

TRR
09/12
Pal
9

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KULIT BUAH
MANGGIS (*Garcinia mangostanae*) PER ORAL TERHADAP
FOLIKULOGENESIS OVARIUM MENCIT (*Mus musculus*)**



JENIE PALUPI
NIM. 090515580.M



**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN REPRODUKSI
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA**

2007

LEMBAR PENGESAHAN

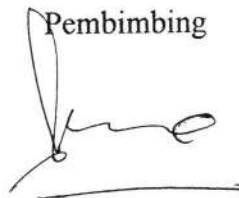
TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL : AGUSTUS 2007

Oleh
Pembimbing Ketua



Dr Bambang Purnomo S, drh, MS
NIP. 130 701 131

Pembimbing



Dr Hendy Hendarto, dr Sp OG (K)
NIP. 140 207 243

Mengetahui

KPS

Prof Dr Agus Abadi, dr Sp OG (K)
NIP. 130 922 899



Telah diuji pada

Tanggal Agustus 2007

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof Dr H Agus Abadi, dr, SpOG(K)

Anggota : 1. Dr Bambang Purnomo S, drh, MS
2. Dr Hendy Hendarto, dr SpOG (K)
3. Dr Paulus Liben, dr, MS
4. Dr Hari Basuki Notobroto, dr MKes

UCAPAN TERIMAKASIH

Pertama-tama penulis panjatkan puji syukur ke hadirat Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

Terimakasih tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya penulis ucapkan kepada Dr Bambang Purnomo S, drh, MS, pembimbing ketua yang dengan penuh perhatian telah memberikan dorongan, bimbingan, saran dan pengetahuan kepada penulis sehingga tesis ini dapat terselesaikan.

Terimakasih sebesar-besarnya dan penghargaan setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Hendy Hendarto, dr SpOG (K), pembimbing yang penuh perhatian kesabaran dan ketelitian telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran.

Saya ucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada Pemerintah Republik Indonesia cq Menteri Pendidikan Nasional melalui Program Beasiswa Unggulan yang telah memberikan bantuan finansial, sehingga meringankan beban penulis dalam menyelesaikan tesis ini.

Dengan selesainya tesis ini, perkenankanlah penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga Surabaya Prof Dr Fasich, Apt atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan program Magister.
2. Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya Prof Dr H.M.S. Wijadi, dr, SpTHT atas kesempatan untuk menjadi Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.
3. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya Prof Dr H Muhammad Amin, dr atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti Pendidikan Program Magister.
4. KPS Ilmu Kedokteran Reproduksi Prof Dr H Agus Abadi, dr SpOG(K) yang telah banyak membantu, memberikan dorongan dan bimbingan sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan ini.

5. Direktur Politeknik Kesehatan Malang atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan program Magister.
6. Para dosen Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya atas ilmu yang diberikan kepada penulis.
7. Teman-teman Prodi Kebidanan Jember atas fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan program Magister.
8. Teman-teman seangkatan di Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya atas kerjasama selama ini.
9. Suamiku Muhamad Yusuf dan Anakku Yoga atas bantuan, dukungan, kesabaran dan doa kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan pendidikan ini.

Semoga kebaikan dan bantuan yang diberikan kepada penulis mendapatkan imbalan dan rahmat dari Allah SWT. Amiiin.

RINGKASAN

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KULIT BUAH MANGGIS
(*Garcinia mangostanae*) PER ORAL TERHADAP FOLIKULOGENESIS
OVARIUM MENCIT (*Mus musculus*)**

Masalah kependudukan abad ini menjadi sangat penting karena dampak yang timbul akibat pertumbuhan penduduk yang cepat mengundang tuntutan yang lebih besar lagi yang menyangkut kelangsungan hidup. Pengendalian penduduk ini masih menjadi masalah disebabkan karena pelayanan kesehatan yang kurang memadai dan kondisi sosial ekonomi yang memprihatinkan.

Kulit buah manggis atau *Garcinia mangostanae* telah dilakukan penelitian mengandung adanya flavonoid, tanin, saponin, kuinon, steroid. Peranan steroid dalam pertumbuhan folikel melalui dua segi yang berbeda pertama jalur hipotalamus-hipofise anterior dan ovarium. Hipotalamus-hipofise anterior yang menghasilkan hormon gonadotropin yang terdiri dari FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) dan LH (*Luteinizing Hormone*) ovarium, sedangkan yang kedua adalah jalur melalui sel teka dan sel granulosa. Sel-sel ini membentuk reseptor untuk FSH sehingga meningkatkan konsentrasi FSH. Pengaruh FSH pada sel granulosa dan sel teka mempengaruhi pertumbuhan folikel.

Penelitian ini secara umum bertujuan untuk mempelajari pengaruh manggis dalam menghambat proses folikulogenesis ovarium mencit. Secara Khusus penelitian ini bertujuan untuk. Mempelajari pengaruh pemberian ekstrak kulit buah manggis terhadap jumlah folikel primer, sekunder, tersier dan de Graaf.

Penelitian ini adalah penelitian eksperimen laboratoris jenis rancangan *post test* dengan kelompok eksperimen dan kontrol (*Post test only control grup design*). Penelitian dilakukan pada subyek dengan variasi dosis ekstrak manggis. Kelompok K1 sebagai kelompok kontrol diberikan suspensi CMC 0,2 ml/20 g BB mencit. Kelompok K2 diberi minuman suspensi ekstrak manggis 4,55 mg/20 g BB. Kelompok K3 diberi minuman suspensi ekstrak manggis 9,1 mg/20 BB. Kelompok K4 diberi minuman suspensi ekstrak manggis 13,65 g/20 BB. Kelompok K5 diberi minuman suspensi ekstrak manggis 18,2 mg/20 g BB, pada semua kelompok perlakuan ekstrak manggis dilarutkan dalam suspensi CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) 0,5% dalam 0,2 ml/20 g BB.

Perlakuan pada kelompok K1 sampai dengan K5 diberikan satu kali dalam sehari. Pembedahan dilakukan setelah hari ke 12 dengan tujuan diambil ovariumnya. Hasil pembedahan ini dibuat preparat untuk melihat pertumbuhan folikel. Hasil dari pemeriksaan keempat kelompok perlakuan tersebut dibandingkan kontrol. Berdasarkan hasil perhitungan didapatkan jumlah sampel 30 ekor mencit dibagi 5 kelompok masing-masing kelompok terdiri dari 6 hewan coba. Untuk menentukan mencit (*Mus musculus*) ke dalam kelompok sampel diambil secara acak lengkap. Hasil rata-rata dan standar deviasi untuk masing-masing folikel adalah folikel primer sebesar $9,900 \pm 4,104$, sekunder sebesar $4,844 \pm 2,158$, tersier sebesar $2,411 \pm 1,553$ dan folikel de Graaf sebesar $0,689 \pm 0,546$.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa variabel folikel primer, sekunder dan tersier berdistribusi normal ($p > 0,05$), maka untuk mengetahui perbedaan rerata

pada masing masing kelompok dilakukan Uji Anova satu arah. Hasil Uji Anova satu arah menunjukkan masing masing nilai p untuk ketiga folikel ini adalah 0,453, 0,696, dan 0,261 dari nilai p yang ada maka H_0 diterima yang artinya pemberian mangostin per oral pada mencit tidak menghambat pertumbuhan folikel pada ovarium mencit. Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok pada jumlah folikel de Graaf digunakan uji *Kruskal-Wallis*. Hasil uji *Kruskal-Wallis* terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Folikel de Graaf yaitu bentuk folikel yang terakhir dan terbesar pada ovarium. Perkembangan folikel de Graaf tidak lagi bergantung pada sekresi FSH hipofise, dan kadar hormon ini mulai menurun. Folikel de Graaf terus menghasilkan estrogennya sendiri dari sel teka dan kadar estrogen terus meningkat. Peningkatan kadar estrogen menyebabkan retensi sejumlah cairan dan natrium di jaringan tubuh. Kondisi ini juga menyebabkan penekanan hormon FSH sementara LH mempengaruhi tahap akhir pematangan folikel. Kebutuhan LH pada akhir pematangan sangat tinggi tetapi karena mulai awal pembentukan folikel kadar LH tidak dihambat oleh inhibin yang dihasilkan oleh flavoniod maka pada akhir pembentukan folikel ini tidak terjadi.

Pemberian ekstrak kulit buah manggis per oral pada mencit tidak menghambat pertumbuhan folikel primer, sekunder dan tersier pada ovarium mencit. Pemberian ekstrak kulit buah manggis per oral pada mencit menghambat pertumbuhan folikel de Graaf pada ovarium mencit. Tidak terdapat pengaruh yang bermakna antara pemberian ekstrak kulit buah manggis per *oral* pada mencit. Terdapat pengaruh yang bermakna antara pemberian ekstrak kulit buah manggis per oral pada mencit menghambat pertumbuhan folikel de Graaf pada ovarium mencit.

SUMMARY

INFLUENCE GIFT OF EXTRACT MANGOSTEEN HUSK (*Garcinia mangostanae*) PER ORAL TO FOLLICULOGENESIS OF OVARY MICE (*Mus Musculus*)

The community problems in this century seems to be an important thing since the impact of the population growth in which highly increase influence greater demand of the population's existences. The population control should be concerned as the medical service is insufficient and the social economic condition is still poor.

Mangosteen or *Garcinia mangostanae* husk has been observed and showed that it contains flavonoid, tanin, saponin, quinon and steroid. Steroid has a role on the growth of follicle through two different ways: hypothalamus-hypofise anterior and ovarium. Hypothalamus-hypofise anterior produces gonadotropin hormone which consists of FSH (Follicle Stimulating Hormone) and LH (Luteinizing Hormone) of ovarium, while the second way through teka cell and granulose cell. Those cells form a receptor toward FSH in order to increase FSH concentration. The effect of FSH towards granulose cell and teka cell influence the growth of follicle.

The general objective of this research is to find the effects of mangosteen in inhibiting the process of mice folliculogenesis ovarium. The specific objective of this study is to find the effect of giving the skin of mangosteen extract on the number of primary, secondary, tertiary follicle, and de Graaf follicle, respectively.

This is a laboratories experiment research through post-test design on the experiment and control group (post test only control group design). This study is conducted toward the subject of the study by having variation doses of the mangosteen extract. The subject of the research consists of five groups, the first group (K1) as a control group which is given CMC solution 0.2 ml/20 g of the mice weight. The second group (K2) is given a solution drink of mangosteen extract 4.55 mg/20 g of the body weight. The third group (K3) is given a solution drink of mangosteen extract 9.1 mg/20 g of weight. The fourth group (K4) is given the same drink with different doses, that is 13.65 mg/20 g of weight. And the last group (K5) is given the same solution drink 18.2 mg/20 g of weight. The treatment of giving mangosteen extract to all of the groups previously is being dissolved in the CMC solution (Carboxy Methyl Cellulose) 0.5% with 0.2 ml/weight.

The treatments on those five groups from K1 to K5 are given once a day. After giving the treatment for 12 days, then conducting a surgical operation in purpose to take the ovaries of the mice. After having the ovarium, a blood smear of it is made in order to observe the follicle growth. From the four groups results are compared to the control group. Based on the result of the computation shows that 30 mice as the sample are divided into 5 groups, each group consists of the 6 mice. Those samples are decided by using a complete random sampling.

The result of the study shows that variable of the primary, secondary, and tersier follicle have normal distribution ($p > 0.05$), in order to find average of each group, an analysis by using Oneway Anova test is conducted. The result of

Oneway Anova test shows that each of the p values for the three follicles is 0.453, 0.696, and 0.261 from the p values available. H_0 is considered that mangosteen extract in which is given per oral on the mice do not being any inhibition to the follicle growth of the mice ovarium. To find out the differences of the number of de Graaf follicle among the groups, Kruskal-Wallis test is applied. And the result of Kruskal-Wallis test shows that there is a significant difference ($p < 0.05$) among the control and treatment group. De Graaf follicle is the last form and the biggest follicle in ovarium. The development of de Graaf follicle does not rely on the hipofise FSH secretion, and the amount of this hormone is decreasing. De Graaf follicle consistently produces its own estrogen from the teka cell and the amount of the estrogen is increasing. The increasing of the amount of estrogen causes retention on the liquid content and natrium in the body tissues. This condition causes a pressuring on the FSH hormone, while LH affects the last phase of the follicle maturation (Verrals, 2003). LH on the last phase is highly needed. However, the condition as such is not occur since the beginning of follicle forms, the amount of LH are not inhibited by the inhibit which produced by flavonoid.

Giving the extract of mangosteen husk per oral towards the mice do not inhibit the growth of the primary, secondary, and tersier follicle in the ovarium of the mice. However, giving the extract of mangosteen husk per oral towards the mice may inhibit the growth of de Graaf follicle in the mice ovarium. There is no any significant relationship between the given of mangosteen husk extract per oral towards the mice which do not inhibit the growth of the primary, secondary, and tersier follicle in the mice ovarium. And there is a significant relationship between the given of mangosteen husk extract per oral towards the mice which inhibits the growth of de Graaf follicle.

ABSTRACT

INFLUENCE GIFT OF EXTRACT MANGOSTEEN HUSK (*Garcinia mangostanae*) PER ORAL TO FOLLICULOGENESIS OF OVARY MICE (*Mus Musculus*)

Mangosteen or *Garcinia mangostanae* husk has been observed and showed that it contains flavonoid, tanin, saponin, quinon and steroid. Steroid has a role on the growth of follicle through two different ways: hypothalamus-hypofise anterior and ovarium. Hypothalamus-hypofise anterior produces gonadotropin hormone which consists of FSH (Follicle Stimulating Hormone) and LH (Luteinizing Hormone) of ovarium, while the second way through teka cell and granulose cell.

The general objective of this research is to find the effects of mangosteen in inhibiting the process of mice folliculogenesis ovarium. And the specific objective of this study is to find the effect of giving the skin of mangosteen extract on the number of primary, secondary, tersier follicle, and de Graaf follicle.

The subject of the research consists of five groups, the first group (K1) as a control group which is given CMC solution 0.2 ml/20 gr of the mice weight. The second group (K2) is given a solution drink of mangosteen extract 4.55 mg/20 gr of the mice weight. The third group (K3) is given a solution drink of mangosteen extract 9.1 mg/20 gr of weight. The forth group (K4) is given the same drink with different doses, that is 13.65 mg/20 gr of weight. And the last group (K5) is given the same solution drink 18.2 mg/20 gr of weight. The treatment of giving mangosteen extract to all of the groups previously is being dissolved in the CMC solution (Carboxy Methyl Cellulose) 0.5% with 0.2 ml/weight.

The result of the study shows that variable of the primary, secondary, and tersier follicle have normal distribution ($p > 0.05$), in order to find average of each group, an analysis by using Oneway Anova test is conducted. The result of Oneway Anova test shows that each of the p values for the three follicles is 0.453, 0.696, and 0.261 from the p values available. Ho is considered that mangosteen extract in which is given per oral on the mice do not being any inhibition to the follicle growth of the mice ovarium. To find out the differences of the number of de Graaf follicle among the groups, Kruskal-Wallis test is applied. And the result of Kruskal-Wallis test shows that there is a significant difference ($p < 0.05$) among the control and treatment group. De Graaf follicle is the last form and the biggest follicle in ovarium.

Giving the extract of mangosteen husk per oral towards the mice do not inhibit the growth of the primary, secondary, and tersier follicle in the ovarium of the mice. However, giving the extract of mangosteen husk per oral towards the mice may inhibit the growth of de Graaf follicle in the mice ovarium. There is no any significant relationship between the given of mangosteen husk extract per oral towards the mice which do not inhibit the growth of the primary, secondary, and tersier follicle in the mice ovarium. And there is a significant relationship between the given of mangosteen husk extract per oral towards the mice which inhibits the growth of de Graaf follicle.

Keywords: *Garcinia mangostanae*, *Mus musculus*, ovarium, folliculogenesis

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Lembar Pengesahan	ii
Penetapan Panitia Penguji.....	iii
Ucapan Terimakasih	iv
Ringkasan.....	vi
Summary	viii
Abstract.....	x
Daftar Isi	xi
Daftar Gambar	xiv
Daftar Singkatan	xv
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan umum	3
1.3.2 Tujuan khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Tinjauan Tentang Manggis.....	4
2.1.1 Morfologi	4
2.1.2 Kegunaan tanaman.....	4
2.1.3 Kandungan kimia	5
2.1.4 Penelitian tentang manggis	6
2.2 Tinjauan Tentang Mencit	7
2.2.1 Siklus birahi	8
2.2.2 Ovarium dan folikel ovarium.....	9
2.2.3 Pertumbuhan dan perkembangan folikel ovarium	9
2.2.4 Mekanisme antifertilitas pada mencit	11
2.3 Tinjauan Tentang Hormon Steroid.....	12
2.3.1 Mekanisme hormon steroid.....	12
2.3.2 Hormon pengatur ovarium.....	13

2.3.3 Pemberian steroid sex dan gonadotropin	13
2.3.4 Fisiologi ovulasi	14
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESA PENELITIAN.....	16
3.1 Kerangka Konseptual	16
3.2 Dasar Teori	18
3.3 Hipotesis Penelitian.....	18
BAB 4 MATERI DAN METODE PENELITIAN.....	19
4.1 Rancangan Penelitian	19
4.2 Unit Eksperimen dan Replikasi.....	20
4.3 Variabel Penelitian	21
4.3.1 Klasifikasi variabel	21
4.3.2 Definisi operasional	22
4.4 Bahan dan Instrumen Penelitian.....	24
4.4.1 Bahan penelitian.....	24
4.4.2 Instrumen penelitian.....	24
4.5 Tempat dan Waktu Penelitian	25
4.6 Prosedur Pengambilan Data	25
4.6.1 Penentuan jenis, dosis dan waktu perlakuan.....	25
4.6.2 Prosedur penelitian.....	26
4.6.3 Pengambilan ovarium	29
4.6.4 Pengamatan folikel pada ovarium mencit (<i>Mus musculus</i>)	29
4.7 Analisis Data	29
BAB 5 ANALISIS HASIL PENELITIAN	31
5.1 Hasil Analisis Deskriptif	31
5.2 Hasil Uji Normalitas Data	33
5.3 Hasil Uji Homogenitas Data.....	34
5.4 Hasil Uji Beda Rata-rata Jumlah Folikel.....	34
5.4.1 Jumlah folikel primer	35
5.4.2 Jumlah folikel sekunder	35
5.4.3 Jumlah folikel tersier.....	36
5.4.4 Jumlah folikel de Graaf.....	36
5.5 Gambar Histologi Ovarium Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	38

BAB 6 PEMBAHASAN	39
6.1 Materi dan Metode Penelitian	39
6.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Buah Manggis Folikel Primer, Sekunder dan Tersier Ovarium Mencit (<i>Mus musculus</i>)	40
6.3 Pengaruh Pemberian Kulit Buah Manggis Folikel De Graaf Ovarium Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	42
BAB 7 PENUTUP.....	45
7.1 Kesimpulan.....	45
7.2 Saran.....	45
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Rumus Bangun Saponin, Tanin dan Flavonoid	6
Gambar 2.2 Gambar Folikel-folikel pada Ovarium Tikus	11
Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konseptual	17
Gambar 4.1 Bagan Rencana Penelitian	19
Gambar 4.2 Bagan Kerangka Operasional	28
Gambar 5.1 Histogram batang rata-rata jumlah folikel ovarium mencit pada berbagai perlakuan pemberian ekstrak kulit buah manggis	32
Gambar 5.2 Histologi Ovarium Mencit (<i>Mus musculus</i>) dengan pewarnaan Hematox Xilin-Eosin, Pembesaran 100 X yang diberikan Kontrol dan Perlakuan tampak (1) folikel primer; (2) folikel sekunder; (3) folikel tersier dan (4) folikel de Graaf.	38

DAFTAR SINGKATAN

Anova	=	<i>Analysis of Variance</i>
DNA	=	<i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
FSH	=	<i>Follicle Stimulating Hormone</i>
KB	=	Keluarga Berencana
LH	=	<i>Luteinizing Hormone</i>
LSD	=	<i>Least Significant Difference</i>
RNA	=	<i>Ribonucleic Acid</i>
BB	=	Berat Badan

BAB 1

PENDAHULUAN



1.1 Latar Belakang

Masalah kependudukan abad ini menjadi sangat penting karena dampak yang timbul akibat pertumbuhan penduduk yang cepat mengundang tuntutan yang lebih besar lagi yang menyangkut kelangsungan hidup. Tahun 2003 penduduk Indonesia mencapai 213 juta jiwa. Jumlah penduduk sebesar itu Indonesia tetap merupakan negara dengan jumlah penduduk yang terbesar nomor empat dunia setelah RRC, India dan Amerika Serikat (Gigih, 2003).

Sebagai negara yang sedang berkembang dengan jumlah penduduk yang besar, salah satu upaya pemerintah dalam mengatasi masalah penduduk adalah dengan KB (Keluarga Berencana). Pengendalian penduduk ini masih menjadi masalah disebabkan karena pelayanan kesehatan yang kurang memadai dan kondisi sosial ekonomi yang memprihatinkan., hingga daya beli masyarakat terhadap alat kontrasepsi semakin rendah. Usaha untuk menemukan senyawa baru dari kekayaan alam Indonesia sehingga lebih murah, dan dapat dipakai sebagai alat kontrasepsi yang efektif menjadi salah satu alternatif pemecahan masalah kependudukan di Indonesia.

Kulit buah manggis atau *Garcinia mangostanae* telah dilakukan penelitian mengandung adanya flavonoid, tanin, saponin, kuinon, steroid (Norasmah, 1996). Peranan steroid dalam pertumbuhan folikel melalui dua segi yang berbeda. Pertama jalur hipotalamus-hipofise anterior dan ovarium. Folikulogenesis adalah proses maturitas folikel ovarium yang dipengaruhi oleh kedua proses di atas

(Dorland, 2005). Hipotalamus-hipofise anterior yang menghasilkan hormon gonadotropin yang terdiri dari FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) dan LH (*Luteinizing Hormone*) ovarium, sedangkan yang kedua adalah jalur melalui sel teka dan sel granulosa. Sel-sel ini membentuk reseptor untuk FSH sehingga meningkatkan konsentrasi FSH. Pengaruh FSH pada sel granulosa dan sel teka mempengaruhi pertumbuhan folikel, ini tergantung pada perubahan kerja hormon di dalam teka interna, sel granulosa dan pada folikel. FSH dan estrogen bertanggung jawab terhadap proliferasi dan biosintesis steroid dalam sel granulosa sementara LH menyediakan hormon androgen pada teka interna yang berguna pada pematangan folikel. Peranan androgen dalam awal perkembangan folikel merupakan sesuatu yang kompleks, dalam konsentrasi rendah akan mengalami aromatisasi menjadi estrogen (Speroff, 2005).

Penelitian yang dilakukan oleh Adnan (1992) menunjukkan manggis bersifat estrogenik, dapat mengganggu kehamilan bila diberikan pada periode pra implantasi dan pasca implantasi awal, serta mengganggu laktasi. Penelitian lain yang dilakukan oleh Akbar (2004) menunjukkan bahwa manggis mampu menurunkan fertilitas tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina. Penelitian lain yang dilakukan oleh Meles (1991) mengatakan bahwa sapi dalam keadaan bunting yang diberi makan daun manggis terjadi keguguran dan induknya mengalami penurunan kesadaran. Pada penelitian ini disebutkan bahwa manggis dapat menekan sistem saraf pusat dengan menekan jalur hipotalamus dan hipofise ini akan menghambat pengeluaran gonadotropin sehingga menghambat pertumbuhan janin.

1.2 Rumusan masalah

Berdasarkan uraian latar belakang penelitian di atas, maka dirumuskan masalah yang akan diteliti dalam penelitian ini adalah sebagai berikut : Apakah pemberian ekstrak kulit buah manggis pada mencit (*Mus musculus*) betina akan menghambat folikulogenesis ovarium mencit?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini secara umum bertujuan untuk mempelajari pengaruh manggis dalam menghambat proses folikulogenesis ovarium mencit.

1.3.2 Tujuan Khusus

Secara Khusus penelitian ini bertujuan untuk

1. Mempelajari pengaruh pemberian ekstrak kulit buah manggis terhadap jumlah folikel primer.
2. Mempelajari pengaruh pemberian ekstrak kulit buah manggis terhadap jumlah folikel sekunder.
3. Mempelajari pengaruh pemberian ekstrak kulit buah manggis terhadap jumlah folikel tersier.
4. Mempelajari pengaruh pemberian ekstrak kulit buah manggis terhadap jumlah folikel de Graaf.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan sumbangan terhadap perkembangan alat kontrasepsi yang efektif, efisien dan terjangkau sebagai alternatif untuk KB. Di bidang akademik dapat memberikan pemahaman yang lebih luas dan mendalam tentang proses folikulogenesis.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Manggis

2.1.1 Morfologi

Tanaman manggis atau mangostin mempunyai nama lain *Garcinia mangostanae* dengan kelompok familia *Clusiaceae (Guttiferae)*. Tanaman ini berasal dari semenanjung Malaysia. Pohon manggis berdaun rapat, tingginya dapat mencapai 6 sampai 25 meter, batangnya lurus, cabangnya simetris membentuk piramid ke arah ujung tanaman (Heyne, 1987). Bagian tanaman mengeluarkan getah berwarna kuning. Daunnya tebal dan lebar berwarna hijau kekuningan pada sisi bawah, sedangkan pada bagian dekat tulang daun utama berwarna pucat. Bunganya soliter atau berpasangan di ujung tunas, tangkai bunga pendek dan tebal, kelopak bunganya sebanyak empat tersusun berpasangan, mahkota juga tebal dan berdaging. Daging buah manggis kira-kira sepertiga dari total berat buah (Azhari, 2005).

2.1.2 Kegunaan Tanaman

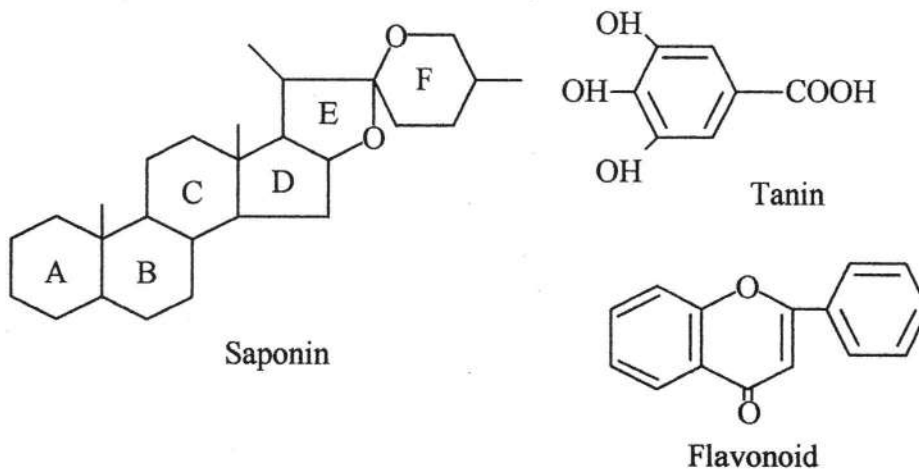
Buah manggis di masyarakat awan dipergunakan untuk mengobati diare, radang amandel, disentri, wasir, borok, disamping itu digunakan untuk peluruh dahak dan juga untuk sakit gigi. Kulit buah digunakan untuk mengobati sariawan, nyeri urat, sembelit nyeri perut, haid yang tidak teratur (Purnomo, 2002).

2.1.3 Kandungan Kimia

Kandungan kimia pada buah mangostin ini adalah flavonoid, tanin, saponin, kuinon, steroid, triterpenoid. (Nor , 1996). Senyawa flavonoid adalah senyawa yang banyak terkandung dalam tumbuhan bergetah.. Senyawa ini biasanya larut dalam air panas dan alkohol. Efek flavonoid ini adalah untuk pertumbuhan sel karena dapat mempengaruhi siklus AMP. Senyawa ini juga mempunyai rumus bangun mirip seperti hormon estrogen sehingga diduga efek dari flavonoid ini mirip seperti hormon estrogen (Robinson, 1991) Fitoestrogen yang terdapat pada unsur flavonoid mempunyai efek inhibin.(Whitehead,2003) Inhibin secara selektif menghambat sekresi FSH namun tidak menghambat sekresi LH sehingga LH yang dihasilkan tidak periodik tapi kontinyu (Speroff, 2005).

Senyawa lain yang terdapat didalam buah manggis adalah tanin dan saponin. Tanin terhidrolisis berupa senyawa amorf berwarna coklat kuning yang larut dalam air membentuk larutan koloid. Kemampuan tanin untuk bereaksi dengan protein dan mengendapkannya akan menimbulkan masalah enzim atau protein lain. Beberapa tanin terbukti mempunyai efek antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor,menghambat enzim dan dapat merusak hati. Saponin diberi nama demikian karena menyerupai sabun bila dikocok dalam larutan encer saponin digunakan sebagai racun ikan selama beratus ratus tahun Saponin banyak mengandung terpenoid dan steroid alkohol (Merge, 1991). Saponin mempunyai efek penghambatan jalur steroid ke ginjal, menghambat dehidrogenase jalur prostaglandin. Pada beberapa tahun terakhir saponin menjadi penting karena diperoleh dari beberapa tumbuhan digunakan untuk sintesis hormon steroid. Jenis saponin lain yang dikenal adalah triterpenoid (Robinson, 1991).

Berikut ini merupakan gambaran rumus bangun masing-masing zat.



Gambar 2.1 Rumus Bangun Saponin, Tanin dan Flavonoid (Robinson, 1991)

2.1.4 Penelitian tentang Manggis

Penelitian Nita (2004) menyimpulkan bahwa pengaruh manggis terhadap kualitas sperma epididimis kauda tikus *Wistar* adalah terjadi penurunan kualitas sperma epididimis kaudal sehingga fertilitas tikus *Wistar* menurun dengan cepat.

Penelitian Akbar (2004) menyimpulkan bahwa pengaruh manggis terhadap fertilitas tikus *Wistar* betina menunjukkan penurunan fertilitas tikus *Wistar* betina bila diberikan setiap hari selama periode pra implantasi.

Penelitian Adnan (2004) menyimpulkan bahwa pengaruh manggis terhadap fungsi reproduksi mencit *Swiss Webster* betina dapat meningkatkan berat uterus dan menyebabkan dinding uterus lebih tebal dari kontrol, sehingga dapat mengganggu kehamilan bila diberikan pada periode pra implantasi dan pasca implantasi awal, serta mengganggu laktasi.

Penelitian lain yang dilakukan oleh Meles (1991) mengatakan bahwa sapi dalam keadaan bunting yang diberi makan daun manggis terjadi keguguran dan induknya mengalami penurunan kesadaran. Pada penelitian ini disebutkan

bahwa manggis dapat menekan sistem saraf pusat dengan menekan jalur hipotalamus dan hipofise sehingga produksi gonadotropin juga terhambat ini akan menekan pertumbuhan folikel ovarium.

2.2 Tinjauan Tentang Mencit

Mencit termasuk dalam genus *Mus*, subfamily *Murinae*, familia *Muridae*, orde *Rodentia*. Mencit yang sudah dipelihara di laboratorium sebenarnya masih satu famili dengan mencit liar. Jenis mencit yang paling sering dipakai untuk penelitian biomedis adalah *Mus musculus*. Berbeda dengan hewan-hewan lainnya, mencit tidak memiliki kelenjar keringat. Pada umur empat minggu berat badannya mencapai 18-20 gram.

Adapun data tentang mencit adalah sebagai berikut (Kusumawati, 2004) :

1. Berat badan – jantan : 20-40 gram
– betina : 18-35 gram
2. Lama hidup : 1-3 tahun
3. Temperatur tubuh : 36,5°C
4. Kebutuhan air : ad libitum
5. Kebutuhan makanan : 4-5 g/hari
6. Pubertas : 28-49 hari
7. Lama kebuntingan : 17-21 hari

2.2.1 Siklus Birahi

Siklus birahi pada mencit selesai dalam empat sampai enam hari, ini dipengaruhi oleh cahaya, suhu, status nutrisi dan hubungan sosial. Pada mencit ini siklus birahi memiliki waktu pendek, ovarium pada mencit mengandung folikel pada berbagai stadium pembentukan, demikian juga mengandung korpus luteum pada beberapa siklus sebelumnya (Bagnara, 1986).

Siklus ini dapat dibagi menjadi empat stadium :

1. Estrus : Stadium ini merupakan periode birahi dan kopulasi dimungkinkan hanya pada saat ini. Kondisi ini berakhir 9 sampai 15 jam. Pengaruh FSH menimbulkan folikel ovarium tumbuh dengan cepat. Periode ini juga merupakan periode sekresi estrogen. Selama masa estrus ovulasi terjadi ditandai dengan perubahan histologi yang menunjukkan adanya luteinisasi awal.
2. Metestrus : Stadium ini terjadi setelah ovulasi dan merupakan saat antara estrus dan diestrus. Periode ini berakhir 10 sampai 14 jam dan biasanya kopulasi tidak terjadi. Ovarium mengandung korpus luteum dan folikel kecil (Hanter, 1993).
3. Diestrus : Stadium ini berakhir 60 sampai 70 jam, Pada siklus ini mencit tidak bunting karena oosit tidak dibuahi oleh spermatozoa. Oosit ini mati dan diabsorpsi oleh endometrium.
4. Proestrus : Stadium ini menunjukkan datangnya awal proses birahi ditandai dengan involusi fungsional korpus luteum serta pembengkakan praovulasi folikel (Partodiharjo, 1992).

2.2.2 Ovarium dan folikel ovarium

Semua hewan menyusui, ovarium terdapat sepasang tepatnya dekat ginjal dimana gonad berasal. Besarnya ovarium amat tergantung kepada umur dan masa reproduksi hewan betina. Pada hewan betina yang telah seringkali beranak besar ovarium bisa dua kali dibanding yang belum beranak. Pertumbuhan ovarium dan perkembangan histologik ovarium dipengaruhi oleh hormon-hormon yang berasal dari hipofise. Pada ovarium inilah terjadi pertumbuhan dan perkembangan folikel pada berbagai stadium (Ismudiono, 1999).

2.2.3 Pertumbuhan dan perkembangan folikel ovarium

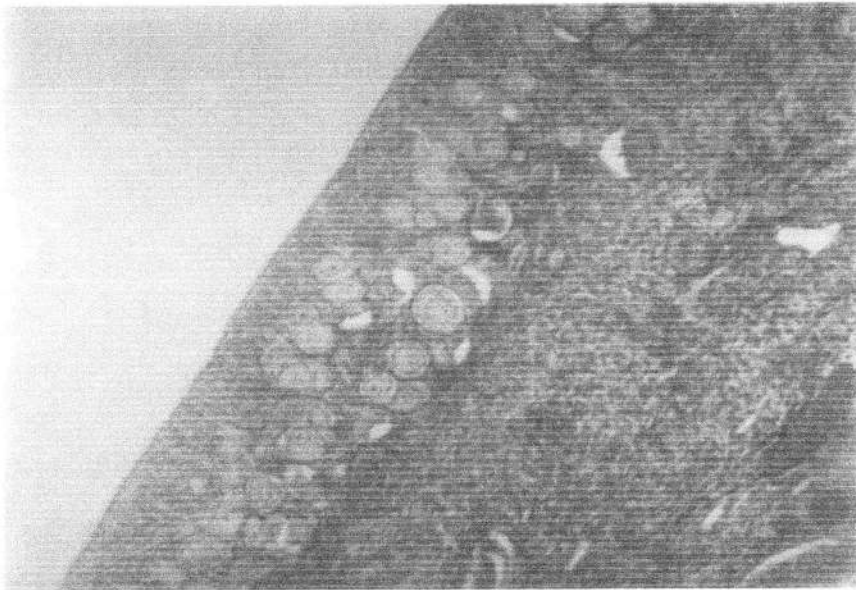
Folikel pada ovarium ini pertumbuhan dan perkembangannya dibagi menjadi empat stadium yaitu :

1. Stadium pertama : Dalam tahap pertama ini disebut tahap folikel primer yang berasal dari satu sel epitel yang membelah dimana sel ini dikelilingi oleh sel granulosa. Folikel primer ini kebanyakan berada langsung kulit ovarium yang disebut *tunika albugenea*. Folikel primer ini dapat dibedakan dengan folikel sekunder dari letak dan membran yang membungkusnya yaitu membran *vitelline*.

Folikel Sekunder bentuknya lebih besar dan sel granulosanya lebih banyak, folikel ini juga mempunyai membran tipis yang membungkusnya yang disebut membran *vitelline*. Folikel sekunder ini menjadi sempurna setelah terbentuk membran tebal di sekeliling membran *vitelline* yaitu yang disebut *Zona pelucida* (Guyton, 1997).

2. Stadium Kedua : Pertumbuhan folikel primer menjadi folikel sekunder ini merupakan pertumbuhan dan perkembangan folikel stadium dua. Folikel ini diselubungi oleh jaringan yang berasal dari stoma yang selanjutnya terbagi menjadi teka interna dan teka eksterna. Tidak semua folikel primer tumbuh menjadi folikel sekunder diperkirakan sepertiga saja yang menjadi folikel sekunder.
3. Stadium ketiga : Selanjutnya pertumbuhan dan perkembangan folikel sekunder ini akan tumbuh menjadi folikel tertier dimana sel granulosa semakin banyak dan folikel menjadi semakin besar, letak folikel tersier ini mendekati korteks ovarium. Sel-sel teka yang mengelilingi lapisan folikel ini mengandung membrana propia tipis yang berisi pembuluh darah dan pembuluh limfe, kedua pembuluh ini yang menghubungkan teka interna dan eksterna. Pembuluh-pembuluh ini tidak menembus membrana propia sehingga sel granulosa tidak memiliki suplai darah sehingga melebur menjadi rongga yang berisi cairan yang disebut antrum (Ganong, 2003).
4. Stadium empat : Antrum ini semakin banyak disebut dengan antra. Jumlah antrum akan bertambah dan membentuk dinding yang membatasi antrum satu dengan yang lain ini pecah sehingga jumlah antra berkurang, tetapi besarnya antrum ini bertambah sehingga folikel tertier ini hanya satu dan berisi

cairan folikel. Folikel tertier ini selanjutnya tumbuh menjadi folikel de Graaf yaitu bentuk folikel yang terakhir dan terbesar pada ovarium (Sastrawinata, 1994) Perkembangan folikel de Graaf tidak lagi bergantung pada sekresi FSH hipofise, dan kadar hormon ini mulai menurun. Folikel de Graaf terus menghasilkan estrogennya sendiri dari se teka dan kadar estrogen terus meningkat. Peningkatan kadar estrogen menyebabkan retensi sejumlah cairan dan natrium di jaringan tubuh. Kondisi ini juga menyebabkan penekanan hormon FSH sementara LH mempengaruhi tahap akhir pematangan folikel. (Verralls, 2003)



Gambar 2.2 Gambar folikel-folikel pada ovarium tikus (Tambayong, 1990)

2.2.4 Mekanisme antifertilitas pada mencit

Pertumbuhan folikel ini tergantung pada perubahan kerja hormon di dalam teka interna, sel granulosa dan pada folikel. FSH dan estrogen bertanggung jawab terhadap proliferasi dan biosintesis steroid dalam sel granulosa sementara LH menyediakan hormon androgen pada teka interna yang berguna pada pematangan folikel (Putra, 1991). Kekurangan Hormon FSH dan LH akan mengakibatkan gangguan steroidogenesis pada sel teka dan sel granulosa sehingga perkembangan folikel terganggu (Bagnara, 1988).

2.3 Tinjauan Tentang Hormon Steroid

2.3.1 Mekanisme hormon steroid

Hormon steroid atau dalam hal ini steroid seks termasuk ikatan karbon hidrogen yang mempunyai macam-macam pengaruh biologik yang khas, tergantung pada gugus metilnya, ikatan rangkap, hidroksi atau kelompok ketonnya (Jacob, 1994). Hormon steroid seks yang penting dalam proses reproduksi adalah estrogen, progesteron dan androgen dengan semua turunannya. Berat molekulnya rata-rata 300. Hormon steroid ini disimpan dalam jumlah sedikit di masing-masing tempat penghasilnya (adrenal, ovarium dan testis) (Greenspan, 2003). Apabila steroid ini diperlukan hormon ini harus disintesis terlebih dahulu oleh kolesterol di masing-masing sel yang memerlukan. Kolesterol mengandung 27 atom C. Kolesterol ini setelah mensintesa steroid mempunyai turunan yaitu pregnolonenolon atau progesteron yang mempunyai 21 atom C. Sementara turunan yang lain dari hormon steroid adalah androgen yang mempunyai 14 atom C dan estrogen 18 atom C (Guyton, 1997).



Sel sasaran dari hormon steroid dapat dibedakan dari sel-sel yang lain, karena adanya reseptor yang khas, yang dijumpai pada sitosol. Diduga hormon ini yang relatif kecil dan lipofil menerobos masuk melalui membran plasma dan dalam sel akan diikat oleh reseptor untuk kemudian ditimbun. (Jacoeb, 1994)

Cara kerja hormon steroid berbeda dengan hormon peptida, yaitu hormon peptida selain memerlukan pengikatan dengan reseptor, juga mengadakan perubahan enzim tertentu pada dinding sel. Dengan pengikatan steroid pada reseptor, terjadi pemacuan pada reseptor protein, sehingga terjadi perubahan bentuk yang mengakibatkan kompleks steroid reseptor menjadi aktif. Kompleks ini masuk ke dalam inti sel, dan diduga diikat oleh komponen tertentu dari kromatin atau bahan genetik. Hal tersebut menyebabkan kegiatan gen akan berubah, dan memacu pembentukan DNA (*Deoxyribo Nucleic Acid*) melalui RNA (*Ribonucleic Acid*) Akibat terjadi sintesis dari enzim, reseptor dan protein lainnya. Peristiwa yang berlangsung dalam sel sasaran ini secara umum dapat disebut sebagai pengaruh khas dari hormon (Speroff, 1996)

3.2 Hormon pengatur ovarium

2.3.3 Pemberian steroid seks dan gonadotropin

Pengaruh hormon steroid atau steroid seks dan gonadotropin terhadap pertumbuhan folikel ini terlihat setelah folikel dipenuhi oleh sel granulosa yaitu pada tahap pertumbuhan folikel sekunder. Sel granulosa ini membentuk reseptor FSH sehingga konsentrasi FSH menjadi tinggi di dalam pembuluh darah kapiler sel granulosa sehingga FSH ini dapat masuk ke dalam folikel (Bagnara, 1988).

Pengaruh FSH menyebabkan sel granulosa, sel teka dan antrum semakin melebar. Bersamaan dengan ini pula, akibat pengaruh FSH, estrogen dan reseptor estrogen yang terbentuk semakin banyak karena estrogen juga memicu pembentukan reseptor FSH dan LH. Pengaruh keadaan ini sel granulosa dan sel teka juga bertambah banyak kedua sel ini banyak menghasilkan estrogen. Folikel de Graaf merupakan folikel yang dapat mencapai kematangan ovulasi karena pada folikel ini tertimbun FSH dan estrogen dengan konsentrasi tinggi (Jacoeb, 1994).

2.3.4 Fisiologi Ovulasi

Sebelum masa pubertas ovarium masih dalam keadaan istirahat akan tetapi waktu tercapai pubertas maka karena pengaruh hormon gonadotropin beberapa folikel primer mulai tumbuh. Pematangan folikel primer ini diawali dengan pembentukan sel granulosa dan sel teka yang karena proses di dalam folikel akan membentuk antrum yang berisi cairan yang disebut dengan liquor folikuli (Ganong, 1999). Dengan adanya cairan ini ovum sendiri terdesak ke pinggir dan terdapat di tengah tumpukan sel yang menonjol ke dalam rongga folikel. Ovum sendiri masih dikelilingi oleh banyak sel-sel yang disebut *cumulus oophorus*. Antara ovum dan sekitarnya terdapat zona pelusida. Sel granulosa lainnya yang membatasi ruangan folikel disebut membrana granulosa. Dengan tumbuhnya folikel membentuk dua lapisan ialah teka interna yang banyak mengandung pembuluh darah dan teka eksterna yang terdiri dari jaringan ikat yang padat. Folikel yang masak ini disebut folikel de Graaf. Folikel de Graaf menghasilkan estrogen dan rupanya tempat pembuatan hormon ini pada teka interna (Speroff, 2005).

Sebelum pubertas, folikel de Graaf hanya terdapat pada lapisan dalam dari kortek ovarium dan tetap tinggal di lapisan tersebut. Setelah pubertas juga terbentuk di lapisan luar dari kortek, pada diameter 10 sampai 12 mm. Folikel tersebut mendekati permukaan, malahan menonjol keluar, karena liquor folikuli terbentuk terus maka tekanan di dalam folikel makin lama makin tinggi, tetapi untuk terjadinya ovulasi bukan hanya tergantung pada tekanan tinggi tersebut, melainkan juga harus mengalami perubahan mikrobiotik pada permukaan folikel (Sarwono, 1994).

Pada permukaan ovarium sel-sel menjadi tipis hingga pada suatu waktu folikel akan pecah dan mengakibatkan keluarnya liquor folikuli bersama dengan ovumnya yang dikelilingi oleh sel-sel *Cumulus oophorus* (Ismudiono, 1999).

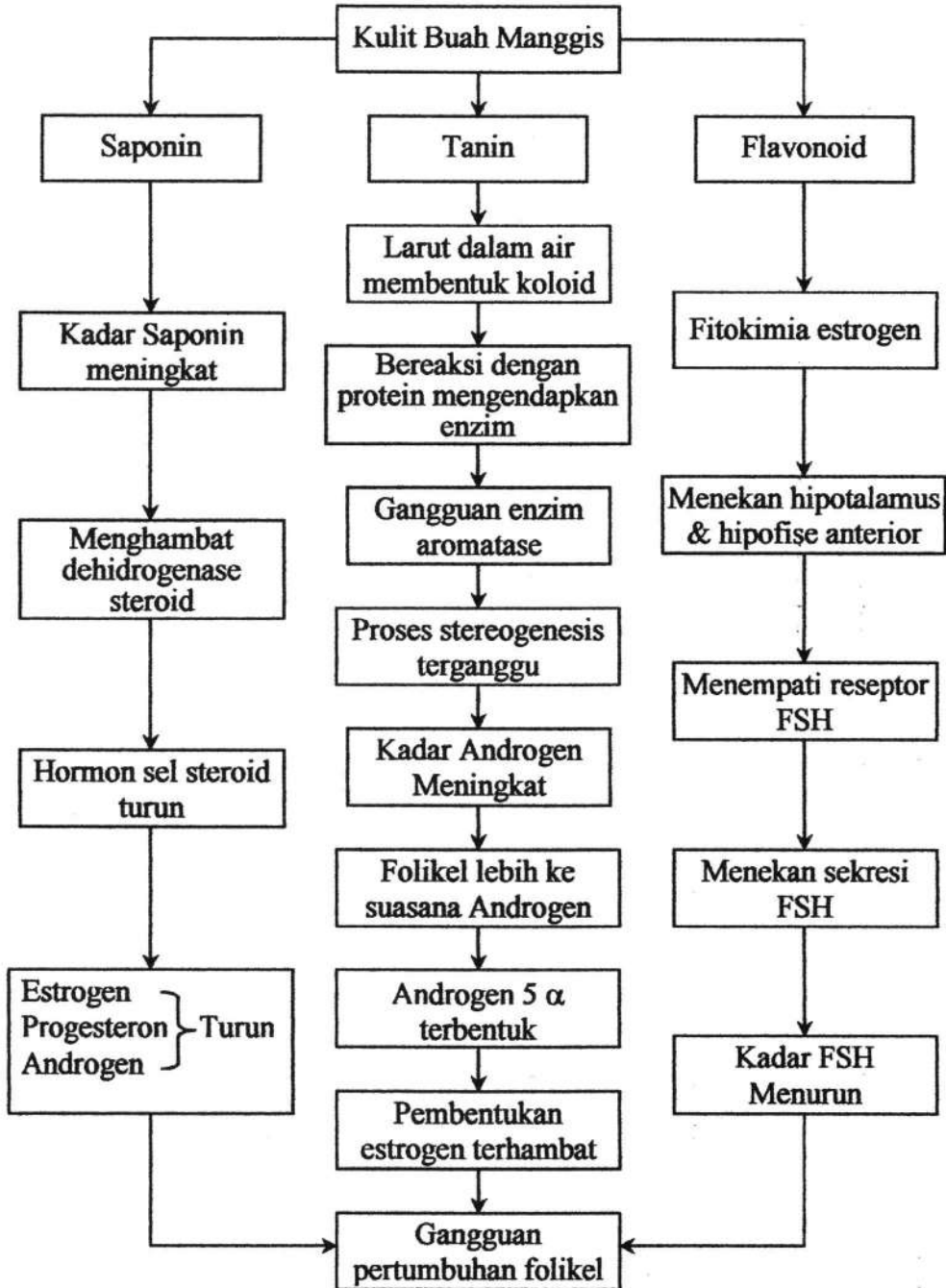
Keluarnya sel telur dari folikel de Graaf dan pecahnya folikel de Graaf disebut ovulasi. Sel granulosa yang mengelilingi sel telur yang telah bebas itu disebut *Corona radiata* (Ganong, 2003).

Setelah ovulasi maka sel granulosa dari dinding folikel mengalami perubahan dan mengandung zat warna yang kuning yang disebut lutein. Dengan demikian maka sisa folikel berubah menjadi butir yang kuning yang disebut corpus luteum (Johnson, 1995).

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1. Bagan Kerangka Konseptual

3.2. Dasar Teori

1. Ovarium dikontrol oleh hormon FSH dan LH yang disekresi oleh hipofise.
2. FSH lebih berperan pada awal pembentukan folikel sedangkan LH lebih berperan pada akhir pembentukan folikel.
3. Untuk meningkatkan folikulogenesis hipofise dirangsang oleh hipotalamus.
4. Estrogen adalah hormon yang dihasilkan oleh ovarium.
5. FSH cenderung untuk mempunyai pengaruh umpan balik terhadap estrogen atau sebaliknya.
6. Enzim aromatisasi berperan mengubah androgen menjadi estrogen pada intra folikular.
7. Androgen yang terlalu tinggi pada folikel akan merubah androgen menjadi androgen 5α yang lebih poten sehingga androgen tidak diubah menjadi estrogen.
8. Kulit buah mangga mengandung flavonoid, tanin, saponin dimana ketiga unsur tersebut mempunyai efek terhadap pertumbuhan folikel.
9. Flavonoid unsur yang menyerupai estrogen, tanin unsur yang menghambat enzim aromatisasi, sedangkan saponin menghambat steroidogenesis.

3.3. Hipotesis Penelitian

1. Pemberian ekstrak kulit buah manggis per oral pada mencit menghambat pertumbuhan jumlah folikel primer ovarium mencit.
2. Pemberian ekstrak kulit buah manggis per oral pada mencit menghambat pertumbuhan jumlah folikel sekunder ovarium mencit.

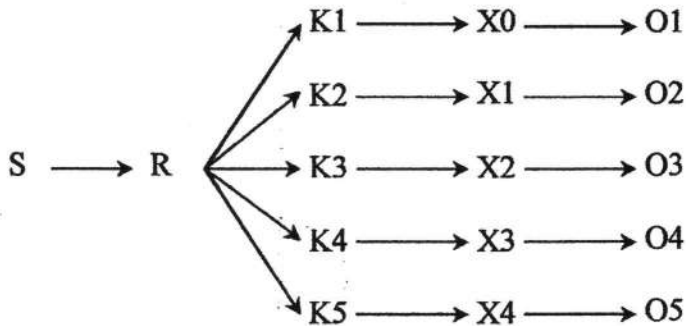
3. Pemberian ekstrak kulit buah manggis per oral pada mencit menghambat pertumbuhan jumlah folikel tersier ovarium mencit
4. Pemberian ekstrak kulit buah manggis per oral pada mencit menghambat pertumbuhan jumlah folikel de Graaf ovarium mencit.

BAB 4

MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimen laboratoris jenis rancangan *post tes* dengan kelompok eksperimen dan kontrol (*Post test only control grup design*) (Zainuddin, 2000). Secara skematis rancangan penelitian ini dapat digambarkan sebagai berikut :



Gambar 4.1. Bagan Penelitian

Keterangan :

- S : Sampel
 R : Randomisasi
 K1 : Kelompok kontrol diberikan Suspensi CMC
 K2 : Kelompok perlakuan I mencit diberi suspensi 4,55 mg / 20 g
 K3 : Kelompok perlakuan II mencit diberi suspensi 9,1 mg / 20 g
 K4 : Kelompok perlakuan II mencit diberi suspensi 13,65 mg / 20 g
 K5 : Kelompok perlakuan IV mencit diberi suspensi 18,2 mg / 20 g
 X0 : Perlakuan dengan Suspensi CMC
 X1 : Perlakuan I
 X2 : Perlakuan II
 X3 : Perlakuan III
 X4 : Perlakuan IV
 O1 : Hasil Kelompok kontrol
 O2 : Hasil Perlakuan I
 O3 : Hasil perlakuan II
 O4 : Hasil perlakuan III
 O5 : Hasil perlakuan IV

Penelitian dilakukan pada subyek dengan variasi dosis ekstrak manggis. Kelompok K1 sebagai kelompok kontrol diberilakn suspensi CMC 0,2 ml / 20 g BB mencit. Kelompok K2 diberi minuman suspensi ekstrak manggis 4,55 mg / 20 g BB. Kelompok K3 diberi minuman suspensi ekstrak manggis 9,1 mg / 20 BB. Kelompok K4 diberi minuman suspensi ekstrak manggis 13,65 g / 20 BB. Kelompok K5 diberi minuman suspensi ekstrak manggis 18,2 mg / 20 g BB, pada semua kelompok perlakuan ekstrak manggis dilarutkan dalam suspensi CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) 0,5% dalam 0,2 ml /BB.

Perlakuan pada kelompok K1 sampai dengan K5 diberikan satu kali dalam sehari. Setelah diberi perlakuan 12 hari maka dilakukan pembedahan untuk diambil ovariumnya. Hasil pembedahan ini dibuat prepatat untuk melihat pertumbuhan folikel. Hasil dari pemeriksaan keempat kelompok perlakuan tersebut dibandingkan kontrol.

4.2. Unit Eksperimen dan Replikasi

Unit eksperimen adalah mencit (*Mus musculus*) yang berasal dari Laboratorium Bahan Alam Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya. Mencit (*Mus musculus*) yang dipilih memenuhi persyaratan sebagai berikut :

1. Umur hewan coba 8-10 minggu
2. Berat badan 20-30 mg
3. Sudah pernah bunting
4. Jenis kelamin betina
5. Sehat, ditandai dengan gerakan aktif

Besarnya replikasi sampel ditentukan oleh rumus Federen (1956) ditentukan sebagai berikut :

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$(5-1)(r-1) \geq 15$$

$$4(r-1) \geq 15$$

$$4r - 4 \geq 15$$

$$4r \geq 19$$

$$r \geq 4,75$$

Berdasarkan hasil perhitungan didapatkan jumlah sampel 30 ekor mencit dibagi 5 kelompok masing-masing kelompok terdiri dari 6 hewan coba. Untuk menentukan mencit (*Mus musculus*) ke dalam kelompok sampel diambil secara acak lengkap.

4.3. Variabel Penelitian

4.3.1. Klasifikasi Variabel

1. Variabel bebas (Variabel Independen)

Pemberian suspensi ekstrak kulit buah manggis

2. Variabel Tergantung (Variabel dependen)

- a. Jumlah folikel primer
- b. Jumlah folikel Sekunder
- c. Jumlah folikel tersier
- d. Jumlah folikel de Graaf

3. Variabel Kendali :

- a. Jenis Hewan Coba
- b. Jenis kelamin hewan coba
- c. Pernah bunting
- d. Umur Hewan Coba
- e. Pakan, pemeliharaan dan perawatan hewan coba
- f. Kesehatan fisik hewan coba
- g. Sanitasi
- h. Air minum
- i. Waktu Perlakuan

4.3.2. Definisi Operasional Variabel

1. Manggis yang diberikan adalah irisan tipis kulit buah manggis yang sudah dikeringanginkan ditumbuk halus hingga menjadi serbuk dengan menggunakan mesin rotavapor. Serbuk kulit buah manggis ini selanjutnya ditimbang dan dimaserasi dengan larutan metanol pada suhu kamar selama 24 jam selanjutnya dibiarkan selama 3 kali 24 jam diperkirakan metanol sudah menguap.
2. Dosis yang diberikan dihitung setelah dikonversi dari dosis manusia ke dosis mencit (Ghosh, 1971). Dosis tersebut adalah 4,55 mg, 9,1 mg, 13,65 mg, 18,2 mg untuk empat kelompok perlakuan sedangkan untuk kelompok kontrol diberikan suspensi CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) 0,5%.
3. Jumlah folikel adalah hasil pengamatan histologi ovarium mencit (*Mus musculus*) setelah diberi perlakuan. Pengamatan jumlah folikel ini berlaku

- untuk kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Jumlah folikel yang diamati adalah jumlah folikel primer, sekunder, tersier dan de Graaf.
4. Folikel primer bercirikan satu sel epitel yang dikelilingi oleh sel granulosa tepat di bawah *tunica albuginea*; folikel sekunder selnya lebih besar dari folikel primer, sel granulosanya, lebih banyak terbungkus membran *vitelline*; folikel tersier lebih besar dari folikel primer dan sekunder, terdapat sel teka, terdapat antrum; folikel de Graaf jumlah antrum semakin banyak, ovum berada di sisi tepi, ovum terlihat berada di samping.
 5. Jenis hewan coba adalah mencit (*Mus musculus*) betina yang sudah pernah beranak karena diperkirakan siklus reproduksinya normal diperoleh dari Laboratorium Bahan Alam Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya.
 6. Umur hewan coba adalah waktu yang dihitung mulai hewan coba dilahirkan sampai dilakukan penelitian. Pada penelitian ini umur hewan coba 8-10 minggu karena pada umur 4 minggu hewan ini siap untuk bunting atau dikawinkan.
 7. Pemeliharaan dan perawatan hewan coba dilakukan pada kandang tertutup kawat dan beralas sekam, besarnya 20 x 40 x 15 cm setiap kandang diisi 6 ekor hewan coba dengan pemberian makan pelet *ad libitum*.
 8. Kesehatan fisik hewan coba ditandai dengan gerakan aktif, bulu tidak kusam, berat badan stabil selama aklimatisasi dan berespon terhadap rangsangan sekeliling.
 9. Berat badan hewan coba dihitung dengan menggunakan timbangan digital elektrik merk Ohaus® dalam satuan gram. Berat badan hewan coba 20–30 g.

10. Air minum adalah air minum yang diberikan pada hewan coba berupa aqua dan diberikan secara *ad libitum* (tanpa batas sesuai dengan kebutuhan hewan coba).
11. Waktu perlakuan adalah waktu pemberian perlakuan selama 12 hari sesuai dengan masing-masing dosis kelompok perlakuan. Pemberian ini diberikan 1 kali dalam 24 jam pagi jam 08.00 WIB.
12. Pemberian ekstrak kulit buah manggis adalah diberikan secara per oral dengan 0,2 ml untuk masing-masing dosis perlakuan.

4.4. Bahan dan Instrumen Penelitian

4.4.1. Bahan Penelitian

Hewan coba dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) betina dewasa yang sudah pernah beranak dengan umur 8 – 10 minggu Berat badan hewan coba berkisar 20 – 30 mg sebanyak 30 ekor. Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah folikel mencit (*Mus musculus*) yang diambil dari irisan ovarium. Bahan tersebut akan diamati jumlah folikel primer, sekunder, tersier dan de Graaf. Bahan yang digunakan untuk memberikan perlakuan pada hewan coba adalah ekstrak kulit buah manggis yang sudah dimaserasi dan dilarutkan pada bahan CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) 0,5% sedangkan kelompok kontrol hanya diberikan suspensi CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) 0,5%.

4.4.2. Instrumen Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan peralatan yang terdiri dari :

1. Kandang Ukuran 20 x 40 x 15 cm tempat pemeliharaan mencit (*Mus musculus*).

2. Botol plastik tempat minum hewan coba.
3. Timbangan digital elektrik merk *ohaus* untuk menimbang berat badan mencit (*Mus musculus*).
4. Alat untuk perlakuan :
 - a. Tabung suntik ukuran 1 cc
 - b. Sonde untuk memasukkan bahan perlakuan
5. Alat untuk mengambil unit perlakuan
 - a. Seperangkat alat bedah (scapel, pinset, gunting, jarum tusuk)
 - b. 30 buah botol film tertutup untuk menyimpan ovarium
 - c. Larutan bouin pengawet organ
6. Alat yang digunakan untuk membuat preparat ovarium yaitu : seperangkat wadah untuk dehidrasi – clearing, *soup parafin bath*, blok parafin, *rotarry microtome*, holder, kuas, pipet tetes, bunsen, *object glass*, *cover glass*, seperangkat jar untuk staining
7. Alat untuk menghitung jumlah folikel :
 - a. Mikroskop cahaya
 - b. Counter
 - c. Kertas catatan

4.5. Tempat dan Waktu Penelitian

Perlakuan selama 12 hari, mulai tanggal 30 Mei sampai dengan 12 Juni 2007. Tempat perlakuan di Fakultas MIPA Jurusan Biologi Universitas Airlangga Surabaya. Pemeriksaan jumlah folikel dan pembuatan preparat ovarium hewan coba di tempat yang sama.

4.6 Prosedur Pengambilan Data

4.6.1. Penentuan jenis, dosis dan waktu perlakuan

Dosis minimal untuk perlakuan ini adalah 4,55 mg/20 g BB mencit (*Mus musculus*) ini merupakan konversi (seperti Lampiran 1) dari dosis ekstrak manggis pada manusia sebanyak 25 mg/ Kg BB. Untuk mendapatkan satuan gram dalam suspensi maka dosis tersebut dilakukan perhitungan (seperti Lampiran 2). Dosis yang diberikan pada masing masing perlakuan adalah 4,55 mg untuk perlakuan 2, 9,1 mg untuk perlakuan 3, 13,65 mg untuk perlakuan 4 dan 18,2 mg untuk perlakuan 5, sedangkan kelompok kontrl (K1) diberikan suspensi pelarut CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) 0,5%.. Dosis Perlakuan ini dilarutkan pada cairan aquades dan CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) 0,5% pada volume yang sama.

Waktu pemberian 1 kali dalam 24 jam. Semua hewan coba diberikan perlakuan setiap jam 08.00 WIB. Pemberian perlakuan ini selama 12 hari karena selama 12 hari ini hewan coba mengalami 3 kali siklus reproduksi.

4.6.2. Prosedur penelitian

1. Tahap persiapan hewan coba

Hewan coba sebelum dilakukan penelitian diaklimatisasi selama 1 minggu. Tempat aklimatisasi adalah rumah hewan coba Fakultas MIPA Jurusan Biologi Universitas Airlangga Surabaya. Tahap awal selama aklimatisasi hewan coba ditimbang BB. Hewan coba yang mengalami perubahan berat badan kurang lebih 10 %, tidak sehat dan bunting dikeluarkan dari penelitian.

Perlakuan hapusan vagina pada hewan coba ditujukan untuk mengetahui apakah siklus hewan coba normal atau tidak. Hapusan ini dilakukan selama aklimatisasi setiap hari, Setelah dilakukan aklimatisasi selama satu minggu dan dipastikan hewan coba mengalami siklus reproduksi normal, sehat dan tidak bunting diberikan perlakuan.

2. Tahap Perlakuan

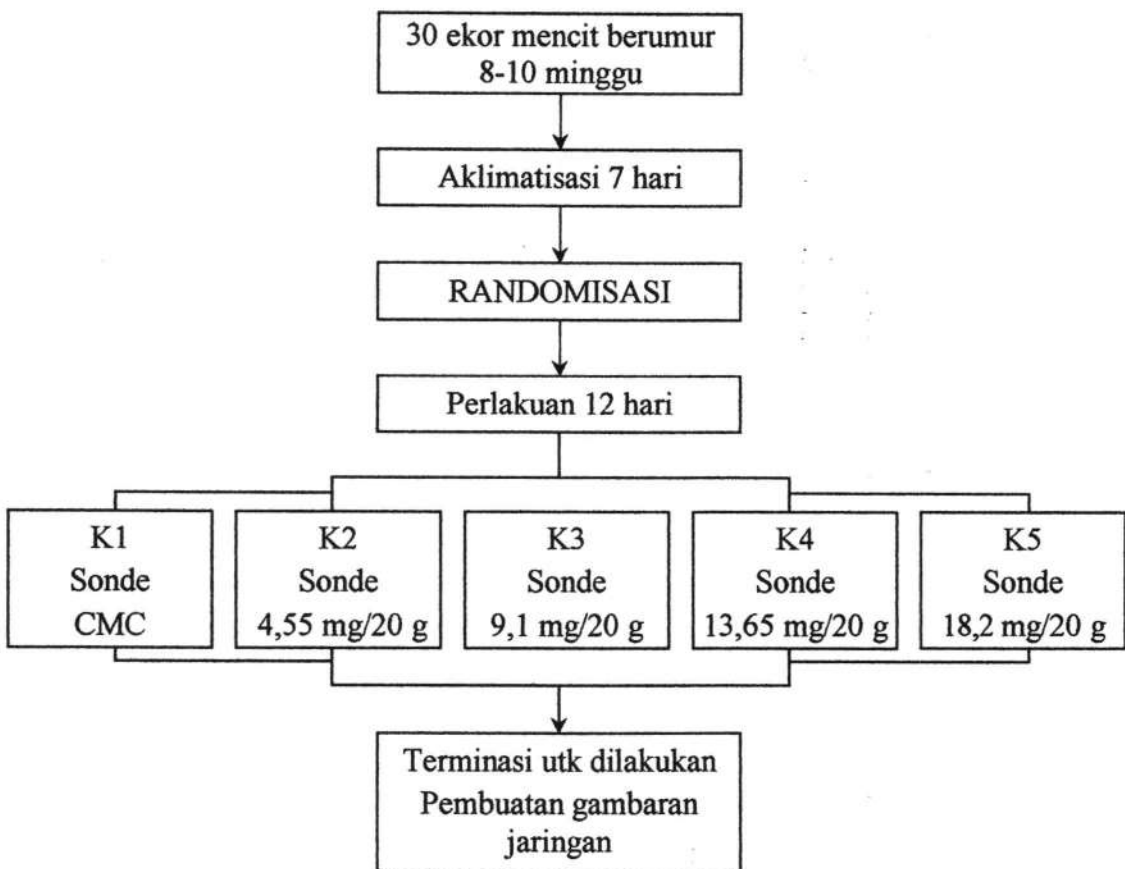
Tiga puluh hewan coba yang dikategorikan layak dilakukan penelitian dicari fase diestrus karena ini benar benar memastikan kalau hewan coba ini tidak bunting. Setiap perlakuan pada hewan coba selalu diawali oleh fase diestrus. Setiap kelompok diperlukan 6 ekor hewan coba. Pada penelitian ini terdapat satu kelompok kontrol dan empat kelompok perlakuan yang masing masing kelompok berada dalam kandang bak plastik. Semua kelompok diberikan perlakuan selama 12 hari. Kelompok kelompok penelitian tersebut adalah sebagai berikut :

- K1 : Diberikan suspensi CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) 0,5%. Sebanyak 0,2 ml/ 20g. Diberikan 1 kali sehari yaitu pada jam 08.00 WIB. Pemberian ini selama 12 hari kemudian dilakukan pembedahan.
- K2 : Diberikan suspensi perlakuan dengan dosis 4,55 mg/20 g BB dilarutkan dalam volume 0,2 ml/ 20g. Diberikan 1 kali sehari yaitu pada jam 08.00 WIB. Pemberian ini selama 12 hari kemudian dilakukan pembedahan.
- K3 : Diberikan suspensi perlakuan dengan dosis 9,1 mg/20 g BB dilarutkan dalam volume 0,2 ml/ 20g. Diberikan 1 kali sehari yaitu pada jam 08.00 WIB. Pemberian ini selama 12 hari kemudian dilakukan pembedahan.

K4 : Diberikan suspensi perlakuan dengan dosis 13,65 mg/20 g BB dilarutkan dalam volume 0,2 ml/ 20g. Diberikan 1 kali sehari yaitu pada jam 08.00 WIB. Pemberian ini selama 12 hari kemudian dilakukan pembedahan.

K5 : Diberikan suspensi perlakuan dengan dosis 18,2 mg/20 g BB dilarutkan dalam volume 0,2 ml/20g. Diberikan 1 kali sehari yaitu pada jam 08.00 WIB. Pemberian ini selama 12 hari kemudian dilakukan pembedahan.

Prosedur Pengambilan data tersebut dilengkapi dengan skema penelitian seperti pada Gambar 4.2



Gambar 4.2. Bagan kerangka operasional

4.6.3. Pengambilan Ovarium

Pengambilan ovarium dilakukan setelah dilakukan pembedahan. Pembedahan ini dilakukan dengan syarat hewan coba sudah dilakukan perlakuan sesuai dengan prosedur dan diakhiri pada siklus diestrus. Pada penelitian ini diawali dan diakhiri dengan siklus reproduksi yang sama.

Hewan coba dikorbankan dengan dilakukan pembiusan menggunakan ether berlebihan di dalam toples pembiusan. Kurang dari 1 menit mencit (*Mus musculus*) tidak bergerak yang ditandai mata meredup dan badan tidak bergerak kemudian dilakukan pembedahan untuk mengambil ovarium di bagian abdomen pada kedua sisi. Setelah diambil ovarium dibersihkan dari lemak yang melekat di cawan petri yang berisi 4 ml saline selanjutnya dimasukkan botol film yang telah diberi larutan *Bouin* sebagai pelarut organ karena besok baru akan dilakukan pembuatan preparat. Pembuatan preparat terdapat pada Lampiran 4.

4.6.4. Pengamatan Folikel pada ovarium mencit (*Mus musculus*)

Pengamatan jumlah folikel dilakukan setelah semua pembuatan preparat selesai. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 100 kali untuk melihat secara menyeluruh selanjutnya difokuskan dengan pembesaran 400 kali. Setiap unit sampel dilakukan pengamatan sebanyak 3 kali lapang pandang.

4.7 Analisis Data

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan menggunakan rancangan *post test* dengan kelompok eksperimen dan kontrol (*post*

test only control group design). Data yang diperoleh adalah jumlah folikel primer, sekunder, tersier dan de Graaf. Analisis data yang digunakan adalah :

1. Analisis deskriptif

Uji ini akan menggambarkan rerata, *standart deviasi* pada masing-masing kelompok.

2. Uji normalitas distribusi

Digunakan untuk mengetahui apakah data penelitian menyebar menurut distribusi normal atau tidak.

3. Uji homogenitas variansi

Digunakan untuk mengetahui apakah data penelitian ini mempunyai keseragaman variannya atau tidak (Sugiyono, 2007).

4. Uji Anova satu arah pada taraf signifikansi 5%

Dilakukan uji beda respon pada masing-masing variabel. Jika dari analisis varians didapatkan adanya pengaruh perlakuan (dengan nilai $p < 0,05$) terhadap jumlah folikel primer, sekunder, tersier dan de Graaf, kemudian dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significantly Difference*) untuk mengetahui bermakna tidaknya beda antar pasangan perlakuan.

5. Apabila persyaratan uji anova tidak terpenuhi maka dilakukan uji non-parametrik yaitu *Kruskal-Wallis Test* dan *Mann-Whitney Test* (Sulaiman, 2005).

BAB 5

ANALISIS HASIL PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan pemberian ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostanae*) per oral terhadap folikulogenesis ovarium mencit (*Mus musculus*). Pada penelitian ini dilakukan pengukuran terhadap jumlah folikel ovarium mencit yang meliputi folikel primer, sekunder, tersier dan de Graaf.

5.1 Hasil Analisis Deskriptif

Hasil analisis deskriptif untuk jumlah folikel ovarium pada mencit setelah dilakukan pemberian ekstrak kulit buah manggis per oral terhadap mencit adalah sebagai berikut :

Tabel 5.1 Nilai rata-rata tiga kali lapang pandang dengan perbesaran 100X dan simpangan baku jumlah folikel ovarium mencit setelah pemberian ekstrak kulit buah manggis

Kelompok	Ukuran	Jumlah Folikel			
		Primer	Sekunder	Tersier	de Graaf
Kontrol	Rata-rata	10,5000	4,6111	2,4444	1,1667
	SD	4,8477	1,4050	1,3608	0,4082
	N	6	6	6	6
Suspensi 4,55 mg/ 20 g	Rata-rata	7,7222	4,7222	2,3333	1,0556
	SD	4,6543	2,0808	1,1353	0,1361
	N	6	6	6	6
Suspensi 9,1 mg/ 20 g	Rata-rata	9,7222	5,8889	3,3333	0,5000
	SD	3,1722	3,4362	2,3286	0,5477
	N	6	6	6	6
Suspensi 13,65 mg/ 20 g	Rata-rata	9,2222	5,5556	2,5000	0,5000
	SD	5,0494	1,6689	1,2953	0,5477
	N	6	6	6	6
Suspensi 18,2 mg/ 20 g	Rata-rata	12,3333	3,4444	1,4444	0,2222
	SD	1,7764	1,3278	1,2590	0,4037
	N	6	6	6	6

Berdasarkan Tabel 5.1 di atas terlihat bahwa pada jumlah folikel primer, pemberian suspensi 18,2 mg/20 g diperoleh rata-rata yang tertinggi, kemudian berturut-turut kontrol, pemberian suspensi 9,1 mg/20 g, suspensi 13,65 mg/20 g dan suspensi 4,55 mg/20 g. Pada jumlah folikel sekunder rata-rata tertinggi diperoleh pada pemberian suspensi suspensi 9,1 mg/20 g, kemudian berturut-turut adalah suspensi 13,65 mg/20 g, pemberian suspensi 4,55 mg/20 g, kontrol dan suspensi 18,2 mg/20 g. Pada jumlah folikel tersier rata-rata tertinggi adalah pemberian suspensi 9,1 mg/20 g, kemudian berturut-turut kontrol, suspensi 13,65 mg/20 g, suspensi 4,55 mg/20 g dan suspensi 18,2 mg/20 g. Jumlah folikel de Graaf, pada kontrol diperoleh rata-rata yang tertinggi, kemudian berturut-turut pemberian suspensi 4,55 mg/20 g, suspensi 9,1 mg/20 g, suspensi 13,65 mg/20 g dan suspensi 18,2 mg/20 g. Pemberian suspensi ekstrak kulit manggis menghasilkan penurunan jumlah folikel ovarium pada konsentrasi suspensi 18,2 mg/20 g.

5.2 Hasil Uji Normalitas Data

Uji normalitas data dilakukan untuk mengetahui apakah data penelitian yang diperoleh mengikuti atau mendekati distribusi normal, yakni distribusi data dengan bentuk lonceng (*bell shaped*). Data yang baik adalah data yang mempunyai pola distribusi normal. Uji normalitas data dilakukan dengan menggunakan *One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test* dengan taraf signifikansi 5%.

Hasil uji normalitas data untuk jumlah folikel ovarium ditampilkan pada tabel berikut :

Tabel 5.2 Hasil uji normalitas jumlah folikel ovarium mencit setelah pemberian ekstrak kulit buah manggis

Jumlah Folikel	Kolmogorov-Smirnov Z	Signifikansi (p)	Makna
Primer	0,858	0,453	Normal
Sekunder	0,709	0,696	Normal
Tersier	1,009	0,261	Normal
de Graaf	1,911	0,001	Tidak Normal

Tabel di atas menunjukkan bahwa jumlah folikel primer, sekunder dan tersier berdistribusi normal dengan nilai $p > 0,05$, sedangkan pada jumlah folikel de Graaf tidak berdistribusi normal ($p < 0,05$). Dengan demikian untuk jumlah folikel primer, sekunder dan tersier diuji dengan uji parametrik yaitu *Oneway Anova* sedangkan untuk jumlah folikel de Graaf diuji dengan uji non-parametrik yaitu *Kruskal-Wallis Test* yang diteruskan dengan *Mann-Whitney Test*.

5.3 Hasil Uji Homogenitas Data

Uji homogenitas data pada prinsipnya adalah menguji apakah sebuah kelompok mempunyai varians yang sama di antara anggota kelompok tersebut. Pengujian homogenitas varians dilakukan dengan menggunakan *Levene Statistic Test*. Adapun hasil uji homogenitas diperlihatkan pada tabel berikut :

Tabel 5.3 Hasil uji homogenitas jumlah folikel ovarium mencit setelah pemberian ekstrak kulit buah manggis

Jumlah Folikel	Levene Statistic	Signifikansi (p)	Makna
Primer	2,107	0,110	Homogen
Sekunder	0,937	0,459	Homogen
Tersier	1,842	0,152	Homogen

Berdasarkan tabel di atas menunjukkan bahwa jumlah folikel primer, sekunder dan tersier memiliki varians yang homogen ($p > 0,05$).

5.4 Hasil Uji Beda Jumlah Folikel

Uji beda digunakan untuk mengetahui apakah antar kelompok perlakuan pemberian ekstrak kulit buah manggis memberikan pengaruh yang berbeda terhadap jumlah folikel ovarium mencit. Berdasarkan uji normalitas data maka dalam penelitian ini terdapat dua uji beda yaitu uji parametrik (*Oneway Anova*) untuk data yang berdistribusi normal dan uji non-parametrik (*Kruskal-Wallis Test*) untuk data yang tidak berdistribusi normal. Dalam penelitian ini *Oneway Anova* digunakan untuk jumlah folikel primer, sekunder dan tersier, sedangkan *Kruskal-Wallis Test* digunakan untuk jumlah folikel de Graaf.

5.4.1 Jumlah Folikel Primer

Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok pada jumlah folikel primer digunakan *Oneway Anova*. Hasil *Oneway Anova* dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 5.4 Hasil uji *Oneway Anova* jumlah folikel primer ovarium mencit setelah pemberian ekstrak kulit buah manggis

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	F-hitung	Sig. (p)	Makna
Antar Kelompok	69,089	4	17,272	1,030	0,411	Tidak bermakna
Dalam Kelompok	419,389	25	16,776			
Total	488,478	29				

Berdasarkan tabel di atas, pada uji *oneway anova* jumlah folikel primer ovarium mencit setelah pemberian ekstrak kulit buah manggis diperoleh nilai F-hitung sebesar 1,030 dengan signifikansi sebesar 0,411 ($p > 0,05$). Hal ini berarti bahwa pemberian ekstrak kulit buah manggis tidak memberikan perbedaan yang bermakna pada jumlah folikel primer ovarium pada mencit.

5.4.2 Jumlah Folikel Sekunder

Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok pada jumlah folikel sekunder digunakan uji *Oneway Anova*. Hasil uji *Oneway Anova* dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 5.5 Hasil uji *Oneway Anova* jumlah folikel sekunder ovarium mencit setelah pemberian ekstrak kulit buah manggis

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	F-hitung	Sig. (p)	Makna
Antar Kelompok	21,756	4	5,439	1,200	0,335	Tidak bermakna
Dalam Kelompok	113,296	25	4,532			
Total	135,052	29				

Berdasarkan tabel di atas, pada uji *oneway anova* jumlah folikel sekunder ovarium mencit setelah pemberian ekstrak kulit buah manggis diperoleh nilai F-hitung sebesar 1,200 dengan signifikansi sebesar 0,335 ($p > 0,05$). Hal ini berarti bahwa pemberian ekstrak kulit buah manggis tidak memberikan perbedaan yang bermakna pada jumlah folikel sekunder ovarium pada mencit.

5.4.3 Jumlah Folikel Tersier

Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok pada jumlah folikel tersier digunakan uji *Oneway Anova*. Hasil uji *Oneway Anova* dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 5.6 Hasil uji *Oneway Anova* jumlah folikel tersier ovarium mencit setelah pemberian ekstrak kulit buah manggis

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	F-hitung	Sig. (p)	Makna
Antar Kelompok	10,800	4	2,700	1,142	0,360	Tidak bermakna
Dalam Kelompok	59,130	25	2,365			
Total	69,930	29				

Berdasarkan tabel di atas, pada uji *oneway anova* jumlah folikel tersier ovarium mencit setelah pemberian ekstrak kulit buah manggis diperoleh nilai F-hitung sebesar 1,142 dengan signifikansi sebesar 0,360 ($p > 0,05$). Hal ini berarti bahwa pemberian ekstrak kulit buah manggis tidak memberikan perbedaan yang bermakna pada jumlah folikel tersier ovarium pada mencit.

5.4.4 Jumlah Folikel de Graaf

Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok pada jumlah folikel de Graaf digunakan uji *Kruskal-Wallis*. Hasil uji *Kruskal-Wallis* dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 5.7 Hasil uji *Kruskal-Wallis* jumlah folikel de Graaf ovarium mencit setelah pemberian ekstrak kulit buah manggis

Jumlah Folikel	Rata-rata	Standar Deviasi	χ^2	Derajat Bebas	Sig. (p)	Makna
de Graaf	0,6889	0,5462	13,230	4	0,010	Bermakna

Berdasarkan tabel di atas, pada uji *oneway anova* jumlah folikel de Graaf ovarium mencit setelah pemberian ekstrak kulit buah manggis diperoleh nilai χ^2 sebesar 13,230 dengan signifikansi sebesar 0,010. Hal ini berarti bahwa pemberian ekstrak kulit buah manggis memberikan perbedaan yang bermakna pada jumlah folikel de Graaf ovarium pada mencit.

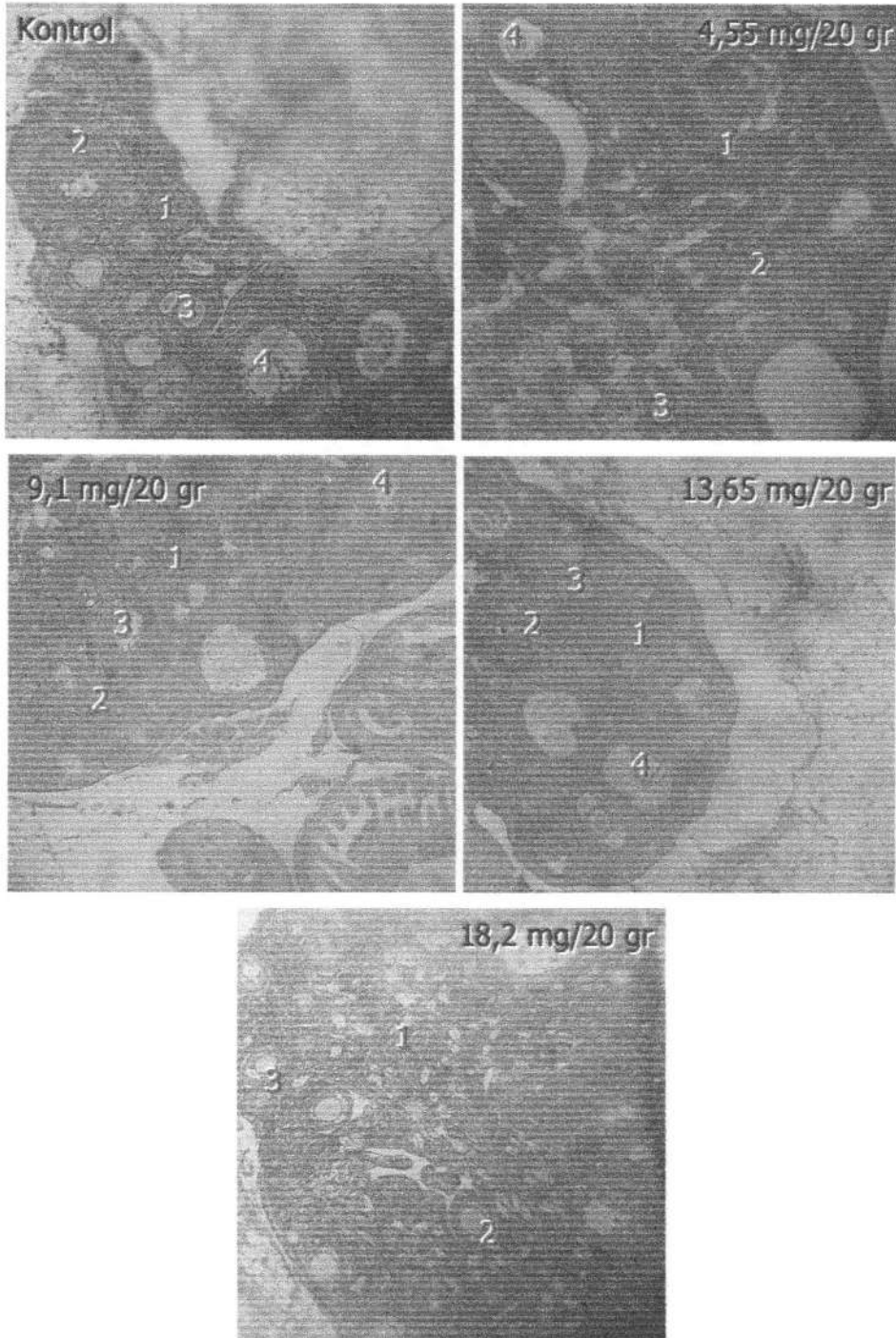
Tabel 5.8 Hasil signifikansi uji *Mann-Whitney* jumlah folikel de Graaf ovarium mencit setelah pemberian ekstrak kulit buah manggis

Kelompok	Kelompok				
	Kontrol	4,55 mg/20 g	9,1 mg/20 g	13,65 mg/20 g	18,2 mg/20 g
Kontrol	–	0,937	0,093	0,093	0,009
4,55 mg/20 g	0,937	–	0,093	0,093	0,009
9,1 mg/20 g	0,093	0,093	–	1,000	0,485
13,65 mg/20 g	0,093	0,093	1,000	–	0,485
18,2 mg/20 g	0,009	0,009	0,485	0,485	–

Berdasarkan tabel di atas, maka menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kontrol dengan pemberian suspensi 18,2 mg/20 g dengan nilai signifikansi sebesar 0,009 ($p < 0,05$). Demikian juga antara pemberian suspensi 9,1 mg/20 g dengan suspensi 18,2 mg/20 g dengan nilai signifikansi sebesar 0,009 ($p < 0,05$). Sedangkan untuk perlakuan lainnya tidak terdapat perbedaan yang bermakna.

5.5 Gambar Histologi Ovarium Mencit (*Mus musculus*)

Di bawah ini merupakan gambar histologi ovarium mencit dari kelompok kontrol.



Gambar 5.2 Histologi Ovarium Mencit (*Mus musculus*) dengan pewarnaan Hematoxilin-Eosin, Pembesaran 100 X yang diberikan Kontrol dan Perlakuan tampak (1) folikel primer; (2) folikel sekunder; (3) folikel tersier dan (4) folikel de Graaf.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1. Materi dan Metode Penelitian

Penelitian ini untuk membuktikan dan bertujuan untuk mempelajari pengaruh manggis dalam menghambat proses folikulogenesis ovarium mencit. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratories yang memenuhi kriteria sebagai eksperimen murni (*True Experiment*) yaitu adanya kriteria perlakuan, kelompok perlakuan, kelompok kontrol, replikasi dan randomisasi (Zainudin, 2000).

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test* dengan kelompok eksperimen dan kontrol (*post test only control group design*), karena penelitian dilakukan dilakukan dengan membagi hewan coba menjadi lima kelompok yaitu kelompok kontrol, kelompok 4,55 mg, kelompok 9,1 mg, kelompok 13,65 mg, dan kelompok 18,2 mg. Pemberian perlakuan ini selama 12 hari karena selama 12 hari ini hewan coba mengalami 3 kali siklus birahi, setelah 12 hari perlakuan dilakukan penghitungan jumlah folikel. Penghitungan jumlah folikel ini dilakukan dengan mengambil ovarium hewan coba.

Pemeriksaan ovarium hewan coba dalam penelitian ini untuk melihat jumlah folikel yaitu dengan mengamati histologi ovarium mencit setelah diberikan perlakuan. Pengamatan jumlah folikel ini berlaku untuk kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Jumlah folikel yang diamati adalah jumlah folikel primer, sekunder, tersier dan de Graaf.

Pemberian perlakuan dilakukan sekali dealam 24 jam yaitu setiap jam 08.00 wib. Rencana replikasi dalam penelitian ini masing masing kelompok adalah minimal 6 ekor hewan coba. Dan diasumsikan ada hewan coba yang mati maka replikasi ditambah 15 % dan masing masing kelompok menjadi 8 hewan coba. Selama penelitian berlangsung tidak ada satupun hewan coba yang mati tetapi selama aklimatisasi terdapat 2 hewan coba yang bunting. Penentuan dosis perlakuan berdasarkan penelitian terdahulu dengan perbandingan 25 mg, 50mg, 75 mg dan 100 mg.

6.2. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Buah Manggis Folikel Primer, Sekunder dan Tersier Ovarium Mencit (*Mus musculus*)

Buah manggis atau mangostin atau *Garcinia mangostanae* telah dilakukan penelitian mengandung adanya flavonoid, tanin, saponin, kuinon, steroid (Nor, 1996).

Senyawa flavonoid adalah senyawa yang banyak terkandung dalam tumbuhan bergetah. Senyawa ini biasanya larut dalam air panas dan alkohol. Efek flavonoid ini adalah untuk pertumbuhan sel karena dapat mempengaruhi siklus AMP. Senyawa ini juga mempunyai rumus bangun mirip seperti hormon estrogen sehingga diduga efek dari flavonoid ini mirip seperti hormon estrogen (Robinson, 1991).

Senyawa lain yang terdapat didalam buah manggis adalah tanin dan saponin. Tanin terhidrolisis berupa senyawa amorf berwarna coklat kuning yang larut dalam air membentuk larutan koloid. Kemampuan tanin untuk bereaksi dengan protein dan mengendapkannya akan menimbulkan masalah enzim atau

protein lain. Beberapa tanin terbukti mempunyai efek antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor, menghambat enzim dan dapat merusak hati. Saponin diberi nama demikian karena menyerupai sabun bila dikocok dalam larutan encer saponin digunakan sebagai racun ikan selama beratus ratus tahun Saponin banyak mengandung terpenoid dan steroid alkohol. Saponin mempunyai efek penghambatan jalur steroid ke ginjal, menghambat dehidrogenase jalur prostaglandin. Pada beberapa tahun terakhir saponin menjadi penting karena diperoleh dari beberapa tumbuhan digunakan untuk sintesis hormon steroid. Jenis saponin lain yang dikenal adalah triterpenoid. (Robinson, 1991)

Penelitian dilakukan pada subyek dengan variasi dosis ekstrak manggis. Kelompok K1 sebagai kelompok kontrol diberilakn suspensi CMC 0,2 ml/20 g BB mencit. Kelompok K2 diberi minuman suspensi ekstrak manggis 4,55 mg/20 g BB. Kelompok K3 diberi minuman suspensi ekstrak manggis 9,1 mg/20 BB. Kelompok K4 diberi minuman suspensi ekstrak manggis 13,65 g/20 BB. Kelompok K5 diberi minuman suspensi ekstrak manggis 18,2 mg/20 g BB, pada semua kelompok perlakuan ekstrak manggis dilarutkan dalam suspensi CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) 0,5% dalam 0,2 ml/BB. Hasil penelitian menunjukkan bahwa variabel folikel primer, sekunder dan tersier berdistribusi normal ($p > 0,05$), maka untuk mengetahui perbedaan rerata pada masing masing kelompok dilakukan Uji Anova satu arah. Hasil Uji Anova satu arah menunjukkan masing masing nilai p untuk ketiga folikel ini adalah 0,453, 0,696, dan 0,261 dari nilai p yang ada maka H_0 diterima yang artinya pemberian mangostin per oral pada mencit tidak menghambat pertumbuhan folikel pada ovarium mencit.

Untuk mengetahui ketiga kelompok mana yang berbeda dilanjutkan uji homogenitas data yang pada prinsipnya adalah menguji apakah sebuah kelompok mempunyai varian yang sama diantara anggota kelompok tersebut. Pengujian homogenitas varian dilakukan dengan menggunakan LSD (*Least Significant Difference*). Hasil dari uji LSD adalah terdapat perbedaan yang tidak bermakna ($p > 0,05$) antara kelompok kontrol dan kelompok yang lain.

Buah manggis mengandung unsur unsur yang meliputi flavonoid, tanin dan saponin, ketiga unsur tersebut menimbulkan gangguan pada pertumbuhan folikel. Flavonoid menyerupai estrogen sehingga apabila kadarnya tinggi akan menekan pengeluaran FSH pada tingkat hipofise melalui pembuluh darah arkuatus yang ada pada hipotalamus lebih bersifat antagonis FSH. Saponin menghambat proses pembentukan steroid sementara tanin menghambat enzim aromatase pada sel granulosa sehingga androgen terkonsentrasi tinggi tidak dapat menjadi estrogen. Hasil dari penelitian ini untuk ketiga zat tersebut tidak berpengaruh. Perbandingan dosis yang digunakan mengacu pada penelitian sebelumnya. Pada penelitian sebelumnya perbandingan dosis diberikan injeksi *sub cutan* tetapi pada penelitian ini diberikan per oral tanpa memperbesar dosis. Keadaan tersebut tidak berakibat pada penurunan ketiga folikel dibandingkan kontrol.

6.2. Pengaruh Pemberian Kulit Buah Manggis Folikel de Graaf Ovarium Mencit (*Mus musculus*)

Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok pada jumlah folikel de Graaf digunakan uji *Kruskal-Wallis*. Hasil uji *Kruskal-Wallis* terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Folikel de Graaf yaitu bentuk folikel yang terakhir dan terbesar pada ovarium. Perkembangan folikel de Graaf tidak lagi bergantung pada sekresi FSH hipofise, dan kadar hormon ini mulai menurun. Folikel de Graaf terus menghasilkan estrogennya sendiri dari sel teka dan kadar estrogen terus meningkat. Peningkatan kadar estrogen menyebabkan retensi sejumlah cairan dan natrium di jaringan tubuh. Kondisi ini juga menyebabkan penekanan hormon FSH sementara LH mempengaruhi tahap akhir pematangan folikel (Verralls, 2003). Kebutuhan LH pada akhir pematangan sangat tinggi tetapi karena mulai awal pembentukan folikel kadar LH tidak dihambat oleh inhibin yang dihasilkan oleh flavoniod maka pada akhir pembentukan folikel ini cenderung untuk tidak terbentuk.

Estrogen dan FSH menyebabkan peningkatan produksi cairan folikuler yang terakumulasi dalam ruang antar sel granulosa. Sebaliknya apabila kadar FSH kecil dan androgen menjadi dominan maka proses pembentukan cairan folikuler akan terganggu. LH tidak dijumpai dalam cairan folikel sampai pertengahan siklus haid, jika terjadi peningkatan LH sebelum waktunya dalam sirkulasi dan cairan folikuler aktifitas sel granulosa akan menurun, perubahan degeneratif akan terjadi, dan kadar androgen intra folikuler akan meningkat. Dominasi FSH dan estrogen penting untuk mempertahankan akumulasi sel sel granulosa dan pertumbuhan folikel yang kontinyu.

Aktifitas aromatase granulosa jauh melebihi dari sel teka. Pada pertumbuhan folikel reseptor LH hanya terdapat dalam sel teka dan reseptor FSH terdapat dalam sel granulosa, yang diistilahkan sistim dua sel dua gonadotropin. Peranan dua sel, dua gonadotropin memastikan adanya peranan penting FSH dan

peranan LH yang kurang penting dalam pertumbuhan awal namun pada tahap akhir maturasi dioptimalkan oleh LH.

Sejumlah aromatisasi androgen sebagian menggunakan androgen yang berasal dari kelenjar adrenal. Gangguan pada proses pembentukan steroid pada adrenal juga akan mempengaruhi proses steroidogenesis di folikel.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

1. Tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak kulit buah manggis per oral pada pertumbuhan folikel primer, sekunder dan tersier pada ovarium mencit.
2. Terdapat pengaruh pemberian ekstrak kulit buah manggis per oral pada pertumbuhan folikel de Graaf ovarium mencit.

7.2 Saran

1. Jika melakukan penelitian pada folikel de Graaf ovarium mencit, pemberian ekstrak kulit buah manggis per oral gunakan dosis minimal dengan perbandingan mulai dari 100 mg BB.
2. Perlu kajian lebih lanjut pemberian ekstrak kulit buah manggis per oral pada folikel mencit dengan melihat struktur bagian dalam sel teka dan sel granulosa dengan menggunakan mikroskop elektron.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnan, 1992, Pengaruh Mangostin Terhadap Fungsi Reproduksi Mencit (*Mus musculus*) Swiss Webster Betina, Bandung: ITB Pers.
- Akbar B, 2004, Pengawas Mangostin Terhadap Fertilitas Tikus (*Rattus norvegicus*) "Wistar" Betina, Bandung: ITB Pers.
- Azhari, S. 1995, Hortikultura Aspek Budidaya, Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Bagnara T, 1988, Endokrinologi Umum Edisi Keenam, Surabaya: Airlangga University, Hal; 564-595.
- Cochran W.G, 1991. Teknik Penarikan Sampel, Edisi Ketiga, Terjemahan Rusdiansyah. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Dorland, 2005, Kamus Kedokteran, Edisi ke dua puluh delapan, Jakarta: EGC, Hal 726 – 727.
- Ganong, WF. 2003, Buku Ajar Fisiologi Kedokteran, Edisi 20, Jakarta: EGC, Hal. 417-431.
- Gigih N, 2003, Mengatasi Masalah Kependudukan, Surabaya: Nusantara Pers.
- Greenspan FS and Forsham PH, 1997. Basic and Clinical Endocrinology, 5th ed. Stand Ford Connecticut: Appleton and Large, pp 545-567.
- Guyton dan Hall, 1997, Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Cetakan I, Jakarta: EGC, Hal. 1283-1302.
- Hardjopranjoto, 1995. Ilmu Kemajiran Ternak. Surabaya: Airlangga University Press.
- Heyne K, 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia, Jilid II. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan RI, hlm 840-842.
- Hunter RHF, 1993. Fisiologi dan Teknologi Reproduksi Hewan Betina Domestik. Bandung: ITB Pers.
- Ismudiono, 1999. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Surabaya: FKH Universitas Airlangga.
- Jacob TZ dan Baziad A, 1994. Fisiologi dan Kontrasepsi. Jakarta: Kelompok Studi Endokrinologi Reproduksi Indonesia.
- Jacob TZ dan Baziad, A. 1994, Endokrinologi Reproduksi Fisiologi dan Kontrasepsi, Jakarta: Penerbit FKUI, Hal; 11-56.

- Johnson M 1995. Essential Reproduction, 4th Edition. London: Department of Anatomy and Department of Experimental of Psychology University of Cambridge.
- Kusumawati D, 2004, Bersahabat dengan Hewan Coba, Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, hal. 8-68; 73.
- Limbong T, 2004, Pengawas Ekstrak Etanol Kulit Batang Pakettu (*Ficus superba miq*) Terhadap Folikulogenesis Ovarium Mencit (*Mus musculus*), Tesis, Surabaya: Universitas Airlangga Surabaya.
- Marge K, Judith T and Gay, 1997. Kesehatan Wanita. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Meles DK, 1991. Efek Anti Fertilitas Daun Manggis Pada *Mus musculus* Betina. Surabaya: Lembaga Penelitian Universitas Airlangga, hlm 53-56.
- Mursito B, 2001. Ramuan Tradisional untuk Kesehatan Anak. Jakarta: Penerbit Swadaya.
- Nita Sri, 2004, Pengaruh Mangostin Terhadap Kualitas Sperma Epidimis Kaudal Tikus "Wistar" Jantan, Tesis, Bandung: ITB.
- Nor, A. 1996, Pemeriksaan Fitokimia Daun Manggis (*Garcinia mangostanae L. clusiaceae*), Bandung: ITB Pers.
- Partodihardjo S, 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. Jakarta: Penerbit Mutiara, hlm 43-52; 105-108; 173-181.
- Prawirohardjo S, 1991, Ilmu Kebidanan, Cetakan Kelima, Jakarta: Yayasan Bina Pustaka Sarwono, Hal; 64-85.
- Purnomo SM, 2002. Pengembangan Obat Tradisional dalam Dunia Pengobatan. Surabaya: Kanwil Depkes Propinsi Jawa Timur.
- Putra B.S. 1991. Induksi Ovulasi dalam Seminar Infertilitas VI. Surabaya: Lab/UPF Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Robinson T, 1991, Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi, Bandung: ITB Pers.
- Sarwono, 1994. Ilmu Kandungan. Jakarta: Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawiroharjo, hlm 544-545; 634-643.
- Sastrawinata S, 1994, Obstetri dan Ginekologi FK UNPAD, Bandung: Penerbit Akman, Hal 73-96.
- Shimahi S and Ericson GF, 2001. The Physiologi of Foliculo Genesis. The Role of Novel Growth Factors Fertility and Sterility Vol. 76 No. 5 pp 943-946.

- Speroff L, MD and Phillip D, 1996. A Clinical Guide for Contraception, 2nd edition. San Francisco : University of California, pp 35-37.
- Speroff L, Robert H, and Nathan GK, 2005. Clinical Gynecology Endocrinology and Infertility, 5th edition. Baltimore London : William and Williams Co, pp 76-85.
- Sugiyono, 2007, Statistik Nonparametrik untuk Penelitian, Bandung: Penerbit CV Alfabeta, hal. 60-63, 93-97.
- Sulaiman W, 2005, Statistik Nonparametrik, Contoh Kasus dan Pemecahannya dengan SPSS, Yogyakarta: Penerbit Andi, hal. 29-37, 55-62.
- Tambajong J, 1990, Buku Ajar Histologi, Jakarta: EGC, Hal; 480-509.
- Tjiptoherijanto P, 1998. Mengendalikan Jumlah Penduduk dan Kemiskinan. Surabaya Post 28 Juli.
- Verralls S, 2003, Anatomi Dan Fisiologi Terapan Dalam Kebidanan, Edisi 3. Jakarta, EGC, Hal; 161-173.
- White Head SA, 2003, Phytoestrogen inhibit aromatase but not 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase (HSD) type 1 in human granulosa-luteal cells: evidence for FSH induction of 17 β -HSD, London: Department of Physiology, St. George's Hospital Medical School.
- Zainudin, 2000, Metodologi Penelitian, Surabaya: Universitas Airlangga Surabaya, PP 38-57.

Lampiran 1.

Perhitungan dosis ekstrak kulit buah manggis pada hewan coba menggunakan tabel Konversi Ghosh (1971) sebagai berikut :

Tabel 1. Konversi perhitungan dosis untuk berbagai jenis hewan dan manusia
(Kusumawati, 2004)

	Mencit 20 gr	Tikus 200 gr	Marmut 400 gr	Kelinci 1,5 kg	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 gr	1,0	7,0	12,25	27,80	29,70	64,10	124,20	387,90
Tikus 200 gr	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Marmut 400 gr	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing 2 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

Perhitungan dosis ekstrak kulit buah manggis :

Berat badan standart seperti tabel (Ghosh, 1971) : 70 kg

Faktor konversi sesuai tabel : 0,0026

Lampiran 2.

Berdasarkan penelitian terdahulu diketahui dosis manusia dengan perbandingan 25 mg, 50 mg, 75 mg dan 100 mg menjadi patokan untuk pembuatan dosis pada perlakuan.

Perlakuan 1 (Kelompok K2)

Diketahui : – 25 mg/kg BB manusia
 – 1750 mg/70 kg BB manusia

maka dosis yang diperlukan :

$$1750 \text{ mg} \times 0,0026 = 4,55 \text{ mg/20 gr BB mencit per } 0,2 \text{ ml}$$

Perlakuan 2 (Kelompok K3)

Diketahui : – 50 mg/kg BB manusia
 – 3500 mg/70 kg BB manusia

maka dosis yang diperlukan :

$$3500 \text{ mg} \times 0,0026 = 9,10 \text{ mg/20 gr BB mencit per } 0,2 \text{ ml}$$

Perlakuan 3 (Kelompok K4)

Diketahui : – 75 mg/kg BB manusia
 – 5250 mg/70 kg BB manusia

maka dosis yang diperlukan :

$$5250 \text{ mg} \times 0,0026 = 13,65 \text{ mg/20 gr BB mencit per } 0,2 \text{ ml}$$

Perlakuan 4 (Kelompok K5)

Diketahui : – 100 mg/kg BB manusia

– 7000 mg/70 kg BB manusia

maka dosis yang diperlukan :

$$7000 \text{ mg} \times 0,0026 = 18,20 \text{ mg/20 gr BB mencit per } 0,2 \text{ ml}$$

Untuk pembuatan dosis secara keseluruhan :

$$K2 = 25 \text{ mg} \rightarrow 1750 \times 0,0026 \times 12 \times 40 = 2,184 \text{ gr}$$

$$K2 = 50 \text{ mg} \rightarrow 3500 \times 0,0026 \times 12 \times 40 = 5,460 \text{ gr}$$

$$K2 = 75 \text{ mg} \rightarrow 5250 \times 0,0026 \times 12 \times 40 = 8,190 \text{ gr}$$

$$K2 = 100 \text{ mg} \rightarrow 7000 \times 0,0026 \times 12 \times 40 = 10,920 \text{ gr}$$

$$\begin{array}{r} 10,920 \text{ gr} \\ \hline + \\ 26,754 \text{ gr} \end{array}$$

Dari 10 kg buah manggis menyisakan \pm 4 kg kulit basah setelah dikeringanginkan menjadi 1 kg selanjutnya dijadikan ekstrak kental menjadi \pm 200 gr.

Lampiran 3.

Pembuatan Larutan Perlakuan

Pada pembuatan larutan ini perlu diketahui bahwa kemampuan minum mencit pada semua kondisi/keadaan adalah 0,2 ml/20 mg BB mencit. Jadi volume larutan yang diperlukan untuk masing-masing perlakuan adalah :

$$0,2 \times 12 \text{ hari} \times 40 \text{ mencit} = 96 \text{ ml dibulatkan menjadi } 120 \text{ cc}$$

Dari 120 cc volume yang ada dicampur dengan larutan CMC 0,5%. Jadi masing-masing perlakuan membutuhkan 0,6 gr CMC (Carboxyl Methyl Celulose).

Lampiran 4.

Pembuatan Sediaan Ovarium

Sepasang ovarium mencit diambil setelah perlakuan terhadap hewan coba berakhir. Mencit dibius, kemudian dilakukan pembedahan pada bagian abdominal dan diambil kedua organ ovariumnya. Lemak dan jaringan ikat yang menempel pada ovarium dibersihkan terlebih dahulu dan selanjutnya pembuatan sediaan ovarium dengan metode parafin dapat dilakukan dengan tahapan sebagai berikut :

1. Fiksasi

Organ ovarium difiksasi dengan memasukkan ke dalam larutan buffer formalin. Setelah beberapa menit, ovarium diambil dan diiris menjadi 2 bagian secara horisontal, kemudian dimasukkan kembali ke dalam larutan buffer formalin untuk difiksasi minimal 24 jam hingga selanjutnya.

2. *Washing* / Pencucian

Dua potongan organ ovarium kiri dan kanan diambil dan larutan buffer formalin dan dicuci dengan cara diletakkan ke dalam wadah yang berisi air, kemudian digelontorkan di bawah air mengalir selama satu malam.

3. *Dehydration* / Dehidrasi

Organ ovarium berturut-turut dimasukkan ke dalam larutan alkohol 70% (4 x 30 menit), alkohol 80% (2 x 30 menit), alkohol 96% (30 menit) dan alkohol absolut (30 menit).

4. *Clearing* / Penjernihan

Organ ovarium berturut-turut dimasukkan ke dalam larutan xylol bekas (15 menit) dan xylol murni (satu malam).

5. Infiltrasi

Organ ovarium berturut-turut dimasukkan ke dalam larutan xylol parafin 1:1 (30 menit), parafin murni I, II dan III masing-masing selama 60 menit.

6. *Embedding* / Penanaman

Dari parafin III, dibuat blok-blok parafin dengan cara memasukkan parafin cair III ke dalam kotak-kotak kecil, kemudian organ ovarium dimasukkan dan diatur letaknya di dalam kotak tersebut, dibiarkan hingga dingin dan mengeras.

7. *Sectioning* / Penyayatan

Organ ovarium dalam blok parafin disayat dengan ketebalan 5 pm menggunakan mikrotom hingga membentuk pita. Pita yang terbentuk disusun pada obyek glass yang sebelumnya diolesi dengan Meyer's albumin, kemudian dilewatkan di atas nyala api bunsen supaya pita melekat dan parafin mencair. Setelah itu dimasukkan ke dalam oven bersuhu 40-50°C overnight.

8. *Staining* / Pewarnaan

Setelah dioven, preparat ovarium dimasukkan berturut-turut ke dalam larutan xylol (2 x 10 menit), alkohol absolut, alkohol 96%, alkohol 80% dan alkohol 70% masing-masing selama 5 menit, larutan Haematoxylin (10 menit), lalu digelontorkan di bawah air mengalir (5 menit), kemudian dimasukkan berturut-turut ke dalam akuades (5 menit), alkohol 70% + H₂O (30 detik), eosin, alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 96%, alkohol absolut dan xylol alkohol absolut (1:1) masing-masing selama 5 menit dan terakhir dimasukkan ke dalam xylol murni (2 x 10 menit).

9. *Mounting* / Penutupan

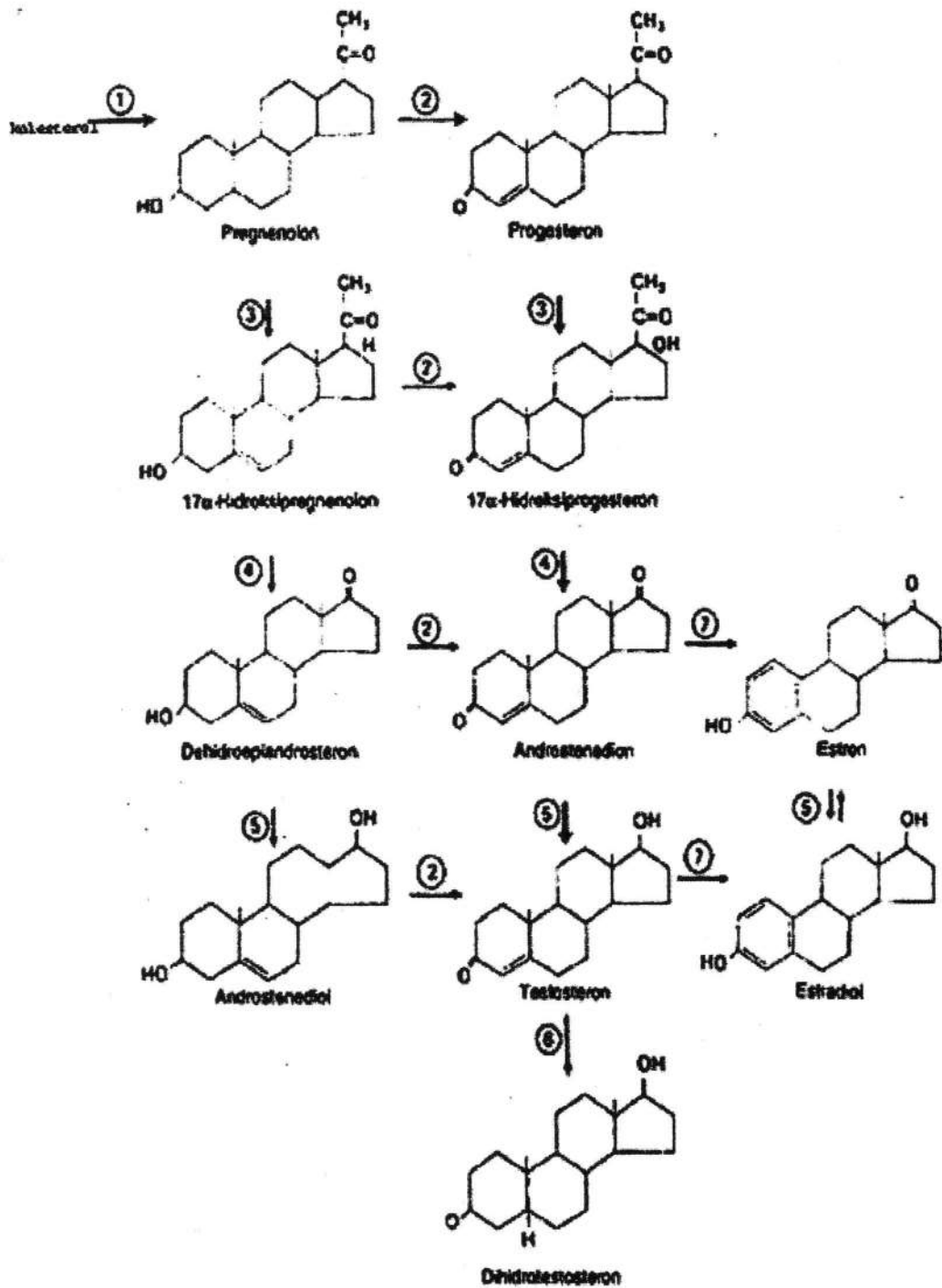
Setelah proses pewarnaan selesai, preparat pada obyek glass diberi entellan (perekat transparan) kemudian ditutup dengan cover glass.

10. *Labelling*

Proses pembuatan sediaan ovarium diakhiri dengan memberi label pada preparat yang mencantumkan nomor preparat.

Lampiran 5.

Proses Steroidogenesis



Lampiran 6.
Rekapitulasi Data Hasil Penelitian

Subyek	K1			K2			K3			K4			K5							
	P	S	T	D	P	S	T	D	P	S	T	D	P	S	T	D				
1	5	2	4	2	5	8	5	2	17	12	7	1	16	5	4	1	13	5	2	0
	5	2	5	2	7	9	1	1	12	14	7	1	16	7	6	1	13	4	1	0
	5	2	4	2	4	8	6	1	14	11	6	1	15	5	3	1	12	3	2	0
Rata-rata	5	2	4,333	2	5,333	8,333	4	1,333	14,333	12,333	6,667	1	15,67	5,667	4,333	1	12,67	4	1,667	0
2	14	4	2	1	14	6	3	1	7	3	4	1	3	4	3	1	13	2	1	0
	13	4	2	1	16	6	3	1	7	2	6	1	4	3	3	1	13	2	1	0
	13	6	2	1	15	6	4	1	5	2	6	1	3	3	3	1	8	1	0	0
Rata-rata	13,33	4,667	2	1	15	6	3,333	1	6,333	2,333	5,333	1	3,333	3,333	3	1	11,33	1,667	0,667	0
3	3	5	3	1	10	4	2	1	7	5	1	0	3	5	1	0	15	3	0	0
	6	4	4	1	11	3	2	1	5	7	1	0	4	3	1	0	15	3	0	0
	3	4	5	1	8	3	1	1	13	6	1	0	4	3	1	0	15	3	0	0
Rata-rata	4	4,333	4	1	9,667	3,333	1,667	1	8,333	6	1	0	3,667	3,667	1	0	15	3	0	0
4	10	6	1	1	10	4	2	1	10	8	2	0	15	8	3	1	15	3	2	0
	12	5	2	1	11	3	2	1	9	5	2	0	14	7	2	1	12	3	1	0
	15	5	1	1	8	3	1	1	6	5	7	0	12	6	4	1	12	3	2	0
Rata-rata	12,33	5,333	1,333	1	9,667	3,333	1,667	1	8,333	6	3,667	0	13,67	7	3	1	13	3	1,667	0
5	10	6	1	1	5	3	2	1	13	6	2	1	9	9	2	0	9	6	3	1
	12	5	2	1	5	3	3	1	14	4	3	1	10	5	3	0	11	5	5	1
	15	5	1	1	4	3	2	1	12	3	2	1	11	6	3	0	9	6	3	1
Rata-rata	12,33	5,333	1,333	1	4,667	3	2,333	1	13	4,333	2,333	1	10	6,667	2,667	0	9,667	5,667	3,667	1
6	19	5	2	1	2	4	1	1	9	6	1	0	9	3	1	0	12	3	1	0
	16	5	2	1	2	5	1	1	8	4	1	0	8	9	1	0	13	4	1	0
	13	8	1	1	2	4	1	1	7	3	1	0	10	9	1	0	12	3	1	1
Rata-rata	16	6	1,667	1	2	4,333	1	1	8	4,333	1	0	9	7	1	0	12,33	3,333	1	0,333

Lampiran 7.
Observasi Berat Badan Hewan Coba

Perlakuan	Kegiatan Hari	Aklimatisasi						Waktu Perlakuan			Keterangan
		1	3	6	1	6	12				
K1	1	34,5	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	24,2	Kelompok Kontrol	
	2	32,5	31,3	31,3	31,3	31,3	31,2	31,5			
	3	30,0	29,0	29,0	29,0	29,0	29,8	30,0			
	4	28,5	28,3	28,3	28,3	28,3	28,2	28,3			
	5	32,5	32,3	33,1	33,1	33,0	33,1	33,5			
	6	31,9	32,0	32,5	32,5	32,5	32,7	33,0			
K2	1	26,0	26,0	26,0	26,0	26,0	26,3	26,7	Dosis 4,55 mg		
	2	30,7	30,5	30,5	30,5	30,5	30,6	30,8			
	3	32,0	32,1	32,1	32,1	32,0	32,3	32,5			
	4	29,6	29,5	29,5	29,5	29,5	29,0	29,3			
	5	31,4	31,2	31,1	31,1	31,0	31,2	31,7			
	6	27,7	27,5	27,3	27,3	27,3	27,2	27,3			
K3	1	28,6	28,3	28,1	28,1	28,0	28,1	28,3	Dosis 9,1 mg		
	2	25,5	25,6	25,3	25,3	25,3	25,0	25,2			
	3	33,7	33,2	33,1	33,1	33,1	33,3	33,7			
	4	28,7	28,3	28,2	28,2	28,2	28,2	28,8			
	5	25,8	25,1	25,1	25,1	25,1	25,1	25,5			
	6	30,8	30,5	30,5	30,5	30,5	30,3	30,7			
K4	1	30,1	30,3	30,3	30,3	30,2	30,1	30,3	Dosis 13,65 mg		
	2	32,2	32,2	32,2	32,2	33,1	33,3	33,8			
	3	27,2	27,2	27,2	27,2	27,2	27,3	27,5			
	4	29,3	29,3	29,3	29,3	29,3	29,4	29,8			
	5	30,9	30,8	30,8	30,8	30,8	30,7	30,9			
	6	28,2	28,1	28,0	28,0	28,0	28,1	28,3			
K5	1	33,1	33,1	33,0	33,0	33,2	33,3	33,7	Dosis 18,20 mg		
	2	32,2	32,1	32,0	32,0	32,1	32,4	32,7			
	3	28,7	28,5	28,6	28,6	28,5	28,3	28,4			
	4	29,3	29,2	29,3	29,3	29,3	29,6	29,8			
	5	27,2	27,1	27,4	27,4	27,4	27,5	27,8			
	6	28,1	28,2	28,0	28,0	28,0	28,1	28,4			

Lampiran 8.
Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Primer	Sekunder	Tersier	de Graaf
N		30	30	30	30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	9,9000	4,8444	2,4111	,6889
	Std. Deviation	4,1042	2,1580	1,5529	,5462
Most Extreme Differences	Absolute	,157	,129	,184	,349
	Positive	,100	,129	,184	,230
	Negative	-,157	-,096	-,115	-,349
Kolmogorov-Smirnov Z		,858	,709	1,009	1,911
Asymp. Sig. (2-tailed)		,453	,696	,261	,001

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Lampiran 9.
Uji Homogenitas Levene-Statistic

Test of Homogeneity of Variance

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Primer	Based on Mean	2,107	4	25	,110
	Based on Median	1,142	4	25	,360
	Based on Median and with adjusted df	1,142	4	18,645	,367
	Based on trimmed mean	2,067	4	25	,115
Sekunder	Based on Mean	,937	4	25	,459
	Based on Median	,712	4	25	,591
	Based on Median and with adjusted df	,712	4	14,204	,597
	Based on trimmed mean	,918	4	25	,469
Tersier	Based on Mean	1,842	4	25	,152
	Based on Median	1,314	4	25	,292
	Based on Median and with adjusted df	1,314	4	22,304	,295
	Based on trimmed mean	1,817	4	25	,157
de Graaf	Based on Mean	6,324	4	25	,001
	Based on Median	3,511	4	25	,021
	Based on Median and with adjusted df	3,511	4	11,084	,044
	Based on trimmed mean	5,633	4	25	,002

Lampiran 10. Oneway Anova

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Primer	K1	6	10,5000	4,8477	1,9791	5,4127	15,5873	4,00	16,00
	K2	6	7,7222	4,6543	1,9001	2,8378	12,6067	2,00	15,00
	K3	6	9,7222	3,1722	1,2951	6,3932	13,0513	6,33	14,33
	K4	6	9,2222	5,0494	2,0614	3,9232	14,5212	3,33	15,67
	K5	6	12,3333	1,7764	,7252	10,4691	14,1975	9,67	15,00
	Total	30	9,9000	4,1042	,7493	8,3675	11,4325	2,00	16,00
Sekunder	K1	6	4,6111	1,4050	,5736	3,1366	6,0856	2,00	6,00
	K2	6	4,7222	2,0808	,8495	2,5386	6,9059	3,00	8,33
	K3	6	5,8889	3,4362	1,4028	2,2828	9,4950	2,33	12,33
	K4	6	5,5556	1,6689	,6813	3,8042	7,3069	3,33	7,00
	K5	6	3,4444	1,3278	,5421	2,0510	4,8378	1,67	5,67
	Total	30	4,8444	2,1580	,3940	4,0386	5,6503	1,67	12,33
Tersier	K1	6	2,4444	1,3608	,5556	1,0163	3,8725	1,33	4,33
	K2	6	2,3333	1,1353	,4635	1,1419	3,5247	1,00	4,00
	K3	6	3,3333	2,3286	,9506	,8897	5,7770	1,00	6,67
	K4	6	2,5000	1,2953	,5288	1,1407	3,8593	1,00	4,33
	K5	6	1,4444	1,2590	,5140	,1232	2,7657	,00	3,67
	Total	30	2,4111	1,5529	,2835	1,8313	2,9910	,00	6,67
de Graaf	K1	6	1,1667	,4082	,1667	,7382	1,5951	1,00	2,00
	K2	6	1,0556	,1361	,0556	,9127	1,1984	1,00	1,33
	K3	6	,5000	,5477	,2236	-,0748	1,0748	,00	1,00
	K4	6	,5000	,5477	,2236	-,0748	1,0748	,00	1,00
	K5	6	,2222	,4037	,1648	-,2014	,6459	,00	1,00
	Total	30	,6889	,5462	,0997	,4849	,8928	,00	2,00

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Primer	Between Groups	69,089	4	17,272	1,030	,411
	Within Groups	419,389	25	16,776		
	Total	488,478	29			
Sekunder	Between Groups	21,756	4	5,439	1,200	,335
	Within Groups	113,296	25	4,532		
	Total	135,052	29			
Tersier	Between Groups	10,800	4	2,700	1,142	,360
	Within Groups	59,130	25	2,365		
	Total	69,930	29			

Lampiran 11.
Kruskal-Wallis Test

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
de Graaf	30	,6889	,5462	,00	2,00
Perlakuan	30	3,00	1,44	1	5

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank
de Graaf	K1	6	21,67
	K2	6	21,50
	K3	6	12,75
	K4	6	12,75
	K5	6	8,83
	Total	30	

Test Statistics^{a,b}

	de Graaf
Chi-Square	13,230
df	4
Asymp. Sig.	,010

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Perlakuan

Lampiran 12.**Mann-Whitney Test K1 & K2****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
de Graaf	K1	6	6,58	39,50
	K2	6	6,42	38,50
	Total	12		

Test Statistics^b

	de Graaf
Mann-Whitney U	17,500
Wilcoxon W	38,500
Z	-,123
Asymp. Sig. (2-tailed)	,902
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,937 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

Mann-Whitney Test K1 & K3**Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
de Graaf	K1	6	8,25	49,50
	K3	6	4,75	28,50
	Total	12		

Test Statistics^b

	de Graaf
Mann-Whitney U	7,500
Wilcoxon W	28,500
Z	-2,021
Asymp. Sig. (2-tailed)	,043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,093 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

Mann-Whitney Test K1 & K4**Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
de Graaf	K1	6	8,25	49,50
	K4	6	4,75	28,50
	Total	12		

Test Statistics^b

	de Graaf
Mann-Whitney U	7,500
Wilcoxon W	28,500
Z	-2,021
Asymp. Sig. (2-tailed)	,043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,093 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

Mann-Whitney Test K1 & K5**Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
de Graaf	K1	6	9,08	54,50
	K5	6	3,92	23,50
	Total	12		

Test Statistics^b

	de Graaf
Mann-Whitney U	2,500
Wilcoxon W	23,500
Z	-2,704
Asymp. Sig. (2-tailed)	,007
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,009 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

Mann-Whitney Test K2 & K3**Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
de Graaf	K2	6	8,25	49,50
	K3	6	4,75	28,50
	Total	12		

Test Statistics^b

	de Graaf
Mann-Whitney U	7,500
Wilcoxon W	28,500
Z	-2,021
Asymp. Sig. (2-tailed)	,043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,093 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

Mann-Whitney Test K2 & K4**Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
de Graaf	K2	6	8,25	49,50
	K4	6	4,75	28,50
	Total	12		

Test Statistics^b

	de Graaf
Mann-Whitney U	7,500
Wilcoxon W	28,500
Z	-2,021
Asymp. Sig. (2-tailed)	,043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,093 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

Mann-Whitney Test K2 & K5**Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
de Graaf	K2	6	9,08	54,50
	K5	6	3,92	23,50
	Total	12		

Test Statistics^b

	de Graaf
Mann-Whitney U	2,500
Wilcoxon W	23,500
Z	-2,704
Asymp. Sig. (2-tailed)	,007
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,009 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

Mann-Whitney Test K3 & K4**Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
de Graaf	K3	6	6,50	39,00
	K4	6	6,50	39,00
	Total	12		

Test Statistics^b

	de Graaf
Mann-Whitney U	18,000
Wilcoxon W	39,000
Z	,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

Mann-Whitney Test K3 & K5**Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
de Graaf	K3	6	7,25	43,50
	K5	6	5,75	34,50
	Total	12		

Test Statistics^b

	de Graaf
Mann-Whitney U	13,500
Wilcoxon W	34,500
Z	-,822
Asymp. Sig. (2-tailed)	,411
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,485 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

Mann-Whitney Test K4 & K5**Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
de Graaf	K4	6	7,25	43,50
	K5	6	5,75	34,50
	Total	12		

Test Statistics^b

	de Graaf
Mann-Whitney U	13,500
Wilcoxon W	34,500
Z	-,822
Asymp. Sig. (2-tailed)	,411
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,485 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan