Jurnal Biologi Tropis

Original Research Paper

Ibuprofen Effects on Embryonic Morpholgy of *Gallus gallus domesticus* during 3 Day Incubation Period

Nurul Hanifa*, Abdul Razak, Yusni Atifah
Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Padang, West Sumatra, Indonesia;

Article History
Received : August 11th, 2026
Revised : October 09th, 2026
Accepted : October 23th, 2026

*Corresponding Author: **Nurul Hanifa** Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Padang, West Sumatra, Indonesia;
Email: hhanifaa5678@gmail.com

Abstract: Free-range chickens (*Gallus gallus domesticus*) are characterized by diverse plumage patterns and colors. They produce both fertile and infertile eggs; a fertile egg contains an embryo capable of hatching after a 21-day incubation period. The period between days 3 and 7 of incubation constitutes the organogenesis phase, a stage particularly susceptible to developmental abnormalities. Such abnormalities can arise if the embryo is exposed to teratogens such as ibuprofen, which inhibits cyclooxygenase (COX) isoenzymes. This study aimed to examine the effects of ibuprofen on free-range chicken (*Gallus gallus domesticus*) embryos during the 3-day incubation period. An experimental method employing a Completely Randomized Design was used, involving a control group and two treatment groups exposed to different ibuprofen concentrations. The results indicate that ibuprofen exposure affected embryo length, heart rate, body size, and the completeness of embryonic limbs.

Keywords: Embryo; *Gallus gallus domesticus*; Ibuprofen; Incubation; Malformation.

Pendahuluan

Embrio adalah eukariota diploid multisel yang dalam tahap paling awal perkembangan terjadi di luar tubuh induknya, dan selama perkembangannya embrio memperoleh makanan serta perlindungan dari isi telur yang berupa kuning telur, albumin, dan kerabang telur (Fitriani *et al.,*, 2021). Dalam konteks perkembangan embrio, model hewan yang bisa digunakan untuk pengujian toksisitas yang mempengaruhi perkembangan adalah hewan model ayam (Acharya *et al.,*, 2024). Terdapat keuntungan dalam penggunaan ayam sebagai hewan uji berupa bahan kimia, senyawa, ataupun agen eksternal yang dapat menyebabkan kelainan kongenital pada embrio (Wachholz *et al.,*, 2021). Embrio ayam telah banyak digunakan dalam penelitian perkembangan, farmakologi, dan toksikologi karena mudah diperoleh, memiliki periode inkubasi relatif singkat, serta memungkinkan pengamatan pada tahap perkembangan tertentu (Kaplan-Arabaci *et al.,*, 2025).

Ayam Kampung (*Gallus gallus domesticus*) merupakan ayam lokal yang berasal dari ayam hutan merah yang berhasil dijinakkan (Maisarah *et al.,*, 2021) dan memiliki ciri khas berupa corak dan warna bulu yang beragam pada jantan dan betina (Nugroho *et al.,*, 2020). Ayam menghasilkan telur sebagai hasil dari reproduksinya. Telur yang dapat menetas adalah telur fertile barupa hasil pembuahan ovum oleh sperma pejantan (Alim *et al.,*, 2023). Pada umumnya, embrio ayam memiliki pola perkembangan, pertumbuhan, dan fungsi yang sama seperti embrio manusia (Iskandaria *et al.,*, 2023).

Ayam memiliki proses perkembangan embrio yang sangat pesat, yaitu sekitar 21 hari inkubasi dengan melalui serangkaian perkembangan embrio secara kompleks (Alim *et al.,*, 2023). Embrio telur ayam mengalami perkembangan dari hari ke hari yang dimulai

This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

© 2026 The Author(s). This article is open access

dengan terbentuknya lempengan embrio pada tahap blastodermal. Keberadaan kantung kuning telur, amnion, dan alantois sangat berpengaruh terhadap perkembangan embrio ayam (Fitriani *et al.,*, 2021).

Fitriaini *et al.,*, (2021) melaporkan pada umur inkubasi hari ke-3 sampai hari ke-7, perkembangan organ dari embrio mulai terlihat dan semakin aktif berkembang. 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).

Selama perkembangan embrio, faktor eksternal seperti penggunaan obat-obatan dapat menimbulkan efek teratogenik berupa kelainan kongenital (Gumanti *et al.,*, 2023). Penelitian mengenai embrio ayam menunjukkan bahwa paparan senyawa kimia selama proses perkembangan awal dapat menyebabkan adanya kelainan seperti perkembangan pembuluh darah, denyut jantung, dan perkembangan mata (Chigusa *et al.,,* 2023).

Salah satu penggunaan obat-obatan yang banyak digunakan untuk pereda nyeri adalah ibuprofen. Ibuprofen merupakan obat antiinflamasi nonsteroid turunan asam propionat yang memiliki aktivitas sebagai analgetik dan antipiretik (Fiola *et al.,*, 2024) yang digunakan untuk mengurangi atau menghilangkan rasa sakit (Sari & Nayoan, 2023). Ibuprofen menghambat COX-1 dan COX-2, yang merupakan enzim diperlukan untuk konversi asam arakidonat ke berbagai PG di antaranya prostaglandin E2 (PGE2) (Rondonuwu *et al.,*, 2022). Perubahan aktivitas jalur COX selama perkembangan embrio dapat berkaitan dengan gangguan perkembangan dan adanya kemunculan kelainan kongenital (Leathers & Rogers, 2023).

Chen *et al.,*, (2024) menunjukkan bahwa paparan NSAID pada awal kehamilan berkaitan dengan peningkatan risiko anomali kongenital secara keseluruhan, sementara analisis terhadap ibuprofen menunjukkan adanya peningkatan risiko beberapa kelainan tertentu. Temuan tersebut memperkuat pentingnya penelitian eksperimental untuk memahami respons perkembangan akibat paparan NSAID. Penelitian Park *et al.,*, (2024) menunjukkan bahwa paparan ibuprofen pada embrio *Xenopus laevis* dapat menyebabkan gangguan gastrulasi dan berbagai malformasi multiorgan, termasuk gangguan perkembangan usus, kepala, jantung, paru-paru, dan tubulus pronefrik, dengan tingkat keparahan yang meningkat seiring peningkatan konsentrasi ibuprofen.

Penelitian mengenai paparan ibuprofen terhadap embrio sudah dilakukan oleh Chumpanya *et al.,*, (2020) dengan menggunakan *White Leghorn* dengan dosis ibuprofen 10, 5, dan 1 mg/ml dalam larutan garam normal 0,9. Namun, penelitian tersebut tidak menggunakan telur ayam kampung dan tidak mengkaji efeknya terhadap morfologi embrio ayam kampung. Dengan demikian, penelitian ini bertujuan ini melihat efek teratogen ibuprofen terhadap embrio ayam kampung dengan masa inkubasi 3 hari. Hari ke 3 inkubasi merupakan tahapan penting untuk mengamati perkembangan embrio awal karena pada tahap ini proses morfogenesis struktur embrio sedang berlangsung.

Bahan dan Metode

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) di Laboratorium Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan 9 telur ayam fetril dengan kelompok kontrol dan dua kelompok perlakuan. Telur diinduksi dengan ibuprofen menggunakan *syringe* 3 ml pada cangkang yang sudah dilubangi. Setelah induksi, telur diinkubasi dengan suhu 38°C selama 3 hari masa inkubasi.

Tabel 1. Perlakuan pada telur ayam kampung (*Gallus gallus domesticus*)

Perlakuan	Konsentrasi	Ulangan
Kontrol	Tidak diberi perlakuan	3 telur
Perlakuan 1	10mg/L	3 telur
Perlakuan 2	20mg/L	3 telur
	Total telur	9 telur

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi keranjang, *aluminium foil*, kain serbet, *syringe* 3 ml, *beaker glass*, batang pengaduk,

timbangan, lakban putih, cawan petri, inkubator, *dissecting set*, tisu, mikroskop stereo, dan kamera. Bahan yang digunakan yaitu telur ayam fertil, ibuprofen, aquades, dan alkohol 70%,

Pembuatan Larutan Stok Ibuprofen

Larutan induk ibuprofen

Untuk membuat larutan induk dengan konsentrasi 200mg/L dan volume akhir 100 mL, maka digunakan rumus persamaan 1.

$$m = C \times V \qquad \textbf{(1)}$$

dengan:
C = 200mg/L
V = 100mL = 0,1 L

Berdasarkan perhitungan, diperoleh massa ibuprofen yang dibutuhkan yaitu 20mg/L atau 0,02 gram. Pembuatan larutan diawali dengan menimbang ibuprofen sebanyak 0,02 gram yang kemudian dilarutan dengan sedikit aquades hingga terlarut. Kemudian menambahkan aquades hingga volume akhir 100 mL sehingga diperoleh larutan induk ibuprofen dengan konsentrasi 200mg/L sebanyak 100mL.

Larutan stok ibuprofen

Untuk mendapatkan larutan P1 dengan konsentrasi 10mg/L, diambil 10mL dari larutan induk yang kemudian ditambah dengan aquades hingga mencapai volume akhir 100mL. Lalu untuk mendapatkan larutan P2 dengan konsentrasi 20mg/L, ambil 10mL dari larutan induk kemudian ditambah dengan aquades hingga mencapai volume akhir 100mL.

Persiapan embrio, injeksi ibuprofen, dan inkubasi

Persiapan dengan menentukan telur ayam kampung yang fertil dan yang sudah dibersihkan pada bagian cangkangnya. Persiapan embrio dimulai dengan menentukan letak yolk melalui pencahayaan senter. Setelah lokasi yolk diketahui, cangkang telur dilubangi pada rongga udara telur dengan diameter 0,05 cm. Selanjutnya, penginjeksian ibuprofen sebanyak 0,4 ml menggunakan syringe ke dalam cangkang telur yang sudah dilubangi. Setelah injeksi selesai, cangkang telur yang berlubang ditutup dengan lakban putih untuk mencegah adanya kontaminasi yang masuk.

Selanjutnya, telur diletakkan di atas keranjang yang sudah dilapisi oleh aluminium foil dan kain serbet sebagai alas. Telur diletakkan dengan posisi lubang pada cangkang dibagian atas dan inkubasi dilakukan selama 3 hari dengan suhu 38°C. Setelah inkubasi selesai, telur dipecahkan dan embrio diamati bagian morfologinya untuk melihat efek dari paparan ibuprofen.

Analisis Data

Hasil pengamatan dianalisis menggunakan pendekatan deskriptif dengan membandingkan morfologi embrio ayam kampung (*Gallus gallus domesticus*) pada setiap kelompok perlakuan setelah masa inkubasi 3 hari. Parameter yang diamati berupa malformasi yang terjadi meliputi ukuran tubuh, panjang tubuh, denyut jantung, dan kelengkapan anggota tubuh.

Hasil dan Pembahasan

Embrio ayam kampung (*Gallus gallus domesticus*) dengan masa inkubasi 3 hari memiliki perbedaan pada setiap perlakuan.

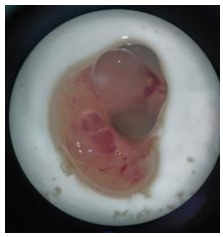
Panjang Tubuh, Denyut jantung, Kelengkapan Mata

Embrio Kontrol

Perlakuan kontrol yang tidak diberikan ibuprofen, embrio ayam dengan 3 ulangan memiliki pertumbuhan yang berjalan dengan normal seperti adanya bintik hitam pada bagian kepala dan embrio dalam keadaan hidup. Embrio 1 memiliki panjang 2,3 cm, embrio 2 dengan panjang 1,8 cm, dan embrio 3 dengan panjang 2,3 cm.



(a)



(b)

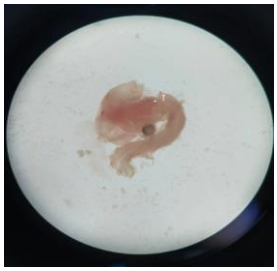


(c)

Gambar 1. Morfologi embrio kontrol ulangan 1 (a), ulangan 2 (b), dan ulangan 3 (c). Embrio memiliki deyut jantung dan memiliki 2 mata yang mulai terbantuk.

Embrio P1 (10mg/L)

Perlakuan 1 yang menggunakan 10mg/L ibuprofen atau dosis rendah hanya tersisa 1 ulangan embrio yang memiliki panjang tubuh 1,2 cm dengan ukuran tubuh yang kecil, tidak terdapat denyut jantung, dan hanya memiliki 1 mata yang terbentuk.



Gambar 2. Morfologi embrio P1 (10mg/L). Tidak terdapat denyut jantung dan memiliki 1 mata yang berkembang

Embrio P2 (20mg/L)

Embrio yang digunakan pada perlakuan 2 dengan konsentrasi 20mg/L hanya tersisa 1 embrio dan tidak terdapat denyut jantung. Embrio ini memiliki ukuran yang lebih kecil dibandingkan kontrol dan P1 yaitu hanya 1 cm dengan tidak adanya kelengkapan morfologi yaitu hanya satu sisi saja yang terdapat pertumbuhan mata.



Gambar 3. Morfologi embrio P2 (20mg/L). Tidak terdapat denyut jantung dan memiliki 1 mata yang berkembang.

Pembahasan

Inkubasi Embrio

Embrio merupakan fase yang sangat rentan, sehingga gangguan yang terjadi pada fase embrio dapat mempengaruhi bentuk tulang, sistem saraf, dan pembentukan organ tubuh (Putri *et al.,*, 2024). Pada penelitian ini, telus ayam kampung (Gallus gallus domesticus) diinkubasi dengan selama 3 hari sesuai dengan periode perkembangan embrio ayam. Pada umur inkubasi 3 hari embrio ayam, perkembangan dari embrio mulai terlihat dan semakin aktif berkembang. Kondisi inkubasi seperti suhu, kelembaban, pertukaran gas, dan juga cahaya mempengaruhi perkembangan. Namun, suhu inkubasi menjadi faktor penting (Yalçın *et al.,*, 2022).

Vilches-Moure (2019) menyatakan suhu inkubasi harus dijaga secara konsisten pada 37,5 hingga 37,8 °C selama periode inkubasi. Suhu tersebut mendukung perkembangan embrio ayam secara normal. Suhu inkubasi yang konsisten pada 37,5 hingga 37,8°C membantu telur menetas dengan optimal (Yalçın *et al.,*, 2022). Yalçın *et al.,*, (2022) menyatakan bahwa kenaikan suhu inkubasi meningkatkan produksi panas embrio dan suhu cangkang telur, sementara penurunan suhu inkubasi menurunkan produksi panas dan suhu cangkang telur. Dengan demikian, kestabilan suhu selama masa inkubasi diperlukan untuk mencegah terjadinya gangguan perkembangan yang disebabkan oleh kondisi lingkungan.

Panjang Tubuh Embrio

Berdasarkan hasil pengamatan embrio kontrol dengan massa inkubasi 3 hari, terdapat perbedaan panjang tubuh antarindividu, yaitu embrio 1 dengan panjang 2,3 cm, embrio 2 dengan panjang 1,8 cm, dan embrio 3 dengan panjang 2,3 cm. Pada pengamatan perlakuan 1 (10mg/L) dengan panjang 1,2 cm dan perlakuan 2 (20mg/L0 dengan panjang 1 cm.

Pada embrio kontrol terdapat perbedaa panjang embrio, perbedaan panjang tubuh antar embrio dikaitkan dengan variasi pertumbuhan antar individu selama inkubasi, selama karakteristik lainnya selama perkembangan menunjukkan kondisi yang normal (Gumanti *et al.,*, 2023). Selama proses inkubasi terjadi perkembangan bertahap yang ditandai dengan lipatan tubuh dan batas daerah embrionik yang

kemudian dilanjutkan dengan tahap pembentukan organ-organ embrio (Setiyowati *et al.,*, 2023).

Perbedaan panjang tubuh antar perlakuan menunjukkan bahwa embrio yang diberi ibuprofen 20mg/L memiliki panjang tubuh yang lebih kecil dibanding dengan embrio yang diberi ibuprofen dengan dosis 10mg/L. Embrio P1 dan embrio P2 memiliki panjang tubuh yang lebih kecil dibandingkan embrio kontrol. Paparan senyawa toksik atau teratogen dapat mengganggu perkembangan embrio dan menyebabkan malformasi. Pada penelitian ini, gangguan yang ditimbulkan yaitu penurunan panjang tubuh dan ukuran tubuh embrio yang kecil. Hasil ini sejalan dengan penelitian Harnett *et al.,*, (2021) mengenai paparan BPA (Bisphenol A) terhadap embrio ayam mengalami penurunan pertumbuhan dan keterlambatan perkembangan. Embrio ayam yang terpapar bisfenol memiliki ukuran rata-rata sekitar setengah dari embrio kontrol. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa paparan senyawa kimia pada tahap perkembangan awal dapat menghambat pertumbuhan embrio.

Denyut Jantung Embrio

Hasil penelitian, ditemukan denyut jantung pada embrio kontrol. Namun, pada embrio perlakuan 1 dengan dosis rendah (10mg/L) dan perlakuan 2 dengan dosis tinggi pada perlakuan ini tidak ditemukan denyut jantung atau ditemukan kematian pada embrio. Adanya denyut jantung pada embrio menandakan bahwa sistem peredaran darah telah berlangsung. Hasil ini sesuai dengan penelitian Fitriani *et al.,*, (2021) yang menyatakan bahwa pada hari ke 3 inkubasi terdapat jantung yang mulai berdetak, peredaran darah diawali dengan bekerja sama kantung darah dan kantung selaput kuning telur. Menurut Hamburger & Hamilton, pada inkubasi 68 – 72 jam terdapat sel-sel luar (epikardium) sedang membungkus lengkungan jantung dan bantalan-bantalan bakal katup di dalamnya sudah mulai muncul demi mempersiapkan pembagian ruang jantung yang sempurna.

Giviez *et al.,*, (2021) menjelaskan bahwa perkembangan embrio ayam berlangsung secara progresif sejak awal inkubasi dan diferensiasi jaringan dan organ. Perkembangan sistem kardiovaskular yang berlangsung pada tahap awal karena kebutuhan embrio terhadap oksigen dan distribusi nutrisi meningkat seiring dengan perkembanganya. Ditemukannya denyut jantung pada embrio kontrol menandakan bahwa perkembangan embrio tetap berlangsung selama inkubasi dan tidak terdapat hambatan pada pekembangannya.

Pada embrio yang diberikan ibuprofen dengan dosis berbeda tidak ditemukan denyut jantung sehingga embrio mengalami kematian. Tidak ditemukan denyut jantung menunjukkan bahwa embrio tidak mampu bertahan selama 3 hari massa inkubasi dengan perlakuan. Tidak adanya denyut jantung pada embrio menunjukkan gangguan pada perkembangan kondisi fisiologis embrio. Hasil ini didukung oleh penelitian Kurniawan *et al.,*, (2022) mengenai kematian embrio ayam setelah inokulasi virus *Avian influenza*, embrio dinyatakan hidup jika memiliki denyut jantung dan embrio dinyatakan mengalami kematian jika ditemukan adanya denyut jantung.

Kondisi kematian embrio dikaitkan dengan paparan ibuprofen selama fase awal perkembangan pada massa inkubasi. Ibuprofen merupakan obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID) yang menghambat cyclooxygenase (COX) terutama COX 1 dan COX 2 sehingga mengurangi pembentukan protaglandin. Selain berperan dalam antiinflamasi, protaglandin juga memiliki fungsi dalam proses pembentukan dan perkembangan sistem kardiovaskular (Leathers & Rogers, 2023).

Perkembangan Mata Embrio

Berdasarkan hasil, perkembangan mata pada setiap perlakuan embrio memiliki hasil yang berbeda. Pada embrio kontrol terdapat mata yang berkembang pada kedua sisi kepala yang ditandai dengan bulatan hitam (Gambar 1). Terbentuknya sepasang mata menunjukkan bahwa perkembangan bagian kepala dan organ penglihatan berlangsung selama inkubasi. Perkembangan embrio ayam secara bertahap mulai dari diferensiasi sel dan pembentukan organ. Semakin lama waktu inkubasi maka semakin jelas struktur tubuh embrio ayam akibat berlangsungnya proses embriogenesis dan organogenesis (Setiyowati *et al.,*, 2023).

Pada hasil pengamatan morfologi embrio, pada perlakuan P1 dengan dosis 10mg/L dan P2 dengan dosis 20mg/L hanya menunjukkan satu mata yang terbentuk dengan jelas (Gambar 2 dan Gambar 3). Kondisi ini menunjukkan adanya kondisi abnormal pada

perkembangan struktur kranial embrio. Paparan NSAID menghambat proses proliferasi (pembelahan) dan migrasi normal dari sel punca *Neural crest* (NC) pada fase awal embriogenesis (Marshall *et al.,*, 2025).

Pada model mamalia, paparan NSAID saat dalam kandungan dapat menyebabkan cacat kongenital pada jaringan kraniofasial, kardiovaskular, dan gastrointestinal (Hultzsch *et al.,*, 2021). Pada model ikan zebra, tikus, dan telur, penghambatan COX melalui paparan ibuprofen selama fase perkembangan awal menyebabkan kolonisasi usus abnormal oleh saraf enterik yang berasal dari sel *neural crest* (Schill *et al.,*, 2016). Penghambat pensinyalan COX pada embrio ayam mengubah ekspresi faktor yang terlibat dalam jalur utama untuk perkembangan dan migrasi sel *neural crest* termasuk Wnt/β-catenin dan jalur TGF- β (Parmar *et al.,*, 2021). Sebaliknya, induksi inflamasi yang dimediasi COX pada embrio ayam dan katak juga menyebabkan migrasi NC dan perkembangan kraniofasial yang abnormal (Alvizi *et al.,*, 2023; Li *et al.,*, 2022).

Kesimpulan

Pemberian obat seperti ibuprofen sebagai obat analgestik-antipiretik dapat menimbulkan efek teratogenik berupa kelainan pada embrio ayam kampung (*Gallus gallus domesticus*). Pemberian ibuprofen menghasilkan dampak berupa embrio kontrol yang memiliki ukuran lebih panjang dibanding embrio perlakuan, ukuran tubuh embrio yang kecil, tidak adanya denyut jantung, morfologi yang tidak lengkap seperti hanya terbentuknya satu mata saja, dan juga menyebabkan kematian.

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terimakasih kepada rekan tim peneliti, Anastya Ninda Az Zahra dan Witna Santiva. Terimakasih atas kontribusi yang aktif dan kerjasama dalam seluruh rangkaian penelitian.

Referensi

Acharya, B., Dey, S., Sahu, P. K., Behera, A., Chowdury, B., & Behera, S. (2024). Perspectives on chick embryo models in developmental and reproductive toxicity screening. *Reproductive Toxicology*, 126: 108583. https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2024.108583

Alim, I. M., Fuadiyah, W., Badria, S. U., Aini, R. D. R., Putri, N. V. R., Faisal, & Chalim, A. (2023). Histologi Perkembangan Embrio Telur Ayam Kampung Pada Masa Inkubasi Dari Hari Ke Nol Sampai Hari Ke Tujuh. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Sains UNISMA Malang*, 1(1) : 28 – 33. https://doi.org/10.33474/jimsum.v1i1.20085

Chen, X., Yang, Y., Chen, L., & Wang, K. (2024). Pregnancy outcomes and birth defects in offspring following non-steroidal anti-inflammatory drugs exposure during pregnancy: A systematic review and meta-analysis. *Reproductive Toxicology*, 125, 108561. https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2024.108561

Chigusa, K., Kanda, K., & Iwata, H. (2023). Developmental toxicity in early chicken embryos on exposure to an organophosphorus flame retardant, tris (2-chloroisopropyl) phosphate. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 264: 115445. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115445

Chumpanya, N., Plakornkul, V., Roongruangchai, J., Viravud, Y., & Rungruang, T. (2020). The Teratogenic Effects of Ibuprofen on Developing in Ovo Chick Embryo. *The 15th Rangsit University Graduate Research Conference: Health Science Articles*, 15: 2563.

Fiola, S., Farnandi, R., Hevira, L., & Rosi, D. H. (2024). Pembuatan Dan Karakteristik Multikomponen Kristal Ibuprofen Dan Asam Sitrat Dengan Metode *Solvent Evaporation*. *Journal of Science and Clinical Pharmacy Research (JSCPR)*, 1(2): 110-121. https://doi.org/10.1144/jscpr.v1i2.306

Fitriani, Husmimi, Masyitha, D., & Akmal, M. (2021). Histologis Perkembangan Embrio Ayam pada Masa Inkubasi Satu sampai Tujuh Hari. *Jurnal Agripet*, 21(1): 65-70.

https://doi.org/10.17969/agripet.v21i1.18449

Givisiez, P. E. N., Moreira Filho, A. L. B., Santos, M. R. B., Oliveira, H. B., Ferket, P. R., Oliveira, C. J. B., & Malheiros, E. B. (2020). Chicken embryo development: Metabolic and morphological basis for in ovo feeding technology. *Poultry Science, 99*(12), 6774–6782. https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.09.074

Gumanti, N. R., Azeli, S. P., Hayu, E., Ahda, Y., & Atifah, Y. (2023). Pengaruh Teratogen $AlCl_3$ (*Aluminium chloride*) Terhadap Perkembangan Embrio Ayam (*Gallus gallus domesticus*). *Jurnal Biosense: Jurnal penelitian Biologi dan Terapannya*, 6(2): 247 – 254. https://doi.org/10.36526/biosense.v6i02.3364

Harnett, K. G., Moore, L. G., Chin, A., Cohen, I. C., Lautrup, R. R., & Schuh, S. M. (2021). Teratogenicity and toxicity of the new BPA alternative TMBPF, and BPA, BPS, and BPAF in chick embryonic development. *Current Research in Toxicology, 2*, 399–410. 10.1016/j.crtox.2021.11.001

Hultzsch, S., Paulus, W., Padberg, S., Fietz, A. K., Schaefer, C., & Dathe, K. (2021). First trimester naproxen exposure and outcome of pregnancy - A German case series. *Reproductive toxicology (Elmsford, N.Y.)*, *103*, 51–57. https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2021.05.006

Iskandaria, W., Anggriani, S., Shaharani, A., & Wahyuni, M. (2023). Development of Free-Range Chicken (*Gallus domesticus*) Egg Embryos With Brood Incubation and Incubation. *Jurnal Biologi Tropis*, 23 (1): 255–259. https://doi.org/10.29303/jbt.v23i1.4584

Kaplan-Arabaci, O., Dančišinová, Z., & Paulsen, R. E. (2025). The chicken embryo: An alternative animal model in development, disease and pharmacological treatment. *Pharmacology Research & Perspectives*, 13(2), e70086. https://doi.org/10.1002/prp2.70086

Kurniawan, F. R., Arsana, I. N., & Adiputra, I. G. K. (2022). Titer Hemaglutinasi dan Kematian Embrio pada Telur *Spesific Antibody Negative* (SAN) dengan Usia yang Berbeda Saat Inokulasi Virus *Avian influenza*. (2022). *Jurnal Peternakan*, *19*(1), 49-54. https://doi.org/10.24014/jupet.v19i1.15101

Leathers, T. A., & Rogers, C. D. (2023). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and implications for the cyclooxygenase pathway in embryonic development. *American journal of physiology. Cell physiology*, *324*(2), C532–C539. https://doi.org/10.1152/ajpcell.00430.2022

Li, H., Long, D., Lv, G., Cheng, X., Wang, G., & Yang, X. (2022). The double-edged sword role of TGF-β signaling pathway between intrauterine inflammation and cranial neural crest development. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *36*(1), e22113. https://doi.org/10.1096/fj.202101343R.

Maisarah, M., Ningsih, I. S., Maisari, S., & Atifah, Y. (2021). Karakteristik dan Tingkah Laku Ayam Kampung (*Gallus gallus domesticus*) Saat Memasuki Musim Kawin. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 1(2), 635–647. https://doi.org/10.24036/prosemnasbio/vol1/174

Marshall, E. J., Ramarapu, R., Sandberg, K., Kawashima, M., & Rogers, C. D. (2025). NSAID-mediated cyclooxygenase inhibition disrupts ectodermal derivative formation in axolotl embryos. *Differentiation*, 143 100856. 10.1016/j.diff.2025.100856

Nugroho, A. A., Septiana, D., Lestari, S., & Sugiyarto, D. R. (2020). Pola Interaksi Tingkah Laku Induk Ayam Betina Dan Anak Ayam (*Gallus gallus-domesticus*). *Teknosains: Media Informasi Sains Dan Teknologi*, *14*(1). https://doi.org/10.24252/teknosains.v14i1.12390

Park, M. J., Chae, J. P., Woo, D., Kim, J. Y., Bae, Y. C., Lee, J. Y., Lee, S. Y., Nam, E. J., & Nam, S. W. (2024). Ibuprofen-induced multiorgan malformation during embryogenesis in *Xenopus laevis*

(FETAX). *Biochemical and Biophysical Research Communications,* 703: 149-565. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2024.149565

Parmar, B., Verma, U., Khaire, K., Danes, D., & Balakrishnan, S. (2021). Inhibition of Cyclooxygenase-2 Alters Craniofacial Patterning during Early Embryonic Development of Chick. *Journal of developmental biology*, *9*(2), 16. https://doi.org/10.3390/jdb9020016

Putri, A. D., Ramadhani, P., Maisandha, F., Azzahra, F., Ahda, Y., Atifah, Y., & Pratama, S. F. (2024). The Effect of Aluminum Chloride on the Development of Gallus gallus domesticus Embryos at 48 Hours Incubation Period. *Microbiotech: Journal of Microbiology and Biotechnology Tropics*, 2 (1): 20 – 27

Rondonuwu, A. P., Rompis, J. L., & Waworuntu, D. S. (2022). Efficacy of Paracetamol Compared to Ibuprofen on Closure of Patent Ductus Arteriosus in Premature Infants. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Klinik,* 10(2): 190-200. https://doi.org/10.35790/ecl.v10i2.37701

Sari, A. A. N., & Nayoan, C. R. (2023). Efektivitas Asam Mefenamat Dibandingkan Dengan Ibuprofen L-Arginine Sebagai Terapi Analgesik. *Jurnal Kedokteran Unram*, 12(1): 1302-1307.

Schill, E. M., Lake, J. I., Tusheva, O. A., Nagy, N., Bery, S. K., Foster, L., Avetisyan, M., Johnson, S. L., Stenson, W. F., Goldstein, A. M., & Heuckeroth, R. O. (2016). Ibuprofen slows migration and inhibits bowel colonization by enteric nervous system precursors in zebrafish, chick and mouse. *Developmental biology*, *409*(2), 473–488. https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2015.09.023

Setiyowati, P. A. I., Ayuni, R. D., Wulandari, A. D., Azzahra, N. F., Andalucya, F., Nisa, S., Khakim, A., Alfanani, S., Hanafi, I., & Ramadhan, M. S. (2023). Pengaruh optimalisasi suhu inkubator terhadap embriogenesis dan organogenesis pada ayam (*Gallus gallus domesticus*) selama 21 hari inkubasi. *BEST Journal (Biology Education, Sains and Technology), 6*(1).

Vilches-Moure, J. G. (2019). Embryonic Chicken (*Gallus gallus domesticus*) as a Model of Cardiac Biology and Development. *Comparative medicine*, 69(3): 184 – 203. https://doi.org/10.30802/AALAS-CM-18-000061

Wachholz, G. A., Rengel, B. D., Vargesson, N., & Fraga, L. R. (2021). From the Farm of the Lab: How Chicken Embryos Contribute to the Field of Teratology. *Frontiers in Genetics*, 12: 666726. https://doi.org/10.3389/fgene.2021.666726

Yalçın, S., Özkan, S., & Shah, T. (2022). Incubation temperature and lighting: Effect on embryonic development, post-hatch growth, and adaptive response. *Frontiers in Physiology, 13*, 899977. https://doi.org/10.3389/fphys.2022.899977

Zulfa, S., Yogica, R., Atifah, Y., & D, F. A. (2021). The Effect of Different Incubation Periods on Embryo Development of *Gallus gallus domesticus*. *Prosiding SEMNAS BIO*, 1, 567–573. https://doi.org/10.24036/PROSEMNASBIO/VOL1/69