

SKRIPSI

**GAMBARAN KADAR HORMON TESTOSTERON
PAGI, SIANG DAN SORE HARI
PADA SAPI FRIESIAN HOLSTEIN**



OLEH :

DION AGUNG JAYA PUTRA

SURABAYA - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
S U R A B A Y A
1 9 9 8**

**GAMBARAN KADAR HORMON TESTOSTERON PAGI, SIANG DAN
SORE HARI PADA SAPI FRIESIAN HOLSTEIN**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

oleh :

Dion Agung Java Putra
NIM. 069211840

Menyetujui :

Komisi Pembimbing



DR. Laba Mahaputra, M.Sc., drh
Pembimbing Pertama



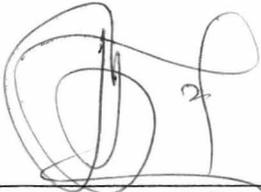
Nunuk Dyah Retno L, MS., drh
Pembimbing Kedua

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar SARJANA KEDOKTERAN HEWAN.

Menyetujui,
panitia penguji



(Suzanita Utama, M. Phil., drh)
Ketua



(Dr. Mas'ud Hariadi, M.Phil., drh)
Sekretaris



(Rr. Sri Pantja Madyawati, M.Si., drh.)
Anggota



(Dr. Laba Mahaputra, M.Sc., drh)
Anggota



(Nunuk Dyah Retno L, M.S., drh)
Anggota

Surabaya, 4 Desember 1998

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Dr. Ismudiono, M.S., drh.
NIP. 130 687 297

GAMBARAN KADAR HORMON TESTOSTERON PAGI,SIANG DAN SORE HARI PADA SAPI FRIESIAN HOLSTEIN

Dion Agung Jaya Putra

INTISARI

Hormon testosteron merupakan hormon steroid pada jantan dan dapat menstimulir libido setiap saat, tetapi keberadaannya dalam darah bervariasi dalam waktu belum diketahui banyak pada sapi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran kadar hormon testosteron pagi, siang dan sore pada sapi Friesian Holstein.

Sejumlah 10 ekor sapi Friesian Holstein yang berumur 3-6 tahun diambil masing-masing 10ml sampel darahnya melalui vena jugularis dengan menggunakan gelas tabung vacutainer. Pengumpulan serum darah dilakukan pagi, siang dan sore saja, setelah 3 jam darah diambil kemudian darah tersebut disentrifuge selama sepuluh menit dengan kecepatan 1030 x g untuk mendapatkan serum.

Serum darah tersebut disimpan dalam suhu -18° C sampai assay kadar hormon testosteron dilakukan. Kadar hormon testosteron serum dianalisis dengan *radioimmunoassay* (RIA) fase padat yang menggunakan 125 I testosteron sebagai antigen berlabel. Variabel yang diamati adalah kadar testosteron (ng/ml) pada setiap waktu sampling.

Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$) pada kadar hormon testosteron antara pagi, siang dan sore hari. Setelah dilakukan dengan uji BNT 5% terdapat perbedaan yang nyata antara waktu pagi dan sore terhadap siang hari ($p < 0,05$). Dengan demikian perkawinan pada sapi sebaiknya dilakukan pada pagi hari atau sore hari dan sebaiknya jangan dilakukan pada siang hari.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat ALLAH SWT atas segala rahmat dan karunia yang telah dilimpahkan, sehingga penulisan makalah ini dapat terselesaikan dengan baik. Adapun penulisan skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak akan tersusun tanpa adanya bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu penulis sampaikan terima kasih yang sebesar - besarnya kepada :

1. Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya beserta staf pimpinan.
2. Bapak Dr. Loba Mahaputra, M.Sc.,Drh, selaku dosen pembimbing pertama dan Ibu Nunuk Dyah Retno L,MS.,Drh, selaku dosen pembimbing kedua yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan petunjuk dan bimbingan berharga dalam penyusunan skripsi ini.
3. Seluruh staf pengajar Fakultas Kedokteran Hewan yang telah membekali ilmu pengetahuan kepada penulis selama ini.
4. Ibu dan Ayah tercinta, kakak, adik, dan teman-teman yang banyak membantu penulis terutama Dilla, Ella, Udin, Eni, Hitam, Betty, Roby, Yudi, Tri, yang kesemuanya telah memberikan semangat dan dukungan serta doanya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Bapak Paul Syahwir dan keluarga .

Akhirnya penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, untuk itu saran dan kritik yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Semoga skripsi ini berguna bagi pembaca.

Surabaya, Desember 1998

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I. PENDAHULUAN	1
I.1. Latar Belakang.....	1
I.2. Perumusan Masalah.....	3
I.3. Landasan Teori.....	3
I.4. Tujuan Penelitian.....	5
I.5. Manfaat Penelitian.....	5
I.6. Hipotesis.....	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
II.1. Tinjauan Tentang Hormon Testosteron.....	6
II.2. Tinjauan Tentang Metabolisme Testosteron.....	9
II.3. Tinjauan Tentang Mekanisme Kerja Testosteron.....	9
II.4. Tinjauan Tentang Sapi Friesian Holstein.....	10
BAB. III. MATERI DAN METODE PENELITIAN.....	13
III.1. Materi Penelitian.....	13
III.1.1. Tempat dan Waktu Penelitian.....	13
III.2. Bahan dan Alat Penelitian.....	13
III.2.1. Hewan Percobaan.....	13

III.2.2. Bahan dan Alat Penelitian.....	13
III.3. Metode Penelitian.....	14
III.3.1. Perlakuan dan Pengumpulan Serum Darah.....	14
III.3.2. Pengukuran Kadar Testosteron.....	15
III.3.3. Peubah yang diamati.....	15
III.4. Rancangan Penelitian dan Analisa Data.....	15
BAB IV. HASIL PENELITIAN.....	16
BAB V. PEMBAHASAN.....	18
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	22
RINGKASAN.....	23
DAFTAR PUSTAKA.....	24
LAMPIRAN.....	27

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Susunan Kimia Testosteron.....	7

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Tabel kadar testosteron serum darah sapi Friesian Holstein pagi, siang dan sore	26
2. Penghitungan Uji BNT 5%.....	29
3. Prosedur Pelaksanaan Metode RIA.....	30

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang

Seiring dengan usaha pemerintah untuk meningkatkan taraf hidup dan kesejahteraan yang adil dan merata maka kebutuhan panganpun semakin meningkat terutama kebutuhan akan protein, sehingga perlu diusahakan untuk meningkatkan sumber protein terutama protein hewani. Sumber protein hewani dapat dipenuhi oleh ternak ruminansia besar (sapi dan kerbau), ternak ruminansia kecil (domba dan kambing), unggas dan aneka ternak.

Usaha untuk memenuhi sumber protein hewani dengan pelaksanaan pembangunan peternakan, yang pada hakekatnya menggerakkan / interaksi 4 variabel mikro (sumber daya) yaitu peternak (sebagai subyek), ternak (sebagai obyek), lahan (sebagai basis ekologi pendukung pakan) dan teknologi (sebagai rekayasa teknik / sosial untuk mencapai tujuan).

Pada rekayasa teknik dibidang peternakan dapat dibedakan dua bentuk teknologi yaitu : teknologi konvensional seperti Panca Usaha Ternak yang terdiri dari : perbaikan bibit, pakan, kesehatan, pemeliharaan dan bioteknologi reproduksi (Soehadji, 1994).

Berdasarkan statistika peternakan di Indonesia, kenaikan populasi ternak sapi perah pertahun dari tahun 1988 - 1992 yaitu sekitar 5,12 % (Anonimus, 1993). Untuk dapat lebih meningkatkan usaha ternak sapi perah dapat dilakukan langkah-langkah

seperti: peningkatan produktifitas melalui perbaikan tata laksana, kontrol kesehatan, dan penanganan kasus - kasus reproduksi baik pada sapi jantan maupun sapi betina.

Pemerintah menetapkan jaringan kerjasama pengembangan bioteknologi peternakan (SK Menristek No. 542 / M / KP / VIII /1992) yang mempunyai sasaran menghasilkan produk unggul peternakan melalui penerapan bioteknologi reproduksi (inseminasi buatan), transfer embrio dan pemuliaan ternak.

Program Inseminasi Buatan pada ternak bertujuan untuk meningkatkan daya produksi ternak melalui perbaikan mutu genetik. Kegiatan Inseminasi Buatan tidak terlepas dari teknik- teknik pengeluaran air mani (sperma) dari hewan jantan dengan segala perlakuan lainnya terhadap hewan tersebut. Sapi pejantan merupakan salah satu faktor penting yang akan menentukan hari depan peternakan sapi, karena pejantan yang baik akan menghasilkan keturunan yang baik pula. Tingkat kesuburan akan dipakai sebagai salah satu kriteria dalam memilih pejantan yang baik, oleh karena itu perlu diperhatikan tingkat kesuburan pejantan. Tingkat kesuburan pejantan termasuk diantaranya adalah kualitas dan kuantitas air mani yang baik.

Menurut Toelihere (1981) kuantitas dan kualitas air mani dari pejantan tidak dapat dipisahkan dari tingkat libido pejantan. Sedangkan libido seekor pejantan dipengaruhi oleh perkembangan seks sekundernya, sedangkan perkembangan seks sekunder hewan jantan dipengaruhi hormon testosteron yang dihasilkan oleh sel leydig dari testes (Wodzicka - Tomaszewka *et al.*, 1991).

Fertilitas sapi jantan dapat dipantau dari tinggi dan rendahnya kadar testosteron dalam darah. Hal ini sesuai dengan pendapat Frandson (1992) yang menyatakan bahwa berkurangnya libido atau dorongan seksual dan ketidakmampuan menghasilkan

keturunan, keduanya adalah pengaruh yang menonjol dari berkurangnya hormon testosteron.

I.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas timbul suatu permasalahan yaitu apakah terdapat perbedaan kadar hormon testosteron serum darah sapi Friesian Holstein antara waktu pagi, siang dan sore hari.

I.3. Landasan Teori

Hormon androgen yang menonjol aktivitasnya pada hewan jantan adalah testosteron (T) dan dehydrotestosteron (DHT). Di dalam darah androgen ini sebagian besar (98 %) berikatan dengan protein darah (Soehadi, 1989). Substansi dasar pembentuk hormon ini berasal dari kolesterol seperti layaknya hormon yang termasuk golongan steroid. Walaupun demikian tidak berarti makin banyak kolesterol darah juga akan mengakibatkan tingginya kadar testosteron, hal ini tergantung pada proses steroidogenesis, faktor stimulus berupa hormon Interstitial Cell Stimulating Hormone endogen (ICSH) atau Luteinizing Hormone (LH) dan Human Chorionic Gonadotropin (hCG) exogen yang diberikan. Selain faktor lingkungan, periode waktu dan musim dapat mengambil bagian dalam produksi hormon testosteron tersebut (Mahaputra dan Soehadi, 1993).

nutrisi, breed? ✓

Dalam mekanisme spermatogenesis, testosteron yang dihasilkan oleh sel - sel leydig dikontrol oleh hormon ICSH. Testosteron yang masuk kedalam tubuli seminiferi melalui difusi mencapai dan ditangkap oleh sel target yaitu sel sertoli. Di dalam

sitoplasma sertoli testosteron kemudian menuju inti sel dan terikat di dalam acceptor - site dalam kromatin dan mengakibatkan terjadinya transkripsi mRNA dan akhirnya membentuk protein khusus melalui proses translasi, sedangkan protein khusus yang dipakai sebagai bahan baku adalah androgen binding protein (ABP) yang dihasilkan oleh sel sertoli dibawah pengaruh FSH, sehingga ABP dapat mengkonsentrasikan kadar testosteron dengan jumlah banyak dan berulang kali (Steinberger, 1978).

Kadar testosteron dalam testis sekitar 100 kali kadar testosteron dalam sirkulasi sistemik. Kadar yang tinggi dalam testis ini secara fisiologis diperlukan untuk spermatogenesis. Steroidogenesis dalam testis terjadi dalam sel leydig atas pengaruh LH yang juga disebut hormon ICSH, suatu hormon gonadotropin yang disekresi oleh hormon hipofisa anterior. Dilain pihak sekresi LH terjadi karena rangsangan Luteinizing Hormone Releasing Factor (LHRF) yang disekresi oleh hipotalamus. Aktivitas steroidogenik LH diperantarai oleh perangsangan siklik AMP dan sintesis kalmodulin. Hormon pemacu folikel, FSH (Folikel Stimulating Hormon) yang juga diproduksi oleh Hipofisa anterior berfungsi merangsang spermatogenesis (Purwastyastuti, 1987).

Secara umum testosteron membentuk karakteristik yang spesifik terhadap perkembangan alat-alat reproduksi jantan. Testis distimulasi oleh chorionic gonadotropin yang berasal dari placenta untuk memproduksi testosteron dalam jumlah yang sedikit selama perkembangan foetus, tetapi testosteron tidak diproduksi pada saat masa sebelum dewasa kelamin, kemudian produksi testosteron bertambah secara teratur pada saat menginjak usia pubertas. Kemudian secara bertahap akan turun sampai menjelang usia tua (Salisbury dan Vandemark, 1985).

I. 4. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan kadar hormon testosteron serum darah sapi Friesian Holstein antara waktu pagi, siang dan sore hari.

I.5. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat mengetahui waktu yang tepat pada saat sapi kopulasi (mengawinkan sapi) dan mengetahui saat yang tepat waktu pengambilan semen / air mani untuk keperluan Inseminasi Buatan.

I.6. Hipotesis

Berdasarkan rumusan permasalahan yang ada, maka hipotesis yang dapat diambil adalah terdapat perbedaan kadar hormon testosteron pada sapi Friesian Holstein antara waktu pagi, siang dan sore hari.

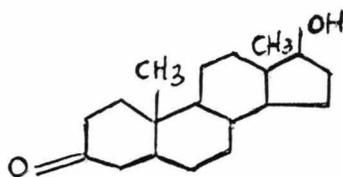
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Tinjauan tentang hormon testosteron

Sebagaimana diketahui bahwa testosteron adalah hormon yang dapat bersifat androgenik dan anabolik. Bersifat androgenik karena berpengaruh pada pertumbuhan dan fungsi organ reproduksi, kelenjar kelamin pelengkap serta organ-organ karakteristik seks sekunder, sedang bersifat anabolik karena hormon tersebut berpengaruh terhadap pertumbuhan atau penambahan jaringan dan sel - sel seperti otot, erytrosit serta pertumbuhan dan pemeliharaan tulang (Banks, 1981). Menurut Frandson (1992) diketahui testosteron merupakan hormon kelamin jantan yang dihasilkan oleh sel - sel interstitial (sel - sel leydig) dari testis. Sel leydig mengandung enzim dehidrogenase 3 beta hidrokorsteroid yang ditemukan dalam testis dan enzim ini mengkatalase langkah kunci dalam biosintesa testosteron (Granner, 1985). Cara kerja testosteron dapat dipelajari dengan menggunakannya sebagai perlakuan pengganti dalam percobaan kastrasi hewan. Testosteron memacu perkembangan dan fungsi kelenjar - kelenjar kelamin aksesori yang menyebabkan berkembangnya karakteristik kelamin sekunder dan mengontrol sekresi LH (Luteinizing hormon) atau ICSH (Interstitial Cell Stimulating Hormon) pada hewan jantan. Luteinizing Hormon (LH) berfungsi merangsang sel-sel interstitial untuk menghasilkan testosteron dan selanjutnya testosteron berperan dalam mekanisme umpan balik untuk menghambat produksi LH. FSH berfungsi untuk pemasakan spermatid yang terakhir. LH mengontrol sekresi

testosteron dan prolaktin meningkatkan LH dalam mempertahankan produksi testosteron. Bahan dasar untuk biosintesis testosteron adalah kolesterol (Purwastyuti, 1987 dan Di Palma Di Gregorio, 1990). Testosteron mempunyai inti cyclopentanophenanthrene (tiga cincin benzena dan lima rantai karbon), Susunan kimia testosteron adalah sebagai berikut :



Gambar 1. Susunan Kimia Testosteron (Granner, 1985)

Peran testosteron yang dapat diimplementasikan adalah aktivasi pembentukan spermatozoa yang disebut spermatogenesis, hal ini sesuai dengan pendapat Wodzicka-Thomaszewka.,*et al* (1991) yang menyatakan bahwa hormon - hormon yang penting untuk spermatogenesis adalah FSH, LH dan testosteron. Hormon tersebut bekerja bersama-sama dalam bentuk yang sangat kompleks yang belum diketahui secara tuntas. Hormon ini berpengaruh pada spermatogonia dalam tubulus seminiferus yang menyebabkan terjadinya spermatogenesis yaitu suatu proses yang berkesinambungan selama hidup dan dimulai dengan pembelahan spermatogonia menjadi spermatosit dan spermatid yang kemudian menjadi spermatozoa. Lebih lanjut dikatakan oleh Partodiharjo (1987), bahwa testosteron adalah hormon yang paling poten dari androgen dan berfungsi merangsang pendewasaan spermatozoa yang terbentuk di dalam tubuh tubuli seminiferus, merangsang pertumbuhan kelenjar asesoris (prostata vesikularis dan bulbourethralis) dan merangsang sifat jantan. Peran testosteron lainnya yang

berhubungan dengan anabolisme protein adalah sebagaimana yang dikatakan oleh Nalbandov (1990) bahwa pada banyak hewan androgen menstimulasi anabolisme protein dan juga meningkatkan retensi nitrogen, mungkin hal ini yang merupakan sebab terjadinya pertumbuhan pada jantan dewasa lebih cepat dan lebih baik dibanding betina. Pemberian androgen memperbesar jumlah dan kekebalan serabut-serabut otot serta kekuatan daya rentan dan kemampuan kerja otot. Hal ini sesuai dengan pendapat Harper (1971) bahwa pengaruh protein anabolik dari testosteron sama penting dengan pengaruh androgenik, jika tidak berlebih dalam banyak situasi klinik dimana dibutuhkan peningkatan atau kenaikan protein anabolik, testosteron telah membuktikan keefektifannya. Jadi dengan demikian bila seekor pejantan harus memenuhi tugasnya untuk membuat sejumlah hewan betina bunting, ia harus mempunyai dua syarat, yaitu dapat melakukan spermatogenesis dan cukup libido (Wodzicka - Tomaszewka *,et al* 1991).

Kadar testosteron sering diidentikkan dengan tinggi rendahnya libido pada hewan jantan. Hal ini sesuai dengan pendapat Hardjopranjoto (1984), bahwa pada hewan yang mengalami atropi kelenjar testis akan menunjukkan gejala menurunnya libido seksual dan produksi air mani, sehingga hewan ini akan menjadi tidak subur. Pemberian testosteron dapat mengembalikan keadaan libido menjadi normal.

° Jadi testosteron dapat meningkatkan keinginan kelamin (libido) dan kesanggupan untuk ereksi dan ejakulasi, demikian analisis terakhir yang dilakukan oleh Toelihere (1981).

II.2. Tinjauan tentang Metabolisme Testosteron

Testosteron dimetabolisme dengan dua cara. Pertama melibatkan oksidasi pada posisi 17 dan yang lain melibatkan reduksi rangkap cincin A dan 3-keton. Metabolisme melalui jalan pertama terjadi dalam banyak jaringan, termasuk hati dan menghasilkan 17 ketosteroid yang umumnya tidak atau kurang aktif daripada senyawa induk. Metabolisme melalui jalan kedua, kurang efisien terjadi terutama dalam jaringan sasaran dan menghasilkan metabolisme yang kuat, juga estradiol dan androsterediol. Etiokolanolon dan androsteron adalah reduksi 5 beta androgen (Granner, 1985).

Harper (1985) menunjukkan bahwa testosteron menghambat penyerapan oksigen pada otak, hepar dan otot rangka. Mekanismenya spesifik untuk testosteron dan bukan seperti senyawa steroid pada umumnya.

Ekskresi testosteron 90 persen melalui urine, 6 persen melalui tinja dalam bentuk asal, metabolit dan konjugat. Hanya 30 persen dari 17 ketosteroid yang diekskresi melalui urine, antara lain androsteron dan etiokolanolon, berasal dari metabolisme steroid adrenal (Ganong, 1983).

II.3. Tinjauan Tentang Mekanisme Kerja Testosteron

Kelenjar hipofisa anterior mensekresi dua hormon gonadotropin : 1). Follicle Stimulating Hormon (FSH) dan 2). Luteinizing Hormon (LH) juga dinamakan Interstitial Cell Stimulating Hormon (ICSH). Kedua hormon ini memegang peranan utama mengatur fungsi seksual jantan (Hafez, 1970).

Pengaturan pembentukan testosteron oleh LH, testosteron yang dihasilkan oleh sel interstitial leydig hanya bila testes dirangsang oleh LH dari kelenjar hipofisis, dan jumlah

testosteron yang disekresi bervariasi kira-kira sebanding dengan jumlah LH yang tersedia. Pengaturan sekresi LH dan FSH oleh hipotalamus. Gonadotropin, seperti kortikotropin dan tiotropin, disekresi oleh kelenjar hipofisa anterior terutama akibat syaraf pada hipotalamus (Partodihardjo, 1987).

Penghambatan timbal balik sekresi hipotalamus-hipofisa anterior terhadap hormon gonadotropin oleh hormon testis. Penyuntikan testosteron pada binatang jantan atau betina menghambat sekresi gonadotropin. Penghambatan ini tergantung pada fungsi normal hipotalamus. Oleh karena itu diduga bahwa testosteron menghambat perangsangan hipotalamus terhadap kelenjar hipofisa anterior untuk menghasilkan gonadotropin. Efek penghambatan ini jauh lebih nyata pada pembentukan LH dibandingkan FSH, oleh karena itu dengan mudah dapat dilihat bahwa efek penghambatan testosteron ini memberikan sistem pengaturan umpan balik untuk mempertahankan sekresi testosteron pada tingkat yang konstan, yaitu kelebihan sekresi menghambat sekresi LH, yang selanjutnya mengurangi sekresi testosteron kembali ke tingkat normal. Sebaliknya mekanisme juga bekerja berlawanan untuk melindungi terhadap pembentukan testosteron yang terlalu sedikit (Harper, 1985).

II.2. Tinjauan tentang Sapi Perah Friesian Holstein

Bangsa sapi Friesian Holstein adalah bangsa sapi perah yang paling menonjol di Indonesia jumlahnya cukup banyak meliputi antara 80 - 90 % dari seluruh sapi perah yang ada. Sapi Friesian Holstein berasal dari negara Belanda yaitu di propinsi North Holland dan West Friesland, kedua daerah yang memiliki padang rumput yang bagus. Bangsa sapi ini mempunyai keistimewaan produksi susunya banyak dan dimanfaatkan

untuk pembuatan keju sehingga seleksi kearah jumlah produksi susu sangat dipentingkan.

Ciri -ciri sapi Friesian Holstein adalah berwarna hitam dan putih, meskipun ada juga Holstein yang berwarna merah putih. Sapi ini sangat sering dipelihara sebagai penghasil susu yang tinggi tetapi dengan kadar lemak yang rendah. Sifat seperti ini tampaknya lebih cocok dengan kondisi pemasaran pada saat sekarang. Ukuran badan, kecepatan pertumbuhan serta karkasnya yang bagus menyebabkan sapi ini sangat disukai pula untuk tujuan produksi daging serta pedet untuk dipotong (Blakely dan Bade, 1985).

Pubertas pada sapi pada umumnya sangat dipengaruhi oleh jenis ras hewan, lingkungan fisik, umur, heterosis temperatur lingkungan dan faktor makanan. Permulaan pubertas sangat erat berhubungan dengan berat badan daripada umur. Pada sapi perah pubertas akan timbul setelah 30-40 % dari berat dewasa tercapai. Sapi Friesian Holstein yang dibesarkan dengan ransum makanan kadar protein rendah akan mencapai pubertasnya pada umur 11 - 12 bulan sedangkan sapi yang dibesarkan dengan ransum protein tinggi dapat mencapai pubertas pada umur 8 bulan. Percobaan yang sama dilakukan dengan menggunakan sapi ras lain misalnya Angus, Red Denis dan sebagainya, dan didapatkan pengaruh yang sama, yaitu ransum dengan kadar protein rendah menyebabkan masa pertumbuhan yang lambat sehingga masa pubertas dicapai setelah sapi-sapi tersebut berumur 12 bulan atau lebih. Jika dibandingkan dengan sapi Friesian Holstein sapi - sapi tersebut pada umumnya lebih lambat 1 - 2 minggu. Demikian pula dengan percobaan menggunakan makanan ransum berkadar protein tinggi, sapi Friesian Holstein pada umumnya dapat mencapai masa pubertasnya rata - rata satu minggu lebih awal. Dengan percobaan - percobaan ini terlihat bahwa ras hewan juga

mempunyai peranan genetik yang cukup penting dalam menentukan cepat lambatnya masa pubertas tercapai. Sapi-sapi Friesian Holstein yang dipelihara di Indonesia pada umumnya masa pubertasnya setelah berumur 12 bulan dengan variasi 10 - 15 bulan (Partodiharjo ,1987).

Proses reproduksi sapi jantan ditandai dengan kemampuan untuk memproduksi benih pertama kali (Partodihardjo, 1987). Kejadian tersebut didasari oleh penyesuaian secara bertahap antara peningkatan aktivitas gonadotropik dan kemampuan gonad secara simultan dalam steroidogenesis dan gametogenesis. Sebagai respon dari sekresi gonadotropin testosteron secara progresif meningkat dari kadar yang rendah menuju ke kadar yang tinggi. Setiap terjadi peningkatan pulsus LH setiap satu jam kemudian diikuti dengan meningkatnya sekresi testosteron (Ismudiono, 1996).

BAB III

MATERI DAN METODE PENELITIAN

III.1. Materi Penelitian

III.1.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Peternakan Sapi Perah Mojo, Kaliwaron, Tandes, dan Wonocolo. Sedangkan untuk pengukuran kadar testosteron dengan memakai tehnik RIA dilakukan di Laboratorium Kebidanan, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Waktu pelaksanaan penelitian berlangsung pada tanggal 7 Oktober 1996 sampai 30 Januari 1997.

III.2. Bahan dan Alat Penelitian

III.2.1. Hewan Percobaan

Dalam penelitian ini hewan percobaan yang dipakai adalah Sapi Friesian Holstein jantan dewasa yang berumur 3 sampai 6 tahun. Jumlah sapi Friesian Holstein yang dipakai sebanyak 10 ekor. Ke 10 ekor sapi jantan tersebut terdapat di peternakan sapi perah Mojo, Kaliwaron, Tandes, dan Wonocolo.

III.2.2. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan Penelitian meliputi :

- KIT Testosteron (prepat dagang ; TKPGI, DPC, USA)

- Serum darah dari 10 ekor sapi Friesian Holstein
- Kapas dan alkohol 70 %

Alat - alat penelitian meliputi :

- Gamma counter
- Freezer
- Vortexer (pengocok listrik)
- Mikropipet
- Tabung assay terdiri dari :
 - Plain tubes (tabung total counts dan tabung nonspesifik binding)
 - Coated Tubes (tabung assay yang telah dilapisi dengan anti bodi spesifik untuk testosteron)
- Tabung gelas vacumtainer 10 ml
- Rak assay
- Jarum 21 gauge (G) (0,80 x 38 mm)

III.3. Metode Penelitian

III.3.1. Perlakuan dan Pengumpulan Serum darah

Darah dari sapi sampel diambil lewat vena jugularis dengan memakai tabung vacumtainer 10 ml dengan perantaraan jarum 21 G yang terkait pada holder. Sampel darah diperlakukan sedemikian rupa sehingga tidak terpengaruh terhadap lingkungan (suhu). Waktu pengambilan sampel pagi pukul 05.00 - 06.00 WIB, siang hari pukul 12.00 - 13.00 WIB dan sore hari pukul 17.00 - 18.00 WIB.

Setelah sampai di Laboratorium, pinggiran darah yang berbatasan dengan tabung ditusuk 3 - 4 tempat. Pengumpulan serum darah dilakukan dua jam setelah pengambilan darah. Sebelumnya darah sapi tersebut disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 1030 x g, kemudian bagian yang cair yang merupakan serum darah dipisahkan. Serum darah tersebut disimpan dalam freezer dengan suhu -18°C hingga assay kadar hormon testosteron dilakukan.

III.3.2. Pengukuran Kadar Testosteron

Pengukuran kadar testosteron serum darah dari sapi Friesian Holstein, masing - masing dilakukan dengan menggunakan metode RIA (*Radioimmunoassay*). Metode kerja RIA dapat dilihat pada lampiran III.

III.3.3. Peubah yang diamati

Peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah tingginya kadar testosteron masing - masing dari waktu pagi, siang dan sore hari.

III.4. Rancangan Penelitian dan Analisa Data

Rancangan yang digunakan dalam penelitian adalah Rancangan Acak Lengkap Sederhana dengan waktu pagi, siang, dan sore hari.

Data yang diperoleh disusun dalam satu tabel, selanjutnya perbedaan pengaruh antar waktu dilakukan uji ANAVA, bila terdapat perbedaan yang nyata akan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) (Kusriningrum, 1990).

BAB IV**HASIL PENELITIAN**

Hasil pengukuran kadar testosteron serum darah sapi Friesian Holstein dengan menggunakan teknik RIA (Radioimmunoassay) fase padat pada 10 ekor sapi pada waktu pagi,siang dan sore hari dapat dilihat pada Lampiran I yang terlihat bahwa kadar testosteron tertinggi dijumpai pada waktu pagi hari dengan rata-rata $0,5325 + 0,264$ ng/ml. Kadar testosteron dalam serum darah sapi Friesian Holstein yang paling rendah dijumpai pada waktu siang hari dengan rata-rata $0,1710 + 0,074$ ng/ml.

Dengan menggunakan data dari tabel yang terdapat pada lampiran I selanjutnya dilakukan uji statistik dengan menggunakan uji ANAVA. Bila terdapat perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf signifikan 5 %

Dari penghitungan analisa statistik dengan uji ANAVA seperti terlihat pada Lampiran I didapatkan hasil , F Hitung = 12,96, F tabel 0,01 = 5,49 dan F tabel 0,05 = 3,35. Dengan demikian maka F hitung $>$ F tabel pada taraf signifikan 0,01 sehingga dapat disimpulkan bahwa diantara ketiga perlakuan terdapat perbedaan yang sangat nyata. Dengan kata lain bahwa kadar testosteron pada pagi hari berbeda sangat nyata dibandingkan kadar testosteron siang hari.

Untuk mengetahui perbedaan pagi,siang dan sore hari kadar testosteron pada sapi Friesian Holstein, maka perlu dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Dari hasil uji BNT ternyata terdapat perbedaan ($p < 0,05$) antara waktu pagi hari dengan waktu siang hari (Lampiran II). Sedangkan kadar testosteron sore hari tidak berbeda nyata dengan pagi hari.

BAB V

PEMBAHASAN

Hasil pengukuran kadar hormon testosteron sapi Friesian Holstein yang didapatkan dari 10 ekor sapi menunjukkan kadar testosteron pada waktu pagi hari dengan rata - rata $0,5325 + 0,264$ ng / ml, siang hari dengan rata - rata $0,1710 + 0,074$ ng/ml sore hari dengan rata - rata $0,437 + 0,21$ ng / ml.

Hasil uji ANAVA menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata, kemudian dilanjutkan dengan uji BNT 5 % didapatkan bahwa kadar testosteron tertinggi terdapat pada waktu pagi hari yang tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan waktu sore hari, tetapi berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) dengan waktu siang hari. Tingginya kadar testosteron dalam serum darah pada waktu pagi hari disebabkan karena pada waktu pagi hari fungsi testis bekerja secara optimal karena pada temperatur yang rendah aktivitas spermatogenik mencapai saat yang maksimal dan berangsur-angsur menurun sampai tingkatan yang paling rendah pada temperatur yang tinggi. Hal ini didukung oleh pernyataan Partodihardjo (1987) bahwa scrotum akan berfungsi secara optimal dalam mengatur temperatur testis dan epididymis pada suhu $13,89$ °C lebih rendah daripada suhu tubuh, sehingga memungkinkan terjadinya proses spermatogenesis secara sempurna. Hal ini dilakukan oleh selaput yang ada di scrotum yang disebut tunica dartos, bila keadaan sekeliling panas ia akan mengendor, sedangkan bila keadaan dingin akan mengerut (Breazille, 1971). Kebutuhan testes akan suhu yang lebih rendah daripada

suhu tubuh yang cocok untuk spermatogenesis pertama kali dikemukakan oleh Crew (1922). Suhu testes yang relatif konstan ,terletak ditengah antara suhu badan dan suhu scrotum , pada jantan yang normal dipertahankan oleh urat daging tunica dartos yang bertindak sebagai termoregulator. Fungsi termoregulator ini tidak bekerja sebelum hewan mencapai dewasa kelamin dan dipengaruhi oleh hormon androgen (Salisbury dan Vandemark, 1985). Hal tersebut akan berpengaruh pula pada daya kerja sel-sel leydig dalam memproduksi testosteron.

Keadaan tersebut berlawanan pada waktu siang hari yang suhunya relatif lebih panas. Temperatur yang tinggi mempengaruhi hipofisa anterior dalam memproduksi hormon ICSH. ICSH yang diproduksi lebih rendah dari normal akan menurunkan aktifitas sel - sel leydig, sehingga mengakibatkan produksi testosteron menurun (Frandson, 1992). Temperatur tubuh yang tinggi menyebabkan berkurangnya kenormalan dan fertilitas spermatozoa dalam ejakulasi. Sapi jantan mengalami pengurangan kualitas semennya pada temperatur lingkungan yang tinggi (Hafez, 1987).

Menurut Turner dan Bagnora (1976) bahwa testosteron dalam sirkulasi terikat pada protein darah, hal ini dapat mempengaruhi penurunan kadar testosteron pada waktu siang hari, menurunnya kadar testosteron disebabkan aktivitas metabolisme meningkat karena dipengaruhi oleh faktor suhu, stress, dan lingkungan.

Testosteron dan Androstereidion merupakan androgen utama yang beredar berasal dari testis, sehingga kini dapat diketahui bahwa sel leydig menghasilkan testosteron. Testosteron memberikan pengaruh yang sangat besar terhadap kehidupan sel jantan. Jika fungsi sel leydig terganggu maka produksi testosteron akan terhenti. Hal

ini akan menyebabkan produksi testis akan berhenti, sehingga fertilitas pejantan akan terganggu (Partodihardjo, 1987).

Pentingnya testosteron dalam mengatur reproduksi pejantan disebutkan pula oleh Frandson (1992) bahwa berkurangnya kadar testosteron akan berpengaruh pada turunnya libido pejantan. Apabila suhu kandang meningkat, sehingga kadar testosteron jumlahnya menurun maka dorongan seksual (libido) akan menurun pula, dan dapat menyebabkan penurunan kualitas dan kuantitas air mani yang dinyatakan dengan rendahnya motilitas, konsentrasi sperma dan meningkatnya jumlah sperma yang abnormal (Perry, 1968) oleh karena itu kebanyakan hewan pejantan menaiki betina pada waktu pagi hari atau sore hari yang suhunya relatif lebih dingin dibandingkan dengan siang hari. Rachmawati (1994) menyatakan bahwa pembentukan androgen mengalami irama harian yang dalam hal ini kadar androgen pagi hari lebih tinggi daripada siang hari atau malam hari.

Menurut Partodihardjo (1987) ICSH dan FSH dari hipofisa posterior memegang peranan penting dalam proses reproduksi pada hewan jantan. FSH merangsang proses spermatogenesis dan ICSH merangsang pertumbuhan dan metabolisme sel leydig, untuk memproduksi hormon testosteron. Testosteron bertanggung jawab terhadap sifat-sifat jantan, misalnya birahi, pertumbuhan kelenjar kelamin, pertumbuhan alat-alat kelamin dan pembentukan karakteristik kelamin sekunder. Testosteron mempunyai mekanisme umpan balik negatif terhadap gonadotropin (ICSH dan FSH). Jika hewan disuntik dengan testosteron dosis tinggi maka kadar FSH dan ICSH dalam darah turun akibatnya proses spermatogenesis terhambat.

Selain dipengaruhi oleh suhu, waktu sekresi hormon pada hewan jantan berfluktuasi diurnal, yaitu mencapai puncaknya pada pukul 04.00 - 09.00 pagi. Hal ini menunjukkan bahwa kadar hormon testosteron tinggi pada waktu pagi hari (Mahaputra dan Soehadi, 1993). Pada ruminansia fluktuasi meningkatnya kadar testosteron rata-rata setiap 9 jam dengan kadar yang dicapai mencapai 11 ng/ml (Melson *et al* .,1986). Pada sapi jantan kadar testosteron ini ternyata lebih tinggi dan tidak berbeda nyata pada 15 menit setelah atau sebelum koitus (Mahaputra dan Pranoto, 1991).

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

VI.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kadar testosteron serum darah sapi Friesian Holstein tertinggi didapatkan pada waktu pagi hari dan sore hari, sedangkan terendah pada waktu siang hari.

VI.2. Saran

Berdasarkan kesimpulan diatas dapat disarankan bahwa waktu terbaik untuk mengawinkan atau pengambilan semen guna keperluan Inseminasi Buatan pada sapi Friesian Holstein dilakukan pada pagi hari atau sore hari dan tidak dilakukan pada siang hari.

RINGKASAN

DION AGUNG JAYA PUTRA. **Gambaran kadar hormon testosteron pagi, siang, dan sore pada sapi Friesian Holstein (Dibawah bimbingan Dr. Laba Mahaputra, M.Sc, Drh. sebagai pembimbing pertama dan Nunuk Dyah Retno L, MS., Drh sebagai pembimbing kedua.)**

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan kadar hormon testosteron serum darah sapi Friesian Holstein antara waktu pagi, siang, dan sore.

Hewan percobaan yang dipakai dalam penelitian ini adalah 10 ekor sapi Frieisian Holstein yang berumur 3 - 6 tahun. Hewan coba tersebut diambil serum darahnya lewat vena jugularis. Serum darah ini ditera kadar hormon testosteronnya dengan menggunakan tehnik *Radioimmunassay* (RIA) di Laboratorium Kebidanan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Pengambilan serum darah dilakukan tiga kali yaitu waktu pagi, siang dan sore hari.

Data yang diperoleh dihitung dengan uji ANAVA , bila terdapat perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT 5% untuk mengetahui perbedaan kadar testosteron pagi,siang dan sore.

Hasil analisa statistik dengan uji ANAVA diperoleh bahwa antara waktu pagi dan sore menunjukkan perbedaan yang sangat nyata pada taraf 0,01 ($p < 0,01$) terhadap waktu siang hari.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus, 1984. Laboratory Training Manual on Radioimmunoassay in Animal Reproduction. Tech Series 233 International Atomic Energy Agency Vienna. hal 85 - 105.
- Anonimus, 1993. Statistika Peternakan. Direktorat Jenderal Peternakan. Jakarta.
- Banks. W.J, 1981. Applied Veterinary Histology. Williams and Walkins. Baltimore. pp.78.
- Blakely.J. dan D.H.Bade, 1985. Ilmu Peternakan. Edisi 4. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. hal. 282 - 283
- Breazile,J.E.1971. Textbook of Veterinary Physiology. Lea Febiger. Philadelphia. 514-521.
- Crew, F.A.E. 1922. Textbook of Veterinary Physiology. Lea Febiger. Philadelphia. 514-521
- Di Palma J.R. dan G.J. Di Gregorio. 1990. Basic Pharmacology in Medicine. 3rd Ed. Mc Graw - Hill Publishimh Company. Singapura.p.517 - 533.
- Frandsen, R.D. 1992. Anatomi dan Fisiologi Ternak. Edisi 4. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. hal 772 - 781.
- Ganong,1983. Fisiologi Kedokteran (Review of Medical Physiology). Edisi 10. Diterjemahkan oleh Adji Dharma. EGC. Penerbit Buku Kedokteran.
- Granner, D.K. 1985. Hormon Kelamin. Biokimia Harper. Edisi 20. EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. hal 633 - 650.
- Hafez, E.S.E. 1970. Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animal. Lea and Febiger. Philadelphia.pp. 429.
- Hafez, E.S.E. 1987. Reproduction in Farm Animal 5th.Ed. Lea and Febiger. Philadelphia.pp. 429.

- Hardjopranto.S. 1984. Fisiologi Reproduksi. Edisi 2. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Harper, H.A. 1971. Review of Physiological Chemistry. Maruzen Asian Edition. 13rd Ed. Lange Medical Publications Maruzen Company Limited. San Fransisco. California. pp. 453 - 454.
- Harper, 1985. Biokimia (Harper's Review of Biochemistry) Edisi 20. Alih Bahasa Iyan Darmawan EGC. Penerbit Buku Kedokteran.
- Ismudiono, 1996. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Edisi 1. Laboratorium Fisiologi Reproduksi. Jurusan Reproduksi dan Kebidanan. Fakultas Kedokteran Hewan. Univeritas Airlangga. Surabaya.hal. 74 - 78.
- Kusriningrum. 1990. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Mahaputra, L dan H.I. Pranoto.1991. Studi Fisiologi Antara Mulai Koitus,Semen dan Testosteron pada Sapi Friesian. Konas V PANDI. Surabaya, 24-26 Oktober
- Mahaputra,L. dan Koentjoro Soehadi. 1993. Kadar Testosteron Urine pagi dan Siang Hari pada Pria Menikah dan Belum Menikah. Media. IDI. Vol.18 (1). Maret.
- Melson, B.E., J.L. Brown, H.M. Schoeneman, G.L. Tarnavsky and J.J.Reeves. 1986. Evaluation of Serum Testosteron during Chronic LHRH Argonist Treatment in the Bull. J. Anim. Sci, 62 : 199-207.
- Nalbandov, A.V.1990. Fisiologi Reproduksi pada Mamalia dan Unggas. Edisi 3. Universitas Indonesia Press. hal.247 - 268.
- Partodihardjo.S. 1987. Ilmu Reproduksi Hewan. Mutiara. Jakarta. Hal. 131-156.
- Perry, E.J. 1968. The Artificial Insemination of Farm Animal, 4th Ed. Rutger. Univ. Press. New Brunswick, New Jersey. P. 94-111.
- Purwastyastuti Ascobat. 1987. Farmakologi dan Terapi. Edisi 3. Bagian Farmakologi. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. hal. 408 - 414.
- Rachmawati,B. 1994. Pengaruh Tindakan Akupunktur Terhadap Perubahan Kadar Hormon Testosteron Kelinci Jantan. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Hal. 30-31.
- Salisbury. G.W. dan N.L. Vandemark. 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. Penerjemah : R. Djanuar. Gajah Mada University Press. Edisi Indonesia. Hal.207-213.

- Soehadi, K. 1989. Penaruh Regulasi Diabetes Mellitus terhadap Profil Spermio Gram. Hormon Reproduksi dan Potensi Seks Pria. Disertasi Doktor Unair.
- Soehadji, 1994. Sambutan Pertemuan Ilmiah Pendayagunaan Teknik Embrio Transfer. Grati Pasuruan, 25 - 10 - 1994.
- Steinberger, E., Steinberger, A. dan Sanborn, B.M. 1978. Molecular Mechanisms concerned with Hormonal control of the seminiferous Epithelium. In : Recent progress in Andrology Eds. Fabbrini. A. and Steinberger. E. Academic press. London. pp.143 -178.
- Toelihere, M.R. 1981. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Penerbit Angkasa. Bandung. hal. 45 - 48.
- Turner, C.D. dan J.T. Bagnara. 1976. Endokrinologi Umum. Edisi 6. Airlangga University Pttress. Surabaya. hal. 513 - 517.
- Wodzicka - Thomaszweska, M., I.K. Utama, I.G. Putu dan T.D. Chaniago. 1991 . Reproduksi, Tingkah laku dan Produksi Ternak di Indonesia. Penerbit PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. Hal.45-48.

LAMPIRAN

Lampiran I

Tabel Kadar Testosteron Serum Darah Sapi Friesian Holstein Pagi, Siang dan Sore

No. Sapi	WAKTU			Jumlah
	Pagi	Siang	Sore	
Mj I	0,600	0,260	0,180	
Mj II	1,100	0,090	0,290	
Mj III	0,130	0,105	0,800	
Mj IV	0,400	0,170	0,700	
Kw I	0,380	0,240	0,450	
Kw II	0,295	0,210	0,470	
Td I	0,800	0,305	0,290	
Td II	0,295	0,135	0,185	
Td III	0,800	0,105	0,170	
Wc I	0,650	0,090	0,295	
Σ	5,325	1,710	4,370	11,405
X	0,5325	0,171	0,437	
SD	0,264	0,074	0,210	

Keterangan :

Mj : Mojo

Kw : Kaliwaron

Td : Tandes

Wc : Wonocolo

Penghitungan dengan ANAVA

$$FK = \frac{(11,405)^2}{30} = 4,335$$

$$JKT = (0,60)^2 + (1,10)^2 + (0,13)^2 + \dots + (0,295)^2 - 4,335$$

$$= 1,449$$

$$JKP = \frac{(5,325)^2 + (1,71)^2 + (4,37)^2}{10} - 4,335$$

$$= 0,7$$

$$JKS = JKT - JKP$$

$$= 1,449 - 0,7$$

$$= 0,749$$

$$KTP = \frac{JKP}{dbperl} = 0,35$$

$$KTS = \frac{JKS}{dbsisa} = 0,027$$

$$Fhitung = \frac{KTP}{KT} = 12,96$$

Tabel Analisis Sidik Ragam Gambaran Kadar Hormon Testosteron Pagi, Siang dan Sore Pada Sapi Friesian Holstein

SK	db	JK	KT	Fhit	Ftabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	2	0,7	0,35	12,96**	3,35	5,49
Sisa	27	0,749	0,027			
Total	29					

Keterangan : ** : Berbeda sangat nyata pada taraf signifikan 0,01 ($p < 0,01$)

Lampiran II**Penghitungan dengan uji BNT 5 % (Beda Nyata Terkecil)**

$$\text{BNT } \alpha = t(\alpha, db) \sqrt{\frac{2 \times \text{KTS}}{n}}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5 \%} &= t(0,05, 27) \sqrt{\frac{2 \times 0,027}{10}} \\ &= 2,052 \times 0,07 \\ &= 0,15 \end{aligned}$$

Tabel perbedaan rata - rata kadar testosteron serum darah sapi Friesian Holstein berdasarkan uji BNT

Waktu	Rata-rata (X)	Beda Selisih		BNT 5 %
		(X - Q)	(X - R)	
P	0,5325	0,3615*	0,09	0,15
R	0,437	0,266*		
Q	0,171			

Keterangan : * = berbeda nyata pada taraf signifikan 0,05

Dengan melihat tabel diatas dapat disimpulkan bahwa :

Kadar testosteron tertinggi terdapat pada waktu pagi hari yang berbeda nyata dengan kadar testosteron siang hari ($p < 0,05$), tetapi tidak berbeda nyata dengan sore hari sedangkan kadar testosteron sore hari berbeda nyata dengan siang hari ($p < 0,05$). Kadar testosteron terendah terdapat pada siang hari.

Lampiran III

Prosedur Pelaksanaan Metode RIA (Radioimmunoassay)

Alat dan bahan yang diperlukan dalam prosedur Pelaksanaan Metode RIA :

1. Tabung testosteron Ab - Coated : 100 tabung polipropilen yang mengandung antibodi untuk testosteron.
2. (^{125}I) testosteron : Satu vial iodine testosteron siap pakai.
3. Testosteron kalibrator : satu set testosteron kalibrator yang terdiri dari 7 vial.
4. Darah : dalam prosedur pelaksanaan pemeriksaan ini memerlukan 100 μl serum darah untuk masing-masing sampel.

Pelaksanaan Assay Testosteron :

1. Ke dalam tabung polypropylene coated (DPC, USA) antibodi ditambahkan 50 UI pada masing-masing sampel.
2. Sampel dikocok dengan Vortexer 3 detik.
3. Ditambahkan 1000 UI ^{125}I - Testosteron dengan radioaktivitas 20.000-40.000 cpm.
4. Dikocok selama 3 detik.
5. Tabung total count dan Non Spesifik Binding (NSB) tidak memakai tabung antibodi. Callibrator standar dipakai dari 0-55,0 nmol/l.
6. Assay diinkubasikan selama 3 jam didalam inkubator 37 °C
7. Setelah semua waktu terlewatkan semua isi didalam tabung assay dibuang dengan cara membalik tabung.

8. Radioaktivitas ditera didalam Gamma Counter masing-masing selama 1 menit , lalu angka yang ditunjukkan dalam count perminute (cpm) dari Gamma Counter diubah menjadi persen binding (persentase ikatan)

Cara Penghitungan Persen Binding :

1. Hasil perhitungan netto : rataan cpm - rataan NSB cpm
2. Persentase ikatan : $\frac{\text{perhitungan netto}}{\text{Netto perhitungan Bo/mg}} \times 100 \%$
3. Transfer kedalam kertas logit-log.
4. Ditarik/ dibuat garis standar (% Binding/ kadar hormon)

Cara penghitungan :

% Binding dimasukkan \longrightarrow garis standar