

Studi Osifikasi Anggota Tubuh Embrio Ayam Buras dengan Pewarnaan Alizarin Red

Study of a Embryonic Organ Member of the Buras Chicken with Pigmentation Alizarin Red

Fatimatuz Zahrotul Husna^{*)}, Hari Santoso ^{**)}, Ratna Djuniwati Lisminingsih^{***)}
Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Malang, Indonesia

ABSTRAK

Ayam buras adalah turunan dari proses penylangan ayam hutan dengan ayam pedaging, yang didomestikasi dan dikembangkan. Osifikasi anggota tubuh embrio ayam diawali dari tulang rawan dan berkembang menjadi tulang keras. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui osifikasi embrio ayam umur 9, 13, 17 dan 21 hari. Metode penelitian digunakan deskriptif kuantitatif dengan purposive sampling, dengan pewarna alizarin red. Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan warna tulang embrio ayam dari merah muda sampai merah keunguan. Bagian tulang yang terosifikasi meliputi humerus, radius, ulna, carpometacarpus, femur, tibiotarsus, tarsometatarsus dan digiti. Tulang yang berwarna merah keunguan pada embrio umur 9 hari adalah carpometacarpus, ulna, radius, humerus, femur, tibia dan tarsometatarso, yang berwarna merah muda yakni pada seluruh tulang digiti dan pollex. Pada embrio umur 13 hari adalah digiti ke 2, carpometacarpus, pollex, ulna, radius, humerus, femur, tibia, tarsometatarso, digiti ke 1, digiti ke 2 dan digiti ke 3, yang berwarna merah muda yakni digiti ke 1 dan ke 3 pada sayap dan digiti ke 4 pada kaki. Pada umur 17 hari digiti ke 1, digiti ke 2, carpometacarpus, pollex, ulna, radius, humerus, femur, tibia, tarsometatarso, digiti ke 1, digiti ke 2, digiti ke 3 dan digiti ke 4 dan yang berwarna merah muda digiti ke 4 pada kaki. Pada umur 21 hari digiti ke 1, digiti ke 2, digiti ke 3 dan digiti ke 4. Tulang yang berwarna merah keunguan telah mengalami osifikasi sedangkan tulang yang berwarna merah muda belum mengalami osifikasi.

Kata kunci: embrio, osifikasi, alizarin red.

ABSTRACT

Free-range chicken is derivative of the process a cross patridge with broiler, that domesticated and cultivated. Ossification limb embryos of chickens started with cartilage and develop into the hard bone. This study aims to know ossification of the embryo chicken the age of 9, 13, 17 and 21 days. Research methodology used descriptive quantitative with purposive sampling, with alizarin red. The results of the study shows differences in color chicken bone the embryo from pink to red in wait. The bone that ossification is humerus, radius, ulna, carpometacarpus, femur, tibiotarsus, tarsometatarsus and digiti. Differences in the hues occurs in the age of an embryo 9 day portion of a bone in red parents is carpometacarpus, ulna, radius, humerus, femur, tibia and tarsometatarso. In the embryo chicken age 13 days is digiti ke 2, carpometacarpus, pollex, ulna, radius, humerus, femur, tibia, tarsometatarso, first digiti, second digiti and third digiti. In the embryo chicken age 17 days is first digiti, second digiti, carpometacarpus, pollex, ulna, radius, humerus, femur, tibia, tarsometatarso, first digiti, second digiti, third digiti and fourth digiti. In the embryo chicken age 21 days is first digiti, second digiti, third digiti, carpometacarpus, pollex, radius, ulna, humerus, femur, tibia, tarsometatarso, first digiti, second digiti, third digiti and fourth digiti. A bone that is of purplish red color has been undergoes ossification whilw a bone that is of pink in color have not yet undergone ossification.

Keywords: embryo, calcification, ossification, alizarin red.

^{*)} Fatimatuz Zahrotul Husna, Jurusan Biologi FMIPA UNISMA, Jl. MT Haryono 193, Malang 65144 Tlp. 085733320558 email: fatimatuzzahrotulhusna@gmail.com

^{**)} Drs. H Hari Santoso M. Biomed, Jurusan Biologi FMIPA UNISMA, Jl. MT Haryono 193, Malang 65144 Tlp. 082331449560 email: harisantoso.m.biomed@gmail.com

Diterima Tanggal 4 Pebruari 2019 – Diterbitkan Tanggal 25 Januari 2020

Pendahuluan

Ayam buras merupakan salah satu jenis ternak yang potensial untuk dikembangkan dan telah memasyarakat di seluruh pelosok nusantara. Ayam buras merupakan plasma nutfah yang keberadaannya perlu dilestarikan [1]. Produktivitas ayam buras relatif rendah, sehingga masih berpotensi untuk dikembangkan dan ditingkatkan [2]. Telur ayam akan menetas setelah diinkubasi selama 21 hari dengan melalui serangkaian perkembangan embrio secara kompleks. Perkembangan embrio ayam mulai dari fertilisasi, blastulasi, gastrulasi, neurulasi dan organogenesis. Fertilisasi adalah penggabungan sel kelamin jantan dan sel kelamin betina membentuk zigot. Selanjutnya zigot mengalami pembelahan secara mitosis. Blastula merupakan tahap lanjutan dari stadium pembelahan berupa massa blastomer membentuk dasar calon tubuh ayam, pada tahap ini terbentuk blastoselom. Gastrula ialah proses kelanjutan stadium blastula, tahap akhir dari proses gastrulasi ditandai dengan terbentuknya coelom dan sumbu embrio sehingga embrio mulai tumbuh memanjang. Tubulasi adalah kelanjutan dari proses stadium gastrula. Embrio pada stadium ini disebut dengan neurula karena pada tahap ini terjadi neurulasi yakni pembentukan bumbung neural. Organogenesis merupakan tahap selanjutnya yaitu perkembangan dari bentuk primitif embrio menjadi bentuk definitif yang memiliki bentuk dan rupa yang spesifik dalam satu spesies. Selain itu juga diikuti dengan terbentuknya tulang rangka pada embrio. Tulang pada makhluk hidup berperan penting dalam aktivitas gerak. Pada hewan ternak khususnya ayam, perkembangan tulang menentukan kualitas dan produktivitas. [3].

Kualitas tulang rangka (skeleton) atau kekuatan tulang pada ayam ternak merupakan salah satu faktor yang penting dalam menentukan kualitas ayam ternak. Pertumbuhan tulang yang seimbang dengan penambahan masa tubuh merupakan hal sangat penting dalam perkembangan ternak unggas [4]. Kemudian terdapat berbagai macam kelainan patologis pada tulang ayam, contohnya seperti distorsi tulang panjang dan *dischondroplasia* [5]. Oleh karena itu perlu diketahui osifikasi pada embrio ayam, yakni dengan melakukan pewarnaan pada embrio menggunakan pewarna Alizarin Red untuk mengetahui perkembangan tulang yang terjadi. Dimana Alizarin Red adalah proses pewarnaan tulang berguna sebagai pendeteksi adanya proses osifikasi di daerah tulang yang terwarnai [6]. Proses pewarnaan dengan Alizarin Red menyebabkan tulang akan berwarna merah tua, yang menandakan bahwa tulang telah mengalami osifikasi. Proses osifikasi pada embrio ayam dapat diamati ketika umur mulai dierami selama 9 hari [7].

Material dan Metode

Bahan dan Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah inkubator, alat bedah, mangkuk, tempat spesimen berupa botol, cawan petri, jangka sorong, mikroskop cahaya, mikroskop stereo dan pipet tetes.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah embrio ayam yang diinkubator selama 9 hari, 13 hari dan 17 hari dan 21 hari, larutan alkohol 95%, larutan pewarna Alizarin red, larutan penjernih A, larutan penjernih B, larutan penjernih C, larutan KOH 1%, larutan gliserin murni, larutan garam fisiologis, tymol dan aquades

Metode

Ditinjau dari segi prosedur dan pola yang ditempuh oleh peneliti dalam penelitian ini, termasuk jenis penelitian deskriptif kuantitatif. dalam penelitian ini teknik sampling yang digunakan yaitu teknik purposive sampling, sampel yang digunakan adalah 5 untuk tiap kelompok.

Analisis Data: Pada embrio ayam yang telah diwarnai diamati bagian sayap dan kakinya dilihat tulang apa saja yang telah mengalami osifikasi dimana ditandai dengan perubahan warna dari bening menjadi merah tua sampai ungu. Sebagai data penunjang diukur berapa panjang tulang yang mengalami perubahan warna menggunakan alat ukur yakni jangka sorong dan mikroskop. Jangka sorong digunakan untuk skala makroskopik dan mikroskop untuk skala mikroskopik. Setelah itu dibandingkan hasil dari tiam embrio dari tiap umur.

Cara Kerja

Diambil telur ayam fertil yang telah diinkubasi selama 9 hari, 13 hari dan 17 hari dan 21 hari dikeluarkan dari dalam cangkang dan diletakkan pada mangkuk yang telah diisi garam fisiologis. Dibersihkan embrio dari membran ekstra embrional. Bila embrio telah memiliki bulu, maka bulu-bulu tersebut dihilangkan agar tidak mengganggu pada saat identifikasi tulang yang telah mengalami osifikasi. Setelah embrio dibersihkan kemudian dimasukkan dalam botol bening yang telah diisi larutan alkohol 95%. embrio direndam dalam larutan alkohol ini selama kurang lebih 12 jam. Dibuang larutan alkohol dan dipindahkan embrio kedalam botol yang berisi larutan KOH 1% dan dibiarkan dalam larutan tersebut hingga otot menjadi transparan dan skeletonya terlihat jelas. Setelah jaringan otot transparan, embrio dipindahkan kedalam wadah yang berisi larutan pewarna Alizarin Red dan direndam dalam larutan ini hingga skeleton berwarna merah tua atau ungu (kurang lebih selama 3 jam). Selanjutnya embrio dipindahkan kedalam larutan KOH 2%. Embrio direndam dalam larutan ini selama kurang lebih 30 menit agar jaringan otot benar-benar menjadi transparan. Dipindahkan embrio ke dalam larutan penjernih A selama 1 jam kemudian kedalam larutan penjernih B dan C masing-masing selama 1 jam. Kemudian dipindahkan embrio ke dalam larutan gliserin murni yang telah diberi tymol. Diamati bagian tulang yang terwarnai. Dibandingkan system rangka embrio tiap umur yang sudah terwarnai. Pembuatan larutan penjernih . Larutan penjernih A : Gliserin (20 bagian), KOH 4% (3 bagian) dan akuades (77bagian). Larutan penjernih B : Gliserin (50bagian), KOH 4% (3 bagian), dan akuades (25 bagian). Larutan penjernih C : Gliserin (75 bagian) dan akuades (25 bagian) [8].

Hasil dan Diskusi

Hasil Penelitian

Tabel hasil pengamatan perubahan warna pada tulang sayap embrio ayam umur 9 hari, 13 hari, 17 hari dan 21 hari setelah proses pewarnaan menggunakan pewarna alizarin red.

Tabel 1. Pengamatan Hasil Perubahan Warna Pada Sayap Embrio Ayam Umur 9 Hari, 13 Hari, 17 Hari dan 21 Hari.

NO	Tulang	Emrio Umur 9 hari	Embrio Umur 13 hari	Embrio Umur 17 hari	Embrio Umur 21 hari
1.	Phalang				
	Digiti 1	–	–	√	√
	Digiti 2	–	√	√	√
	Digiti 3	–	–	–	√
2.	Carpometacarpo	√	√	√	√
3.	Pollex	–	√	√	√
4.	Ulna	√	√	√	√
5.	Radius	√	√	√	√
6.	Humerus	√	√	√	√

√ = Terdapat tulang yang mengalami perubahan warna menjadi merah.
 – = Belum terdapat tulang mengalami perubahan warna menjadi merah.

Dari hasil pengamatan makroskopik (Tabel 1), pada bagian sayap embrio ayam umur 9 hari, 13 hari, 17 hari dan 21 hari terdapat perbedaan pada bagian tulang yang telah mengalami osifikasi. Osifikasi ditandai dengan perubahan warna pada tulang dari jernih menjadi merah [6]. Dimana didapati hasil pada embrio umur 9 hari masih sedikit tulang yang mengalami osifikasi yakni hanya pada bagian *Carpometacarpo*, *Ulna*, *Radius* dan *humerus*. Untuk bagian *phalang* dan *pollex* belum terjadi. Pada embrio umur 9 hari pengamatan osifikasi telah dapat dilakukan, pembentukan sistem rangka dimulai

pada inkubator hari ke 5 yang ditandai dengan kondensasi mesenkim prekartilago, kondrifikasi dimulai pada hari ke 8 sedangkan osifikasi pertamakali dimulai pada hari ke 9 inkubasi [9]. Embrio umur 9 hari pada bagian tulang panjang seperti *humerus*, *ulna*, *radius* dan *carpometacarpus* tergolong osifikasi interkartilagos dimana tulang keras diawali oleh pembentukan tulang rawan yang kemudian akan dirombak, osifikasi ini diawali dari bagian tengah dari tulang yang kemudian akan meluas ke seluruh arah dengan pertumbuhan tulang rawan. Pada tulang ini ketika diamati secara makroskopis terlihat seperti titik merah pada bagian tengah tulang. Kemudian setelah diamati secara mikroskopis terlihat jelas tulang yang telah mengalami osifikasi. Panjang tulang yang telah mengalami osifikasi yakni *humerus* 2,8 mm, *ulna* 3,2 mm *radius* 3 mm dan *carpometacarpus* 1,4 mm.

Pada embrio umur 13 hari tulang yang telah mengalami osifikasi adalah *digiti* ke 2, *carpometacarpus*, *pollex*, *ulna*, *radius* dan *humerus*. Pada bagian *digiti* ke 1 dan ke 3 belum terjadi osifikasi akan tetapi *digiti* ke 2 telah terjadi osifikasi. Berbeda dengan embrio umur 9 hari pada tulang *digiti* belum mengalami osifikasi sama sekali. Pengamatan morfometrik pada bagian tulang didapatkan hasil unuk panjang tulang yang telah mengalami osifikasi pada *humerus* 3,8 mm, *radius* 3,5 mm, *ulna* 3,5 mm, *pollex* 0,4 mm, *carpometacarpus* 2,8 mm, *digiti* kedua 0,2 mm. Pada embrio umur 17 hari yakni *digiti* ke 1, *digiti* ke 2, *carpometacarpus*, *pollex*, *ulna*, *radius* dan *humerus*. Dengan panjang masing – masingnya adalah *humerus* 6 mm, *Radius* 5,6 mm, *ulna* 5,6 mm, *pollex* 0,75 mm *carpometacarpus* 3,35 mm *digiti* kesatu 0,9 mm dan *digiti* kedua 0,65 mm. Sedangkan pada Umur 21 hari bagian tulang yang telah mengalami osifikasi adalah *digiti* ke 1, *digiti* 2, *digiti* 3, *carpometacarpus*, *pollex* dan *ulna*. Dengan panjang masing-masing adalah 2,25 mm, 1,7 mm, 0,65 mm, 7,15 mm, 2,15 mm, 9,5 mm, 9,5 mm dan 10,45 mm.

Tabel 2. Rerata Panjang Tulang Sayap dan Standart Deviasi

No	Tulang	Emrio Umur 9 hari (mm)	Embrio Umur 13 hari(mm)	Embrio Umur 17 hari (mm)	Embrio Umur 21 hari (mm)
1.	Phalang				
	- Jari 1	–	–	0,90±0,06	2,25±0,09
	- Jari 2	–	0,20±0,04	0,65±0,05	1,70±0,13
	- Jari 3	–	–	–	0,65±0,06
2.	Carpometacarpus	1,40±0,10	2,80±0,06	3,35±0,05	7,15±0,03
3.	Pollex	–	0,40±0,08	0,75±0,03	2,15±0,03
4.	Ulna	3,20±0,120	3,50±0,19	5,60±0,09	9,50±0,14
5.	Radius	3,00±0,12	3,50±0,19	5,60±0,09	9,50±0,14
6.	Humerus	2,80±2,80	3,80±0,06	6,00±0,79	10,45±0,07

Tabel 3. Pengamatan hasil perubahan warna pada kaki embrio Ayam umur 9 hari, 13 hari, 17 hari dan 21 hari.

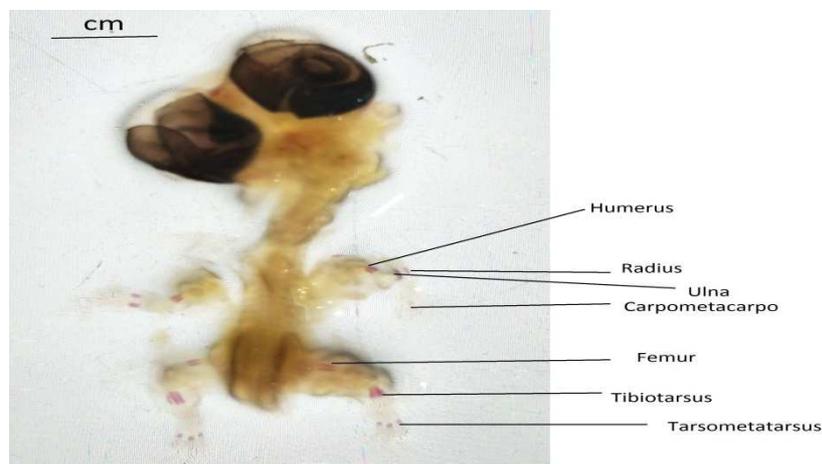
NO	Tulang	Emrio Umur 9 hari	Embrio Umur 13 hari	Embrio Umur 17 hari 9	Umur 21 hari
1.	Femur	√	√	√	√
2.	Tibiotarsus	√	√	√	√
3.	Tarsometatarsus	√	√	√	√
4.	Phalang jari 1	–	√	√	√
5.	Phalang jari 2	–	√	√	√
6.	Phalang jari 3	–	√	√	√
7.	Phalang jari 4	–	–	√	√

√ = Terdapat tulang yang mengalami perubahan warna menjadi merah.

– = Belum terdapat tulang mengalami perubahan warna menjadi merah.

Tabel 4. Data Panjang Tulang Kaki dan Standart Deviasi Tulang Kaki

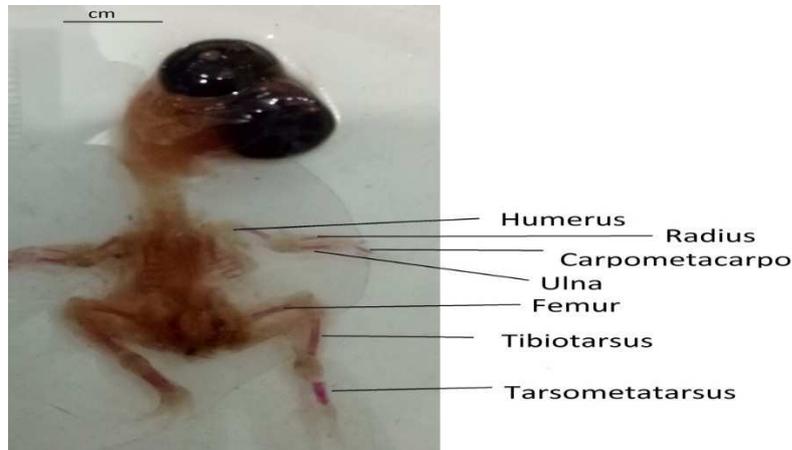
NO	Tulang	Emrio Umur 9 hari	Embrio Umur 13 hari	Embrio Umur 17 hari	Embrio Umur 21 hari
1.	Femur	2,60±0,03	4,50±0,15	9,70±0,15	18,45±0,26
2	Tibiotarsus	2,00±0,13	6,20±0,06	12,25±0,18	23,75±0,43
3.	Tarsometatarsus	2,40±0,07	4,15±0,15	10,00±1,56	16,30±0,56
4.	Phalang jari 1 -. Ruas 1	0	0,28±0,05	2,00±0,16	3,40±0,34
5.	Phalang jari 2 -. Ruas 1 -. Ruas 2	0	0 0,40±0,06	4,00±0,18 2,80±0,17	4.40±0,17 3,10±0,06
6.	Phalang jari 3 -. Ruas 1 -. Ruas 2 -. Ruas 3	0	0,40±0,09 0,20±0,05 0	3,80±0,14 2,40±0,14 2,80±0,17	4,25±0,16 2,95±0,07 4,00±0,18
7.	Phalang jari 4 -. Ruas 1 -. Ruas 2 -. Ruas 3 -. Ruas 4	0	0 0 0 0	2,40±0,10 0,80±0,08 0,40±0,08 1,00±0,15	2,45±0,34 1,70±0,13 1,30±0,14 2,00±0,18



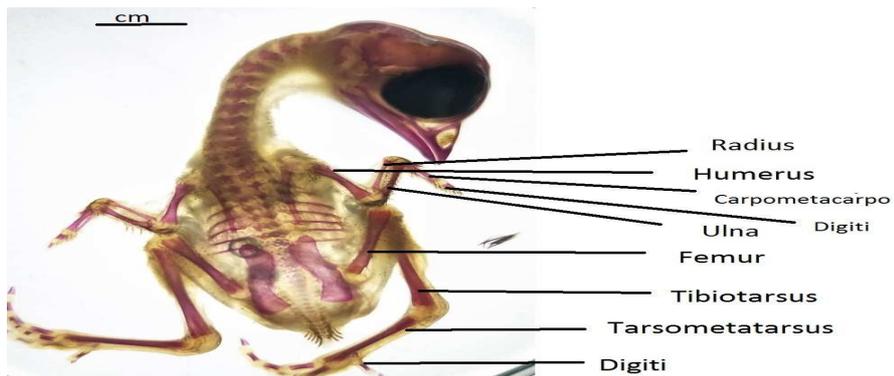
Gambar 1. Embrio Ayam Umur 9 Hari Setelah Proses Pewarnaan.

Dari hasil pengamatan embrio ayam umur 9 hari, 13 hari, 17 hari dan 21 hari (Gambar 1 – 4) terdapat perbedaan dimana diperoleh hasil pada embrio umur 9 hari untuk bagian kaki dan sayap pada perolehan data menunjukkan pada embrio umur 9 hari. Os humerus yang disebut ekstremitas atas berkembang lebih cepat dibandingkan perkembangan os femur yang disebut ekstremitas bawah sehingga osifikasi ekstremitas atas lebih dahulu terjadi daripada ekstremitas bawah [10]. Pada embrio 9 hari didapatkan tulang yang telah mengalami osifikasi yakni *femur*, *tibiotarsus* dan *tarsometatarsus*. Dengan panjang masing-masing adalah 2,6 mm, 2 mm, dan 2,4 mm. Pada pengamatan secara makroskopis tulang yang telah mengalami osifikasi dijumpai titik-titik berwarna merah pada bagian

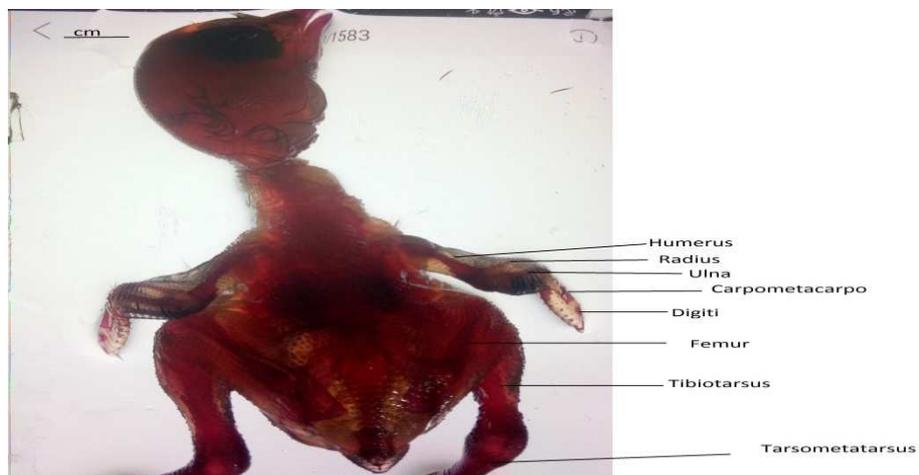
tangan. Hal ini selain menunjukkan bahwa telah terjadi adanya osifikasi juga menunjukkan bahwa pada tulang panjang (*femur*, *tibiotarsus* dan *tarsometatarsus*) adalah tergolong osifikasi interkartilagus.



Gambar 2. Embrio Ayam Umur 13 Hari Setelah Proses Pewarnaan.



Gambar 3. Embrio Ayam Umur 17 Hari Setelah Proses Pewarnaan.



Gambar 4. Embrio Ayam Umur 21 Hari Setelah Proses Pewarnaan.

Seiring dengan penambahan umur embrio maka tulang akan mengalami pergerakan osifikasi ke bagian ujung-ujung tulang, sehingga seluruh bagian tulang yang semula berupa tulang rawan akan berubah menjadi tulang keras. Pada embrio umur 13 hari tulang yang mengalami osifikasi yakni *femur*, *tibiotarsus*, *tarsometatarsus*, *phalang digiti* ke 1 ke 2 dan ketiga. Akan tetapi pada tulang *digiti* belum semua tiap ruas mengalami osifikasi, pada hari ke 13 untuk *digiti* ke 1 dan ke 2 hanya 1 ruas yang telah mengalami osifikasi. Sedangkan *digiti* ketiga 2 ruas jari telah mengalami osifikasi. Kemudian untuk embrio umur 17 hari tulang yang telah terosifikasi yakni *femur*, *tibiotarsus*, *tarsometatarsus*, *digiti* ke 1, *digiti* ke 2, *digiti* ke 3 dan *digiti* ke 4. Pada embrio umur 17 hari telah mengalami perkembangan pada bagian tulang *digiti* dimana ke empat *digiti* telah mengalami osifikasi. Begitu juga pada embrio umur 21 hari pada tulang *femur*, *tibiotarsus*, *tarsometatarsus* dan ke 4 *digiti* telah mengalami osifikasi yang membedakan ialah ukuran panjang dari tiap tulang yang mengalami perkembangan. Untuk data morfometrik dapat dilihat pada Tabel 2.

Pada Tabel 3 dan Tabel 4 terlihat bahwa osifikasi pada anggota tubuh pada embrio ayam semakin meningkat di setiap tahapan penambahan usia 9 hari sampai ayam berusia 1 hari, hal tersebut berdasarkan ukuran panjang dari tulang yang telah mengalami osifikasi serta laju pertumbuhan panjang perhari yang dilihat dari nilai standar deviasi pada Tabel 4. Hal ini berarti bahwa ayam mengalami pertumbuhan. Secara umum pertumbuhan ialah peningkatan ukuran atau volume dari zat hidup [11].

Kesimpulan

Pada sayap embrio ayam umur 9 hari, 13 hari, 17 hari dan 21 hari tulang *humerus*, *radius*, *ulna* dan *carpometacarpo* telah mengalami osifikasi yang membedakan ialah pada tulang digitinya. Serta terjadi perkembangan tulang (osifikasi) disetiap penambahan usia yang dilihat dari kecenderungan nilai data ukuran panjang dari tulang yang mengalami osifikasi. Pada kaki embrio ayam umur 9 hari, 13 hari, 17 hari dan 21 hari tulang *femur*, *tibiotarsus* dan *tarsometatarsus* telah mengalami osifikasi yang membedakan adalah tulang pada digitinya. Serta terjadi perkembangan tulang (osifikasi) disetiap penambahan usia yang dilihat dari kecenderungan nilai data ukuran panjang dari tulang yang mengalami osifikasi.

Ucapan Terima Kasih

Peternak ayam Panca Murti Malang yang telah membantu dalam penyediaan bahan

Daftar Pustaka

- [1] Wicaksono, D., Kurtini, T., Nova, K. 2013. Perbedaan Fertilitas Serta Susut, Daya dan Bobot Tetas Ayam buras pada Penetasan Kombinasi. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. Vol 1, No 2. URL: <http://jurnal.fp.unila.ac.id/index/JIPT/article/view/159>
- [2] Nataamijaya, AG. 2010. Pengembangan potensi ayam lokal untuk menunjang peningkatan kesejahteraan petani. *J.Litbang Pertanian*. 29: 4.<http://peternakan.litbang.pertanian.go.id>
- [3] Kusumawati, A., Rina, F., Shella, H., Mufti, SD., Ninik, I. 2016. Perkembangan Embrio dan Penentuan Jenis Kelamin DOC (Day-Old Chick) Ayam Jawa Super. *Jurnal Sain Veteriner*. 34(1): 29-41.<http://jurnal.ugm.ac.id/artikel/view/22811>.
- [4] Wulandari R. 2014. *Struktur dan Perkembangan Rangka Embrio Ayam (Gallus gallus domesticus Linneus, 1758) Hasil Persilangan Ayam Pelung dengan Ayam Broiler dan Ayam buras*. Fakultas Biologi. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- [5] Cook, C., and Philip, L. H. 2001. *Management and organizational behavior (3 ed)*. Development and Activity in Chickens In Response To Reduced Weight.

- [6] Nugroho, A.E. 2011. Evaluasi Pewarnaan Alcian blue Terhadap Sel Mast Jaringan Ikat Dari Preparat Beku Jaringan Kulit Kaki Tikus. *Jurnal Pharmasi Indonesia*. Vol 8, No 2 : 10-20. Diakses 28 November 2018 . URL <http://jurnalnasional.ump.ac.id>.
- [7] Puspitasari, D., Djoko, J.B., Suparno, G. 2015. Kunyit (*Curcuma Domestica* Val.) Sebagai Pewarna Alternatif Pewarnaan Tulang Embrio Ayam (*Gallus Gallus*). *BioEdu*. Vol 4, No 1 : 827-831. . Diakses 5 Oktober 2018. URL: <http://ejurnal.unesa.ac.id>.
- [8] Supriyadi., Fitriya, L., Agus, S., Aceng, R. 2013. Uji Teratogenisitas Ekstrak Kulit Batang Karas (*Aquilaria malacensis*) Pada Fetus Mencit (*Mus musculus*). *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung, 2013*. Vol 1, No 1:321-325.
- [9] Soeminto. 2000. *Embriologi Vertebrata*. Fakultas Biologi UNSOED.Purwokerto
- [10] Subowo. 1992. *Histologi Umum*. Penerbit Bunga Angkasa.Jakarta.
- [11] Herren. 2000. *The Science of Animal Agricultur, 2nd Edition*. Delmar, New york.