

MORFOLOGI KROMOSOM SELAMA NEURULASI PADA EMBRIO KATAK *RANA CANCRIVORA*

(CHROMOSOME MORPHOLOGY DURING NEURULATION IN
RANA CANCRIVORA EMBRYO)

Dewi Imelda Roesma

Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Andalas

ABSTRACT

Neurulation is the beginning of the nervous system formation which involved changes of ectodermal cells of the prospective neural region followed by the formation of the neural neural plate, neural fold and neural tube. It was assumed that morphological changes of the embryo during neurulation is in accordance with chromosomal changes. The aim of this observation is to compare the chromosome morphology of the three neural stage in *R. cancrivora* embryos. Chromosomal morphology was determined by analyzing metaphase chromosomes of embryos during the three neural stages according to Inai *et al.* and Yamamoto *et al.* From the result it could be concluded that there is statistical differences in chromosome morphology could be observed in embryos during neurulation.

PENDAHULUAN

Interaksi antara notokord dengan lapisan ektoderm neural merupakan salah satu interaksi yang sangat penting dari seluruh perkembangan hewan. Interaksi ini dikenal dengan induksi neural yang lazim juga disebut dengan induksi primer. Awal dari perkembangan sistem saraf dimulai dari induksi ektoderm neural, sebagai sistem penerima stimulus induktif (jaringan responsif) oleh notokord sebagai sistem pemberi stimulus induktif (jaringan induktor). Proses awal pembentukan sistem saraf dikenal dengan neurulasi. Secara umum, neurulasi dinyatakan sebagai proses perkembangan awal sistem saraf yang dimulai dengan pembentukan keping neural, lipatan neural dan berakhir dengan terbentuknya bumbung neural. Embrio pada stadium ini dikenal sebagai neurula (Gilbert, 1985; Gurdon, 1987).

Seluruh perubahan yang terjadi selama interaksi induktif, berlangsung di bawah pengendalian genetik dengan adanya pola aktivitas genetik yang berubah menurut waktu dan ruang. Selain dari pengamatan terhadap perubahan-perubahan

morfologi sel dan sintesis protein selama perkembangan embrio, juga telah diamati adanya perubahan morfologi kromosom selama perkembangan embrio awal. Yamamoto, Yamazaki & Kato (1980) menyatakan, bahwa panjang total kromosom dari jaringan bakal neural *Cynops pyrrhogaster* menurun dari stadium morula ke stadium gastrula dan stadium neurula, serta kemudian relatif tidak berubah hingga stadium tunas ekor.

Penelitian tersebut di atas dengan jelas menunjukkan adanya perbedaan dalam panjang kromosom, dari stadium morula ke stadium gastrula atau dari stadium morula ke stadium neurula dan stadium tunas ekor. Meskipun demikian, tidak diperoleh data apakah ada perbedaan dalam panjang kromosom pada stadium neurula itu sendiri.

Roesma (1995), telah melakukan penelitian pendahuluan untuk melihat perbedaan morfologi kromosom selama stadium neurula. Tampak ada kecenderungan perubahan morfologi pada ke tiga stadium, namun tidak berbeda secara statistik. Hal ini disebabkan karena teknik pengambilan sampel yang tidak tepat sehingga perbedaan yang mungkin ada menjadi tidak terdeteksi.

Dengan latar belakang hasil penelitian diatas, maka dilakukan penelitian lanjutan untuk membandingkan morfologi kromosom selama neurulasi pada *Rana catesbeiana*, dengan praduga bahwa perubahan morfologi embrio selama neurulasi sejalan dengan perubahan morfologi kromosom.

METODE PENELITIAN

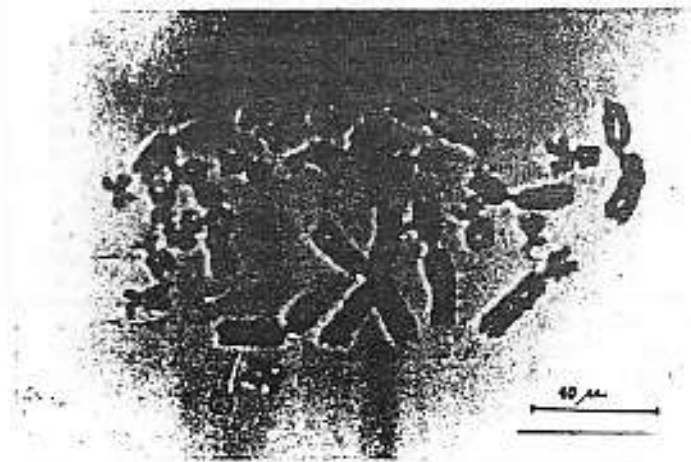
Untuk memperoleh embryo, dilakukan pemijahan buatan yang berdasarkan pada metode Rugh (Hamburger, 1960). Embrio yang digunakan adalah embrio dari stadium keping neural, lipatan neural dan bumbung neural (stadium 13, 14 dan 16). Penentuan stadium didasarkan pada deskripsi Shumway & Adamstone (1964). Jumlah embrio yang digunakan adalah 30 dari tiap stadium.

Teknik pembuatan preparat kromosom didasarkan pada teknik Yamamoto *et al.* (1980) dan Inai, Taylor & Crozier (1988) dengan sedikit modifikasi. Sel-sel dalam stadium metafase yang tersebar baik dipotret dengan perbesaran 10 x 100.

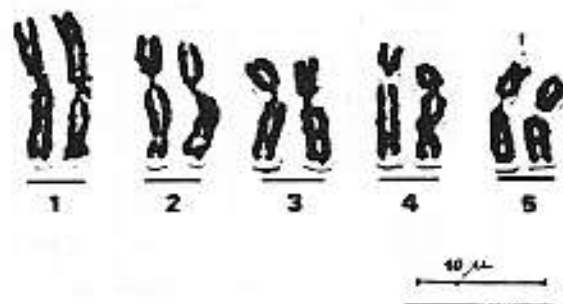
Dalam penelitian ini yang diamati hanya lima pasang kromosom terbesar pada setiap metafase dari masing-masing stadium embrio. Dari gambaran hasil proyeksi film negatif dilakukan pengukuran panjang lengan kromosom dengan menggunakan kaliper Vernier. Dari hasil pengukuran kromosom kemudian ditentukan panjang relatif kromosom terhadap kromosom nomor 1 (PR 1), Indeks sentromer (IS) dan rasio lengan (RL). IS dan RL digunakan untuk menentukan tipe kromosom dengan mengacu pada tipe kromosom yang ditentukan oleh Levan, Fredga & Sandberg (1964). Untuk mengetahui apakah PR 1 antar kromosom setiap kariotipe berbeda atau tidak, dilakukan analisis varians rancangan acak lengkap yang dilanjutkan dengan uji Duncan. Untuk menguji apakah ada perbedaan PR 1 antar kariotipe pada nomor kromosom yang sama digunakan uji-t (Steel & Torrie, 1981).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambar 1 memperlihatkan penyebaran kromosom *R. cancrivora* dan Gambar 2 adalah kariotipe dari kelima pasang kromosom besar yang disusun berdasarkan hasil penghitungan PR 1 dan IS. Tabel 1, 2 dan 3 memuat data PR 1, RL dan IS dari kromosom dari masing-masing stadium neural yang diamati.



Gambar 1. Kromosom metafase *Rana cancrivora*



Gambar 2. Susunan kelima pasang kromosom besar *R. cancrivora*

Tabel 1. Panjang relatif (PR 1), indeks sentrometer (IS), ratio lengan (RL) dan tipe kromosom nomor 1 - 5 ada stadium keping neural.

	Kro. no.	Maksimum	Minimum	Rata-rata ± sb	Tipe
PR 1	1	100	100	100 ± 0	
	2	97,06	74,93	85,73 ± 6,01	
	3	95,20	57,03	74,82 ± 9,07	
	4	83,78	49,59	69,62 ± 8,49	
	5	82,19	42,16	61,30 ± 10,09	
IS	1	47,71	38,51	42,74 ± 2,72	M
	2	45,45	38,13	41,18 ± 6,74	M
	3	43,00	38,03	40,63 ± 1,86	M
	4	30,79	26,09	28,95 ± 1,71	SM
	5	47,53	37,69	28,95 ± 3,26	M
RL	1	1,59	1,04	1,35 ± 0,15	M
	2	1,65	1,20	1,45 ± 0,16	M
	3	1,63	1,23	1,43 ± 0,14	M
	4	2,83	2,13	2,47 ± 0,22	SM
	5	1,65	1,10	1,13 ± 0,22	M

Catatan : diukur dan dihitung dari 22 metafase.

M - Metafase

SM - Submetafase

sb - Simpangan baku

Tabel 2. Panjang relatif (PR 1), indeks sentrometer (IS), ratio lengan (RL) dan tipe kromosom nomor 1 - 5 pada stadium lipatan neural.

	Kro. no.	Maksimum	Minimum	Rata-rata ± sb	Tipe
PR 1	1	100	100	100 ± 0	
	2	99,65	81,52	89,35 ± 4,94	
	3	95,59	71,92	82,26 ± 6,03	
	4	82,20	64,77	76,77 ± 5,30	
	5	77,52	63,95	72,29 ± 4,60	
IS	1	46,89	37,89	42,91 ± 3,43	M
	2	40,67	38,15	40,67 ± 1,98	M
	3	44,27	38,42	42,12 ± 1,69	M
	4	32,02	26,35	28,26 ± 2,44	SM
	5	48,45	38,13	43,87 ± 3,35	M
RL	1	1,64	1,13	1,34 ± 0,19	M
	2	1,62	1,26	1,44 ± 0,10	M
	3	1,60	1,26	1,41 ± 0,12	M
	4	2,80	2,12	2,50 ± 0,20	SM
	5	1,63	1,06	1,29 ± 0,19	M

Catatan : diukur dan dihitung dari 22 metafase.

M - Metasentrik

SM - Submetasentrik sb - Simpangan baku

Tabel 3. Panjang relatif (PR 1), indeks sentrometer (IS), ratio lengan (RL) dan tipe kromosom nomor 1 - 5 pada stadium bumbung neural.

	Kro. no.	Maksimum	Minimum	Rata-rata \pm sb	Tipe
PR 1	1	100	100	100 \pm 0	
	2	99,16	73,24	87,61 \pm 7,40	
	3	91,33	67,38	77,88 \pm 5,93	
	4	88,46	64,49	72,21 \pm 6,62	
	5	85,16	54,26	68,35 \pm 7,90	
IS	1	48,65	42,01	44,75 \pm 1,83	M
	2	46,11	37,55	41,28 \pm 2,46	M
	3	47,00	38,85	42,63 \pm 2,75	M
	4	32,24	26,47	29,68 \pm 2,11	SM
	5	46,88	42,42	44,60 \pm 1,47	M
RL	1	1,89	1,06	1,26 \pm 0,16	M
	2	1,66	1,17	1,43 \pm 0,10	M
	3	1,57	1,13	1,36 \pm 0,14	M
	4	2,78	2,10	2,38 \pm 0,25	SM
	5	1,36	1,13	1,25 \pm 0,06	M

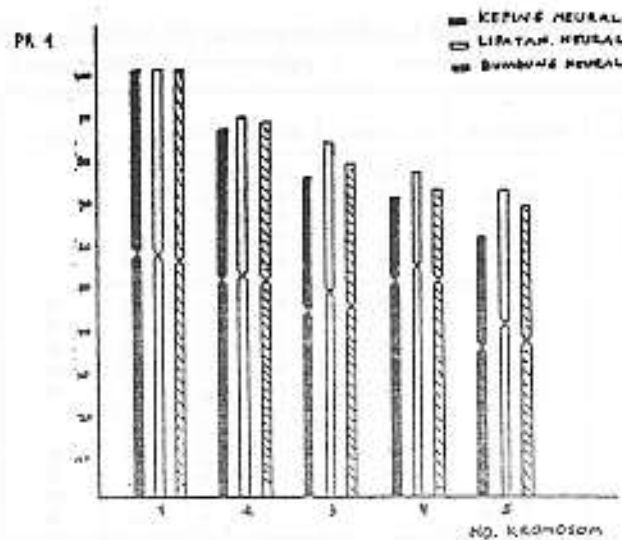
Catatan : diukur dan dihitung dari 22 metafase.

M = Metasentrik

SM = Submetasentrik sb = Simpangan baku

Secara keseluruhan dapat dinyatakan bahwa terdapat perbedaan panjang kromosom di antara kelima pasang kromosom terbesar dan ini berlaku sama pada tiap stadium neural yang diamati. Dari ke tiga stadium neural yang diamati, kromosom nomor 1, 2, 3 dan 5 diidentifikasi sebagai kromosom bertipe metasentrik dan kromosom nomor 4 adalah kromosom tipe submetasentrik. Dari harga PR 1 dan IS yang diperoleh, perbandingan kromosom dari ketiga stadium perkembangan neural dapat disederhanakan lagi dengan cara membuat idiogram seperti yang dapat dilihat pada Gambar 3. Tampak disini bahwa ada kesamaan morfologi kromosom dari masing-masing stadium untuk nomor-nomor kromosom yang sama. Kromosom nomor 4 untuk ketiga stadium adalah bertipe submetasentrik sedang nomor lainnya adalah kromosom metasentrik. Idiogram pada gambar 4 memberikan gambaran mengenai persamaan dan perbedaan kromosom dari ketiga stadium perkembangan neural. Perbandingan pada idiogram ini didasarkan pada nilai ratio lengan (RL) kromosom.

Dari hasil penghitungan PR 1 kromosom sel stadium keping neural, lipatan neural dan bumbung neural, diperoleh data bahwa pada masing-masing stadium, nilai PR 1 kromosom nomor 1 sampai dengan nomor 5 saling berbeda antara satu dengan yang lainnya. Dari hasil uji statistik terhadap nilai PR 1 antar kromosom kariotipe keping neural, didapat bahwa PR 1 antar kromosom dalam satu stadium yang sama berbeda nyata pada $0,01 < p < 0,05$. Hasil yang sama juga dapat dilihat pada pengujian kariotipe sel lipatan neural dan bumbung neural.



Gambar 3. Idiogram Pembandingan kariotipe kelima pasang kromosom terbesar dari ketiga stadium neural.

Dari pembandingan PR 1 antara nomor nomor kromosom yang sama dengan menggunakan uji-t, didapat hasil bahwa PR 1 untuk tiap-tiap nomor kromosom yang sama dari ketiga stadium neural memberikan perbedaan yang nyata.

Dari hasil analisis yang telah dilakukan, kromosom nomor 4 mempunyai tipe yang berbeda, sehingga dapat ditetapkan sebagai kromosom 'marker'. Pembandingan ini dilakukan untuk melihat apakah ada perubahan morfologi kromosom yang dilihat secara individu. Panjang total kromosom nomor 4 adalah hasil pengukuran panjang absolut tiap kromosom. Tampak ada kecenderungan penurunan nilai rata-rata panjang total kromosom selama periode neurulasi.

Dari hasil uji analisis data untuk panjang total kromosom no.4, didapat bahwa panjang total kromosom nomor 4 stadium keping neural, lipatan neural dan bubungan neural berbeda nyata pada taraf $0,01 < p < 0,05$ (tabel 4)

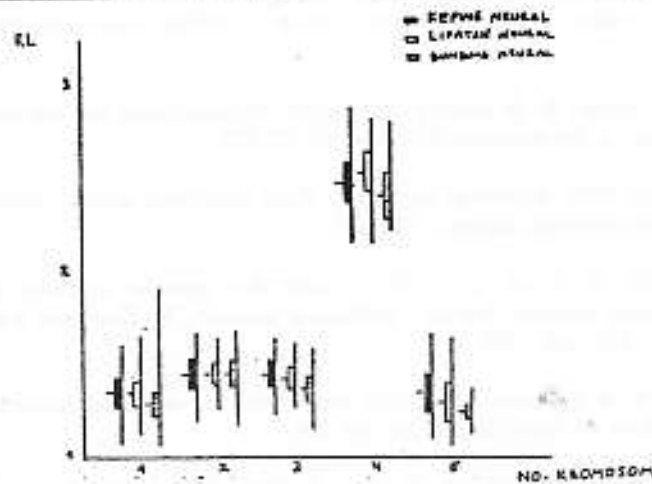
Nilai rata-rata IS dan RL ketiga stadium tidak memperlihatkan adanya kecenderungan meningkat maupun menurun. Analisis statistik tidak menunjukkan perbedaan yang nyata pada indeks sentromer maupun rasio lengan kromosom nomor 4.

Dari idiogram (gambar 3) dan dari analisis statistik pada tiap nomor kromosom yang sama antar kariotipe ketiga stadium, tampak adanya perbedaan panjang kromosom antara ketiga stadium untuk kromosom 2, 3, 4 dan 5. PR 1 kromosom stadium keping neural lebih pendek dari pada dua stadium berikutnya, diduga hal ini disebabkan karena adanya nilai PR 1 kromosom metafase keping neural yang terlalu kecil sebagai akibat dari terukurnya kromosom yang sangat terkondensasi.

Kromosom nomor 4 sebagai "marker" digunakan untuk mengamati perubahan yang terjadi secara individu di setiap stadium. Dari hasil pengujian secara statistik, didapat perbedaan yang nyata pada panjang total, sedangkan IS dan RL kromosom nomor 4 dari ketiga stadium tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata, hal ini dapat disebabkan karena pengurangan panjang kromosom terjadi secara seragam di sepanjang sumbu longitudinal.

Tabel 4. Panjang total kromosom nomor 4

No.	Stadium		
	Keping Neural	Lipatan Neural	Bumbung Neural
1	25,75	17,65	19,65
2	25,50	18,05	19,70
3	27,50	16,20	18,70
4	27,60	16,20	18,75
5	26,80	16,60	19,95
6	26,80	16,65	20,00
7	25,20	24,25	18,15
8	25,35	22,80	18,10
9	26,15	16,70	17,00
10	26,25	16,70	17,00
11	27,10	24,95	18,80
12	26,90	24,70	18,80
13	28,40	25,45	16,60
14	28,35	25,45	16,65
15	29,00	26,25	22,10
16	28,95	26,35	22,10



Gambar 4. Perbandingan rasio lengan (RL) lima pasang kromosom terbesar dari stadium keping, lipatan dan bumbung neural.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan, dengan membatasi waktu pengambilan sampel dari tiap stadium yaitu hanya pada periode awal dari masing-masing stadium, dapat disimpulkan bahwa terdapat perubahan morfologi kromosom pada tiga stadium neural yang diamati. Dengan menggunakan kromosom nomor 4 sebagai "marker", terdeteksi adanya penurunan panjang total kromosom dari ketiga stadium.

DAFTAR PUSTAKA

- Gilbert, S.F. 1985. *Developmental biology*. Sunderland, Mass. Sinauer Associates Inc. pp.152 - 163.
- Gurdon, J.B. 1987. Embryonic induction molecular prospects. *Development*, 99: 285 - 306.
- Hamburger, V. 1960. *A manual of experimental embryology*. London. University Chicago. Press.Ltd. p.15 - 46.
- Imai, H.T., Taylor, R.W., Crosland, M.W.J. & Crozier, R.H. 1988. Modes of spontaneous chromosomal mutation and karyotype evolution in ants with reference to the minimum interaction hypothesis. *Jpn. J. Genet.*, 63:159-185.
- Jacobson, A., Oster, G.F., Odell, G.M. & Cheng, L.Y. 1986. Neurulation and the cortical tractor model for epithelial folding. *J. Embryol. Exp. Morph.*, 96:19 - 49.
- Levan, A., Fredga, K. & Sanberg, A.A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52: 201-220.
- Roesma, D.I. 1995. Morfologi kromosom *Rana cancrivora* selama neurulasi. Laporan penelitian. Biologi. UNAND.
- Steel, R.G.O. & Torrie, J.H. 1989. Prinsip dan prosedur statistika, suatu pendekatan bionometri. 2nd ed. Alih bahasa Sumatri, B. Gramedia. Jakarta. p. 168 - 177, 227 - 227.
- Shumway, W. & Adamstone, F.B. 1964. *Introduction to vertebrate embryology*. New York. J. Wiley & Sons.Inc. pp. 108 - 118.
- Yamamoto, K.M., Yamazaki, K. & Kato, Y. 1980. Changes of chromosomes during the early neural development of a Japanese newt, *Cynops pyrrhogaster*. *Dev.Growth Differ.*, 22(2):79-92.