat, asam fosfatase, seng, dan ion magnesium, sedangkan cairan vesikula seminalis kaya akan fruktosa (sumber energi utama spermatozoa) dan prostaglandin. 2 hingga 6 mL ejakulasi (**semen**, atau **cairan mani**) biasanya terdiri dari 40 hingga 250 juta spermatozoa yang dicampur dengan cairan basa dari vesikula seminalis (60% dari total) dan sekresi asam (pH 6,5) dari prostat (30% dari total). pH air mani normal berkisar antara 7,2 hingga 7,8. Meskipun terdapat banyak spermatozoa (>100 juta) yang biasanya terdapat dalam ejakulasi, jumlah sekecil 25 juta spermatozoa per ejakulasi mungkin sesuai dengan kesuburan.

Pada saluran reproduksi betina, transportasi sperma dimulai dari vagina bagian atas dan berakhir di ampula tuba uterina, tempat spermatozoa bersentuhan dengan sel telur yang telah berovulasi. Selama kopulasi atau persetubuhan, cairan mani biasanya disimpan di vagina bagian atas, di mana komposisi dan kapasitas penyangganya segera melindungi spermatozoa dari cairan asam yang ditemukan di area vagina bagian atas. Cairan vagina yang bersifat asam ini secara normal memiliki fungsi bakterisidal dalam melindungi saluran serviks dari organisme patogen. Dalam waktu sekitar 10 detik, pH vagina bagian atas meningkat dari 4,3 hingga mencapai 7,2. Efek penyangga ini hanya berlangsung selama beberapa menit pada manusia, tetapi memberikan waktu yang cukup bagi spermatozoa untuk mendekati leher rahim dalam lingkungan (pH 6,0 sampai 6,5) yang optimal untuk motilitas sperma.



**Gambar 3-3** Transportasi sperma pada (A) saluran reproduksi jantan dan (B) saluran reproduksi betina. Pada B, jumlah spermatozoa yang biasanya ditemukan di berbagai bagian saluran reproduksi betina ditunjukkan dengan warna merah [Carlson, 2014].

#### Keterangan Gambar A

- Transfer pasif ke epididimis melalui cairan testis
- Pematangan di epididimis (sampai 2 minggu)
- Transit atau pemindahan cepat melalui duktus deferens
- Penambahan cairan dari vesikula seminalis
- Penambahan cairan prostat

#### Keterangan Gambar B

- Sperma yang disimpan di vagina bagian atas (peningkatan pH yang cepat)
- Perjalanan melalui serviks (fase cepat dan lambat)
- Jalan melalui uterus atau rahim
- Masuk ke saluran tuba uterina
- Berjalan melalui tuba uterina dengan cara berenang dan kontraksi tuba uterina
- Hanya sejumlah kecil sperma yang berada di dekat sel telur pada waktu tertentu

Hambatan berikutnya yang harus diatasi oleh sel sperma adalah saluran serviks dan lendir serviks yang menghalanginya. Perubahan tekanan intravaginal dapat menyedot spermatozoa ke dalam saluran serviks, tetapi gerakan berenang tampaknya juga penting bagi sebagian besar spermatozoa untuk menembus lendir serviks.

Komposisi dan kekentalan lendir serviks sangat bervariasi sepanjang siklus menstruasi (*menstrual cycle*). Terdiri dari **musin serviks** (glikoprotein dengan komposisi karbohidrat yang tinggi) dan komponen-komponen yang dapat larut, yang menyebabkan lendir serviks tidak mudah ditembus. Namun, antara hari ke-9 dan ke-16 dari siklus menstruasi, kandungan airnya meningkat, dan perubahan ini memfasilitasi perjalanan sperma melalui serviks sekitar waktu ovulasi, lendir tersebut kadang-kadang disebut **mukus** atau **lendir E**.

Setelah ovulasi dan di bawah pengaruh progesteron menyebabkan produksi lendir serviks yang encer berhenti, dan dihasilkan jenis lendir lengket yang baru, yang memiliki kandungan air yang jauh lebih sedikit. Lendir progestasional ini kadang-kadang disebut **mukus** atau **lendir G** yang hampir sepenuhnya resisten terhadap penetrasi sperma. Berdasarkan hal tersebut, maka metode KB alami yang sangat efektif memanfaatkan sifat-sifat lendir serviks.

Terdapat dua mode utama transportasi sperma melalui leher rahim (*cervix*). Salah satunya adalah fase transportasi cepat awal, di mana beberapa spermatozoa dapat mencapai tuba uterina dalam waktu 5 sampai 20 menit setelah ejakulasi. Pengangkutan cepat ini lebih bergantung pada gerakan otot dari saluran reproduksi perempuan daripada motilitas sperma itu sendiri. Akan tetapi, sperma yang datang lebih awal ini tampaknya tidak mampu membuahi sel telur seperti halnya sperma yang telah menghabiskan lebih banyak waktu di dalam saluran reproduksi perempuan. Fase kedua adalah fase lambat dari transportasi sperma yang melibatkan bergeraknya spermatozoa melalui lendir serviks (bergerak dengan kecepatan 2 hingga 3 mm/jam), penyimpanannya di dalam kripta serviks (*cervical crypts*), dan perjalanan terakhirnya melalui saluran serviks (*cervical canal*) selama 2 hingga 4 hari kemudian.

Relatif sedikit yang diketahui tentang perjalanan spermatozoa melalui rongga rahim (*uterine cavity*), tetapi konsentrasi otot polos rahim, daripada motilitas sperma, tampaknya menjadi mekanisme transportasi intrauterin yang utama. Pada titik ini, spermatozoa memasuki salah satu tuba uterina. Menurut beberapa penelitian terbaru, hanya beberapa ratus spermatozoa yang masuk ke dalam tuba uterina, dan sebagian besar masuk ke dalam tuba uterina yang berisi sel telur yang telah dibuahi.

Setelah berada di dalam tuba uterina, spermatozoa terkumpul di dalam isthmus dan berikatan dengan epitel selama kurang lebih 24 jam. Selama waktu ini, spermatozoa dipengaruhi oleh sekresi tuba uterina untuk menjalani **reaksi kapasitasi**. Salah satu fase kapasitasi adalah penghilangan **kolesterol** dari permukaan sperma. Kolesterol merupakan komponen air mani dan berfungsi untuk menghambat kapasitasi dini. Fase kapasitasi berikutnya terdiri dari penghilangan banyak glikoprotein yang disimpan di permukaan spermatozoa selama masa penyimpanannya di epididimis. Kapasitasi diperlukan agar spermatozoa dapat membuahi sel telur (khususnya, untuk menjalani reaksi akrosom). Setelah reaksi kapasitasi, spermatozoa mengalami **periode hiperaktif** dan melepaskan diri dari epitel tuba uterina. Hal ini juga membantu sperma dalam menembus lendir isthmus, serta corona radiata dan zona pelusida, yang mengelilingi sel telur. Hanya sejumlah kecil sperma yang dilepaskan pada waktu tertentu. Hal ini dapat mengurangi kemungkinan terjadinya **polispermia**.

Saat dilepaskan dari isthmus adalah spermatozoa yang berjalan ke atas tuba uterina melalui kombinasi gerakan otot tuba uterina dan beberapa gerakan perjalanan spermatozoa sendiri. Pengangkutan sel telur ke bawah dan spermatozoa ke atas tuba uterina saat ini dijelaskan berdasarkan kontraksi peristaltik otot tuba uterina. Kontraksi ini membagi tuba uterina menjadi beberapa ruangan. Di dalam ruangan tertentu, gamet terperangkap dalam gerakan berputar yang selama 1 atau 2 hari akan menyatukan sel telur dan spermatozoa. Fertilisasi sel telur biasanya terjadi pada bagian **ampula** (sepertiga bagian atas) tuba uterina. Diperkirakan bahwa spermatozoa mempertahankan

fungsinya di dalam saluran reproduksi perempuan selama sekitar 80 jam.

Setelah perdebatan selama bertahun-tahun mengenai kemungkinan bahwa spermatozoa mamalia dapat dipandu menuju sel telur melalui **atraktan**, penelitian terbaru menunjukkan bahwa hal ini mungkin saja terjadi. Spermatozoa mamalia ditemukan memiliki reseptor penciuman yang sama dengan reseptor penciuman di hidung, dan dapat merespons secara perilaku terhadap penciuman yang ditentukan secara kimiawi. Spermatozoa manusia juga merespons progesteron yang berasal dari cumulus oophorus dan atraktan kimiawi yang belum didefinisikan yang berasal dari cairan folikel dan sel cumulus oophorus. Spermatozoa manusia juga diketahui merespons gradien suhu, dan penelitian pada kelinci menunjukkan bahwa tempat penyimpanan sperma di saluran telur (*oviduct*) lebih dingin daripada di bagian yang lebih jauh dari tuba uterina yang merupakan tempat terjadinya fertilisasi. Tampaknya hanya spermatozoa yang berkapasitas yang memiliki kemampuan untuk merespons rangsangan kimiawi atau termal (suhu). Karena banyak sel sperma yang masuk ke dalam tuba uterina gagal mengalami kapasitasi, maka spermatozoa ini kecil kemungkinannya untuk menemukan jalan menuju sel telur.

## 5. Pembentukan Dan Fungsi Corpus Luteum

Sementara sel telur yang telahiovulasikan melewati tuba uterina, folikel yang pecah dari mana sel telur tersebut berasal mengalami serangkaian perubahan yang sangat penting untuk perkembangan peristiwa yang mengarah ke dan mendukung kehamilan. Segera setelah ovulasi, membran basal yang memisahkan sel-sel granulosa dari theca interna akan rusak, sehingga memungkinkan pembuluh darah theca interna tumbuh ke dalam rongga folikel yang pecah. Sel-sel granulosa secara bersamaan mengalami serangkaian perubahan besar dalam bentuk dan fungsi (**luteinisasi**). Dalam waktu 30 hingga 40 jam setelah lonjakan hormon luteinizing, sel-sel ini, yang sekarang disebut **sel granulosa lutein**, mulai mengeluarkan sejumlah progesteron yang semakin meningkat bersama dengan sejumlah estrogen. Pola sekresi ini memberikan dasar

hormonal untuk perubahan dalam jaringan reproduksi perempuan selama paruh terakhir siklus menstruasi. Selama periode ini, folikel terus membesar. Karena warnanya yang kuning, maka folikel ini dikenal sebagai **korpus luteum**. Selanjutnya, sel-sel lutein granulosa terdiferensiasi secara terminal, yang telah berhenti membelah, tetapi akan terus mengeluarkan progesteron selama 10 hari.

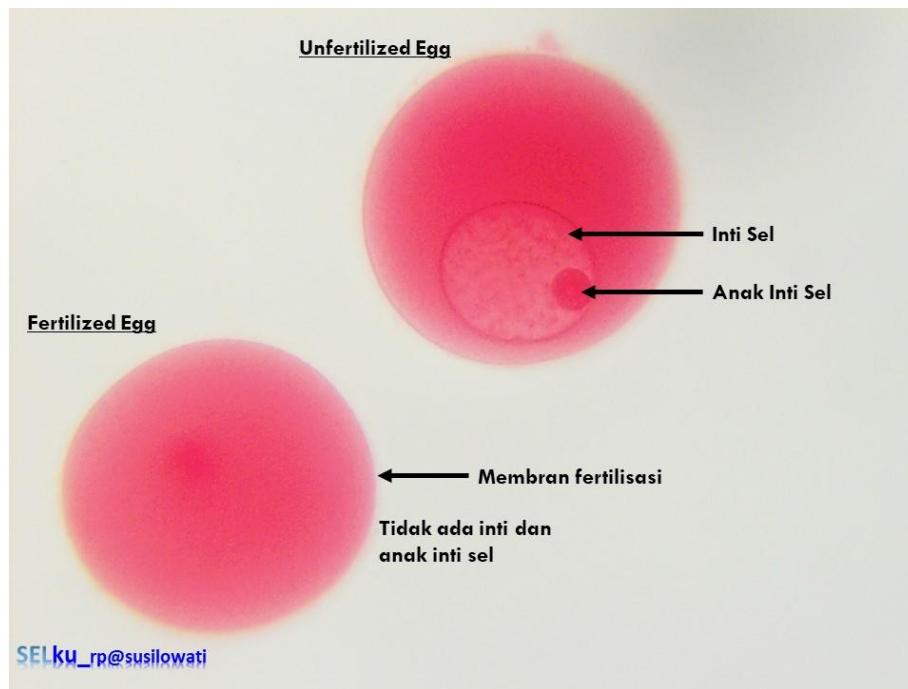
Dengan tidak adanya pembuahan dan rangsangan hormonal yang diberikan oleh embrio awal, maka korpus luteum mulai mengalami kerusakan (**luteolisis**) pada akhir siklus menstruasi. Luteolisis tampaknya melibatkan pemrograman awal sel luteal untuk mengalami **apoptosis** (kematian sel) dan **faktor luteolitik tuba uterina**, seperti **prostaglandin F<sub>2</sub>**. Regresi korpus luteum dan penurunan produksi progesteron yang menyertainya, menyebabkan penarikan hormon yang mengakibatkan perubahan degeneratif jaringan endometrium selama hari-hari terakhir siklus menstruasi.

Selama regresi korpus luteum, sel-sel granulosa lutein mengalami degenerasi dan digantikan dengan jaringan parut kolagen. Oleh karena warnanya yang putih, maka bekas korpus luteum sekarang dikenal sebagai **korpus albicans** (badan putih).

Jika terjadi fertilisasi atau pembuahan, maka diproduksi protein **hormon korionik gonadotropin** oleh jaringan plasenta di masa depan yang selanjutnya akan mempertahankan korpus luteum dalam kondisi fungsional dan menyebabkan peningkatan ukuran serta produksi hormon. Karena sel lutein granulosa tidak dapat membelah dan berhenti memproduksi progesteron setelah 10 hari, maka **korpus luteum pada kehamilan** yang semakin besar sebagian besar terdiri dari **sel lutein theca**. Korpus luteum pada kehamilan tetap berfungsi selama beberapa bulan pertama kehamilan. Setelah bulan kedua, plasenta menghasilkan cukup estrogen dan progesteron untuk mempertahankan kehamilan dengan sendirinya. Pada titik ini, indung telur (ovarium) dapat diangkat, dan kehamilan akan berlanjut.

## B. Telur Yang Tidak Dibuahi (*Unfertilized EGGS*)

Telur yang tidak dibuahi memperlihatkan inti sel yang besar dan bergranula. Dengan pembesaran kuat, seringkali juga terlihat anak inti di dalam inti sel. Selain itu ciri telur yang tidak dibuahi adalah: tidak ada selaput pembuahan (membran fertilisasi). Mempunyai inti yang besar dan bergranula. Inti sel kelamin betina sebelum matang disebut **vesikel germinalis**. Pada vesikel germinalis terdapat anak inti atau nukleolus. Selaput pembuahan disebut juga **korion**, terlihat pada telur yang pecah. Selaput ini bening dan dibentuk oleh telur sewaktu sperma memasuki ovum. Selanjutnya ovum mengeluarkan cairan yang disisipkan di antara selaput pembuahan dengan permukaan ovum. Ada pernyataan yang menyatakan bahwa selaput pembuahan mencegah sperma yang lain masuk ke dalam ovum yang bermanfaat sebagai selaput pelindung.



**Gambar 3-2** Sel telur whitefish yang telah dibuahi (*fertilized eggs*) dan telur yang tidak dibuahi (*Unfertilized eggs*)(HIE, 400x). Pada telur yang telah dibuahi tidak terlihat inti dan anak inti sel yang besar dan bergranula, terlihat adanya selaput pembuahan atau membran fertilisasi

## C. Telur Yang Dibuahi (*Fertilized EGGS*)

Fertilisasi atau pembuahan adalah serangkaian proses, bukan merupakan peristiwa tunggal. Dilihat dalam arti yang paling luas, maka proses ini dimulai ketika spermatozoa mulai menembus corona radiata

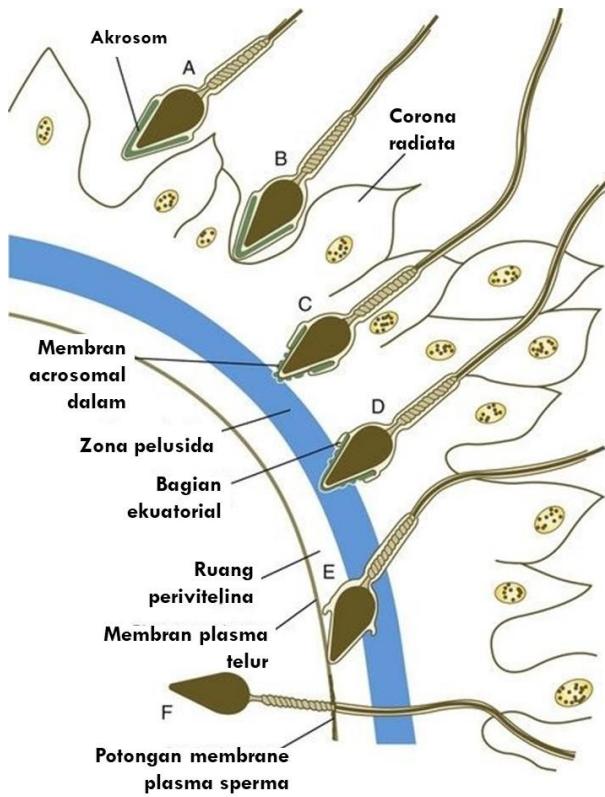
yang mengelilingi sel telur dan diakhiri dengan percampuran kromosom ibu dan ayah setelah spermatozoa memasuki sel telur.

## 1. Penetrasi Corona Radiata

Ketika spermatozoa pertama kali bertemu dengan sel telur yang telah diovulasikan di bagian ampula tuba uterina, maka selanjutnya akan dipertemukan di corona radiata dan beberapa sisa-sisa cumulus oophorus, yang mewakili lapisan luar kompleks sel telur. Corona radiata adalah lapisan yang bersifat sangat seluler dengan matriks interseluler yang terdiri dari protein dan konsentrasi karbohidrat yang tinggi, terutama **asam hialuronat**. Dipercaya secara luas bahwa hialuronidase yang berasal dari kepala sperma memainkan peran utama dalam penetrasi atau menembus corona radiata, disamping pengaruh gerakan berenang aktif spermatozoa itu sendiri.

## 2. Penetrasi Zona Pelusida

**Zona pelusida**, yang memiliki ketebalan  $13 \mu\text{m}$  pada manusia, pada dasarnya terdiri dari empat glikoprotein, yaitu: ZP<sub>1</sub> hingga ZP<sub>4</sub>. ZP<sub>2</sub> dan ZP<sub>3</sub> bergabung membentuk unit dasar yang berpolimerisasi menjadi filamen panjang. Filamen-filamen ini secara berkala dihubungkan oleh jembatan silang molekul ZP<sub>1</sub> dan ZP<sub>4</sub>. Zona pelusida telur tikus yang tidak dibuahi diperkirakan mengandung lebih dari 1 miliar salinan protein ZP<sub>3</sub>.



**Gambar 3-4** Urutan kejadian dalam penetrasi selut putup dan membran plasma sel telur, A dan B, penetrasi spermatozoa menembus corona radiata. C dan D, penempelan pada zona pelusida, reaksi akrosom, dan penetrasi zona. E dan F, pengikatan pada membran plasma dan masuk ke dalam sel telur [Carlson, 2014]

Setelah menembus corona radiata, spermatozoa terikat erat pada zona pelusida melalui membran plasma kepala sperma. Spermatozoa berikatan secara khusus dengan molekul asam sialat, yang merupakan bagian akhir dari rangkaian empat gula di ujung oligosakarida yang berikatan-O yang melekat pada inti polipeptida molekul ZP<sub>3</sub>.

Molekul pada permukaan kepala sperma merupakan tempat pengikatan spesifik untuk reseptor sperma ZP<sub>3</sub> pada zona pelusida. Lebih dari 24 molekul telah diusulkan, tetapi identitas molekul pengikat zona pelusida masih belum diketahui. Perbedaan molekuler antarspesies pada bagian pengikatan sperma pada molekul ZP<sub>3</sub> dapat menjadi dasar ketidakmampuan spermatozoa dari suatu spesies untuk membuahi sel telur spesies lain. Pada mamalia, terdapat lebih sedikit variasi spesies dalam komposisi ZP<sub>3</sub>, hal ini dapat menjelaskan mengapa penetrasi zona pelusida oleh spermatozoa dari spesies

mamalia yang berkerabat dekat kadang-kadang dimungkinkan, sedangkan pada hewan yang lebih rendah jarang terjadi.

Saat mengikat zona pelusida, spermatozoa mamalia mengalami **reaksi akrosom**. Inti dari reaksi akrosom adalah penggabungan bagian-bagian membran akrosom luar dengan membran plasma di atasnya dan mengikat bagian-bagian yang menyatu sebagai vesikel kecil.

Reaksi akrosom pada mamalia dirangsang oleh molekul ZP<sub>3</sub> yang bekerja melalui **protein G** dalam membran plasma pada kepala sperma. Berbeda dengan fungsi reseptor sperma ZP<sub>3</sub>, segmen besar rantai polipeptida molekul ZP<sub>3</sub> harus ada untuk menginduksi reaksi akrosom. Peristiwa awal dari reaksi akrosom adalah masuknya kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) secara besar-besaran melalui membran plasma kepala sperma. Proses ini, disertai dengan masuknya natrium ( $\text{Na}^+$ ) dan keluarnya hidrogen ( $\text{H}^+$ ), yang meningkatkan pH intraseluler. Peleburan membran akrosom luar dengan membran plasma di atasnya segera terjadi. Ketika vesikel dari membran yang menyatu dilepaskan, maka kandungan enzimatik dari akrosom akan dibebaskan dan dapat membantu spermatozoa untuk melewati zona pelusida.

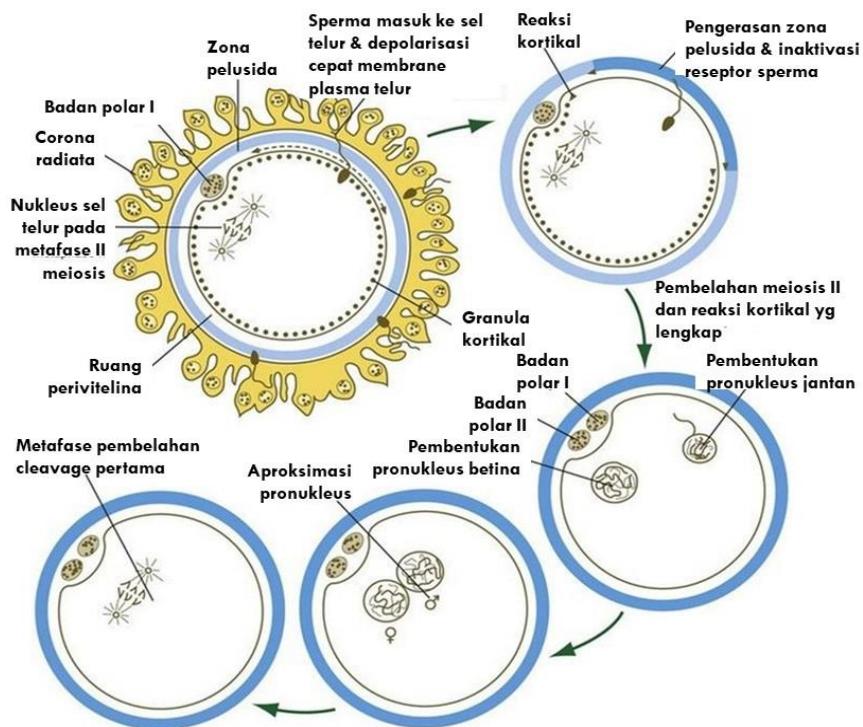
Setelah reaksi akrosom, membran akrosom bagian dalam membentuk permukaan luar yang menutupi sebagian besar kepala sperma. Selanjutnya menuju ke pangkal kepala sperma (di area khatulistiwa), yang menyebabkan membran akrosom bagian dalam menyatu dengan **membran plasma pascaakrosomal** yang tersisa untuk mempertahankan kontinuitas membran di sekitar kepala sperma.

Sesaat setelah menyelesaikan reaksi akrosom, maka sperma dapat mulai menembus zona pelusida dengan baik. Penetrasi zona pelusida dilakukan dengan kombinasi dorongan mekanis oleh gerakan ekor sperma dan jalur pencernaan melalui aksi enzim akrosom. Enzim yang paling penting adalah **akrosin**, yaitu suatu proteinase serin yang terikat pada membran akrosom bagian dalam. Ketika sperma telah berhasil melewati zona pelusida dan masuk ke dalam **ruang perivitelina** (yaitu ruang antara membran plasma sel telur dan zona

pelusida), sperma dapat melakukan kontak langsung dengan membran plasma sel telur.

### 3. Pengikatan Dan Peleburan Spermatozoa Dan Sel Telur

Setelah periode transit singkat melalui ruang perivitellina, sperma melakukan kontak dengan sel telur. Dalam dua langkah yang berbeda, sperma pertama-tama mengikat dan kemudian menyatu dengan membran plasma sel telur. Pengikatan antara sperma dan sel telur terjadi ketika bagian ekuator kepala sperma menyentuh mikrovili yang mengelilingi sel telur. Molekul-molekul pada membran plasma kepala sperma, terutama protein sperma yang disebut **fertilin** dan **cyrifastin**, berikatan dengan  $\mu 6$  integrin dan molekul protein CD<sub>9</sub> pada permukaan sel telur. Reaksi akrosom menyebabkan perubahan pada sifat membran sel sperma, karena jika reaksi akrosom tidak terjadi, maka sel sperma tidak dapat menyatu dengan sel telur. Peleburan yang sebenarnya antara sperma dan sel telur, yang dimediasi oleh integrin pada membran oosit, membuat membran plasmanyia menjadi bersatu.



Gambar 3-5 Ringkasan peristiwa utama yang terlibat dalam fertilisasi [Carlson, 2014]

Setelah peleburan awal, isi sperma (kepala, bagian tengah, dan biasanya ekor) masuk ke dalam sel telur, sedangkan membran plasma sperma, yang secara antigenik berbeda dengan sel telur, dimasukkan ke dalam membran plasma sel telur dan tetap dapat dikenali setidaknya hingga dimulainya *cleavage*. Meskipun mitokondria yang terletak di leher sperma masuk ke dalam sel telur, mitokondria tersebut tidak berkontribusi pada komplemen mitokondria fungsional zigot. Pada manusia, sperma menyumbangkan sentrosom, yang diperlukan untuk pembelahan sel.

#### 4. Pencegahan Polispermi

Ketika spermatozoa telah menyalu dengan sel telur, masuknya spermatozoa lain ke dalam sel telur (**polispermi**) harus dicegah, atau perkembangan yang tidak normal mungkin akan terjadi. Dua cara pencegahan untuk polispermi, cepat dan lambat, biasanya ada pada fertilisasi vertebrata.

**Pemblokiran cepat terhadap polispermi**, yang telah dipelajari pada bulu babi (*sea urchin*), terdiri dari depolarisasi listrik yang cepat pada membran plasma sel telur. Potensial membran istirahat sel telur berubah dari sekitar -70 hingga +10 mV dalam waktu 2 hingga 3 detik setelah peleburan sperma dengan sel telur. Perubahan potensial membran ini mencegah spermatozoa lain menempel pada membran plasma sel telur. Pemblokiran cepat pada mamalia berumur pendek, yaitu hanya berlangsung beberapa menit, dan mungkin tidak terlalu bergantung pada depolarisasi membran seperti pada bulu babi. Waktu ini cukup bagi sel telur untuk pemblokiran yang lambat dan permanen. Sifat yang tepat dari pemblokiran cepat pada sel telur manusia masih belum diketahui dengan jelas.

Segara setelah sperma masuk, gelombang  $\text{Ca}^{2+}$  yang berurutan melewati sitoplasma sel telur. Rangkaian gelombang pertama, yang menyebar dari tempat peleburan sperma dan sel telur, terlibat dalam menstimulasi penyelesaian pembelahan meiosis kedua sel telur. Gelombang  $\text{Ca}^{2+}$  selanjutnya memulai digunakannya RNA maternal di dalam sel telur dan bekerja pada butiran kortikal saat melewatinya. Paparan  $\text{Ca}^{2+}$  menyebabkan butiran kortikal menyatu dengan

membran plasma dan melepaskan isinya (enzim hidrolitik dan polisakarida) ke dalam ruang perivitelina. Polisakarida yang dilepaskan ke dalam ruang perivitellina menjadi terhidrasi dan membengkak, sehingga menyebabkan zona pelusida naik dari permukaan telur.

Produk sekresi dari butiran kortikal berdifusi ke dalam zona pelusida yang berpori dan menghidrolisis molekul reseptor sperma ( $ZP_3$  pada tikus) di dalam zona tersebut. Reaksi ini, yang disebut **reaksi zona**, pada dasarnya menghilangkan kemampuan spermatozoa untuk melekat dan menembus zona. Reaksi zona telah diamati pada sel telur manusia yang telah menjalani fertilisasi *in vitro*. Selain perubahan pada zona pelusida, perubahan molekul reseptor sperma pada membran plasma sel telur manusia menyebabkan sel telur itu sendiri menjadi tidak dapat ditembus oleh spermatozoa lain.

## 5. Aktivasi Metabolik Sel Telur

Masuknya sperma ke dalam sel telur memulai beberapa perubahan signifikan di dalam sel telur, termasuk pemblokiran cepat dan lambat yang disebutkan di atas menuju polispermi. Sebagai akibatnya, sperma memasukkan ke dalam sel telur suatu faktor yang dapat larut (saat ini dianggap sebagai fosfolipase/fosfolipase C zetal), yang menstimulasi jalur yang mengarah pada pelepasan denyut  $Ca^{2+}$  di dalam sitoplasma sel telur. Selain memulai pemblokiran untuk polispermi,  $Ca^{2+}$  yang dilepaskan merangsang peningkatan cepat respirasi dan metabolisme sel telur melalui pertukaran  $Na^+$  ekstraseluler dengan  $H^+$  intraseluler. Pertukaran ini menghasilkan peningkatan pH intraseluler dan peningkatan metabolisme oksidatif.

## 6. Dekondensasi Nukleus Sperma

Pada sperma yang matang, kromatin inti selnya sangat rapat, yang sebagian besar karena ikatan silang SS (disulfida) yang terjadi di antara molekul-molekul protamin yang dikomplekskan dengan DNA selama spermatogenesis. Tak lama setelah kepala sperma memasuki sitoplasma sel telur, permeabilitas membran intinya mulai meningkat, sehingga memungkinkan faktor sitoplasma di dalam sel telur untuk

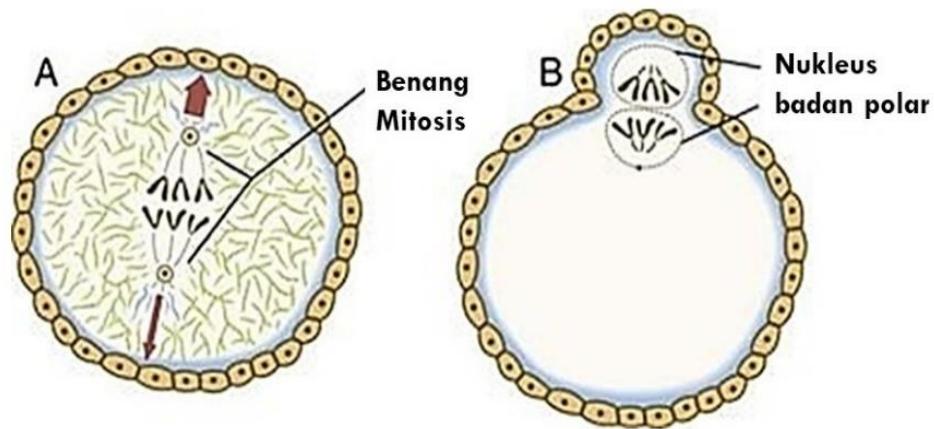
memengaruhi isi inti sperma. Setelah reduksi ikatan silang SS dari protamin menjadi gugus sulfhidril (-SH) oleh glutation yang tereduksi di dalam ooplasma, maka protamin dengan cepat hilang dari kromatin sperma, dan kromatin mulai menyebar di dalam nukleus (sekarang disebut **pronukleus**) saat bergerak mendekati bahan inti sel telur.

Perombakan kepala sperma membutuhkan waktu sekitar 6 hingga 8 jam. Setelah periode singkat di mana kromosom jantan telanjang, histon mulai berasosiasi dengan kromosom. Selama periode pembentukan pronukleus, materi genetik pronukleus jantan mengalami demetilasi, sedangkan metilasi pada genom betina dipertahankan.

## 7. Penyelesaian Meiosis Dan Perkembangan Pronukleus Di Dalam Sel Telur

Setelah penetrasi sel telur oleh spermatozoa, inti sel telur, yang telah ditangkap pada metafase pembelahan meiosis kedua, menyelesaikan pembelahan terakhir dan melepaskan badan kutub kedua ke dalam ruang perivitelina.

Inti oosit bergerak menuju korteks sebagai hasil dari aksi molekul miosin yang bekerja pada jaringan filamen aktin yang menghubungkan satu kutub gelendong mitosis ke korteks. Kontraksi yang dihasilkan menarik seluruh peralatan mitosis ke permukaan sel. Hal ini menentukan lokasi di mana badan kutub pertama dan kedua diekstrusi.



**Gambar 3-6** Representasi skematis yang menunjukkan bagaimana inti pembelahan oosit ditranslokasi ke kortex telur dan bagaimana hal tersebut menentukan di mana badan kutub terbentuk. **A)** Gelendong mitosis terletak di dalam jaring-jaring filamen aktin sitoplasma (hijau). Didukung oleh molekul miosin (biru), kontraksi kompleks aktin-miosin menarik kedua ujung gelendong mitosis (panah merah). Pada ujung spindel yang paling dekat dengan permukaan sel, intensitas tarikan lebih besar (panah merah tebal), dan seluruh peralatan spindel bergerak ke arah permukaan tersebut. **B)** Saat proses mitosis hampir selesai, satu inti anak keluar dari oosit sebagai badan polar. Nukleus yang tersisa di dalam oosit kemudian membelah lagi setelah fertilisasi dan menghasilkan badan kutub kedua di lokasi yang sama dengan yang pertama, karena nukleus oosit sudah berada di dekat kortex di bagian tersebut [Carlson, 2014]

**Membran pronuklear**, yang sebagian besar berasal dari retikulum endoplasma sel telur, terbentuk di sekitar materi kromosom betina. Faktor sitoplasma tampaknya mengontrol pertumbuhan pronukleus betina dan pronukleus jantan. Pronukleus muncul 6 hingga 8 jam setelah penetrasi sperma, dan bertahan selama sekitar 10 hingga 12 jam. Replikasi DNA terjadi pada pronukleus haploid yang sedang berkembang, dan setiap kromosom membentuk dua kromatid saat pronukleus saling mendekat. Ketika pronukleus jantan dan betina bersentuhan, selaputnya akan pecah, dan kromosom akan bercampur. Kromosom induk betina dan induk jantan dengan cepat menjadi terorganisir di sekitar gelendong mitosis, yang berasal dari sentrosom sperma, sebagai persiapan untuk pembelahan mitosis biasa. Pada titik ini, proses pembuahan dapat dikatakan selesai, dan sel telur yang telah dibuahi disebut **zigot**.

## D. Fertilisasi Eksterna

Fertilisasi eksterna biasanya terjadi pada hewan tingkat rendah, dimana spermatozoa dan sel telur akan bertemu di luar tubuh dari masing-masing individu, misalnya pada jenis bintang laut, baik yang jantan maupun yang betina akan melepaskan gamet. Yang betina akan melepaskan sel telur dan yang jantan akan melepaskan spermatozoa, sehingga di dalam air terjadi fertilisasi (bertemunya sel telur dan spermatozoa).

Telur yang telah dibuahi dikenal karena adanya selaput pembuahan. Kadang-kadang terdapat ruang di antara selaput pembuahan dengan permukaan ovum yang disebut **ruang perivitelina**. **Vesikel germinalis** tidak ada lagi, tetapi akan ditemukan **pronukleus** betina dan pronukleus jantan. Kedua pronukleus tersebut akan bersatu, sehingga terbentuk ovum dengan jumlah kromosom diploid (amfimiksis). Pada beberapa telur, kadang-kadang terlihat *polar body* yang terletak di dalam ruang perivitelinus. Setelah amfimiksis maka proses selanjutnya disebut *cleavage* (pembelahan).

### *Grey Crescent*

1. *Grey crescent* adalah bagian berwarna abu-abu seperti bulan sabit yang berkembang di permukaan telur amfibi yang berlawanan dengan titik masuknya sperma.
2. Hal ini adalah ciri permukaan yang berkembang sebagai hasil dari gerakan sitoplasma yang dirangsang oleh masuknya sperma ke dalam sel telur.
3. Tampak tepat di atas margin dimana kuning-putih telur kutub vegetal menyatu dengan bahan kutub animal yang berpigmen atau terwarna gelap.
4. Hal ini muncul di permukaan telur yang berlawanan dengan titik masuk sperma.
5. *Grey crescent* menandai sisi dorsal embrio.
6. Pembelahan atau cleavage pertama membagi *grey crescent* menjadi dua bagian yang sama dan bidang ini mewakili bidang median embrio.
7. Pembentukan *grey crescent*, sehingga dapat memperbaiki simetri akhir telur dan perkembangan embrio.

8. Pada gastrula, bahan *grey crescent* terletak di *dorsal lip* dari blastopor.
9. Bahan *grey crescent* berfungsi sebagai pengatur karena, ketika dikeluarkan dari embrio, embrio gagal berkembang lebih jauh. Pada saat yang bersamaan ketika embrio normal dicangkok dengan *grey crescent* lainnya maka dua embrio akan berkembang.
10. Di gastrula akhir, bahan *grey crescent* dimasukkan ke dalam *chordomesoderm*.

## PRAKTIKUM UNFERTILIZED DAN FERTILIZED EGG

### SEDIAAN: WHITEFISH (UNFERTILIZED EGG)

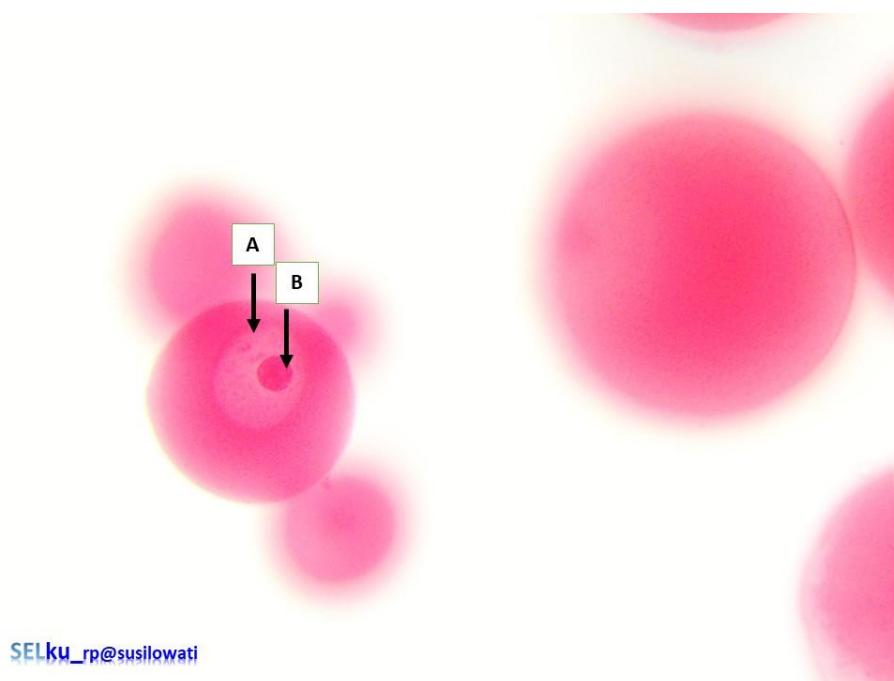
Pewarnaan: HE

Dengan menggunakan pembesaran 100x, terlihat struktur sel telur whitefish yang tidak dibuahi. Ciri yang terlihat adalah masih dijumpainya inti sel (nukleus) dan anak inti sel (nukleolus) di dalam sel telur.

Sebutkan bagian yang ditunjuk:

A. \_\_\_\_\_

B. \_\_\_\_\_



## **SEDIAAN: WHITEFISH (FERTILIZED EGG)**

Pewarnaan: HE

Dengan menggunakan pembesaran 100x, terlihat struktur sel telur whitefish yang dibuahi. Ciri yang terlihat adalah hilangnya inti sel dan anak inti sel di dalam sel telur, tetapi sudah terbentuk membran fertilisasi (*fertilization membrane*). Sebutkan bagian yang ditunjuk:

A. \_\_\_\_\_

B. \_\_\_\_\_



[SELku\\_rp@susilowati](mailto:SELku_rp@susilowati)

## BAB 4

# PERKEMBANGAN AWAL EMBRIO VERTEBRATA

Polaritas umum, simetri, dan pola embrio adalah karakter telur yang ditentukan sebelum pembuahan, seperti yang telah ditulis oleh Edwin Grand Conklin pada tahun 1920. Memang, seperti yang akan terlihat, sitoplasma telur memainkan peran utama dalam menentukan pola pembelahan, gastrulasi, dan spesifikasi sel. Hal ini dilakukan dengan adanya interaksi dengan genom inti sel yang terbentuk saat pembuahan.

Fertilisasi atau pembuahan memberikan genom baru untuk organisme dan mengatur ulang sitoplasma. Sekarang zigot memulai produksi organisme multiseluler. Selama *cleavage*, pembelahan sel yang cepat membagi sitoplasma sel telur yang telah dibuahi menjadi banyak sel. Sel-sel ini mengalami perpindahan yang dramatis selama **gastrulasi**, yaitu sebuah proses di mana sel-sel berpindah ke berbagai bagian embrio dan mendapatkan tetangga baru. Selama *cleavage* dan gastrulasi, sumbu utama (*major axes*) embrio ditentukan dan sel-sel embrio mulai mendapatkan perkembangannya masing-masing.

Meskipun *cleavage* selalu mendahului gastrulasi, namun pembentukan sumbu tubuh pada beberapa spesies dapat dimulai sejak pembentukan oosit. Hal ini dapat diselesaikan selama *cleavage* (seperti pada *Drosophila*) atau meluas sampai ke gastrulasi (seperti pada *Xenopus*). Tiga sumbu tubuh harus ditentukan, antara lain: sumbu anterior-posterior (kepala-ekor), sumbu dorsal-ventral (punggung-perut), dan sumbu kiri-kanan. Spesies yang berbeda menentukan sumbu-sumbu ini pada waktu yang berbeda, dengan menggunakan mekanisme yang berbeda.

### A. *Cleavage*

Setelah fertilisasi selesai, maka perkembangan organisme multiseluler berlanjut melalui proses yang disebut *cleavage*, yaitu serangkaian pembelahan mitosis di mana volume sitoplasma telur yang sangat besar dibagi menjadi banyak sel yang lebih kecil dan berinti. Sel-sel tahap *cleavage* ini disebut **blastomer**. Pada sebagian besar spesies (mamalia merupakan pengecualian utama), laju awal pembelahan sel dan

penempatan blastomer satu sama lain berada di bawah kendali protein dan mRNA yang tersimpan di dalam oosit. Baru kemudian laju pembelahan sel dan penempatan sel berada di bawah kendali genom yang baru terbentuk.

Selama fase awal perkembangan, irama *cleavage* dikontrol oleh faktor ibu, dimana volume sitoplasma tidak meningkat. Sebaliknya, sitoplasma zigot dibagi menjadi sel-sel yang semakin kecil. Pertama, zigot dibagi menjadi dua, kemudian seperempat, kemudian seperdelapan, dan seterusnya. *Cleavage* terjadi sangat cepat pada sebagian besar invertebrata, mungkin sebagai adaptasi untuk menghasilkan sejumlah besar sel dengan cepat dan untuk mengembalikan rasio somatik volume inti sel terhadap volume sitoplasma. Embrio sering kali melakukan hal ini dengan menghapuskan periode jeda (*gap*) dari siklus sel (fase G<sub>1</sub> dan G<sub>2</sub>), ketika pertumbuhan dapat terjadi. Telur katak, misalnya, dapat membelah menjadi 37.000 sel hanya dalam waktu 43 jam. Mitosis pada embrio *Drosophila* tahap *cleavage* terjadi setiap 10 menit selama lebih dari 2 jam, dan sekitar 50.000 sel terbentuk hanya dalam waktu 12 jam.

Fertilisasi atau pembuahan mengaktifkan sintesis protein, sintesis DNA, dan siklus sel. Salah satu peristiwa terpenting dalam transisi dari fertilisasi ke *cleavage* adalah aktivasi *mitosis-promoting factor*, atau MPF. MPF pertama kali ditemukan sebagai faktor utama yang bertanggung jawab atas dimulainya kembali pembelahan sel meiosis pada sel telur katak yang telah diovulasikan. MPF terus berperan setelah fertilisasi, mengatur siklus sel blastomer awal.

Blastomer umumnya berkembang melalui siklus sel bifasik yang terdiri dari dua langkah, yaitu: M (**mitosis**) dan S (**sintesis DNA**). Aktivitas MPF dari blastomer awal paling tinggi selama M dan tidak terdeteksi selama S. Pergeseran antara fase M dan S pada blastomer hanya didorong oleh naik turunnya aktivitas MPF. Ketika MPF disuntikkan secara mikro ke dalam sel-sel ini, selanjutnya akan memasuki M. Selubung intinya rusak dan kromatinnya memadat menjadi kromosom. Setelah satu jam, MPF terdegradasi dan kromosom kembali ke fase S.

*Cleavage* adalah proses pembelahan zigot (pembelahan mitosis). Pada proses ini akan dihasilkan sel-sel baru yang mempunyai ukuran yang lebih kecil dari sel semula. Akhir dari *cleavage* tidak akan terjadi

pertambahan volume sel. Sel-sel baru yang terbentuk disebut **blastomer**. *Cleavage* tergantung dari distribusi kuning telur (*yolk*) atau disebut juga **deutoplasma**, sehingga setiap jenis spesies mempunyai tipe *cleavage* masing-masing. *Cleavage* pada bintang laut terdiri atas : 1 sel menjadi 2 sel, 2 sel menjadi 4 sel, 4 sel menjadi 8 sel, 8 sel menjadi 16 sel (**morula**), 16 sel menjadi 32 sel (**blastula**), dan 32 sel menjadi 64 sel (**gastrula**).

Telur *whitefish* yang tidak dibuahi (*unfertilized*) memiliki diameter yang berukuran  $\pm 3$  mm. Bentuknya bulat, hampir transparan saat hidup, dan bebas bergerak di ruang perivitellina di bawah cangkang. Cangkangnya halus, bertekstur keras, dan dipertahankan oleh cairan perivitellina yang tertutup. Ruang perivitellina kurang terlihat pada telur yang tidak dibuahi dibandingkan pada telur setelah pembuahan. Ada kumpulan banyak butiran minyak di kutub animal telur. Ini terlihat jelas selama tahap segmentasi awal, dan mendasari perkembangan cakram germinal (*germinal disc*).

## B. Tahap Awal Segmentasi: *Cleavage*

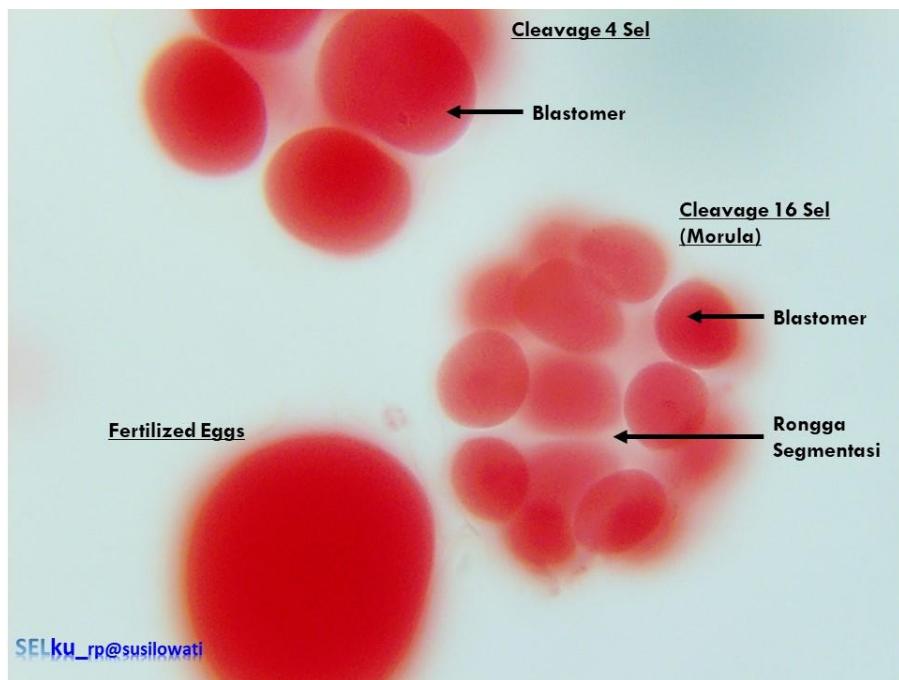
Pembelahan atau *cleavage* pertama telur katak diamati melalui proses pembelahan telur katak yang dipelajari dengan pembelahan secara holoblastik dan tidak sama.

1. Bidang pembelahan pertama secara meridional meluas secara bertahap menuju kutub vegetal telur. Ini memotong telur melalui median sumbu polar kutub vegetal nimal dan menghasilkan dua yang sama.
2. Alur pembelahan (*cleavage furrow*) kedua sekali lagi adalah sudut. Ini adalah pembelahan **holoblastik** yang memengaruhi kedua **blastomer** dari pembelahan pertama. Itu dalam pembentukan empat blastomer.
3. Pada tahap selanjutnya lintang **kutub animal**. Alur pembelahan seperti itu disebabkan oleh pengaruh konsentrasi kuning telur di **kutub vegetal**. Alur lintang secara seragam memengaruhi semua blastomer dan menghasilkan pembentukan delapan blastomer. Empat di antaranya tersisa di kutub vegetal berukuran besar. Sel-selnya dinamakan **makromer**. Empat blastomer lainnya tetap berada di kutub vegetal dan dinamakan **mikromer**. Ukuran mikromer lebih kecil dari pada makromer.

4. Set keempat dari bidang pembelahan adalah membagi mikromer tanpa kuning telur lebih cepat daripada kuning telur yang menghasilkan 16 blastomer. Lima pembelahan pertama telur katak diamati oleh Swammerdam pada tahun 1738. Seluruh proses pembelahan pada telur katak dipelajari oleh Prevost dan Dumas pada tahun 1824 dan hasilnya adalah tidak seimbang.
5. Set keempat dari bidang pembelahan bersifat meridional dan ganda serta tidak sama besar yang membagi mikromer tanpa kuning telur lebih cepat daripada makromer yang kaya kuning telur. Pembelahan ini menghasilkan 16 blastomer yang keseluruhannya terjadi di dalam telur katak. Awalnya, muncul alur di kutub animal, yang secara bertahap meluas menuju kutub vegetal telur. Alur yang terbentuk memotong telur melalui kutub animal mediannya. Ini membagi dua alur pembelahan pertama di sudut kanan. Ini adalah pembelahan holoblastik yang memengaruhi kedua blastomer dari pembelahan pertama dan menghasilkan ekuator lebih dekat ke kutub animal. Alur seperti itu disebabkan oleh pengaruh konsentrasi kuning telur di kutub vegetal yang seragam mempengaruhi semua blastomer dan menghasilkan pembentukan delapan blastomer. Empat di antaranya tersisa di kutub vegetal yang berukuran besar.
6. Pembelahan kelima adalah lintang/vertical dan ganda, membagi mikromer serta makromer sehingga terbentuk empat tingkatan blastomer. Sebagai hasil dari pembelahan lebih lanjut, dihasilkan bola dari beberapa blastomer kecil. Pengamatan lebih dekat menunjukkan bahwa, meskipun blastomer di atas ekuator berukuran kecil dan tetap sebagai mikromer, blastomer pada kutub vegetal tetap semakin besar. Blastomer yang lebih besar disebut makromer.

#### Tahap 4 Sel

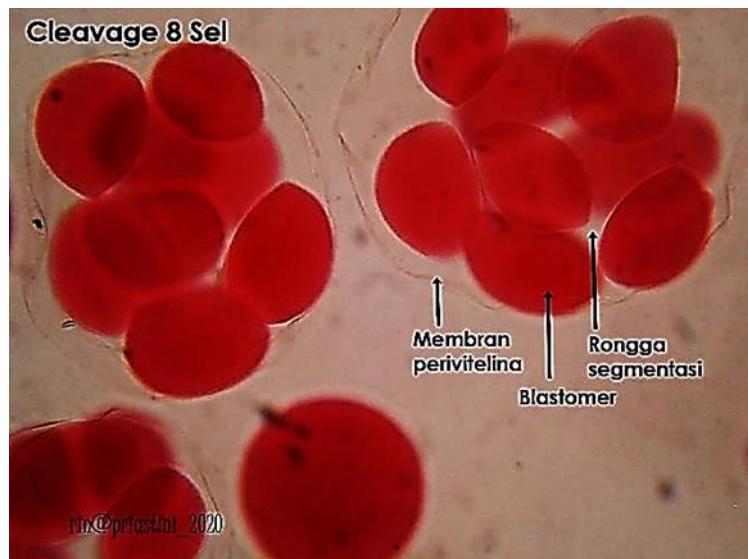
Karena fiksasi telur seperti yang semula dikumpulkan tidak dimulai sampai dua puluh empat jam setelah pembuahan, peristiwa yang berkaitan dengan pembuahan dan pembelahan awal tidak dapat dijelaskan dari bahan ini. Wickliff, pada musim gugur tahun 1927, menyimpan telur dari sumber yang sama dan dalam kondisi yang sama, diambil tiga jam setelah pembuahan.



**Gambar 4-1** Cleavage 4 sel pada whitefish, telah terjadi “aliran protoplasma” menuju kutub animal, karena di dalam telur telah terbentuk cakram protoplasma bulat berbentuk lenticular. Cakram protoplasma selanjutnya akan mengecil dengan cepat ditepinya, dan berlanjut di atas permukaan kuning telur dalam lapisan yang sangat tipis. Dua bidang pembelahan (cleavage) pertama adalah meridional dan pada sudut siku-siku. Cakram protoplasma memotong jauh ke dalam cakram blastula (*blastodisc*), namun tidak sampai ke kuning telur (*yolk*)

### Tahap 8 sel

Pada *blastodisc* bulat dari tahap empat sel seperti yang telah digambarkan, tidak ada pemanjangan antero-posterior yang dapat dibedakan. Karena telur pertama dari rangkaian telah mengalami dua pembelahan pertama ini, setiap upaya untuk mengidentifikasi bidang pembelahan pertama dengan bidang antero-posterior embrio harus dilakukan untuk kajian selanjutnya pada materi hidup. Sehubungan dengan pembelahan ketiga, pasti ada dua alur melintang, satu melalui setiap pasang dari empat sel pertama, yang dengan pertumbuhan selanjutnya menghasilkan *blastodisc* memanjang.



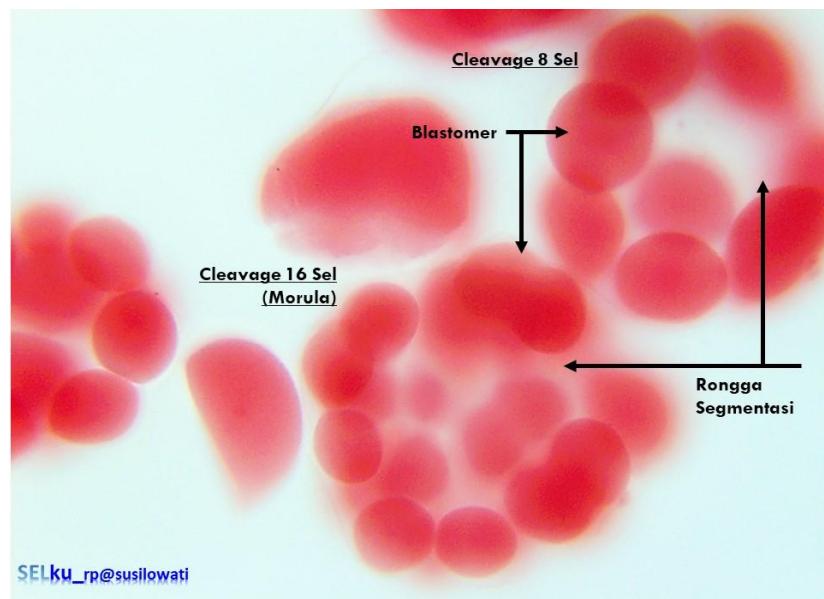
**Gambar 4-2 Cleavage 8 sel.** Pada telur yang terlihat, blastodisc agak lebih memanjang daripada melebar, dengan 8 atau lebih blastomer yang disusun secara kasar sebagai 4 pasang, satu di belakang yang lain. Pada sel telur dengan pola ini, alur pembelahan (*cleavage furrow*) pertama haruslah melintang ke sumbu panjang dan melalui pusatnya. Alur pembelahan kedua kemudian akan berada di sudut kanan ke yang yang pertama, di sepanjang bidang antero-posterior

### Tahap 16 sel (Morula)

Bagian serial dari tahap *cleavage* ini bila dipotong melintang, masing-masing bagian melewati dua blastomer. Sel-sel ini dipisahkan oleh selaput yang sangat halus yang memanjang ke dalam *blastodisc*, hampir ke kuning telur. Di tepi *blastodisc*, blastomer berkembang terus menjadi lapisan permukaan protoplasma yang lebih tipis secara progresif, yang membentang di atas kuning telur. Zona transisi antara tepi *blastodisc* dan lapisan superfisial protoplasma di atas kuning telur pada periblastik awal seperti yang dijelaskan untuk Senanus oleh Wilson. Pancaran astral dari bentuk mitosis sangat mencolok, meluas hampir ke batas sel. Kedelapan sel secara aktif mengalami mitosis. Bidang *spindle* dalam berbagai sel yang berada dalam kondisi metafase menunjukkan bahwa alur pembelahan berikutnya atau keempat akan sejajar ke yang kedua, seperti dijelaskan di atas, dan di sudut kanan ke ketiga. Ini akan menghasilkan empat baris sel lebih atau kurang yang berbeda yang meningkatkan luas *blastodisc*, cenderung mengembalikan garis bulatnya.

Semua *blastodisc* bersel delapan tidak memanjang seperti yang dijelaskan di atas, meskipun mungkin sekitar tiga dari setiap empat telur pada tahap ini menunjukkan pola ini. Beberapa diamati di mana *blastodisc*

berbentuk lingkaran dan sel-selnya keluar secara simetris tentang titik pusat. Dalam hal ini, diasumsikan bahwa dua alur pertama adalah meridional dan di sudut satu sama lain, tetapi alur pembelahan ketiga benarbenar melingkar dan terletak di tengah-tengah antara pusat dan pinggiran *blastodisc* tersebut. Kecenderungan alur ketiga ini menjadi melingkar terlihat dengan segala modifikasinya. Alur pembelahan ketiga memisahkan pasangan sel ketiga dan keempat menggambarkan busur dari lingkaran tersebut. Hal ini dapat diketahui dengan baik bahwa variasi dalam pola belahan ditentukan oleh berbagai tingkat pertumbuhan sel dan dengan tekanan relatifnya satu sama lain. Di dalam telur yang di dalamnya sel-selnya keluar secara konsentris, pembelahan keempat alur tampaknya meridional.



**Gambar 4-3** Cleavage 16 sel (morula) pembesaran 400x. Ciri-ciri morula adalah ditemukannya ruang segmentasi (*segmentation cavity*). Awalnya pembelahan blastomer berlanjut membentuk struktur seperti bola yang padat yang disebut morula (yang berarti buah murbei)

### C. Blastula

Blastula (dari bahasa Yunani *blastos*, yang berarti tunas) adalah bola sel berongga, disebut blastomer, mengelilingi rongga berisi cairan bagian dalam yang disebut *blastocoel* yang terbentuk selama tahap awal perkembangan embrio pada hewan. Perkembangan embrio dimulai dengan sperma membuahi sel telur menjadi zigot yang mengalami banyak

pembelahan untuk berkembang menjadi bola sel yang disebut morula. Hanya ketika *blastocoel* terbentuk, embrio awal menjadi blastula. Blastula mendahului pembentukan gastrula di mana lapisan germinal dari embrio terbentuk. Proses pembentukan blastula disebut blastulasi. Makin membesarnya blastosul menyebabkan :

1. Bagian kutub animal hanya terdiri dari dua lapisan sel, yaitu :
  - a. Lapisan luar terdiri dari sel-sel yang banyak mengandung pigmen yang nantinya akan berkembang menjadi epithelium integumen atau lapisan saraf.
  - b. Lapisan dalam terdiri dari sel-sel neuroblas sistem saraf.
2. Terbentuknya batas antara kutub animal dengan kutub vegetal di bagian marginal yang disebut **zona marginal**.

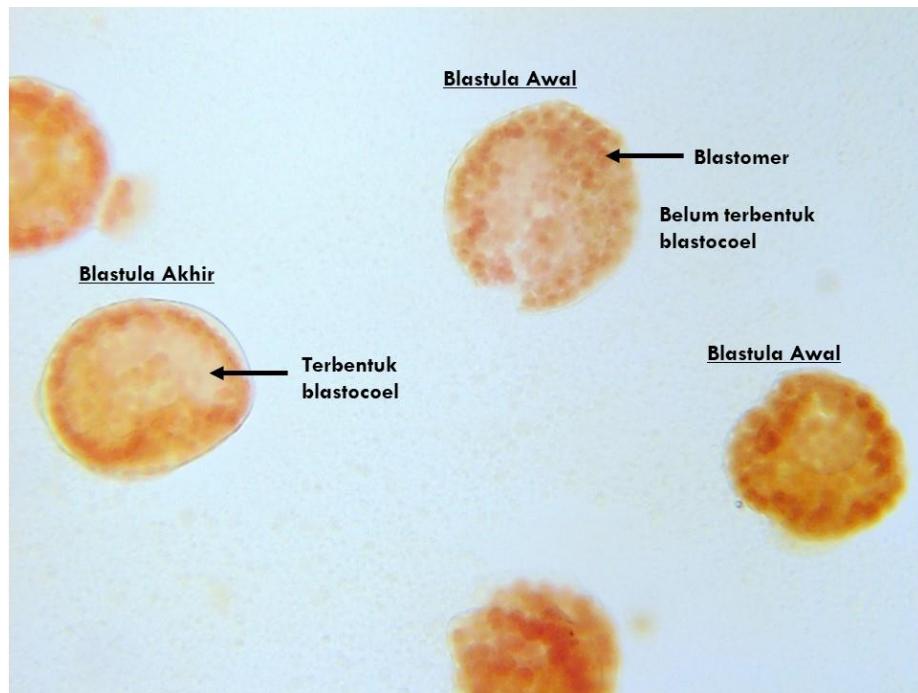
Ciri umum blastula vertebrata adalah terdiri dari lapisan blastomer, yang dikenal sebagai blastoderm, yang mengelilingi *blastocoel* tersebut. Pada mamalia, blastula disebut sebagai blastokista. Blastokista mengandung embrioblas (massa sel dalam/*inner cell mass*) yang pada akhirnya akan membentuk struktur definitif janin, dan trofoblas, yang selanjutnya membentuk jaringan ekstra-embryonik.

Selama tahap perkembangan blastula, sejumlah besar aktivitas terjadi dalam embrio awal untuk menetapkan polaritas sel, spesifikasi sel, pembentukan sumbu, dan untuk mengatur ekspresi gen. Pada banyak hewan seperti *Drosophila* dan *Xenopus*, transisi mid blastula adalah langkah penting dalam perkembangan di mana mRNA indek terdegradasi dan mengontrol perkembangan embrio selanjutnya. Banyak interaksi antara blastomerblastomer bergantung pada ekspresi cadherin, terutama E-cadherin pada mamalia dan EP-cadherin pada amfibi.

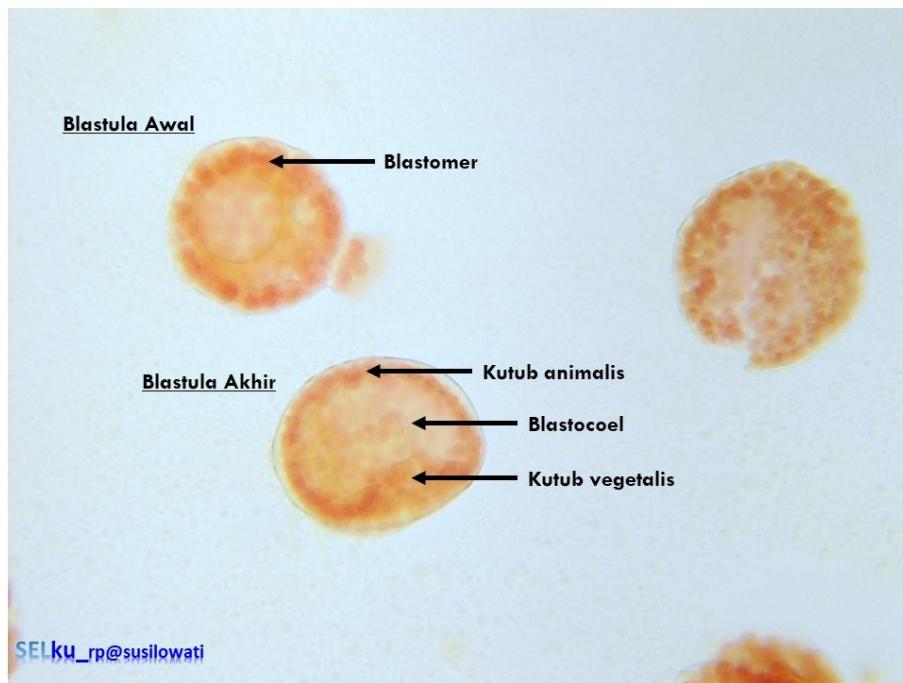
## 1. Blastula Awal

Tahap blastula dari perkembangan embrio awal dimulai dengan munculnya blastocoel. Asal mula blastocoel di *Xenopus* telah terbukti berasal dari alur pembelahan pertama, yang diperlebar dan ditutup dengan sambungan yang rapat untuk membuat rongga. Pada banyak organisme, perkembangan embrio hingga titik ini dan untuk tahap awal blastula dikendalikan oleh mRNA induk, disebut demikian karena

diproduksi di dalam sel telur sebelum pembuahan dan oleh karena itu secara eksklusif dari induk. Dalam biologi sel, alur pembelahan adalah lekukan permukaan sel yang memulai perkembangan pembelahan, di mana hewan dan beberapa sel alga menjalani sitokinesis, pemisahan terakhir membran, dalam proses pembelahan sel. Protein yang sama yang bertanggung jawab untuk kontraksi otot, aktin dan miosin, memulai proses pembentukan alur pembelahan, menciptakan cincin aktomiosin.



**Gambar 4-4** Cleavage 32 sel disebut blastula, yang dibedakan menjadi blastula awal dan blastula akhir. Blastula akhir ditandai dengan terbentuknya rongga blastula atau blastocoel



**Gambar 4-5** Bentuk embrio pada tingkat blastula menyerupai bola yang memiliki rongga. Dindingnya terdiri dari selapis sel. Bagian yang mempunyai dinding agak tebal dinamakan **kutub vegetalis** (*vegetal pole*). Bagian yang berhadapan dengan kutub vegetalis mempunyai dinding agak tipis disebut **kutub animalis** (*animal pole*)

## 2. Blastula Akhir

Pada banyak organisme termasuk *Xenopus*, transisi mid-blastula biasanya terjadi setelah sejumlah pembelahan sel tertentu, dan ditentukan oleh berakhirnya siklus pembelahan sel yang sesuai dari perkembangan blastula awal, dan pemanjangan dari siklus sel dengan penambahan fase G<sub>1</sub> dan G<sub>2</sub>. Sebelum transisi ini, pembelahan terjadi hanya dengan fase sintesis dan mitosis dari siklus sel. Penambahan dua fase pertumbuhan ke dalam siklus sel memungkinkan sel untuk bertambah besar, karena sampai titik ini blastomer mengalami pembelahan reduktif di mana ukuran keseluruhan embrio tidak bertambah, tetapi lebih banyak sel yang dibuat. Transisi ini memulai pertumbuhan ukuran organisme.

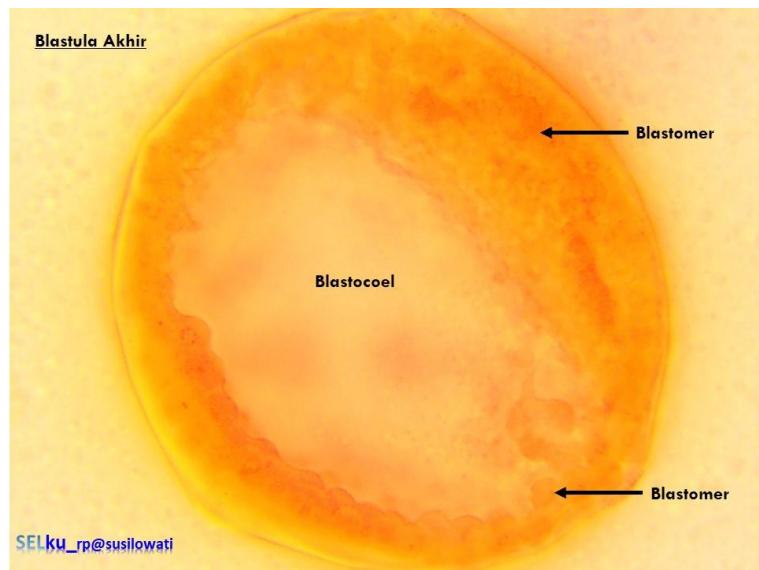
Transisi mid-blastula juga ditandai dengan peningkatan nyata dalam transkripsi mRNA non-maternal baru yang ditranskripsi dari genom organisme. Sejumlah besar mRNA ibu dihancurkan pada saat ini, baik oleh protein seperti SMAUG atau oleh mikroRNA. Kedua proses ini menggeser kendali embrio dari mRNA induk ke inti.

Blastula adalah bola sel yang mengelilingi *blastocoel*. *Blastocoel* adalah rongga berisi cairan yang mengandung asam amino, protein, faktor pertumbuhan, gula, ion, dan komponen lain yang diperlukan untuk diferensiasi sel. *Blastocoel* juga memungkinkan blastomer bergerak selama proses gastrulasi.

Pada embrio *Xenopus*, blastula terdiri dari tiga wilayah berbeda. Tudung animal membentuk atap *blastocoel* dan terus membentuk turunan ektodermal. Zona ekuator atau marginal, yang menyusun dinding *blastocoel* berdiferensiasi terutama menjadi jaringan mesodermal. Massa vegetal terdiri dari dasar *blastocoel* dan terutama berkembang menjadi jaringan endodermal.

Pada blastokista mamalia (istilah untuk blastula mamalia) ada tiga garis keturunan yang memunculkan perkembangan jaringan selanjutnya. Epiblas memunculkan janin itu sendiri sementara trofoblas berkembang menjadi bagian dari plasenta dan endoderm primitif menjadi kantung kuning telur.

Pada embrio tikus, pembentukan *blastocoel* dimulai pada tahap 32 sel. Selama proses ini, air memasuki embrio, dibantu oleh gradien osmotik yang merupakan hasil  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPases yang menghasilkan gradien  $\text{Na}^+$  tinggi pada sisi basolateral trofektoderm. Pergerakan air ini difasilitasi oleh aquaporin. Segel dibuat oleh sambungan rapat sel epitel yang melapisi *blastocoel*.



**Gambar 4-6** Pembelahan sel 32 sel blastomer yang disebut blastula akhir yang ditandai dengan terlihatnya rongga blastula (*blastocoel*)

Pada ujung pembelahan, bola padat sel menimbulkan blastula yang terdiri dari sejumlah blastomer. Ciri khas tahap blastula adalah adanya rongga yang disebut *blastocoel*. Blastula adalah awal dari berkembangnya rongga tubuh yang utama. Proses pembentukan blastula disebut blastulasi. Blastula katak disebut amphiblastian karena rongga yang ada hanya terbatas pada kutub animal. Namun kutub vegetal terdiri dari massa padat sel kuning telur non berpigmen. Pada tahap 32 sel, blastula terdiri dari satu lapisan sel dan disebut blastula awal. Sel berpigmen (mikromer) ditemukan di separuh anterior sedangkan megamer kuning kuning ada di separuh posterior. Seperti yang telah ditunjukkan, *blastocoel* seluruhnya terletak di bagian anterior. Blastula katak berongga dan memiliki *blastocoel* yang berkembang dengan sangat baik disebut coeloblastula. Saat segmentasi berlangsung, jumlah sel dalam blastula meningkat; begitu juga dengan *blastocoel*. Lantai *blastocoel* berbentuk datar sedangkan bagian atasnya melengkung. Atapnya terdiri dari tiga hingga empat lapisan mikromer berpigmen sementara lantainya dibentuk oleh kuning telur megamer. Antara mikromer dan megamer dan di sepanjang ekuator ditemukan sekelompok sel yang berukuran sedang (antara megamer dan mikromer). Sel-sel ini membentuk cincin germinal. Cincin germinal terbentuk di wilayah *grey crescent*.

## D. Gastrula

Gastrulasi adalah proses pembentukan gastrula berongga dari blastula. Ini melibatkan gerakan dinamis dan penataan ulang blastomer. Gerakan blastomer di sepanjang jalur tertentu selama gastrulasi disebut sebagai gerakan morfogenetik. Tiga jenis gerakan morfogenetik dapat ditemukan antara lain: invaginasi, involusi, dan epiboli.

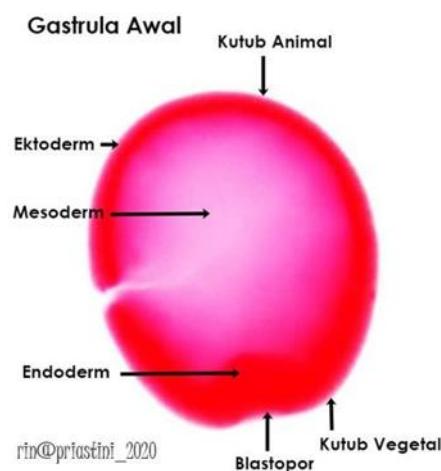
**Invaginasi.** Invaginasi adalah proses pelipatan ke dalam secara aktif blastomer. Selama invaginasi, beberapa blastomer di dekat *grey crescent* didorong ke dalam untuk membentuk celah atau alur. Pembukaan alur ini disebut blastopor dan rongga tersebut disebut *blastocoel* atau *archenteron*. Blastopor tersebut secara bertahap membentuk bentuk bulan sabit (*crescentic*) dan akhirnya menjadi melingkar. Bagian dorsal ke bukaan blastoporal disebut dorsal lip. Tepi bawah mungkin disebut ventral lip. Karena pembesaran *archenteron*, *blastocoel* berkurang secara bertahap.

**Involusi.** Involusi adalah proses memutar dalam gerakan blastomer. Selama proses ini mikromer berkembang biak dan bermigrasi ke dorsal lip dari blastopor dan memutar ke dalam atau berubah menjadi *archenteron* dan mengatur dirinya sendiri di atap *archenteron*. Involusi diselesaikan dengan konvergensi dan divergensi. Selama ini, mikromer berkembang biak dengan cepat dan bergerak menuju ujung blastoporal, proses yang disebut **konvergensi**. Jadi sel-sel yang berkumpul di dalam blastopor mulai berinvolusi secara perlahan dan mengalami divergensi menuju atap *archenteron*. Proses ini disebut **divergensi**. Jadi sel berinvolusi berkembang menjadi chordamesoderm. *Archenteron* secara bertahap melebar yang mendorong *blastocoel* menyempit. Blastopor crescentik menjadi lingkaran penuh.

**Epiboli.** Epiboli berarti pertumbuhan satu lapisan sel di atas lapisan lainnya. Selama epiboli, mikromer kutub animal membelah dengan cepat dan bergerak di atas makromer kutub vegetal. Lapisan ini membentuk ektoderm. Akibat gerakan morfogenetik ini, tiga lapisan germinal yang utama terbentuk. Sel-sel yang menutupi gastrula secara eksternal membentuk ektoderm. Sel-sel yang mengalami involusi ke dalam atap *archenteron* tersebut menimbulkan mesoderm dan sel-sel samping dan lantai dari *archenteron* akan berkembang menjadi endoderm.

## 1. Gastrula Awal

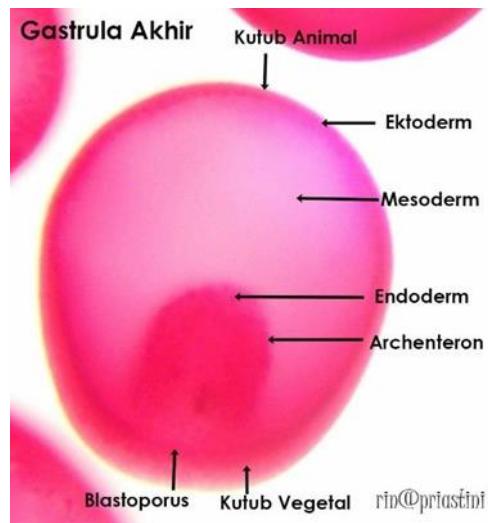
Proses invaginasi dan epiboli terus menekan dinding yang menyebabkan blastocoel mulai terdesak, sehingga membentuk blastoporalip yang nantinya akan terpisah membentuk blastoporus. Di daerah blastoporalip, epiboli mengalami hambatan (epiboli tidak melanjut ke arah kutub vegetal), sehingga ektoderm, mesoderm dan entoderm terus melanjutkan involusi membentuk rongga yaitu *gastrosul* (*arkhenteron/usus primitif*).



**Gambar 4-7** Fotomikroskopis stadium gastrula awal dengan pembesaran 400x, proses invaginasi dan epiboli terus menekan dinding yang menyebabkan **blastosul** mulai terdesak, sehingga membentuk **blastoporalip** yang nantinya akan terpisah membentuk **blastoporus**. Di daerah blastoporalip, epiboli mengalami hambatan (epiboli tidak melanjut ke arah kutub vegetal), sehingga ektoderm, mesoderm dan entoderm terus melanjutkan involusi membentuk rongga yaitu **gastrosul** (*arkhenteron/usus primitif*)

## 2. Gastrula Akhir

Akhirnya blastosul hanya merupakan celah yaitu **gastrural slit** yang akan ditempati oleh korda mesoderm. Korda mesoderm, nantinya akan berdegenerasi menjadi notokord dan berkembang menjadi sistem otot dan sistem skelet. Selanjutnya dengan terbentuknya entoderm (atau **arkhenteron**), mesoderm dan ektoderm yang menebal, embrio akan tumbuh memanjang ke arah antero-posterior.



**Gambar 4-6** Fotomikroskopis stadium gastrula akhir dengan pembesaran 400x, proses invaginasi dan epiboli terus menekan dinding yang menyebabkan blastosul mulai terdesak, sehingga membentuk blastoporalip yang nantinya akan terpisah membentuk blastopor. Di daerah blastoporalip, epiboli mengalami hambatan (epiboli tidak melanjut ke arah kutub vegetal), sehingga ektoderm, mesoderm

Beberapa perubahan internal lainnya juga terjadi bersamaan dengan pergerakan morfogenetik tersebut. Saat *archenteron* membesar, megamer kuning telur mendorong keluar sepanjang blastopor. Struktur ini disebut sumbat kuning telur. Proses gastrulasi selesai dalam 36 jam pembuahan. Proses gastrulasi mengubah blastula menjadi gastrula triploblastik berbentuk bola dan bersifat simetris bilateral. Secara bertahap gastrula mengalami proses tubulasi atau neurulasi menjadi neurula.

## PRAKTIKUM CLEAVAGE, BLASTULA, DAN GASTRULA

### SEDIAAN: WHITEFISH (CLEAVAGE)

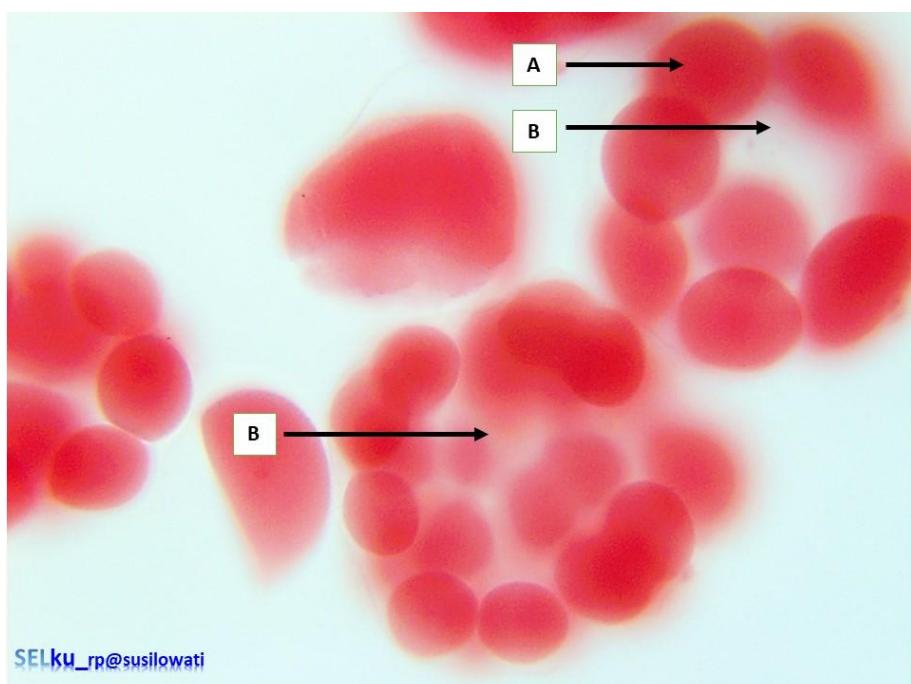
Pewarnaan: HE

Dengan menggunakan pembesaran 100x, terlihat pembelahan cleavage setelah fertilisasi, yaitu 2 sel, 4 sel, 8 sel, dan 16 sel yang disebut morula.

Sebutkan bagian yang ditunjuk:

A. \_\_\_\_\_

B. \_\_\_\_\_



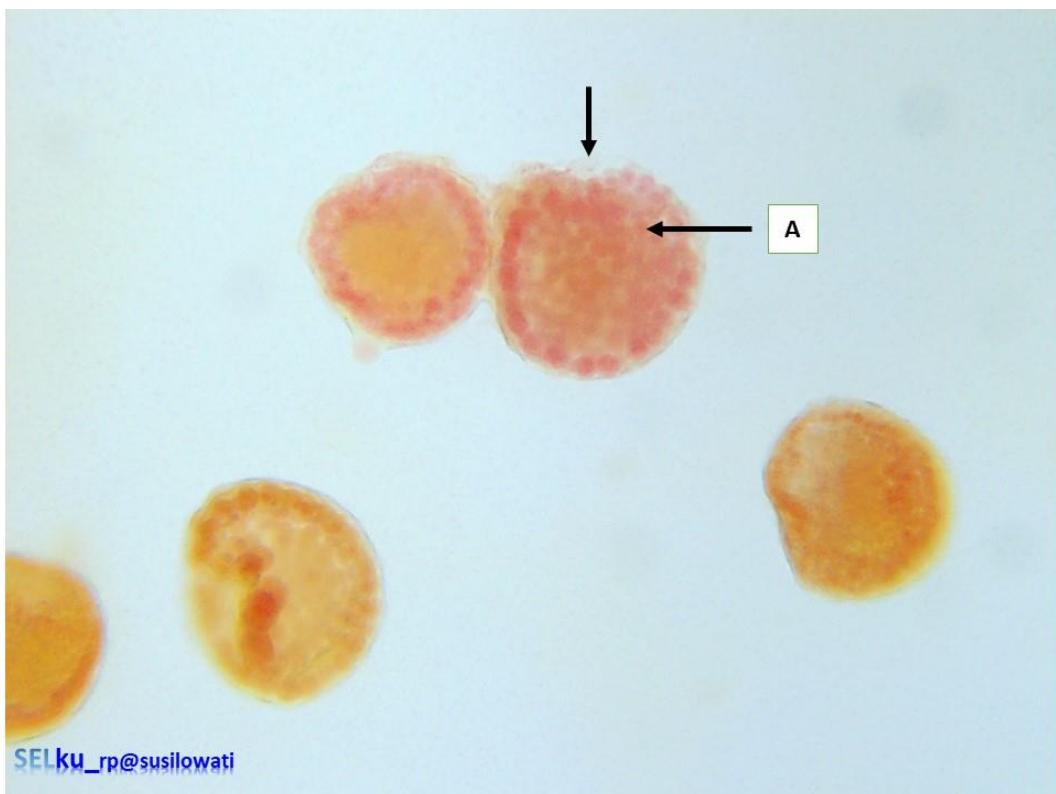
## **SEDIAAN: WHITEFISH (BLASTULA AWAL)**

Pewarnaan: HE

Dengan menggunakan pembesaran 100x, terlihat pembelahan blastula yang merupakan 32 sel blastomer.

Sebutkan bagian yang ditunjuk:

A. \_\_\_\_\_



## **SEDIAAN: WHITEFISH (BLASTULA AKHIR)**

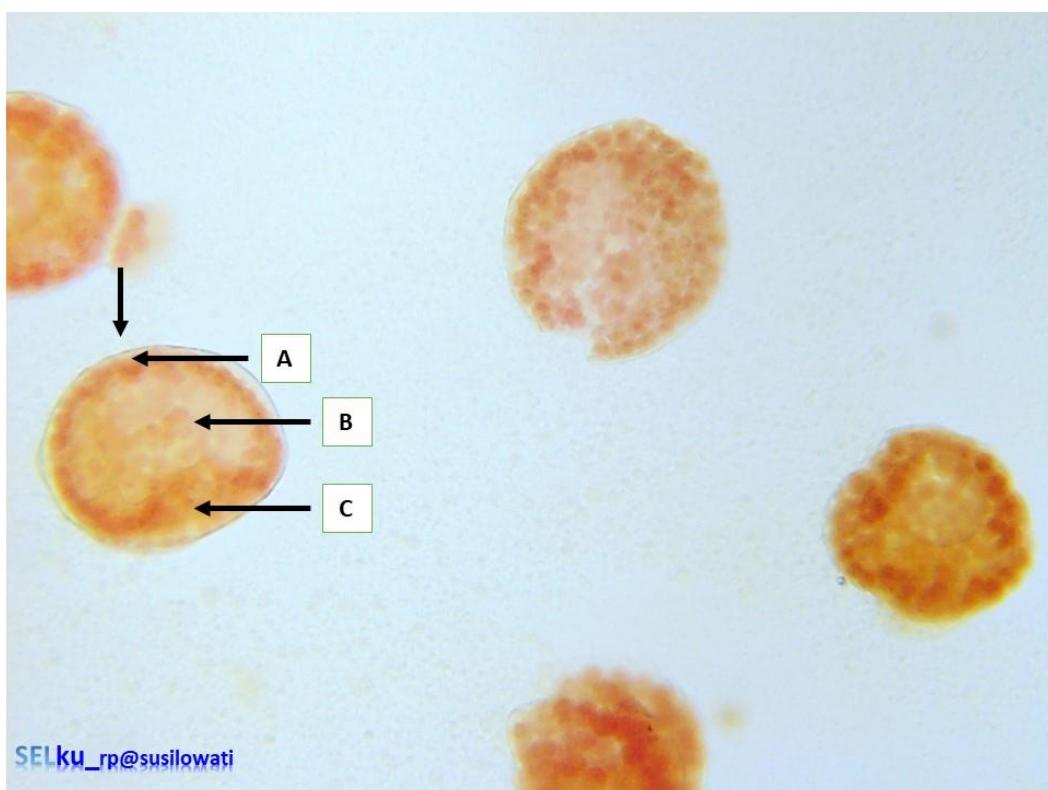
Pewarnaan: HE

Dengan menggunakan pembesaran 100x, terlihat pembelahan blastula yang merupakan 32 sel blastomer. Selain itu, dapat dijumpai kutub animalis, kutub vegetalis, dan terbentuknya rongga blastula yang disebut blastocoel.

Sebutkan bagian yang ditunjuk:

A. \_\_\_\_\_

B. \_\_\_\_\_



## SEDIAAN: WHITEFISH (GASTRULA AWAL)

Pewarnaan: HE

Dengan menggunakan pembesaran 100x, terlihat pembelahan blastula yang merupakan 64 sel blastomer. Pada tahap pembelahan ini telah terbentuk 3 lapisan germinal, yaitu ektoderm, mesoderm, dan endoderm. Selain ada blastocoel, juga terbentuk gastrocoel atau archenteron, dan blastoporus yang selanjutnya akan berkembang menjadi anus.

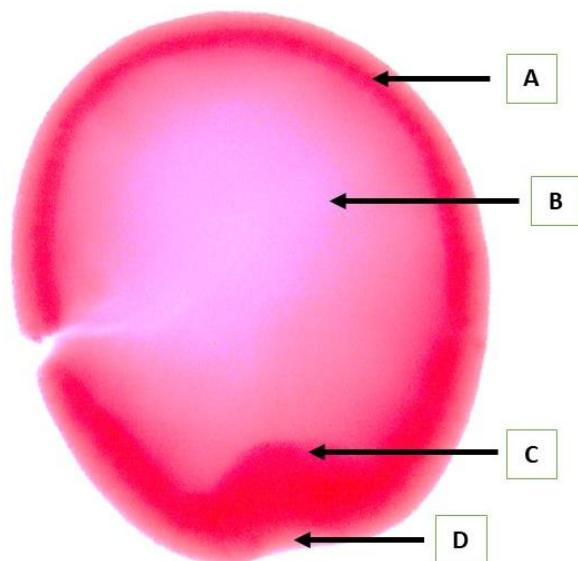
Sebutkan bagian yang ditunjuk:

A. \_\_\_\_\_

B. \_\_\_\_\_

C. \_\_\_\_\_

D. \_\_\_\_\_



SELku\_rp@susilowati

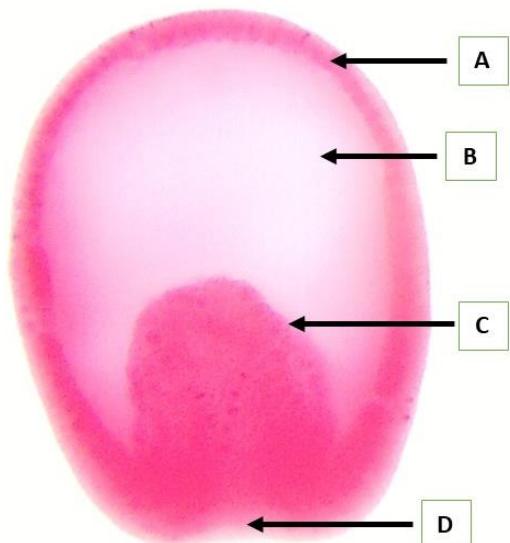
## **SEDIAAN: WHITEFISH (GASTRULA AKHIR)**

Pewarnaan: HE

Dengan menggunakan pembesaran 100x, terlihat pembelahan blastula yang merupakan 64 sel blastomer. Pada tahap pembelahan ini telah terbentuk 3 lapisan germinal, yaitu ektoderm, mesoderm, dan endoderm. Selain ada blastocoel, juga terbentuk gastrocoel atau archenteron yang semakin memanjang, dan blastoporus yang selanjutnya akan berkembang menjadi anus.

Sebutkan bagian yang ditunjuk:

- A. \_\_\_\_\_
- B. \_\_\_\_\_
- C. \_\_\_\_\_
- D. \_\_\_\_\_



[SELku\\_rp@susilowati](mailto:SELku_rp@susilowati)

## **BAB 5**

### **PERKEMBANGAN AWAL EMBRIO AYAM**

Dalam banyak hal sejarah embriologi ayam adalah sejarah embriologi itu sendiri karena kemudahan aksesibilitas dari ayam yang selalu membuatnya menjadi favorit untuk dapat dipelajari. Semua kemajuan dan penemuan hebat dalam perkembangan ayam memiliki relevansi untuk vertebrata lainnya, termasuk mamalia, dan beberapa telah membawa tentang perubahan dramatis dalam pemahaman mendasar tentang perkembangan itu sendiri. Ada beberapa ulasan yang sangat baik tentang embriologi ayam yang telah dikemukakan oleh Needham [1934], Oppenheimer [1955], Mayer [1939], Horder *et al.*, [1986], dan ini berhubungan dengan pertumbuhan dalam pemahaman umum kita dari proses yang terlibat, yang meliputi berbagai spesies. Dalam bab ini ulasan yang dibahas dibatasi untuk peristiwa paling signifikan dalam sejarah embriologi ayam.

Bahasan pertama yang jelas dari embriologi ayam dinyatakan oleh Hippocrates [460-377 SM]. Ulasan Hippocrates dikutip oleh Needham sebagai berikut: mengambil 20 telur atau lebih banyak dan memberinya 2 atau 3 ayam untuk diinkubasi, lalu setiap hari dari yang kedua hingga seterusnya menetas dari telur, memecahkannya, dan memeriksanya. Pendekatan yang teratur dan sistematis ini bermakna bahkan hingga hari ini. Aristoteles [382-322 SM], yang juga mengikuti sistem ini, tampaknya menjadi yang pertama membedah embrio ayam.

Selama beberapa abad berikutnya banyak yang cukup berhasil membuat penasaran untuk membuka sebagian telur yang diinkubasi dan sering mencatat temuannya. Abad ke-17 seorang Dokter dan ahli anatomi dari Inggris yang bernama William Harvey, berdasarkan beberapa penemuan dan teorinya yang berkaitan dengan pembentukan dan fungsi jantung dan sirkulasi sebagian pada pengamatannya terhadap perkembangan ayam secara *in ovo*. Harvey membuka telur ayam di berbagai masa inkubasi yang panjang dan mengamatinya dengan menggunakan lensa pembesar pada berbagai tahapan pembentukan jantung dan dimulainya detak jantung. Harvey juga mencatat pembentukan pulau-pulau darah (*blood island*) dan

penggabungannya yang bertahap ke dalam sirkulasi. Sebelum ini pada umumnya diyakini bahwa jantung dan sirkulasi yang tidak bekerja sampai menetas, atau kelahiran yang terjadi pada mamalia. Harvey mengamati pembentukan organ-organ lain dalam embrio ayam dan juga menggambarkan bagaimana kuning telur digunakan sebagai makanan selama proses perkembangan.

Tidak sampai hingga penemuan mikroskop adalah menjadi mungkin untuk memperoleh pemahaman dari apa yang terjadi pada tahap paling awal pada perkembangan embrio ayam. Seorang ilmuwan dari Italia yang bernama Malpighi [1628-1694] yang menggunakan mikroskop, adalah yang pertama menggambarkan blastoderm ayam, lipatan saraf (*neural folds*) dan bumbung saraf (*neural groove*), vesikel optik, tahap awal perkembangan jantung dan somit.

Deskripsi lebih lanjut tentang embrio ayam terjadi selama abad ke-17 dan ke-18 tetapi pencapaian paling berharga selama periode ini adalah penyelesaian dari salah satu kontroversi besar, bahwa penganut preformasi versus epigenesis dan ini diselesaikan terutama dengan mengacu pada perkembangan ayam. Para preformasionis mengira bahwa keseluruhan individu ada dalam miniatur dalam sel telur atau, sebagai alternatif, di dalam sperma dan itu sederhana tumbuh sampai menetas; dianggap tidak ada diferensiasi, hanya pertumbuhan. Para ahli epigenetika menganggap bahwa pertumbuhan dan diferensiasi adalah terlibat dan perlu. Hari ini, kita semua dianggap sebagai ahli epigenetik. Argumen diselesaikan oleh Caspar Friedrich Wolff (1753 - 1794), yang lahir di Berlin tetapi menghabiskan sebagian besar waktu kehidupan penelitiannya di St. Petersburg. Wolff tidak hanya berpendapat secara filosofis melawan preformasi tetapi meraih argumennya dengan memberikan dua contoh yang jelas dari embrio ayam. Pertama, Wolff menunjukkan bahwa pembuluh darah di area opaca tidak ada dari awal inkubasi tetapi berkembang dari pulau-pulau darah yang bergabung bersama. Namun, para penganut skeptis berpendapat bahwa mungkin pembuluh darah ada di sana sepanjang waktu, meskipun tidak terlihat oleh mata manusia. Wolff membala dengan mencari jaringan di mana argumen ini tidak dapat menampung dan, sekali lagi, menemukan contoh yang sangat baik pada ayam. Wolff menunjukkan bahwa usus (*gut*) terbentuk dari lembaran datar jaringan yang terlipat menjadi tabung, tahapan yang

berbeda terlihat jelas. Ini contoh yang dipilih dengan baik karena pada akhirnya diterima dan menghancurkan kasus untuk preformasi, tidak hanya pada ayam tetapi pada semua embrio.

Deskripsi pertama tentang lapisan germinal (ektoderm, mesoderm dan endoderm) dibuat di ayam oleh ahli embriologi Rusia yang bernama Pander [1794-1865], yang adalah pengikut Wolff. Namun, ada seorang ilmuwan dari Estonia yang bernama Von Baer [1792-1876] yang dengan cermat menganalisis banyak embrio dan menggunakan mikroskop cahaya, mampu menunjukkan bahwa ketiga lapisan itu bukan merupakan ciri yang istimewa dari ayam tetapi berlaku universal pada vertebrata. Von Baer, menentang penyesatan ide rekapitulasi, di awal abad ke-19, dimana tahap-tahap perkembangan dianggap mewakili tahap evolusi progresif. Von Baer menemukan notokord dan mempelajari asimetri pada ayam, serta dialirkannya bahan dari kuning telur dan putih telur ke dalam embrio. Jane Oppenheimer [1955] menggambarkan Von Baer sebagai ilmuwan yang paling berbeda dan berpengaruh sebagai seorang embriologis pada awal abad ke-19 dan karyanya dikatakan mempengaruhi Darwin.

Abad ke-19 menghasilkan ilmuwan lainnya yang hebat dan di antaranya adalah Wilhem Roux (1850-1924) yang mungkin digambarkan sebagai embriologis yang paling berpengaruh di akhir abad ke-19. Roux sering disebut sebagai bapak embriologi eksperimental. Roux menyadari bahwa jawaban atas banyak pertanyaan yang ditanyakan tentang perkembangan bisa jadi diperoleh hanya dengan melakukan eksperimen secara langsung pada embrio. Roux juga orang pertama yang banyak memunculkan pertanyaan-pertanyaan yang masih mempesona kita hingga hari ini, seperti cara-cara di mana bidang simetri terbentuk pada awal embrio. Pengantar Roux tentang langkah maju pendekatan eksperimental untuk embriologi adalah sangat bagus, baik secara konseptual dan teknis, dan selama paruh pertama abad ke-20 menyatakan perkembangan deskriptif menjadi digantikan oleh pendekatan eksperimental.

Efek dari berbagai perubahan fisik atau lingkungan kimiawi pada embrio ayam diselidiki dan percobaan sederhana dilakukan secara *in ovo*. Misalnya, Peebles [1898] menyisipkan potongan kecil rambut musang ke ujung anterior *primitive streak* dan menemukan dibawa secara posterior sebagai *Hensen node* yang mengalami regresi. Lebih rinci kajian tentang gerakan

morfogenetik dilakukan oleh ilmuwan lain yang menggunakan pewarna bintik-bintik vital untuk menandai area yang berbeda yang posisinya bisa berubah lalu diikuti dengan teliri. Pendapat atau hasil percobaan Grasper [1929] adalah sangat penting karena memperkenalkan teknik merekam gerakan gastrulasi ayam dengan menggunakan sinematografi. Eksperimen jenis ini menyediakan bukti dihasilkannya pemetaan di awal, meskipun telah disempurnakan dan dimodifikasi dalam beberapa tahun terakhir teknik modern, namun cukup andal untuk dijadikan dasar banyak percobaan yang datang sesudahnya.

Selama berabad-abad ini, ayam itu bukan hanya embrio yang memiliki perkembangan dasar yang dapat dipelajari dan spesies lain sekarang terbukti lebih mudah yang merupakan mata pelajaran untuk beberapa studi eksperimental. Banyak diantaranya merupakan percobaan baru yang dilakukan pada embrio amfibi yang jaringannya sering lebih mudah dimanipulasi daripada ayam, jadi mungkin tidak mengejutkan bahwa percobaan paling terkenal pada embrio di abad ke-20 dilakukan pada amfibi, yang menghasilkan konsep pengatur sebagai pengontrol utama perkembangan. Tak pelak lagi, muncul pertanyaan apakah pengatur yang serupa ada pada hewan lain, dan khususnya dalam amnion. Eksperimen jenis ini di awal embrio mamalia secara teknis tidak mungkin terjadi, akibatnya perhatian menjadi terfokus kembali pada ayam. Namun, kuning telur yang besar dan rapuh dari blastoderm awal membuat transplantasi jaringan dalam embrio ayam sangat sulit. Tidak sampai hingga Waddington [1932] mengembangkan prosedur untuk menghilangkan blastoderm dari telur dan menanamnya secara *in vitro*, menggunakan modifikasi teknik kultur yang dirancang oleh ahli bakteriologi, sehingga dimungkinkan terjadi. Teknik ini kemudian dimodifikasi dan sangat ditingkatkan oleh New [1955] dan sejak itu menjadi dasar untuk banyak percobaan eksperimental di blastoderm awal.

## A. Telur Ayam Dan Pembentukannya

Burung dari semua spesies bertelur dan tidak ada yang bersifat **vivipar**. Meskipun hal ini mungkin tampak merugikan, namun burung telah berhasil memantapkan dirinya di semua jenis medan atau lingkungan, tidak hanya karena perilaku mengerami dan pengasuhannya

yang sangat berkembang, tetapi juga karena struktur dan komposisi telurnya.

Telur burung mengandung semua bahan mentah untuk pembentukan embrio selain oksigen, yang masuk melalui pori-pori kecil di cangkang. Jika pori-pori ini secara eksperimental tersumbat oleh lilin, maka tidak ada perkembangan yang terjadi.

Kuning telur berdiameter sekitar 2-3 cm dan ditutup oleh selaput atau membran transparan tipis yang disebut **selaput vitellina**. Komponen utama kuning telur adalah lipid dan protein dan bahan tersebut bersifat tidak hidup. Embrio itu sendiri adalah gumpalan kecil sitoplasma yang mengapung ke permukaan paling atas kuning telur, berada dekat di bawah membran vitellina (yang kadang-kadang disebut **lapisan perivitellina**) dan merupakan satu-satunya bagian yang hidup. Putih telur atau albumin terletak di sekitar kuning telur dan pada gilirannya tertutup oleh dua selaput cangkang keras yang menyatu, kecuali pada ujung tumpul, di mana dipisahkan oleh ruang udara yang penting dalam penetasan. Permukaan bagian dalam cangkang berkapur diuraikan menjadi proyeksi kecil, tombol-tombol *mammillary*, dan untaian dari membran cangkang yang melekat padanya.

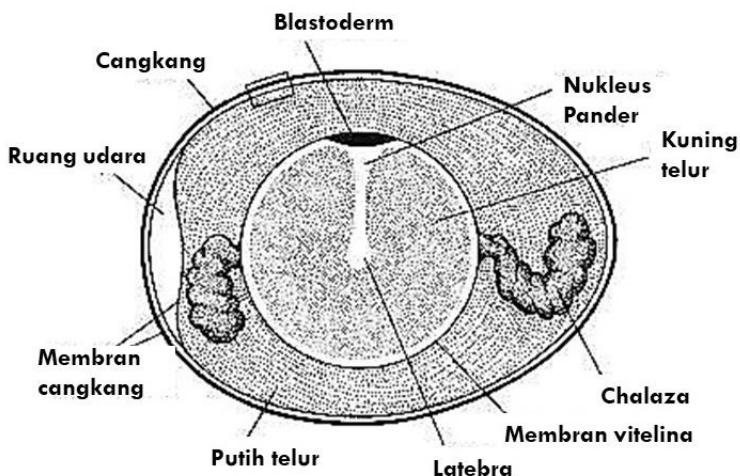
Telur burung bervariasi dalam ukuran, bentuk, dan pigmentasi permukaan menurut spesiesnya, meskipun terdapat variasi individu yang cukup besar. Bahkan dalam strain unggas peliharaan yang sama, beberapa ayam betina bertelur lebih panjang atau lebih runcing daripada yang lain, dan pola pigmen telur puyuh sangat bervariasi bahkan dalam kelompok yang sama. Namun, morfologi umum telur tetap sama di seluruh spesies unggas dan terkait dengan aktivitas di berbagai wilayah saluran reproduksi ayam.

Chalaza adalah penyeimbang yang mendukung kuning telur. Kedua membran cangkang dipisahkan oleh ruang udara di ujung tumpul [Bellairs & Osmond, 2005].

## B. Tahapan Awal Embrio

Peristiwa terpenting untuk pembelahan embrio adalah pembentukan sumbu polaritas. Pertama, sisi dorsal dan ventral menjadi jelas (sumbu dorso-ventral) dan kemudian antero-posterior (sumbu *cranio-*

*axis*). Dengan interaksi kedua sumbu ini, embrio memperoleh sisi kiri dan kanan. Jika perbedaan antara bagian yang berbeda ini tidak terjadi, embrio akan terus tumbuh dalam ukuran tetapi tidak memiliki bentuk atau pola pada tubuhnya. Pembentukan sumbu dorso-ventral secara langsung terkait dengan hubungan antara kuning telur dan sitoplasma.



**Gambar 5-1** Potongan sagital melalui telur ayam. Latebra dan nucleus Pander adalah daerah kuning telur. Blastoderm terletak di atas nucleus Pander dan di bawah membran vitellina

Pada tahap awal, embrio ayam adalah cakram datar yang disebut **blastoderm**. Permukaan bawahnya bertumpu pada kuning telur dan menjadi sisi ventral embrio, sedangkan sel-sel di sisi atas terletak tepat di bawah membran vitellina dan menjadi sisi dorsal. Ada perbedaan potensial sebesar 25 mV di seluruh blastoderm antara sisi ventral yang bersifat asam dan sisi dorsal yang bersifat basa. Oleh karena itu, tampaknya mungkin bahwa lingkungan yang berbeda di kedua sisi blastoderm memainkan peran dalam menghasilkan polaritas dorso-ventral.

Pembentukan sumbu antero-posterior terjadi akibat pergeseran komponen ooplasma oleh gravitasi. Hal ini terjadi selama 20 jam atau lebih yang dihabiskan di kelenjar cangkang (uterus) ketika seluruh telur berputar sekitar 10-12 putaran per jam saat cangkang diletakkan dan dengan demikian melakukan tip blastoderm dari posisi aslinya di atas kuning telur. Ujung anterior (kepala) terbentuk di wilayah yang memiliki ujung paling rendah, sedangkan ujung posterior (ekor) terbentuk dari

wilayah tertinggi. Kemiringan ini disertai dengan bergesernya ooplasma kuning telur, termasuk inti Pander di bawah oosit sehingga semakin ringan komponen-komponennya, terutama yang disebut  $\beta$ -ooplasma, berada di bawah salah satu sisi blastoderm, yang mana kemungkinan sebagai hasilnya menjadi ujung posterior. Sifat dari interaksi yang diharapkan antara periblas dan blastoderm ternyata tidak dipahami, tetapi jelas bahwa sumbu anteroposterior belum sepenuhnya ditentukan pada tahap ini, karena dapat diubah secara eksperimental bahkan setelah peletakan telur; jika blastoderm terdapat pada telur maka dibelah menjadi dua sebelum inkubasi sehingga dapat membentuk sumbu kembar dan tidak harus memiliki orientasi yang sama satu sama lain.

### 1. Segregasi Ooplasmik

Pada saat meletakkan blastoderm yang tidak diinkubasi sudah terdiri dari beberapa bagian. Sabit Koller terlihat di ujung posterior sebagai *crescent* dan dikemas dengan partikel ooplasma yang seluruhnya dikelilingi oleh area opaca. Bagian yang disebut zona marginal yang terlihat, terletak di antara daerah opaca dan daerah pellucida, yang paling tebal di bagian posterior (zona marginal posterior). Sabit Koller terletak tepat di anterior terhadap zona marginal posterior dan meluas sebagai dua tanduk lateral. Daerah endofil terletak di bagian tengah area pelusida. Callebaut *et al.* [2001] menjelaskan bagian lebih lanjut yang disebut anti-sabit, yang terletak di ekstrim perbatasan anterior dari area pelusida.

Selama pembentukan oosit empat ooplasma yaitu  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  dan  $\delta$  telah dibedakan dalam hubungannya dengan cakram germinal telur puyuh yang masing-masing memiliki pola organelnya sendiri. Selama proses tilting, ooplasma  $\beta$  dan  $\gamma$  bergeser dan didistribusikan ke berbagai bagian embrio, masing-masing kemudian memainkan peran penting dalam perkembangan bagiannya. Ooplasma  $\alpha$  terpisah sangat awal dari bagian ooplasma yang lain dan menghilang sebelum bertelur. Ooplasma  $\beta$  membentuk sabit Koller. Ooplasma menjadi tergabung ke dalam bagian tengah dari area pellucida, sedangkan ooplasma  $\delta$  juga berkontribusi ke bagian tengah dan kemudian memisahkan diri ke dalam sel germinal primordial. Oleh karena itu, tampaknya ada hubungan antara kemiringan telur, redistribusi empat

jenis ooplasma dan pembentukan sumbu anteroposterior, meskipun sifat interaksi yang seharusnya antara ooplasma dan blastoderm belum dapat dijelaskan.

Pembelahan sel berulang terjadi selama cleavage sehingga pada saat telur diletakkan, embrio ayam memiliki beberapa ribu sel. Perkiraan berkisar dari 32.000-42.000 sel hingga totalnya menjadi sebanyak 60.000 sel.

## 2. Tahapan Perkembangan Telur Yang Telah Dibuahi

Transformasi sekelompok sel yang tidak terspesialisasi menjadi tubuh embrio dasar terjadi selama 2 hari pertama inkubasi dan selama waktu ini embrio paling rentan terhadap gangguan. Banyak kelainan yang terlihat pada embrio yang telah menetas di akhir berasal dari kecelakaan pada tahap awal ini.

Ketika telur diletakkan, suhunya turun dari tubuh induk ayam (sekitar 40°C) terhadap lingkungan sekitarnya, yang biasanya jauh di bawah suhu inkubasi 37-38°C. Hasilnya adalah bahwa perkembangan embrio melambat secara dramatis dan virtual, berhenti di bawah suhu sekitar 25°C, tetapi ditahan sampai inkubasi dimulai. Di alam liar, ayam betina membutuhkan waktu beberapa hari untuk menyelesaikan peletakan telurnya dan baru kemudian mulai mengeraminya, akibatnya semua ayam menetas pada waktu yang bersamaan.

Perubahan morfologi yang terjadi selama 24 jam pertama paling baik dilihat dengan membedah embrio dari permukaan kuning telur dan memeriksanya dengan cahaya yang ditransmisikan. Ciri yang paling mencolok adalah pembagian menjadi area pelusida, bagian tengah yang hampir transparan, dan area opaka, cincin tepi *opaquer*. Bagian yang terlihat ada dua lapisan yaitu bagian atas (epiblas) dan bagian bawah, di seluruh area opaka dan di bagian posterior area pelusida. Keburaman area opaka disebabkan oleh adanya sejumlah besar tetesan kuning telur intraseluler di lapisan bawah. Tetesan kuning telur intraseluler juga terdapat di area pelusida, tetapi jumlahnya jauh lebih kecil dan lebih sedikit daripada di area opaka sehingga jaringannya relatif transparan. Area pelusida muncul terutama pada jaringan embrio, sedangkan batas lateral area pelusida

bersama-sama dengan seluruh area opaka membentuk jaringan ekstraembrionik saja.

Garis primitif yang sedang berkembang mulai terlihat di area pelusida pada sekitar 10 jam masa inkubasi. Garis primitif sebagai daerah segitiga gelap di lapisan atas, puncaknya terletak di daerah pellucida dan alasnya sepanjang perbatasan dengan daerah opaca. Dengan sekitar 18 jam masa inkubasi, garis primitif telah mencapai panjang penuhnya, membentang sekitar dua pertiga dari jalan melintasi area pellucida dan wilayah terpentingnya yaitu simpul atau **jendolan Hensen**, yang terlihat sebagai ujung yang membengkak di ujung anterior.

### 3. Zona Marjinal Posterior

Zona marginal terletak di perbatasan antara area opaka dan area pelusida dan sudah terlihat pada saat telur diletakkan, terluas ada di ujung posterior area pelusida, zona marginal posterior berlapis-lapis, dan semakin menipis di lateral dan daerah anteriornya. **Sabit Koller** adalah daerah berbentuk bulan sabit di tepi anterior zona marginal posterior dan juga dikenal sebagai **sabit Rauber**, karena awalnya dijelaskan oleh Rauber pada tahun 1876. Pentingnya zona marginal posterior dan sabit Koller terletak pada perannya dalam pembentukan **garis primitif (*primitive streak*)**.

Sel-sel zona marginal posterior dan sabit Koller bersentuhan langsung dengan kuning telur di bawahnya, sedangkan area pelusida, yang berada di anterior, terletak di atas rongga subgerminal yang berisi cairan. Hubungan yang erat dengan kuning telur ini sangat penting, karena ada bukti bahwa ooplasma berkontribusi pada zona marginal posterior dan sabit Koller. Ada beberapa ketidaksepakatan tentang jumlah lapisan sel yang ada di wilayah ini dan hubungan yang tepat antara sabit Koller dengan zona marginal posterior. Hal ini tidak mengherankan karena sulit untuk membedakan berbagai jenis sel dengan pewarnaan tradisional, meskipun situasinya lebih mudah pada burung puyuh daripada pada ayam. Perlu dicatat bahwa beberapa penulis misalnya menganggap sabit Koller dan zona marginal posterior sebagai satu jaringan. Menurut Zehavi *et al.* [1998] terdapat

tingkat proliferasi sel yang tinggi di zona marginal posterior dan sabit Koller.

#### 4. Lapisan Bawah Telur Yang Telah Dibuahi

Empat jenis sel pada akhirnya berkontribusi pada lapisan bawah. Pada saat bertelur, biasanya sekitar tahap X, area pelusida terdiri dari lapisan atas yang disebut **epiblast**, yang didasari oleh gumpalan sel yang tersebar, masing-masing berdiameter sekitar 30-50 mm. Gumpalan ini adalah indikasi pertama dari pembentukan lapisan bawah dan diberi nama endofil oleh Vakaet [1962]. Nama alternatifnya adalah sel polinvaginasi dan hipoblas primer. Hipoblas terletak di anterior (kranial) pemanjangan dari sabit Koller dan diperkirakan timbul oleh ingressi dari lapisan atas, meskipun bukti terutama didasarkan pada pewarnaan bahan fiksasi. Sebagian besar, jika tidak semua, sel-sel endofil diperkirakan menghasilkan sel germinal primordial dan juga dapat berkontribusi pada tangkai kantung kuning telur.

Segera setelah dimulainya inkubasi, komponen kedua dari lapisan bawah yang disebut **hipoblas** muncul di ujung posterior area pelusida. Hal ini tampaknya terbentuk terutama oleh migrasi dari sabit Koller, dan setelah sekitar 12 jam masa inkubasi telah berada di bawah seluruh area pelusida. Saat menyebar dari posterior ke ujung anterior area pelusida, hipoblas membentuk lembaran longgar di mana beberapa sel endofil yang dapat ditangkap dan dibawa ke anterior. Akhirnya berada di germinal *crescent*. Sel-sel hipoblas, masing-masing berdiameter sekitar 15-20 mm dan berisi kuning telur, yang melekat satu sama lain secara longgar. Tidak ada lamina basal yang terkait dengannya dan tidak ada spesialisasi dorsoventral yang jelas, sehingga lembaran tersebut tidak dapat dikatakan sebagai epitel yang sebenarnya. Sel-sel hipoblas telah dipelajari dengan sinematografi selang waktu dalam kultur jaringan dan telah ditemukan menetap dan bermigrasi dengan mudah, bahkan pada kaca yang tidak dirawat, terdapat lapisan fibronektin yang tebal. Menurut Rosenquist [1971] sel hipoblas menimbulkan endoderm dari tangkai kantung kuning telur.

Pada sekitar tahap 2-3 hipoblas posterior digantikan oleh komponen ketiga dari lapisan bawah yang disebut **endoblas**, yang kadang-kadang dianggap terdiri dari dua jenis sel yaitu endoblas sabit yang terletak di bawah sabit Koller, dan endoblas *junctional* yang terletak lebih jauh ke lateral. Endoblas sebagian berasal dari sabit Koller dan sebagian dari zona marginal posterior lateral. Endoblas sabit telah ditemukan membentuk endoderm kantung kuning telur dan memengaruhi pembentukan pembuluh darah kantung kuning telur, temuan ini tidak selalu bertentangan dengan Rosenquist tetapi mencerminkan fakta bahwa Rosenquist tidak membedakan antara hipoblas dan sabit endoblas.

Bachvarova *et al.* [1998] menghasilkan peta perkembangan dengan mewarnai kelompok sel yang dipilih di dalam dan sekitar sabit Koller dengan DiI/DiO. Dengan menggunakan *goosecoid* (gsc) sebagai penanda, yang diekspresikan dalam hipoblas tetapi bukan endoblas, disimpulkan bahwa kedua jaringan tersebut berasal dari lokasi yang berbeda di lapisan dalam dari endoblas sabit. Komponen keempat dan terakhir dari lapisan bawah adalah **endoderm** definitif, yang terdiri dari sel yang telah masuk melalui garis primitif setelah terbentuk sempurna dan menjadi endoderm usus yang sedang berkembang.

## 5. Epiblas

Periode ini ketika aktivitas berlangsung di lapisan bawah, embrio berkembang di atas kuning telur dan lapisan atas menipis dari sekitar empat hingga enam sel menjadi sedalam satu sel, mungkin dengan interkalasi dan perubahan bentuk sel. Canning dan Stern [1988] menunjukkan dengan pewarnaan menggunakan antibodi monoklonal HNK-1 akan memperlihatkan pola lada-dan garam pada embrio ayam tahap XII dan XIII, yang menunjukkan bahwa sel-sel tersebut tidak identik seluruhnya. Kemudian, Stern dan Canning [1990] menemukan bahwa selsel yang positif HNK-1 adalah prekursor mesoderm dan endoderm definitif dari garis primitif. Kesimpulan serupa sebelumnya dinyatakan oleh Bancroft dan Bellairs [1974] yang menunjukkan bahwa pola dan distribusi mikrovili pada permukaan dorsal epiblas bervariasi berdasarkan area.

Terjadi konvergensi sel ke garis tengah posterior, diikuti oleh gerakan anterior sepanjang garis tengah. Peta-peta struktur yang modern ini menunjukkan bahwa ada banyak kemungkinan struktur yang tumpang tindih pada tahap-tahap awal ini. Sel-sel hanya ditentukan secara labil, seperti yang dapat ditunjukkan dengan mentransfer potongan kecil jaringan dari area yang berbeda ke lingkungan asing (misalnya dengan mencangkok ke membran *chorioallantoic*, atau dieksplorasi ke dalam kultur jaringan). Misalnya, endoderm usus mampu berkembang dari hampir seluruh area pellucida, meskipun biasanya hanya terbentuk dari sel sepertiga posterior area pelusida. Hatada dan Stern menyimpulkan bahwa sel-sel di daerah anterior area pelusida biasanya dicegah berkembang menjadi endoderm usus karena pengaruh dari sel-sel tetangga.

#### 6. Perkembangan Embrio Ayam < 6 Jam

**Pre-Streak:** sebelum munculnya garis primitif. Pelindung embrionik mungkin terlihat, petunjuk pada terjadinya akumulasi sel-sel menuju setengah bagian posterior blastoderm.

#### 7. Perkembangan Embrio Ayam 6-7 Jam

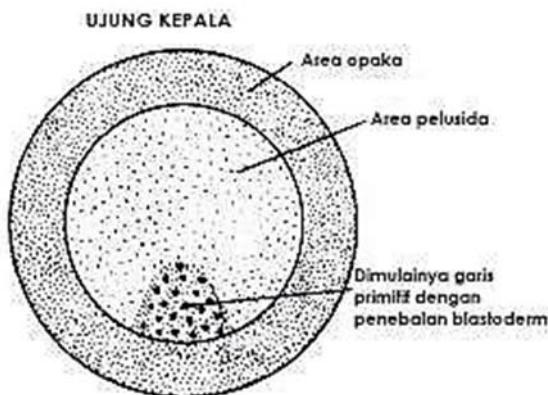
**Initial Streak (garis awal).** Biasanya terbentuk setelah 6-7 jam masa inkubasi. Tahap sementara di mana garis primitif pertama kali muncul sebagai penebalan kerucut yang pendek, hampir sama lebarnya (panjangnya 0,3-0,5 mm), di batas posterior area pelusida.

#### 8. Perkembangan Embrio Ayam 13-18 Jam

**Intermediate Streak (garis pertengahan).** Garis primitif memanjang dari margin posterior sampai kira-kira ke tengah area pellucida. Garis primitifnya relatif lebar di sepanjang tubuhnya, dan melebar di tempat yang menyentuh area opaca. Tidak ada alur atau bumbung primitif (*primitive groove*).

Garis primitif memainkan peran penting dalam perkembangan embrio. Garis primitif pertama kali terlihat pada sekitar 6-7 jam masa inkubasi sebagai bayangan gelap berbentuk segitiga di ujung posterior area pellucida. Secara bertahap meluas lebih jauh ke anterior sampai sekitar 13 jam masa inkubasi, ketika mencapai pusat area pellucida dan selama 2 jam berikutnya mencapai panjang akhirnya. Garis primitif disebut demikian karena tampak sebagai garis ganda gelap melintasi

area pelusida yang relatif tembus cahaya. Kegelapan disebabkan oleh banyaknya sel yang telah menumpuk di sana dan menunggu untuk masuk.



**Gambar 5-2** Gambaran perkembangan embrio ayam 4 jam masa inkubasi. Empat jam setelah inkubasi telur menunjukkan diferensiasi dari cakram blastula atau *blastodisc* menjadi area pelusida dan area opaca. Satu kuadran area pelusida menebal, yang menandai ujung ekor embrio di masa yang akan datang

Dalam percobaan klasiknya, Waddington [1932] menunjukkan bahwa jika lapisan atas (epiblas) dari suatu embrio dieksplorasi dalam kultur sendiri, gagal membentuk garis primitif dan akibatnya pada embrio. Jika lapisan bawah (hipoblas) ada, maka garis primitif bisa terbentuk. Pandangan tradisional, menyatakan bahwa garis primitif diinduksi di epiblas oleh hipoblas yang mendasari. Eyal-Giladi [1991] dan Khaner [1995] yang melakukan serangkaian eksperimen dengan melakukan pemusnahan dan transplantasi untuk menguji konsep ini, menganggap bahwa hipoblas diturunkan, setidaknya sebagian dari zona marginal posterior dan karenanya diselidiki area mana dari zona marginal posterior yang mampu menimbulkan garis primitif. Kedua peneliti tersebut menemukan bahwa terdapat gradien potensi di sepanjang zona marginal dalam kemampuannya untuk menimbulkan garis primitif, bagian posterior yang memiliki kemampuan tertinggi. Jika area ini hilang, maka dua area marginal lateral di kedua sisi bertindak sebagai titik tinggi dan membentuk dua garis primitif. Eyal-Giladi mengemukakan bahwa pembentukan garis primitif tunggal dalam perkembangan normal bergantung pada interaksi antara aksi

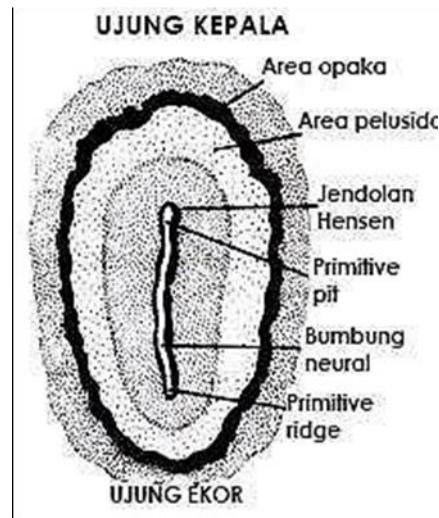
induktif dari zona marginal posterior medial dan efek penghambatan dari zona marginal lateral.

Banyak peneliti telah berusaha untuk menemukan sumber yang tepat dari areah induktif, tetapi hipotesis bahwa hipoblas itu sendiri adalah induktornya sekarang telah diabaikan. Percobaan yang dilakukan oleh Khaner pada tahun 1998 telah melibatkan sabit Koller di samping zona marginal posterior. Ini menarik karena sabit Koller pada burung dianggap sebanding dengan pusat Nieuwkoop pada amfibi. **Pusat Nieuwkoop** adalah area sel-sel vegetal di blastula amfibi, yang terletak di bawah mesoderm bibir dorsal blastopor dan mendorongnya untuk menjadi pelaksana Spemann pada amfibi.

Karenanya, sabit Koller mengandung sel prekursor jendolan Hensen dan turunannya yang disebut cakram prechordal, yang mengekspresikan penanda pengatur karakteristik. Zona marginal posterior dan sabit Koller tidak memiliki kemampuan yang sama seperti pada amfibi yang berfungsi untuk menginduksi sumbu lengkap, meskipun mampu menginduksi garis primitif.

## 9. Pembentukan Garis Primitif

Selama pembentukan mesoderm, penebalan blastoderm di area pelusida terus berkembang ke arah sefalik (anterior) sampai kira-kira 1/3 bagian daerah area pelusida. Setelah inkubasi ± 7-8 jam, terlihat proses pemanjangan (elongasi) ke arah anterior dan pada inkubasi 13 jam membentuk *primitive streak* (garis primitif) menduduki ± 2/3 bagian area pelusida.



**Gambar 5-3** Gambaran perkembangan embrio ayam stadium *primitive streak* (13 jam masa inkubasi), pandangan keseluruhan (*whole mount*).

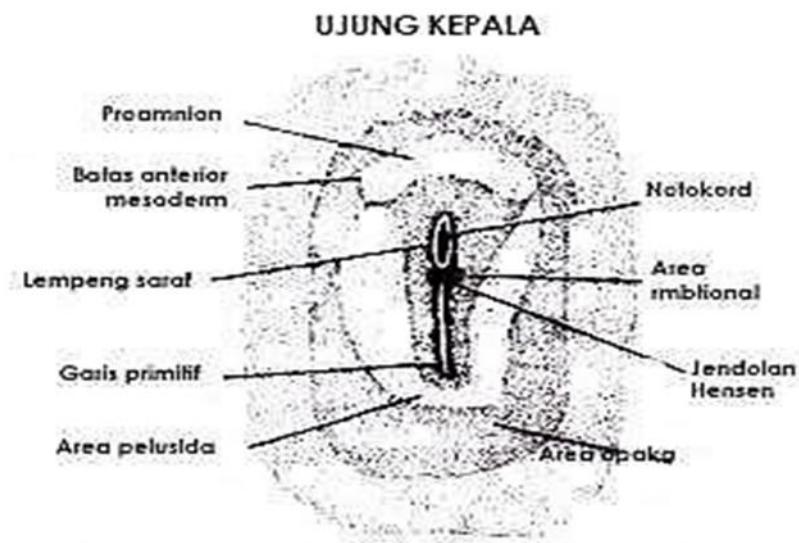
Pada embrio ayam masa inkubasi 13-16 jam, terlihat garis primitif menjadi begitu berbeda sehingga embrio dikarakterisasi sebagai tahap garis primitif. Dalam slide atau sediaan yang terfiksasi dan terwarnai, whole mount ayam terdiri dari alur pusat, yang disebut alur primitif (*primitive groove*) yang dibatasi oleh alur primitif yang menebal. Di ujung *cephalic* (kepala) dari garis primitif, sel-sel yang padat membentuk area yang menebal yang disebut jendolan Hensen (*Hensen node*). Sebagian area pelusida yang berdekatan dengan garis primitif menunjukkan peningkatan ketebalan dan bentuk embrionik elips. Area pelusida diasumsikan berbentuk elips. Garis primitif memanjang mewakili sumbu panjang tubuh embrio di masa depan. Ujung kaudal (ekor) adalah garis yang terletak dekat dengan area opaka.

Sel-sel *primitive streak* melakukan proliferasi, namun tidak terjadi proses konvergensi yang berlebihan, akhirnya terjadi proses invaginasi (lapisan sel-sel melekuk ke dalam), di bagian tengah membentuk alur yaitu *primitive groove* (bumbung neuralis), dan di kedua sisinya mengalami involusi membentuk penebalan yang disebut *primitive fold* (*primitive ridge*). Di bagian anterior garis primitif, sel-sel lebih aktif berproliferasi sehingga tumpukan sel-sel lebih tebal membentuk *Henson's node* (*primitive knot*). Dengan demikian pada

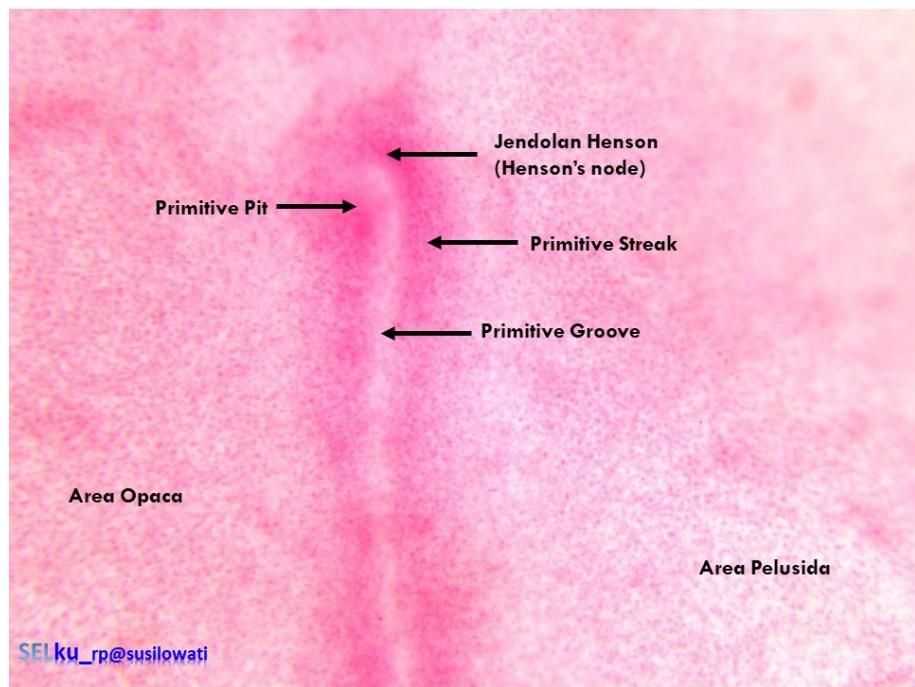
*primitive knot*, sel-sel ektoderm, mesoderm dan entoderm berdesakan satu sama lain sehingga memberi gambaran yang padat.

Garis primitif terdiri dari tiga lapisan sel yaitu ektoderm (paling luar), mesoderm (lapisan tengah) dan entoderm (lapisan paling dalam).

**Definitive Streak (garis definitif).** Pada embrio ayam masa inkubasi 18-19 jam terlihat garis primitif telah mencapai panjang maksimalnya (panjang rata-rata = 1,88 mm). Ada alur primitif, lubang primitif (*primitive pit*), dan jendolan Hensen. Area pelusida telah berbentuk buah pir dan guratannya memanjang atau dua pertiga sampai tiga perempat panjangnya.



**Gambar 5-4** Gambaran perkembangan embrio ayam masa inkubasi 18-19 jam, terlihat area opaca perifer gelap dan area pelusida di pusat yang transparan terlihat jelas



**Gambar 5-5** Fotomikroskopis sediaan *whole mount* embrio ayam 18 jam masa inkubasi (pembesaran 40x)

Pada perkembangan embrio ayam masa inkubasi 18-19 jam, di bagian anterior terdapat proamnion yang merupakan bagian kecil dari area pelusida yang relatif lebih transparan dan ditandai dengan tidak adanya mesoderm. Di tengah area pelusida, di setengah posterior, terlihat garis primitif yang memiliki alur primitif (*primitive groove*) ditengahnya. Alur atau bumbung primitif diikat oleh lipatan primitif (*primitive fold*). Di setengah bagian anterior area pelusida, di bagian tengah, terdapat alur atau bumbung saraf (*neural groove*) yang terikat oleh lipatan saraf (*neural folds*). Garis primitif dan alur saraf dipisahkan oleh jendolan Hensen yang memiliki penekanan kecil di tengah. Garis primitif memunculkan pertumbuhan keluar, sehingga notokord ada tepat di bawah alur primitif.

## 10. Gerakan Gastrulasi

**Gastrulasi** adalah periode di mana migrasi massal sel berlangsung sehingga sel-selnya berada pada posisi yang tepat dan siap untuk memulai diferensiasi. Pembentukan garis primitif adalah indikasi pertama bahwa gastrulasi telah dimulai. Pada amniota seperti reptil, burung, dan mamalia, gastrulasi berlanjut di ujung posterior

sumbu embrionik ketika diferensiasi telah dimulai di ujung anterior, dan tidak berhenti secara tiba-tiba seperti pada amfibi.

Peta struktur adalah bagan embrio awal yang menunjukkan lokasi kelompok sel yang akan membentuk jaringan spesifik pada tahap selanjutnya (misalnya jaringan saraf, somit, jantung), asalkan perkembangannya berjalan normal. Banyak percobaan menunjukkan bahwa sebagian besar sel pada tahap garis primitif masih dapat berubah strukturnya dan membentuk jaringan yang berbeda dan, untuk alasan ini, strukturnya lebih tepat disebut sebagai struktur praduga atau calon struktur. Saat migrasi massal sel berlangsung, pengaturan jaringan dugaan juga berubah. Investigasi, oleh karena itu, yang menyatakan tentang peta struktur juga mengungkapkan mengubah pola migrasi sel. Teknik pelabelan telah meningkat pesat dalam beberapa tahun terakhir. Peneliti awal menambahkan bintik-bintik pewarna penting (yaitu pewarna yang dapat digunakan pada jaringan hidup tanpa kerusakan yang jelas, seperti *Nile blue sulfate* atau *Bismark brown*) atau memasukkan partikel karbon ke dalam sel, tetapi memudarkan pewarna atau pergeseran partikel terkadang mempengaruhi hasil. Pendekatan yang lebih baik melibatkan penggantian wilayah tertentu dari embrio dengan yang identik tetapi berlabel menggunakan agen modern seperti pewarna karbosianin, DiI dan DiO.

Rute yang diambil oleh sel yang bermigrasi sebagai bentuk garis primitif dianalisis oleh Vakaet [1984]. Dengan permulaan gastrulasi, gerakan konvergensi mengarah pada pembentukan sel yang membentuk garis primitif. Awalnya, tidak ada alur yang jelas pada garis primitif, meskipun karena sel-sel yang bermigrasi terus berkumpul dan menumpuk, garis primitif yang berkembang menjadi lebih sempit dan alur lebih dalam. Menurut Hatada dan Stern [1994] konvergensi dimulai antara tahap XI dan XIII di epiblas dan sebagian besar sel yang akan berkontribusi pada jendolan Hensen telah mencapai pusat blastoderm sebelum garis primitif mulai terbentuk. Migrasi sel kedua kemudian dimulai pada tahap 2 ketika lapisan bawah bergerak maju.

Garis primitif memanjang dengan panjang yang tidak hanya ke anterior, tetapi juga ke posterior sehingga ujung posterior akhirnya berpindah ke area opaca, menyebabkan area pelusida secara keseluruhan menjadi bentuk buah pir. Garis primitif yang terbentuk sempurna mencapai kira-kira ke tengah lingkaran asli area pellucida. Hasil dari semua gerakan ini adalah bahwa area dugaan berada di sekitar ujung anterior garis primitif, terutama di sekitar ujung ekstrim, yang kemudian dikenal sebagai jendolan Hensen (kadang-kadang disebut *primitive node*). Meskipun sebagian besar gerakan ini tampaknya terjadi di setengah bagian posterior area pellucida, terdapat juga migrasi sel menjauh dari garis tengah di bagian anteriornya.

Penemuan Vakaet didasarkan pada analisis yang cermat terhadap cangkok xenoplastik sel burung puyuh yang diikuti oleh sinematografi selang waktu dan analisis histologis tentang peta sel burung puyuh. Peta yang diperoleh sangat mirip dengan yang dilakukan oleh peneliti sebelumnya yang menggunakan pewarna vital untuk memberi label pada sel-selnya. Akritisme dari teknik ini, menyatakan bahwa cangkok Vakaet mungkin telah memasukkan sel-sel dari beberapa lapisan sehingga gerakannya mungkin memantulkan lebih dari sekedar lapisan dangkal. Meskipun demikian, proses ini memberi gambaran umum tentang pola migrasi sel saat ini.

Pemberian label yang lebih baru pada sel individu atau kelompok kecil sel dengan pewarna seperti DiI telah memberikan bukti bahwa banyak sel tidak tetap dalam hubungan yang sama satu sama lain selama gastrulasi. Selain itu, batas yang jelas antara berbagai area dugaan yang diilustrasikan dalam peta struktur oleh para peneliti sebelumnya tidak lagi dapat diterima. Banyak percobaan telah menunjukkan bahwa, dengan pengecualian praduga notokord, masih terdapat fleksibilitas peta struktur yang cukup besar (penentuan labil) dalam jaringan ini, setidaknya sampai garis primitif sepenuhnya terbentuk.

Dengan perkembangan garis primitif sisi kiri dan kanan menjadi terlihat, meskipun demikian belum sepenuhnya ditentukan sampai jendolan Hensen terbentuk dan urutan perbedaan molekuler menjadi jelas di kedua sisi. Ini tampaknya diatur sebagai bentuk

jendolan Hensen. Sampai saat ini gen hedgehog sonic telah aktif di kedua sisi tetapi sekarang tidak lagi diekspresikan di sisi kanan. Ciri dasarnya adalah bahwa sisi kiri mengekspresikan *hedgehog sonik* dan sebelah kiri-1, tetapi sisi kanan dicegah melakukannya dengan pensinalan aktivin.

## 11. Migrasi Sel Menjauhi Garis Primitif

Sekarang dapat mempertimbangkan peristiwa morfogenetik dalam garis primitif itu sendiri. Semua daerah yang telah diduga, selain endoderm definitif, disusun di permukaan atas dan kemudian masuk melalui garis primitif. Ingresi adalah proses di mana sel meninggalkan epiblas dan menjadi bagian dari garis primitif sebelum bermigrasi darinya untuk memunculkan lapisan endoderm dan mesoderm definitif. Istilah invaginasi tidak lagi dianggap tepat untuk menggambarkan perjalanan sel melalui garis primitif, karena ini menyiratkan pembentukan rongga, seperti *archenteron* dari embrio amfibi. Tidak ada rongga yang dikaitkan dengan garis primitif. Sel-sel kehilangan karakter epitelnya dan menjadi mesenkim saat memasuki garis primitif dan ini tampaknya sebagian besar disebabkan oleh perubahan karbohidrat permukaan sel. Selanjutnya sebagian besar sel menjadi tersusun dalam epitel lagi kemudian berubah menjadi jaringan tertentu. Jaringan tersebut adalah: 1) endoderm definitif, yang akan membentuk lapisan usus dan sistem pernapasan, 2) proses kepala dan notochord, 3) mesoderm paraaksial (somit), mesoderm perantara (yang membentuk sistem urino-genital) dan mesoderm lempeng lateral (yang melapisi selom dan berkontribusi pada membran ekstraembryonik. Dengan demikian, terdapat urutan perubahan morfologi di sebagian besar sel saat melewati garis primitif dari epitel ke mesenkim dan kembali ke epitel. Turunan lebih lanjut dari ektoderm adalah puncak saraf (*neural crest*).

Salah satu konsekuensi langsung dari gastrulasi adalah mengubah embrio menjadi dua lapis yaitu terdiri dari lapisan atas (epiblas) dan lapisan bawah menjadi lapisan tiga lapis, terdiri dari ektoderm, mesoderm dan endoderm. Ini adalah hasil dari migrasi sel dan tidak ada bukti yang menunjukkan bahwa ini disebabkan oleh

tingkat proliferasi sel yang tinggi pada lapisan primitif atau dalam sel yang bermigrasi darinya.

Ada beberapa ketidaksepakatan mengenai apakah jalur yang diambil setelah ingresi dikendalikan oleh sel itu sendiri atau oleh lingkungannya. Menurut Garcia-Martinez dan Schoenwolf [1992], sel-sel yang bermigrasi dari potongan garis primitif anterior yang telah dicangkokkan ke posisi posterior mengikuti jalur yang lebih lateral daripada jika dibiarkan *in situ*, sedangkan sel dari cangkokan yang telah ditanamkan ke dalam posisi yang lebih anterior mengikuti jalur yang lebih medial. Oleh karena itu, disimpulkan bahwa tingkat migrasi bergantung pada posisi sel di dalam garis primitif. Sebaliknya, Psychoyos dan Stern [1996] menemukan bahwa sel-sel yang bermigrasi mengikuti jalur yang lebih bergantung pada jaringan yang akan dibentuk daripada pada posisinya di dalam garis primitif.

## 12. Perluasan Blastoderm

Pada saat bertelur, ayam berukuran diameter blastoderm sekitar 5-8 mm dan telah memulai proses epiboli, yaitu penyebaran lembaran epitel dimana sel menjadi pipih dan menambah luas permukaannya. Pada burung, blastoderm akhirnya menutupi hampir seluruh kuning telur dan sebagian besar migrasi aktif dilakukan oleh sel-sel di tepi blastoderm.

Dalam telur yang tidak diinkubasi, blastoderm terletak bebas pada permukaan kuning telur, tetapi setelah sekitar 12 jam inkubasi, blastoderm telah melekat pada permukaan bagian dalam membran vitellina. Dalam keadaan normal, perlekatan terbatas pada pinggiran blastoderm, dan hubungan khusus tampaknya ada antara sel tepi (juga dikenal sebagai margin pertumbuhan yang berlebih) dan permukaan bagian dalam membran vitellina. New [1959] menunjukkan bahwa blastoderm muda tidak dapat mengembang jika ujungnya terlepas dari membran vitellina, meskipun jika dibiarkan menempel kembali, migrasi terus berlanjut. Beberapa migrasi dapat terjadi jika sel dieksplorasi ke substrat lain, seperti kaca, tetapi perluasannya lebih lambat. Sel tepi sebagian besar bertanggung jawab untuk meningkatkan ketegangan di seluruh blastoderm dan jika ini tidak

dipertahankan, embrio akan menjadi abnormal atau terhambat berkembang.

Sel tepi adalah perluasan khusus dari area opaka ektoderm dan oleh karena itu menjadi epitel. Ujung ekstrim dari sel-sel ini terdiri dari filopodia dan, ketika dipelajari dengan pembuatan film selang waktu, dapat terlihat menjalani aktivitas membran yang mengacak-acak saat bergerak melintasi permukaan bagian dalam membran vitellina. Sel-sel memiliki mikrotubulus dan jika diberi perlakuan dengan Nocadazole terdapat inhibitor mikrotubulus yang selanjutnya terurai sehingga menyebabkan migrasi terhenti. Mikrofilamen juga berperan, karena jika terganggu oleh perlakuan dengan sitokalasin B akan menyebabkan migrasi juga terhenti. Fibronektin juga penting dalam hubungan antara sel tepi dan membran vitellina. Meskipun diameter blastoderm meningkat saat meluas di atas setengah bagian atas kuning telur, sel tepi tidak mengalami pembelahan sel, tetapi ada pita yang dengan cepat mengurangi sel-sel yang terletak di sebelah proksimalnya yang mungkin berkontribusi pada populasi sel tepi.

### 13. Perkembangan Embrio Ayam 19-22 Jam

***Head-Process.*** Notokord atau *head process* terlihat sebagai batang mesoderm yang memanjang ke depan dari tepi anterior jendolan Hensens. Lipatan kepala belum muncul. Karena panjang notokord meningkat selama tahap ini, disarankan agar panjang notokord dalam milimeter ditambahkan ke jumlah tahapan untuk presisi lebih lanjut. Jumlah somit tampaknya menjadi kriteria paling sederhana untuk mengetahui embrio ayam, dan cukup akurat untuk tujuan praktis. Setiap tahapan perkembangan embrio ayam diketahui di setiap pasang ketiga somit yang ditambahkan; embrio di antara sejumlah somit ditentukan dengan menambahkan tanda + atau - ke tahap yang sesuai. Garis primitif dan alur saraf dipisahkan oleh penebalan, jendolan Hensen memiliki cekungan kecil di tengah lubang Hensen. Garis primitif menimbulkan pertumbuhan kecil, notokord tepat di bawah alur primitif dan mesoderm di kedua sisi. Pada tahap ini, bagian embrionik dan ekstra embrionik juga telah dibedakan di area pelusida. Di bagian paling anterior ektoderm telah menimbulkan

lipatan kepala, yang merupakan perpanjangan lipatan saraf seperti kantong. Dengan ektoderm, endoderm yang mendasari juga diubah menjadi struktur seperti kantung - *foregut*. Proamnion secara komparatif berkurang ukurannya.

#### 14. Perkembangan Embrio Ayam 21-24 Jam

##### a. Pembentukan Tubuh Embrionik

Ketika garis primitif terbentuk sempurna, tahap pertama gastrulasi selesai dan jaringan yang akan berkembang menjadi tubuh diatur di sekitar ujung anteriornya. Selama 12 jam berikutnya garis primitif akan berubah menjadi sumbu embrionik dasar yang terdiri dari ektoderm, termasuk lempeng saraf (*neural plate*) dan puncak saraf (*neural crest*), notokord, somit, lempeng lateral (*lateral plate*) dan mesoderm menengah, dan endoderm.

Terlepas dari sel-sel yang ditakdirkan untuk membentuk notokord dan dasar lempeng saraf, tidak ada satu pun dari sel-sel ini yang menentukan dan bila dimungkinkan untuk mengubah strukturnya secara eksperimental. Misalnya, sepetak epidermis dugaan masih dapat diinduksi untuk membentuk lempeng saraf jika cangkok garis primitif dimasukkan di bawahnya pada tahap ini.

Struktur kunci dalam tahapan garis primitif adalah jendolan Hensen, yaitu ujung anterior dari garis primitif, di mana alur primitif berakhir di lubang primitif (*primitive pit*) dan menutup di anterior serta lateral oleh lipatan primitif (*primitive fold*) yang membesar. Hal ini berhubungan dengan bibir dorsal blastopor pada amfibi. Salah satu eksperimen paling terkenal dan berpengaruh yang pernah dilakukan pada embrio adalah eksperimen Spemann [1938] yang mencangkokkan sepotong jaringan dari bibir dorsal blastopor amfibi ke sisi embrio yang sama dengan tahap perkembangan yang sama, yang dihasilkan di sumbu sekunder. Menjadi jelas bahwa cangkok telah mempengaruhi jaringan inang yang berdekatan untuk membentuk embrio, dan Spemann menyimpulkan bahwa bibir dorsal blastopor memiliki sifat khusus yang memungkinkannya untuk mengatur jaringan lain

di sekitarnya untuk membentuk sumbu embrionik. Oleh karena itu, bibir dorsal gastrula dikenal sebagai pengatur. Selanjutnya, ditunjukkan oleh Waddington [1932] bahwa jenis aktivitas yang sama terjadi pada burung. Waddington mendemonstrasikan bahwa jika jendolan Hensen hilang, dilepaskan dari endoderm yang melekat dan ditanamkan di bawah ektodermal tepi area pelusida embrio lain, akan mampu menginduksi sumbu sekunder yang terdiri dari tabung saraf, usus dan somit. Terlebih lagi, segera menjadi jelas bahwa kemampuan untuk menginduksi sumbu sekunder tidak terbatas pada jendolan Hensen tetapi ada juga setidaknya pada sepertiga anterior garis primitif, meskipun kekuatan untuk menghasilkan induksi tabung saraf ditemukan lebih besar di jendolan Hensen daripada di bagian lain dari garis primitif.

Lipatan lateral dari jendolan Hensen memunculkan setengah medial somit, sementara bagian terpisah dari lipatan primitif posterior ke jendolan Hensen membentuk setengah lateral setiap somit. Peta perkembangan struktur dari Selleck dan Stern terbatas pada garis primitif, tapi GarciaMartinez *et al.* [1993] telah mempublikasikan peta seluruh area pelusida ektodermal, berdasarkan hasil percobaan transplantasi burung puyuh.

## 15. Head Process Dan Regresi

Pada garis primitif yang terbentuk sempurna, area dugaan dikelompokkan di sekitar ujung cranialnya. Saat regresi terjadi, menjadi diatur ulang untuk terletak di sepanjang sumbu tubuh. Sel notokord dugaan dalam jendolan Hensen dan garis primitif anterior memunculkan notokord yang tepat, batang sel yang membentang di sepanjang embrio. Bagian paling anterior dari batang ini adalah proses kepala; itu dibentuk oleh migrasi sel anterior dari jendolan Hensen, sedangkan notokord batang dibentuk oleh gerakan sel ke arah kaudal selama proses regresi. Kemunculan pertama proses kepala adalah sebagai segitiga gelap kecil di depan jendolan Hensen, yang menandai selesainya pembentukan garis primitif. Permulaan regresi memulai hilangnya garis primitif. Diferensiasi jaringan terjadi secara bertahap

dari anterior ke posterior saat terjadi regresi, sehingga perkembangan jaringan anterior selalu mendahului jaringan posterior.

Proses kepala (*head process*) harus dibedakan dari mesoderm *prechordal*, yang terletak di anterior dan tidak membentuk notokord. Seperti proses kepala yang berasal dari jendolan Hensen, tetapi ada bukti yang menunjukkan bahwa lapisan endoderm yang mendasari penekanan karakteristik notokord.

Ada banyak kebingungan tentang istilah regresi. Pada dasarnya, regresi ini menggambarkan hilangnya garis primitif secara bertahap, yang memendek dari anterior ke posterior sebagai dugaan masuknya jaringan mesodermal dan meninggalkannya, tetapi juga digunakan untuk menggambarkan serangkaian gerakan morfogenetik yang terjadi saat ini. Ciri utamanya adalah bahwa sebagian besar sel dugaan notokord di jendolan Hensen dan garis primitif anterior, bersama-sama dengan sel-sel lempeng lantai yang terkait, bergerak menuju ujung posterior embrio dan selama proses ini disimpan sebagai jejak sel yang berdiferensiasi terutama ke notokord tersebut. Ada bukti terbaru yang menunjukkan bahwa lempeng dasar dari tabung saraf dan strip longitudinal endoderm terkumpul pada waktu yang sama. Sel-sel individu notokord menjadi sangat memanjang oleh peregangan dan perluasan area pellucida. Namun, bukan hanya notokord dan jaringan lempeng dasar yang dipengaruhi oleh gerakan regresi. Jaringan dugaan lain yang masih dalam garis primitif juga menjadi diperpanjang. Pergerakan morfogenetik yang terlibat dalam regresi jendolan Hensen juga berlangsung lebih sedikit di daerah lateral dari garis primitif, sehingga semua bagian dugaan menjadi memanjang di sepanjang sumbu tubuh. Sisa-sisa jendolan Hensen dan garis primitif terletak di ujung posterior area pellucida dan telah teragregasi menjadi kumpulan sel, tunas ekor (*tail bud*), yang kemudian dipotong oleh lipatan ekor (*tail fold*).

Pada embrio ayam umur 18 jam, terjadi involusi sel-sel di bagian *primitive knot* ke anterior. Tampak sel-sel tersebut merupakan hasil delaminasi ektoderm yang akan membentuk lapisan notokord mesoderm. Selanjutnya notokord mesoderm akan berkembang

menjadi notokord dan mesoderm. Stadium ini disebut *head process* (pembentukan kepala).

Stadium *head process*, bukan merupakan stadium pembentukan kepala, tetapi stadium pembentukan notokord (sumbu primitif embrio). Dari arah dorsal, notokor terlihat jelas, karena ektoderm bersifat transparan. Dengan terbentuknya notokord proses gastrulasi pada embrio ayam telah sempurna. Blastula sekarang menjadi gastrosul (arkhenteron) yaitu usus primitif (*primitive gut*), berbeda dengan usus primitif pada embrio amphibia yang telah sempurna dibatasi oleh entoderm, sedangkan pada embrio ayam di sebelah ventral adalah ruang kosong yang sebelah kiri kanannya dibatasi oleh sel-sel kunir.

Lapisan ektoderm yang terletak di atas notokord melakukan proliferasi sehingga mengalami penebalan disebut *neural plate* (lempeng neuralis). Proliferasi ektoderm sebelah anterior mengalami hambatan, terbentuk lipatan ke arah ventral yang disebut *head fold* (pelipatan kepala). Lapisan ekto-ento didepannya tidak pernah dimasuki oleh mesoderm, sifatnya transparan disebut **proamnion**, yang nantinya akan berkembang menjadi amnion.

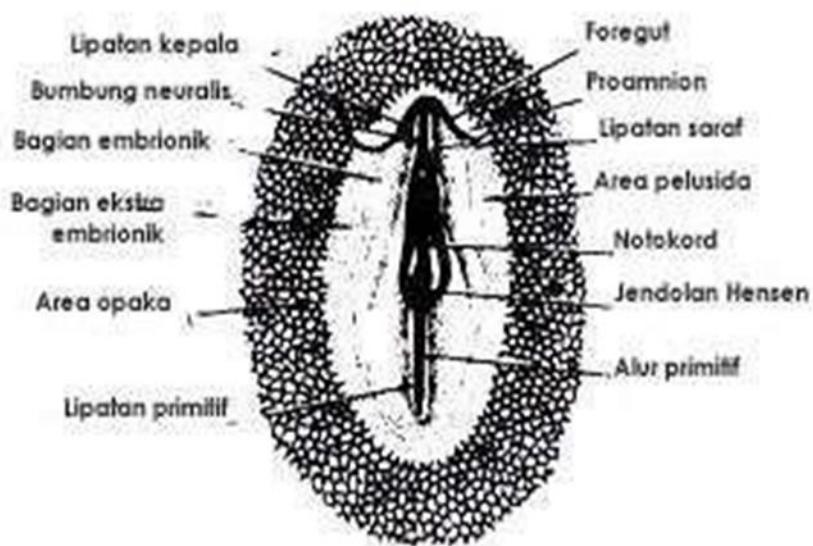
Simetris di sebelah kanan kiri notokord, mesoderm membentuk segmen-segmen yang disebut **somit** (bagian mesoderm yang bersegmen). Jumlah somit dapat digunakan untuk menentukan umur embrio.

Sel-sel bagian lempeng neuralis terus berproliferasi, akhirnya terjadi invaginasi (lekukan ke dalam) membentuk alur yang disebut *neural groove* (bumbung neuralis), dan dinding yang membatasi alur disebut *neural fold* (pelipatan neuralis). Notokord tampak sebagai batang, melalui ektoderm yang sifatnya transparan, berada di sebelah ventral *neural groove*. Selanjutnya embrio akan bertumbuh ke anterior dan posterior, mendesak bagian garis primitif.

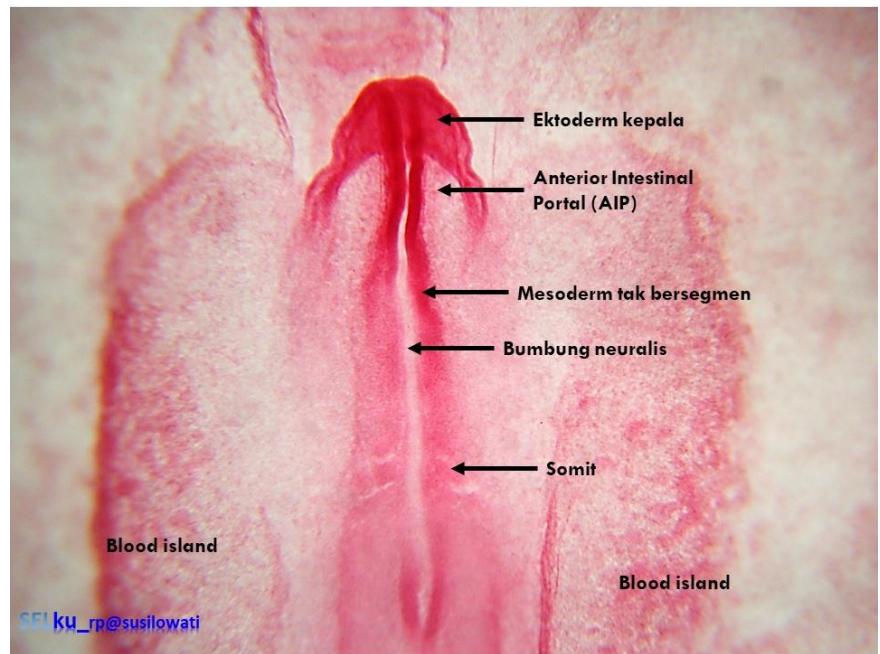
## 16. Pembentukan Tabung Neuralis

Awalnya tidak ada batas morfologis yang tajam antara sel-sel lempeng saraf dan ektoderm yang berdekatan, ketinggian epitel berubah secara bertahap di zona transisi, tetapi jika zona transisi ini

dihilangkan, lempeng saraf tidak dapat membentuk lipatan saraf dan tetap datar. Pandangan tradisional adalah bahwa lempeng saraf diinduksi oleh jendolan Hensen, meskipun beberapa pembentukan lempeng saraf dapat terjadi tanpa kehadirannya. Kemampuan menginduksi dari berbagai subpopulasi jendolan diselidiki oleh Storey *et al.* [1995]. Setelah mencangkok dengan hati-hati populasi kecil sel ke dalam area ekstraembryonik di bawah ektoderm yang biasanya tidak akan membentuk lempeng saraf, disimpulkan bahwa kemampuan menginduksi saraf dikaitkan tidak hanya dengan bagian tertentu dari jendolan Hensen tetapi juga dengan jenis sel tertentu.



Gambar 5-6 Gambaran perkembangan embrio ayam 21 jam masa inkubasi



**Gambar 5-7** Fotomikroskopis sediaan *whole mount* embrio ayam 21 jam masa inkubasi (pembesaran 40x)

Pada perkembangan embrio masa inkubasi 21 jam, terlihat jelas area opaca perifer yang gelap dan area pelusida pusat transparan dan tidak terlihat. Pada bagian anterior terdapat proamnion, yang merupakan bagian kecil dan area pelusida yang relatif lebih tembus cahaya dan ditandai dengan tidak adanya mesoderm. Di tengah area pelusida, di setengah posterior, ada garis primitif yang memiliki alur primitif di tengahnya. Alur primitif diikat oleh lipatan primitif. Di setengah bagian anterior area pelusida, di tengah, terdapat alur saraf yang terikat oleh lipatan saraf.

Lempeng saraf (*neural plate*) adalah area berbentuk buah pir yang kemudian menjadi terlipat menjadi tabung saraf dan kemudian berdiferensiasi sepanjang keseluruhannya menjadi bagian khusus otak dan sumsum tulang belakang (korda spinalis). Percobaan transplantasi telah menunjukkan bahwa usia jendolan Hensen menentukan bagian sistem saraf pusat yang diinduksi olehnya. Jendolan muda dapat menginduksi sistem saraf pusat anterior dan posterior, tetapi jendolan yang lebih tua hanya dapat menginduksi sistem saraf pusat posterior.

Setelah lempeng saraf terbentuk, pergerakan morfogenetik dari regresi menyebabkan penyempitan dan ekstensi posterior dari bagian batang dan pelebaran daerah otak. Gerakan regresi ini disertai dengan perubahan dramatis dalam bentuk dan susunan sel, sel epidermis menjadi lebih datar dan sel saraf semakin dalam. Notokord melekat pada lempeng lantai saraf dan bertindak sebagai engsel tempat lempeng saraf yang terlipat dan ditekuk untuk membentuk tabung saraf. Lempeng lantai saraf mengekspresikan gen HNF3b dan kemungkinan diinduksi oleh notochord, karena cangkokan notokord dapat menyebabkan lempeng lantai ektopik yang mengekspresikan gen HNF3b. Menurut Catala *et al.* [1995], notokord dan lempeng lantai saraf mengekspresikan begitu banyak gen yang sama sehingga dapat dianggap sebagai jaringan yang sama.

Teori tentang kemungkinan mekanisme yang terlibat dalam proses lipatan saraf dibahas oleh Moury dan Schoenwolf [1995] yang menekankan bahwa neurulasi, terutama pembentukan lempeng saraf, merupakan proses multifaktorial yang dihasilkan dari gaya-gaya intrinsik dan ekstrinsik ke lempeng saraf. Perubahan komponen sel tenascin dikaitkan dengan perubahan bentuk sel, sedangkan perubahan pada membran sel terlibat dalam peningkatan adhesi sel satu sama lain.

Fusi lipatan saraf (*neural fold*) dimulai di tingkat otak tengah (midbrain) dan diikuti dengan cepat dengan fusi di seluruh otak dan daerah anterior batang tubuh. Titik terakhir fusi di otak adalah neuroporus anterior, yang selanjutnya akan hilang. Tabung saraf (*neural tube*) menutup secara progresif ke bawah batang dan pembukaan hanya tersisa di ujung posterior sebagai bukaan yang disebut neuroporus posterior. Saat lipatan saraf (*neural fold*) bergabung, sel-sel puncak saraf (*neurat crest*) berada di sisi dorsalnya. Ektoderm yang tidak tertutup di dalam tabung saraf kemudian menjadi epidermis.

Pola dorsoventral dari tabung saraf disebabkan oleh interaksi setidaknya dua produk gen utama. Sekarang terdapat bukti ekstensif bahwa ventralisasi disebabkan oleh protein *hedgehog sonik* dari

notokord, sementara pengaruh dorsalisasi berasal dari protein morfogenik tulang mungkin disekresikan oleh ektoderm.

Cara pembentukan tabung saraf di kuncup ekor disebut neurulasi sekunder untuk membedakannya dari penggulungan lempeng saraf yang dijelaskan di atas, yang kadang-kadang disebut **neurulasi primer**. Pada **neurulasi sekunder**, sel mesenkim di sisi dorsal kuncup ekor menjadi terkondensasi menjadi batang mirip epitel, yang kemudian terpisah dari jaringan yang tersisa dan menjadi berlubang. Bagian yang tumpang tindih terjadi di mana yang disebut **tabung saraf primer** yang memberi jalan ke tabung saraf sekunder dari ekor.

Potongan melintang melalui tabung saraf di awal dari bagian batang menunjukkan bahwa memiliki dinding lateral yang tebal; dan akan memunculkan neuron dan glia. Bagian dorsal dan ventral tabung saraf, lempeng atap dan lempeng lantai, lebih sempit dengan sel berbentuk baji, dan hanya membentuk **neuroglia**.

Foley *et al.* [2000] telah mengemukakan model untuk menjelaskan pola otak depan. Foley *et al.*, menemukan bahwa hipoblas yang bermigrasi memicu ekspresi penanda otak depan awal tetapi tidak dapat menginduksi otak depan (*forebrain*). Foley *et al.*, menyarankan bahwa peran hipoblas adalah untuk mengarahkan pergerakan sel di epiblas di atasnya sehingga otak depan prospektif dihilangkan dari efek *caudalizing node*.

## 17. Pembentukan Notokord Dan Somit

Notokord dan somit adalah struktur yang hanya ditemukan pada embrio awal dan tidak ada pada tahap selanjutnya.

Notokord memainkan peran penting dalam proses perkembangan. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, notokord diturunkan dari jendolan Hensen dan dibentuk saat regresi berlangsung. Ini menempati posisi tengah yang mengalir di sepanjang tubuh dan selama tahap awal melekat erat pada lempeng lantai tabung saraf dan endoderm yang mendasarinya. Notokord memainkan peran penting dalam pola dorsoventral dari tabung saraf. Telah dijelaskan bahwa notokord mengekspresikan protein hedgehog sonik, yang

memiliki efek ventralisasi pada tabung saraf, tetapi juga memiliki efek ventralisasi pada somit. Selanjutnya, tabung saraf dan notokord terbungkus di tulang belakang. Sisa notokord bertahan sebagai nukleus pulposus di cakram intervertebralis.

Somit adalah blok mesoderm yang berpasangan yang terbentuk berjajar di kedua sisi notokord. Somit adalah struktur tersegmentasi pertama yang berkembang di dalam embrio, dan tata letaknya memengaruhi semua struktur segmental lain yang terbentuk kemudian; ini adalah tulang belakang dan tulang rusuk, saraf kranial dan tulang belakang, arteri vertebral dan otot rangka dan ligamen.

Mesoderm yang akan menimbulkan somit terletak di sekitar ujung anterior garis primitif, termasuk tepi lateral jendolan Hensen, dan mungkin mulai masuk segera setelahnya. Sel masuk ke dalam dan melalui garis primitif dan kemudian bermigrasi secara lateral, melewati antara ektoderm dan endoderm, biasanya berada di sisi yang sama dari embrio, meskipun kadang-kadang sel-sel individu dapat meninggalkan garis primitif di satu sisi dan kemudian pindah ke sisi berlawanan. Beberapa sel yang masuk menjadi mesoderm lempeng lateral, yang lain mesoderm perantara dan sisanya (paling dekat dengan lempeng saraf) memunculkan lempeng segmental (kadang-kadang disebut lempeng pra-segmental) mesoderm dari mana somit akan terbentuk. Struktur setiap sel ditentukan segera setelah meninggalkan garis primitif dan tampaknya disebabkan oleh konsentrasi relatif beberapa sinyal.

Saat sel-sel meninggalkan garisan primitif, ada dua gerakan morfogenetik utama terjadi di mesoderm. Ini adalah migrasi medio-lateral dari sel yang masuk dan gerakan antero-posterior yang berhubungan dengan regresi, dan tampaknya kedua aliran sel yang bermigrasi ini berinteraksi satu sama lain.

Pasangan somit pertama muncul dan pasangan berikutnya diletakkan secara berurutan lebih jauh dan lebih jauh ke posterior. Sel-sel yang akan menjadi beberapa mesodermenter somatik lempeng segmental saat meninggalkan garis primitif. Lempeng segmental kiri dan kanan terletak di kedua sisi tabung saraf dan masing-masing terdiri dari strip mesoderm yang terpadatkan. Somit mudah dibedah dari

jaringan lain, terutama jika embrio diperlakukan selama sekitar 15 menit dengan 1% tripsin dalam larutan garam bebas kalsium dan magnesium. Sel-sel di ujung posterior lempeng segmental bersifat mesenkim, sedangkan di ujung anteriornya disusun sebagai bola epitel. Kelompok sel di ujung anterior dari dua lempeng segmental dipisahkan secara bersamaan untuk membentuk kiri dan kanan sepasang somit. Setiap somit yang baru terbentuk adalah bola epitel kolumnar, dindingnya terdiri dari satu lapisan sel yang mengelilingi rongga, *somatocoel*, yang berisi sel mesenkim.

Sepasang somit baru terbentuk dari ujung anterior setiap lempeng segmental setiap 90-100 menit, tetapi sementara itu aliran sel mesenkim ditambahkan ke ujung posterior lempeng segmental. Akibatnya, lempeng segmental tetap terlihat, meski ada pergantian individu yang terusmenerus dari sel yang merupakan populasinya. Setelah sel memasuki lempeng segmental, selanjutnya akan menjadi bagian dari somit. Diferensiasi menjadi somit terjadi secara bertahap di sepanjang lempeng segmental saat sel mesenkim asli tersusun menjadi epitel dan, dimungkinkan sebagian untuk menjadi somit. Meskipun paling baik dilihat dengan menggunakan mikroskop elektron, somitomer juga terlihat di lempeng segmental yang telah dibedah dari embrio dan dilihat dengan mikroskop cahaya.

Secara tradisional, somit diberi nomor secara berurutan dari anterior ke ujung posterior embrio, yang sesuai dengan urutan pembentukannya. Skema alternatif untuk penomoran somitomer dan somit dirancang oleh Ordahl [1993], yang bertujuan untuk memberikan gambaran standar tentang keadaan perkembangan setiap somitomere dan somit ketika membandingkan tahapan yang berbeda. Sebagai contoh, somit yang paling baru terbentuk dari embrio 13-somit dan embrio 26-somit dapat dianggap sebanding. Meskipun ada keuntungan tertentu dari skema ini, somit mungkin dibayangi oleh kemungkinan timbulnya kebingungan, terutama karena melibatkan penomoran somit dari posterior ke anterior. Oleh karena itu, secara umum, mungkin yang terbaik adalah menggunakan skema ini hanya dalam keadaan yang sangat khusus.

Ketika sel-sel secara bertahap menjadi tersusun menjadi epitel, perlekatan sel ke sel menjadi meningkat, somit paling anterior memadat segera sebelum melakukan segmentasi dari lempeng segmental. Peningkatan daya rekat ini tampaknya disebabkan, setidaknya sebagian, oleh aksi glikoprotein, fibronektin, yang meningkatkan konsentrasi saat somitomer matang di sepanjang lempeng segmental. Hal ini juga dapat dilakukan secara eksperimental oleh peptida sintetik, yang disebut GRGDS, yang sesuai dengan segmen perekat fibronektin. Setiap somit yang baru tersegmentasi berisi sekitar 2500 sel.

Salah satu masalah terbesar dalam embriologi adalah menjelaskan penyebab yang mendasari segmentasi. Apa yang menyebabkan sepotong jaringan, lempeng atau cakram segmental, dipecah menjadi serangkaian somit yang berulang? Cara lain untuk melihat masalah yang sama adalah dengan bertanya apa yang menyebabkan batas antara somit ditetapkan? Meskipun sejumlah teori alternatif telah diajukan di masa lalu, konsep bahwa gen berosilasi yang mengontrol proses tersebut sekarang diterima secara luas. Ide ini pertama kali dikemukakan dalam makalah teoritis yang dikemukakan oleh Cooke dan Zeeman [1976] dan sekarang didukung oleh bukti molekuler modern. Anggota kaskade pensinyalan Notch, terutama pinggiran, tampaknya merupakan komponen penting dalam menyiapkan waktu osilasi.

Somit individu tampak berbentuk persegi panjang atau bulat jika dilihat dari sisi punggung atau perut, tetapi potongan melintang berbentuk baji, dinding medial melengkung ke bentuk tabung saraf (*neural tube*). Bentuknya sangat bergantung pada ketegangan yang diberikan oleh serat kolagen dalam matriks ekstraseluler yang mengelilinginya dan menempelkannya ke epitel yang berdekatan seperti pada lapisan ektoderm, endoderm, notokord dan tabung saraf. Somit paling awal terbentuk sebelum tabung saraf digulung sepenuhnya dan memiliki bentuk pipih. Saat tabung saraf menutup somit tampaknya ditarik ke atas dan memperoleh bentuk yang lebih dikenal terlihat pada potongan melintang. Potongan longitudinal

menunjukkan setiap somit sebagai bola epitel sel dengan dinding sel tebal dan berpusat di sekitar lumen. Sel mesenkim ada di lumen.

Setiap somit yang baru terbentuk terdiri dari empat bagian utama yaitu: medial, lateral, anterior dan posterior. Percobaan di mana daerah lempeng segmental ayam telah diganti dengan jaringan yang sesuai dari embrio burung puyuh telah menunjukkan bahwa daerah ini memiliki struktur yang berbeda.

Salah satu perubahan pertama yang terlihat pada somit dewasa adalah bahwa membran basal di bagian medioventral rusak dan sel-sel kehilangan karakter epitelnya dan menjadi mesenkim. Selanjutnya merupakan sel-sel sklerotom. Kerusakan dinding ventral somit melepaskan sel-sel di dalam *somitocoel* dan ini juga menjadi bagian dari sklerotom.

Perubahan lebih lanjut mengikuti ketika epitel di sisi dorso-lateral bertambah tinggi dan kemudian dikenal sebagai derma-miotom (dermomiotom). Pada potongan longitudinal dapat dilihat sebagai tutup dengan ujung-ujungnya melengkung ke dalam sehingga menimbulkan dermatom dan miotom. Sklerotom dan derma-miotom terbentuk hampir secara eksklusif dari sel-sel setengah medial dari setiap somit baru, dermamiotom dari bagian dorsal, dan sklerotom dari bagian ventral. Sel-sel bagian lateral somit bermigrasi untuk membentuk otot-otot tungkai dan dinding tubuh ventral. Ada bukti bahwa pola medio-lateral somit ini adalah hasil dari serangkaian sinyal molekuler. Tabung saraf menghasilkan *Wnt1*, yang mendorong ekspresi noggin di bagian medial dari setiap somit, dan ini berlawanan dengan *BMP4* yang diproduksi oleh cakram mesoderm lateral. Pola somit saat memisahkan diri ke dalam area yang berbeda melibatkan lebih banyak perubahan molekuler. Pola dorso-ventral tampaknya disebabkan oleh hedgehog sonik dan pensinyalan *Wnt*, sementara polaritas antero-posterior disebabkan oleh *notch*.

Bagian anterior dan posterior somit dipisahkan satu sama lain oleh celah yang berbeda disebut **fisura von Ebner**. Saraf tulang belakang (*spinal nerves*) dapat memasuki setengah anterior setiap somit tetapi tidak setengah posterior.

Sel miotom pertama terbentuk di daerah anteriormedial somit dari sel tepi derma-miotom. Pada saat sel miotom telah meluas ke setengah posterior somit, selanjutnya mulai memproduksi protein otot, oleh karena itu kemungkinan sudah ditentukan akan menjadi sel sklerotom atau tidak. Setelah miotom terbentuk, maka miotom akan dipisahkan dari komponen dermatom somit oleh membran basal. Kemudian dalam perkembangannya, sel-sel dermatom bermigrasi ke bagian punggung menjadi dermis.

Pada embrio ayam umur 24 jam, dapat dibedakan antara bagian intraembrional dengan bagian ekstraembrional. Bagian ekstraembrional terdiri dari area pelusida dan area opaca. Bagian kepala mengalami perkembangan yang cepat, namun karena ada bagian batas pertumbuhan, terjadi lipatan kepala (*head fold*), mula-mula ke ventral lalu bagian kepala agak terangkat dan melipat ke posterior.

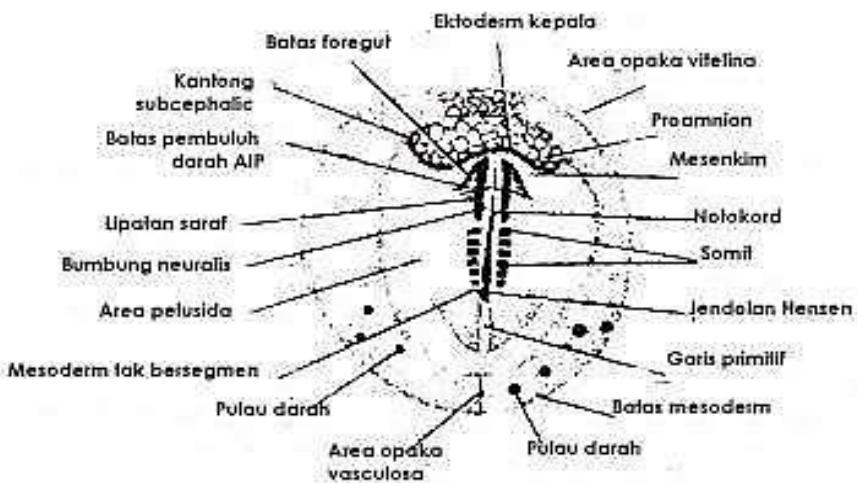
Hal ini diikuti oleh lipatan entoderm, terbentuk kantong buntu sebelah anterior yang membuka ke arah kunir atau kuning telur disebut ***Anterior Intestinal Portal (AIP)***. Kantong buntu di sebelah anterior adalah *fore gut* (usus depan), sedangkan ke sebelah posterior entoderm masih lurus sampai ke garis primitif. Sesuai dengan bertambah tuanya usia embrio, terjadi penutupan *neural fold* secara bertahap mulai bagian di atas AIP ke arah anterior dan posterior. Dengan demikian terbentuk tabung otak.

Jumlah pasangan somit yang dibentuk oleh terjadinya segmentasi mesoderm di kanan kiri notokord adalah 2 - 5 pasang. Somit disebut juga **dorsal mesoderm**.

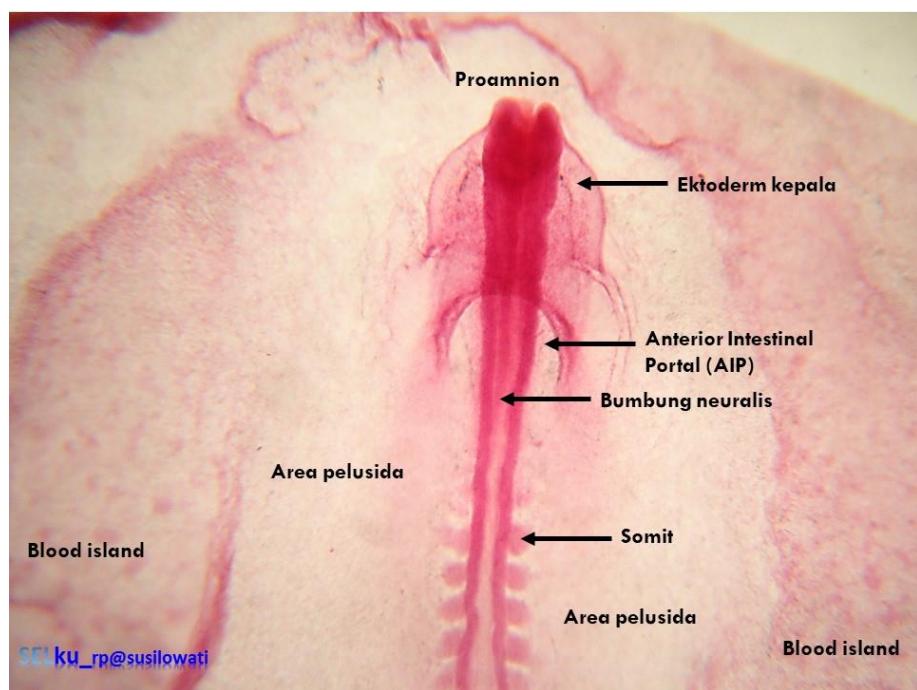
Pada embrio ayam umur 24 jam, ternyata *splanchnic mesoderm* di daerah AIP mengalami penebalan yang nantinya akan berkembang menjadi buluh jantung. Sedangkan di area opaca, mesoderm berkelompok disebut **pulau darah** (*Blood Island*) dan area opaca sendiri disebut **area opaca vaskulosa**, sedangkan bagian yang mengelilinginya dinamakan **area opaca vitelina**.

Pada embrio ayam umur 24 jam bumbung neuralis (*neural tube*) masih belum menutup. Lipatan-lipatan pada bagian anterior telah berdekatan letaknya, tetapi belum menjadi satu. Dalam beberapa preparat, lipatan ini telah bersatu pada bagian rombensefalon. Alur

atau bumbung neuralis (*neural groove*) dapat terlihat jelas di bagian posterior.



**Gambar 5-8** Gambaran perkembangan embrio ayam 24 jam masa inkubasi



**Gambar 5-9** Fotomikroskopis sediaan *whole mount* embrio ayam 24 jam masa inkubasi  
(pembesaran 40x)

Gambaran di atas adalah *wholemount* dari 24 jam umur embrio ayam dengan 4 pasang tahap somit. Pada tahap ini terlihat jelas area opaka perifer yang gelap dan area pelusida yang tembus pusat dan

tidak terlihat. Di bagian anterior terdapat proamnion, yang merupakan bagian kecil dan area pelusida yang relatif lebih tembus dan ditandai dengan tidak adanya mesoderm. Di tengah area pelusida, di setengah posteriornya ada garis primitif dengan alur primitif di tengahnya. Alur primitif terikat oleh lipatan primitif. Di setengah anterior area pelusida, di tengah, ada alur saraf yang terikat oleh lipatan saraf. Garis primitif dan alur saraf dipisahkan oleh jendolan Hensen yang memiliki penekanan kecil di tengah-lubang Hensen. Tepat di bawah alur primitif, garis primitif memunculkan pertumbuhan luar yang kecil disebut notokord dan di kedua sisi ke mesoderm. Di area pelusida embrionik dan bagian ekstra embrionik juga menjadi dapat dibedakan. Di bagian paling anterior ektoderm telah menimbulkan lipatan kepala, yang merupakan perpanjangan lipatan saraf seperti kantong. Endoderm yang mendasarinya juga berubah menjadi bagian depan seperti kantong. Proamnionnya sangat berkurang. Di depan jendolan Hensen area mesoderm embrionik dibedakan menjadi 3-4 pasang somit mesodermal. Kanal saraf, di bagian lipatan kepala, menimbulkan otak depan (*forebrain*). Usus bagian depan (*foregut*) memanjang di kedua sisi menjadi vesikula amino-jantung.

#### 18. Lempeng Mesoderm Lateral Dan Mesoderm Intermediet

Lempeng mesoderm lateral muncul dari bagian posterior area pelusida dan masuk melalui garis primitif sebelum mesoderm *paraxial* (somatik) menyebar hingga mencapai tepi area opaca dan kemudian berlanjut ke bagian ini sebagai mesoderm ekstra-embrionik. Berbeda dengan mesoderm somatik, lempeng lateral tidak tersegmentasi tetapi ada sebagai dua lembar, lapisan somatik, yang terletak di bawah ektoderm (bersamasama membentuk lembaran bilaminar, *somatopleura*) dan lapisan splanknikus, yang terletak di atas endoderm (bersama-sama membentuk lapisan bilaminar, *splanchnopleura*). Lapisan yang terbentuk tersebut dipisahkan oleh sebuah ruang yang disebut selom. Perkembangan lempeng lateral tampaknya terkait dalam beberapa hal dengan somit. Sebagai contoh, *Epha-4* diekspresikan baik di tepi lateral somit dan di mesoderm lempeng lateral dan, *BMP4* yang dihasilkan oleh lempeng lateral

mempengaruhi perkembangan somit. Mesoderm lempeng lateral kemudian membentuk mesenterium, lapisan rongga pleura, jantung dan perut, dan substansi utama jantung serta berkontribusi pada membran ekstraembrionik.

Mesoderm perantara terletak di antara somit dan mesoderm lempeng lateral, di mana keduanya awalnya melekat. Ini muncul pada saat yang sama dengan somit dan berkembang bersamaan dengan yang dari anterior ke posterior ke bawah batang, tetapi berbeda dari somit karena tidak tersegmentasi dan tidak meluas ke ekor *postcloacal*. Ini kemudian membentuk sebagian besar sistem urino-genital.

## 19. Puncak Saraf (*Neural Crest*)

Seperti notokord dan somit, *neural crest* hanya ditemukan pada awal embrio dan tidak ada pada tahap selanjutnya. Ini seperti yang tersirat dari namanya, strip sel yang terletak di sepanjang sisi dorsal dari tabung saraf awal, membentuk puncak (*crest*) di sepanjang tubuhnya. Nama sebelumnya, ektomesenkim, lebih menggambarkan asal-usul dan kelanjutannya daripada posisinya, karena merupakan turunan ektodermal yang memunculkan berbagai struktur mesenkim. Ada banyak literatur tentang *neural crest*. Ini berasal dari ektoderm di persimpangan ektoderm non-saraf dan ektoderm saraf dan ada bukti bahwa kedua jaringan berinteraksi untuk menginduksinya. Dickinson *et al.* [1995] menemukan bahwa *neural crest* dapat diinduksi dari *neural plate* (lempeng saraf) dalam kultur baik oleh ektoderm atau oleh dua protein yang disekresikan oleh ektoderm. Kedua protein ini menginduksi ekspresi protein siput dan protein Rhob dalam sel yang menjadi puncak saraf dan jika tidak, salah satunya yaitu sel *neural crest* gagal meninggalkan tabung saraf. Bahkan ektoderm ekstraembrionik dapat diinduksi untuk membentuk puncak saraf. *Rhob* terlibat dalam produksi elemen sitoskeletal yang dibutuhkan untuk migrasi. Ektoderm nonneural tetap dapat menginduksi puncak saraf dari ektoderm saraf, meskipun lempeng saraf kehilangan kemampuannya untuk merespons. Para peneliti ini menemukan bahwa penanda, siput, ada di lipatan saraf bahkan pada akhir gastrulasi, dan oleh karena itu, induksi *neural crest* melibatkan serangkaian tahapan.

Puncak saraf (*neural crest*) pertama kali terlihat sebagai bagian yang menebal tepat sebelum tabung saraf menutup. Pembentukan dan perkembangan selanjutnya mengikuti urutan anterior ke posterior. Saat tabung saraf menutup, puncak saraf menjadi bersarang di antaranya dan ektoderm di atasnya, dan ketika tiga jaringan terpisah satu sama lain, selsel *neural crest* menetap ke permukaan dorsal tabung saraf. Sesaat sebelum sel-sel tersebut meninggalkan tabung saraf, sel-sel diratakan dan diorientasikan kembali sehingga sumbu terpanjang dari setiap sel diatur pada sudut kanan embrio dan ada pengurangan ruang antar sel. Emigrasi dari tabung saraf terjadi dalam gelombang dari anterior ke posterior ke bawah tubuh. Aspek penting adalah mengikuti setelah gelombang segmentasi somit dan ada bukti bahwa setiap pasang somit mempengaruhi pelepasan neural crest di sekitarnya dengan mempengaruhi hubungan timbal balik *BMP4* dan noggin. *BMP4* tampaknya memainkan peran utama dalam melepaskan sel *neural crest* dari tabung saraf. Donenfeld dan Kalcheim [2000] menemukan bahwa di daerah embrio di mana ekspresi noggin tinggi di tabung saraf, *BMP4* tidak aktif dan sel *neural crest* gagal untuk beremigrasi, tetapi pengurangan progresif dalam aktivitas noggin bertepatan dengan aktivasi *BMP4* dan emigrasi. Para peneliti menyarankan, sebagai hasil dari serangkaian ablasi eksperimental, bahwa penghambatan noggin diproduksi oleh bagian dorso-medial dari somit epitel. Ini akan menjelaskan mengapa delaminasi *neural crest* mengikuti segmentasi somit.

Setelah sel-sel *neural crest* meninggalkan tabung saraf, selanjutnya mengikuti jalur yang didefinisikan dengan baik melalui tubuh sampai mencapai jaringan targetnya. Isyarat utama yang mengarahkan migrasi disediakan oleh lingkungan sekitar: seperti sel *neural crest* melewati setengah anterior setiap somit tetapi tidak pernah melewati setengah posterior. Aturan ini diikuti bahkan dalam situasi eksperimental di mana somit diputar atau dibalik sehingga hubungannya dengan sel *neural crest* yang beremigrasi diubah. *F-spondin*, yang diekspresikan di daerah posterior hanya dari somit, tampaknya memainkan peran dalam menghambat sel-sel *neural crest* memasuki wilayah ini. Demikian pula, protein efrin menghambat

perjalanan sel *neural crest* melalui wilayah ini. Tabung saraf juga mempengaruhi arah migrasi sel *neural crest*, karena jika dibalik dalam sumbu dorso-ventralnya, sel *neural crest* yang ditakdirkan untuk bermigrasi ke sisi tabung saraf terus bergerak, meskipun itu mengarahkannya menuju ektoderm bukan endoderm.

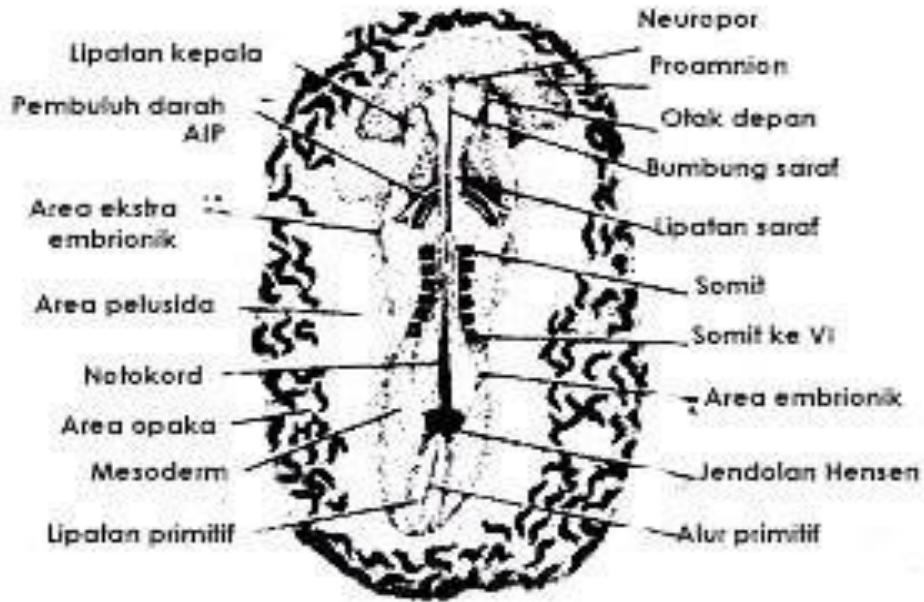
Jaringan tetangga mengerahkan banyak pengaruhnya pada *neural crest* melalui media matriks ekstraseluler yang mengelilinginya, komponen yang paling penting adalah fibronektin, laminin, tenascin, kolagen dan berbagai proteoglikan. Integrin dan molekul adhesi lainnya memungkinkan sel *neural crest* berinteraksi dengan matriks ekstraseluler. Ada kemungkinan bahwa perbedaan konsentrasi di mana bahan-bahan ini ada di berbagai bagian tubuh memainkan peran dalam mengarahkan migrasi. Lingkungan juga berperan dalam diferensiasi akhir sel-sel *neural crest*. Sebagian besar sel *neural crest* tampak memiliki potensi majemuk pada saat meninggalkan tabung saraf sehingga berdiferensiasi menurut lingkungan baru jika ditransplantasikan. Pengecualian utama adalah bahwa *neural crest* batang, yang tidak membentuk tulang rawan atau tulang di batang, tampaknya tidak dapat melakukannya bahkan ketika ditransplantasikan ke kepala.

Puncak saraf (*neural crest*) yang muncul di bagian kepala (*neural crest cephalic*), dan membentuk tulang rawan dan tulang di sebagian besar kerangka kepala dan wajah, juga memunculkan jaringan ikat serta sel Schwann dan ganglia sensorik kranial. *Neurat crest* di daerah vagal (tepat di belakang kepala) dan daerah sakral membentuk seluruh sistem saraf usus (usus). *Neural crest* di batang otak bermigrasi sebagai dua aliran terpisah; bagian dorsal lewat secara lateral di bawah ektoderm sampai mencapai dinding tubuh bagian tengah ventral. Akhirnya, bermigrasi ke dalam substansi dermis dan membentuk sel pigmen. Aliran ventro-lateral melewati bagian anterior somit, beberapa sel tersisa di sana dan berdiferensiasi menjadi ganglia akar dorsal, sementara yang lain menimbulkan ganglia simpatis, sel Schwann, dan sel adrenomeduler. *Neural crest* jantung meluas dari somit pertama hingga ketiga, di antara kranial dan *neural crest* batang.

Beberapa kesejajaran yang menarik ada antara *neural crest* dan garis primitif. Dalam setiap kasus, sel meninggalkan epitel dan bermigrasi ke bagian lain dari tubuh; berpindah dari lapisan luar ke bagian dalam embrio dan setelah mencapai tujuannya diatur menjadi struktur baru. Sel-sel yang meninggalkan garis primitif pasti berbeda dari sel-sel yang ada di puncak saraf (*neural crest*) yang membentuk rentang jaringan yang berbeda. Namun, ada perbedaan tambahan. Sel-sel yang muncul dari garis primitif semuanya memunculkan jaringan epitel saat mencapai tujuannya yaitu somit, lempeng lateral, duktus pronefrikus, endoderm), tetapi pada burung, sel-sel yang muncul dari puncak saraf jarang diatur ulang sebagai epitel.

## 20. Perkembangan Embrio Ayam 29-33 Jam

Di setengah anterior area pelusida, di tengah, ada alur saraf yang terikat oleh lipatan saraf. Garis primitif dan alur saraf dipisahkan oleh jendolan Hensen yang memiliki lubang kecil Hensen di tengahnya. Setelahnya, tepat di bawah alur primitif, garis primitif memunculkan notokord dan di kedua sisinya menjadi mesoderm. Pada tahap ini, embrionik dan bagian ekstraembrionik juga telah dibedakan di area pelusida. Di bagian paling anterior, ektoderm telah memunculkan lipatan kepala yang merupakan kantong seperti perpanjangan lipatan saraf. Endoderm yang mendasari telah berubah menjadi kantong seperti foregut. Proamnion berkurang. Mesoderm, di depan jendolan Hensen, telah menghasilkan 8-10 pasang somit. Di bagian lipatan kepala, bagian anterior kanal saraf telah memunculkan otak depan (*forebrain*) yang berbeda. *Foregut* dan vesikel jantung cukup berkembang. Area ekstraembrionik bertambah besar.



Gambar 5-10 Gambaran masa inkubasi embrio ayam 30 jam dengan 10 pasang tahap somit

Pada gambaran di atas yang memperlihatkan bentuk keseluruhan perkembangan embrio ayam masa inkubasi 30 jam, area opaka perifer gelap dan area pelusida pusat tembus cahaya dan tanpa warna yang terlihat jelas. Di bagian anterior terdapat proamnion, yang merupakan bagian kecil dan area pelusida yang relatif lebih tembus dan ditandai dengan tidak adanya mesoderm. Di tengah area pelusida, di setengah posterior, terlihat garis primitif dengan alur primitif melewati pusatnya. Alur primitif terikat oleh lipatan primitif.

## 21. Perkembangan Embrio Ayam 33-38 Jam

### a. Asal Usul Ekstremitas (Anggota Gerak)

Bagian ekstremitas potensial menjadi terlihat dari sekitar 50-55 sebagai *ridge* yang sedikit menebal dari mesoderm lempeng lateral somatik, menurut Stephens *et al.* [1992] bagian pembentuk ekstremitas dapat dikenali sejak dini. Pada inkubasi 3 hari, setiap tunas ekstremitas memiliki panjang sekitar 1 mm dengan lebar sekitar 1 mm. Masing-masing terdiri dari selubung ektoderm yang menutupi inti mesoderm; ektoderm berasal dari ektoderm dinding tubuh lateral dan mesoderm terbentuk dari lempeng lateral somatik, meskipun ini kemudian menjadi tambahan oleh sel-sel

yang bermigrasi dari somit. Mesoderm somatik memunculkan tendon, kerangka, dermis, dan jaringan ikat anggota badan, sedangkan sel-sel somatik membentuk otot.

Langkah morfologi pertama dalam pembentukan tunas anggota gerak (*limb*) adalah proliferasi sel mesoderm lempeng lateral dan ini tampaknya disebabkan oleh produksi faktor parakrin oleh mesoderm lempeng lateral itu sendiri. Ketika manik-manik direndam dalam faktor parakrin dimasukkan di bawah ektopik ektoderm tunas tungkai tambahan diinduksi.

Di ujung anggota badan ektoderm menjadi menebal dan kemudian dikenal sebagai jalur ektodermal apikal. Interaksi penting terjadi antara jalur mesoderm dan mesoderm yang mendasarinya. Jalur itu sendiri diinduksi untuk dibentuk oleh sel mesenkim, sebagian besar melalui sekresi faktor parakrin. Tetapi mesenkim selanjutnya bergantung pada keberadaan jalur itu sendiri. Jika jalur diangkat, anggota badan gagal untuk berdiferensiasi lebih lanjut, sedangkan jika *ridge* ektodermal apikal tambahan dicangkokkan ke tunas ekstremitas, struktur ekstremitas menjadi berkembang.

Setiap anggota badan (*limb*) juga mengembangkan sumbu dorso-ventral sehingga, misalnya sisi dorsal (atas) kaki berbeda dari sisi ventral (plantar). Ini tampaknya disebabkan terutama oleh aktivitas peristiwa di ektoderm.

Area khusus lainnya dari tunas ekstremitas, selain zona nekrotik posterior, adalah zona nekrotik anterior yang tidak hanya berperan dalam pembentukan anggota badan tetapi juga merupakan pusat morfogen. untuk berdifusi dan berinteraksi dengan jaringan lain, memainkan peran penting dalam pola anggota badan. Ada bukti bahwa asam retinoat adalah senyawa aktif yang disekresikan oleh zona ini.

Embrio mengalami pelekukan servikal (*cervical flexure*), sehingga daerah rhombensefalon (metensefalon dan mielensefalon) berada di sebelah dorsal dan telensefalon mendekati perkembangan jantung. Lipatan kepala makin berkembang ke arah posterior, sebaliknya dengan *amniotic tail fold* (berkembang ke arah

anterior), dan lateral *body fold* semakin menutup. Mata terletak lebih ke arah kaudal daripada otosis. Di bagian ventro-lateral rhombensefalon berkembang derivat *neural crest* berupa pasangan ganglion saraf-saraf kranial. Di daerah setinggi AIP, terjadi penebalan mesoderm yang akan berkembang menjadi *upper limb bud* atau *wing bud*, merupakan primordia sayap. Sedangkan di daerah kauda dibentuk *lower limb bud* yaitu primordia kaki.

b. Perkembangan Jantung dan Pembuluh Darah

Di area pelusida berkembang jaring-jaring pembuluh darah. Pembuluh-pembuluh darah ekstra embrional di area opaka mengalami diferensiasi. Bagian vaskularisasi ini berakhir di sinus terminalis. Di bagian anterior primordia jantung dibentuk ventral aorta yang selanjutnya memutari *fore gut* akhirnya membentuk sepasang dorsal aorta.

Dalam 38 jam inkubasi telah dibentuk 3 pasang arkus aorta, masingmasing bermuara pula membentuk dorsal aorta. Dorsal aorta berkembang sampai ke bagian posterior somit yang terakhir. Tabung jantung membesar dan membelok ke arah sebelah kanan badan embrio (perkembangannya relatif cepat, sedangkan rongga jantung terbatas), membentuk serupa huruf U.

Proamnion memendek menjadi bagian yang sempit di sebelah ventral kepala, nampaknya telah mulai dibentuk *amniotic head fold* yaitu lipatan yang akan melindungi embrio selama perkembangan **disebut lapisan amnion**. Garis primitif juga memendek dan relatif tidak berfungsi.

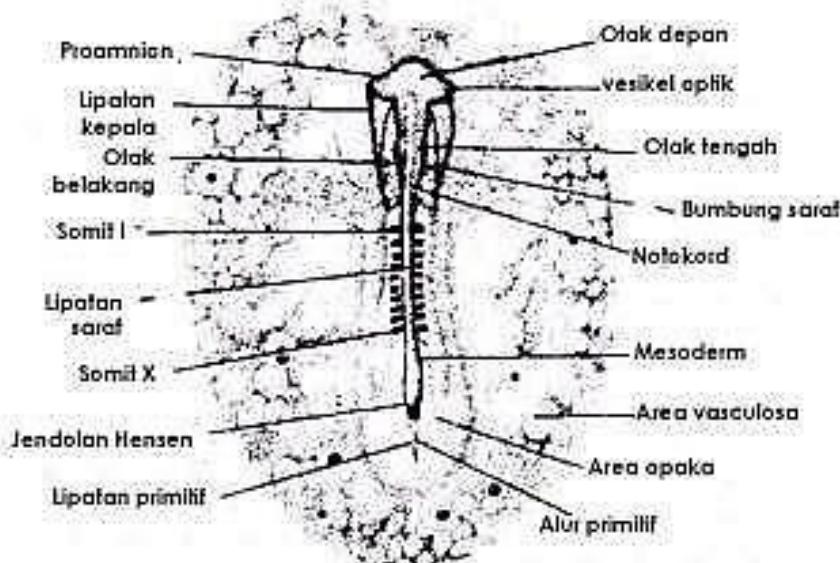
Seperti telah dijelaskan, tabung jantung sekarang tampak membelok ke kanan membentuk huruf U (perkembangan relatif cepat sedangkan tempat terbatas). Dari bagian kantong kunir masuk ke badan embrio vena vitelina yang bermuara dalam sinus venosus. Tabung jantung tersusun atas: sinus venosus, atrium, ventrikel dan bulbus, selanjutnya adalah ventral aorta memutari bagian faring, akhirnya membentuk sepasang dorsal aorta. Dalam hal ini telah pula terbentuk 3 pasang *aortic arch* (menembus ketiga pasang *branchial arch*) yang juga membentuk dorsal aorta tersebut.

Di bagian AIP dorsal aorta bertemu membentuk *descending aorta* kemudian memisah menjadi dorsal aorta kembali sampai ke posterior. Di bagian posterior, kira-kira pada tingkat somit ke 22, terbentuk percabangan ke lateral membentuk arteri vitelina. Jantung mulai berkontraksi. Kecuali itu di bagian anterior telah dibentuk vena kardinalis anterior, demikian pula di bagian posterior yaitu vena kardinalis posterior, keduanya bertemu dalam vena kardinalis komunis yang disebut juga **duktus Cuvier** yang bermuara dalam sinus venosus.

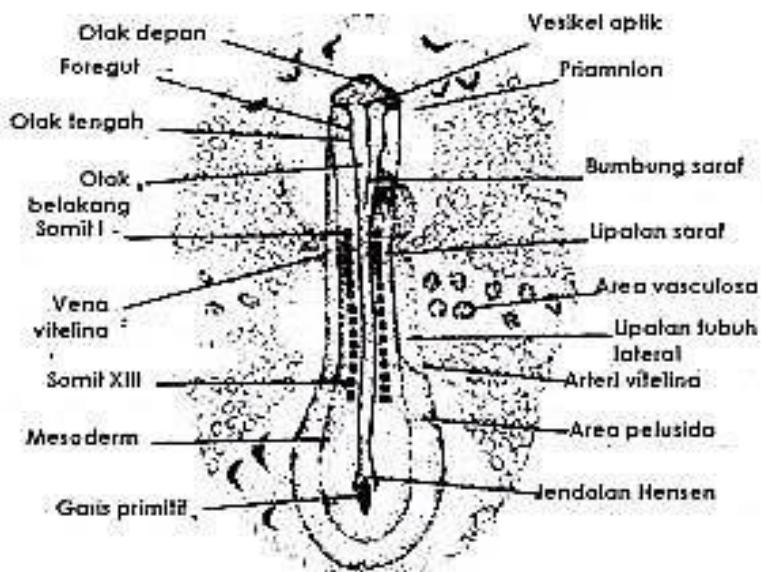
Tabung jantung telah melekuk dan memutar (karena ruang perkembangan sangat terbatas) membentuk huruf S. Jantung terdiri dari: sinus venosus, atrium, ventrikel, bulbus dan ventral aorta.

Sinus venosus tempat bermuara vena vitelina dan vena kardinalis komunis (duktus Cuvier). Vena vitelina telah berfungsi mengalirkan kunir dari kantong kunir (*yolk sac*) ke badan embrio sebagai makanan bagi embrio yang sedang berkembang. Sedangkan duktus Cuvier mengembalikan darah dari bagian kepala melalui vena kardinalis anterior dan dari badan bagian posterior melalui vena kardinalis posterior.

Dengan demikian pada stadium ini telah terjadi sirkulasi darah dalam badan embrio. Jantung berdenyut pada ± 48 jam inkubasi. Ventral aorta bercabang membentuk 3 pasang arkus aorta, kemudian ketiga pasang arkus aorta tersebut bermuara ke dalam dorsal aorta.



**Gambar 5-11** Gambaran *wholemount* perkembangan embrio ayam masa inkubasi 33 jam dengan 11-12 pasangan somit



**Gambar 5-12** Gambaran perkembangan embrio ayam masa inkubasi 36 jam (*wholemount, WM*), dengan 13-14 pasang somit

Pada gambaran perkembangan embrio ayam masa inkubasi 33-38 jam, terlihat area opaka perifer terlihat dan area pelusida pusat yang transparan sehingga tidak terlihat jelas. Garis primitif secara komparatif telah berkurang karena saluran saraf dan lipatan saraf yang sangat panjang. Area ekstra embrionik bertambah besar.

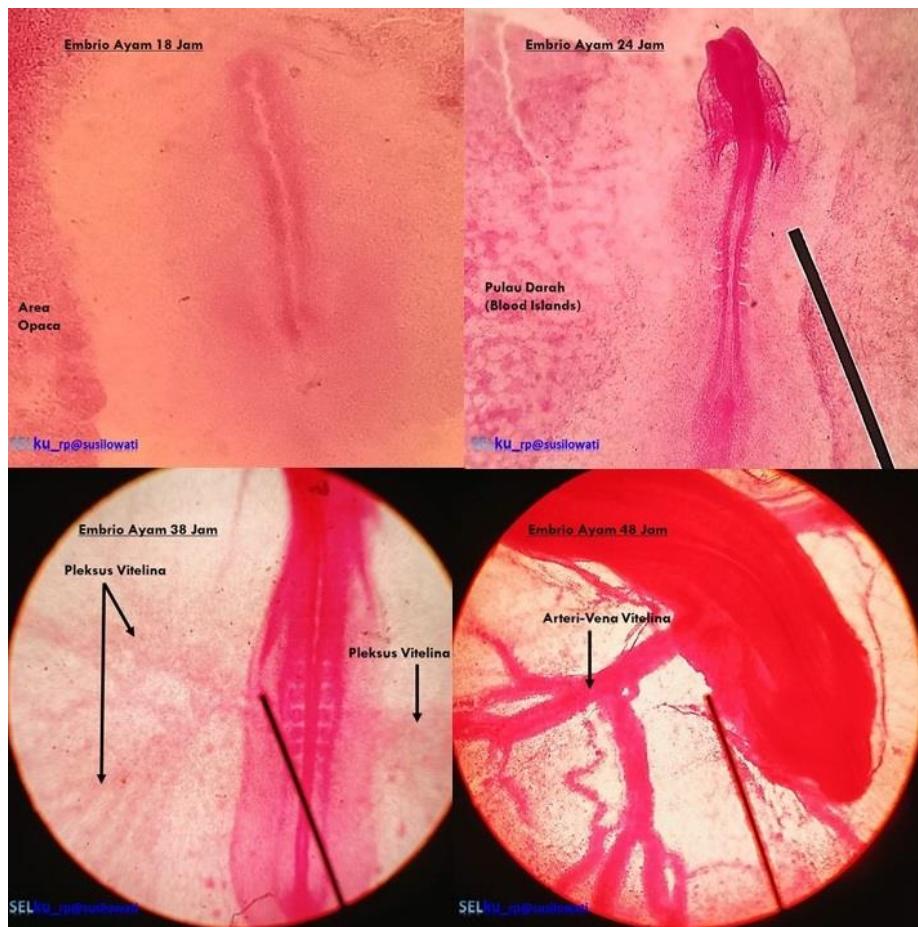
Mesoderm, di depan jendolan Hensen, telah menghasilkan 11-12 pasang somit. *Foregut* dan vesikel jantung cukup berkembang. Otak dibedakan menjadi otak depan (*fore-brain*), otak tengah (*mid-brain*) dan otak belakang (*hind-brain*). Area opaka telah berubah menjadi area vasculosa. Proamnion telah menghilang. Vena omphalomesenterika anterior telah berkembang.

c. Tabung Otak Dan Primordia Organ Indera

Otak terdiri dari 3 bagian yaitu: otak depan (prosensefalon), otak tengah (mesensefalon) dan otak belakang (rombensefalon). Selanjutnya adalah korda spinalis (*spinal cord*). Pada embrio ayam dengan 17 pasang somit, *anterior neuropore* telah menutup, selanjutnya terjadi proses konstriksi (segmentasi) membentuk 11 *neuromer*. Pada perkembangan selanjutnya neuromer I-III membentuk otak depan, IV-V membentuk mesensefalon dan VI-XI membentuk rombensefalon.

Pada saat menutupnya lipatan neural (*neural fold*) menjadi tabung otak, ektoderm berdiferensiasi menjadi tiga bagian yaitu :

- 1) Ektoderm neural yang membentuk tabung otaknya sendiri.
- 2) Ektoderm kepala yang akan membentuk organ indra.
- 3) *Neural crest* (massa sel-sel ektoderm terletak antara 1 dan 2) yang antara lain akan membentuk ganglion-ganglion kranial dan spinal, pigmen dan bagian medula kelenjar adrenal.
- 4) Pada perkembangan selanjutnya bagian prosensefalon mengalami dilatasi ke lateral membentuk suatu kantung disebut *optic vesicle* yang dibarengi dengan penebalan ektoderm kepala didepannya membentuk *lens placode* yang akan menjadi lensa mata. Disamping itu pada daerah rombensefalon ektoderm kepala juga mengalami penebalan membentuk *auditory placode* yang nantinya mengadakan invaginasi membentuk *auditory pit* lalu melepaskan diri menjadi *optic vesicle* atau *otocyst* yang akan berkembang menjadi telinga bagian dalam.



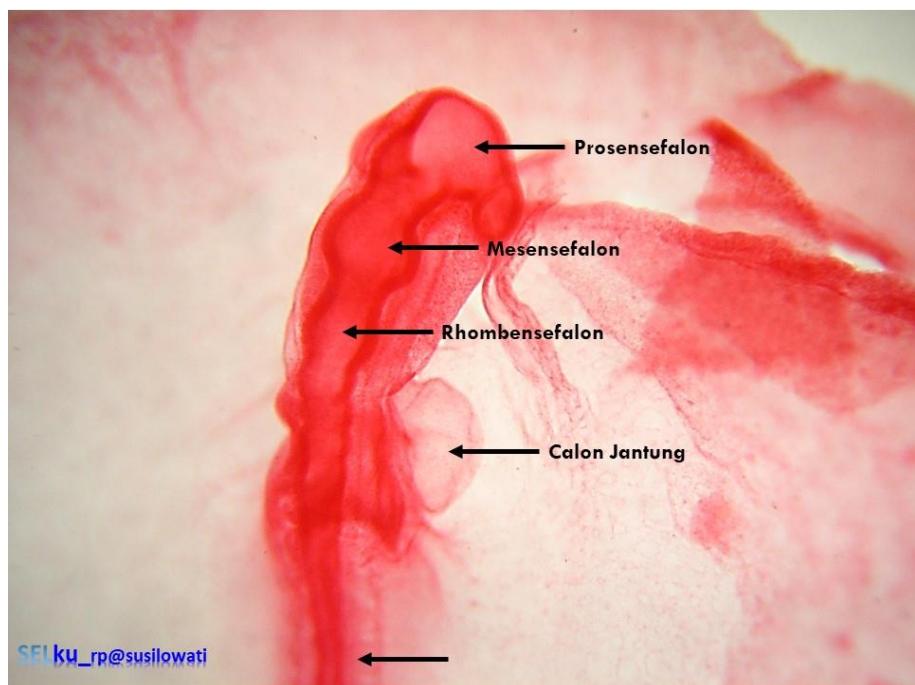
**Gambar 5-13** Gambaran whole mount perkembangan embrio ayam masa inkubasi 18 jam-48 jam, terlihat perkembangan pembuluh darahnya

Pada stadium ini kepala embrio mengalami pelekukan (*cephalic flexure*) sehingga mesensefalon tampak di sebelah dorsal, sedangkan prosensefalon dan rhombensefalon tampak sejajar.

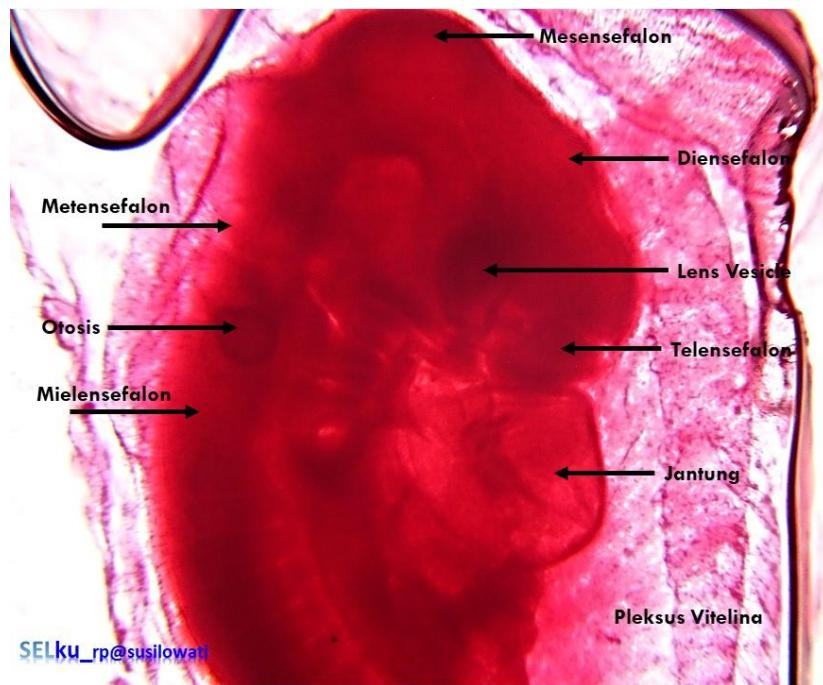
Badan embrio memutar sepanjang sumbunya sehingga bagian kiri menjadi di atas kunir sedangkan pandangan dari dorsal tampak kepala bagian kanan, badan bagian posterior masih menunjukkan bagian dorsal (pandangan dari atas). Bagian badan sebelah tengah telah menunjukkan adanya lipatan lateral (*lateral body fold*) sedangkan di bagian ekor telah terjadi pula *tail fold* (lipatan yang akan menyelubungi bagian ekor). Lama kelamaan seluruh badan embrio berada dalam selubung amnion, setelah semua lipatan-lipatan bertemu.

## 22. Perkembangan Embrio Ayam 40-45 Jam

Pada perkembangan embrio ayam masa inkubasi 40-45 jam, terlihat area opaka perifer gelap dan area pelusida pusat transparan yang tidak berwarna sehingga tidak terlihat. Area ekstra embrionik bertambah besar. Garis primitif relatif berkurang karena saluran saraf dan lipatan saraf yang sangat panjang. Notokord telah memanjang dari belakang otak hingga ke ujung tubuh. Mesoderm, di depan jendolan Hensen, telah menghasilkan 13-14 pasang somit. Otak dibedakan menjadi otak depan, otak tengah dan otak belakang. Bagian vesikel optik di otak depan dan bagian vesikel optik di otak belakang telah berkembang. Area opaca telah berubah menjadi area vasculosa. Proamnion telah menghilang. Vena omphalomesentric anterior dan arteri vitellina telah berkembang. Vesikel jantung telah menjadi jantung.



**Gambar 5-14** Fotomikroskopis sediaan *whole mount* embrio ayam 36 jam masa inkubasi (pembesaran 40x), jumlah somit adalah 10 pasang



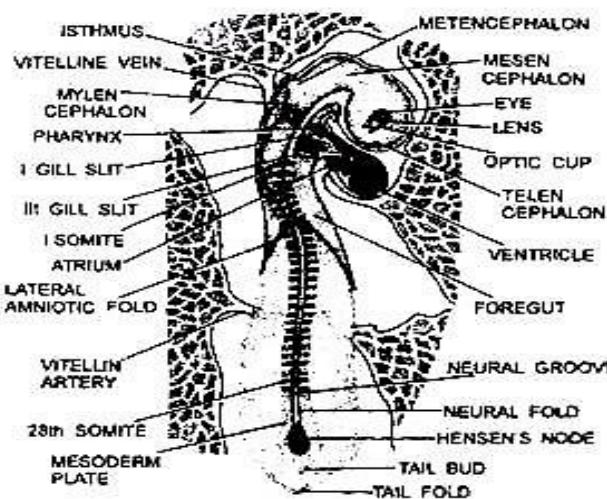
**Gambar 5-15** Fotomikroskopis sediaan *whole mount* embrio ayam 38 jam masa inkubasi (pembesaran 40x)

### 23. Perkembangan Embrio Ayam 45-52

Enam belas somit. Kepala berputar ke sisi kiri. Neuropor anterior tertutup. Telencephalon terlihat. Vesikel mata primer dan batang mata terbentuk. Lubang pendengaran (*auditory pit*) dalam, tapi terbuka lebar. Jantung berbentuk seperti huruf S. Pelipatan kepala dari amnion membelah seluruh bagian otak depan.

Pada tahap perkembangan embrio ayam masa inkubasi 45-52 jam, area opaca dan area pelusida tidak terlihat. Area ekstra embrionik bertambah besar. Garis primitif telah menghilang. Mesoderm, di depan jendolan Hensen, telah menghasilkan 26-28 pasang somit. Otak telah berdiferensiasi menjadi telencephalon, prosencephalon, mesencephalon, metencephalon dan mylencephalon. Jantung telah dibedakan menjadi ventrikel dan atrium. Sinus venosus dan truncus arteriosus juga mulai berkembang. Mata telah dapat dibedakan menjadi mangkuk optik (*optic cup*) dan lensa dan vesikel optik juga telah berkembang cukup baik. Bagian kepala melengkung ke kanan karena fleksi tengkorak. Tiga celah insang faring juga telah dibedakan. Di belakang jendolan Hensen, tunas ekor (*tail bud*) juga telah

berkembang. Lipatan amniotik lateral, vena omphalomesenterika anterior, dan arteri vitellina telah muncul.



**Gambar 5-16** Gambaran perkembangan embrio ayam masa inkubasi 48 Jam, dengan 26-28 pasang somit

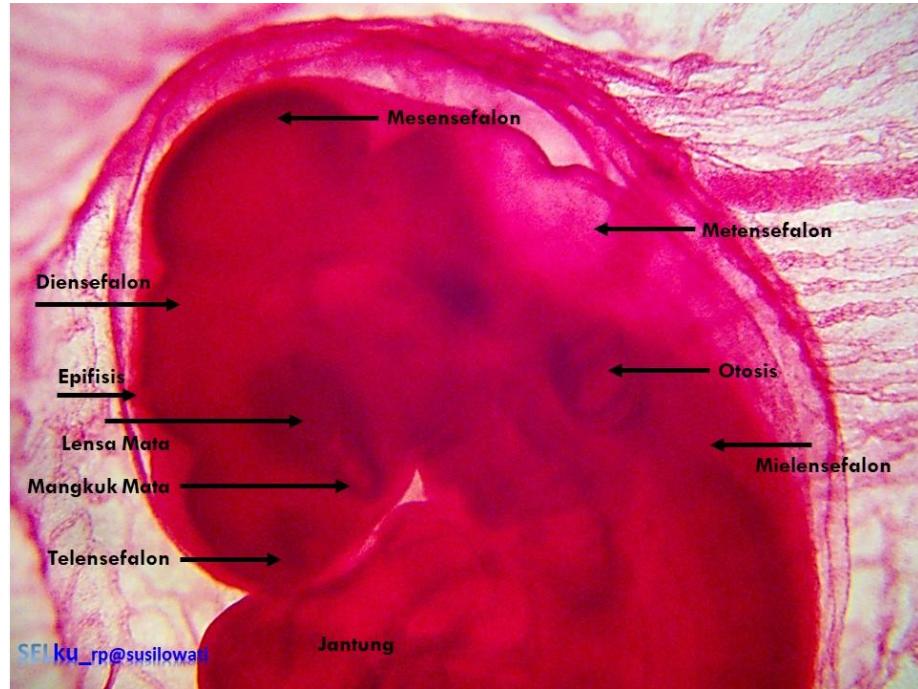
#### 24. Perkembangan Embrio Ayam 50-53 Jam

Fleksi kranial: sumbu otak depan dan otak belakang terbentuk dengan sudut siku-siku. Fleksi servikal melengkung lebar. Rotasi tubuh ke belakang memiliki somit 7-9. Di balik tingkatan ini, sedikit kelenturan muncul yang disebut fleksur batang otak. Lengkung viseral 1 dan 2, dan celah 1 dan 2 berbeda. Lengkung posterior tidak berbeda. Vesikel optik primer mulai berkembang biak, *lens-placode* terbentuk. Pembukaan lubang pendengaran dibatasi. Kantong Rathke bisa dikenali. Loop ventrikel jantung sekarang ventral ke kanal atrio-ventrikel. Amnion meluas ke somit 7-10.

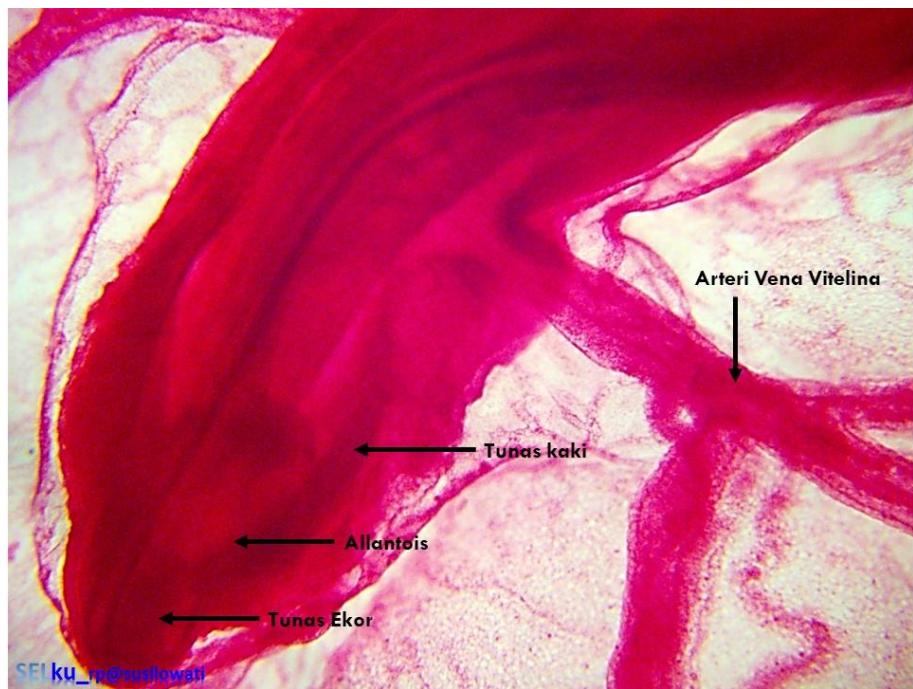
#### 25. Perkembangan Embrio Ayam 50-55 Jam

Lipatan tubuh lateral meluas ke ujung anterior setinggi sayap (somit 15-17). Anggota gerak-primordia: calon area anggota gerak yang datar, belum berbatas. Pemadatan mesoderm yang tidak mencolok di tingkat sayap. Somit: 24-27. Amnion memanjang hingga somit 7-14. Flexure kranial: sumbu otak depan dan otak belakang membentuk sudut lancip. Bentuk ventral otak depan dan otak belakang hampir sejajar. Flexure bagian leher melengkung lebar. Batangnya berbeda.

Rotasi meluas ke somit 11 hingga 13. Lengkung visceral: lengkungan visceral 3 dan celah 3 berbeda. Yang terakhir lebih pendek dari celah 2 dan biasanya berbentuk mulut. Mata: mangkuk mata sudah benar-benar terbentuk; bentuk ganda berbeda di bagian iris.



**Gambar 5-17** Fotomikroskopik perkembangan embrio ayam 48 jam masa inkubasi (WM). Otak sudah terbagi menjadi 5 bagian: otak depan (prosensefalon) menjadi telensefalon dan diensemefalon, otak tengah (mesensemefalon), dan otak belakang (rhombensemefalon) menjadi metensemefalon dan mielensemefalon. Terlihat lensa mata dan mangkuk mata, otosis yang selanjutnya akan berkembang menjadi organ pendengaran, dan epifisis yang akan berkembang menjadi organ penciuman



**Gambar 5-18** Fotomikroskopik perkembangan embrio ayam 48 jam masa inkubasi (WM), terlihat percabangan arteri vena vitelina, allantois, tunas kaki (*leg bud*), dan tunas ekor (*tail bud*)

## 26. Perkembangan Embrio Ayam 51-56 Jam

Lipatan tubuh lateral meluas ke somit 17-20, di antara tingkat sayap dan kaki. Anggota gerak (*limb*). Sayap diangkat dari blastoderm dengan memasang lipatan lateral tubuh. Hal ini terlihat oleh adanya penebalan alur. Primordia kaki masih datar; terlihat melalui pemadatan mesoderm. Somit: 26-28. Amnion meluas ke somit 1018. Fleksi dan rotasi: semua lekukan lebih ditekankan. Tunas ekor berbentuk pendek, kerucut lurus, dibatasi dari blastoderm. Lengkung visceral: celah ketiga masih berbentuk oval. Otak depan diperpanjang; penyempitan antara bagian-bagian otak. Rotasi meluas ke somit 14-15, diperdalam. Epifisis tidak jelas atau belum terbentuk.

## 27. Perkembangan Embrio Ayam 52-61 Jam

Lipatan tubuh lateral memanjang ke seluruh lingkar tubuh. Tunas anggota gerak: kedua sayap dan tunas kaki mengangkat blastoderin dengan memasang lipatan tubuh. Keduanya adalah pembesaran berbeda dengan ukuran yang kira-kira sama. Somit: 29-32. Amnion: Kemungkinan besar, mulai dari kondisi di mana batang dan ekor posterior, dari kira-kira somit 26, tidak ditutup, hingga penutupan

lengkap kecuali untuk lubang mulut di atas somit 28-36. Stadium menengah dengan lipatan anterior menutupi sejauh somit 25 dan lipatan posterior yang menutupi bagian ekor sering terjadi. Fleksi dan rotasi: fleksi kranial tidak berubah. Fleksi cervical bengkok lebih tajam daripada tahap sebelumnya, tetapi sudutnya masih lebih besar dari 90. Fleksi batang berbeda pada tingkat brakialis. Rotasi meluas ke somit 17-18. Bagian ventral tunas ekor terikat. Mesodermnya tidak tersegmentasi. Epifisis: knob yang berbeda. Indikasi lubang hidung (*nasal pit*). Allantois: belum terbentuk.

## 28. Perkembangan Embrio Ayam 65-69 Jam

Tunas anggota gerak membesar; tunas kaki sedikit lebih besar dari tunas sayap. L/W sayap = 6 atau <6 (L = viscera = dimensi anteroposterior yang diukur di sepanjang dinding tubuh; W = lebar = jarak dari dinding tubuh ke puncak). Somit: 30-36; melampaui tingkat tunas kaki. Amnion: biasanya tertutup; kadang-kadang lubang oval di bagian lumbar. Fleksi dan rotasi: pada fleksi servikal, sumbu viscera membentuk kira-kira sudut kanan ke sumbu batang posterior. Fleksi batang telah bergeser ke bagian lumbar. Rotasi sekarang meluas ke bagian posterior tubuh; karena itu, tunas kaki tidak lagi dalam bidang horizontal. Tunas ekor diputar ke kanan, kira-kira bersudut 90 terhadap sumbu batang posterior. Lengkung visceral: proses maxillary tidak ada atau tidak terlihat. Celah visceral keempat tidak jelas atau tidak ada. Allantois: kantong pendek berdinding tebal; belum vesikuler.

## 29. Perkembangan Embrio Ayam 68-70 Jam

Tunas = 4-6. Tunas ekor (*tail bud*) melengkung, ujungnya mengarah ke depan. Lengkung visceral: Proses rahang atas (maksila) adalah pembesaran yang berbeda yang kira-kira sama panjangnya dengan proses mandibula. Celah visceral pertama adalah celah sempit yang terbuka di bagian dorsalnya. Itu berlanjut 175iscera yang dangkal. Lengkung kedua terproyeksikan sedikit di atas permukaan. Celah keempat adalah celah yang cukup berbeda di bagian dorsalnya dan berlanjut ke bagian ventral sebagai alur dangkal. Ini tidak melubangi

ke dalam faring sebagai celah (terbuka) yang sebenarnya, tetapi bagaimanapun, homolog dengan tiga celah lainnya. Allantois: kantong kecil dengan ukuran bervariasi; belum vesikuler. Mata berpigmen.

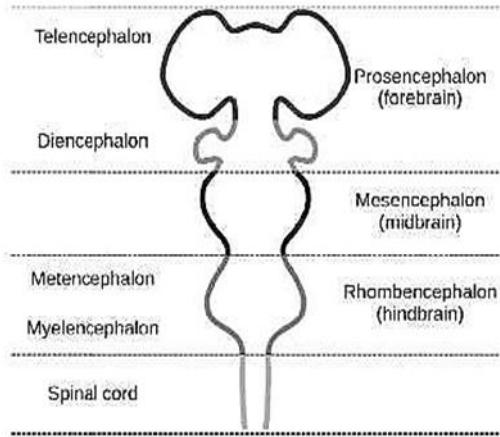
### 30. Perkembangan Embrio Ayam 70-72 Jam

Tunas anggota badan membesar; tunas kaki (*leg bud*) lebih besar dari tunas sayap (*wing buds*). Tunas sayap masih kurang lebih simetris; tunas kaki sedikit asimetris. Somit: 40-43 pasang; ujung ekor masih belum mengalami segmentasi. *Flexure* dan rotasi: lentur serviks lebih ditekankan daripada di tahap 19. Lekukan di daerah ekor mulai meluas ke depan ke daerah lumbo-sakral. Bentuk batang tengah otak berupa garis lurus. Rotasi selesai. Lengkung visceral: Proses rahang atas berbeda, sama atau melebihi viscera proses rahang bawah. Proyek lengkung kedua di atas permukaan. Lengkung keempat kurang menonjol dan lebih kecil dari lengkung ketiga. Celah keempat lebih pendek dari celah ketiga; celah sempit di bagian dorsalnya, berlanjut viscera yang dangkal. Allantois: visceral, ukurannya bervariasi; rata-rata dari ukuran otak tengah (*midbrain*). Pigmen mata. Rona keabu-abuan yang samar.

### 31. Perkembangan Otak

Bagian anterior dari tabung saraf (*neural tube*) dibedakan sebagai *encephalon* yang berkembang menjadi berbagai bagian otak melalui penebalan, penipisan, evaginasi dan invaginasi.

Otak embrionik utama katak memiliki tiga subdivisi utama yang disebut prosencephalon (otak depan), mesencephalon (otak tengah) dan rhombencephalon (otak belakang). Rongga tiga divisi utama dikenal sebagai *prosocoel*, *mesocoel* dan *rhombocoel*.



**Gambar 5-19** Diagram perkembangan otak. Prosensefalon (otak depan) akan berkembang menjadi telensefalon dan diensemefalon, mesensemefalon (otak tengah), dan rhombensemefalon akan berkembang menjadi metensemefalon dan mielensemefalon

### 32. Prosensefalon (*Forebrain*)

**Prosensefalon** kemudian dibagi lagi menjadi dua bagian yaitu **telensemefalon** dan **dienensemefalon**. Pada batas posterior prosensefalon, otak menekuk secara ventral di sekitar ujung anterior notokord untuk membentuk lipatan kranial (*cranial flexure*) yang tetap menjadi ciri utama otak vertebrata. Area fleksura kranial menebal untuk mengembangkan tuberkulum posterior yang menandai batas posterior otak depan di bagian ventral.

Bagian paling anterior dari otak depan adalah telensemefalon dengan rongga aslinya yang disebut *telocoel*. Batas anterior telensemefalon adalah lamina terminalis yang akan memisahkan belahan otak besar hemisfer melalui alur longitudinal. Sebenarnya, lamina terminalis mewakili area neuroporal yang menyatu anterior.

Rongganya mengembang ke lateral untuk menimbulkan ventrikel lateral kanan (pertama) dan kiri (kedua) dan belahan otak berdinding tebal di sekitarnya, sekitar 12 mm. Ventrikel ini dikompresi secara lateral. Pada katak hemisfer otak pertama kali dibedakan pada tahap 7 mm tetapi tidak pernah menjadi sangat besar. Kedua vesikel telensemefalik sebagian menyempit satu sama lain tetapi tetap terhubung melalui foramen tubular Monro, yang membuka menjadi ventrikel

ketiga yang umum (perantara). Ventrikel ketiga tumpang tindih dan menghubungkan *telocoel* dan *diocoel*.

Atap lobus serebral menebal sehingga menimbulkan korteks atau pallium dan lantai serta sisinya membentuk **corpora striata**. Lobus olfaktorius muncul sebagai sepasang evaginasi dari bagian anteroventral telensefalon. Selanjutnya, akan menyatu secara medial. Saraf yang berasal dari lobus olfaktorius menginervasi epitel hidung (nasal epithelium) atau *placode olfaktorius*. Ventrikel yang dikelilingi oleh lobus olfaktorius disebut *olfactocoel*.

### 33. Diensefalon

Derivatif struktural diensefalon ini termasuk komisura posterior, tepat di anterior batas dorsal mesensefalon. Di anterior ini adalah reses *epiphyseal*, dan pertumbuhan sakular dorso-medial yang dikenal sebagai **epifisis**. Hal ini terus tumbuh ke depan dan menjadi terpisah dari otak sebagai gumpalan kecil sel yang tetap berada pada orang dewasa sebagai bintik alis (*brow spot*), yang kemungkinan homolog dengan kelenjar pineal vertebrata yang lebih tinggi.

Di anterior epifisis, di atap diensefalon dan di antaranya serta pleksus koroid anterior adalah ganglion habenular dan komisura. Di depan ganglion kemudian 15 berkembang menjadi pertumbuhan dorsal yang dikenal sebagai **parafisis**. Pada lantai diensefalon anterior tuberkulum posterior terjadi evaginasi vesikuler yang disebut **infundibulum**. Sel-sel infundibulum akan bergabung dengan sel-sel yang diperkirakan dan berpigmen dari hipofisis yang tumbuh ke dalam untuk membentuk kelenjar pituitari pada orang dewasa. Selsel infundibulum memunculkan bagian posterior kelenjar pituitari dan mempertahankan sambungan batang infundibular berongga dengan otak. Hipofisis menjadi bagian anterior kelenjar pituitari. Selama metamorfosis lobus individu dari kelenjar pituitari berbeda, baik dalam morfologi kasar dan dalam struktur yang lebih halus. Antara infundibulum dan tuberkulum posterius adalah kantong sekunder dan mengarah ke posterior yang dikenal sebagai *reses mammillary*.

Penebalan yang jelas muncul di depan infundibulum yang disebut **kiasma optik**. Penekanan berkembang di anterior kiasma optik yang dikenal sebagai reses optik. Di depan reses optik tampak penebalan ventral yang disebut **torus transversal**.

Vesikel optik mulai berkembang sangat awal sebagai pertumbuhan ventro-lateral dari *diocoel*. Perluasan *diocoel* memberikan penipisan sementara dan sedikit dinding vesikel optik. Namun, saat vesikel ini bersentuhan dengan ektoderm kepala lateral, bagian vesikel yang bersentuhan itu mulai menebal dan kemudian berinvaginasi untuk membentuk mangkuk optik 2 lapis. Bagian mangkuk mata yang paling lateral dan tervaginasi akan menjadi retina, lapisan medial akan menjadi lapisan berpigmen mata, dan batang optik yang menghubungkan dan agak menyempit. Unsur saraf batang optik ini akan bergabung dalam kiasma optik yang berisi saluran serabut saraf optik dari kedua sisinya. Tangkai akan berkembang di sekitar alur atau bumbung yang terbalik (*fisura koroid*) yang berisi, di dalam alur, saraf aksesoris dan pembuluh darah yang memberi nutrisi retina.

#### 34. Mesensefalon (*Midbrain*)

Bagian otak ini sebagian besar berfungsi sebagai jalur saluran saraf antara prosencephalon anterior dan rhombencephalon posterior. Saluransaluran saraf ini ditemukan terutama dalam penebalan dinding dan lantai ventro-lateral di kedua sisi tuberkulum posterior yang dikenal sebagai *crura cerebri*.

Asal usul penebalan bagian dorsal dibagi lagi oleh celah median (*median fissure*) menjadi penebalan dorsolateral berpasangan yang dikenal sebagai lobus optik atau *corpora bigenina*. Lobus optik tidak mencapai perkembangan penuhnya sampai saat metamorfosis. Di anterior lobus ini adalah komisura posterior. Dari batas posterior mesencephalon dan lobus optikus dapat dilihat valvula cerebelli dan keempat pasang saraf kranial (*trochlear*) yang muncul dari dinding lateral dorso. Asal usul otak tengah/midbrain (*mesocoel*) menghubungkan *rhombocoel* (ventrikel keempat) dengan ventrikel ketiga, yang menjadi sempit dan dikenal sebagai saluran air Sylvius.

### 35. Rhombensefalon (*Hindbrain*)

Bagian otak rhombensefalon dengan jelas ditandai dari mesensefalon oleh penyempitan melintang di atap otak, di batas posterior penebalan dorsal. Bagian tersebut tidak terbagi dengan jelas. Tampak sedikit penebalan melintang di atap rhombensefalon yang sesuai dengan metensefalon dari bentuk yang lebih tinggi dan berkembang menjadi otak kecil (*cerebellum*). Di bagian posterior, atap menjadi lebar, tipis, dan vaskular, dan melipat ke dalam *rhombocoel* (ventrikel keempat) sebagai pleksus koroid posterior. Dinding ventral dan ventro-lateral rhombensefalon dikenal sebagai **medulla oblongata** yaitu tempat timbulnya saraf kranial V sampai X inklusif. Dinding menjadi menebal oleh serat yang membentuk banyak jalur dari otak dan korda (*cord*).

*Rhombocoel* atau rongga otak belakang dikenal sebagai ventrikel keempat yang berkomunikasi secara posterior dengan kanal sentral medula spinalis dan di anterior dengan saluran air Sylvius dari mesensefalon.

Tabung otak telah terbagi menjadi 5 gelembung otak. Prosensefalon berkembang menjadi telensefalon dan diensemefalon, mesensefalon tetap sedangkan rhombensefalon menjadi metensemefalon dan myelensemefalon. Metensemefalon dengan atap tebal sedangkan myelensemefalon dengan atap lebih tipis, korda spinalis telah menutup, sinus rhomboidalis menghilang. Setiap *lens placode* melakukan lipatan ke dalam (invaginasi) membentuk *lens vesicle* (lensa mata). Pada waktu yang bersamaan dinding *optic vesicle* juga mengadakan invaginasi membentuk *optic cup* (mangkuk mata). *Optic cup* tidak sempurna, ada bagian tanpa dinding disebut *chorioid fissure*. Di daerah myelensemefalon *auditory placode* membentuk otosis atau *otic vesicle*. *Optic placode* dan *auditory placode* berasal dari penebalan ektoderm kepala. **Otosis** akan berkembang menjadi **telinga bagian dalam**.

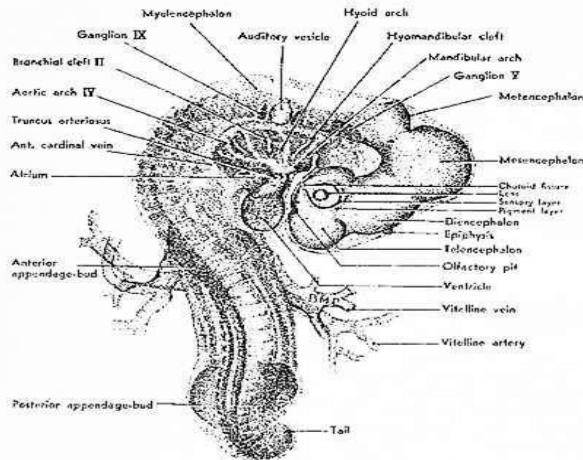
Telensemefalon dapat lebih jelas dibedakan daripada diensemefalon, telensemefalon mengalami proses penggembungan dan nantinya akan berkembang menjadi **hemisphere cerebri**. Atap diensemefalon mengalami evaginasi membentuk **epifisis**, sedangkan lantai diensemefalon mengalami evaginasi membentuk infundibulum yang

nantinya akan berkembang menjadi **hipofisa pars posterior**. Sebaliknya dengan ektoderm kepala di bagian telensefalon (di depan daerah bulbus) melakukan invaginasi lebih dalam membentuk **kantong Rathke** yang akan berkembang menjadi **hipofisa pars anterior**. Rongga tabung otak terdiri dari :

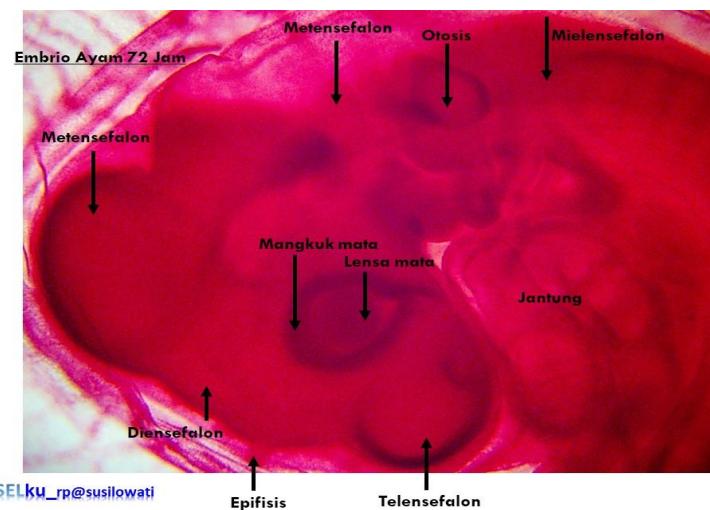
- a. Ventrikel lateral di bagian *hemisphere cerebri* berisi cairan otak.
- b. Ventrikel 3 pada diensemefalon
- c. *Aquaduct cerebri*, rongga dalam mesensemefalon.
- d. Ventrikel 4 pada rhombensemefalon, dan terakhir kanalis sentralis pada korda spinalis.

### 36. Ganglion Kranial Dan Pasangan Saraf Kranial

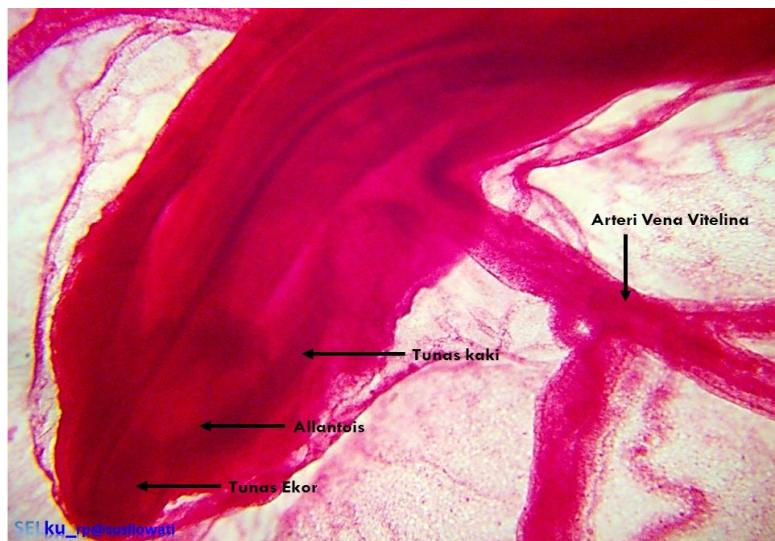
Di daerah ventrolateral metensemefalon terdapat ganglion V (ganglion semilunaris) dari nervus trigeminus yang mempersarafi mata dan bagian *branchial arch* yang I (bagian maksila dan mandibula). Dekat otosis terdapat gambaran gelap yang menunjukkan ganglion genikuli dari nervus VII (nervus fasialis) dan ganglion VIII (nervus akustikus) yang mempersarafi telinga bagian dalam. Di daerah posterior otosis terdapat ganglion IX yang terdiri dari bagian proksimal yaitu ganglion superior dan bagian distal yaitu ganglion petrosal dari nervus glosofaringeal yang mempersarafi bagian arkus branchialis 2 dan 3 (bagian lidah dan akar lidah). Pada bagian medula spinalis terdapat pula pasangan massa yaitu ganglion-ganglion spinalis dari saraf-saraf spinal.



**Gambar 5-20** Gambaran embrio ayam whole mount 72 Jam dengan 36 pasang somit. Pada tahap ini area opaka dan area pelusida tidak terlihat. Area ekstra embrionik bertambah besar. Garis primitif telah menghilang. Mesoderm, di depan jendolan Hensen, telah memunculkan 36 pasang somit. Otak telah berdiferensiasi menjadi telensefalon, mesensefalon, metensefalon dan myelensefalon



**Gambar 5-21** Fotomikroskopis embrio ayam masa inkubasi 72 jam (WM) memiliki 36 pasang somit. Otak sudah terbagi menjadi 5 bagian yaitu telensefalon, diensefalon, mesensefalon, metensefalon, dan mielensefalon. Terlihat otosis (vesikel otik) yang akan berkembang menjadi organ pendengaran (telinga bagian dalam), lensa mata (*lens vesicle*) dan mangkuk mata (*optic cup*)



**Gambar 5-22** Fotomikroskopis embrio ayam masa inkubasi 72 jam (WM), terlihat allantois di dekat tunas ekor (*tail bud*) yang berfungsi sebagai tempat pembuangan limbah. Juga terlihat percabangan arteri dan vena vitellina

### C. Organ Indera

*Olfactory pit*, merupakan invaginasi ektoderm kepala bagian telensefalon. *Optic stalk* tampak setelah dibentuknya *optic cup* dan *choroid fissure*. Invaginasi ektoderm kepala di depan *optic cup* akan membentuk lensa, dan setelah terlepasnya kantong lensa, ektoderm tersebut menutup kembali yang selanjutnya membentuk kornea. Disini tampak adanya induksi berantai yaitu *optic cup* merangsang proses pembentukan lensa dan selanjutnya lensa merangsang pembentukan kornea.

Pada daerah lateral myelensefalon dibentuk otosis, juga merupakan invaginasi ektoderm kepala yang akhirnya melepaskan diri membentuk suatu kantong. Selanjutnya terjadi evaginasi median akan membentuk duktus endolimfatikus, otosis beserta duktus endolimfatikus akan menjadi telinga bagian dalam.

#### 1. Perkembangan Mata

Mata adalah fotoreseptor yang merupakan turunan atau derivatif ektodermal. Perkembangan mata dimulai bahkan pada tahap gastrulasi. Namun, tanda pertama pembentukan mata muncul dengan perkembangan dua vesikel mata dari dinding lateral diensefalon embrio.

## 2. Pembentukan Mangkuk Mata (*Optic Cup*)

Mata berkembang sebagai dua hasil lateral prosensefalon yang disebut **vesikel mata** (*optic vesicle*). Rongga vesikel mata disebut *optocoel*. Sambungan vesikel mata dengan otak menjadi batang sempit seperti struktur yang disebut **batang mata** (*optic stalk*). Batang mata menjadi terhubung dengan sisi ventral vesikel mata dibandingkan terhubung di tengahnya. Vesikel mata memanjang ke luar dan mencapai ektoderm. Dinding vesikel mata di sebelah ektoderm secara bertahap diratakan dan kemudian berinvaginasi untuk membentuk mangkuk berdinding ganda yang disebut **mangkuk mata** (*optic cup*). Mangkuk mata terdiri dari dua lapisan. Lapisan dalam (diturunkan melalui invaginasi) memunculkan bagian saraf yang disebut **retina**.

Lapisan luar akan menjadi lapisan berpigmen hitam tipis untuk penyerapan cahaya. Awalnya bukaan mangkuk sangat besar. Selanjutnya mangkuk menekuk ke dalam dan menyatu, sehingga bukaannya menjadi berkurang. Pembukaan ini disebut **pupil**. Tepi mangkuk mata yang mengelilingi pupil menjadi **iris**. Kemudian, sejumlah besar pigmen disimpan di lapisan epitel luar iris. Sebuah alur atau bumbung memanjang di sepanjang sisi ventral dari mangkuk mata disebut **fisura koroid**. Ini meluas ke tengah **tangkai mata** (*optic stalk*) yang berfungsi untuk masuknya pembuluh darah dan sel mesenkim ke ruang posterior mata.

Retina mengembangkan membran pada permukaan paling dalam yang disebut membran pembatas internal (*internal limiting membrane*). Selsel terluar dari neurosensori retina berdiferensiasi menjadi sel batang (*rod*) dan kerucut (*cones*). Sel-sel bagian dalam retina berdiferensiasi menjadi **neuroblas** atau sel saraf.



**Gambar 5-23** Proses perkembangan mata embrio ayam masa inkubasi 48 jam (kiri), dan embrio ayam masa inkubasi 72 jam (jam). Pada perkembangan embrio ayam masa inkubasi 48 jam, lensa mata (*lens vesicle*) belum jelas, dibandingkan dengan embrio ayam masa inkubasi 72 jam

### 3. Perkembangan Lensa

Ketika permukaan lateral dari vesikel optik yang sedang tumbuh bersentuhan dengan ektoderm maka akan mengeluarkan semacam rangsangan, yang menyebabkan sel ektodermal memanjang, membentuk penebalan berbentuk cakram yang disebut **alas lensa** (*lens placode*) atau *lens rudiment*.

Struktur ini melengkung menjadi mangkuk dan akhirnya terpisah dari ektoderm. Tepi bebas dari peleburan mangkuk untuk membentuk vesikel lensa yang berongga bulat. Vesikel lensa berada di dalam rongga mangkuk mata.

Sel-sel bagian dalam vesikel lensa memanjang, menjadi kolumnar dan akhirnya berubah menjadi serat panjang. Intinya mengalami degenerasi dan sitoplasma menjadi keras dan transparan sehingga membias. Sel-sel ini disebut **serat lensa** (*lens fibre*).

Lapisan luar lensa tetap tidak berubah dan menjadi epitel lensa (*lens epithelium*). Persimpangan antara serat lensa dan epitel lensa merupakan titik tumbuh lensa. Di sini sel epitel terus menerus diubah menjadi serat lensa.

Saat lensa terbentuk, margin bebas dari mangkuk mata menyentuh tepi lensa dan tumbuh di depan membentuk iris. Dengan demikian lensa menggantung di bukaan mangkuk mata. Segera setelah perkembangan lensa, ektoderm di atasnya menutup dan berdiferensiasi menjadi **kornea** yang terus menerus berkembang dengan kulit. Transformasi kulit menjadi kornea disebabkan oleh

induksi yang timbul dari mangkuk mata dan lensa. Sel-sel ektodermal yang menutupi kornea membentuk membran transparan yang sangat tipis yang dikenal sebagai konjungtiva bola mata. Pada orang dewasa ini menjadi kontinu dengan lapisan dalam kelopak mata atas dan bawah. Ruang antara vesikel lensa dan epitel anterior kornea merupakan ruang anterior. Ini berisi bahan seluler yang disebut **badan vitreous anterior**.

Lapisan koroid dan sklerotik mata berkembang dari sel mesenkim yang terakumulasi di sekitar bola mata. Lapisan interior sel mesenkim menimbulkan kerja jaringan pembuluh darah yang mengelilingi lapisan retina berpigmen dan disebut **mantel koroid (choroid coat)**. Lapisan luar mesenkim membentuk kapsul berserat yang disebut selubung sklerotik (*sclerotic coat*) atau **sklera** di sekitar mata. Sklera memberikan perlindungan pada mata dan otot mata.

Ektoderm dari atas dan di bawah daerah plakoda yang asli tumbuh sebagai dua lipatan. Lipatan ini tumbuh di atas konjungtiva dan saling bersentuhan membentuk lapisan ektoderm yang lengkap. Pada tahap selanjutnya, lipatan ini terpisah di sepanjang garis fusi untuk membentuk kelopak mata atas dan bawah yang teratur.

#### 4. Perkembangan Saluran Pencernaan

Di bagian **faring** (usus depan) telah terbentuk 3 pasang **kantong faring** (*pharyngeal pouch*) merupakan evaginasi lateral, sedangkan sejajar kantong faring ke II terdapat evaginasi ventral membentuk kelenjar tiroid. Di depan *pharyngeal membrane* yang dibentuk oleh **stomodeum** terjadi pula lekukan ektoderm kepala (tepat di depan infundibulum yaitu evaginasi ventral lantai diensefalon) membentuk **kantong Rathke** yang nantinya akan menjadi hipofisa bagian anterior. Disamping itu, ektoderm kepala mengadakan pula invaginasi berhadapan dengan kantong faring, terbentuklah 3 pasang *branchial groove*. Entoderm kantong faring berlekatan dengan ektoderm *branchial groove* membentuk *closing plate*. Pada stadium ini pasangan *closing plate* yang I pecah, sehingga terjadi hubungan ke rongga faring disebut *branchial cleft*. *Branchial arch* akan dilalui oleh *aortic arch* untuk

membentuk dorsal aorta. Pecahnya *closing plate* I mengingatkan pada celah insang pada amphibia.

Dekat bagian AIP (di depan *mid gut*) faring juga mengadakan evaginasi ke ventral membentuk *liver bud* yaitu primordia hepar, sedangkan di bagian posterior, usus belakang mengadakan pula evaginasi ventral membentuk alantois, merupakan organ ekskresi selama embrio berkembang.

## 5. Sistem Respirasi

Stomodeum bersatu dengan faring karena pecahnya membran faring. Kantong Rathke menjadi lebih lurus dari sebelumnya. Ada penambahan 3 kantong faring terhadap 3 pasang yang telah ada sebelumnya. Dua pasang yang pertama, menunjukkan adanya sobekan pada sebagian *closing plate* (pertemuan antara entoderm dan ektoderm), sehingga terjadi komunikasi sementara antara kantong faring dengan *branchial groove*. Divertikulum tiroid merupakan kantong tertutup. Segaris dengan tiroid, tetapi di bagian ujung kaudal lantai faring, terdapat saluran ventral yaitu *laryngo tracheal groove*. Pada ujung kaudalnya dibentuk **bronkus** yang pertama dimana saluran udara yang lebih kecil dan kantong-kantong paru-paru akan terbentuk kemudian dengan cara percabangan lebih lanjut. Selanjutnya evaginasi ventral usus depan berikutnya membentuk primordia hepar kranial dan kaudal yang cabang-cabangnya berhubungan satu sama lain. **Esofagus** merupakan tabung yang pendek, terletak di sebelah belakang **primordia paru-paru**. Esofagus tersebut menuju ke arah lambung yang agak melebar, kemudian menyempit kembali menjadi **duodenum** yang pendek memberi kesempatan bertumbuhnya **primordia hepar**. Setelah duodenum usus depan membuka ke arah usus tengah (*midgut*), namun di atas dinding dorsal setinggi divertikulum hepar bagian kaudal, terjadi penebalan yang akan membentuk **primordia dorsal pankreas**.

Usus tengah terletak di atas kantong kunir yang terbuka ke arah usus depan (*fore gut*) dan usus belakang (*hind gut*) melalui intestinal portal. Usus belakang mengalami suatu divertikulum ventral membentuk kantong alantois yang agak melebar. Tepat di sebelah kaudal alantois ektoderm dan entoderm bersatu membentuk membran kloaka yang kalau pecah akan membentuk **anus**. Lebih kaudal lagi, usus belakang berakhir membentuk *tail gut* yang pendek.

## 6. Perkembangan Embrio Ayam 3-4 Hari

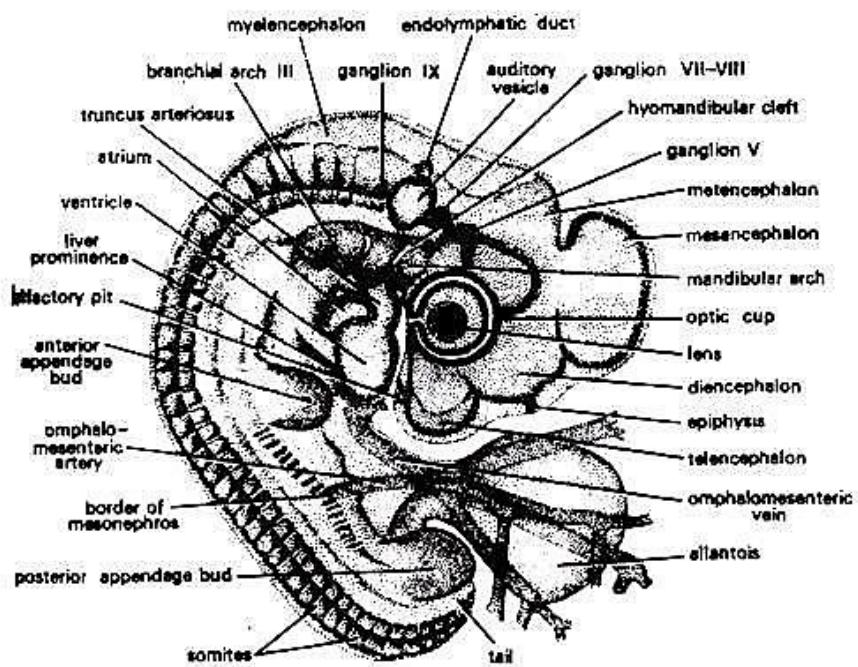
Anggota gerak: lebih viscera dari pada tahap sebelumnya; khususnya bagian proksimal dimana bentuk anterior dan posterior sejajar diperpanjang; jika tidak, sedikit perubahan bentuk. Baik tunas sayap maupun tunas memanjang sesuai dengan lebarnya. Lengkung visceral: proses maxillary diperpanjang lebih lanjut. Celah visceral pertama diwakili oleh garis putus-putus. Bagian dorsalnya adalah celah yang berbeda. Sedikit tonjolan terlihat di anterior celah dorsal. Bagian ekor dari lengkung kedua secara jelas terangkat di atas permukaan. Lengkung 3 dan 4 masih terbuka sepenuhnya. Celah visceral 3 adalah alur yang berbeda, dan celah 4 berkurang menjadi lubang oval sempit di ujung dorsalnya. Flexi: Bentuk dorsal dari otak belakang ke ekor adalah garis melengkung.

## 7. Perkembangan Embrio Ayam 4 Hari

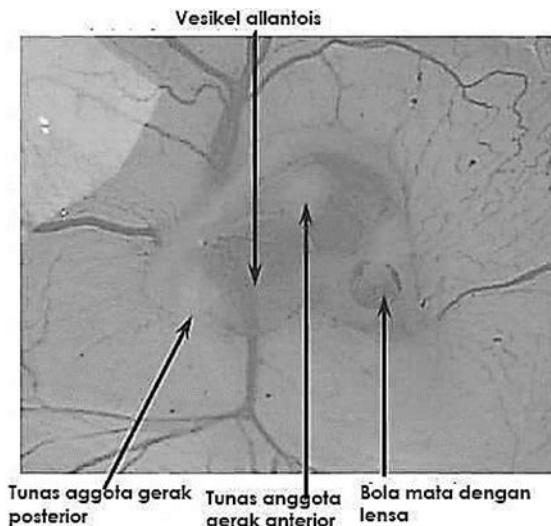
Gambar di bawah ini adalah embrio ayam 96 jam masa inkubasi (*whole mount*). Pada embrio ayam 96 jam masa inkubasi, seluruh tubuh telah diputar 90 derajat dan embrio terletak dengan sisi kiri di atas kuning telur. Pada akhir masa inkubasi embrio 96 jam, lipatan tubuh telah melemahkan embrio sehingga tetap menempel pada kuning telur hanya dengan tangkai yang ramping. Kantung kuning telur segera membungkus, memungkinkan embrio menjadi lurus pertama kali di bagian tengah dorsal dan kemudian cembung di dorsal. Peningkatan progresif pada fleksi kranial, servikal, dorsal, dan ekor mengakibatkan pembengkokan embrio pada dirinya sendiri sehingga sumbu viscera yang semula lurus menjadi berbentuk C dan kepala serta ekornya berdekatan. Mangkuk visceral menunjukkan lensa yang lebih

berkembang. Duktus endo-limfatik muncul dari vesikel pendengaran. Lengkung visceral menjadi sangat menebal. Tunas *appendage* membesar dengan cepat sesuai dengan ukuran tubuhnya dan memanjang. Jumlah somit meningkat menjadi 41 pasang. Allantois juga muncul. Arteri *omphalomesenteric* dan vena *omphalomesenteric* juga berkembang.

Jantung telah dibedakan menjadi **ventrikel** dan **atrium**. Mata telah berdiferensiasi menjadi mangkuk optik (*optic cup*) dan lensa dan vesikel optik juga telah berkembang cukup baik. Bagian kepala bengkok ke kanan karena fleksi kranial. Empat pasang celah insang telah dibedakan. Tunas ekor sangat berkembang dan telah memunculkan tangkai allantois dan ekor. Lipatan amniotik lateral, arteri vitellina dan vena *omphalomesentric* anterior telah berkembang. Di bagian tengah telah berkembang sepasang tunas anggota gerak depan dan di depan ekor sepasang tunas anggota gerak belakang telah berkembang, yang akan memunculkan lengan depan dan belakang. Lubang penciuman (*olfactory pit*), lengkung viseral, amnion, allantois dan rongga amniotik juga telah berkembang.



Gambar 5-24 Gambaran embrio ayam masa inkubasi 96 Jam atau 4 hari (WM)



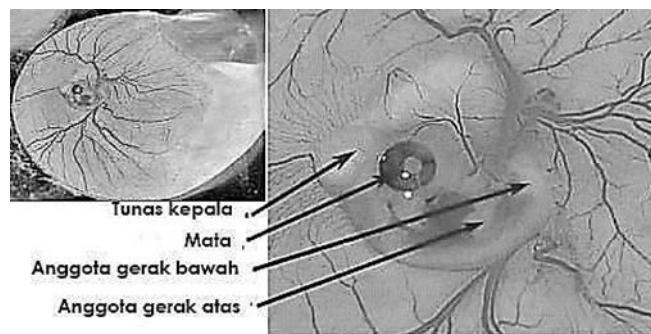
**Gambar 5-25** Foto embrio ayam masa inkubasi 4 hari. Terlihat perkembangan rongga amniotik yang akan mengelilingi embrio, berisi cairan amniotik, yang berfungsi untuk melindungi embrio dan memungkinkannya untuk dapat bergerak. Juga terlihat vesikel allantois yang berfungsi untuk resorpsi kalsium, respirasi dan penyimpanan limbah

## 8. Perkembangan Embrio Ayam 4-5 Hari

Anggota gerak: sangat diperpanjang. Bentuk lempeng jari membulat. Indikasi alur samar antara jari kedua dan ketiga. Batasan tiga jari pertama berbeda. Lengkung visceral: bentuk proses rahang atas garis putus-putus. Proses mandibula memanjang viscera ventral. Collar memiliki lengkung visceral II dan IV yang melebar dan ditumbuhki. Kedua lubang yang mewakili celah visceral ke-3 dan ke-4 tidak lagi terlihat.

## 9. Perkembangan Embrio Ayam 5 Hari

Anggota gerak: bentuk sudut lempeng jari di bagian jari pertama. Alur antara jari pertama, kedua, dan ketiga ditunjukkan. Jarak antar jari kaki berbeda pada permukaan luar dan dalam lempeng jari kaki. Jari kaki pertama menjorok ke atas bagian tibialis dengan sudut tumpul. Ujung jari kaki ketiga belum lancip. Lengkung visceral: bentuk proses rahang atas adalah garis melengkung dan putus-putus. Proses mandibula telah meluas ke bagian ventral dan tumbuh ke depan. Collar telah melebar dan melanjutkan pertumbuhannya ke belakang. Itu naik mencolok di atas permukaan. Paruh: viscera tidak bisa dikenali.



**Gambar 5-26** Foto perkembangan embrio ayam masa inkubasi 5 hari. Peningkatan ukuran embrio sesuai dengan umur perkembangan embrio, embrio memiliki bentuk huruf C, dimana kepala bergerak mendekati ekor. Perkembangan selanjutnya adalah perpanjangan anggota tubuh, diferensiasi jari-jari tungkai inferior

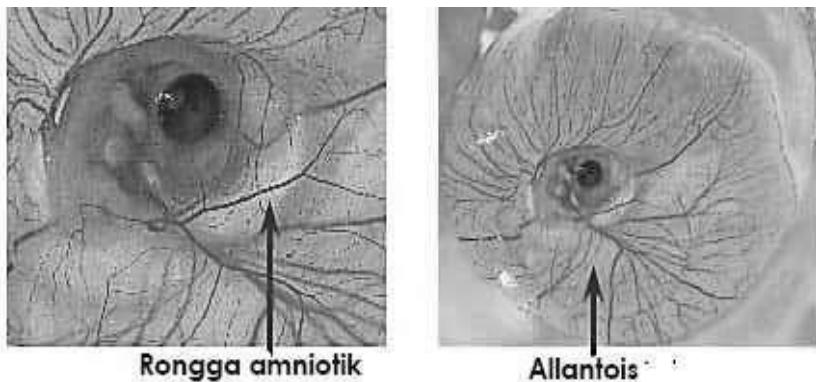
## 10. Perkembangan Embrio Ayam 5,5 Hari

Anggota gerak: jari kedua dan jari kaki ketiga lebih viscera dari yang lain, yang memberikan bentuk runcing pada lempeng jari dan jari kaki. Jari ketiga dan keempat berbeda. Tidak ada indikasi jari kaki ke-5. Lengkung visceral: penonjolan di atas permukaan. Proses mandibula telah memanjang dan berkembang ke depan. Proyek collar jelas di atas permukaan. Leher antara collar dan rahang bawah semakin mengencang. Paruh: hasil yang berbeda terlihat di profil.

## 11. Perkembangan Embrio Ayam 6 Hari

Anggota gerak: sayap ditekuk di siku. Jari kedua jelas lebih panjang dari yang lain. Alur dangkal di antara jari pertama, kedua, dan ketiga. Jari kaki kedua hingga keempat menonjol sebagai garis yang dipisahkan oleh alur yang berbeda, dan dengan indikasi jaring di antara keduanya. Rudimen dari jari ke 5 terlihat. Lengkung viseral: proses mandibula diperpanjang. Proses mandibula dan lengkung kedua menyatu secara luas. Meatus auditorius berbeda pada ujung dorsal yang melebur. Semua tonjolan diratakan. Leher antara collar dan proses mandibula telah memanjang. Collar terlihat mencolok. Paruh: lebih menonjol dari pada tahap sebelumnya. Belum ada calon gigi yang terlihat.

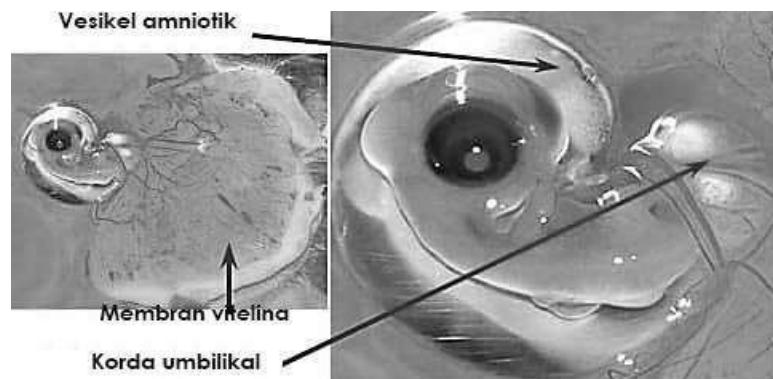
Anggota gerak: tiga segmen utama sayap dan kaki memiliki batas yang jelas. Sayap ditekuk di sendi siku. Kaki ditekuk di sendi lutut. Alur yang berbeda antara jari pertama dan kedua. Bentuk jaring di antara dua jari pertama dan di antara semua jari kaki adalah garis cekung yang agak melengkung. Lengkung viseral: proses mandibula mendekati paruh, tetapi celah antara keduanya masih mencolok. Pemanjangan leher antara *collar* dan rahang bawah sangat mencolok. *Collar* mulai rata. Calon bulu: dua baris dorsal ke kedua sisi sumsum tulang belakang di tingkat brakialis. Tiga baris setinggi kaki; agak tidak jelas di tingkat toraks. Papila skleral: satu di kedua sisi fisura koroid; terkadang tidak jelas tetapi tidak lebih dari dua. Calon gigi berbeda, sedikit menonjol. Paruh lebih terlihat dari pada tahap sebelumnya.



**Gambar 5-27** Foto perkembangan embrio ayam umur 6 hari masa inkubasi. Membran vitellina terus tumbuh dan berkembang, dan sekarang mengelilingi lebih dari setengah kuning telur. Fissura antara jari pertama, kedua dan ketiga pada ekstremitas atas, dan antara jari kedua dan ketiga pada ekstremitas bawah. Jari kedua lebih panjang dari yang lain

## 12. Perkembangan Embrio Ayam 7 Hari

Anggota gerak: indikasi jaring antara digit pertama dan kedua. Rudimen kaki ke-5 masih berbeda. Lengkung viseral: celah antara rahang bawah dan paruh menyempit menjadi takik kecil. *Collar* tidak mencolok atau tidak ada. Calon bulu: pada permukaan dorsal, terus menerus dari tingkat brakialis ke lumbo-sakral. Kira-kira 7 baris di tingkat lumbo-sakral. Papila bulu yang berbeda di paha. Satu baris tidak jelas di setiap sisi samping ekor. Papila skleral: biasanya 6; 4 di sisi dorsal dekat celah koroid, dan dua di sisi yang berlawanan.



**Gambar 5-28** Foto perkembangan embrio ayam umur 7 hari masa inkubasi. Leher menipis yang sekarang dengan jelas dapat terlihat memisahkan kepala dari badan. Pembentukan paruh. Otak secara bertahap memasuki wilayah cephalic: dimana otak semakin mengecil secara proporsional dengan perkembangan ukuran embrio

## 13. Perkembangan Embrio Ayam 7,5 Hari

Anggota gerak: semua jari tangan dan 4 jari kaki telah memanjang secara mencolok. Rudimen jari kelima telah menghilang. Jaring di antara jari tangan dan jari kaki tipis dan bentuknya cekung. Perbedaan ukuran jari dan jari kaki individu menjadi mencolok. Lengkung viseral: ujung anterior mandibula telah mencapai paruh. *Collar* telah hilang atau sedikit dikenali. Calon bulu: sebelas baris atau lebih pada permukaan dorsal setinggi kaki. Satu baris di ekor berbeda, baris kedua. Skapula dan calon bulu untuk terbang hampir tidak terlihat pada pencahayaan optimal atau tidak ada. Papila skleral: 6 sampai 8, dalam dua kelompok; satu kelompok di dorsal dan satu di sisi ventral. Lingkaran belum ditutup.

#### 14. Perkembangan Embrio Ayam 7,5 - 8 Hari

Anggota gerak: jaringan pada margin radial lengan dan digit pertama menjadi terlihat. Semua digit dan jari kaki diperpanjang. Lengkung viseral: mandibula dan leher memanjang secara mencolok. (dibandingkan bentuk ventral tubuh, dari bagian jantung, sepanjang leher sampai ujung mandibula). Calon bulu: skapula dan calon bulu untuk terbang tidak lebih maju dari tahap sebelumnya. Ekor: tiga baris berbeda, baris tengah jauh lebih besar dari yang lain. Papila skleral: 13, membentuk lingkaran hampir lengkap, dengan celah untuk satu papilla yang hilang di titik ventral dekat tengah rahang.

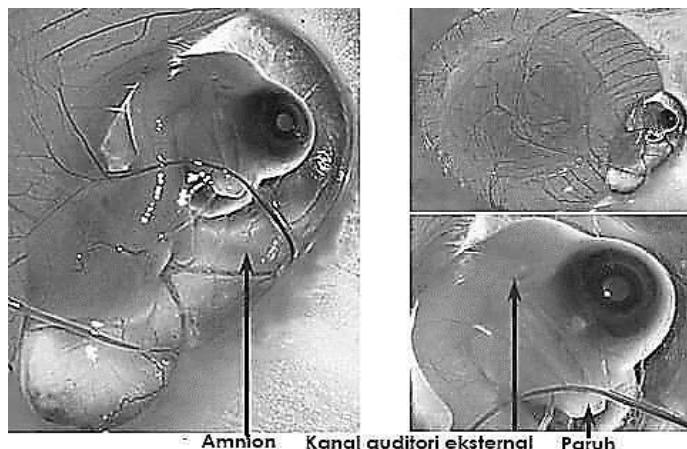
#### 15. Perkembangan Embrio Ayam 8 Hari

Anggota gerak: perbedaan pertumbuhan jari kedua dan jari kaki ketiga mencolok. Bentuk jaring antara jari tangan dan jari kaki cekung dan melengkung. Lengkung viseral: pemanjangan mandibula dan leher berlanjut. Calon bulu: pada skapula, di sisi ventral leher, di prokorakoid, dan tepi posterior (terbang) sayap, calon bulu terlihat dalam pencahayaan yang baik. Calon bulu di dekat garis tengah dorsal, terutama di tingkat lumbosakral, sedikit meluas di atas permukaan bila dilihat dalam profil.

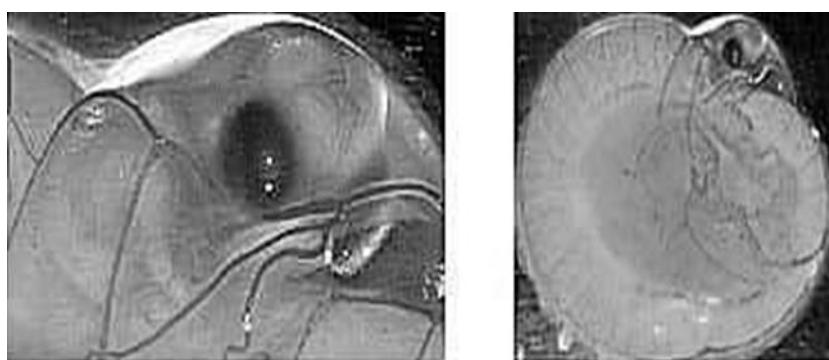
Calon bulu di paha menonjol dengan mencolok. Satu baris di sisi dalam setiap mata. Tidak ada di sekitar tali pusat. Papila skleral: 13 atau 14. Membran penglihatan memanjang di tengah antara tepi luar mata (kelopak mata) dan papila skleral.

Anggota gerak: jaring di antara jari tangan dan jari kaki menjadi tidak mencolok. Tonjolan sementara di sisi ulnar dari digit kedua mungkin merupakan sisa dari jaring. Falang di jari kaki berbeda. Lengkung viseral: pemanjangan paruh berlanjut. Bandingkan jarak antara mata dan ujung paruh, pada tahap ini dan tahap sebelumnya. Calon bulu: semuanya lebih mencolok. Garis tengah dorsal terlihat jelas dalam tampilan profil. Setidaknya 4 baris di sisi dalam setiap mata. Kemunculan baru calon bulu di dekat garis midventral, dekat ke tulang dada, dan meluas ke kedua sisi tali pusar. Membran penglihatan telah tumbuh secara mencolok dan mendekati papila skleral luar. Kelopak mata (di luar membran penglihatan) telah memanjang ke arah

paruh dan mulai menutupi bola mata. Lingkar kelopak mata menjadi ellips.



**Gambar 5-29** Foto perkembangan embrio ayam umur 8 hari masa inkubasi. Membran vitellina menutupi hampir seluruh kuning telur. Pigmentasi mata sudah terlihat. Bagian atas dan bawah paruh dapat dibedakan, begitu pula sayap dan kakinya. Leher meregang dan otak benar-benar menetap di rongga. Pembukaan saluran pendengaran eksternal



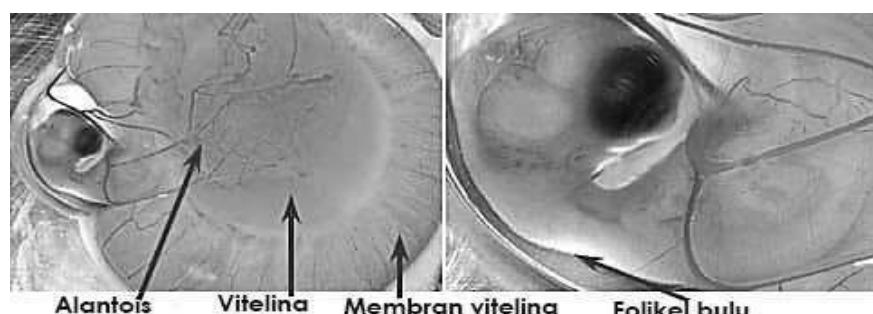
**Gambar 5-30** Foto perkembangan embrio ayam umur 9 hari masa inkubasi. Penampilan cakar. Tunas dari folikel bulu pertama. Pertumbuhan allantois dan peningkatan vaskularisasi vitellina

## 16. Perkembangan Embrio Ayam 10 Hari

Anggota gerak: segmen distal sayap dan anggota badan secara proporsional lebih panjang. Panjang jari kaki ketiga, dari ujung sampai tengah sendi metatarsal sekitar 5,4 - 0,3 mm. Primordia cakar yang meruncing hanya terlihat di ujung jari-jari kaki dan di jari, 1 sayap. Tonjolan di sisi posterior 2 sayap hilang. Lengkung visceral: primordium dari jengger tampak sebagai dorsal yang menonjol dengan tepi yang agak bergerigi di sepanjang garis tengah dorsal paruh. Alur

horizontal (alur labial) terlihat jelas di ujung rahang atas, tetapi hampir tidak terlihat di ujung rahang bawah. Lubang hidung menyempit. Panjang paruh dari sudut anterior lubang hidung sampai ujung paruh = 2,5 mm. Calon bulu: bulu terbang sangat mencolok; penutup hanya terlihat di jaringan sayap. Calon bulu sekarang menutupi bagian tibiofibular kaki. Setidaknya 9-10 baris calon bulu di antara kelopak mata atas dan garis tengah dorsal.

Traktus sternum menonjol, dengan 3-4 baris di setiap sisi garis tengah ventral jika dihitung di bagian anterior sternum, bergabung menjadi banyak baris di sekitar umbilikus. Kelopak mata: Membran kelopak mata menutupi papila skleral bagian anterior dan mendekati kornea. Tutup bawah telah tumbuh ke atas hingga setinggi kornea. Lingkar kelopak mata adalah elips yang menyempit dengan tepi ventralnya rata.



**Gambar 5-31** Foto perkembangan embrio ayam umur 10 hari masa inkubasi. Lubang hidung ada sebagai lubang sempit. Pertumbuhan kelopak mata. Perpanjangan bagian distal anggota badan (limb). Membran vitellina mengelilingi kuning telur sepenuhnya. Folikel bulu sekarang menutupi bagian inferior anggota badan. Penampilan calon gigi

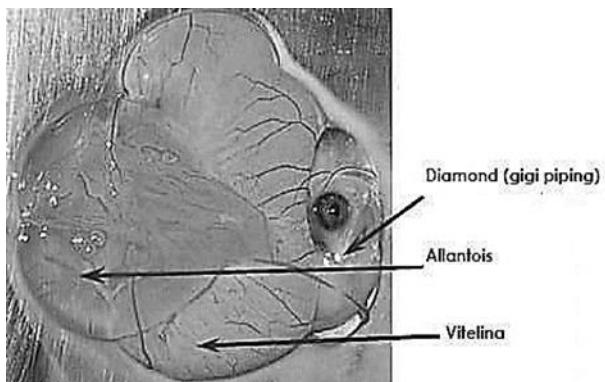
## 17. Perkembangan Embrio Ayam 11 Hari

Anggota gerak: cakar jari kaki diratakan ke samping dan melengkung ke perut; ujung dorsal adalah buram, menandakan onset kornifikasi. Ujung cakar di sayap juga buram. Bantalan pada permukaan plantar kaki terlihat mencolok. Tonjolan melintang di sepanjang permukaan superior metatarsus dan falang adalah indikasi pertama sisik. Panjang kaki ketiga = 7,4 0,3 mm. Lengkung viseral: alur labial pada mandibula sekarang ditandai dengan jelas. Jengger lebih menonjol dan bergerigi jelas. Panjang paruh dari sudut anterior lubang

hidung sampai ujung paruh = 3,0 mm. Calon bulu: jauh lebih banyak, dan di saluran paling depan (misalnya, sepanjang punggung dan di ekor) memanjang menjadi kerucut yang panjang dan banyak meruncing. Organ pendengaran eksternal hampir dikelilingi oleh calon bulu. Lingkar kelopak mata dibatasi oleh satu baris primordia yang terlihat saja; tidak ada di sisa tutup. Traktus sternum berisi 5-6 baris yang menonjol bila dihitung di ujung anterior sternum. Kelopak mata: membran penutup mata telah mencapai tepi anterior kornea. Tutup atas telah mencapai tepi punggung kornea. Lipatan bawah telah menutupi sepertiga hingga setengah dari kornea. Keliling kelopak mata sekarang membatasi area bikonveks yang sangat menyempit dan rata di bagian ventral.

## 18. Perkembangan Embrio Ayam Umur 12 Hari

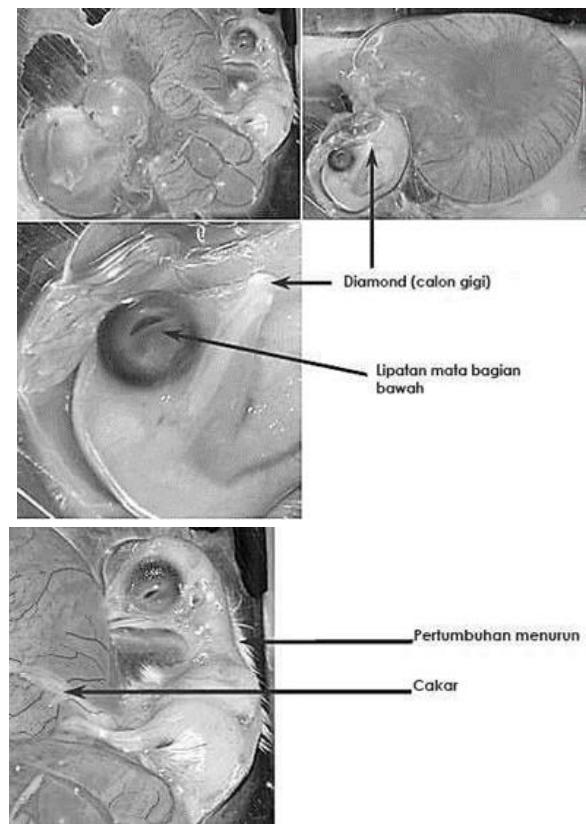
Anggota gerak: primordia sisik ditandai di seluruh permukaan kaki; permukaan punggung belum tumbuh ke permukaan yang tumpang tindih. Ujung jari kaki menunjukkan pusat kornifikasi ventral serta bagian dorsal yang lebih luas. Bantalan plantar utama bergerigi jika dilihat pada profil. Panjang kaki ketiga =  $8,4 \pm 0,3$  mm. Lengkung viseral: alur labial ditandai dengan alur yang dalam di ujung setiap rahang. Panjang paruh dari sudut anterior lubang hidung sampai ujung paruh = 3,1 mm. Calon bulu: menutupi jaring sayap menjadi kerucut. Organ pendengaran eksternal dikelilingi oleh calon bulu. Sternum dilapisi dengan calon bulu kecuali di sepanjang garis tengah. Kelopak mata atas ditutupi dengan calon bulu yang baru terbentuk; tutup bawah telanjang kecuali 2-3 baris di tepinya. Kelopak mata: kelopak mata bawah menutupi dua pertiga hingga tiga perempat kornea. Bukaan di antara kelopak mata jauh berkurang.



**Gambar 5-32** Foto perkembangan embrio ayam masa inkubasi 12 hari, terlihat folikel bulu mengelilingi meatus auditorius eksterna, dan menutupi kelopak mata atas. Kelopak mata bagian bawah menutupi dua pertiga, atau bahkan tiga perempat dari kornea

### 19. Perkembangan Embrio Ayam Umur 13 Hari

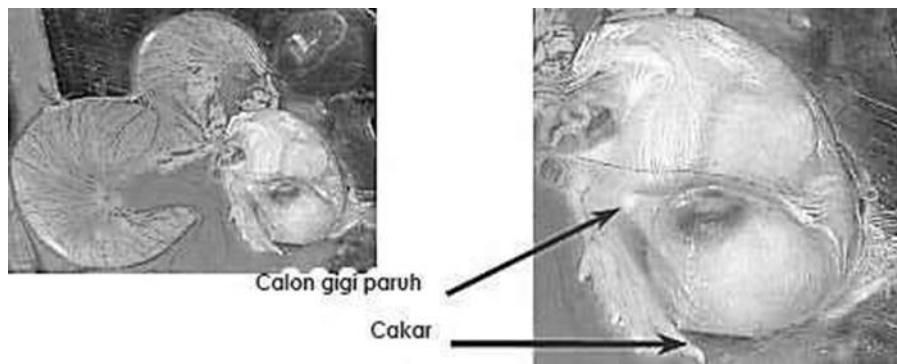
Anggota gerak: sisik yang tumpang tindih di permukaan kaki bagian atas. Bantalan utama dari falang ditutupi dengan papila; bantalan kecil halus. Panjang kaki ketiga =  $9,8 \pm 0,3$  mm. Lengkung viseral: rahang bawah (mandibula) dan rahang atas (maksila) terlihat buram ke belakang sejauh tepi proksimal calon paruh. Saluran pendengaran hanya dapat dilihat di tepi posterior bukaan luar dangkal. Panjang paruh dari sudut anterior lubang hidung sampai ujung paruh = 3,5 mm. Calon bulu: yang menyelubungi jaringan sayap adalah kerucut runcing yang sangat panjang. Perhatikan peningkatan besar panjang kuman bulu di bidang utama. Empat sampai 5 baris calon bulu di tepi kelopak mata bawah. Kelopak mata: bukaan di antara kelopak mata dikurangi menjadi bulan sabit tipis. Embrio ayam umur 14 hari sampai 18 hari didasarkan terutama pada panjang paruh dan panjang jari kaki ketiga (terpanjang), karena ciri-ciri eksternal lainnya telah kehilangan nilai diagnostiknya. Dari kedua kriteria tersebut, panjang paruh lebih baik, karena lebih mudah dan akurat diukur (dengan jangka sorong) dan menunjukkan variabilitas yang lebih kecil.



**Gambar 5-33** Foto perkembangan embrio ayam masa inkubasi 13 hari, terlihat allantois menyusut menjadi membran korioallantois, juga terlihat penampilan cakar dan sisik kaki

## 20. Perkembangan Embrio Ayam 14 Hari

Lengkung viseral: panjang paruh dari tepi anterior lubang hidung sampai ujung paruh = 4,0 mm. Saluran utama dari organ pendengaran tidak terlihat dalam pandangan lateral ruang eksternalnya. Anggota gerak: panjang jari kaki ketiga =  $12,7 \pm 0,5$  mm. Sisik tumpang tindih pada permukaan kaki inferior dan superior. Lokus kornifikasi dorsal dan ventral meluas ke dasar bagian kuku jari kaki yang terbuka. Seluruh permukaan plantar falang ditutupi dengan papila yang berkembang dengan baik.



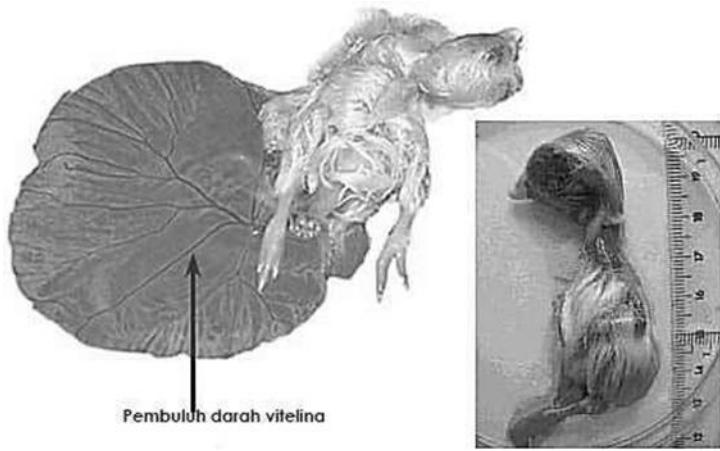
**Gambar 5-34** Foto perkembangan embrio ayam umur 14 hari masa inkubasi. Bulu ayam menutupi hampir seluruh tubuh dan tumbuh dengan cepat

## 21. Perkembangan Embrio Ayam Umur 15 Hari

Paruh: panjang dari sudut anterior lubang hidung sampai ujung atas Jari kaki ketiga: panjang =  $14.9 \pm 0.8$  mm. Alur labial direduksi menjadi kerak butiran putih di tepi setiap rahang; rahang bawah mungkin terkelupas sebagian atau seluruhnya.

## 22. Perkembangan Embrio Ayam 16 Hari

Jari kaki ketiga: panjang = 18,6 dan 0,8 mm. Paruh: panjang dari sudut anterior lubang hidung sampai ujung atas. Penutup peridermal paruh yang tembus cahaya mulai terkelupas di bagian proksimal. Jari kaki ketiga: panjang =  $20,4 \pm 0,8$  mm. Paruh: panjang tidak lagi menjadi diagnosis; faktanya, paruh biasanya lebih pendek dari pada umur embrio sebelumnya, karena hilangnya (dengan mengelupas) seluruh penutup peridermalnya. Akibatnya, paruhnya sekarang mengkilat dan tumpul di ujungnya. Kedua alur labial telah menghilang bersama periderm.



**Gambar 5-35** Foto perkembangan embrio ayam umur 15 hari masa inkubasi. Sedikit perubahan morfologis: anak ayam dan bulu bawah terus tumbuh. Vitellina mempercepat penyusutan. Hilangnya putih telur secara progresif. Kepala bergerak menuju posisi pipping, di bawah sayap kanan

### 23. Perkembangan Embrio Ayam 17 Hari

Jari kaki ketiga: Panjang rata-rata pada dasarnya tidak berubah, kecuali pada jenis dengan masa inkubasi yang lebih lama (21 hari) dan tubuh yang lebih berat. Untuk yang terakhir ini, panjang jari kaki ketiga = 21,4 dan 0,8 mm. Membran ekstraembrionik: Kantung kuning telur setengah tertutup di rongga tubuh. Membran korio alantois mengandung lebih sedikit darah dan lengket pada embrio hidup.

### 24. Perkembangan Embrio Ayam 20-21 Hari

Ayam menetas.

## PRAKTIKUM PERKEMBANGAN EMBRIO AYAM

### SEDIAAN: EMBRIO AYAM MASA INKUBASI 13 JAM (WM)

Pewarnaan: HE

Dengan menggunakan pembesaran 40x, terlihat bagian-bagian yang telah terbentuk pada embrio ayam masa inkubasi 13 jam, antara lain: Jendolan Hensen, *primitive pit*, *primitive streak*, *primitive groove*, area opaca, dan area pelusida.

Sebutkan bagian yang ditunjuk:

A. \_\_\_\_\_

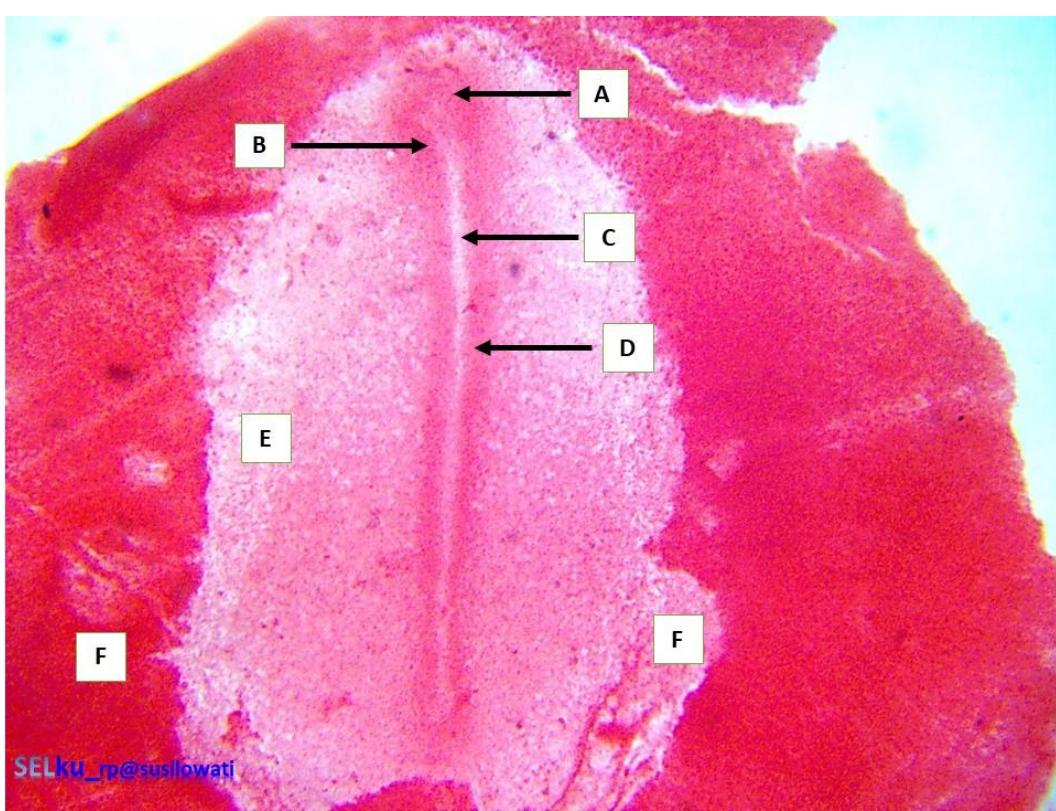
B. \_\_\_\_\_

C. \_\_\_\_\_

D. \_\_\_\_\_

E. \_\_\_\_\_

F. \_\_\_\_\_



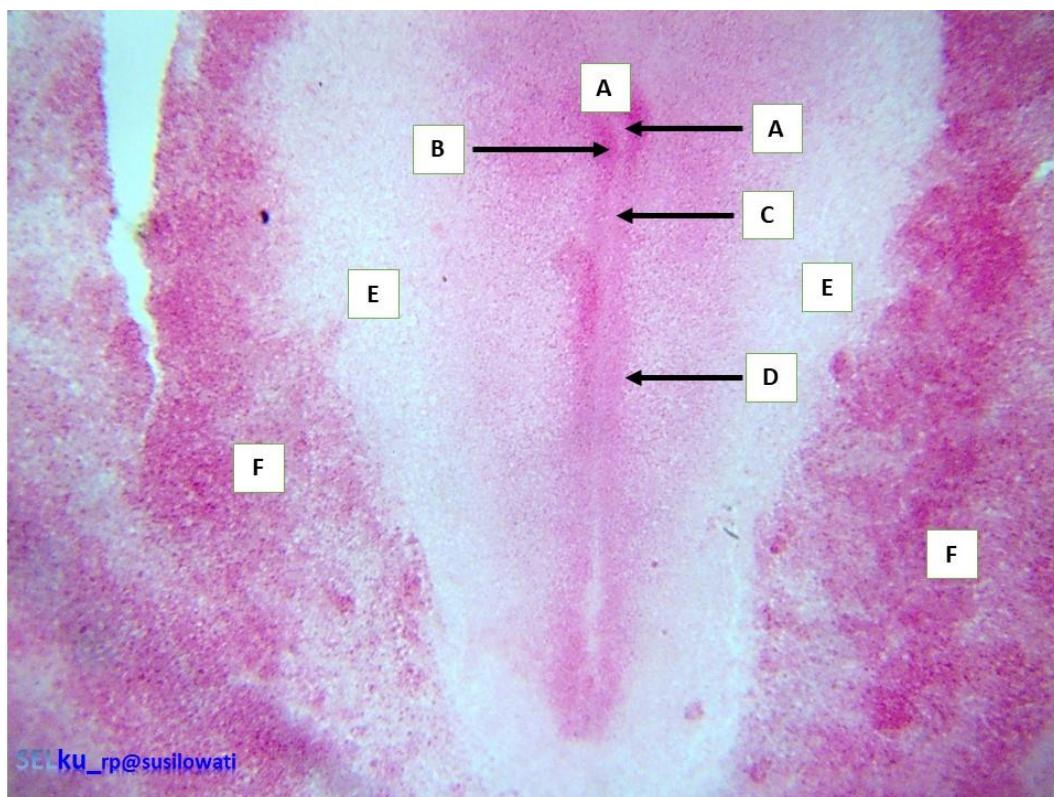
## SEDIAAN: EMBRIO AYAM MASA INKUBASI 18 JAM (WM)

Pewarnaan: HE

Dengan menggunakan pembesaran 40x, terlihat bagian-bagian yang telah terbentuk pada embrio ayam masa inkubasi 18 jam, antara lain: Jendolan Hensen, *primitive pit*, *primitive streak*, *primitive groove, area opaca, dan area pelusida.*

Sebutkan bagian yang ditunjuk:

- A. \_\_\_\_\_
- B. \_\_\_\_\_
- C. \_\_\_\_\_
- D. \_\_\_\_\_
- E. \_\_\_\_\_
- F. \_\_\_\_\_



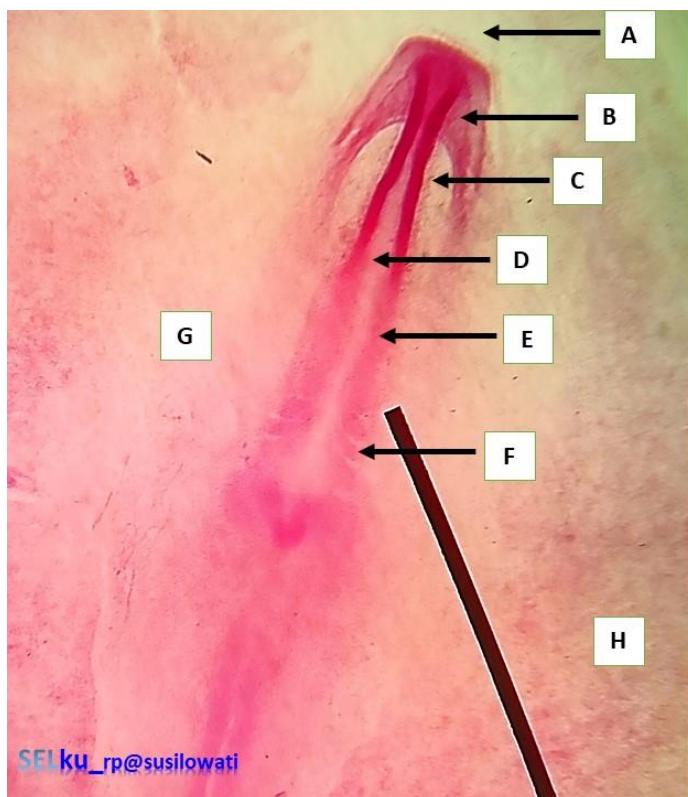
## SEDIAAN: EMBRIO AYAM MASA INKUBASI 21JAM (WM)

Pewarnaan: HE

Dengan menggunakan pembesaran 40x, terlihat bagian-bagian yang telah terbentuk pada embrio ayam masa inkubasi 21 jam, antara lain: Proamnion, bumbung neuralis (*neural groove*), ektoderm kepala, AIP (*anterior intestinal portal*), mesoderm tak bersegmen, mesoderm bersegmen (somit), area pelusida, dan pulau-pulau darah (*blood island*).

Sebutkan bagian yang ditunjuk:

- A. \_\_\_\_\_
- B. \_\_\_\_\_
- C. \_\_\_\_\_
- D. \_\_\_\_\_
- E. \_\_\_\_\_
- F. \_\_\_\_\_
- G. \_\_\_\_\_
- H. \_\_\_\_\_



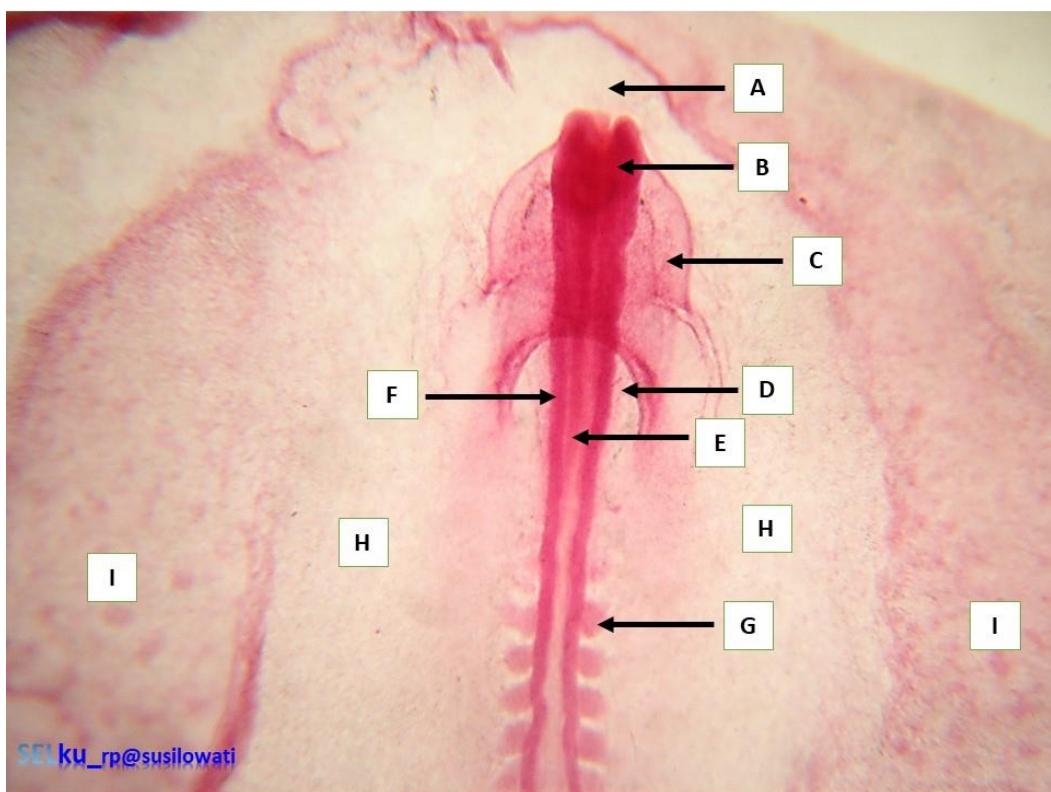
## SEDIAAN: EMBRIO AYAM MASA INKUBASI 24 JAM (WM)

Pewarnaan: HE

Dengan menggunakan pembesaran 40x, terlihat bagian-bagian yang telah terbentuk pada embrio ayam masa inkubasi 24 jam, antara lain: Proamnion, notokord, bumbung neuralis (*neural groove*), ektoderm kepala, AIP (*anterior intestinal portal*), mesoderm tak bersegmen, mesoderm bersegmen (somit), area pelusida, dan pulau-pulau darah (*blood island*).

Sebutkan bagian yang ditunjuk:

- A. \_\_\_\_\_
- B. \_\_\_\_\_
- C. \_\_\_\_\_
- D. \_\_\_\_\_
- E. \_\_\_\_\_
- F. \_\_\_\_\_
- G. \_\_\_\_\_
- H. \_\_\_\_\_
- I. \_\_\_\_\_



SEIku\_rp@susilowati

## SEDIAAN: EMBRIO AYAM MASA INKUBASI 36 JAM (WM)

Pewarnaan: HE

Dengan menggunakan pembesaran 40x, terlihat bagian-bagian yang telah terbentuk pada embrio ayam masa inkubasi 36 jam, antara lain: terbentuk 3 bagian otak, yaitu prosensefalon, mesensefalon, dan rhombensefalon. Selain itu sudah terbentuk calon jantung, jumlah somit yang semakin panjang, dan pleksus vitelina yang merupakan perkembangan dari arteri vena vitelina.

Sebutkan bagian yang ditunjuk:

A. \_\_\_\_\_

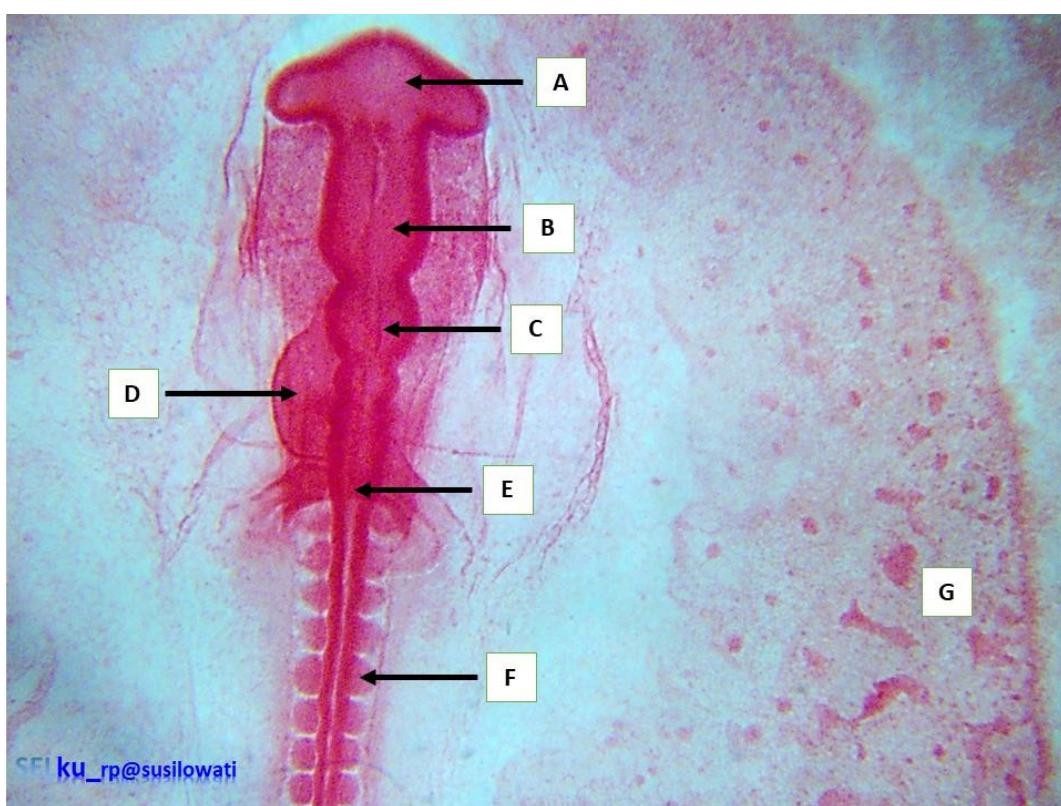
B. \_\_\_\_\_

C. \_\_\_\_\_

D. \_\_\_\_\_

E. \_\_\_\_\_

F. \_\_\_\_\_



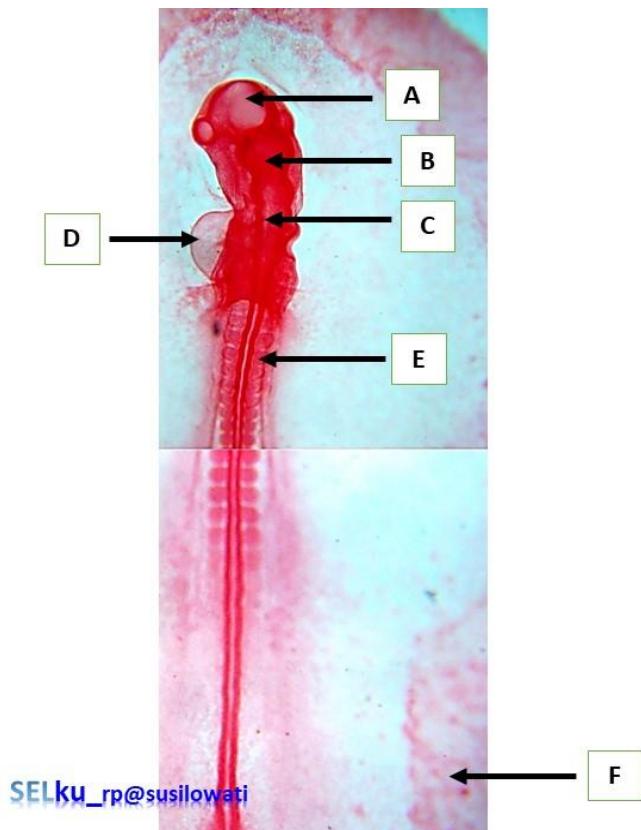
## **SEDIAAN: EMBRIO AYAM MASA INKUBASI 38 JAM (WM)**

Pewarnaan: HE

Dengan menggunakan pembesaran 40x, terlihat bagian-bagian yang telah terbentuk pada embrio ayam masa inkubasi 38 jam, antara lain: terbentuk 5 bagian otak, yaitu prosensefalon (telensefalon dan diensemefalon), mesensemefalon, dan rhombensemefalon (metensemefalon dan mielensemefalon). Selain itu sudah terbentuk calon jantung, otosis (*otic vesicle*) yang nantinya akan berkembang menjadi calon pendengaran (telinga bagian dalam), jumlah somit yang semakin panjang, dan pleksus vitelina yang merupakan perkembangan dari arteri vena vitelina.

Sebutkan bagian yang ditunjuk:

- A. \_\_\_\_\_
- B. \_\_\_\_\_
- C. \_\_\_\_\_
- D. \_\_\_\_\_
- E. \_\_\_\_\_
- F. \_\_\_\_\_



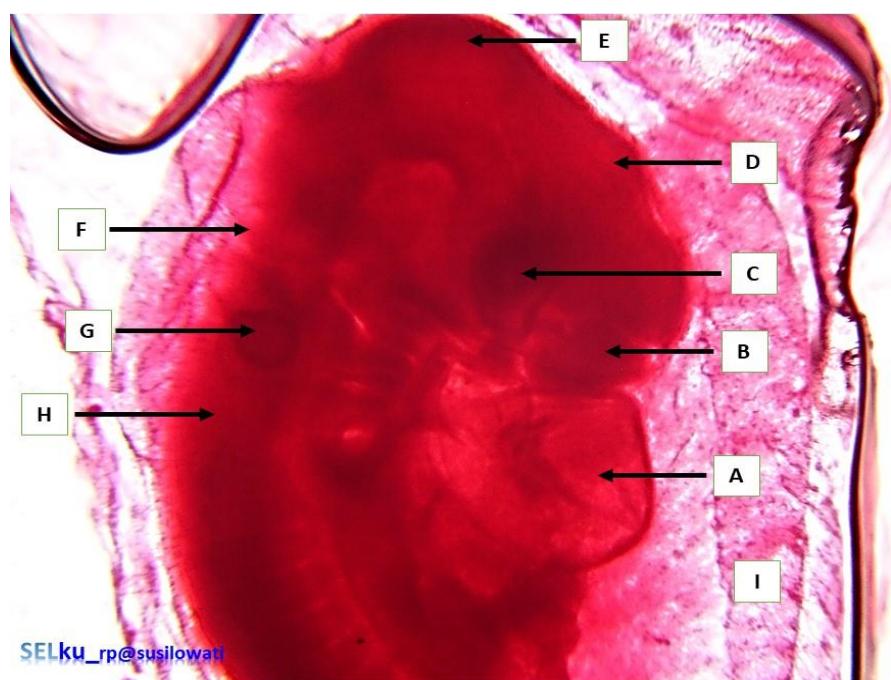
## SEDIAAN: EMBRIO AYAM MASA INKUBASI 48JAM (WM)

Pewarnaan: HE

Dengan menggunakan pembesaran 40x, terlihat bagian-bagian yang telah terbentuk pada embrio ayam masa inkubasi 48 jam, antara lain: terbentuk 5 bagian otak, yaitu prosensefalon (telensefalon dan diensemefalon), mesensemefalon, dan rhombensemefalon (metensemefalon dan mielensemefalon). Selain itu sudah terbentuk jantung, otosis (*otic vesicle*) yang nantinya akan berkembang menjadi calon pendengaran (telinga bagian dalam), jumlah somit yang semakin panjang, dan pembuluh darah arteri vena vitelina.

Sebutkan bagian yang ditunjuk:

- A. \_\_\_\_\_
- B. \_\_\_\_\_
- C. \_\_\_\_\_
- D. \_\_\_\_\_
- E. \_\_\_\_\_
- F. \_\_\_\_\_
- G. \_\_\_\_\_
- H. \_\_\_\_\_
- I. \_\_\_\_\_



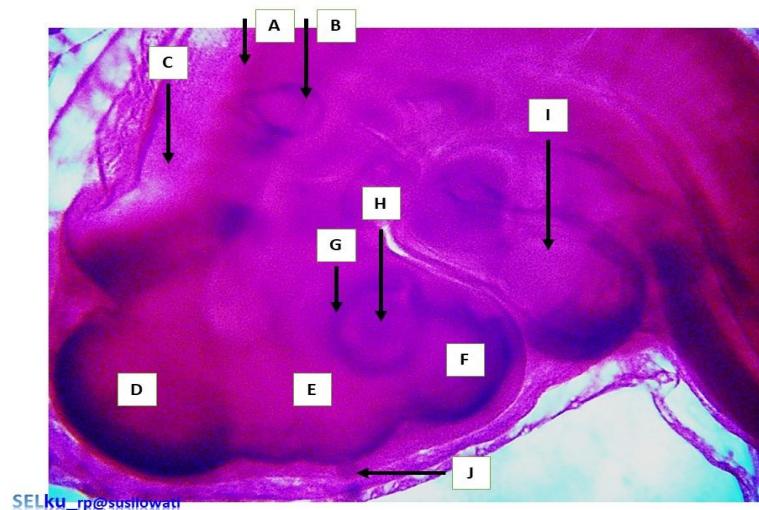
## SEDIAAN: EMBRIO AYAM MASA INKUBASI 72 JAM (WM)

Pewarnaan: HE

Dengan menggunakan pembesaran 40x, terlihat bagian-bagian yang telah terbentuk pada embrio ayam masa inkubasi 72 jam, antara lain: terbentuk 5 bagian otak, yaitu prosensefalon (telensefalon dan diensemefalon), mesensemefalon, dan rhombensemefalon (metensemefalon dan mielensemefalon). Selain itu sudah terbentuk jantung, otosis (*otic vesicle*) yang nantinya akan berkembang menjadi calon pendengaran (telinga bagian dalam), lensa mata dan mangkuk mata, epifisis yang nantinya akan berkembang menjadi organ penciuman (hidung), dan pembuluh darah arteri vena vitelina.

Sebutkan bagian yang ditunjuk:

- A. \_\_\_\_\_
- B. \_\_\_\_\_
- C. \_\_\_\_\_
- D. \_\_\_\_\_
- E. \_\_\_\_\_
- F. \_\_\_\_\_
- G. \_\_\_\_\_
- H. \_\_\_\_\_
- I. \_\_\_\_\_
- J. \_\_\_\_\_



## SEDIAAN: EMBRIO AYAM MASA INKUBASI 72 JAM (WM)

Pewarnaan: HE

Dengan menggunakan pembesaran 40x, terlihat bagian-bagian yang telah terbentuk pada embrio ayam masa inkubasi 72 jam, antara lain: terbentuk 5 bagian otak, yaitu prosensefalon (telensefalon dan diensemefalon), mesensemefalon, dan rhombensemefalon (metensemefalon dan mielensemefalon). Selain itu sudah terbentuk jantung, otosis (*otic vesicle*) yang nantinya akan berkembang menjadi calon pendengaran (telinga bagian dalam), lensa mata dan mangkuk mata, epifisis yang nantinya akan berkembang menjadi organ penciuman (hidung), dan pembuluh darah arteri vena vitelina.

Sebutkan bagian yang ditunjuk:

- A. \_\_\_\_\_
- B. \_\_\_\_\_
- C. \_\_\_\_\_
- D. \_\_\_\_\_



## REFERENSI

- Abramson AS. Malathion, deletion of certain uses and direction for use. *Federal Register*, 1991; 56: 11419-11420.
- Altabef M, Clarke JDW, Tickle C: Dorso-ventral ectodermal compartments and origin of apical ectodermal ridge in developing chick limb. *Development*, 1997;124: 4547-4556.
- Arnold JM. An analysis of cleavage furrow formation in the egg of *Loligo pealii*. *Biol Bull*. 1968; 135: 413.
- Arnold JM. Cleavage furrow formation in a telolecithal egg (*Loligo pealii*). I. Filaments in early furrow formation. *J Cell Biol*. 1969; 41: 894-904.
- Arnold JM. Cleavage furrow formation in a telolecithal egg (*Loligo pealii*). II. Direct evidence for a contraction of the cleavage furrow. *J Exp Zool*. 1971; 176: 73-
- 86.
- Arnold JM, Williams-Arnold LD. Cortical-nuclear interactions in cephalopod development: cytochalasin B effects on the informational pattern in the cell surface. *J Embryol Exp Morph*. 1974; 31: 1-5.
- Baker EL, Zack Jr, Miles M, Alderman JW, Warren L, Doblin M, Miller RD, Teeters WR. Epidemic malathion poisoning in Pakistan malaria workers. *Lancet*, 1978; 1: 31.
- Bekhtina VG. The early stages of cleavage in the chick embryo. *Arkiv Anat Gistol Embryol*. 1960; 38: 77-85.
- Babakr MSh, Kalthum KAA, Maulood A. Study of stages of chick embryo development. Biology Departement, University of Salahaddin-Erbil; 2011.
- Balinsky BI. An Introduction to Embryology. 4thEd. London: BW Saunders Company; 1995.
- Bellairs R, Osmond M. The Atlas of Chick Development. 2 nd Ed. Oxford: Elsevier Academic Press; 2005.
- Bellairs R, Lorenz F, Dunlap T. Cleavage in the chick embryo. *J Embryol Exp Morph*. 1978; 43: 55-69.
- Bellairs R. The conversion of yolk into cytoplasm in the chick blastoderm as shown by electron microscopy. *J Embryol Exp Morph*. 1958; 6: 149-161.

- Bellairs R, Bancroft M. Midbodies and beaded threads. Am J Anat. 1975; 143: 393398.
- Bellairs R, Harkness M, Harkness RD. The vitelline membrane of the hen's egg: a chemical and electron microscopical Study. J Ultrastruct Res. 1963; 8: 339-359.
- Bellairs R, Breathnach AS, Gross M. Freeze-fracture replication of junctional complexes in unincubated and incubated chick embryos. Cell Tiss Res. 1975; 162: 235-252.
- Bevelander G, Ramaley JA. Dasar-Dasar Histologi. Edisi Kedelapan. Terjemahan Gunarso W. Jakarta: Penerbit Erlangga; 1988.
- Bluemink JG. The first cleavage of the amphibian egg. An electron microscope study of the onset of cytokinesis in the egg of *Ambystoma mexicanum*. J Ultrastruct Res. 1970; 32: 142-166.
- Bluemink JG. Effects of cytochalasin B on surface contractility and cell junction formation during egg cleavage in *Xenopus laevis*. Cytobiologie, 1973; 3: 176.
- Bluemink JG, Delaat SW. New membrane formation during cytokinesis in normal and cytochalasin B treated eggs of *Xenopus laevis*. I. Electron microscope observations. J Cell Biol. 1973; 59: 89-108.
- Bryne PJ, Bacon JR, Toensmeyer UC. Pesticide residue concerns and shopping location. Agribusiness, 1994; 10:41-50.
- Burkitt HG, Young B, Health JW. Buku Ajar & Atlas Wheater Histologi Fungsional. Terjemahan Tambajong J. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 1995.
- Burnside B. Microtubules and microfilaments in newt neurulation. Devi Biol. 1971; 26: 416-441.
- Carlson BM. Pattens Foundations of Embryology. 4<sup>th</sup> Ed. New York: McGraw-Hill Book Company; 1981.
- Chaineau E, et al. Embryotoxic effects of sodium arsenite and sodium arsenate on mouse embryos in culture. Teratology, 1990; 41(1): 105-12.
- Chawla RS, Hothi SD, Singh B, Grewal GS. Malathion poisoning in poultry. Pesticides, 1977; 11: 30.
- Crary DD. Modified benzyl alcohol clearing of alizarinstained specimens without loss of flexibility. Stain Technol, 1962; 37: 124-5.

- Creuzet S, Couly G, Le Douarin NM. Patterning the neural crest derivatives during development of the vertebrate head: insights from avian studies. *J Anat.* 2005; 207: 447-459.
- Curts H, Barnes NS. Biology Part 3 Biology of population. 5<sup>th</sup> Ed. New York: Worth Pub Company; 1989.
- Daniel V, Laufer ED, Clandio DS. A role for hairy 1 in regulating chick limb bud growth. *Development Biol.* 2003; 262: 94-106.
- Davey MG, Tickle C. The chicken as a model for embryonic development. *Cytogenet Genome Res.* 2007; 117: 231-239.
- Edward JG. Scientific Considerations in Monitoring and Evaluating Toxicological Research. New York: Hemisphere Publishing Corporation, 1981; 221 pp.
- Emanuelsson H. Cell multiplication in the chick blastoderm up to the time of laying. *Expl Cell Res.* 1965; 39: 386-399.
- Emanuelsson H, Von Mecklenburg C. Localization of extra-nuclear DNA in early chick blastoderm cells with electron microscopical autoradiography. *Ark Zool.* 1968; 22 (Sec. 2): 155-162.
- Eyal-Giladi H, Kochav S. From cleavage to primitive streak formation; a complementary Normal table and a new look at the first stages of the development of the chick. I. General morphology. *Dev Biol.* 1975; 49: 321-337.
- Farage EM. Toxicology of aldicarb in young chicks. *Neurotoxicol and Toxicol.* 1989; 10: 549-554.
- Farage EM. Effects of in ovo injection of carbamates on chick embryo hatchability, esterase enzyme activity and locomotion of chicks. *J Appl Toxicol.* 1990; 10:197-201.
- Farage EM, Blaker WD. Chick embryo exposure to carbamates alters neurochemical parameters and behavior. *J Appl Toxicol.* 1992; 12: 421-426.
- Fontaine-Perus J. Mouse-chick chimera: an experimental system for study of somite development. *Curr Top Dev Biol.* 2000; 48: 269-300.
- Fontaine-Perus J, Cheraud Y. Mouse-chick neural chimeras. *Int J Dev Biol.* 2005; 49: 349-353.
- Fraser S, Keynes R, Lumsden A. Segmentation in the chick embryo hindbrain is defined by cell lineage restrictions. *Nature,* 1990; 344: 431-435.

- Funahashi J, Okafuji T, Ohuchi H, Noji S, Tanaka H, Nakamura H. Role of Pax-5 in the regulation of a mid-hindbrain organizer's activity. *Dev Growth Differ.* 1999; 41: 59-72.
- Gildersleve RP, Williams C. Why in ovo injection is used. *World Polt.* 1997; 28-32.
- Gilula NB. Junctions between cells. In *Cell Communication* (ed. Rody P. Cox). New York: Wiley; 1974.
- Gipson I. Electron microscopy of the early cleavage furrows in the chick blastodisc. *J Ultrastruct Res.* 1974; 49, 331-347.
- Guo Q, Loomis C, Joyner AL. Fate map of mouse ventral limb ectoderm and the apical ectodermal ridge. *Dev Biol.* 2003; 264: 166-178.
- Hall BK. Specificity in the differentiation and morphogenesis of neural crest-derived scleralossicles and epithelial scleral papillaein the eye of embryonic chick. *J Embr Exp Morph.* 1981; 66: 75-90.
- Hamburger V, Hamilton HL. A series of normal stages in the development of the chick embryo. *J Morph.* 1951; 88: 49-92; reprint *Dev Dyn.* 1992; 195: 231-72.
- Hamburger V, Hamilton, HL. A series of normal stages of development of the chick embryo. *J Morph.* 1951; 88:49-62.
- Hatada Y, Stern CD. A fate map of the epiblast of the early chick embryo. *Development*, 1994; 120: 2879- 2889.
- Haviz M. Konsep dasar embriologi: tinjauan teoretis. *Jurnal Sainstek.* 2014;VI(1):96-101.
- Ho DH. Morphological and physiological developmental consequences of parental effects in the chicken embryo (*Gallus gallus domesticus*) and the zebrafish larva (*Danio rerio*). Thesis. Texas: University of North Texas; 2008.
- Hsueh YM, et al. Low serum carotene level and increased risk of ischemic heart disease related to longterm arsenic exposure. *Atherosclerosis*, 1998; 141(2): 249-57.
- lagharia ZA, Samob A, Palhc ZA, Lasharid KH, Mastoie GM. Effect of arsenic on early chick development. *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research (IJSBAR)*, 2014; 15(2): 140-144.

- Ioannis NM, Vassilia PK, Anastassion K, Liana A. Teratogenic effects of a mixture of scopolamine and hyoscyamine in chick embryos. *Vet HumanToxicol.* 1993; 35 :434-435.
- Jacobson AG, Mittenthal JE. Biomechanics of active movement and deformation of cells. Springer-Verlag Heidelberg; 1989.
- Jensen C. Ultrastructural changes in the avian vitelline membrane during embryonic development. *J Embryol Exp Morph.* 1969; 21: 467-484.
- Johnson KE. Histology and Cell Biology. 2<sup>nd</sup> edition. Baltimore, Maryland: Williams and Wilkins; 1991.
- Junqueira, L.C., Carneiro, J., Kelley, R.O. 1995. Histologi Dasar. Diterjemahkan oleh Jan Tambajong. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Karnovsky M. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. *J Cell Biol.* 1965; 27: 137 A.
- Kavadia VS, Gupta HCL, Pareek BL, Sharma KP. Residue of endosulfan, carbaryl and malathion in maize. *Entomology*, 1977; 2: 17.
- Kozul-Horvath CD, *et al.* Effects of low-dose drinking water arsenic on mouse fetal and postnatal growth and development. *PLoS One*, 2012; 7(5): e38249.
- Krupanidhi S, Dhanarajan TM. Teratogenic effects of fluoride on chick embryo. *Fluoride*, 1994; 27: 25-33.
- Kumar SKB, Devi KS. Teratogenic effects of methyl parathion in developing chick embryos. *Vet Human Toxicol.* 1992; 34: 408-410.
- Laliberte R. How safe is your child's food. *Parents*, 1995; 70:30-32.
- Lee J, Prohaska JR, Thiele DJ. Essential role for mammalian copper transporter Ctr1 in copper homeostasis and embryonic development. *Proc Natl Acad Sci.* 2001; 98:6842-6847.
- Lenselink DR, Midtling JE, Lawrence JM, Kolesari GL. Teratogenic effects of metasystox-R in the stage 12 chick embryo. *Teratology*, 1992; 45 :500-501.
- Leslie PG, Hiatt JL. Cell Biology and Histology. Seventh Edition. Baltimore: Wolters Kluwer Health; 2015.
- Li X, *et al.* Arsenic impairs embryo development via down-regulating Dvr1 expression in zebrafish. *Toxicol Lett*, 2012; 212(2): 161-8.

- Liu J, et al. Fetal arsenic exposure appears to facilitate endocrine disruption by postnatal diethylstilbestrol in neonatal mouse adrenal. *Chem Biol Interact*, 2009; 182(2-3): 253-8.
- Liu J, et al. Transplacental exposure to inorganic arsenic at a hepatocarcinogenic dose induces fetal gene expression changes in mice indicative of aberrant estrogen signaling and disrupted steroid metabolism. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2007; 220(3): 284-91.
- Lorenz FW. Influence of age on avian gametes. In *Aging Gametes* (éd. R. J. Blandau). Basel: S. Karger; 1975.
- MacCabe JA, Errick J, Saunders JW. Ectodermal control of the dorsoventral axis in the leg bud of the chick embryo. *Dev Biol*. 1974; 39: 69-82.
- Mader SS. Biology Result and Discussion. 10<sup>th</sup>Ed. London: McGraw & Hill Company; 2010.
- Marin F, Puelles L. Patterning of the embryonic avian midbrain after experimental inversions: a polarizing activity from the isthmus. *Dev Biol*. 1994; 163: 19-37.
- Maulood K. Morphological study of chick embryo development. 2016.
- McKee G, Ferguson W. The effects of mesencephalic neural crest cell extirpation on the development of chicken embryos. *J Anat*. 1984;139(3): 491-512.
- Miller SA, Harley JP. Zoology. 6<sup>th</sup> Ed. Boston: McGraw-Hill Higher Education; 2005.
- Monroy A, Baccetti B. Morphological changes of the surface of the egg of *Xenopus laevis* in the course of development. I. Fertilization and early cleavage. *J Ultrastruct Res*. 1975; 50: 131-142.
- Nishikawa T, Kasajima T, Kanai T. Interactions between verapamil and metoprolol in the developing chick embryo heart. *J Appl Toxicol*. 1991; 11: 111-114.
- Nose Y, Kim B, Thiele DJ. Ctr1 drives intestinal copper absorption and is essential for growth, iron metabolism, and neonatal cardiac function. *Cell Metab*. 2006; 4:235-244.
- Olsen MW. Maturation, fertilization and early cleavage in the hen's egg. *J Morph*. 1942; 70: 513-533.

- Olsen MW. Frequency of parthenogenesis in chicken eggs. *J Hered.* 1966; 57: 23-25.
- Oosterbaan MA. Hemodynamic and Vascular Development in the Chicken Embryo. Thesis. The Netherlands: Erasmus University Rotterdam; 2012.
- Patterson J. Early development of the hen's egg. *J Morph.* 1910; 21: 101-134.
- Perry MM. Microfilaments in the external surface layer of the early amphibian embryo. *J Embryol Exp Morph.* 1975; 33: 127-146.
- Pourmirza AA. Toxic effects of malathion and endosulfan on chick embryo. *J. Agr. Sci. Tech.* (2000) Vol. 2: 161-166.
- Pramesti, Tjaturina H. 2000. Mikroskop dan Sel. Banjarbaru: FK Unlam.
- Rahman A, et al., Association of arsenic exposure during pregnancy with fetal loss and infant death: a cohort study in Bangladesh. *Am J Epidemiol.* 2007; 165(12): 1389-96.
- Rahman A, et al. Arsenic exposure and risk of spontaneous abortion, stillbirth, and infant mortality. *Epidemiology*, 2010; 21(6): 797-804.
- Rajukkannu K, Raghuraj R, Ali AK, Krishnamurthi KK. Residues of endrin, parathion, carbaryl and endosulfan in vegetables. *Pesticides*, 1976; 10:14.
- Rappaport R. Cleavage furrow establishment - a preliminary to cylindrical shape change. *Am Zool.* 1973; 13: 941-948.
- Roberts R. Laboratory Manual of Vertebrate Embryology. 5<sup>th</sup>Ed. New York: Burgess Publishing Company; 1964.
- Robertson JL, Preisler HK. 1992. Pesticide Bioassays with Arthropods. London: CRC Press;127 pp.
- Roelink H, Augsburger A, Heemskerk J, Korzh V, Norlin S, et al. Floor plate and motor neuron induction by vhh-1, a vertebrate homolog of hedgehog expressed by the notochord. *Cell*, 1994; 76: 761-775.
- Romanoff AL. The Avian Embryo. New York: Macmillan; 1960.
- Ruddell CL. Embedding media for 1-2-micron sectioning. 3. Hydroxyethyl methacrylate-benzoyl peroxide activated with pyridine. *Stain Technology*, 1971; 46: 77-83.
- Sandhu SS, Waters MD. Mutagenicity evaluation of chemical pesticides. *J Environ Sci Health*, 1980; B15: 929- 948.

- Sang H. Prospects for trangenesis in the chick. *Mech Dev.* 2004; 121: 1179-1186.
- Saunders JW. The proximo-distal sequence of origin of parts of the chick wing and the role of the ectoderm. *J Exp Zool.* 1948; 108: 363-404.
- Saunders JW, Gasseling MT. Ectodermal-mesenchymal interactions in the origin of limb symmetry, in Fleischmeyer R, Billingham RE (eds): *EpithelialMesenchymal Interactions*. Baltimore: Williams & Wilkins; 1968. pp 78-97.
- Saunder AN. The proximo-distal sequence of the origin of the parts of chick wing and the role of the ectoderm. *J Exp.* 1998;108: 363-403.
- Sawad A, Balsam HA, Al-Silawi A. Morphological study of the skeleton development in chick embryo (*Gallus domesticus*). *International Journal of Poultry Science*, 2009; 8 (7): 710-714.
- Schroeder TE. Cytokinesis: filaments in the cleavage furrow. *Expl Cell Res.* 1968; 53: 272-276.
- Schroeder TE. The contractile ring. IT. Determining its brief existence, volumetric changes and vital role in cleaving *Arbacia* eggs. *J Cell Biol.* 1972; 53: 419-434.
- Scott DG, Daniel CW. Filaments in the division furrow of mouse mammary cells. *J Cell Biol.* 1970; 45: 461-466.
- Sen J, Chaudhuri AB. Arsenic exposure through drinking water and its effect on pregnancy outcome in Bengali women. *Arh Hig Rada Toksikol,* 2008; 59(4): 271-5.
- Shalat SL, Walker DB, Finnell RH. Role of arsenic as a reproductive toxin with particular attention to neural tube defects. *J Toxicol Environ Health,* 1996; 48(3): 253-72.
- Singer SJ, Rothfield LI. Synthesis and turnover of cell membranes. *Neurosciences Research Program Bulletin*, 1973; 11: 1-86.
- Sohel N, et al. Spatial patterns of fetal loss and infant death in an arsenic-affected area in Bangladesh. *Int J Health Geogr*, 2011; 9: 53.
- Soucy NV, et al. Arsenic stimulates angiogenesis and tumorigenesis in vivo. *Toxicol Sci*, 2003; 76(2): 271-9.
- Stern C, Conrad H. Waddington's contributions to avian and mammalian development, 1930-1940. *Int J Dev Biol.* 2000; 44: 15-22.

- Summerbell D. A quantitative analysis of the effect of excision of the AER from the chick limb-bud. *J Embryol Exp Morphol.* 1974; 32: 651-660.
- Szollosi D. Cortical cytoplasmic filaments of cleaving eggs: a structural element corresponding to the contractile ring. *J Cell Biol.* 1970; 44: 192-210.
- Tanaka M, Tickle C. Tbx18 and boundary formation in chick somite and wing development. *Dev Biol.* 2004; 268: 470-480.
- te Welscher P, Zuniga A, Kuijper S, Drenth T, Goedemans HJ, *et al.* Progression of vertebrate limb development through SHH-mediated counteraction of GLI3. *Science*, 2002; 298: 827-830.
- Tewari SN, Harpalani SP. Detection and determination of organophosphorus insecticides in human body tissues in five cases of poisoning. *J Chromatogr.* 1977; 130: 229.
- Tickle C. The early history of the polarizing region: from classical embryology to molecular biology. *Int J Dev Biol.* 2002; 46: 847-852.
- Tofail, F, *et al.*, Effect of arsenic exposure during pregnancy on infant development at 7 months in rural Matlab, Bangladesh. *Environ Health Perspect*, 2009; 117(2): 288-93.
- Tseng CH, *et al.* Long-term arsenic exposure and ischemic heart disease in arseniasis-hyperendemic villages in Taiwan. *Toxicol Lett*, 2003; 137(1-2): 15-
21. van de Lavor MC, Diamond JH, Leighton PA, Mather-Love C, Heyer BS, *et al.* Germline transmission of genetically modified primordial germ cells. *Nature*, 2006; 441: 766-769.
- van Straaten HW, Hekking JW, Wiertz-Hoessels EJ, Thors F, Drukker J. Effect of the notochord on the differentiation of a floor plate area in the neural tube of the chick embryo. *Anat Embryol (Berl)*, 1988; 177: 317-324.