

Efek Supresi Curcumin pada Organogenesis dan Morfogenesis Embrio Ayam Umur 48 Jam

Estiani Kusumaningrum*, Indriati Dwi Rahayu**, Anik Puryatni***

ABSTRAK

Perkembangan embrio diiringi dengan peningkatan nutrisi, oksigenasi serta pembuangan zat sisa metabolisme sel. Peningkatan tersebut merangsang sel-sel mesenkimal untuk menginduksi sel endotel menjadi jaringan pembuluh darah, proses ini disebut vaskulo-angiogenesis. Sistem vaskuler yang terbentuk sempurna akan memfasilitasi proses organogenesis dan morfogenesis embrio berjalan tanpa ada gangguan. Adanya gangguan dapat menyebabkan defek kongenital. Kurkumin sering digunakan sebagai bahan pengawet makanan dan obat-obatan di berbagai lapisan masyarakat. Walau sudah menjadi konsumsi harian, penelitian mengenai keamanan kurkumin terhadap embrio masih terbatas dan belum menjelaskan pengaruhnya terhadap kondisi fetal. Penelitian ini mengamati pengaruh kurkumin pada proses vaskulo-angiogenesis yang berpengaruh pada proses organogenesis secara *in ovo* pada embrio ayam. Konsentrasi kurkumin yang digunakan adalah 12,5 μM , 25 μM dan 50 μM . Kurkumin diinjeksikan pada telur ayam berusia kurang dari 1 hari dan kemudian diinkubasi selama 48 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kurkumin dapat menghambat organogenesis pada embrio ayam dengan hasil uji ANOVA yang bermakna ($p < 0,05$). Pada sirkulasi *yolk sac*, berdasarkan uji Chi square diketahui hasilnya signifikan ($p < 0,05$). Kurkumin juga berpengaruh dalam retardasi proses flexi cranial, pada perkembangan sistem optikus dan penutupan neuropore anterior berdasarkan umur embrio ayam dengan hasil uji Chi square yang bermakna ($p < 0,05$). Penelitian ini menyimpulkan bahwa kurkumin dapat menghambat proses perkembangan vaskulo-angiogenesis sehingga menyebabkan hambatan pada proses organogenesis embrio.

Kata Kunci : Curcumin, Embrio, *in ovo*, Organogenesis, Vaskulogenesis.

Supresion Effect of Curcumin on Organogenesis and Morphogenesis in 48 Hours Chicken Embryo

ABSTRACT

Embryonic development is indicate by high nutrition requirement, oxygen, and residual cell metabolism disposal. These conditions stimulates mesenchymal cells to induce endothelial cell develop into vascular tissue, this process is called vasculo-angiogenesis. Fully vascular tissue development will facilitate organogenesis and morphogenesis in embryo without interruption. The disruption can cause congenital defect. Curcumin has been used as food preservation and medicine in society. Despite curcumin has been consumed daily, the research about curcumin safety on embryo are still limited and can not explain curcumin negative effect on fetal condition. This study was to investigate curcumin effect on vascular tissue defect that can affect organogenesis in chicken embryo with *in ovo* method. The concentration of curcumin which used on this research were 12,5 μM , 25 μM and 50 μM . Curcumin solution was injected to chicken egg that aged less than a day then incubated for 48 hours. Based on one way ANOVA analysis showed that curcumin can disrupt chicken embryo organogenesis with significant result ($p < 0.05$). Based on Chi square analysis showed significant result ($p < 0.05$) on *yolk sac* circulation. Curcumin also affect growth retardation of flexi cranial, development of optical system and closing of neuropore anterior according to Chi square analysis that was significant ($p < 0.05$). To conclude, curcumin can inhibit vasculo-angiogenesis, therefore can disrupt embryo organogenesis.

Keywords : Curcumin, Embryo, *in ovo*, Organogenesis, Vasculogenesis.

* Program Studi Pendidikan Dokter, FKUB

** Lab Anatomi Histologi, FKUB

*** Lab Ilmu Kesehatan Anak, RSSA-FKUB

PENDAHULUAN

Pertumbuhan fetus dalam proses kehamilan dipengaruhi oleh berbagai faktor dalam mekanisme sistem tubuh. Bila regulasi tubuh tidak berlangsung dengan baik maka akan mengakibatkan kondisi kehamilan yang tidak diinginkan yang bisa berakibat pada abnormalitas dari pertumbuhan fetus hingga menimbulkan kematian pada fetus.¹ Berdasarkan data epidemiologi tahun 2006 di negara USA, dari 10 penyebab tertinggi kematian bayi, penyebab nomor satu adalah *congenital anomaly*. *Congenital anomaly* merupakan kelainan yang terjadi akibat gangguan proses pertumbuhan dan perkembangan embrio.²

Pada kehidupan fetus intrauteri, pertukaran zat terjadi melalui proses difusi. Sejalan dengan perkembangannya, mudigah tidak lagi dapat mencukupi akan zat makanan hanya melalui difusi saja. Pada tingkat ini, sel-sel lapisan mesoderm splanknik pada mudigah presomit lanjut diinduksi oleh endoderm di bagian bawahnya untuk membentuk angioblas dan menandai awal mulanya vaskulogenesis.^{3,4} Perlu diketahui bahwa organ yang pertama kali mulai berkembang adalah jantung. Sel-sel angiogenik sudah mulai muncul pada tahap presomit dari embrio yaitu hari ke-17 hingga ke-18. Saat awal mula vaskulogenesis, proses ini akan menginisiasi dan memfasilitasi perkembangan organ internal seperti otak, liver, ginjal, usus dan lainnya yang terjadi pada minggu ketiga kehamilan.⁵ Vaskulogenesis diawali dengan pembentukan angioblas sebagai sel endothelial progenitor yang akan bermigrasi dan menyusun sistem vaskuler secara *de novo*. Proses vaskulogenesis ini ditandai dengan pembentukan pembuluh primitif dari sel-sel endotel.⁶

Proses angiogenesis, yang dikenal juga dengan istilah neovaskularisasi ditandai

dengan lanjutan pertumbuhan pembuluh darah baik *sprouting* maupun *remodelling*. Proses ini ditandai dengan proliferasi sel-sel endotel menuju jaringan yang akan merangsang stimulus faktor pertumbuhan.⁷ Tujuan utama dari proses ini adalah setiap sel yang didukung oleh kinerja sistem vaskuler dapat memperoleh nutrisi dan oksigen sesuai kebutuhan dan mengantarkan hasil produksi sel seperti hormon, zat sisa, dan bahan vasoaktif lainnya.⁷ Proses vaskulo-angiogenesis yang kompleks ini membutuhkan keseimbangan antara faktor positif dan negatif dari proses angiogenesis. Bila terjadi peningkatan faktor antiangiogenik maka dapat memicu apoptosis sel sehingga proses distribusi udara dan nutrisi menuju sel-sel akan terhambat dan bisa mengakibatkan terganggunya proses embryogenesis.^{9,10}

Salah satu zat antiangiogenik adalah kurkumin yang ditemukan di dalam *Curcuma longa*. *Curcuma longa* mengandung sekitar 2 - 5 % kurkumin. Saat ini sudah banyak dilakukan penelitian mengenai efek kurkumin yang memiliki efek terapi. Dalam berbagai penelitian menunjukkan bahwa kurkumin berperan sebagai antiinflamasi, antioksidan, antikarsinogenik, hipolipidemia dan antidiabetes.¹¹⁻¹⁴ Hasil penelitian menunjukkan bahwa efek antikanker dari kurkumin disebabkan oleh salah satu sifatnya sebagai zat antiangiogenik.¹⁵⁻¹⁷

Penelitian mengenai pengaruh kurkumin terhadap embrio masih sangat terbatas dan belum bisa merepresentasikan kondisi perkembangan fetal. Penelitian yang dilakukan Vijayalaxmi (1980) menunjukkan bahwa kurkumin tidak meningkatkan tingkat kelainan pada kandungan, bayi yang dilahirkan dan infertilitas pada hewan coba tikus.¹⁸ Dalam hasil penelitian lainnya menunjukkan bahwa kurkumin menghambat proliferasi sel endotel manusia secara *in vitro* dan menonaktifkan respon FGF (*fibroblast*

growth factor) secara *in vivo*.¹⁹ Penelitian terdahulu yang menggunakan hewan coba zebrafish dan tikus menunjukkan adanya apoptosis sel.^{20,21} Sejauh ini, dari penelitian tersebut, kurkumin tidak dapat dibuktikan keamanannya atau pengaruh pastinya terhadap embriogenesis.

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kurkumin pada embrio secara *in ovo* terutama pada proses vaskulo-angiogenesis dan pengaruhnya terhadap organogenesis embrio ayam. Embrio ayam diinjeksi dengan larutan kurkumin berbagai dosis dan diinkubasi selama 48 jam yang sebanding dengan umur kehamilan manusia 24 hari saat sistem vasular sudah terbentuk dan jantung mulai memompa darah sebagai tanda awal berfungsinya sistem kardiovaskuler pada tahap organogenesis.^{22,23} Penggunaan embrio ayam dalam penelitian ini didukung oleh berbagai faktor dari penelitian sebelumnya. Dari segi harga, embrio ayam lebih murah dibandingkan dengan hewan coba lainnya. Hasil menunjukkan bahwa embrio ayam baik digunakan sebagai model pembelajaran perkembangan hematopoiesis. Ini didukung dari berbagai model pembelajaran, embrio ayam dapat menjelaskan informasi baik secara molekuler maupun genomik mengenai perkembangan hematopietik dan morfogenesis serta abnormalitasnya.^{24,25}

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan eksperimental murni dengan menggunakan rancangan *randomized control group post test design*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Penelitian ini menggunakan hewan coba embrio ayam berumur kurang dari 1 hari dengan spesies *Gallus gallus* strain Cobb dari peternakan PT. Randu Agung Singosari,

Malang. Telur ayam yang sudah dibuahi dibagi menjadi 4 kelompok. Kelompok kontrol (A) dengan injeksi PBS 200 μ l, dan kelompok perlakuan paparan kurkumin pada kelompok B dengan dosis 12,5 μ M, Kelompok C dengan dosis 25 μ M, dan kelompok D 50 μ M. Perlakuan dilakukan dengan menginjeksikan kurkumin menggunakan *disposable syringe* 1 cc pada ujung tumpul telur, pada posisi horizontal. Kemudian ditutup dengan Vynil tape. Telur dibalik 180° dari posisi sebelumnya dan siap diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37,5 °C.

Pengamatan Sirkulasi *Yolk Sac*

Setelah diinkubasi, telur dipecah dan dituangkan pada NaCl 0.9 %. Pengamatan terhadap sirkulasi positif (+) bila sudah terdapat sinus terminalis. Jumlah embrio dengan sirkulasi positif (+) dibagi dengan jumlah telur dalam kelompok, hasilnya merupakan persentasi keberadaan sirkulasi *yolk sac* pada kelompok tersebut.

Pengambilan dan Fiksasi Bahan Coba

Embrio diambil menggunakan kertas saring yang diletakkan pada permukaan embrio. Kemudian membran vitelline digunting pada pinggir kertas saring dan embrio dicuci perlahan pada NaCl 0,9 % sebanyak dua kali. Setelah itu embrio difiksasi pada formalin 10 %.

Prosedur Immunohistokimia

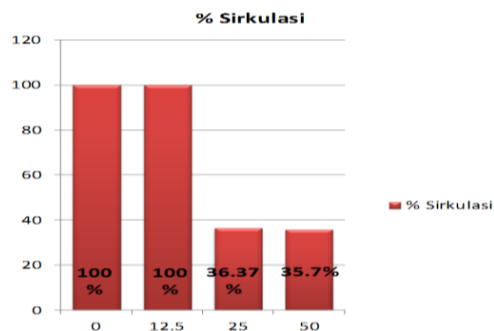
Waktu pengecatan selama 2 hari, pada hari pertama preparat disiapkan untuk di tetesi antibodi primer dan pada hari kedua disiapkan untuk pewarnaan embrio dan *counter staining*. Warna yang nampak pada preparat adalah cokelat dan ungu, di munculkan dengan kromagen DAB untuk warna cokelat dan Mayer hematoxilil untuk warna ungu. Setelah selesai preparat dapat diamati di bawah mikroskop dengan

mengamati morfologis embrio sesuai parameter yang digunakan.

HASIL

Sirkulasi *Yolk Sac*

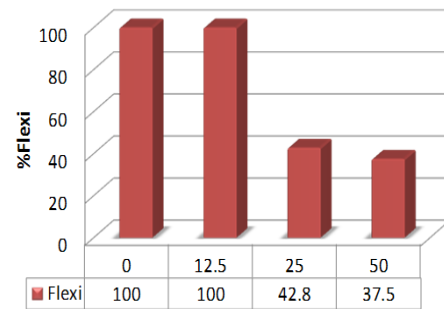
Pada tahap ini, sirkulasi *yolk sac* (+) ditandai dengan adanya sinus terminalis. Pengamatan keberadaan sirkulasi *yolk sac* embrio menunjukkan penurunan sesuai dengan dosis perlakuan (Gambar 1). Penurunan persentase sirkulasi *yolk sac* yang signifikan terjadi pada dosis 25 μM . Berdasarkan uji Chi-square diketahui terdapat penurunan yang signifikan ($p < 0,05$).



Gambar 1. Persentase sirkulasi *yolk sac* pada embrio ayam umur 48 jam dengan paparan kurkumin 0 μM , 12,5 μM , 25 μM , dan 50 μM .

Flexi Cranial

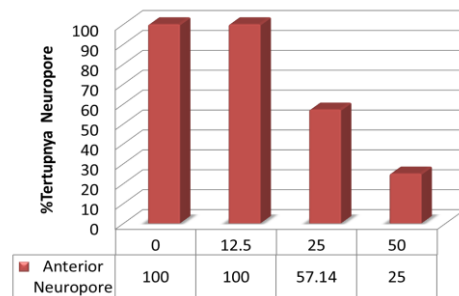
Flexi cranial dianggap positif (+) bila sudah terdapat *slight flexure*. Pengamatan flexi cranial embrio pada penelitian ini menunjukkan adanya kecenderungan untuk menurun sesuai dengan dosis perlakuan kurkumin (Gambar 2). Berdasar hasil uji Chi square diketahui penurunan tersebut bermakna ($p < 0,05$).



Gambar 2. Persentase flexi cranial pada embrio ayam umur 48 jam dengan paparan kurkumin 0 μM , 12,5 μM , 25 μM , dan 50 μM .

Neuropore Anterior

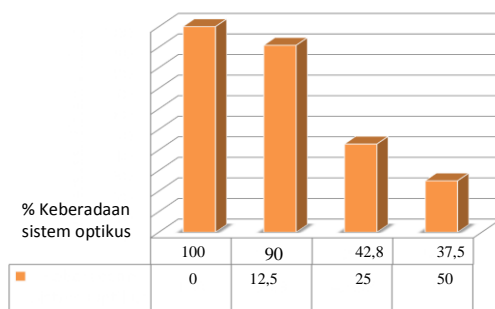
Pengamatan neuropore embrio pada penelitian ini menunjukkan adanya kecenderungan untuk menurun sesuai dengan dosis perlakuan kurkumin (Gambar 3). Berdasar uji statistik menggunakan uji Chi square diketahui penurunan tersebut bermakna secara statistik ($p < 0,05$).



Gambar 3. Persentase neuropore anterior pada embrio ayam umur 48 jam dengan paparan kurkumin 0 mM, 12,5 mM, 25 mM, dan 50 mM.

Sistem Optikus

Pengamatan sistem optikus embrio pada penelitian ini menunjukkan adanya kecenderungan untuk menurun sesuai dengan dosis perlakuan kurkumin (Gambar 4). Berdasarkan hasil uji Chi square diketahui penurunan tersebut bermakna ($p < 0,05$).



Gambar 4. Persentase sistem optikus pada embrio ayam umur 48 jam dengan paparan kurkumin 0 mM, 12,5 mM, 25 mM, dan 50 mM.

Scoring Total Embrio

Dalam penelitian ini skor total embrio terdiri dari sirkulasi *yolk sac*, neuropore anterior, sistem optik dan flexi cranial. Pemberian skor dilakukan menggunakan tabel *scoring* embrio dari Drake *et al* (2006) (Tabel 1). Data *scoring* bisa dilihat pada Tabel 2. Sistem pembobotan tiap parameter tidak sama, dengan flexi cranial sebagai indikator dengan rentang nilai paling luas sehingga skor total embrio banyak dipengaruhi oleh parameter ini. Hasil perhitungan skor total berdasarkan uji ANOVA bermakna secara statistik ($p < 0,05$).

Tabel 1. Skor total embrio (Drake *et al*, 2006).

Parameter	0	1	2	3	4	5	6
Yolk sac circulation	-	-	No distinct sinus terminalis	Distinct sinus terminalis	Circulation; established vascular network	-	-
Neuropore anterior	-	-	Open	Closed	-	-	-
Flexi cranial	-	No flexure	Cranial flexure indicated	Slight cranial flexure	Cranial flexure	Broad curve	Forebrain and hindbrain axes at 90°
Optic system	No optic development	-	Optic vesicles presents	-	-	-	-

Tabel 2. Skor total embrio pada embrio ayam umur 48 jam dengan paparan kurkumin 0 mM, 12,5 mM, 25 mM, dan 50 mM.

Konsentrasi (μM)	Skor	SD	SEM
0	11.43	0.532	0.202
12.5	11.09	1.221	0.368
25	7.43	2.699	1.020
50	6.63	1.188	0.420

PEMBAHASAN

Sirkulasi Yolk Sac

Pada embrio ayam umur 48 jam ditandai dengan sudah terbentuknya sinus terminalis beserta jantung yang berdenyut yang dapat dilihat dengan mata tanpa menggunakan alat bantu. Pada Kelompok A dan B tidak terdapat gangguan pembentukan sistem vaskuler ditandai adanya sinus terminalis.

Sementara pada kelompok C dan D hasil menunjukkan tidak adanya sinus terminalis. Hal ini mungkin disebabkan oleh supresi kurkumin pada tingkat molekuler yang mendukung proses pertumbuhan dan perkembangan sistem vaskuler tersebut. Adapun hipotesis ini didukung oleh penelitian-penelitian sebelumnya yang menjelaskan dari aspek molekuler. Pada penelitian Bae *et al* (2006), kurkumin

menghambat kerja HIF-1 α . HIF-1 α berperan sebagai faktor pemicu hipoksia pada awal proses vaskulogenesis.²⁶ Kurkumin juga mensupresi sekresi FGF pada FGF *signaling pathway* yang berdampak pada terhambatnya proses *sprouting* dan *remodelling* sel endotel.²⁷

Mekanisme kerja kurkumin sebagai antiangiogenik juga mensupresi faktor proangiogenik salah satunya TGF- β . Proses supresi dari TGF- β ini dapat menyebabkan kecacatan pada perkembangan sirkulasi *yolk sac* dan berakibat pada kelangsungan hidup embrio tikus.^{28,29} Penelitian tersebut mendukung hasil penelitian ini karena bila faktor-faktor molekuler yang mendukung proses pertumbuhan dan perkembangan sistem vaskuler terhambat, maka pembentukannya akan terhambat pula dan dapat menyebabkan retardasi pembuluh darah.

Flexi Cranial

Flexi cranial merupakan representasi dari kemajuan perkembangan otak dan jantung yang ditandai oleh menekuknya kepala embrio dan disertai penurunan jantung dari cranial ke bawah. Terbentuk *slight flexi cranial* yang ditandai dari menekuknya kepala ke depan dan posisi jantung juga mulai turun.³⁰ Pada penelitian ini, di kelompok A (kontrol) dan B (injeksi kurkumin 12.5 μ M) hasil menunjukkan terbentuknya *slight flexi cranial*. Sementara pada kelompok C dan D hasil menunjukkan baru terdapat indikasi *flexi cranial* bahkan terdapat sampel dengan tidak ada indikasi *flexi cranial*. Pada penelitian ini diduga kurkumin menghambat pembentukan jantung dan vaskuler melalui supresi faktor-faktor molekuler sehingga bisa menyebabkan terhambatnya proses penurunan posisi jantung yang berakibat pada terhambatnya proses *flexi cranial*. Proses organogenesis salah satunya perkembangan otak dan jantung,

membutuhkan nutrisi dan oksigen yang adekuat. Bila terdapat hambatan pada proses transportasi tersebut maka proses perkembangannya tidak dapat berjalan dengan baik. Kurkumin diduga menghambat di sebagian besar faktor proangiogenik termasuk FGF dan TGF- β . TGF- β yang berperan pada tahap awal induksi pembentukan jantung dan mengontrol perkembangan jantung.³¹ Dalam berbagai riset, FGF dibuktikan peranannya dalam proses seluler seperti migrasi sel, angiogenesis, diferensiasi dan menginduksi sel-sel kardiak.³² Bila faktor-faktor tersebut dihambat maka proses perkembangan jantung pun terhambat sehingga dapat berakibat pada perkembangan *flexi cranial*.

Neuropore Anterior

Neuropore anterior merupakan representasi perkembangan awal sistem saraf dan jantung. Neuropore anterior merupakan ujung cranial dari neural tube yang masih terbuka. Pada embrio ayam umur 48 jam ditandai dengan proses penutupan neuropore anterior secara sempurna yang menandakan perkembangan otak dan sistem saraf bagian rostral. Pada kelompok A dan B, hasil menunjukkan neuropore anterior telah tertutup. Pada kelompok C dan D, hasil menunjukkan keadaan neuropore anterior yang sudah tertutup di bawah 50 % dari jumlah sampel masing-masing kelompok. Pada penelitian ini diduga kurkumin dapat menghambat pertumbuhan sistem vaskuler melalui supresi faktor molekuler yang juga berdampak pada perkembangan sistem saraf (neuropore anterior). Penelitian terdahulu menjelaskan hubungan sistem vaskuler dengan terjadinya abnormalitas pada neural tube embrio.

Hasil penelitian menunjukkan inaktivasi dari sel-sel endotel menyebabkan perdarahan embrio, abnormalitas pada jantung dan penutupan neural tube pada

bagian cranial.³³ Penelitian lain menjelaskan proses vaskularisasi dalam perkembangan neural tube embrio tikus tergantung dari proses *sprouting* dari *peri-neural vascular plexus* (PNVP) yang mengelilingi neural tube. Faktor penting yang mendukung proses ini adalah VEGF yang berperan pula secara spesifik dalam penutupan neural tube khususnya pada keadaan peningkatan oksigen yang dibutuhkan untuk pertumbuhan sel. VEGF juga terekspresi pada motor neuron dan daerah sekitarnya yang mendukung proses *sprouting* dari PNVP untuk mendukung sistem transportasi O₂ dan nutrisi sel-sel neural.³⁴ Pengaruh kurkumin pada perkembangan neural masih perlu diuji untuk memastikan peranannya sebagai faktor pendukung atau penghambat. Penelitian Kim *et al* (2008), menjelaskan peran kurkumin adalah mendukung proliferasi pada dosis rendah yaitu 500 nM dan pada dosis di atas 10 µM kurkumin menunjukkan efeknya dalam menghambat proliferasi *neuro progenitor cell* (NPC).³⁵

Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat dikaitkan dengan hasil penelitian ini untuk mengetahui pengaruh kurkumin dalam penutupan neurophore anterior yang membutuhkan kinerja sel-sel neural ditunjukkan terutama pada kelompok C (25 µM) terjadi penurunan persentasi yang signifikan. Hal ini diduga pengaruh kurkumin pada embrio adalah dapat menghambat baik sistem vaskuler maupun neural.

Sistem Optikus

Sistem optikus merupakan representasi dari cikal bakal penglihatan pada embrio. Pada embrio ayam umur 48 jam ditandai adanya *bilateral optic vesicle* pada area *forebrain* seluruh sampel di kelompok A dan sebagian besar sampel kelompok B terdapat *optic vesicle*. Pada kelompok C dan D hasil pengamatan *optic vesicle* di bawah 50 % dari total sampel tiap kelompok. Pada penelitian ini, mekanisme kurkumin dalam

menghambat pembentukan *optic vesicle* disebabkan oleh pengaruh kurkumin terhadap faktor molekuler yang mendukung vaskularisasi daerah *forebrain* yang juga melibatkan area perkembangan sistem optikus. Selain itu, kurkumin diduga menghambat sel-sel neural yang dapat berakibat pada perkembangan sistem optikus. Hal ini disebabkan oleh sel-sel neural terutama area *forebrain* merupakan sumber perkembangan sistem optikus. Proses evaginasi *optic vesicle* juga diiringi dengan perkembangan vaskuler primer yang bersumber dari *perineural vascular plexus* yaitu *choroidal vascular*. Proses vaskularisasi tersebut akan menutrisi dan menyalurkan O₂ untuk mendukung pertumbuhan *optic vesicle*.³⁶

Dalam pertumbuhan choroidal vaskuler juga didukung oleh berbagai faktor molekuler seperti *basic fibroblast growth factor* (bFGF), *and vascular endothelial growth factor* (VEGF). Sama halnya dengan proses vaskuloangiogenesis di tiap pertumbuhan embrio, faktor molekuler yang mendukung proses tersebut berfungsi dalam proses *remodelling* dan *sprouting* pembuluh darah.^{37,38} Penelitian pendukung lainnya adalah pada ibu hamil dengan umur kehamilan 3 minggu, senyawa etanol menyebabkan kerusakan primer pada area *forebrain* dan kemudian meluas pada abnormalitas sistem optikus yaitu *microphthalmia*, *anterior segment dysgenesis* (*Peters' anomaly*), *iris dan optic nerve colobomas*, dan *persistant hyperplastic primary vitreous*.³⁹ Pada penelitian ini, kurkumin memberikan pengaruh dalam menghambat perkembangan vaskuler beserta faktor molekuler seperti faktor pertumbuhan dan transkripsi untuk sel-sel endotel tersebut. Begitu juga pada vaskularisasi sistem optikus tersebut.

Scoring Total Embrio

Scoring total embrio menggambarkan hasil pengamatan makroskopis terhadap sistem saraf, sistem optikus dan sirkulasi yang bisa diamati pada embrio ayam umur 48 jam dengan pengecatan imunohistokimia. Keterkaitan sistem vaskuler yang menopang proses pertumbuhan dan perkembangan sistem lainnya pada embrio dapat menghasilkan kesimpulan bahwa gangguan yang terjadi pada sistem vaskuler diduga berdampak pula pada sistem lainnya, dalam penelitian ini diamati pada sistem saraf dan sistem optikus.

KESIMPULAN

1. Pemberian kurkumin pada embrio ayam umur 48 jam menyebabkan:
 - Gangguan pada sirkulasi *yolk sac* embrio ayam melalui pengaruhnya terhadap retardasi perkembangan pembuluh darah.
 - Gangguan pada perkembangan jantung dan otak pada embrio yang ditandai dengan retardasi bentuk *flexi cranial* yang tidak sesuai dengan perkembangan usia.
 - Gangguan pada perkembangan persyarafan dan calon sistem penglihatan yang ditandai dengan tetap terbukanya neuropore anterior dan tidak adanya sistem optikus pada embrio yang diberi perlakuan.
2. Dosis batas kurkumin yang memberikan efek signifikan yaitu pada konsentrasi 25 μ M.

SARAN

Perlu penelitian lebih lanjut mengenai dosis kurkumin yang aman dikonsumsi oleh ibu hamil.

DAFTAR PUSTAKA

1. Chaiworapongsa T, Romero R, Kusanovic JP *et al.* Unexplained Fetal Death is Associated with Increased Concentrations of Antiangiogenic Factors in Amniotic Fluid. *J Matern Neonatal Med.* 2010; 23(8): 794-805.
2. Heron MP, Hoyert DL, Murphy SL, Xu JQ, Kochanek KD, Tejada-Vera B. Deaths: Final data for 2006. National vital statistic reports. Hyattsville MD : National Center for Health Statistics. 2009; 57(14).
3. Sadler TW. *Langman's Medical Embryology.* 7th edition. Baltimore: William & Wilkins. 1995.
4. Ferguson JE, Kelley RW, Patterson C. Mechanisms of Endothelial Differentiation in Embryonic Vasculogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005; 25:2246-2254.
5. van der Guus B. *Early Development from a Phenomenological Point of View.* Amsterdam: Louis Bolk Instituut. 2001.
6. Wang Y and Zhao S. *Vascular Biology of the Placenta.* California: Morgan & Claypool Life Sciences San Rafael. 2010.
7. Oklu R, Walker TG, Wicky S, Hesketh R. Angiogenesis and Current Antiangiogenic Strategies for the Treatment of Cancer. *J Vasc Interv Radiol.* 2010; 21:1791–1805.
8. Papetti M and Herman IM. Mechanisms of Normal and Tumor-derived Angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2002; 282(5):C947-C970.
9. Romero *et al.* An Imbalance between Angiogenic and Anti-Angiogenic Factors Precedes Fetal Death in a Subset of Patients: Results of a Longitudinal Study. *The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine.* 2010; 23(12):1384–1399.
10. Edwards *et al.* Expression of Angiogenic Basic Fibroblast Growth Factor Platelet Derived Growth Factor, Thrombospondin-

- 1 and Their Receptor the Porcine Maternal-Fetal Interface. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2011; 9:5.
11. Kunchandy E and Rao MNA. Oxygen Radical Scavenging Activity of Curcumin. *Int J Pharmacol*. 1990; 58: 237-40.
 12. Huang MT, Lou YR, Ma W *et al*. Inhibitory Effects of Dietary Curcumin on Forestomach, Duodenal, and Colon Carcinogenesis in Mice. *Cancer Res*. 1994; 54:5841-7.
 13. Babu KS and Srinivasan K. Hypolipidemic Action of Curcumin, the Active Principle of Turmeric (*Curcuma longa*) in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Mol Cell Biochem*. 1997; 166:169-75.
 14. Arun N and Nalini N. Efficacy of Turmeric on Blood Sugar and Polyol Pathway in Diabetic Albino Rats. *Plant Foods Hum Nutr*. 2002; 57:41-52.
 15. Li L, Braiteh FS, Kurzrock R. Liposome-Encapsulated Curcumin: In Vitro And In Vivo Effects on Proliferation, Apoptosis, Signaling, and Angiogenesis. *Cancer*. 2005; 104:132-231.
 16. Lin YG, Kunnumakkara AB, Nair A *et al*. Curcumin Inhibits Tumour Growth and Angiogenesis in Ovarian Carcinoma by Targeting the Nuclear Factor-Kappa β Pathway. *Clin Cancer Res*. 2007; 13: 3423-30.
 17. Oyagbemi AA, Saba AB, Ibraheem AO. Prevention Curcumin: from Food Spice to Cancer Prevention. *Asian Pacific J Cancer Prev*. 2010; 10:963-967.
 18. Vijayalaxmi. Genetic Effect of Turmeric and Curcumin in Mice and Rats. *Mutation Research*. 1980; 79(2):125-132.
 19. Liu D, Schwimer J, Liu Z, Eugene A, Woltering and Frank LG. Antiangiogenic Effect of Curcumin in Pure Versus in Extract Forms. *Pharmaceutical Biology*. 2008; 46:677-682.
 20. Chen CC, Hsieh MS, Hsuw YD, Huang FJ, and Chan WH. Hazardous Effects of Curcumin on Mouse Embryonic Development through a Mitochondria-Dependent Apoptotic Signaling Pathway. *Int J Mol Sci*. 2010; 11:2839-2855.
 21. Shiau RJ, Shih PC, Wen YD. Effect of Silymarin on Curcumin induced Mortality in Zebrafish (*Danio rerio*) Embryos and Larvae. *Indian Journal of Experimental Biology*. 2011; 49:491-497.
 22. O'Rahilly R. Early Human Development and the Chief Sources of Information on Staged Human Embryos. *Eur J Obstet Gynecol Biol*. 1979; 9(4):273-80.
 23. O'Rahilly R and Muller F. Developmental Stages in Human Embryos Including a Revision of Streeter "Horizons" and a Survey of the Carnegie Collection. Washington DC. 1987.
 24. Drake VJ, Koprowski SL, Lough JW, Smith SM. Gastrulating Chick Embryo as a Model for Evaluating Teratogenicity: A Comparison of Three Approaches. *Birth Defects Research (PartA): Clinical and Molecular Teratology*. 2006; 76:66-71.
 25. Sheng G. Primitive and Definitive Erythropoiesis in the Yolk Sac: A Bird's Eye View. *Int J Dev Biol*. 2010; 54:1033-1043.
 26. Bae MK, Kim SH, Jeong JW, Lee YM, Kim HS, Kim SR *et al*. Curcumin Inhibits Hypoxia-Induced Angiogenesis via Down Regulation of HIF-1. *Oncol Rep*. 2006; 15:1557-62.
 27. Mohan R, Sivak J, Ashton P, Russo LA, Pham BQ, Kasahara N *et al*. Curcuminoids Inhibit the Angiogenic Response Stimulated by Fibroblast Growth Factor-2, Including Expression of Matrix Metalloproteinase Gelatinase B. *J Biol Chem*. 2000; 275:10405-12.
 28. Dickson MC, Martin JS, Cousins FM, Kulkarni AB, Karlsson S, and Akhurst RJ. Defective Haematopoiesis and Vasculogenesis in Transforming Growth

- Factor-Beta 1 Knock Out Mice. *Development*. 1995; 121:1845-1854.
29. Goumans MJ and Mummery C. Functional Analysis of The TGFbeta Receptor/Smad Pathway Through Gene Ablation in Mice. *Int J Dev Biol*. 2000; 44:253-265.
30. Goodrum GR, Jacobson AG. Cephalic Flexure Formation in the Chick Embryo. *J Exp Zool*. 1981; 216:399-408.
31. Wagner M, Siddiqui MAQ. Signal Transduction in Early Heart Development (I): Cardiogenic Induction and Heart Tube Formation. *Exp Biol Med*. 2007; 232:852-865.
32. Bottcher RT, Niehrs C. Fiboblast Growth Factor Signaling during Early Vertebrate Development. *Endocr Rev*. 2005; 26(1):63-77/
33. Zwerts F, Lupu FI, De Vriese A *et al*. Lack of Endothelial Cell Survive in Causes Embryonic Defects in Angiogenesis, Cardiogenesis, and Neural Tube Closure. *The American Society of Hematology*. 2007; 109(11):4742-4752.
34. James JM, Gewolb C, and Bautch VL. Neurovascular Development Uses VEGF-A Signaling to Regulate Blood Vessel Ingression into the Neural Tube. *Development*. 2006;136:833-841.
35. Kim SJ, Son TG, Park HR *et al*. Curcumin Stimulates Proliferation of Embryonic Neural Progenitor Cells and Neurogenesis in the Adult Hippocampus. *J Biol Chem*. 2008; 283(21):14497-14505.
36. Saint-Geniez M, Maldonado AE, D'Amore PA. VEGF Expression and Receptor Activation in the Choroid during Development and in the Adult. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006; 47:3135-3142.
37. Gogat K, Le Gat L, van den Berghe L *et al*. VEGF and KDR Gene Expression During Human Embryonic and Fetal Eye Development. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004; 45:7-14.
38. Marneros AG, Fan J, Yokoyama Y *et al*. Vascular Endothelial Growth Factor Expression in the Retinal Pigment Epithelium is Essential for Choriocapillaris Development and Visual Function. *Am J Pathol*. 2005; 167:1451-1459.
39. Cook C. Embryogenesis of Congenital Eye Malformations. *Vet Comp Ophthalmol*. 1995; 5:109.