

**SKRIPSI**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI BLUSTRU  
(*Luffa cylindrica* Roem) TERHADAP ANGKA KEBUNTINGAN  
DAN JUMLAH JANIN PADA MENCIT (*Mus musculus*)**



OLEH :

*ISTAR ABADI*

SRAGEN - JAWA TENGAH

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

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI BLUSTRU  
(*Luffa cylindrica Roem*) TERHADAP ANGKA  
KEBUNTINGAN DAN JUMLAH JANIN  
PADA MENCIT (*Mus musculus*)**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

**SARJANA KEDOKTERAN HEWAN**

pada

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Oleh

**ISTAR ABADI**  
NIM. 069311965

Menyetujui,  
Komisi Pembimbing,



---

**Imam Mustofa, M.Kes., Drh.**  
Pembimbing Pertama





---


**Handajani Tjitro, M.S., 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.

Mengetahui,  
Panitia Penguji

  
\_\_\_\_\_  
(Poedji Srianto, M.Kes., Drh.)  
Ketua

  
\_\_\_\_\_  
(DR. Mas'ud Hariadi, M.Phil., Drh.)  
Sekretaris

  
\_\_\_\_\_  
(Drh. Budi Santoso)  
Anggota

  
\_\_\_\_\_  
(Imam Mustofa, M.Kes., Drh.)  
Anggota

  
\_\_\_\_\_  
(Handajani Tjitro, M.S., Drh.)  
Anggota

Surabaya, 17 Pebruari 1999

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,

  
\_\_\_\_\_  
(DR. Ismudiono, M.S., Drh.)  
NIP. 130 687 297



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI BLUSTRU  
(*Luffa cylindrica Roem*) TERHADAP ANGKA  
KEBUNTINGAN DAN JUMLAH JANIN  
PADA MENCIT (*Mus musculus*)**

**ISTAR ABADI**

**ABSTRAK**

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji Blustru (*Luffa cylindrica Roem*) terhadap angka kebuntingan dan jumlah janin yang dapat dikandung mencit (*Mus musculus*) pada satu periode kebuntingan.

Hewan coba yang digunakan terdiri atas 24 ekor mencit betina strain Balb-G berumur dua sampai tiga bulan dengan berat badan 20 – 30 g diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma Surabaya. Penelitian dilakukan dengan model percobaan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Mencit betina tersebut dibagi menjadi empat perlakuan sehingga masing-masing perlakuan terdiri atas enam ekor mencit sebagai ulangan. Perlakuan yang diberikan pada perlakuan I, II dan III berupa 0,2 ml suspensi ekstrak biji Blustru dalam pelarut CMC Na 0,5 % dengan dosis berturut-turut yaitu 30 mg/kg, 90 mg/kg dan 270 mg/kg berat badan mencit. Perlakuan pada kontrol hanya diberikan plasebo 0,2 ml pelarut CMC Na 0,5 % tanpa ekstrak biji Blustru. Perlakuan diberikan secara oral sekali sehari selama 10 hari. Setelah selesai perlakuan, mencit betina dikumpulkan dengan mencit jantan dengan perbandingan satu pejantan dan tiga mencit betina sampai terjadi kopulasi. Pemeriksaan kebuntingan dan penghitungan jumlah janin dilakukan pada hari ke 19 umur kebuntingan dengan cara laparotomi.

Hasil pemeriksaan menunjukkan adanya penurunan angka kebuntingan pada perlakuan III dengan persentase angka kebuntingan sebesar 16,67 % dan berbeda nyata dengan kontrol ( $p < 0,05$ ). Jumlah janin yang dikandung mencit pada satu periode kebuntingan juga mengalami penurunan pada perlakuan III dengan rata-rata jumlah janin  $1 \pm 2,45$  ekor dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya ( $p < 0,05$ ).

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat-Nya, sehingga penyusunan skripsi tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Blustru (*Luffa cylindrica Roem*) terhadap Angka Kebuntingan dan Jumlah Janin pada Mencit (*Mus musculus*) ini dapat diselesaikan dengan baik.

Pemakaian kontrasepsi secara oral pada program Keluarga Berencana melandasi pemikiran untuk mengadakan penelitian ini. Sampai saat ini hampir 100 % bahan baku kontrasepsi tersebut masih impor, maka dibutuhkan alternatif penyediaan bahan baku dengan memanfaatkan kekayaan alam berkhasiat yang tersedia di Indonesia.

Penelitian untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa aktif yang terkandung pada biji Blustru menunjukkan adanya alfa-spinasterol dan kukurbitasin B yang beraktifitas sebagai antifertilitas. Skripsi ini sebagai kelanjutan penelitian tersebut dengan tujuan untuk meneliti dan mengkaji pemanfaatan biji Blustru sebagai salah satu alternatif penyediaan bahan baku kontrasepsi secara oral.

Harapan penulis, skripsi ini dapat menambah khasanah keilmuan tentang khasiat dan pemanfaatan biji Blustru serta menunjang program Keluarga Berencana.

Surabaya, Pebruari 1999

Penulis

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penyusunan skripsi ini dapat diselesaikan setelah melalui serangkaian penelitian. Ucapan terima kasih penulis sampaikan pada kesempatan ini atas dukungan beberapa pihak dalam menyelesaikan penyusunan skripsi ini.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya penulis sampaikan kepada Bapak Imam Mustofa, M.Kes., Drh. selaku pembimbing pertama dan Ibu Handajani Tjitro, M.S., Drh. selaku pembimbing kedua yang telah bersedia meluangkan waktu dan berkesempatan memberikan bimbingan serta nasehat yang bermanfaat dalam penyusunan skripsi ini.

Ucapan terima kasih dengan ketulusan hati penulis sampaikan kepada Ibunda dan Ayahanda tercinta, Mbak Chotimah, Mbak Choiriyah, Mbak Eni, Mbak Endang, Mbak Tati, Adik Fathul, Yayuk, Rom, keponakan Kartika, Indra, Ratna, Pandu, Nurul, Elivia, Ditha dan " *Si Kecil* " Rina tersayang, atas dorongan semangat dan do'a restunya yang selalu menyertai penulis dalam menyelesaikan studi dan penyusunan skripsi ini.

Penghargaan dan terima kasih tidak lupa penulis sampaikan kepada segenap Pengurus Senat Mahasiswa FKH UNAIR Masa Bakti 1996/1997, anggota UKM Tae Kwon Do UNAIR, rekan Byuti, Tini, Mahfudhon, Supiyon, Hartono, dan lainnya yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Akhirnya penulis berharap semoga apa yang telah diberikan tersebut senantiasa menjadi amal kebaikan. Amien.

## DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR LAMPIRAN .....	xi
<b>BAB I        PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang Penelitian .....	1
1.2. Perumusan Masalah .....	4
1.3. Landasan Teori .....	5
1.4. Tujuan Penelitian .....	5
1.5. Manfaat Penelitian .....	6
1.6. Hipotesis Penelitian .....	6
<b>BAB II        TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>7</b>
2.1. Tanaman Blustru ( <i>Luffa cylindrica Roem</i> ) .....	7
2.1.1. Klasifikasi Tanaman .....	7
2.1.2. Morfologi Tanaman .....	8
2.1.3. Kandungan Tanaman .....	9
2.1.4. Kegunaan Tanaman .....	9
2.2. Tinjauan Tentang Triterpenoid dan Steroid .....	10
2.2.1. Triterpenoid .....	10
2.2.2. Steroid .....	12

2.3. Alat-alat Reproduksi Betina .....	13
2.3.1. Ovarium .....	13
2.3.2. Tuba Fallopii .....	14
2.3.3. Uterus .....	14
2.4. Siklus Reproduksi Betina .....	15
2.4.1. Siklus Birahi .....	15
2.4.2. Ovulasi dan Pembentukan Korpus Luteum .....	18
2.4.3. Fertilisasi dan Kebuntingan .....	20
2.5. Tinjauan Tentang Antifertilitas .....	22
2.5.1. Kontrasepsi Secara Oral .....	22
2.5.2. Mekanisme Kerja Antifertilitas .....	23
<b>BAB III</b> <b>MATERI DAN METODE</b> .....	<b>25</b>
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian .....	25
3.2. Materi Penelitian .....	25
3.2.1. Alat-alat Penelitian .....	25
3.2.2. Bahan-bahan Penelitian .....	26
3.2.3. Hewan Coba .....	26
3.3. Metode Penelitian .....	26
3.3.1. Pembuatan Ekstrak Biji Blustru .....	26
3.3.2. Rancangan Percobaan .....	27
3.3.3. Perlakuan Hewan Coba .....	27
3.3.4. Pemeriksaan Kebuntingan dan Jumlah Janin ...	28



	3.3.5. Peubah yang Diamati .....	29
	3.3.6. Analisis Data .....	29
<b>BAB IV</b>	<b>HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>30</b>
	4.1. Angka Kebuntingan .....	30
	4.2. Jumlah Janin yang Dikandung Mencit .....	31
<b>BAB V</b>	<b>PEMBAHASAN .....</b>	<b>32</b>
	5.1. Angka Kebuntingan .....	33
	5.2. Jumlah Janin yang Dikandung Mencit .....	36
<b>BAB VI</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>40</b>
	6.1. Kesimpulan .....	40
	6.2. Saran .....	40
	<b>RINGKASAN .....</b>	<b>41</b>
	<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>44</b>
	<b>GAMBAR .....</b>	<b>47</b>
	<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>50</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Angka Kebuntingan Mencit Setelah Pemberian Ekstrak Biji Blustru Secara Oral .....	30
2. Rataan Jumlah Janin yang Dikandung Mencit pada Satu Periode Kebuntingan (ekor) .....	31

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Rumus Bangun Kukurbitasin B yang Terkandung pada Biji Blustru (Windholz <i>et al.</i> , 1983) .....	11
2. Skema Perlakuan Mencit Betina Sebagai Hewan Coba .....	28
3. Tanaman Blustru ( <i>Luffa cylindrica</i> Roem) .....	48
4. Biji Blustru ( <i>Luffa cylindrica</i> Roem) dari Buah yang Masak .....	48
5. Janin yang Dikandung Mencit pada Satu Periode Kebuntingan Setelah Pemberian Ekstrak Biji Blustru Secara Oral Sekali Sehari Selama Sepuluh Hari dengan Dosis 0 mg/kg, 30 mg/kg, 90 mg/kg dan 270 mg/kg Berat Badan Mencit .....	49

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Analisis Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Blustru Terhadap Angka Kebuntingan Mencit .....	51
2. Analisis Uji Khi-kuadrat dengan Faktor Koreksi Yates Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Blustru Terhadap Angka Kebuntingan Mencit .....	53
3. Analisis Ragam Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Blustru Terhadap Jumlah Janin yang Dikandung Mencit pada Satu Periode Kebuntingan (ekor) .....	56
4. Analisis Uji Beda Nyata Terkecil 5 % Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Blustru Terhadap Jumlah Janin yang Dikandung Mencit pada Satu Periode Kebuntingan .....	58
5. Penghitungan Dosis Perlakuan yang Diberikan pada Mencit Betina Sebagai Hewan Coba .....	59

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1. Latar Belakang Penelitian

Masalah serius yang sering dihadapi oleh bangsa-bangsa di dunia termasuk bangsa Indonesia adalah laju pertumbuhan penduduk yang cepat. Pertumbuhan penduduk yang cepat berdampak pada berbagai masalah sosial yaitu mempersulit peningkatan kesejahteraan di bidang kesehatan, pendidikan, lapangan kerja, pangan dan perumahan sehingga pembangunan yang telah direncanakan menjadi kurang berarti (Hardjowijoto, 1992).

Sensus penduduk tahun 1990 menunjukkan jumlah penduduk Indonesia sampai bulan Nopember 1990 sebanyak 179.321.675 jiwa. Data pertumbuhan penduduk pada tanggal 4 Pebruari 1997 tercatat kelahiran yang ke-200 juta jiwa. Jumlah penduduk Indonesia pada tahun 2000 diperkirakan akan mencapai 223,2 juta jiwa dengan laju pertumbuhan penduduk 2,4 %. Jumlah tersebut dapat berkurang dari 200 juta jiwa apabila laju pertumbuhan penduduk tersebut dapat ditekan sampai 1,1 % (Anonimus, 1991).

Menurut Hardjowijoto (1992) salah satu usaha menekan pertumbuhan jumlah penduduk adalah dengan menurunkan laju pertumbuhan penduduk, yaitu dengan meningkatkan pelayanan program Keluarga Berencana (KB). Program KB di Indonesia bersifat kafeteria, yaitu masyarakat diberi kesempatan untuk memilih cara yang tepat dalam program KB.

Program KB yang diterapkan pada bidang kedokteran hewan bertujuan untuk mengatur pertambahan jumlah populasi hewan supaya tidak melebihi suatu jumlah yang dianggap dapat mengganggu kesejahteraan hidup manusia. Hakekat pengaturan pertambahan jumlah populasi hewan adalah dengan melakukan perencanaan perkawinan untuk membatasi tingkat kelahiran dan memperoleh keturunan yang dikehendaki, terutama yang bermanfaat bagi kesejahteraan manusia (Ismudiono, 1991).

Berbagai cara telah diterapkan pada pelaksanaan program KB di Indonesia yaitu secara mekanis dengan menggunakan alat kontrasepsi dalam rahim (AKDR) dan kondom, sedangkan secara hormonal dengan metode suntikan, pil dan susuk (Boyke, 1998). Pemakaian kontrasepsi secara oral berupa pil kontrasepsi menduduki tempat teratas dibandingkan dengan cara kontrasepsi yang lain (Padmawinata dan Sutarno, 1985).

Menurut Zaini (1988) kontrasepsi secara oral yang efektif sampai saat ini mempunyai struktur dasar steroid dengan berbagai macam efek yang merugikan misalnya mual, muntah dan rasa pusing. Kebutuhan bahan baku untuk memproduksi obat kontrasepsi terus meningkat, sedangkan hampir 100 % selama ini masih impor. Hampir semua bahan baku tersebut berasal dari steroid nabati seperti *diosgenin*, *solasidin*, *hekogenin* dan sterol-sterol tertentu pada tumbuhan. Kebutuhan tersebut dapat dipenuhi dengan adanya penemuan bahan baku baru dengan cara meneliti dan menemukan bahan baku baru atau mengoptimalkan bahan baku yang sudah ada.

Pemanfaatan kekayaan alam di Indonesia sebagai bahan obat atau yang dikenal sebagai obat tradisional terutama tumbuhan yang mempunyai khasiat antifertilitas sudah diwariskan turun-temurun di masyarakat meskipun belum semuanya dibuktikan secara ilmiah (Rahayu, 1988). Penelitian mengenai tanaman yang mempunyai khasiat antifertilitas perlu ditingkatkan mengingat pemanfaatan kekayaan alam di Indonesia yang mempunyai khasiat sebagai antifertilitas (Astika, 1988).

Penelitian tentang pencarian bahan kontrasepsi yang berasal dari tumbuhan banyak dilakukan pada suku *Cucurbitaceae*. Salah satu bagian suku tersebut adalah tanaman jenis *Luffa cylindrica* Roem (Blustru) yang mengandung sterol pada buah dan bijinya (Vipin dan William, 1986). Menurut Dass dan Mahato (1983) zat yang terkandung dalam tanaman Blustru sama dengan pada jenis tanaman *Ecballium elatarium* L., yaitu senyawa saponin triterpenoid yang merupakan bahan baku kontrasepsi pria dengan nama paten "Contrasperm TM" yang populer di Amerika Serikat.

Aktifitas saponin triterpenoid dapat mengganggu proses mitotik dan pemasakan sel telur serta dapat menyebabkan terjadinya kegagalan kebuntingan (Anisimov *et al.*, 1978). Menurut Fransworth *et al.* (1975) pemberian ekstrak dari seluruh bagian tanaman Blustru yang diberikan pada mencit secara subkutan dua kali sehari selama lima hari mampu menurunkan jumlah janin yang dilahirkan pada satu periode kebuntingan.

Menurut Bhagawati (1997) pemberian serbuk kering biji Blustru secara oral sekali sehari selama dua kali siklus birahi pada mencit betina berpengaruh terhadap penurunan jumlah folikel, korpus luteum dan tapak implantasi serta siklus birahi menjadi tidak teratur.

Biji Blustru sementara ini masih dianggap limbah karena adanya zat kukurbitasin B sehingga rasanya sangat pahit (Wijayakusuma dkk., 1994). Penelitian untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bahan aktif pada biji Blustru menunjukkan tiga senyawa sterol yang salah satunya mempunyai spektrum masa identik stigmasterol dan terdapat pula triterpenoid (Yantini, 1989).

Berdasarkan hal tersebut di atas, maka timbul pemikiran bahwa biji Blustru menjadi menarik untuk diadakan penelitian atas kemungkinan pemanfaatannya sebagai salah satu alternatif penyediaan bahan baku kontrasepsi secara oral.

## 1.2. Perumusan Masalah

Mengingat kemungkinan pemanfaatan biji Blustru sebagai salah satu alternatif penyediaan bahan baku obat antifertilitas, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Apakah pemberian ekstrak biji Blustru secara oral berpengaruh terhadap angka kebuntingan pada mencit ?
2. Apakah pemberian ekstrak biji Blustru secara oral berpengaruh terhadap jumlah janin yang dikandung mencit pada satu periode kebuntingan ?



### 1.3. Landasan Teori

Menurut Toelihere (1981) ovulasi merupakan tahap akhir dari serangkaian proses pembentukan, perkembangan dan pematangan sel telur sampai sempurna dan siap dibuahi sel spermatozoa. Rangkaian proses tersebut dipengaruhi oleh hormon gonadotropin yang disekresi kelenjar hipofisis anterior yaitu FSH dan LH.

Setelah ovulasi sel telur akan dibuahi sel spermatozoa sebagai awal proses fertilisasi dan akan dilanjutkan proses kebuntingan yang diawali proses implantasi (Fransworth *et al.*, 1975). Pemberian bahan yang bersifat antigonadotropin pada hewan betina pada saat sebelum maupun awal kebuntingan mempengaruhi sekresi hormon gonadotropin, gangguan folikogenesis, hambatan ovulasi, kelainan fertilisasi, penyimpangan implantasi dan kebuntingan (Anisimov *et al.*, 1978; Coyle *et al.*, 1994).

### 1.4. Tujuan Penelitian

Bertitik tolak pada latar belakang penelitian yang telah diuraikan di atas, maka penulis menyusun penelitian ini bertujuan sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji Blustru secara oral terhadap angka kebuntingan pada mencit.
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji Blustru secara oral terhadap jumlah janin yang dikandung mencit pada satu periode kebuntingan.

### **1.5. Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai dasar penelitian lebih lanjut yang lazim dilakukan terhadap lahirnya obat antifertilitas. Manfaat jangka panjang hasil penelitian ini diharapkan dapat berperan di dalam usaha swasembada penyediaan bahan baku obat kontrasepsi secara oral untuk menunjang program Keluarga Berencana.

### **1.6. Hipotesis Penelitian**

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah pemberian ekstrak biji Blustru dapat menyebabkan penurunan angka kebuntingan dan jumlah janin yang dikandung mencit pada satu periode kebuntingan.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Tanaman Blustru (*Luffa cylindrica Roem*)

Tanaman Blustru termasuk bangsa mentimun kelompok tanaman memanjat dan merupakan tanaman yang hidup satu tahun. Tanaman tersebut tumbuh baik di daerah beriklim kering maupun daerah dengan ketinggian sampai 1200 m di atas permukaan laut. Tanaman tersebut banyak ditemukan di Indonesia, negara-negara tropis di Asia, Brasil, Karibia dan Amerika Serikat (Anonimus, 1993).

Sebagai tanaman sayuran, tanaman Blustru banyak dijumpai dan sering ditanam di sawah, pekarangan, kebun dan di tempat manapun dimana tanaman tersebut dapat tumbuh dan merambat (Soetomo, 1986).

##### 2.1.1. Klasifikasi Tanaman

Tanaman Blustru dalam dunia tumbuhan dikenal juga dengan nama lain *Luffa aegyptiaca Mill*, *Luffa pentandra Roxb* dan *Luffa cestupiviccina Ser* (Backer dan Brink, 1965). Menurut Heyne (1987) di dalam klasifikasi tumbuh-tumbuhan tanaman Blustru mempunyai kedudukan sebagai berikut : divisi *Spermathophyta*, anak divisi *Angiospermae*, kelas *Dicotyledoneae*, bangsa *Cucurbitales*, suku *Cucurbitaceae*, marga *Luffa* dan termasuk dalam jenis *Luffa cylindrica Roem*.

### 2.1.2. Morfologi Tanaman

Tanaman Blustru termasuk kelas tanaman berbiji terbelah, jenis merambat dan menjalar dengan bau tidak enak. Beberapa daerah di Indonesia mengenal tanaman Blustru dengan beberapa nama yaitu Hujung Jawa, Ketola, Timput (Sumatra); Blustru, Emas, Kopeng, Oyong (Sunda); Blustru, Bestru, Bludru (Jawa); Gbaludru (Madura); Podahala (Maluku) dan di Halmahera dikenal dengan nama Dodahala (Depkes RI, 1985; Wijayakusuma dkk., 1994).

Menurut Wijayakusuma dkk. (1994) tanaman tersebut terdiri atas bagian daun, batang, bunga dan buah serta biji yang sangat pahit. Bentuk daun seperti bangun jantung, berlekuk 5 - 7 buah, tulang daun menonjol dan jelas, panjang daun berkisar antara 5 - 27 cm, pada bagian atas daun berwarna hijau tua dan pada bagian bawah lebih muda.

Struktur batang bersegi, lancip, dengan panjang berkisar antara 2 - 10 m serta mempunyai pembelit 2 - 5 buah yang keluar dari ketiak daun. Bunga tanaman Blustru berbentuk menyerupai lonceng, terbagi menjadi lima dengan lekuk yang dalam, berwarna kuning, berusuk membujur, mahkota bunga berbentuk seperti roda melingkar. Bentuk buah silindris panjang dan berparuh, garis tengah 5 - 10 cm, buah yang muda berwarna hijau, sedangkan buah yang sudah masak berwarna coklat berupa anyaman serabut rapat pada bagian dalamnya. Biji yang berasal dari buah yang sudah masak berwarna hitam dan licin, pada bagian tepi biji bersayap.

### 2.1.3. Kandungan Tanaman

Tanaman Blustru terdiri atas beberapa bagian yang dapat dimanfaatkan sesuai kebutuhan dan zat yang terkandung. Zat yang terkandung pada batang dan daun : saponin; pada bunga : glutamin, asam aspartat, arginin, lisin dan alamin. Zat yang terkandung pada buah terdiri atas : saponin, luffein, citrulin dan kukurbitasin; kandungan zat pada getah : saponin, lendir, lemak, protein, silan, vitamin B dan C; pada sabut : silan, selulose, galaktosa dan manitosa; pada biji : minyak lemak, skualin, protein, kukurbitasin B dan alfa-spinasterol (Wijayakusuma dkk., 1994).

### 2.1.4. Kegunaan Tanaman

Tanaman Blustru sementara ini lebih dikenal sebagai sayuran terutama buah yang masih muda, tetapi bila ditinjau dari zat yang terkandung sebenarnya banyak sekali manfaat bagian-bagian tanaman tersebut dalam bidang pengobatan.

Kegunaan akar, batang dan daun untuk mengobati haid tidak teratur, mastitis, bisul, kurap, luka bakar, bisa ular, odem dan hidung berlendir. Manfaat bagian buah, kulit buah dan sabut untuk mengurangi rasa sakit perut, sakit pinggang, batuk, perdarahan, bisul, wasir dan ASI tidak lancar. Manfaat rebusan dan 10 g serbuk biji Blustru masak dapat untuk mengurangi rasa sakit yang diakibatkan batu saluran kemih, wasir, odem pada kaki dan tangan serta menurunkan panas (Wijayakusuma dkk., 1994).

## 2.2. Tinjauan Tentang Triterpenoid dan Steroid

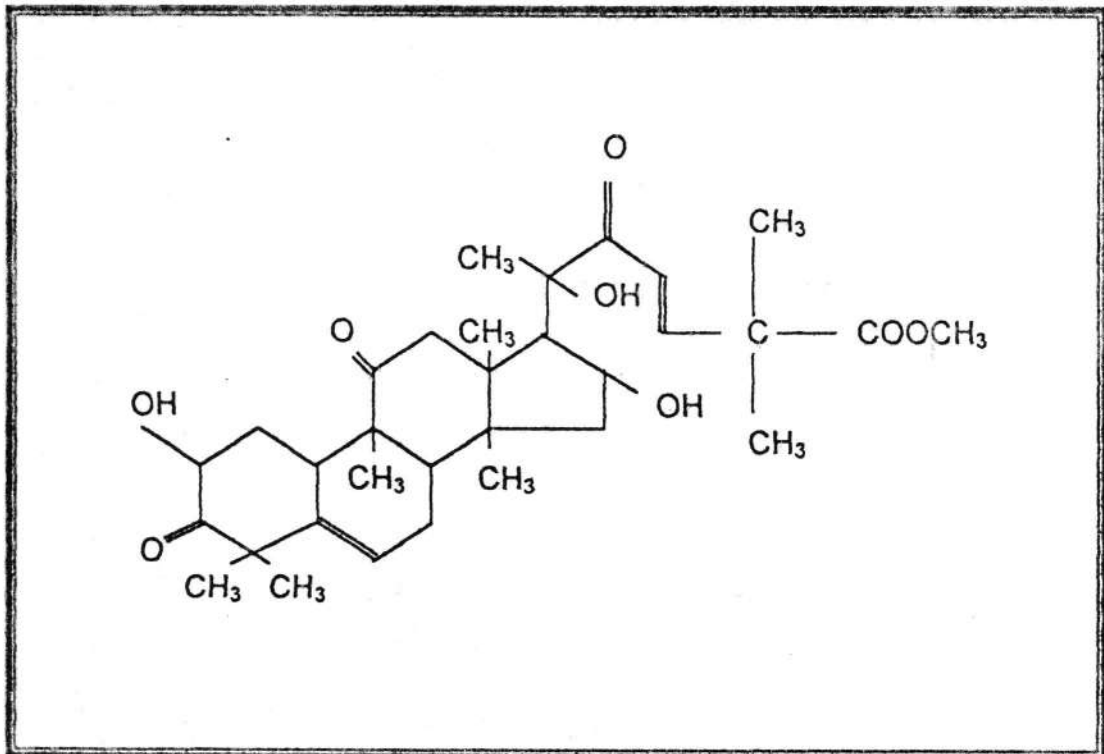
### 2.2.1. Triterpenoid

Menurut Harborne (1973) triterpenoid merupakan senyawa berkerangka karbon yang terdiri atas enam satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon  $C_{30}$  asiklik. Triterpenoid dibedakan menjadi empat yaitu saponin, steroid, glikosida jantung dan triterpenoid sebenarnya. Saponin dan glikosida jantung sebenarnya adalah triterpena atau sterol yang terutama terdapat sebagai glikosida. Umumnya triterpenoid larut dalam lemak dan terdapat pada sitoplasma sel tumbuhan, buah, daun, getah dan damar.

Kompleks glikosida triterpenoid dengan sterol pada membran sel mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel bersangkutan (Korolkovas dan Burckhalter, 1976). Perubahan permeabilitas membran sel telur mengakibatkan anomali pembentukan, perkembangan dan pematangan sel telur sehingga terjadi gangguan ovulasi karena terhambatnya proses mitotik dan menyebabkan kegagalan kebuntingan (Anisimov *et al.*, 1978).

Menurut Windholz *et al.* (1983) salah satu senyawa yang merupakan bagian dari kelompok triterpenoid tetrasiklik adalah kukurbitasin yang telah dapat diisolasi sebanyak 17 macam dari tumbuh-tumbuhan. Sebagian besar terdapat pada suku *Cucurbitaceae* dan yang paling banyak ditemukan adalah kukurbitasin B dan kukurbitasin E.

Kukurbitasin B terdapat terbatas hanya pada biji *Cucurbitaceae* dan sedikit *Cruciferae*. Kukurbitasin bersifat racun bagi sebagian besar organisme karena rasanya yang sangat pahit (Harborne, 1973). Menurut Windholz *et al.* (1983) aktifitas kukurbitasin B adalah mampu berinteraksi dengan sterol yang terkandung pada membran sel, antikanker dan antigiberelin. Rumus kimia kukurbitasin B adalah  $C_{32}H_{46}O_8$ , sedangkan rumus bangunnya sebagai berikut :



Gambar 1. Rumus Bangun Kukurbitasin B yang Terkandung pada Biji Blustru (Windholz *et al.*, 1983).

### 2.2.2. Steroid

Secara umum steroid adalah senyawa organik berinti kerangka siklopentano perhidrofenantren yang merupakan penggabungan tiga cincin sikloheksana dan satu siklopentana. Senyawa yang berinti steroid misalnya sterol, saponin, glikosida jantung dan asam empedu (Pine, 1988).

Sterol merupakan fraksi minyak tidak tersabunkan sukar larut dalam air dan mudah larut dalam lemak. Sterol pada tumbuhan tingkat tinggi disebut fitosterol yang terdiri atas tiga senyawa yaitu sitosterol, stigmasterol dan kampesterol (Harborne, 1973).

Biji Blustru mengandung alfa-spinasterol yang merupakan isomer stigmasterol yang penting untuk sintesis hormon seks dan kortikosteroid. Stigmasterol dapat disintesis menjadi progesteron melalui beberapa tahap reaksi kimia (Berndt, 1982).

Progesteron mampu menekan siklus birahi dan mencegah perkembangan folikel ovarium serta menghambat proses ovulasi (Partodihardjo, 1992). Menurut Meles dkk. (1992) bahan-bahan steroid mampu beraktifitas sebagai antigonadotropin sehingga dapat menyebabkan gangguan sekresi GnRH (*gonadotropin releasing hormone*) dengan mekanisme umpan balik negatif (*negative feedback mechanism*) sehingga sekresi hormon gonadotropin (FSH dan LH) dari kelenjar hipofisis anterior terhambat. Hal tersebut mengakibatkan gangguan pembentukan, perkembangan dan pematangan folikel ovarium serta gangguan ovulasi.



### 2.3. Alat-alat Reproduksi Betina

Alat-alat reproduksi betina tidak hanya berfungsi menghasilkan sel telur yang akan menjadi individu baru, tetapi juga bertanggung jawab menyediakan lingkungan yang serasi bagi individu baru tersebut dan memberi makan selama masa permulaan hidup dan pertumbuhannya. Fungsi tersebut dilaksanakan oleh alat-alat reproduksi primer dan skunder.

Alat reproduksi primer betina berupa ovarium. Alat reproduksi skunder terdiri atas tuba Falopii, uterus, serviks, vagina dan vulva. Selain organ-organ tersebut terdapat pula kelenjar susu sebagai alat reproduksi pelengkap karena sangat berkaitan dengan proses reproduksi dan penting untuk memberi makan individu yang akan dilahirkan (Toelihere, 1981).

#### 2.3.1. Ovarium

Ovarium merupakan alat reproduksi primer betina berfungsi menghasilkan sel telur dan hormon kelamin yaitu estrogen, progesteron dan relaksin. Ketiga hormon tersebut sangat penting untuk membantu proses kebuntingan dan berperan pada proses kelahiran (Hardjopranjoto, 1980).

Sepasang ovarium dengan bentuk dan ukuran bervariasi tergantung pada jenis spesies dan siklus birahinya terletak di ruang pelvis pada keadaan tidak bunting (Mc Donald dan Muchtar, 1971). Alat penggantung pada bagian anterior dan posterior ovarium terikat oleh *ligamentum ovarium proprium* berbentuk pita jaringan otot licin.

### 2.3.2. Tuba Fallopii

Tuba Fallopii atau sering disebut oviduk merupakan sepasang saluran kelamin pada betina yang menghubungkan antara ovarium dan uterus. Organ tersebut berfungsi untuk menerima sel telur yang diovulasikan oleh ovarium, menerima sel spermatozoa yang berasal dari proses konsepsi, mempertahankan sel telur dan sel spermatozoa pada bagian ampulla serta menyalurkan zigot ke dalam uterus (Partodihardjo, 1992).

Alat penggantung tuba Fallopii disebut *mesosalpinx*. Tuba Fallopii dibagi menjadi tiga bagian, yaitu infundibulum beserta fimbriae, ampulla dan isthmus. Menurut Toelihere (1981) di dalam tuba Fallopii inilah terjadi kapasitas sel spermatozoa dalam saluran kelamin betina, fertilisasi dan pembelahan embrio yang pertama.

### 2.3.3. Uterus

Uterus adalah organ reproduksi sekunder pada hewan betina yang berbentuk buluh berurat daging licin, berfungsi untuk menerima sel telur yang sudah dibuahi, memberi makanan dan perlindungan janin selama kebuntingan dan pada stadium permulaan pengeluaran janin pada saat terjadinya proses kelahiran. Uterus dibagi menjadi tiga bagian yaitu sepasang kornua uteri, korpus uteri dan serviks uteri (Toelihere, 1981). Kebuntingan pada mencit sebagai hewan multipara terjadi pada bagian kornua uteri sesuai dengan bentuk dan fungsi fisiologi uterus mencit.

## 2.4. Siklus Reproduksi Betina

### 2.4.1. Siklus Birahi

Siklus birahi pada hewan betina mempunyai variasi yang berbeda-beda pada setiap spesies hewan. Secara umum pada setiap perubahan siklus birahi yang terjadi secara normal menunjukkan gejala dan perubahan yang sifatnya teratur. Jarak antara birahi yang satu ke birahi berikutnya disebut satu siklus birahi, sedangkan siklus birahi itu sendiri adalah saat dimana betina mau menerima pejantan untuk mengadakan kopulasi. Kopulasi yang baik akan dapat mengakibatkan terjadinya kebuntingan dan selanjutnya akan dapat menghasilkan keturunan (Partodihardjo, 1992).

Perubahan fisiologi pada organ ovarium selama berlangsung siklus birahi ditandai dengan adanya pertumbuhan folikel yang lambat kira-kira satu hari sebelum birahi. Pertumbuhan folikel akan berlangsung semakin cepat selama dan sesudah birahi berakhir. Biasanya folikel akan pecah sesudah siklus birahi berakhir (Partodihardjo, 1992).

Setelah folikel pecah, rongga yang terbentuk akan segera diisi bentukan berupa tenunan jaringan berwarna kecoklatan kemudian lambat laun akan berkembang menjadi korpus luteum. Korpus luteum berperan sebagai penghasil hormon progesteron yang akan berperan dalam mempertahankan kelangsungan proses kebuntingan. Apabila tidak terjadi proses kebuntingan, maka korpus luteum tersebut akan mengalami regresi dan disebut sebagai korpus albikan (Salisbury dan Demark, 1985).

Selama siklus birahi berlangsung, perubahan pada sistem reproduksi dipengaruhi oleh hormon yang dihasilkan hipofisis anterior yaitu *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH) serta hormon-hormon yang dihasilkan ovarium yaitu progesteron dan estrogen. Hormon-hormon tersebut dikenal mempunyai fungsi khusus dalam mengendalikan siklus birahi. Fungsi utama FSH merangsang pertumbuhan dan pematangan folikel ovarium. FSH dapat bekerja sama dengan LH merangsang pematangan folikel dan pelepasan estrogen (Toelihere, 1981).

Sesudah pematangan folikel, LH mendorong terjadinya ovulasi dengan menggertak pemecahan dinding sel folikel dan pelepasan sel telur. LH dimungkinkan juga berpengaruh pada pembentukan korpus luteum yang berasal dari folikel yang sudah pecah. Pada tikus dan mencit aktifitas fungsional korpus luteum dalam mensekresi progesteron dipelihara oleh *Luteotropics Hormone* (LTH) sehingga dapat juga dikatakan prolaktin mampu merangsang pelepasan hormon progesteron (Toelihere, 1981).

Satu siklus birahi pada mencit dapat dibagi menjadi empat fase, yaitu fase proestrus, fase estrus, fase metestrus dan fase diestrus. Perubahan-perubahan fisiologi yang terjadi pada setiap fase tersebut dapat dilihat pada perubahan tingkah laku mencit betina maupun dengan cara melihat perubahan pada bagian epitel vagina secara mikroskopis. Satu siklus birahi pada mencit betina pada umumnya berlangsung kira-kira selama 4 - 5 hari (Hafez, 1980).

Fase proestrus merupakan periode persiapan birahi yang ditandai dengan adanya pertumbuhan folikel. Perubahan tingkah laku mencit betina ditandai mau menerima pejantan meskipun belum mau kopulasi. Perubahan pada alat kelamin luar tampak adanya peningkatan aliran darah di daerah tersebut serta terjadi penebalan epitel vagina dan jelas terlihat pada preparat ulas vagina. Fase proestrus pada mencit betina berlangsung selama 12 jam (Salisbury dan Demark, 1985).

Fase estrus sebagai fase terpenting dalam siklus birahi karena hewan betina mau menerima pejantan untuk kopulasi. Pada fase tersebut folikel de Graaf membesar dan menjadi matang. Epitel vagina mengalami penebalan dan pada preparat ulas vagina banyak terlihat sel-sel kornifikasi. Fase estrus berlangsung kira-kira 12 jam. Biasanya fase tersebut dimulai pada pukul empat sore sampai sepuluh malam dan perkawinan terjadi pada tiga jam pertama. Terjadinya proses kopulasi ditandai dengan adanya sumbat pada vagina. Sumbat pada vagina tersebut akan tetap bertahan selama 16 - 48 jam (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

Fase metestrus terjadi setelah fase estrus selesai dan berlangsung selama 21 jam. Gejala yang dapat diamati dari luar tidak tampak nyata, namun pada umumnya masih terlihat tanda-tanda sisa gejala estrus tetapi sudah tidak mau menerima pejantan. Sel-sel kornifikasi yang lepas dari mukosa vagina, sel lendir kental dan sel-sel leukosit terlihat pada pemeriksaan preparat ulas vagina (Partodihardjo, 1992).

Fase diestrus merupakan periode terakhir dan paling lama dalam siklus birahi yang ditandai betina tidak mau menerima pejantan. Sel-sel lendir vagina tipis dan banyak sel-sel leukosit pada pemeriksaan preparat ulas vagina. Permulaan fase tersebut korpus hemoragikum menjadi mengkerut karena di bawah lapisan hemoragik ini tumbuh sel-sel yang berwarna kuning sehingga dinamakan korpus luteum. Korpus luteum yang terbentuk akan mengalami pematangan dan menghasilkan hormon progesteron. Akhir dari periode ini korpus luteum akan mengalami proses degenerasi. Fase diestrus pada mencit berlangsung selama 56 jam (Partodihardjo, 1992).

#### **2.4.2. Ovulasi dan Pembentukan Korpus Luteum**

Ovulasi didefinisikan sebagai pelepasan sel telur dari folikel de Graaf. Jumlah sel telur yang diovulasikan oleh ovarium pada satu periode estrus berbeda-beda menurut jenis spesies hewan. Rata-rata waktu ovulasi pada semua jenis mamalia adalah selama periode birahi atau segera sesudah akhir siklus birahi (Toelihere, 1981). Ovulasi terjadi bukan karena adanya kopulasi akan tetapi terjadi karena adanya pengaruh LH yang melepaskan histamin sehingga menyebabkan hiperemi pada ovarium dan merangsang pelepasan enzim proteolitik, yaitu kolagenase ke dalam cairan folikuler.

Enzim proteolitik dapat melemahkan dinding folikel sehingga terjadi daerah avaskuler (*stigma*) dan ovulasi terjadi pada daerah penonjolan superfisial dinding folikel yang tidak ditunjang stroma ovarium (Hafez, 1980).

Sesudah folikel de Graaf pecah dan sel telur dibebaskan, maka terjadi perdarahan dalam folikel sehingga bentukan ini disebut korpus hemoragikum. Perdarahan terjadi melalui dinding folikel, bukan pada tempat pecahnya folikel. Saat perdarahan terjadi, hewan betina tidak lagi birahi dan memasuki periode luteal. Lambat laun darah yang membeku diresorpsi dan proses pembentukan korpus luteum dimulai (Partodihardjo, 1992).

Luteinasi adalah proses pembentukan korpus luteum oleh sel-sel granulosa dan sel-sel teka folikel. Semakin bertambahnya umur korpus luteum, maka bertambah pula ukuran korpus tersebut. Pembesaran tersebut terjadi karena hipertropi dan hiperplasia sel-sel granulosa dan sel-sel teka folikel. Sejak mulai terbentuk, korpus luteum memproduksi progesteron yang digunakan untuk meredakan aktifitas dari estrogen yang mengakibatkan kontraksi pada dinding tuba Fallopii dan pada uterus sehingga kontraksi tersebut mereda dan akhirnya menjadi tenang. (Partodihardjo, 1992).

Apabila tidak terjadi kebuntingan, korpus luteum lambat-laun mengecil dan diikuti terbentuknya tenunan sel-sel pengikat, lemak dan struktur semacam hyalin diantara sel-sel luteal. Korpus luteum berubah menjadi jaringan parut berwarna coklat pucat yang disebut korpus albikan namun kurang berperan dalam proses reproduksi (Partodihardjo, 1992).

Apabila terjadi kebuntingan hasil dari proses fertilisasi, maka korpus luteum yang menghasilkan hormon progesteron akan tetap dipertahankan dan berfungsi sampai saat menjelang kelahiran (Partodihardjo, 1992).

Fungsi pokok progesteron diantaranya adalah mempersiapkan alat-alat reproduksi untuk proses implantasi, memelihara keberadaan janin selama periode kebuntingan dan menggerakkan kelenjar susu untuk tumbuh dan berkembang mempersiapkan produksi air susu (Hafez, 1980).

Ovulasi pada mencit terjadi sembilan jam setelah memasuki periode estrus. Empat jam setelah ovulasi dinding folikel mulai melakukan reorganisasi terutama pada sel teka interna. Korpus luteum akan terbentuk sempurna dan mencapai ukuran maksimum setelah tiga hari. Apabila terjadi kopulasi tetapi tidak terjadi fertilisasi, maka korpus luteum akan mengalami degenerasi. Sedangkan apabila terjadi kopulasi yang diikuti dengan proses fertilisasi, maka korpus luteum akan terus tumbuh dan berfungsi dalam jangka waktu yang lebih lama, yaitu sekitar 18 hari (Hafez, 1980).

#### 2.4.3. Fertilisasi dan Kebuntingan

Fertilisasi adalah suatu proses penyatuan atau penggabungan antara dua sel kelamin yaitu sel telur dan sel spermatozoa sehingga terbentuk individu baru sebagai replika induk yang bersangkutan dan bersifat diploid. Tempat proses fertilisasi pada sebagian besar hewan terjadi pada bagian *Ampullary Isthmus Junction* (AIJ) dari tuba Fallopii (Hafez, 1980).

Sel spermatozoa untuk dapat mencapai sel telur, maka harus mampu menembus tiga lapisan, yaitu lapisan sel granulosa, zona pellusida dan dinding sel telur atau membran vitelin (Hafez, 1980).



Sel spermatozoa yang telah mengalami kapasitasi, pada bagian kepalanya banyak mengandung enzim hyaluronidase. Enzim tersebut berfungsi untuk melisiskan asam hyaluronat yang dapat mengikat sel-sel granulosa yang menyelubungi sel telur. Enzim tersebut juga berperan membantu menembus zona pellusida dan menyebabkan reaksi zona. Reaksi zona merupakan reaksi zona pellusida sel telur agar tidak dapat ditembus oleh sel spermatozoa lain, sehingga hanya akan ada satu sel spermatozoa yang masuk ke dalam sitoplasma sel telur untuk mengadakan fertilisasi.

Selanjutnya sel spermatozoa akan bersentuhan dengan membran vitelin yang mengakibatkan timbulnya tonjolan kecil dari membran vitelin. Bersamaan hal tersebut kepala sel spermatozoa akan menyusup ke dalam sitoplasma sel telur. Setelah menyatu dengan sel telur, maka terbentuklah sel baru yang bersifat diploid yang disebut embrio (Hafez, 1980).

Embrio akan mengalami proses pembelahan tanpa terjadi penambahan volume sitoplasma pada fase *cleavage*. Proses tersebut berlangsung terus sampai terjadi blastosis. Blastosis yang terbentuk pada jenis hewan multipara didistribusikan dan akan berimplantasi pada daerah sepanjang kornua uteri sebagai akibat pergerakan dinding uterus.

Setelah proses implantasi dilanjutkan proses perkembangan sehingga menjadi replika jenis hewan bersangkutan dan disebut sebagai janin. Akhir masa kebuntingan ditandai dengan pengeluaran janin dan plasenta dari induk (Toelihere, 1981).

Kebuntingan yang terjadi pada mencit dapat diketahui dengan cara meraba pada bagian perut antara 10 - 14 hari setelah sumbat vagina ditemukan sebagai tanda terjadinya kopulasi. Umur kebuntingan pada mencit berkisar 20 - 21 hari, kemudian dilanjutkan proses kelahiran yang berjalan kurang lebih tiga jam (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

## **2.5. Tinjauan Tentang Antifertilitas**

Antifertilitas adalah suatu bahan yang dapat mempengaruhi secara fisiologi sistem reproduksi jantan maupun betina dengan tujuan untuk mencegah terjadinya kebuntingan. Suatu bahan yang bekerja dapat menghambat ovulasi atau fertilisasi disebut kontrasepsi dan apabila bekerja setelah proses implantasi disebut abortivum (Rahayu, 1988).

### **2.5.1. Kontrasepsi Secara Oral**

Kontrasepsi oral adalah obat yang diberikan secara oral yang dapat mencegah proses konsepsi. Ada dua macam preparat yang dapat digunakan yaitu kombinasi antara estrogen dengan progesteron dan terapi berlanjut dengan hormon progesteron tanpa pemberian estrogen (Goldfien, 1989).

Bahan yang mengandung hormon tersebut apabila diterima oleh tubuh menyebabkan gangguan pada poros hipotalamus-hipofisis anterior, sehingga sekresi hormon gonadotropin terhambat. Pemakaian kontrasepsi secara oral lebih diminati masyarakat karena kontrasepsi tersebut bersifat reversibel.

### 2.5.2. Mekanisme Kerja Antifertilitas

Bahan yang digolongkan sebagai antifertilitas dapat bekerja pada berbagai tempat dalam tubuh yakni pada poros hipotalamus-hipofisis anterior, ovarium, tuba fallopii, uterus, vagina dan pada proses spermatogenesis (Astika, 1988).

Aktifitas bahan antigonadotropin dengan mekanisme umpan balik negatif mengakibatkan penurunan sekresi GnRH pada poros hipotalamus-hipofisis anterior sehingga mengakibatkan penurunan sekresi hormon gonadotropin (FSH dan LH) dari kelenjar hipofisis anterior sehingga mempengaruhi pembentukan, perkembangan dan pematangan folikel ovarium serta gangguan proses ovulasi (Meles dkk., 1992).

Antifertilitas yang bekerja pada ovarium dapat mempengaruhi proses pembentukan dan perkembangan folikel serta gangguan proses ovulasi. Kerja antifertilitas pada tuba Fallopii dapat mempengaruhi transportasi sel telur maupun sel spermatozoa, proses fertilisasi dan transportasi zigot (Astika, 1988).

Antifertilitas yang bekerja pada uterus dapat mengganggu proses implantasi, organogenesis dan perkembangan embrio. Antifertilitas yang bekerja pada vagina bersifat spermisidal sehingga dapat menghambat aktifitas sel spermatozoa (Astika, 1988).

Alfa-spinasterol yang merupakan isomer dari stigmasterol yang terkandung pada ekstrak biji Blustru dapat beraktifitas sebagai antigonadotropin yang dapat berpengaruh pada poros hipotalamus-hipofisis anterior (Berndt, 1982; Yantini, 1989). Pengaruh tersebut mengakibatkan hambatan skresi FSH dan LH dari kelenjar hipofisis anterior. Rendahnya kadar FSH mengakibatkan perkembangan dan pematangan folikel ovarium terhambat sehingga dengan mekanisme umpan balik negatif menyebabkan sekresi LH terganggu dan akibat selanjutnya terjadi gangguan proses ovulasi.

Menurut Widholz *et al.* (1983) kukurbitasin B yang terdapat pada biji Blustru mampu beraktifitas sebagai antimiotik sel kelamin. Aktifitas tersebut berupa kemampuan untuk berinteraksi dengan sterol pada membran sel folikel ovarium sehingga mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel folikel ovarium. Perubahan permeabilitas membran sel tersebut mengakibatkan kelainan fungsi maupun anomali perkembangan dan pematangan sel folikel ovarium. Gangguan tersebut akhirnya berakibat terhadap proses ovulasi.

## BAB III

### MATERI DAN METODE

#### 3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Pembuatan ekstrak biji Blustru (*Luffa cylindrica Roem*) dilakukan di Laboratorium Ilmu Makanan Ternak Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Penelitian dan perlakuan hewan coba dilaksanakan di Ruang Bedah Bangkai Laboratorium Ilmu Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga pada tanggal 5 Januari 1998 sampai dengan tanggal 20 Pebruari 1998.

#### 3.2. Materi Penelitian

##### 3.2.1. Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri atas empat buah kandang mencit berupa bak plastik (panjang 40 cm, lebar 30 cm dan tinggi 10 cm) dengan penutup dari kawat anyaman serta tempat pakan dan minum, *disposable syringe* 1 ml dengan ujung jarum dimodifikasi tumpul (sonde lambung), timbangan Cent-O-Gram, timbangan O'Housse Marca Reg. Florham Park N.J., penggiling Arthur H. Thomas, ayakan No. 40, alat ekstraksi Soxhlet, eksikator, pipet, kapas steril, kapas bertangkai (*cotton buds*), peralatan bedah (*disecting set*), mikroskop, gelas objek, gelas Beaker, bak fiksasi (*staining jar*), pembakar Bunzen serta peralatan dokumentasi.

### 3.2.2. Bahan-bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian ini terdiri atas biji Blustru, pelarut CMC Na (*carboxy methyl cellulose*) 0,5 %, alkohol 96 %, metanol, zat warna Giemsa, akuades, NaCl fisiologis, kloroform, pakan ayam Par - G (PT. Comfeed Indonesia) dan air minum PDAM Surabaya.

### 3.2.3. Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah mencit betina (*Mus musculus*) strain Balb-G yang diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma Surabaya. Mencit yang dipilih adalah 24 ekor mencit betina yang pernah beranak, berumur dua sampai tiga bulan dengan berat badan 20 - 30 g. Mencit jantan yang sudah pernah membuntingi dipilih delapan ekor digunakan sebagai pejantan.

## 3.3. Metode Penelitian

### 3.3.1. Pembuatan Ekstrak Biji Blustru

Biji Blustru yang telah dibersihkan dari kotoran dan dikeringkan, kemudian digiling dengan penggiling Athur H. Thomas dan diayak dengan ayakan No. 40 sehingga didapatkan serbuk halus. Sebanyak 100 g serbuk tersebut diekstraksi dengan cara Soxhlet dengan pelarut 300 ml alkohol 96 %. Setelah dilakukan penguapan dengan tekanan rendah dihasilkan 4,95 g ekstrak kering sebagai bahan perlakuan yang diberikan pada mencit betina pada setiap perlakuan.

### 3.3.2. Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan model percobaan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Mencit betina sebanyak 24 ekor dibagi secara acak menjadi empat perlakuan sehingga masing-masing perlakuan terdiri atas enam ekor mencit betina sebagai ulangan.

### 3.3.3. Perlakuan Hewan Coba

Mencit betina yang sudah ditempatkan pada kandang diadaptasikan selama 10 hari. Setelah masa adaptasi selesai kemudian diberi perlakuan secara oral sekali sehari selama 10 hari. Perlakuan yang diberikan pada perlakuan I, II, dan III berupa suspensi ekstrak Biji Blustru dalam pelarut CMC Na 0,5 % sebanyak 0,2 ml dengan dosis berturut-turut yaitu 30 mg/kg, 90 mg/kg dan 270 mg/kg berat badan mencit. Sedangkan kontrol hanya diberi plasebo berupa pelarut CMC Na 0,5 % sebanyak 0,2 ml tanpa ekstrak biji Blustru. Penentuan dosis tersebut dilakukan secara eksplorasi (Lampiran 5) berdasarkan dosis efektif pemakaian serbuk biji Blustru pada manusia (Ghosh, 1971; Wagner dan Wolf, 1977).

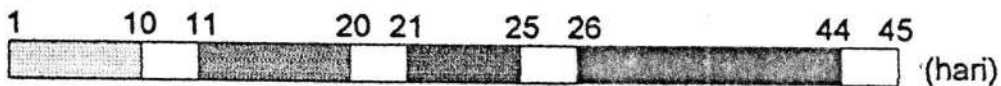
Setelah masa perlakuan selesai, mencit betina dikumpulkan dengan pejantan dengan perbandingan satu pejantan dan tiga betina selama lima hari. Setiap 24 jam dilakukan pengamatan terjadinya kopulasi dengan melihat adanya sumbat pada vagina dan atau adanya sel spermatozoa sebagai tanda telah terjadi kopulasi.

### 3.3.4. Pemeriksaan Kebuntingan dan Jumlah Janin

Setelah masa adaptasi dan dilanjutkan perlakuan, maka mencit betina yang sudah mengadakan kopulasi dan sudah ditetapkan hari ke nol umur kebuntingan, maka mencit betina segera dipisahkan dan masuk masa kebuntingan. Seluruh mencit betina dipisahkan dari pejantan setelah lima hari masa pengumpulan dengan pejantan.

Setelah 19 hari umur kebuntingan dilakukan laparotomi pada mencit betina dengan membedah pada bagian *linea alba* perut mencit. Pembedahan dengan tujuan untuk melakukan pengamatan angka kebuntingan dan jumlah janin yang dapat dikandung mencit.

Perlakuan yang diberikan pada mencit betina sebagai hewan coba selengkapnya disajikan pada skema sebagai berikut :



Gambar 2. Skema Perlakuan Mencit Betina Sebagai Hewan Coba.

Keterangan :

- 1 - 10 : masa adaptasi dengan lingkungan
- 11 - 20 : masa perlakuan pemberian suspensi ekstrak biji Blustru
- 21 - 25 : masa pengumpulan mencit betina dengan mencit jantan
- 26 - 44 : masa kebuntingan mencit betina
- 45 : pemeriksaan kebuntingan dan jumlah janin mencit



### 3.3.5. Peubah yang Diamati

Peubah-peubah yang diamati pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Terjadinya kebuntingan mencit pada masing-masing perlakuan.
2. Jumlah janin yang dikandung mencit pada satu periode kebuntingan.

### 3.3.6. Analisis Data

Data yang didapatkan dari hasil pengamatan dianalisis untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji Blustru terhadap angka kebuntingan dan jumlah janin. Analisis data angka kebuntingan dilakukan dengan Uji Khi-kuadrat dengan derajat kepercayaan 5 %. Apabila terdapat perbedaan yang nyata, maka dapat diuji dengan Faktor Koreksi Yates untuk membandingkan antar sepasang perlakuan dan atau kontrol (Oetojo, 1992).

Data jumlah janin yang dapat dikandung mencit dianalisis menggunakan analisis ragam dengan Uji F. Apabila hasil analisis tersebut terdapat perbedaan yang nyata, maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil 5 % (Kusriningrum, 1989).

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN

#### 4.1. Angka Kebuntingan Mencit

Hasil pengamatan mengenai pengaruh pemberian ekstrak biji Blustru secara oral terhadap angka kebuntingan mencit pada kontrol, perlakuan I, II dan III disajikan seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Angka Kebuntingan Mencit Setelah Pemberian Ekstrak Biji Blustru Secara Oral

Perlakuan	Jumlah Hewan Coba	Bunting		Tidak Bunting	
		Jumlah	Persentase	Jumlah	Persentase
P0	6	6	100	0	0
PI	6	6	100	0	0
PII	6	4	66,67	2	33,33
PIII	6	1 *	16,67	5	83,33

Keterangan : tanda \* menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ).

Analisis data yang dilakukan dengan menggunakan Uji Khi-kuadrat diperoleh hasil  $X^2$  hitung sebesar 13,51, sedangkan  $X^2$  tabel dengan taraf nyata 0,05 dan derajat bebas 3 atau  $X^2$  tabel (0,95)(3) sebesar 7,81 (Lampiran 1). Hal tersebut berarti  $X^2$  hitung lebih besar dari  $X^2$  (0,95)(3), sehingga bermakna bahwa pemberian ekstrak biji Blustru menunjukkan perbedaan nyata terhadap angka kebuntingan mencit ( $p < 0,05$ ).

#### 4.2. Jumlah Janin yang Dikandung Mencit

Data hasil pengamatan tentang pengaruh pemberian ekstrak biji Blustru secara oral terhadap jumlah janin yang dikandung mencit pada satu periode kebuntingan pada kontrol, perlakuan I, II dan III disajikan seperti pada Tabel 2 dan analisis selengkapnya terdapat pada Lampiran 3.

Tabel 2. Rataan Jumlah Janin yang Dikandung Mencit pada Satu Periode Kebuntingan (ekor)

Perlakuan	Jumlah Hewan Coba	Jumlah Hewan Coba Bunting	Rataan Jumlah Janin (X ± SD)
P0	6	6	9,83 <sup>a</sup> ± 1,33
PI	6	6	8,83 <sup>ab</sup> ± 0,98
PII	6	4	5,67 <sup>b</sup> ± 4,46
PIII	6	1	1 <sup>c</sup> ± 2,45

Keterangan : superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ).

Setelah dianalisis dengan sidik ragam dengan uji F diperoleh F hitung sebesar 13,26, sedangkan F tabel (0,95)(3) sebesar 3,10. Hal tersebut menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata di antara keempat perlakuan ( $p < 0,05$ ).

Hasil analisis dengan Uji Beda Nyata Terkecil 5 % diperoleh bahwa pada perlakuan III menunjukkan jumlah janin yang dikandung mencit paling sedikit dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Jumlah janin yang dikandung mencit paling banyak terdapat pada kontrol dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan I tetapi berbeda nyata dengan perlakuan II.

## BAB V

### PEMBAHASAN

Penelitian yang telah dilakukan tentang pemberian ekstrak biji Blustru (*Luffa cylindrica Roem*) pada mencit betina secara oral dengan maksud untuk mengetahui kemampuan biji tersebut sebagai bahan baku kontrasepsi oral karena mengandung beberapa zat aktif yang mempunyai efek antifertilitas. Pengujian efek antifertilitas biji Blustru diantaranya dapat diketahui dengan pengamatan angka kebuntingan dan jumlah janin yang dikandung mencit pada satu periode kebuntingan.

Perlakuan yang diberikan berupa 0,2 ml suspensi ekstrak biji Blustru dalam pelarut CMC Na 0,5 % secara oral sekali sehari selama sepuluh hari dengan dosis berturut-turut pada perlakuan I, II dan III yaitu 30 mg/kg, 90 mg/kg dan 270 mg/kg berat badan mencit. Mencit betina sebagai kontrol hanya diberikan 0,2 ml plasebo pelarut CMC Na 0,5 % tanpa ekstrak biji Blustru untuk membandingkan pengaruh yang ditunjukkan pada masing-masing perlakuan yang telah diberikan.

Hasil pemeriksaan terhadap angka kebuntingan menunjukkan adanya penurunan persentase angka kebuntingan. Demikian pula pada pengamatan terhadap jumlah janin didapatkan adanya penurunan rata-rata jumlah janin yang dikandung mencit pada satu periode kebuntingan.

### 5.1. Angka Kebuntingan

Hasil pemeriksaan terhadap kebuntingan mencit menunjukkan persentase angka kebuntingan pada kontrol, perlakuan I, II dan III berturut-turut adalah 100 %, 100 %, 66,67 % dan 16,67 %. Perlakuan I dengan dosis 30 mg/kg berat badan mencit tidak menimbulkan adanya penurunan persentase angka kebuntingan apabila dibandingkan kontrol. Apabila diperhatikan pada perlakuan II dengan dosis 90 mg/kg berat badan mencit cenderung mengalami penurunan persentase angka kebuntingan sebesar 33,33 % dibandingkan kontrol. Apabila dibandingkan kontrol, maka pada perlakuan III dengan dosis 270 mg/kg berat badan mencit menunjukkan penurunan persentase angka kebuntingan cukup menyolok yaitu 83,33 %.

Menurut Lee dan Chi (1985) suatu bahan dapat berpengaruh positif sebagai antifertilitas apabila hasil dari perlakuan menunjukkan persentase angka kebuntingan kurang dari 60 %. Hasil pemeriksaan pada perlakuan II dengan dosis 90 mg/kg berat badan mencit dapat dikatakan tidak berpengaruh terhadap angka kebuntingan mencit meskipun persentase angka kebuntingannya menurun. Pengaruh positif antifertilitas biji Blustru ditunjukkan perlakuan III dengan dosis 270 mg/kg berat badan mencit.

Analisis data dengan Uji Khi-kuadrat terhadap angka kebuntingan diperoleh  $X^2$  sebesar 13,51, sedangkan  $X^2$  tabel (0,95)(3) sebesar 7,81. Hal tersebut bermakna bahwa pemberian ekstrak biji Blustru menunjukkan perbedaan nyata terhadap angka kebuntingan mencit ( $p < 0,05$ ).

Hasil analisis tersebut setelah diuji dengan Faktor Koreksi Yates dengan tujuan membandingkan sepasang perlakuan dan atau kontrol menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada perlakuan III dengan dosis 270 mg/kg berat badan mencit apabila dibandingkan dengan kontrol dan atau perlakuan I ( $p < 0,05$ ). Hal tersebut dapat dikatakan pemberian ekstrak biji Blustru dengan dosis 270 mg/kg berat badan mencit berpengaruh terhadap angka kebuntingan pada mencit.

Proses kebuntingan pada dasarnya berjalan secara normal apabila tidak terdapat kelainan fungsi pada sistim reproduksi betina dan organ-organ pendukungnya. Adanya kelainan kebuntingan yang terjadi dapat dipengaruhi oleh banyak faktor antara lain gangguan ovulasi, kelainan fertilisasi, hambatan implantasi dan sebagainya. Faktor-faktor tersebut di atas yang paling banyak terjadi adalah gangguan pada ovulasi yang digunakan sebagai dasar daya kontrasepsi dengan mekanisme kerja yang berbeda-beda.

Ovulasi merupakan tahap akhir serangkaian proses dalam ovarium yang diawali pembentukan, perkembangan dan pematangan folikel sampai dikeluarkannya sel telur yang siap dibuahi. Proses folikogenesis dipengaruhi hormon gonadotropin yang disekresi oleh kelenjar hipofisis anterior yaitu FSH dan LH. Sekresi hormon-hormon tersebut dapat berkurang apabila terdapat bahan yang bersifat antigonadotropin dan berpengaruh pada poros hipotalamus-hipofisis anterior.

Ekstrak biji Blustru mengandung alfa-spinasterol yang merupakan isomer stigmasterol dan secara biosintesis dapat diubah menjadi hormon steroid. Selain zat tersebut biji Blustru juga mengandung kukurbitasin B yang merupakan bagian kelompok triterpenoid yang beraktifitas menghambat proses mitotik sel telur.

Hormon steroid hasil biosintesis dari alfa-spinasterol adalah progesteron yang beraktifitas antigonadotropin pada poros hipotalamus-hipofisis anterior. Aktifitas tersebut mengakibatkan sekresi FSH dan LH dari kelenjar hipofisis anterior terganggu sehingga mengakibatkan kadar hormon tersebut berkurang dari normal.

Berkurangnya kadar FSH dan LH akibat gangguan sekresi mengakibatkan hormon tersebut gagal mencapai reseptor sel-sel granulosa dan sel-sel teka folikel ovarium. Kegagalan tersebut mengakibatkan gangguan pembentukan, perkembangan dan pematangan folikel karena proses hipertropi dan hiperplasi folikel terhambat sehingga terjadi kegagalan ovulasi. Kegagalan ovulasi mengakibatkan tidak adanya sel telur yang siap dibuahi sel spermatozoa sehingga tidak terjadi fertilisasi dan akhirnya mengakibatkan kegagalan kebuntingan.

Aktifitas antifertilitas pada gangguan ovulasi selain disebabkan alfa-spinasterol dapat pula disebabkan oleh kerja kukurbitasin B yang berpengaruh pada proses mitotik folikel ovarium. Aktifitas kukurbitasin B tersebut karena kemampuannya berinteraksi dengan sterol membran sel.

Semua membran sel merupakan sistem kompleks antara satu dan lainnya, hanya berbeda pada kandungan sterol, protein, fosfolipid dan enzim. Pemberian ekstrak biji Blustru yang mengandung kukurbitasin B mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel termasuk sel-sel folikel ovarium.

Perubahan permeabilitas sel folikel ovarium akan langsung mengakibatkan gangguan pembentukan, perkembangan dan pematangan folikel sehingga tidak ada ovulasi. Meskipun terjadi kopulasi tetapi proses ovulasi terhambat, maka hal tersebut mengakibatkan kegagalan kebuntingan.

## 5.2. Jumlah Janin yang Dikandung Mencit

Hasil pemeriksaan terhadap jumlah janin yang dikandung pada satu periode kebuntingan menunjukkan rata-rata jumlah janin pada kontrol, perlakuan I, II dan III berturut-turut adalah  $9,83 \pm 1,33$ ,  $8,33 \pm 0,98$ ,  $5,67 \pm 4,46$  dan  $1 \pm 2,45$  ekor janin.

Hasil tersebut memperlihatkan bahwa dengan semakin besar dosis perlakuan yang diberikan mengakibatkan semakin sedikit jumlah janin yang dikandung. Perlakuan III dengan dosis 270 mg/kg. berat badan mencit menunjukkan rata-rata jumlah janin yang paling sedikit apabila dibandingkan dengan kontrol, perlakuan I dan II.



Menurut Lee dan Chi (1985) suatu bahan dapat berpengaruh positif sebagai antifertilitas apabila hasil dari perlakuan yang diberikan menunjukkan persentase rataan jumlah janin apabila dibandingkan dengan kontrol kurang dari 20 %. Persentase rataan jumlah janin pada perlakuan I, II dan III berturut-turut adalah 89,83 %, 57,68 % dan 10,17 %. Berdasarkan hal tersebut, maka pengaruh positif antifertilitas ekstrak biji Blustru ditunjukkan pada perlakuan III dengan dosis perlakuan 270 mg/kg berat badan mencit.

Analisis ragam terhadap jumlah janin yang dikandung mencit memperlihatkan F hitung sebesar 13,26 dan F tabel (0,95)(3) sebesar 3,10. Hal tersebut bermakna bahwa pemberian ekstrak biji Blustru menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap jumlah janin yang dikandung pada satu periode kebuntingan mencit ( $p < 0,05$ ).

Perbedaan yang bermakna tersebut setelah diuji dengan Uji Beda Nyata Terkecil 5 % menunjukkan pada kontrol jumlah janin yang dikandung paling banyak dan tidak berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan I tetapi berbeda nyata dengan perlakuan II. Jumlah janin paling sedikit terdapat pada perlakuan III dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya.

Janin merupakan hasil akhir dari serangkaian siklus reproduksi betina, apabila setelah pemberian ekstrak biji Blustru menunjukkan jumlah janin di bawah rataan pada kontrol, maka hal tersebut mengindikasikan adanya gangguan fertilitas akibat perlakuan yang telah diberikan.

Penurunan jumlah janin yang dikandung mencit pada satu periode kebuntingan dapat disebabkan adanya gangguan pembentukan, pertumbuhan dan pematangan sel telur yang berakhir dengan terhambatnya ovulasi. Penurunan jumlah janin dapat pula disebabkan hambatan pada transportasi sel telur, sel spermatozoa, zigot, kelainan fertilisasi dan gangguan implantasi sehingga terjadi kegagalan kebuntingan.

Hambatan transportasi sel telur dan sel spermatozoa untuk mengadakan fertilisasi maupun gangguan transportasi zigot ke dalam uterus untuk mengadakan implantasi dapat disebabkan adanya kelainan pada tuba Fallopii. Secara normal perjalanan sel telur yang sempat diovulasikan, sel spermatozoa dan zigot dipengaruhi arus cairan yang lemah akibat kerja epitel bersilia pada dinding tuba fallopii. Silia selalu bergerak ke arah uterus yang diimbangi dengan kontraksi lemah otot polos tuba fallopii. Hal tersebut penting untuk memberikan kesempatan zigot mengadakan pembelahan dalam tuba Fallopii dan sinkronisasi yang tepat antara embrio dengan endometrium uterus.

Pemberian ekstrak biji Blustru yang mengandung alfa-spinasterol mengakibatkan peningkatan kadar progesteron dalam darah, sehingga sekresi FSH dan LH terhambat. Hambatan tersebut mengakibatkan siklus birahi terputus sehingga tidak terbentuk korpus luteum pada ovarium yang akan berperan mensekresikan progesteron.

Rendahnya kadar progesteron yang disekresi korpus luteum mengakibatkan peningkatan kontraksi otot polos tuba Fallopii sehingga perjalanan sel telur dan sel spermatozoa terlalu cepat dalam tuba Fallopii. Akibatnya, proses fertilisasi dan pembelahan zigot terhambat karena terlalu cepat terdorong ke uterus, sedangkan uterus belum siap menerima zigot untuk mengadakan implantasi pada endometrium.

Kebuntingan masih dapat terjadi pada PIII dan didapatkan pula sejumlah janin. Keadaan tersebut seharusnya tidak terjadi mengingat besarnya dosis obat serta aktifitas bahan aktif yang diberikan. Hal tersebut kemungkinan disebabkan oleh pemberian perlakuan yang tidak direncanakan sesuai dengan keadaan siklus birahi mencit sehingga aktifitas bahan aktif ekstrak biji Blustru (alfa-spinasterol dan kukurbitasin B) tidak tepat pada sasaran, maka masih ada folikel yang berhasil berkembang, matang dan terjadi ovulasi. Ovulasi tersebut kemungkinan dihasilkan dari proses folikogenesis sebelum perlakuan pemberian ekstrak biji Blustru.

Berdasarkan hasil pemeriksaan fertilitas mencit betina setelah menerima perlakuan, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak biji Blustru yang mengandung alfa-spinasterol dan kukurbitasin B dengan dosis 270 mg/kg berat badan mencit menyebabkan penurunan angka kebuntingan dan jumlah janin yang dikandung mencit pada satu periode kebuntingan. Hal tersebut diakibatkan adanya hambatan folikogenesis, ovulasi, fertilisasi, transportasi zigot dan kelainan implantasi embrio pada uterus.

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari serangkaian penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak biji Blustru (*Luffa cylindrica Roem*) secara oral sekali sehari selama sepuluh hari, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Pemberian ekstrak biji Blustru dengan dosis 270 mg/kg berat badan mencit dapat menyebabkan penurunan angka kebuntingan.
2. Pemberian ekstrak biji Blustru dengan dosis 270 mg/kg berat badan mencit dapat menyebabkan penurunan jumlah janin yang dikandung mencit pada satu periode kebuntingan.

#### 6.2. Saran

Berdasarkan hasil yang telah diperoleh, maka melalui penelitian ini diajukan beberapa saran untuk diadakan penelitian lebih lanjut, yaitu :

1. Penelitian tentang pengaruh senyawa aktif pada biji Blustru terhadap daya antifertilitas yang lebih spesifik.
2. Perlu dilakukan penelitian tentang perubahan fisiologi dan hormonal pada tubuh mencit dengan memakai dosis yang telah digunakan.
3. Penelitian tentang pengaruh teratogenik senyawa aktif pada biji Blustru terhadap perkembangan dan pertumbuhan janin mencit.

## RINGKASAN

ISTAR ABADI. Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Blustru (*Luffa cylindrica* Roem) Terhadap Angka Kebuntingan dan Jumlah Janin Pada Mencit (*Mus musculus*) di bawah bimbingan Imam Mustofa M.Kes., Drh. sebagai pembimbing pertama dan Handajani Tjitro M.S., Drh. sebagai pembimbing kedua.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji Blustru terhadap angka kebuntingan dan jumlah janin yang dikandung mencit pada satu periode kebuntingan.

Penelitian dilakukan dengan menggunakan model percobaan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan coba yang digunakan terdiri atas 24 ekor mencit betina yang sudah diketahui fertilitasnya dan dibagi secara acak menjadi empat perlakuan sehingga masing-masing perlakuan terdiri atas enam ekor mencit betina sebagai ulangan. Perlakuan yang diberikan pada perlakuan I, II dan III berupa 0,2 ml suspensi ekstrak biji Blustru dalam CMC Na 0,5 % dengan dosis berturut-turut yaitu 30 mg/kg, 90 mg/kg dan 270 mg/kg berat badan mencit. Kontrol hanya diberikan plasebo 0,2 ml larutan CMC Na 0,5 %. Seluruh perlakuan tersebut diberikan sekali sehari selama sepuluh hari secara oral dengan menggunakan sonde lambung yang terbuat dari *disposable syringe* 1 ml.

Setelah masa perlakuan, mencit betina dikumpulkan dengan mencit jantan dengan perbandingan satu mencit jantan dan tiga mencit betina sampai terjadi kopulasi. Pengumpulan mencit jantan dan betina yang telah diberi perlakuan bertujuan untuk menguji fertilitas mencit betina. Pemeriksaan kebuntingan dan penghitungan jumlah janin mencit dengan laparotomi dilakukan pada hari ke 19 umur kebuntingan sejak diketahui telah terjadi kopulasi yang ditandai adanya sumbat vagina dan atau adanya sel spermatozoa.

Hasil pemeriksaan diketahui persentase angka kebuntingan pada kontrol, perlakuan I, II dan III berturut-turut yaitu 100 %, 100 %, 66,77 % dan 16,77 %. Hasil analisis data dengan Uji Khi-kuadrat diketahui terdapat perbedaan nyata antar perlakuan ( $p < 0,05$ ). Analisis data dengan membandingkan sepasang perlakuan dengan Faktor Koreksi Yates diketahui hanya pada perlakuan dengan dosis 270 mg/kg berat badan mencit terdapat perbedaan yang nyata bila dibandingkan dengan kontrol dan atau perlakuan I ( $p < 0,05$ ).

Rataan jumlah janin yang dikandung mencit pada kontrol  $9,83 \pm 1,33$ , perlakuan I  $8,83 \pm 0,98$ , perlakuan II  $5,67 \pm 4,46$  dan pada perlakuan III  $1 \pm 2,45$  ekor. Analisis ragam dengan Uji F untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji Blustru terhadap jumlah janin mencit menunjukkan perbedaan yang nyata diantara perlakuan ( $p < 0,05$ ).

Analisis data jumlah janin dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil 5 % dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh pada setiap perlakuan terhadap jumlah janin yang dapat dikandung mencit. Hasil analisis diketahui bahwa pada perlakuan III dengan dosis 270 mg/kg berat badan mencit menunjukkan jumlah janin yang paling sedikit dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Kontrol menunjukkan jumlah janin dikandung mencit paling banyak dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan I tetapi berbeda nyata dengan perlakuan II.

Hasil dari serangkaian analisis data yang telah dilakukan menunjukkan bahwa pemberian perlakuan berupa 0,2 ml suspensi ekstrak biji Blustru dalam CMC Na 0,5 % dengan dosis 270 mg/kg berat badan mencit menyebabkan penurunan persentase angka kebuntingan dan jumlah janin yang dikandung mencit pada satu periode kebuntingan. Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa semakin tingginya konsentrasi ekstrak biji Blustru yang diberikan dengan asumsi semakin tinggi kandungan alfa-spinasterol dan kukurbitasin B, maka semakin berpengaruh terhadap penurunan angka kebuntingan dan jumlah janin yang dikandung mencit pada satu periode kebuntingan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anisimov, M.M., Shentsova, V.V. Schelov, L.I. Strigina, Yu.N. Shumilov, N.S. Chetyrina and G.B. Elyakov. 1978. Mechanism of Cytotoxic Action of Some Triterpena Glicosides. *Toxin* : 16. PP : 207 - 218.
- Anonimus. 1991. Penduduk Laki-laki Lebih Sedikit. *Jawa Pos*. Januari. 6 : 1.
- Anonimus. 1993. Pare dan Labu. Penerbit Surabaya. Jakarta
- Astika, G.N. 1988. Isolasi dan Identifikasi Kandungan Aktif Kulit Batang *Avicennia marina* (Forsk) *vierch* yang Berkhasiat Antifertilitas pada Mencit Betina. Disertasi. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Backer, C.A.D. and R.C.B.V.D. Brink. 1965. Flora of Java. Vol. II. N.V.P. Noordhoff Groningen. The Netherlands. PP : 470 - 475.
- Berndt. 1982. Sitosterol and Stigmaterol as Precursor of Production of Contraceptives. Sinopsis Seminar Nasional Produksi Bahan Baku Kontrasepsi Oral. BKKBN. Jakarta.
- Bhagawati, D. 1997. Efek Antifertilitas Biji Blustru (*Luffa aegyptiaca* Mill) pada Mencit Betina. Thesis. Universitas Airlangga. Surabaya. Halaman : 94 - 109.
- Boyke, D.N. 1998. Alternatif Kontrasepsi pada Program Keluarga Berencana. Siaran Langsung. Acara : Halo Indonesia. AN Teve. Jakarta. 12 September 1998.
- Coyle, T., S. Levante, M. Shetler and J. Winfield. 1994. In Vitro and In Vivo Citotoxicity of Gossypol Against Central Nervus Sistem Tumor Cell Lines. *J. Neurooncol.* 19 (1). PP : 25 - 35.
- Dass, M.C. and S.B. Mahato, 1983. Review Triterpenoid. *Journal Phytochemistry*. Vol. 22. No. 5. PP : 1071 - 1095.
- Departemen Kesehatan, RI. 1985. Tanaman Obat Indonesia. Jilid I Halaman : 12; Jilid II Halaman : 65; Jilid III Halaman : 77.
- Fransworth, N.R., A.S. Bingel, G.A. Cordel, F.A. Crane and H.H.S. Fang. 1975. Potential Value of Plants as Source of New Antifertility Agents. I. *Journal Pharmacotherapy. Sci.* (64). PP : 535 - 598.
- Ghosh, M.N. 1971. Fundamentals of Experimental Pharmacology. Scientific Book Agency. PP : 85 - 89.



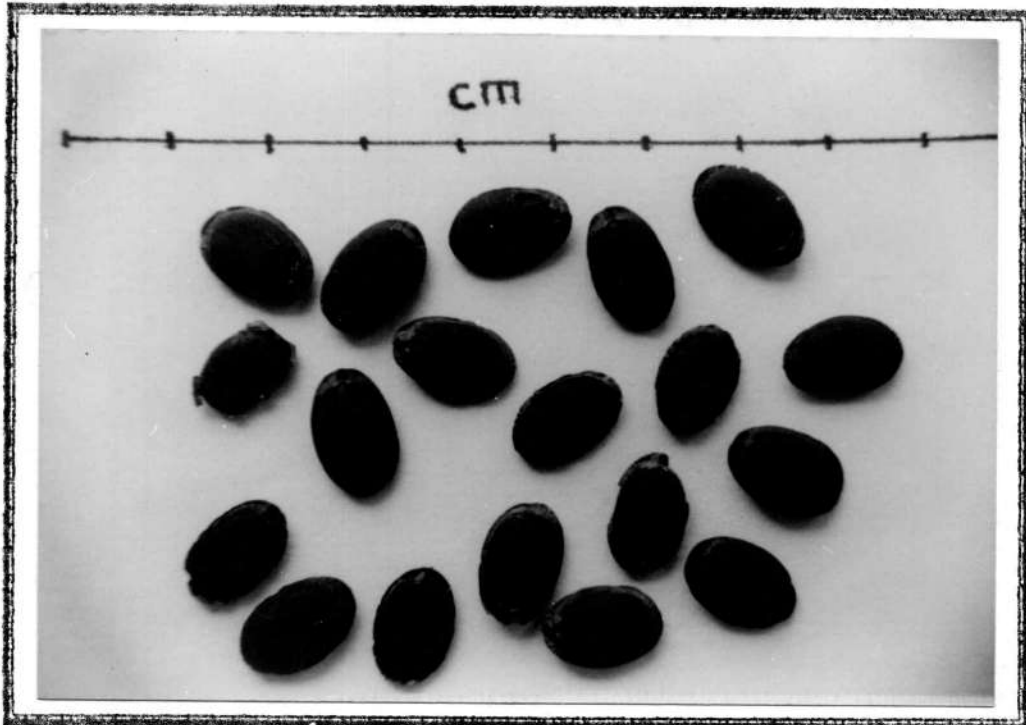
- Goldfien, A. 1989. Hormon dan Penghambat Gonad. Dalam : Farmakologi Dasar dan Klinik. Edisi 3. EGC. PP : 560 - 574.
- Hafez, E.S.E. 1980. Reproduction in Farm Animals. 4<sup>th</sup>. Edition. PP : 98 - 105
- Harborne, J.B. 1973. Phytochemical Methodes. London. Chapman and Hill.
- Hardjopranjoto, S. 1980. Fisiologi Reproduksi. Ed. II. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Halaman : 18 - 57; 138 - 146.
- Hardjowijoto, S. 1992. Kontrasepsi Mantap Pria. Seminar Keluarga Berencana Mutakhir. Surabaya.
- Heyne, K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia. I Edisi I. Yayasan Sarana Wana Jaya. Jakarta. Halaman : 604 - 605.
- Ismudiono. 1991. Binatangpun Perlu Ber-KB. Teknologi Tepat Guna. Jawa Pos. Oktober. Halaman : 6.
- Korolkovas, A, and J. Burckhalter. 1976. Essentials of Medical Chemistry. New York. John Willy and Sons.
- Kusriningrum, R. 1989. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. Halaman : 53 - 64.
- Lee, E.B. and H.C. Chi. 1985. Female Antifertility Evaluation of Natural Products. In Proceeding from The UNESCO Regional Work Shop. Seoul. November. PP : 18 - 22.
- Mc. Donald, L.E. and R. Muchtar. 1971. Veterinary Endocrinology and Reproduction. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Meles, D.K., Wurlina, W.S. Yuliasuti dan Hamzah. 1992. Efek Antifertilitas Daun Manggis (*Garcinia mangostana Linn*) pada *Mus Musculus* Betina. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Oetojo. 1992. Statistik Dasar Untuk Kedokteran dan Kedokteran Gigi. Airlangga University Press. Surabaya. Halaman : 212 - 233.
- Padmawinata, K. dan S. Sutarno. 1985. Tumbuhan Sebagai Bahan Kontrasepsi Steroid. Kumpulan Naskah Simposium Kontrasepsi Steroid Nabati. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia - BKKBN. Jakarta.

- Partodihardjo, S. 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. Penerbit Mutiara. Jakarta. Halaman : 96 - 108; 114 - 125; 127 - 160; 165 - 202.
- Pine, S.H. 1988. Organic Chemistry. 4<sup>th</sup> ed. Mc Graw-Hill Book Company. New York. PP : 875 - 878.
- Rahayu, L. 1988. Efek Antifertilitas *Solanum mamosum* pada Mencit Betina. Thesis. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Salisbury, G.H. and N.L.V. Demark. 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. Diterjemahkan oleh R. Djanuar. *Penerbit* Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. Halaman : 49 - 55; 105 - 117. *Prof. Drh. R. Djanuar*
- Smith, J.B. and S. Mangkoewidjojo. 1988. Pemeliharaan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. Halaman : 10 - 36.
- Soetomo, S. 1986. Bertanam Sayuran Buah. Badan Penerbit Karya Tani. Jakarta. Halaman : 18.
- Toelihere. 1981. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Angkasa Bandung. Halaman : 96 - 97; 180 - 184.
- Vipin, K.G. and R.N. William. 1986. Occurence of 5-Sterol in Plant Producing Prodominantly 7-Sterol. Studies of The Sterol Composition of Six Cucurbitacin Seeds. Journal of Phytochemistry. Vol. 25. No. II. PP : 2391 - 2597.
- Wagner, H. and Wolf. 1977. New Natural Product and Plant Drug With Pharmacological Biological of Therapeutical Activity. Spuinger Ver Lag. New York. PP : 1 - 36.
- Wijayakusuma, H.M.H., S. Dalimarta dan A.S. Wirian. 1994. Tanaman Obat di Indonesia. Edisi II. Halaman : 29 - 31.
- Windholz, M., B. Susan, F.B. Rosemary, S.O. Elizabeth (editor). 1983. The Meck Index. Merck & Co. Inc. Rahway. New York. USA.
- Yantini, A. 1989. Isolasi dan Identifikasi Sterol dari Biji Tanaman Blustru. Jurusan Biologi Farmasi. Fakultas Farmasi. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Zaini, N.C. 1988. Makaiah Seminar Sehari Obat Keluarga Berencana. Fakultas Farmasi. Universitas Airlangga. Halaman : 1 - 2.

# GAMBAR



Gambar 3. Tanaman Blustru (*Luffa cylindrica Roem*).



Gambar 4. Biji Blustru (*Luffa cylindrica Roem*) dari Buah yang Masak



Gambar 5. Janin yang Dikandung Mencit pada Satu Periode Kebuntingan Setelah Pemberian Ekstrak Biji Blustru Secara Oral Sekali Sehari Selama Sepuluh Hari dengan Dosis 0 mg/kg, 30 mg/kg, 90 mg/kg dan 270 mg/kg Berat Badan Mencit.

# LAMPIRAN

**Lampiran 1. Analisis Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Blustru Terhadap Angka Kebuntingan Mencit**

Perlakuan	Jumlah Hewan Coba	Bunting		Tidak Bunting	
		Jumlah	Persentase	Jumlah	Persentase
P0	6	6 (4,25)	100	0 (1,75)	0
PI	6	6 (4,25)	100	0 (1,75)	0
PII	6	4 (4,25)	66,67	2 (1,75)	33,33
PIII	6	1 (4,25)	16,67	5 (1,75)	83,33
Jumlah		17		7	

Hipotesis yang diuji :

$H_0$  : tidak terdapat perbedaan nyata antar keempat perlakuan

$H_1$  : terdapat perbedaan yang nyata antar keempat perlakuan

$$\text{Nilai harapan terjadi kebuntingan} = \frac{6 + 6 + 4 + 1}{4} = 4,25$$

$$\text{Nilai harapan tidak terjadi kebuntingan} = \frac{0 + 0 + 2 + 5}{4} = 1,75$$

Rumus :

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^k \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}}$$

Penghitungan :

$$\begin{aligned}
 X^2 &= \frac{(6 - 4,25)^2}{4,25} + \frac{(6 - 4,25)^2}{4,25} + \frac{(4 - 4,25)^2}{4,25} + \frac{(1 - 4,25)^2}{4,25} + \\
 &\quad \frac{(0 - 1,75)^2}{1,75} + \frac{(0 - 1,75)^2}{1,75} + \frac{(2 - 1,75)^2}{1,75} + \frac{(5 - 1,75)^2}{1,75} \\
 &= 0,721 + 0,721 + 0,015 + 2,485 + 1,75 + 1,75 + 0,036 + 6,036 \\
 &= 13,51
 \end{aligned}$$

Diketahui  $X^2$  hitung sebesar 13,51, sedangkan  $X^2$  tabel dengan taraf nyata 0,05 dan derajat bebas (db) = 3 atau  $X^2$  tabel (0,95)(3) sebesar 7,81, maka memperlihatkan  $X^2$  hitung lebih besar dari  $X^2$  tabel (0,95)(3) sehingga  $H_1$  diterima dan  $H_0$  ditolak. Hal tersebut memberikan makna bahwa pemberian ekstrak biji Blustru menunjukkan perbedaan nyata terhadap angka kebuntingan mencit ( $p < 0,05$ ).



**Lampiran 2. Analisis Uji Khi-kuadrat dengan Faktor Koreksi Yates Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Blustru Terhadap Angka Kebuntingan Mencit**

**1. Uji Koreksi Yates untuk membandingkan P0 dengan P1 :**

Perlakuan	Bunting	Tidak Bunting	Jumlah
P0	6	0	6
P1	6	0	6
Jumlah	12	0	12

$$X^2 \text{ hitung} = \frac{12 (|6 \times 0 - 0 \times 6| - \frac{1}{2} \times 12)^2}{6 \times 0 \times 6 \times 0}$$

$$= \emptyset$$

Diketahui  $X^2$  hitung adalah  $\emptyset$  sedangkan  $X^2$  tabel (0,95)(1) sebesar 3,84, maka hal tersebut menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata antara P0 dan P1 ( $p > 0,05$ ).

**2. Uji Koreksi Yates untuk membandingkan P0 dengan PII :**

Perlakuan	Bunting	Tidak Bunting	Jumlah
P0	6	0	6
PII	4	2	6
Jumlah	10	2	12

$$X^2 \text{ hitung} = \frac{12 (|6 \times 2 - 0 \times 4| - \frac{1}{2} \times 12)^2}{6 \times 6 \times 10 \times 2}$$

$$= \frac{432}{720} = 0,6$$

Diketahui  $X^2$  hitung adalah 0,6 sedangkan  $X^2$  tabel (0,95)(1) sebesar 3,84, maka hal tersebut menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata antara P0 dan PII ( $p > 0,05$ ).

3. Uji Koreksi Yates untuk membandingkan P0 dengan PIII :

Perlakuan	Bunting	Tidak Bunting	Jumlah
P0	6	0	6
PIII	1	5	6
Jumlah	7	5	12

$$\begin{aligned}
 X^2 \text{ hitung} &= \frac{12 (|6 \times 5 - 1 \times 0| - \frac{1}{2} \times 12)^2}{7 \times 5 \times 6 \times 6} \\
 &= \frac{6912}{1260} = 5,486
 \end{aligned}$$

Diketahui  $X^2$  hitung adalah 5,486 sedangkan  $X^2$  tabel (0,95)(1) sebesar 3,84, maka hal tersebut menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata antara P0 dan PIII ( $p < 0,05$ ).

4. Uji Koreksi Yates untuk membandingkan PI dengan PII :

Perlakuan	Bunting	Tidak Bunting	Jumlah
PI	6	0	6
PII	4	2	6
Jumlah	10	2	12

$$\begin{aligned}
 X^2 \text{ hitung} &= \frac{12 (|6 \times 2 - 0 \times 4| - \frac{1}{2} \times 12)^2}{6 \times 6 \times 10 \times 2} \\
 &= \frac{432}{720} = 0,6
 \end{aligned}$$

Diketahui  $X^2$  hitung adalah 0,6 sedangkan  $X^2$  tabel (0,95)(1) sebesar 3,84, maka hal tersebut menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata antara PI dan PII ( $p > 0,05$ ).

5. Uji Koreksi Yates untuk membandingkan PI dengan PIII :

Perlakuan	Bunting	Tidak Bunting	Jumlah
PI	6	0	6
PIII	1	5	6
Jumlah	7	5	12

$$\begin{aligned}
 X^2 \text{ hitung} &= \frac{12 (|6 \times 5 - 1 \times 0| - \frac{1}{2} \times 12)^2}{7 \times 5 \times 6 \times 6} \\
 &= \frac{6912}{1260} = 5,486
 \end{aligned}$$

Diketahui  $X^2$  hitung adalah 5,486 sedangkan  $X^2$  tabel (0,95)(1) sebesar 3,84, maka hal tersebut menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata antara PI dan PIII ( $p < 0,05$ ).

6. Uji Koreksi Yates untuk membandingkan PII dengan PIII :

Perlakuan	Bunting	Tidak Bunting	Jumlah
PII	4	2	6
PIII	1	5	6
Jumlah	5	7	12

$$\begin{aligned}
 X^2 \text{ hitung} &= \frac{12 (|4 \times 5 - 1 \times 2| - \frac{1}{2} \times 12)^2}{5 \times 7 \times 6 \times 6} \\
 &= \frac{1728}{1260} = 1,371
 \end{aligned}$$

Diketahui  $X^2$  hitung adalah 1,371 sedangkan  $X^2$  tabel (0,95)(1) sebesar 3,84, maka hal tersebut menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata antara PII dan PIII ( $p > 0,05$ ).

Lampiran 3. Analisis Ragam Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Blustru Terhadap Jumlah Janin yang Dikandung Mencit pada Satu Periode Kebuntingan (ekor)

Ulangan	Perlakuan				Total
	P0	PI	PII	PIII	
1	8	8	8	6	
2	10	10	8	0	
3	9	10	10	0	
4	10	8	8	0	
5	10	9	0	0	
6	12	8	0	0	
$\Sigma Y$	59	53	34	6	152
$\Sigma Y^2$	589	473	292	36	1390
$\bar{Y}$	9,83	8,83	5,67	1	
SD	1,33	0,93	4,46	2,45	

$$FK = \frac{Y_{...}^2}{n.t} = \frac{(152)^2}{24} = 962,6667$$

$$\begin{aligned} JKT &= \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^n Y_{ij}^2 - FK \\ &= (8)^2 + (10)^2 + \dots + (8)^2 + (6)^2 + (0)^2 - 962,6667 \\ &= 1390 - 962,6667 = 427,3333 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKP &= \sum_{i=1}^t \frac{Y_i^2}{n.i} \\ &= \frac{(59)^2}{6} + \frac{(53)^2}{6} + \frac{(34)^2}{6} + \frac{(6)^2}{6} - FK \\ &= 580,1667 + 468,1667 + 192,6667 + 6 - 962,6667 \\ &= 284,3334 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JKS} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\ &= 427,3333 - 284,3334 = 142,9999 \end{aligned}$$

$$\text{KTP} = \frac{\text{JKP}}{\text{db}_{(\text{perlakuan})}} = \frac{284,3334}{(4 - 1)} = 94,7778$$

$$\text{KTS} = \frac{\text{JKS}}{\text{db}_{(\text{sisa})}} = \frac{142,9999}{4 \times (6 - 1)} = 7,1499$$

$$\text{F hitung} = \frac{\text{KTP}}{\text{KTS}} = \frac{94,7778}{7,1499} = 13,26$$

**Daftar Analisis Ragam Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Blustru Terhadap Jumlah Janin Mencit pada Satu Periode Kebuntingan**

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	Fhitung	F tabel (0,05)
Perlakuan	3	284,3334	94,7778	13,26 *	3,10
Sisa	20	142,9999	7,1499		
Total	23	427,3333			

Keterangan : tanda \* menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ).

**Hipotesis yang dibuktikan :**

$H_0$  = tidak terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan

$H_1$  = terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan

Hasil analisis diketahui F hitung lebih besar dari F tabel (0,95)(3), maka  $H_1$  diterima dan  $H_0$  ditolak, hal tersebut menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan terhadap jumlah janin yang dikandung mencit pada satu periode kebuntingan ( $p < 0,05$ ).

**Lampiran 4. Analisis Uji Beda Nyata Terkecil 5 % Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Blustru Terhadap Jumlah Janin yang Dikandung Mencit pada Satu Periode Kebuntingan**

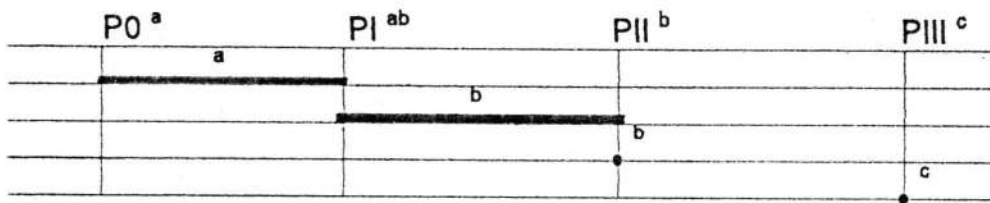
$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5 \%} &= t_{5 \% (db)} \times \sqrt{\frac{2 \text{ KTS}}{n}} = t_{5 \% (20)} \times \sqrt{\frac{2 \times 7,1499}{6}} \\
 &= 2,086 \times \sqrt{2,3833} = 3,22
 \end{aligned}$$

**Perbedaan Rataan Perlakuan untuk Uji Beda Nyata Terkecil 5 %**

Perlakuan	Rataan	Beda			BNT 5 %
	( X )	(X - PIII)	(X - PII)	(X - PI)	
P0	9,83 <sup>a</sup>	8,83 *	4,16 *	1	3,22
PI	8,83 <sup>ab</sup>	7,83 *	3,16		
PII	5,67 <sup>b</sup>	4,67 *			
PIII	1 <sup>c</sup>				

Keterangan : superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (p < 0,05).

**Penulisan notasi Uji Beda Nyata Terkecil 5 % :**



Berdasarkan hasil analisis tersebut, maka pada perlakuan III menunjukkan jumlah janin yang dikandung mencit paling sedikit dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Jumlah janin yang dikandung mencit paling banyak terdapat pada kontrol dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan I tetapi berbeda nyata dengan perlakuan II.

### Lampiran 5. Penghitungan Dosis Perlakuan yang Diberikan pada Mencit Betina Sebagai Hewan Coba

Menurut Wijayakusuma dkk. (1994) dosis Biji Blustru yang diberikan secara oral pada manusia dengan rata-rata berat badan 50 kg dalam bentuk sediaan serbuk halus sebesar 10 g. Penentuan dosis perlakuan pada mencit dilakukan dengan cara eksplorasi dosis menurut Ghosh (1971) antara manusia 70 kg dan mencit 20 g dengan faktor konversi 0,0026.

Bahan ekstraksi yang digunakan berupa serbuk halus biji Blustru sebanyak 100 g, setelah diekstraksi dengan alkohol 96 % sebanyak 300 ml dan dilanjutkan penguapan dengan tekanan rendah diperoleh ekstrak kering sebanyak 4,95 g. Apabila bahan ekstraksi yang dibutuhkan 10 g, maka dosis efektif ekstrak biji Blustru untuk mencit dengan rata-rata berat badan 25 g adalah sebagai berikut :

$$\begin{aligned}
 &= 10 \text{ g} \times \frac{70}{50} \times \frac{4,95}{100} \times \frac{25}{20} \times 0,0026 \\
 &= 0,00225 \text{ g/25 g berat badan mencit} \\
 &= 90 \text{ mg/kg berat badan mencit.}
 \end{aligned}$$

Dosis untuk masing-masing perlakuan adalah dengan kelipatan tiga atau dibagi tiga dari dosis sebelumnya (Wagner dan Wolf, 1977), yaitu :

P0	=	0	mg/kg berat badan mencit
PI	=	30	mg/kg berat badan mencit
PII	=	90	mg/kg berat badan mencit
PIII	=	270	mg/kg berat badan mencit