

SKRIPSI

PEMERIKSAAN KADAR HORMON ESTRADIOL 17β 45 - 65 HARI SETELAH KAWIN PADA URINE KUDA SEBAGAI DIAGNOSA KEBUNTINGAN



OLEH :

IIN YOSEPHIN

NGANJUK - JAWA TIMUR

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

**PEMERIKSAAN KADAR HORMON ESTRADIOL 17β 45-65
HARI SETELAH KAWIN PADA URINE KUDA SEBAGAI
DIAGNOSA KEBUNTINGAN**

Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat
Untuk memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Hewan

Pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga Surabaya

Oleh

IIN YOSEPHIN
NIM. 069211896

Menyetujui,

Komisi Pembimbing



(Dr. I Komang W.S., Drh.)
Pembimbing Pertama



(Endang Suprihati, MS.Drh.)
Pembimbing kedua

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

Menyetujui,
Panitia Penguji,


Poedji Srianto, M.Kes., Drh.
Ketua


Handajani Tjitro, M.S., Drh.
Sekretaris


Suzanita Utama, M.Phil., Drh.
Anggota

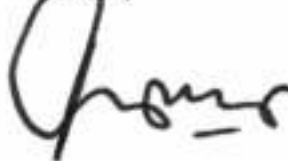

Dr. I Komang Wiarsa S, Drh.
Anggota


Endang Suprihati, M.S., Drh.
Anggota

Surabaya, 24 Pebruari 1999
Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga



Dekan,



Dr. Ismudiono, M.S., Drh.
NIP: 130 687 297

**PEMERIKSAAN KADAR HORMON ESTRADIOL 17 β 45-65 HARI
SETELAH KAWIN PADA URINE KUDA SEBAGAI
DIAGNOSA KEBUNTINGAN**

IIN YOSEPHIN

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil estradiol 17 β dalam urine untuk membedakan kuda yang bunting dan tidak bunting setelah 45 sampai 65 hari dikawinkan.

Dua ratus mikroliter HCl ditambah satu cc urine dipanaskan dengan suhu 100°C selama 15 menit. Didinginkan pada suhu kamar 32°C, lalu larutan urine sebanyak 250 μ l ditambah BO estradiol 17 β 250 μ l kemudian dikocok dengan Vortexer selama 1 menit. Dilakukan assay kadar hormon estradiol 17 β . Kadar hormon estradiol 17 β pada urine di analisa dengan RIA fase padat yang menggunakan ¹²⁵I estradiol 17 β sebagai antigen berlabel.

Variabel yang diamati berupa kadar estradiol 17 β (pg/ml) pada tiap-tiap hasil diagnosa. Hasil penelitian dianalisa dengan uji t secara tidak berpasangan, yaitu kuda yang bunting dengan kadar antara 5.500 pg/ml sampai 11.600 pg/ml, sedang pada kuda yang tidak bunting antara 536 pg/ml sampai 3.200 pg/ml. Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan secara nyata ($p < 0,05$) kadar hormon antara kuda yang bunting dan tidak. Untuk mendukung kebenaran diagnosa kebuntingan dalam penelitian ini juga dilakukan pemeriksaan rektal.

Hasil penelitian menunjukkan profil estradiol 17 β dapat digunakan untuk diagnosa kebuntingan kuda.

KATA PENGANTAR

Tujuan Pembangunan Nasional adalah untuk meningkatkan taraf hidup, kecerdasan dan kesejahteraan rakyat secara merata dan menyeluruh. Untuk mencapai tujuan tersebut maka perlu ditingkatkan pada sub sektor peternakan, meningkatkan pendapatan petani peternak, menciptakan lapangan kerja dan meningkatkan gizi masyarakat melalui produksi hasil ternak. Penurunan daya reproduksi merupakan salah satu kendala produksi dan pembangunan peternakan. Dan hormon memegang peranan yang penting dalam menyelamatkan keturunan suatu individu yang dikenal dengan sistem hormon reproduksi.

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmad, hidayah dan karunia-Nya yang tiada terkira sehingga penulis mampu menyelesaikan penyusunan makalah dengan judul **"PEMERIKSAAN KADAR HORMON ESTRADIOL 17 α 45-65 HARI SETELAH KAWIN PADA URINE KUDA SEBAGAI DIAGNOSA KEBUNTINGAN"**.

Kepada Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, penulis menyampaikan terima kasih atas bantuan moral dan kesempatan yang telah diberikan, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi ini.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih yang tak terhingga kepada Bapak Dr. I Komang W.S, Drh, selaku pembimbing pertama dan Ibu Endang Suprihati, M.S. Drh, selaku pembimbing kedua atas segala saran petunjuk dan bimbingan dalam penyusunan makalah ini.

Penulis juga mengucapkan rasa terima kasih kepada Bapak Laba Mahaputra, dan seluruh staf laboratorium Kebidanan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya yang telah banyak membantu kelancaran penyelesaian makalah ini dan tak lupa rasa terima kasih untuk rekan Kusuma, Iis, Anna, Titis, Rudi, Budi, Dwi, Hendro, Pariyadi, Subai, Ghoni, dan rekan-rekan semua yang telah memberi bantuan dan dukungan selama penelitian.

Kepada Ibu, bapak dan adikku tercinta yang tulus ikhlas dan penuh kasih memberikan dorongan semangat, do'a dan segala pengorbanan, penulis mempersembahkan ucapan terima kasih yang tak terhingga.

Akhirnya penulis menyadari bahwa penulisan bahan seminar ini masih jauh dari sempurna, namun semoga karya tulis ini mendapat Ridhlo Allah SWT. dan bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Surabaya , September 1998

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Permasalahan	1
1.2. Rumusan Masalah	2
1.3. Tujuan Penelitian	2
1.4. Hipotesis Penelitian.....	3
1.5. Manfaat Penelitian	3
BAB II. TINJAUAN PUSTKA	4
2.1. Siklus Produksi Kuda Betina	4
2.2. Estradiol 17 β	5
2.3. Urine.....	8
2.4. Peranan Hormon dalam Siklus Birahi	9
2.5. Radiimmunoassay.....	11
BAB III. MATERI DAN METODE.....	12
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian.....	12

3.2. Materi Penelitian	12
3.3. Metode Penelitian	12
3.4. Analisa Data.....	15
BAB IV. HASIL PENELITIAN	16
4.1. Tabel Hasil Analisa	16
BAB V. PEMBAHASAN	19
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	24
6.1. Kesimpulan	24
6.2. Saran	24
RINGKASAN	25
DAFTAR PUSTAKA.....	27
LAMPIRAN	30

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Kadar Estradiol 17β pada kuda bunting dengan umur kebuntingan 45-65 hari	16
2. Kadar Estradiol 17β pada kuda tidak bunting	17
3. Rataan dan simpangan baku kadar estradiol 17β (pg/ml) kuda bunting dan tidak bunting	18

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor

Halaman

1. Hasil Penelitian Kadar Estradiol 17β dalam urine..... 30

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Permasalahan

Perkembangan populasi kuda di Indonesia belum mencapai keadaan yang menggembirakan bahkan penelitian terhadap daya reproduktivitas serta hormon yang terkait, sangat jarang dilakukan.

Dengan perbaikan manajemen, reproduksi diharapkan dapat menghasilkan keturunan, karena mengawinkan kuda sampai berhasil bunting dan melahirkan termasuk sukar dan mahal. Hal ini disebabkan oleh adanya beberapa kendala, yaitu waktu birahi yang panjang, kuda lebih sering mengalami keguguran dibanding dengan ternak lainnya. Pengamatan birahi untuk diagnosa kebuntingan dini tidak dapat didiagnosa lebih teliti hanya dengan melihat kembali birahi setelah di inseminasi atau dikawinkan, karena 15% kuda masih menunjukkan gejala birahi saat bunting. Untuk mengetahui terjadi kebuntingan atau tidak pada kuda, 60 hari setelah kawin sebaiknya dilakukan pemeriksaan kebuntingan (Mahaputra, 1994).

Diagnosa kebuntingan pada kuda dilakukan dengan pemeriksaan estrogen dalam urine, air susu, darah dan feses yang merupakan hasil metabolisme dalam tubuh (Anonimous, 1992).

Peternak sering menandai kebuntingan dengan tidak terjadinya birahi lagi. Cara ini sangat tidak sempurna, karena kemungkinan lain selain bunting sangat banyak misalnya corpus luteum persisten, atau gangguan hormonal lainnya,

hingga siklus birahi hewan terganggu (Partodiharjo, 1987). Selain itu palpasi rektal juga biasa dilakukan, tapi mengingat kuda mempunyai rektum lebih tipis, tegang dan bahaya tendangannya, maka palpasi rektal pada kuda kurang aman dibanding pada hewan sapi dan kerbau yang mempunyai rektum yang agak tebal dan juga adanya resiko perdarahan dan robek (ruptur) pada rektum kuda bagi yang kurang ahli dalam melakukan rektal (Mahaputra, 1990). Pada manusia pengukuran kadar estradiol 17 β dalam urine atau lebih dikenal dengan menggunakan RIA (Radioimmunoassay) memberikan hasil yang akurat (positif). RIA mempunyai kemampuan untuk mendeteksi suatu bahan sampai dengan konsentrasi yang sangat rendah, dapat digunakan untuk deteksi kebuntingan dini pada sejumlah species hewan (Crighton, 1984). Oleh karena itu melalui penelitian ini ingin diketahui apakah pemeriksaan RIA pada kuda bisa dilakukan untuk diagnosa kebuntingan.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasar latar belakang diatas, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah pemeriksaan kadar estradiol 17 β pada 45-65 hr setelah kawin dalam urine dapat digunakan sebagai alat diagnosa kebuntingan pada kuda ?

1.3. Tujuan Penelitian

untuk mengetahui kadar hormon estradiol 17 β pada 45-65 hari setelah kawin dalam urine sebagai diagnosa kebuntingan pada kuda.

1.4. Hipotesis Penelitian

Estradiol 17 β bisa digunakan sebagai diagnosa kebuntingan kuda.

1.5. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan bisa menjadi masukan bagi dokter hewan dalam rangka diagnosa kebuntingan pada kuda.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Siklus Reproduksi Kuda Betina

Siklus reproduksi hewan betina merupakan rangkaian kejadian biologik kelamin yang berlangsung secara sambung menyambung sehingga terlahir generasi baru dari suatu makhluk hidup (Partodihardjo, 1982) apabila siklus reproduksi terputus maka kehadiran makhluk tersebut di dunia terancam punah.

Masa pubertas atau dewasa kelamin ditandai oleh kemampuan untuk pertama kalinya organ reproduksi mulai berfungsi. Untuk hewan betina ditandai dengan timbulnya birahi yang pertama dan produksi sel telur, sedangkan pada jantan, timbulnya masa remaja ditandai dengan proses spermatogenesis sempurna yang pertama dan kemampuan untuk mengawini betina. Umur pubertas kuda antara 10 dan 24 bulan dengan rata-rata 18 bulan, lama masa kebuntingan 350 hari (Partodiharodjo, 1982). Lama siklus birahi 21-22 hari, lama fase luteal 14-15 hari (Hunter, 1981). Lama birahi 4,5-7,5 hari (Toelihere, 1981).

Kuda termasuk golongan polyestrus bermusim, yaitu golongan hewan yang menunjukkan gejala birahi beberapa kali dalam satu musim kelamin. Di belahan bumi sebelah utara, bulan-bulan Juni dan Juli merupakan satu musim kelamin bagi kuda.

Berdasarkan gejala yang terlihat dari luar tubuh, satu siklus birahi terbagi menjadi empat fase, yaitu : proestrus, estrus, metestrus dan diestrus (Partodihardjo, 1982). Bila ditinjau dari aktivitas ovarium, maka dalam satu siklus

birahi dapat dibagi 2 fase, yaitu fase folikel dan fase luteal (Hardjopranto, 1982). Fase proestrus dan estrus menjadi fase folikel, karena dalam fase inilah folikel tumbuh secara cepat, sedang fase metestrus dan diestrus disebut fase luteum, karena dalam fase ini korpus luteum tumbuh dan berfungsi. Fase folikel pada umumnya berlangsung jauh lebih singkat daripada fase luteum.

2.2. Estradiol 17 β

Estron, estradiol 17 β dan estriol adalah hormon-hormon estrogen alamiah yang diproduksi oleh ovarium atau plasenta hewan mamalia. Di samping ovarium mamalia, kortek adrenal, testis dan plasenta adalah sumber-sumber alamiah, untuk estrogen utama yang dihasilkan oleh ovarium sapi, babi, kuda dan anjing adalah estradiol 17 β (Frandsen, 1992).

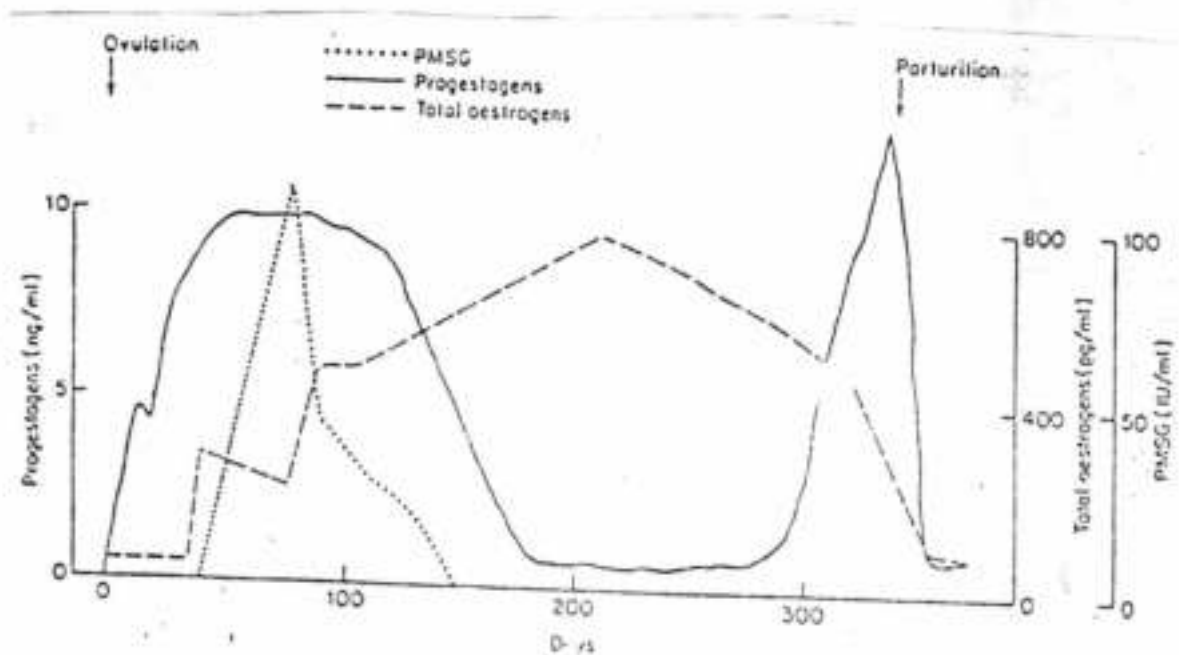
Pada umumnya estrogen tidak ditimbun dalam kelenjar endokrinnya, tetapi diproduksi secara kontinyu. Efek biologik estrogen pada umumnya pendek. Ovarium memproduksi estrogen, dengan bagian yang paling poten adalah sel-sel teka interna mencapai maksimal, atau fase folikel de-graff dan biasanya disebut estradiol 17 β (Arthur *et al.*, 1981). Kadar estradiol 17 β pada fase ini lebih besar. Dan efek biologiknya terlihat maksimal pula. Efek biologik maksimal ditandai oleh terlihatnya tingkah laku hewan betina birahi.

Estrogen dalam urine ditemukan dalam bentuk terkonjugasi, terikat oleh asam glukoronat, dengan asam sulfat, atau keduanya. Dalam darah estrogen yang tidak terkonjugasi dan estrogen sulfat juga ditemukan (Pritchard *et al.*, 1984).

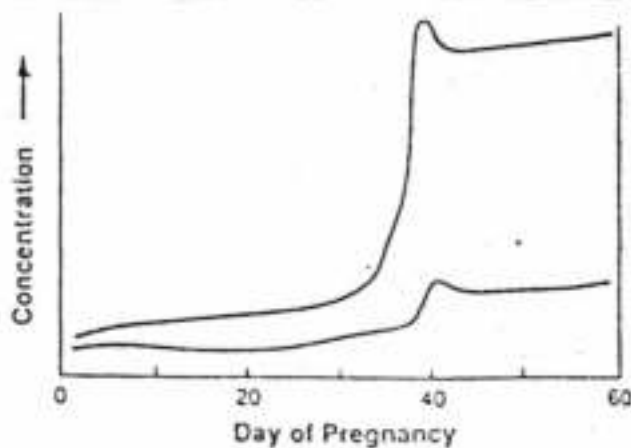
Kuda betina yang tidak bunting mensekresikan kira-kira 11,5 pg/ml (Hunter, 1981).

Konsentrasi konjugasi estrogen (estradiol 17 β) pada urine kuda betina bunting antara hari ke 20 dan 33 tetap konstan, yaitu 114 ± 23 ng/mg cr pada hari ke 20 dan 172 ± 40 ng/mg cr pada hari ke 33. Setelah hari ke 33 konsentrasinya meningkat sampai nilai tertinggi yaitu 1066 ± 219 ng/mg cr pada hari ke 39 (naik 3 kali lipat) dan kemudian turun sampai 637 ± 94 ng/mg cr pada hari ke 44 dan meningkat lagi 1115 ± 83 ng/mg cr pada hari ke 70 (Daels *et al.*, 1990).

Sekresi estradiol 17 β antara hari ke 33 dan ke 40 terjadi peningkatan. Keluarnya estrogen menandakan bahwa indung telur merupakan penghasil estrogen terbanyak pada 70 hari pertama masa kehamilan.



Gambar 1. Kadar hormon dalam sirkulasi periperal pada kuda selama bunting dan pada saat partus (Arthur *et al.*, 1989).



Gambar 2. Sekresi estrogen terkonjugat pada urine (*top profile*) selama 60 hari pertama kebuntingan pada kuda betina dan plasma estrogen terkonjugat (*lower profil*) (Lasley, *et al.*, 1990).

Kadar total estrogen dalam sirkulasi peripher selama 35 hari pertama kebuntingan sama dengan pada saat diestrus, meskipun terdapat produksi estrogen oleh embrio yang terjadi pada hari ke 12-20 (Mayer *et al.*, 1997 dalam Arthur *et al.*, 1981). Kemudian kadarnya meningkat mencapai suatu kestabilan antara hari ke 40 dan 60 kebuntingan.

Peningkatan nilai estradiol 17 β secara menyolok yang untuk pertama kalinya terjadi sekitar hari ke 35 merupakan respon ovarium (mungkin luteal) terhadap sekresi CG kuda, sehingga bukan sekedar merupakan sekresi estrogen oleh unit fetoplasenta, tetapi merefleksikan formasi endometrial cup. Setelah hari ke 80, unit fetoplasental menjadi sumber estrogen yang dominan dan perubahan konsentrasi estrogen terkonjugat pada sirkulasi merupakan refleksi dari sekresi oleh fetus (Daels *et al.*, 1990)

Kadar yang tinggi diperoleh sekitar hari ke 210 masa kebuntingan, dimana sumber utamanya adalah gonad fetus. Kemudian secara perlahan-lahan turun pada saat partus dan menurun tajam setelah partus (Cox, 1975; Arthur *et al.*, 1981). Pada tahun 1955 metode kromatografi sanggup menganalisa atau memisahkan estrogen secara lebih baik. Pada tahun 1955-1960 ditemukan 9 macam estrogen, tetapi potensi dari kesembilan macam estrogen ini tidak seberapa besar dibanding dengan ketiga estrogen klasik tersebut. Dari urine kuda bunting dapat diekstrak 2 macam estrogen yang potensinya kira-kira 10 kali lebih besar dari pada estrogen klasik, kedua estrogen itu adalah equilinin dan equilenin (Partodihardjo, 1982).

2.3. Urine

Menurut Guyton (1991) urine merupakan hasil metabolisme ekskresi ginjal yang berbentuk cair dan memiliki sifat-sifat tertentu. Sifat-sifat tersebut diantaranya adalah warna, bau, kejernihan, pH (derajat keasaman) maupun berat jenis. Urine berasal dari proses filtrasi dan reabsorpsi ginjal terhadap plasma darah.

Air adalah komponen penyusun urine terbesar (Kaneko, 1989). Selain itu juga terdapat beberapa bahan terlarut, baik organik maupun anorganik. Bahan-bahan anorganik yang secara normal terdapat dalam urine antara lain adalah kalsium, natrium, klorida, magnesium, nitrogen, kalium, ion hidrogen (H^+), bikarbonat (HCO_3^-), fosfat (HPO_4^{2-}) serta sulfat (SO_4^{2-}). Bahan organik yang secara normal terdapat dalam urine antara lain asam urat, urea, kreatinin serta alantoin

(Tootill, 1981). Pada urine tiap jenis hewan, jumlah bahan tersebut bervariasi (Kelly, 1974).

Urine dapat diperoleh baik secara langsung maupun tidak langsung. Secara langsung adalah urine yang berasal dari proses berkemih (mikturisi). Sebaliknya, secara tidak langsung berasal dari urine yang ditampung dari kandung kemih (vesika urinaria) ternak yang dipotong atau melalui rektal. Hal ini disebabkan kantong kemih merupakan tempat penampungan urine sementara sebelum dikeluarkan saat berkemih.

Pada kuda dalam keadaan normal jumlah liter per hari (24 jam) adalah 2,0-11,0 (4,7). Jumlah normal, tergantung makanan, cuaca dan latihan. Urine kuda dalam keadaan normal kuning, pH 8,0, BJ=1,035 (Kelly, 1974). Urine kuda sering terlihat agak kental oleh adanya mucoprotein yang di keluarkan dari pelvis ginjal dan bagian proximal dari ureter.(Harvey, 1962)

2.4. Peranan Hormon dalam Siklus Birahi

Pada akhir dari fase diestrus, korpus luteal mengalami regresi sehingga produksi progesteron menurun, yang berarti pencegahan produksi FSH-RH/LH-RH (folicle stimulating hormone releasing hormone/luteinising hormone releasing hormone) oleh hipotalamus dihilangkan. FSH-RH/LH-RH merangsang produksi dan pelepasan FSH (folicle stimulating hormone) yang disusul oleh produksi LH (luteinising hormone). FSH menyebabkan pertumbuhan dan perkembangan folikel. Lapisan sel *teca interna* dan sel granulosa pada folikel de-graff menghasilkan estrogen. Semakin masak atau semakin besar dimensi folikel de-graff semakin tinggilah produksi estrogen. Kadar estrogen dalam darah mencapai derajat

ketinggian tertentu, maka terjadilah efek positif terhadap produksi dan pelepasan LH dari hipofisa anterior. Mekanisme ini disebut umpan balik positif, kadar LH dalam darah mendadak meningkat sedemikian rupa sehingga terjadi ovulasi. Setelah ovum meninggalkan folikel yang pecah, terjadilah perdarahan pada bekas folikel. Darah menggumpal mengisi ruang bekas ovum dan cairan folikel, hingga pada permukaan ovarium terlihat sebagai bintik merah. Gumpalan darah pada ruang bekas folikel ini disebut corpus hemorrhagicum. (Partodiharjo, 1982).

Setelah ovulasi terjadi, kadar LH menurun dengan cepat, tetapi tidak kembali ke kadar dasar, melainkan cukup untuk merangsang sel-sel *teca interna* untuk membentuk sel-sel yang berbentuk polymorph dan berwarna kuning yang selanjutnya di sebut corpus luteum. Sejak terbentuknya corpus luteum, sel-sel ini memproduksi hormon progesteron, yang mempunyai fungsi meredakan aktivitas estrogen (Partodiharjo, 1982).

Masa hidup korpus luteum dalam siklus birahi akan melanjut menjadi masa hidup korpus luteum dalam kebuntingan bila satu atau lebih embrio yang berdaya hidup terhadap dalam uterus. Dan akan mencegah teriadinya regresi korpus luteum. (Hunter, 1995).

Bila hewan tidak bunting, corpus luteum dengan cepat mengalami regresi di bawah pengaruh faktor lisis asal uterus (prostaglandin $F_{2\alpha}$). Sekresi progesteron berkurang sebagai akibat luteolisis ini, dan siklus birahi berlanjut dengan sasaran kembalinya dengan segera kondisi birahi dan kesempatan kawin. Peniadaan pengaruh umpan balik negatif progesteron memungkinkan aktifnya sekresi gonadotropin hipofisis, di bawah pengaruh ini satu folikel de-graff akan

menjadi masak, mensekresikan estrogen dalam jumlah yang meningkat, dan mendorong terjadinya perubahan yang mengawali birahi dan ovulasi. Sedangkan waktu ovulasi sebaiknya 24-35 jam sebelum berakhirnya birahi (Hunter, 1981).

2.5. Radioimmunoassay

Radioimmunoassay adalah suatu metode analisa *in vitro* berdasarkan reaksi antara antigen atau hapten dengan antibodi. Antigen adalah suatu zat yang bersifat antigenik atau mampu menstimulir pembentukan antibodi yang sesuai dan bereaksi khas dengan antibodi tersebut. Hapten adalah suatu zat yang tidak bersifat immunogenik tetapi mempunyai struktur yang khas sehingga mampu bereaksi dengan antibodi secara selektif. Radioantigen (antigen yang ditandai dengan unsur radioaktif) bersaing dengan antigen yang diukur konsentrasinya. Dalam kesempatan mengikat antibodi maka banyaknya radioantigen yang terikat tersebut dapat diukur konsentrasi antigen (Sastrodipradjo dkk, 1979).

Yang umum dipakai adalah radioimmunoassay kompetitif yang menggunakan antigen yang diberi label isotop seperti ^3H , ^{14}C , atau ^{125}I . Teknik RIA ada 2 fase yaitu fase padat dan cair. RIA fase cair lebih mahal, sampah radioaktifnya lebih banyak, mudah terbakar dan analisisnya memerlukan waktu lebih lama sehingga tidak begitu disukai peneliti (Anonimus, 1984).

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan mulai tanggal 28 Nopember 1997 sampai dengan 17 Desember 1997. Sampel diambil dari kuda betina di daerah Kenjeran, Surabaya. Kuda betina bunting sebanyak 10 ekor dan tidak bunting 8 ekor. Pengukuran kadar estradiol 17 β dilakukan di Laboratorium Kebidanan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Perangkat Peneraan Radioimmunoassay

Mikropipet otomatis ukuran 10-1000 μ l, *vortexer* type 37600 Mixir, tabung assay, waterbath, *gamma counter* miniassay type 6,20, mini instrumen, *freezer*.

3.2.2. Bahan Penelitian Radioimmunoassay

Kit estradiol 17 (preparat dagang; TKPG, DPC, USA), HCl, urine.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Pengambilan sampel urine.

Dua ratus mikroliter HCL ditambah urine 1 cc, kemudian dipanaskan dengan suhu 100 $^{\circ}$ C selama 15 menit. Selanjutnya didinginkan pada suhu kamar

32° C. Kemudian di ambil larutan urine 250 µl ditambah BO estradiol 250 µl urine kemudian dikocok dengan Votexer selama 1 menit. Kemudian urine siap di assay.

3.3.2 Assay Kadar Hormon Estradiol 17B

Kadar estrogen urine di analisis dengan *radioimmunoassay* fase padat yang menggunakan radioaktif $^{125}\text{I}-\text{E}_2$ sebagai labelnya (DPC, U.S.A.). Tabung prophylyene berukuran 70x12 mm yang sudah dilapisi antibodi Estradiol 17B didalamnya dipakai dalam assay menurut protokol yang dibuat. *Non Specific Binding* (NSB) masing-masing tanpa antibodi, maksimum binding atau binding pada 0 pg/ml (MB/BO). Standar atau calibrator 0-20 ng. Quality kontrol pada kadar tinggi (Qc-h), Quality control kadar rendah (Qc-1), sampel yang akan diukur dan kembali diisi dengan tabung Qc-h, Qc-1 dan MB. Semua tabung assay dibuat dengan duplikat. Ke dalam tabung yang sudah dilabel sesuai dengan protokol diberikan standar, sampel urine dan quality masing-masing sebanyak 100 µl dengan pipet berskala 10-100 µl (Eppendorf Repeater 4710). Selanjutnya 100 µl larutan tracer $^{125}\text{I} - \text{E}_2$ dimasukkan ke dalam semua tabung assay dengan memakai pipet yang berskala 10-1000 µl (Eppendorf Repeater 4780). Setelah dilakukan pengocokan selama lima sampai sepuluh detik diatas pengocokan listrik, kemudian semua assay dibiarkan pada suhu kamar minimum 3 jam. Setelah waktu ini terlewatkan semua cairan di dalam tabung assay dibuang dengan cara membalikkan permukaan tabung ke dalam penampungan sampah radioaktif.

Selanjutnya tabung-tabung assay itu dibiarkan terbalik diatas kertas hisap selama lima menit untuk memberikan kesempatan tracer bebas keluar dari tabung assay. Peneraan kadar hormon dilakukan dengan memasukkan masing-masing tabung assay selama satu menit ke dalam Gamma-Counter (Miniassay type 6.20, Miniinstrument) (IAEA, 1984).

3.3.3 Cara Penghitungan Kadar Hormon

Tampilan digital yang ditunjukkan *Gamma counter* adalah hasil pancaran sinar gamma oleh radionukletida ^{125}I dalam pantau *count per menit* (CPM). Pantauan CPM ini diolah pada masing-masing sampel yang belum diketahui menjadi persen ikatan (% binding) yang selalu dibagi dengan ikatan maksimum (MB=BO).

$$\% \text{ Binding} : \frac{\text{Rataan CPM sampel} - \text{Rataan CPM NSB}}{\text{Rataan CPM Bo} - \text{Rataan CPM NSB}} \times 100\%$$

Keterangan :

Cpm = *Counter per minute*

Bo = Ikatan yang dianggap 100%

NSB = *Non Specific Binding*

Tranformasi kadar hormon estradiol $^{17}\beta$ dari persen ikatan ke bentuk pq/ml dilakukan dengan cara memasukkan terlebih dahulu angka persen ikatan dari standart dalam kertas logit-log. Dengan menghubungkan masing-masing titik

tersebut maka akan terbentuk garis lurus yang berkorelasi negatif antara persen ikatan dengan kadar hormon. Dengan memasukkan satu-persatu hasil persen ikatan sampel urine kuda bunting keatas kertas logit-log yang sudah ada standartnya, maka didapat kadar sampel tersebut dalam pg/ml (Anonimus,1984).

3.3.3 Pemeriksaan Rektal

Pada pemeriksaan kadar hormon estradiol 17 β , juga dilakukan palpasi rektal pada masing-masing kuda sampel untuk mendiagnosa status kebuntingan kuda. Hasil pemeriksaan rektal ini kemudian dikonfirmasi dengan hasil berdasarkan pemeriksaan hormon estradiol 17 β sebelumnya.

3.4 Analisis Data

Hasil penelitian dengan menggunakan statistik uji t (t Test) secara tidak berpasangan (unipaired comparasion)

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Kadar Estradiol 17 β

Data hasil analisis kadar estradiol 17 β pada 18 ekor kuda betina yang bunting dan tidak bunting yang digunakan sebagai sampel dapat dilihat pada tabel berikut ini :

Tabel 1. Kadar Estradiol 17 β pada kuda bunting dengan umur kebuntingan 45-65 hari

Nama kuda	Estradiol 17 β pg/ml	Umur (hari)	Diagnosa
A	6.000	47	+
F	6.500	49	+
I	10.500	52	+
G	6.500	54	+
E	8.500	57	+
J	11.600	57	+
D	9.600	60	+
P	5.500	62	+
B	9.000	63	+
C	9.000	65	+

Keterangan = Kuda bunting (+)

Tabel 2. Kadar Estradiol 17 β pada kuda tidak bunting

Nama kuda	Estradiol 17 β pg/ml	Umur (hari)	Diagnosa
O	1.400	45	-
M	2.500	48	-
L	3.200	49	-
R	590	54	-
N	2.300	56	-
Q	536	60	-
K	2.700	62	-
H	1.800	65	-

Keterangan (-) = Umur (hari) menunjukkan waktu pemeriksaan paska kawin

Pada penelitian ini terdapat perbedaan secara nyata kadar estradiol 17 β ($p < 0,05$) antara kuda betina bunting dan tidak. Kadar estradiol 17 β antara hari ke 45 sampai 65 setelah kawin dan bunting adalah antara 5.500 pg/ml dan 11.600 pg/ml. Sedangkan kadar hormon kuda betina tidak bunting adalah 536 pg/ml sampai 3.200 pg/ml. Pada pemeriksaan kadar hormon estradiol 17 β , dilakukan palpasi rektal pada masing-masing kuda sampel.

Terdapat 10 ekor kuda yang positif bunting dengan rata-rata kadar hormon estradiol 17 β $8270 \pm 2.055,9$ pg/ml dan 8 ekor kuda tidak bunting dengan rata-rata kadar hormon estradiol 17 β $1878,25 \pm 977,08$ pg/ml.

Tabel 3. Rataan dan Simpangan baku kadar estradiol 17 β (pg/ml) pada kuda bunting dan tidak bunting

No	Kadar Estradiol 17 β	
	(+)	(-)
1	6.000	1.400
2	6.500	2.500
3	10.500	3.200
4	6.500	590
5	8.500	2.300
6	11.600	536
7	9.600	2.700
8	5.500	1.800
9	9.000	-
10	9.000	-
Total	82.700	15
X	8.270 ^a	1.878,25 ^b
SD	2.055,9	977,08
Skor maksimum	11.600	3.200
Skor minimum	5.500	536

Setelah dilakukan analisa statistik yaitu untuk membandingkan rata-rata kadar hormon estradiol 17 β pada kedua hasil diagnosa dengan menggunakan uji t secara tidak berpasangan, ternyata terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) (lihat lampiran).

BAB V

PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini didapatkan perbedaan secara nyata pada kadar hormon estradiol 17 β antara kuda yang bunting dan tidak. Masing-masing rata-rata kadar hormon estradiol 17 β yaitu 8270 pg/ml untuk yang bunting dan 1878,25 pg/ml untuk tidak bunting. Menurut Dael *et. al.*, (1990) kuda betina dalam keadaan bunting dengan kadar hormon estrogen 1115 ± 83 ng/mg cr pada hari ke 70. Hal ini sangat berbeda jauh dengan penelitian disini, karena ada beberapa hal yang berbeda misalnya kuda yang digunakan berbeda yaitu pada penelitian digunakan kuda hasil perkawinan antara kuda pony dengan kuda thorough breed yang berumur 5-9 tahun. Sedangkan Dael *et. al.*, (1990) menggunakan thorough breed. Selain itu juga dipengaruhi oleh faktor makanan, lingkungan, metode penelitian maupun jenis radioaktif yang digunakan. Menurut Budi (1987), beberapa hormon mempengaruhi sintesis dan katabolisme dari karbohidrat, protein dan lemak. Misalnya dalam reaksi enzim maupun reaksi biokimiawi dalam tubuh. Lingkungan juga berpengaruh dalam cepat atau lambatnya fetus lahir. Menurut Partodiharjo (1982), kuda betina yang tidak bunting ditemukan estradiol 17 β dan estron selama siklus estrus. Pada akhir dari fase diestrus, korpus luteum mengalami regresi sehingga produksi progesteron menurun, yang berarti pencegahan produksi FSH-RH/LH-RH oleh hipotalamus dihilangkan. FSH-RH/LH-RH merangsang produksi dan pelepasan FSH yang disusul oleh produksi LH. FSH menyebabkan pertumbuhan dan perkembangan

folikel lapis sel teka dan sel granulosa pasc folikel de-graff menghasilkan estrogen. Dan kadar estradiol 17 β pada fase folikel de-graff 12 kali lebih besar dari pada estron dan 80 kali lebih besar dari pada estriol, oleh karena itu estradiol 17 β disebut sebagai estrogen utama dan mendorong terjadinya perubahan yang mengawali birahi dan ovulasi. Kadar estradiol 17 β akan menurun bila tidak terjadi kebuntingan (Hunter, 1995).

Selama kebuntingan paling tidak tiga steroid tambahan muncul yaitu equilin, equilinin dan dehidroequilinin, dua yang pertama adalah yang terbanyak. Banyaknya equilin dan equilinin pada kuda bunting, mendukung konsep bahwa ini merupakan estrogen kebuntingan dan hormon-hormon itu barangkali melaksanakan suatu peranan istimewa terhadap kebuntingan (Turner, CD., 1981). Estradiol 17 β adalah salah satu hormon estrogen alamiah yang diproduksi oleh ovarium atau plasenta hewan mamalia (Frandsen, 1992).

Menurut Harjopranto (1982) bahwa placenta mampu menghasilkan baik gonadotropin maupun hormon steroid seperti hormon progesteron dan estrogen pada beberapa species. Hormon Gonadotropin yang disekresikan oleh placenta kuda disebut Pregnant Mare Serum Gonadotropin (PMSG). PMSG dibentuk dalam jaringan cangkir-cangkir kecil endometrium (*endometrial cups*) kuda bunting (Cole dan Hart, 1930 dikutip oleh Hafez, 1993). PMSG hanya terdapat pada darah kuda hari ke 40 sampai hari ke 150 masa kebuntingan dan mencapai puncaknya pada hari ke 60 sampai 65 (Nalbandov, 1990). Menurut Harjopranto (1982) kadar PMSG menurun dan menghilang dalam darah setelah hari ke 180. Corpus luteum baru mulai tumbuh pada saat PMSG ada di dalam darah, dibawah

pengaruh PMSG, pada ovarium mulai tumbuh folikel-folikel baru. Akibat pertumbuhan folikel tersebut dan estrogen dari plasenta matema pada kuda bunting muda juga bisa menunjukkan gejala birahi saat bunting, sehingga 60 hari setelah kawin, sebaiknya dilakukan pemeriksaan kebuntingan (Mahaputra,1994). Folikel tersebut kemudian ovulasi, tetapi sebagaian besar mengalami luteinisasi, karena PMSG juga mempunyai efek seperti LH (LH like action). Korpus luteum tambahan ini yang terbentuk akan memproduksi hormon progesteron yang penting untuk memelihara kebuntingan pada kuda.

Dalam masa kebuntingan kuda selain hormon estrogen hormon steroid lain adalah hormon progesteron. Menurut Toelihere (1979) hormon progesteron selain dihasilkan oleh plasenta juga disekresikan oleh sel-sel lutein dari korpus luteum. Hormon ini juga mempunyai hubungan dengan pertumbuhan sel-sel endometrium sebelum dan selama hewan bunting. (Hardjopranjoto, 1995). Korpus luteum dibentuk dan dipertahankan oleh LTH (*luteinizing tirotopic hormon*) atau prolaktin dari adeno hipofisa. Dibawah pengaruh LTH, sel-sel lutein menghasilkan progesteron. Pada kuda korpus luteum kebuntingan hanya berfungsi sampai bulan ke 5 dari kebuntingan, pada bulan ke 7 korpus luteum ini tinggal sisanya saja dan selanjutnya progesteron berfungsi untuk merawat kebuntingan, dan seluruhnya dihasilkan oleh plasenta (Partodihardjo, 1982).

Menurut Mahaputra (1994) setelah hewan kawin atau dikawinkan perlu pemeriksaan kebuntingan sedini mungkin. Selain itu untuk menghindari anestrus berkepanjangan yang diakibatkan oleh gangguan fungsi atau penyakit di dalam ovarium dan uterus seperti hypofungsi, ovarium sistik yaitu kista corpus luteum,

luteal cyst dan kista folikel ataupun pyometra.

Menurut Rose dan Hodgson (1993) yang termasuk pemeriksaan kebuntingan secara dini adalah USG (Ultra Sonography) dan test progesteron. Pemeriksaan USG dapat digunakan untuk menentukan diagnosa awal dan melihat satu kebuntingan atau kebuntingan kembar. Pada pemeriksaan ini biasa dilakukan antara hari ke 14 dan 20 dari kebuntingan. Pada pemeriksaan hormon progesteron biasa dilakukan pada hari ke 35 kebuntingan, karena korpus luteum yang menghasilkan hormon progesteron setelah hari ke 15 terjadi regresi apabila tidak terjadi kebuntingan (Mahaputra, 1994).

Selain dilakukan pemeriksaan kebuntingan dini perlu dilakukan pemeriksaan lebih lanjut untuk mendukung ketepatan diagnosa yaitu pemeriksaan USG, palpasi rektal, dan test Biologi atau uji hormon lain. Pemeriksaan USG juga dapat dilakukan antara hari ke 30 dan 40 hari dari kebuntingan (Rose, *et al*, 1993). Palpasi rektal biasa dilakukan pada umur kebuntingan minimal dua bulan. (Mahaputra, 1994).

Untuk mendiagnosa kebuntingan juga bisa dilakukan uji biologi, antara lain uji Friedman dan uji Cuboni (metode kimiawi). Menurut Frar. (1974), uji Friedman menggunakan serum kuda betina bunting antara hari ke 50 dan 84 dari kebuntingan, yang disuntikan pada vena telinga dari kelinci dara. Setelah 48 jam penyuntikan, hasilnya positif akan terlihat folikel berwarna merah gelap. Hal ini menunjukkan kuda dalam keadaan bunting.

Sedangkan pada uji Cuboni (metode kimiawi) biasa dilakukan antara 150 dan 300 hari dari kebuntingan. Apabila kuda betina tidak bunting akan terlihat

pantulan warna kecoklatan, dan bila pantulan sinar hijau flourocent kuda dalam keadaan bunting (Arthur, 1975).

Tes biologi sudah digantikan dengan teknik imunologi, yang jauh lebih cepat dan lebih sensitif yaitu pengukuran dengan teknik RIA, yang sangat sensitif dan tepat (Nalbandov, 1990).

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Estradiol 17 β dapat digunakan sebagai diagnosa kebuntingan pada kuda.
2. Terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) kadar hormon estradiol 17 β antara kuda bunting dan tidak bunting. Rata-rata kadar estradiol 17 β pada kuda bunting adalah $8270 \pm 2.055,9$ pg/ml, sedangkan kuda tidak bunting adalah $1878,25 \pm 977,08$ pg/ml.

6.2. Saran

Dengan hasil yang diperoleh pada penelitian ini sebagai metode diagnosa kebuntingan kiranya dapat diteliti penerapannya pada spesies lain, antara lain : sapi, babi dan anjing.

RINGKASAN

IIN YOSEPHIN Pemeriksaan kadar hormon 17β 45-65 hari setelah kawin pada urine kuda sebagai diagnosa kebuntingan. (dibawah bimbingan Dr. I Komang W.S Drh, sebagai pembimbing pertama dan Endang Suprihati, M.S. Drh, sebagai pembimbing kedua).

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui kadar hormon estradiol 17β pada 45-65 hari setelah kawin dalam urine untuk dapat membedakan kuda yang bunting dan tidak.

Hewan percobaan yang dipakai dalam percobaan ini adalah 18 ekor kuda yang telah dikawinkan dengan umur perkawinan antara 45-60 hari. Hewan coba ini diambil urinenya pada saat mikturisi. Dua ratus mikroliter HCL ditambah 1 cc urine dipanaskan dengan suhu 100° C selama 15 menit, kemudian didinginkan pada suhu 32° C. kemudian diambil larutan urine 250 μ l ditambah BO estradiol 17β 250 μ l kemudian dikocok dengan vortexer selama 1 menit. Kemudian urine ditera kadar hormon estradiol 17β dengan menggunakan teknik radioimmonossay (RIA) dilaboratorium kebidanan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Kadar hormon estradiol 17β dari kuda-kuda yang mempunyai hasil diagnosa yang sama dibuat rata-ratanya.

Hasil penelitian yang dapat diselesaikan dengan uji t menunjukkan perbedaan yang sangat nyata. Dari hasil penelitian didapatkan kadar hormon estradiol 17β 45-65 hari setelah kawin pada kuda bunting 8270 pg/ml sedangkan tidak bunting 1878,25 pg/ml.

DAFTAR PUSTAKA

- Allen, W.R. 1988 Fertility dan Obstetrics in the Horse. Blackwell Scientific Publication, Oxford.
- Anonimous. 1984. Laboratory Training Manual on RIA in Animal Reproduction. Technical Report. Series No. 233. IAEA. Vienna, Austria.
- Anonimous. 1992. Biotechnological Innovation in Animal Production. Butterworth - Heinemann.
- Arthur, G.H, David E.N., Harold P. 1981. Veterinary Reproduction and Obstetrics. 8 th Edition. Bailliere Tindall. London.
- Arthur, G.H. 1975. Veterinary Reproduction and Obstetrics. Fourt Edition. The English Language Book Society and Bailliere Tindall.
- Cole, H.H. and P.T. Cupps. 1969. Reproduction in Domestic Animals. Second Edition. Academic Press. New York.
- Crighton D., 1984. Immunological Aspects of Reproduction In Mammals. Butterworths.
- Daels, P.F., S. Shideler B.L. Lasley, J.P. Hughes and G.H. Stagenfeldt. 1990. Source of oestrogen in early pregnancy in the mare. Journal of Reproduction and Fertility. 90:55-61.
- Edquist, L.e and G.H. Stagenfeldt. 1989. Clinical Reproductive Endocrinology. Fourth Edition. Academic Press. Inc. Davis, California.
- Evan, J.W. 1992. Horse Breeding and Management. World Animal Science.
- Frandsen, R.D. 1992. Anatomi dan Fisiologi Ternak. Gajah Mada University Press.
- Frandsen, R.D. 1974. Anatomy and Physiology of Farm Animals. Second Edition. Lea and Febiger.
- Guyton and Arthurc. 1991. Fisiologi Kedokteran EGC. JAKARTA.
- Hardjopranjoto dan Soehartojo. 1982. Fisiologi Reproduksi. Surabaya : Airlangga University Press.

- Hafes, E.S.E. 1980 *Reproduction in Farm Animals*, 4th. ed Lea and Febiger Philadelphia.
- Harvey, D.G. 1962. *Biochemistry for Veterinary studies*. F.A. Davis Company Philadelphia.
- Hunter, RHF. 1995. *Fisiologi dan teknologi reproduksi hewan betina domestik*. ITB Bandung.
- Kaneko, J.J. 1989. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Academic Press, Inc San Diego.
- Kelly, W.R. 1974. *Veterinary clinical Diagnosis Second Edition*. Bailliere Findall. London.
- Kobluk, C.N., T.R. Ames, R.J. Geor, 1995. *The Horse Disease and Clinical Management*. W.B. Saunders Company. Philadelphia London.
- Kusriningrum, R. 1990. *Dasar-dasar Rancangan Percobaan dan Rancangan Acak lengkap Unair Surabaya*.
- Linsley, B., D. Ammon, P. Daels, J. Hughes, C. Munro, and G. Stagenfeldt. 1990. Estrogen Conjugate concentrations in plasma and urine Reflect Estrogen Secretion in the Non Pregnant and Pregnant Mare : A. Review. *Equine Nutrition and Physiology Society*. 10:6.
- Mahaputra, L. 1994. *Ilmu Kebidanan Veteriner Edisi kelima*. Fal..... Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Nalbandov, A.V. 1958. *Reproduction Phisiology*. W.H. Freeman and Company, San Francisco, London.
- Pritchard, J.A., Paule. M., and Norman, F.G. 1984. *Obstetri Williams*, Penerbit Airlangga University Press Surabaya.
- Penuntun Praktika laboratorium Patologi Klinik Veteriner 1997 Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Ressang, A.A. 1984. *Patologi Khusus Veteriner*. Ed. kedua, NV Percetakan Bali, Denpasar.
- Rice, V.A., Frederick, N.A., Everett, J.W., James, E.L. 1957 *Breeding and Improvement of Farm Animals*. The McGraw Hill Book Company, Inc.
- Rose, R.J. and D.R. Hodgson 1993. *Manual of Equine Practice*. W.B. Saunders Company. Philadelphia.

- Sastradipraja, D. 1979. The use of Radioimmunoassay and Related Procedures to Improve Reproductive Performance of Domestic Animal. Proceeding of the Second Research Coordination Meeting Held at Bogor Agroculural University (IPB), 20-24 Februari 1978, Organized by the joint FAO/IAEA Division of Atomic Energy in Food and Agriculture. The Directorate General of Higher Education, Departement of Education and Culture of the Republic of Indonesia.
- Suparno, W.R. 1988. Dasar-dasar Radio Immunoassay (RIA). Medika, no.7. 14 Juli.
- Tim Hawcroft. 1983. The Comlete Book of Horse Care. Lansdowne Press Sydney.
- Toelihere M. R. 1981. Fisiologi reproduksi pada ternak. Angkasa, Bandung.
- Tootilt, E. 1981. The Facts on File; Dictionary of Biology. Intercontinental Books Production Ltd. London.
- Turner, C.D., Joseph T.B. 1988. Endokrinologi Umum. Airlangga University Press.
- Watkins, C.W. 1995. Oestrogens in Mare's urine. The Veterinary Record. April 22.

LAMPIRAN

Kadar Estradiol 17 β dalam urine kuda betina pada hari 45 sampai 65

Nama Kuda	Estradiol 17 β pg/ml	Umur (hari)	Diagnosa
A	6.000	47	+
B	9.000	63	+
C	9.000	65	+
D	9.600	60	+
E	8.500	57	+
F	6.500	49	+
G	6.500	54	+
H	1.800	65	-
I	10.500	52	+
J	11.600	57	+
K	2.700	62	-
L	3.200	49	-
M	2.500	48	-
N	2.300	56	-
O	1.400	45	-
P	5.500	62	+
Q	536	60	-
R	590	54	-

Keterangan :

Kuda bunting + = 10

Kuda tidak bunting - = 8

Perhitungan dengan uji t secara tidak berpasangan

No.	Kadar Estradiol 17 β	
	(+)	(-)
1	6.000	1.800
2	9.000	2.700
3	9.000	3.200
4	9.600	2.500
5	8.500	2.300
6	6.500	1.400
7	6.500	536
8	10.500	590
9	11.600	
10	5.500	
Total	82.700	15.026
X	8270	1878,25

$$\begin{aligned}
 S_A^2 &= \frac{\sum A^2 - (A)^2/n_1}{n_1 - 1} \\
 &= \frac{(6000)^2 + (9000)^2 + \dots + (5500)^2 - (82700)^2/10}{10 - 1} \\
 &= \frac{36.000.000 + 81.000.000 + \dots + 30.250.000 - (82700)^2/10}{10 - 1} \\
 &= \frac{721.970.000 - 68.392.900}{9} \\
 &= 4.226.777,778
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 S_B^2 &= \frac{\sum B^2 - (A)^2/n_2}{n_2 - 1} \\
 &= \frac{(1800)^2 + (2700)^2 + \dots + (590)^2 - (15026)^2/8}{8 - 1} \\
 &= \frac{3.240.000 + 7.290.000 + \dots + 348.100 - (15026)^2/8}{7} \\
 &= \frac{34.905.396 - 28.222.584,5}{7}
 \end{aligned}$$

$$S_B^2 = 954687,3571$$

$$\begin{aligned}
 S(\bar{A} - \bar{B}) &= \sqrt{SA^2/N_1 + SB^2/N_2} \\
 &= \sqrt{\frac{4226777,778}{10} + \frac{954687,3571}{8}} \\
 &= \sqrt{422677,7778 + 119335,9196} \\
 &= \sqrt{542013,6974} \\
 &= 736,2158
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 t_{hit} &= \frac{|A - B|}{(A - B)} \\
 &= \frac{8270 - 1878,25}{736,2158} \\
 &= \frac{6391,75}{736,2158} \\
 &= 8,682
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 t_{0,05} &= (n_1 - 1) + (n_2 - 1) = t_{0,05} (16) \\
 &= 2,12
 \end{aligned}$$

$$t_{hit} > t_{tabel}$$

Jadi terdapat perbedaan yang sifatnya nyata