

The Effect of Aluminum Chloride on the Development of *Gallus gallus domesticus* Embryos at 48 Hours Incubation Period

Pengaruh Aluminium Klorida Terhadap Perkembangan Embrio *Gallus gallus domesticus* pada Masa Inkubasi 48 Jam

Aulia Devani Putri¹, Puji Ramadhani¹, Fanica Maisandha¹, Farrah Azzahra¹, Yuni Ahda¹, Yusni Atifah¹, Sandi Fransisco Pratama^{1*}

¹Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Padang, West Sumatera, Indonesia

*Correspondence author: sfpratama@fmipa.unp.ac.id

Abstract

Aluminum chloride is composed of aluminum (Al) and chlorine (Cl) ions that are yellowish or grayish white and have a strong odor. Aluminum chloride can cause disability during embryonic development and has the potential as a teratogen that can cause damage to the nervous system of animals and humans. The purpose of this study was to determine and compare the development of chicken embryos injected (treatment) AlCl_3 and embryos that were not given AlCl_3 (control) during the 48-hour incubation period at 37.5°C . Some parameters observed include embryo length, head diameter, number of somites and somite shape. Based on the results of research that has been done, the length of the control embryo is longer than the treatment embryo. The head diameter of the control embryo is larger than the treatment embryo. The number of somites in control embryos formed as many as 27 pairs, while in the treatment embryos no somites were formed, or the somites formed were less than they should be.

Key words *Embryonic development, Gallus gallus domesticus, Teratogens, Incubation*

Abstrak

Aluminium klorida terdiri dari ion aluminium (Al) dan klorin (Cl) yang berwarna kekuning-kuningan atau putih keabu-abuan dan berbau tajam. Aluminium klorida dapat menyebabkan kecacatan pada masa perkembangan embrio dan berpotensi sebagai teratogen yang dapat menyebabkan kerusakan pada sistem saraf hewan dan manusia. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui dan membandingkan perkembangan pada embrio ayam yang diinjeksi (perlakuan) AlCl_3 dan embrio yang tidak diberikan AlCl_3 (kontrol) masa inkubasi 48 jam pada suhu $37,5^\circ\text{C}$. Beberapa parameter yang diamati di antaranya yaitu panjang embrio, diameter kepala, jumlah somit dan bentuk somit. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, panjang embrio kontrol lebih panjang dibandingkan embrio perlakuan. Diameter kepala embrio kontrol yang lebih besar dibandingkan embrio perlakuan. Jumlah somit pada embrio kontrol terbentuk sebanyak 27 pasang, sedangkan pada embrio perlakuan tidak terbentuk somit, atau somit yang terbentuk berjumlah kurang dari semestinya.

Kata kunci *Perkembangan embrio, Gallus gallus domesticus, Teratogen, Inkubasi*

Pendahuluan

Aluminium klorida merupakan senyawa kimia utama yang terdiri atas aluminium dan klorin serta memiliki rumus kimia $AlCl_3$ (Chamarelza, 2019). Aluminium digunakan secara luas dalam berbagai bidang, seperti bahan tambahan makanan yang diproduksi dan juga ditambahkan ke air minum untuk pemurnian (Türkez *et al.*, 2010). Aluminium juga merupakan elemen penting dalam baterai dan banyak digunakan dalam obat-obatan seperti antasida dan aspirin buffer (Jaishankar *et al.*, 2014). Sama halnya dengan senyawa aluminium klorida ($AlCl_3$) yang banyak dimanfaatkan pada bidang industri seperti dalam manufaktur cat, penyulingan minyak, produksi karet sintetik, pembuatan detergen, dan sebagai bahan aktif dalam *antiperspirant deodorant* (Hariyanto, 2022).

Aluminium klorida ($AlCl_3$) adalah salah satu jenis aluminium yang banyak ditemukan pada industri kimia, digunakan sebagai katalis dalam reaksi Friedel-Crafts untuk reaksi asilasi maupun reaksi alkilasi (Hariyanto, 2022). Aluminium klorida memiliki tiga jenis bentuk yaitu larutan anhidrat, kristal, dan berair (kadar cair) dengan warna yang kekuning-kuningan atau putih keabu-abuan serta berbau tajam (Hariyanto, 2022; Nurhidayati, 2021). Senyawa kimia seperti aluminium klorida dan *chlorpyrifos* dapat bersifat toksik jika terpapar pada manusia atau hewan. *Chlorpyrifos* dapat menyebabkan abnormalitas pada embrio ikan wader pari (Adaninggar *et al.*, 2022), begitu juga dengan aluminium klorida juga dapat menyebabkan gangguan perkembangan pada embrio (Konda *et al.*, 2017).

Aluminium klorida dengan dosis tinggi jika terpapar pada tubuh manusia atau hewan akan berperan sebagai teratogen yang dapat menyebabkan gangguan pada perkembangan (Badawoud *et al.*, 2022). Embrio merupakan fase yang sangat rentan, karena pada fase tersebut sedang terjadi neurogenesis dan organogenesis, sehingga gangguan yang terjadi pada fase embrio dapat mempengaruhi bentuk tulang, sistem saraf, dan pembentukan organ tubuh. Jika kerusakannya cukup parah, bisa berakibat fatal dan menyebabkan kematian (Pratama *et al.*, 2021). Embrio memiliki kemampuan pertahanan antioksidan yang rendah selama tahap awal organogenesis dan lebih rentan terhadap efek teratogenik senyawa oksidatif (Pratama *et al.*, 2021).

Selama tahap awal perkembangan embrio, paparan bahan kimia tertentu dapat menyebabkan berbagai malformasi struktur jantung. Malformasi ini dapat mencakup kelainan pada orientasi dan posisi jantung, serta otot jantung (Pratama *et al.*, 2021). Jantung adalah organ pertama yang terbentuk dalam perkembangan embrio, khususnya vertebrata (Retnoaji *et al.*, 2023). Oleh karena itu, paparan bahan kimia beracun pada awal perkembangan dapat menyebabkan malformasi pada morfologi jantung. Menurut beberapa penelitian yang telah dilakukan, aluminium klorida dapat menyebabkan kecacatan pada masa perkembangan embrio dan berpotensi sebagai neurotoksisitas yang dapat menyebabkan kerusakan pada sistem saraf manusia dan hewan (Konda *et al.*, 2017). Aluminium klorida dapat memicu peningkatan radikal bebas pada berbagai organ seperti hati, ginjal, jantung, dan tulang (Fadl *et al.*, 2013). Pengetahuan tentang efek teratogen aluminium klorida dapat dilihat dengan menggunakan berbagai hewan coba salah satunya pada embrio ayam.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Badawoud *et al.* (2022), paparan $AlCl_3$ pada tikus betina dewasa menyebabkan peningkatan dan resorpsi praimplantasi pada kelompok dosis rendah dan dosis tinggi $AlCl_3$. Akibatnya terjadi penurunan jumlah corpora lutea, total implantasi, janin yang hidup, dan jumlah anak. Selain itu terjadi penambahan berat badan, uterus gravid, plasenta dan hati, serta berat ginjal pada kedua kelompok yang diberi $AlCl_3$. Kelompok yang diberikan perlakuan, berat organ tubuh berkurang secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Semua perubahan di atas bergantung pada dosis, dan lebih jelas terlihat pada penggunaan $AlCl_3$ dosis tinggi. Penelitian lain juga menyebutkan pemberian $AlCl_3$ pada mencit betina dapat

mengganggu pembentukan sel telur, yang berdampak pada tingkat kualitas oosit yang dihasilkan (Pratama, 2023; Azab *et al.*, 2008).

Penelitian ini dilakukan untuk membandingkan bagaimana perkembangan embrio aves *Gallus gallus domesticus* yang diberi $AlCl_3$ inkubasi 48 jam dengan embrio yang tidak diberi perlakuan (kontrol). Masa inkubasi sangat berpengaruh terhadap perkembangan embrio. Pada setiap waktu embrio akan berkembang membentuk organ-organ baru yang disebut dengan proses organogenesis (Zulfa *et al.*, 2021).

Bahan dan Metode

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam praktikum ini adalah inkubator, gelas arloji, petridish, gelas objek, kaca penutup, papan bedah, pinset, keranjang kecil, serbet kain, kertas label, *dissectinct set*, jarum suntik 2 mL dan 1 mL, tisu, serbet kertas, selotip kertas, kertas saring. Bahan yang digunakan adalah telur ayam (*Gallus gallus domesticus*) fertil, aluminium klorida, larutan fisiologis, *vaseline*, larutan fiksasi (bouin), *methylene blue*, *metacarmine*, alkohol konsentrasi berseri, xylol, kuteks bening (*canada balsam*) dan akuades.

Metode

a. Persiapan Larutan $AlCl_3$

Aluminium klorida ($AlCl_3$) dikoleksi dari Laboratorium Biologi FMIPA UNP, konsentrasi $AlCl_3$ yang digunakan sebanyak 0,2 mg dalam bentuk kristal atau butiran. $AlCl_3$ dimasukkan ke dalam gelas kimia lalu dilarutkan menggunakan 0,3 mL akuades dan aduk larutan tersebut hingga semua kristal atau butiran $AlCl_3$ terlarut.

b. Persiapan Embrio dan Injeksi $AlCl_3$ pada Embrio

Persiapan embrio dimulai dengan menentukan letak yolk pada telur melalui pencahayaan senter. Setelah lokasi yolk diketahui, cangkang telur dilubangi kurang lebih 0,1 mm dengan menggunakan jarum. Langkah berikutnya penginjeksian 0,4 mL aluminium klorida ($AlCl_3$) pada telur, tanpa mengenai bagian yolk kemudian sekitar lubang dibersihkan dengan tisu hingga kering. Lubang kemudian ditutup dengan selotip kertas.

Selanjutnya, telur ditempatkan dalam keranjang berlapis serbet kain dan serbet kertas bergulung sebagai alas, dengan posisi telur terlentang dan lubang di bagian atas. Selanjutnya, telur diinkubasi selama 48 jam dalam inkubator. Proses injeksi ini hanya diterapkan pada telur yang menerima perlakuan, sementara telur kontrol hanya menjalani identifikasi letak yolk sebelum diinkubasi dengan cara yang sama selama 48 jam.

c. Pembuatan Preparat Embrio

Telur yang telah diinkubasi 48 jam dikeluarkan dari inkubator dengan tetap mempertahankan posisinya. Buka cangkang telur, kemudian masukkan telur ke dalam kaca arloji yang sudah diolesi vaseline merata dan setipis mungkin. Buang yolk (kuning telur) menggunakan pipet tetes dan cuci embrio menggunakan larutan fisiologis sampai tidak ada lagi kuning telur yang melekat pada embrio. Embrio yang telah bersih direntangkan pada kaca arloji. Lalu, siapkan kertas saring yang telah dilubangi tengahnya dengan ukuran lebih besar dari embrio. Selanjutnya, pasang kertas saring pada embrio tepat berada di tengah lingkaran dan tidak menempel pada kertas saring yang tidak dilubangi.

Tahap berikutnya, pindahkan embrio dengan posisi menempel pada kertas saring ke dalam cawan petri yang berisi larutan fiksasi (bouin), hingga seluruh embrio terendam. Waktu fiksasi selama 12 jam. Setelah proses fiksasi, embrio yang masih melekat pada kertas saring dimasukkan dalam akuades guna membersihkan larutan bouin. Kegiatan dilanjutkan dengan merendam embrio pada alkohol berseri menurun 70%, 50%, 35% selama masing-masing 10 menit. Setelah itu, cuci kembali dengan akuades.

Tahap selanjutnya, yaitu pewarnaan menggunakan dua larutan yakni *methylene blue* selama 5 menit dan *metacarmine* selama 2 menit. Ulangi pencucian menggunakan akuades untuk mengurangi kelebihan zat pewarna, kemudian lakukan tahapan pencucian, menggunakan alkohol berseri meningkat dengan konsentrasi 35%, 50%, 70%, 80%, 90% masing-masing selama 30 menit dan alkohol dengan konsentrasi 96% selama 15 menit.

Tahap penjernihan, menggunakan xylol yang dicampur alkohol. Dengan perbandingan xylol : alkohol 1:3 selama 10 menit dan 1:1 selama 10 menit. Dilanjutkan dengan perbandingan 3:1 selama 5 menit dan xylol murni selama 2 menit. Maka dari itu, blastoderm dalam xylol akan menjadi kaku dan keras. Blastoderm atau kertas saring pada waktu dalam campuran xylol ataupun dalam xylol murni tetap rata dan tidak melengkung.

Tahap terakhir, embrio dibersihkan dari selaput-selaput saraf yang masih tersisa. Kemudian embrio diletakkan di atas kaca objek yang sudah bersih lalu pada tepi kaca objek diberikan kuteks (*canada balsam*). Kemudian, tutup menggunakan kaca penutup agar kuteks dan embrio tertutup merata.

d. Pengamatan Embrio

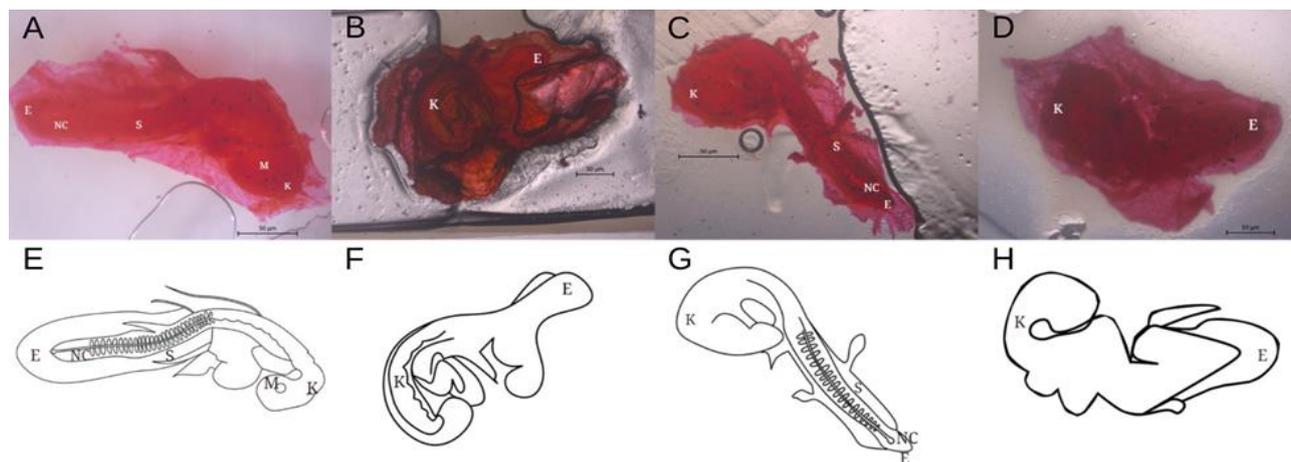
Pengamatan yang dilakukan dalam penelitian untuk melihat pengaruh dari $AlCl_3$ pada perkembangan embrio *Gallus gallus domesticus* dengan merujuk pada beberapa parameter yang diamati yaitu panjang embrio, diameter kepala, jumlah somit, dan bentuk somit.

Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian yang telah dilakukan terhadap embrio ayam kampung (*Gallus gallus domesticus*) yang mana perkembangannya dibantu oleh manusia melalui inkubator, tanpa pengeraman langsung dari induk ayam tersebut. Penelitian ini mengamati perbandingan perkembangan embrio normal dengan embrio yang diberi perlakuan injeksi aluminium klorida ($AlCl_3$). Sebanyak 5 telur kontrol hanya 1 telur yang dapat diamati perkembangannya, sedangkan dari 5 telur perlakuan terdapat 3 embrio yang dapat diamati perkembangannya. Berikut hasil pengamatan embrio yang didapatkan dalam penelitian ini.

a. Panjang Total Embrio Kontrol dan Perlakuan

Pada panjang embrio didapatkan hasil bahwa embrio kontrol lebih panjang daripada embrio perlakuan. Berdasarkan data yang didapatkan, embrio kontrol memiliki panjang 0,47 cm, sedangkan pada embrio perlakuan embrio 1 diperoleh panjang 0,39 cm, perlakuan embrio 2 diperoleh panjang 0,41 cm dan perlakuan embrio 3 diperoleh panjang 0,44 cm. Dapat dilihat bahwa embrio kontrol lebih panjang daripada embrio perlakuan. Hasil ini sesuai dengan penelitian ElMazoudy dan Bekhet (2016), di mana panjang kepala hingga ekor embrio ayam pada dosis 2 atau 4 mL $AlCl_3$ secara signifikan lebih rendah dibandingkan kontrol (tanpa injeksi).

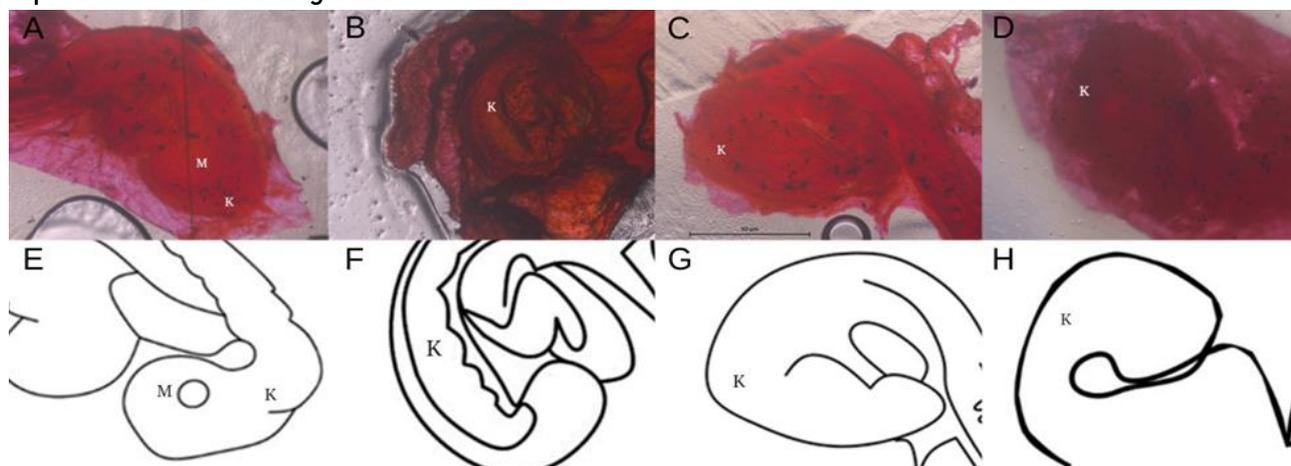


Gambar 1. Bentuk panjang total embrio kontrol dan perlakuan pada perbesaran 50 μm . (A : Kontrol, B : Perlakuan 1, C : Perlakuan 2, D : Perlakuan 3, E : Sketsa kontrol, F : Sketsa perlakuan 1, G : Sketsa perlakuan 2, H : Sketsa perlakuan 3). K (Kepala), M (Mata), S (Somit), NC (Notochord), E (Ekor).

b. Diameter Kepala Embrio Kontrol dan Perlakuan

Parameter yang diamati berikutnya yaitu mengenai diameter kepala embrio inkubasi 48 jam. Pada embrio kontrol, didapatkan diameter kepala yang lebih besar dibandingkan embrio perlakuan yaitu 0,1 cm. Adapun diameter kepala pada ketiga embrio yang diberi perlakuan injeksi AlCl_3 , didapatkan embrio 1 dengan diameter kepala 0,095 cm, embrio 2 0,088 cm dan embrio 3 0,089 cm. Diameter kepala embrio memiliki korelasi erat dengan perkembangan otak, merupakan sistem saraf pusat yang dilindungi oleh tempurung kepala.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Oğuz *et al.*, (2012), dimana pemberian aluminium (Al) ini menunjukkan peningkatan kadar MDA (*Malondialdehyde*) dan penurunan kadar GSH (*Glutathione Sulph Hydri*) secara signifikan. Hal ini disertai dengan penurunan volume otak secara signifikan, sebagai ukuran degenerasi saraf selama perkembangan otak pada model perkembangan embrio ayam *broiler ross*. Di dalam penelitian Oğuz *et al.*, (2012) juga memaparkan terkait efek Al terhadap kelinci yang terlihat pada tingkat korteks serebral, dan terhadap tikus terlihat efek dari Al tersebut lebih meluas pada tingkat hipokampus, otak kecil, medula oblongata, hipotalamus dan batang otak.

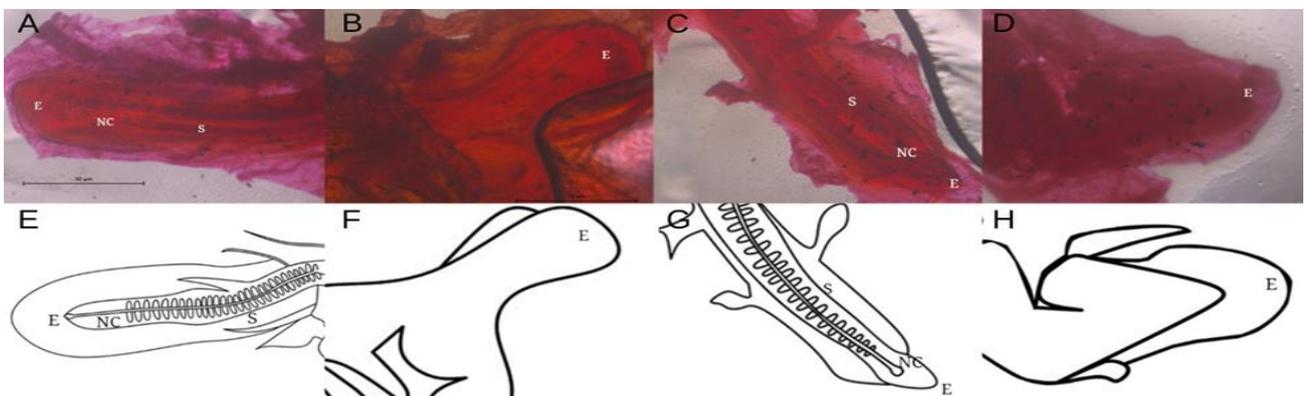


Gambar 2. Kepala embrio kontrol dan perlakuan pada perbesaran 50 μm . (A : Kontrol, B : Perlakuan 1, C : Perlakuan 2, D : Perlakuan 3, E : Sketsa kepala kontrol, F : Sketsa kepala perlakuan 1, G : Sketsa kepala perlakuan 2, H : Sketsa kepala perlakuan 3). K (Kepala), M (Mata).

c. Jumlah dan Bentuk Somit Embrio Kontrol dan Perlakuan

Embrio yang tidak diberi perlakuan atau embrio kontrol, pada inkubasi 24 jam bagian ovarium dan jumlah somit sudah terlihat sebanyak 3 pasang. Selanjutnya pada inkubasi 36 jam, sebagian usus sudah terlihat dan telah terbentuk 15 pasang somit. Kemudian inkubasi 48 jam, terlihat usus besar, bakal otak dan 27 pasang somit. Berikutnya inkubasi 60 jam, mata dan lensa mata sudah mulai terlihat, dan terbentuk 39 pasang somit. Akhirnya, inkubasi 72 jam, terbentuknya organ-organ tertentu yang sudah terlihat jelas, dan terdapat somit sebanyak 51 pasang (Zulfa et al., 2021). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian embrio normal yang telah didapatkan yaitu pada masa inkubasi 48 jam sudah terbentuk organ-organ utama seperti kepala, somit, ekor dan *notochord*. Jumlah somit yang terbentuk sebanyak 27 pasang. Organ lainnya juga sudah mulai terbentuk, walaupun belum dapat diamati dengan baik seperti mata, otak, jantung dan hati.

Pada embrio yang diberi perlakuan $AlCl_3$ 0,4 mL dengan inkubasi 48 jam, terjadi kelainan organ maupun somitnya di mana pada embrio perlakuan 1 tidak ditemukannya somit yang terbentuk. Berbeda dengan embrio sebelumnya, pada embrio perlakuan 2 terbentuk somit yang berjumlah 18 pasang. Jumlah somit berkurang dari yang seharusnya, hal ini merupakan efek teratogen ($AlCl_3$) yang diberikan. Begitupun efek teratogen pada embrio perlakuan 3, juga tidak terlihat adanya somit.



Gambar 3. Badan dan ekor embrio kontrol dan perlakuan pada perbesaran $50 \mu m$. (A : Kontrol, B : Perlakuan 1, C : Perlakuan 2, D : Perlakuan 3, E : Sketsa badan kontrol, F : Sketsa ekor perlakuan 1, G : Sketsa badan perlakuan 2, H : Sketsa ekor perlakuan 3). S (Somit), NC (*Notochord*), E (Ekor).

Dari hasil pengamatan yang telah dilakukan, terdapat perbedaan kelainan yang terbentuk akibat pengaruh dari $AlCl_3$ pada embrio perlakuan. Hal ini disebabkan oleh beberapa kemungkinan seperti perbedaan dalam perlakuan atau kondisi lingkungan yang mempengaruhi perkembangan embrio. Perbedaan suhu atau faktor lingkungan lainnya dapat berkontribusi pada perbedaan perkembangan embrio, termasuk pembentukan somit. Faktor lainnya yang mempengaruhi pembentukan somit melibatkan regulasi genetik dan interaksi kompleks antara gen-gen dan lingkungan seperti mutasi genetik, ketidakseimbangan nutrisi, atau stres lingkungan dapat mempengaruhi pembentukan somit selama perkembangan embrio.

Kelainan pembentukan organ-organ pada embrio yang diberikan zat teratogen ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh ElMazoudy dan Bekhet (2016), yang mana efek dari pemberian aluminium (Al) yang diinjeksikan ke dalam kuning telur, ternyata mempengaruhi sistem kardiovaskularnya. Berat telur, tubuh, jantung, otak, hati, dan limpa menunjukkan bobot yang tidak normal secara toksikologi. Secara histologis, ruang jantung terlihat jelas pada embrio kontrol, sedangkan pada embrio yang diberi 2 atau 4 mg Al, jantung gagal berkembang secara normal.

Kesimpulan

Zat teratogen aluminium klorida ($AlCl_3$) berpengaruh dan dapat menghambat perkembangan embrio *Gallus gallus domesticus*, terbukti dari parameter yang telah diamati. Dapat dilihat pada panjang embrio kontrol lebih panjang dari embrio perlakuan, begitupun pada diameter kepala, embrio kontrol memiliki diameter kepala yang lebih besar daripada embrio perlakuan. Jumlah somit embrio kontrol lebih banyak daripada embrio perlakuan, sedangkan terkait bentuk somit pada embrio kontrol maupun perlakuan tidak dapat dibedakan dengan jelas, somit hanya berbentuk seperti segmen-segmen yang tersusun rapi dibagian mesoderm.

Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kepada dosen pembimbing Ibu Dr. Yuni Ahda, S.Si., M.Si, Ibu Yusni Atifah, S.Si., M.Si. dan Bapak Sandi Fransisco Pratama S.Si., M.Sc. juga kepada asisten dosen Bang Aldi Wahyuda Vestimarta dan Kak Nadira, dan khususnya kepada seluruh anggota kelas Biologi Sains E 22 yang telah membantu dalam menyelesaikan penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Adaninggar, A., Raharjeng, A. R. P., Sani, L. P. A., Harahap, J. O., Blatama, D., Pratama, S. F., Nuriliani, A., Retnoaji, B., & Saragih, H. T. S. S. (2022). Effect of Chlorpyrifos on Embryo Development of Wader Pari Fish (*Rasbora lateristriata* Bleeker, 1854). *Berkala Ilmiah Biologi*, *13*(2), 21–31. <https://doi.org/10.22146/bib.v13i2.4766>
- Azab, M., Mayyas, I., Elbetieha, A., Ali, shoter, Khamas, W., & Elnasser, Z. (2008). Toxicity Evaluation of Aluminium Chloride on Adult Female Mice. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, *7*.
- Badawoud, M. H., Abdel-aziz, G., El-Fark, M. M., & Badawoud, H. M. (2022). The Effect of Aluminum Exposure on Maternal Health and Fetal Growth in Rats. *Cureus*, *14*(11), 1–9. <https://doi.org/10.7759/cureus.31775>
- Chamarelza, S. (2019). Fakultas Kedokteran Universitas Andalas 1. *Jurnal Fakultas Kedokteran Universitas Andalas* *1*, *60*(Dm), 29–30.
- ElMazoudy, R. H., & Bekhet, G. A. (2016). In ovo toxico-teratological effects of aluminum on embryonic chick heart and vascularization. *Environmental Science and Pollution Research*, *23*(21), 21947–21956. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7461-z>
- Fadl, N. N., Ahmed, H. H., Booles, H. F., & Sayed, A. H. (2013). Serrapeptase and nattokinase intervention for relieving Alzheimer's disease pathophysiology in rat model. *Human and Experimental Toxicology*, *32*(7), 721–735. <https://doi.org/10.1177/0960327112467040>
- HARIYANTO, A. (2022). PRA RENCANA PABRIK "PABRIK ALUMINIUM CHLORIDE ANHYDROUS DARI ALUMINIUM SCRAP DAN GAS CHLORINE DENGAN PROSES CHLORINASI.
- Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B. B., & Beeregowda, K. N. (2014). Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary Toxicology*, *7*(2), 60–72. <https://doi.org/10.2478/intox-2014-0009>
- Konda, V. R., Eerike, M., Chary, R. P., Arunachalam, R., Yeddula, V. R., Meti, V., & Devi, T. S. (2017). Effect of aluminum chloride on blood glucose level and lipid profile in normal, diabetic and treated diabetic rats. *Indian Journal of Pharmacology*, *49*(5), 357.
- Nurhidayati, E. (2021). Hubungan Antara Pemberian Aluminium Dengan Gambaran Histopatologi

- Hati Tikus Wistar Jantan. *Digital Repository Universitas Jember, September 2019, 2019–2022.*
- Pratama, F. D. (2023). *Pengaruh Penggunaan Propolis terhadap Jumlah Ovulasi, Kualitas Oosit dan Angka Fertilitas pada Mencit yang Diberi Aluminium.* UNIVERSITAS JAMBI.
- Pratama, S. F., Ana, I. D., & Retnoaji, B. (2021). The Effect of Carbonate Hydroxyapatite (CHA) Dental Implant Material on the Early Development of Zebrafish Embryos (*Danio rerio*). *Proceedings of the 3rd KOBICONGRESS, International and National Conferences (KOBICINC 2020), 14(Kobicinc 2020), 307–312.* <https://doi.org/10.2991/absr.k.210621.052>
- Retnoaji, B., Nurhidayat, L., Pratama, S. F., Anshori, K., Hananya, A., Sofyantoro, F., & Bessho, Y. (2023). Embryonic development of Indonesian native fish yellow rasbora (*Rasbora lateristriata*). *Journal of King Saud University - Science, 35(7), 102810.* <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2023.102810>
- Türkez, H., Yousef, M. I., & Geyikoglu, F. (2010). Propolis prevents aluminium-induced genetic and hepatic damages in rat liver. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association, 48(10), 2741–2746.* <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.06.049>
- Zulfa, S., Yogica, R., Atifah, Y., & D, F. A. (2021). The Effect of Different Incubation Periods on Embryo Development of *Gallus gallus domesticus* Pengaruh Perbedaan Masa Inkubasi terhadap Perkembangan Embrio *Gallus gallus domesticus*. *Prosiding SEMNAS BIO 2021 Universitas Negeri Padang, 1, 567–573.*