

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN URIN WANITA POST MENOPAUSE
YANG TELAH DINETRALKAN DENGAN ACTIVATED
CHARCOAL TERHADAP PERTUMBUHAN FOLIKEL
DAN KORPUS LUTEUM PADA
MENCIT (*Mus musculus*)**



Oleh :

DENY AMBARWATI
NIM 060333129

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2007**

SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN URIN WANITA POST MENOPAUSE
YANG TELAH DIVETRIALKAN DENGAN ACTIVATED
CHARCOAL TERHADAP PERTUMBUHAN POLIPUS
DAN KORPUS LUTEUM PADA
MENCIT (Mus musculus)



Oleh :

DENY AMBARWATI
NIM 0033329

FACULTAS KEDOKTERAN BEWAK
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2007

**PENGARUH PEMBERIAN URIN WANITA *POST MENOPAUSE* YANG
TELAH DINETRALKAN DENGAN *ACTIVATED CHARCOAL*
TERHADAP PERTUMBUHAN FOLIKEL DAN KORPUS LUTEUM
PADA MENCIT (*Mus musculus*)**

Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
pada
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

DENY AMBARWATI
NIM 060333129

Menyetujui
Komisi Pembimbing,



(Indah Norma Triana., MSi., Drh)
Pembimbing Pertama



(Rr. Ratih Ratnasari., SU., Drh)
Pembimbing Kedua

PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul:

**Pengaruh Pemberian Urin Wanita *Post Menopause* Yang Telah
Dinetralkan Dengan *Activated Charcoal* Terhadap
Pertumbuhan Folikel Dan Korpus Luteum
Pada Mencit (*Mus mucullus*)**

tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebut dalam daftar pustaka.

Surabaya, 5 Januari 2007

Deny Ambarwati
NIM. 060333129

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 20 Desember 2006

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua : Dr. Wurlina, M.S., Drh
Sekretaris : Dr. Imam Mustofa, M. Kes., Drh
Anggota : Dr. Ngakan Made Ray W, M.S., Drh
Pembimbing I : Indah Norma Triana, MSi., Drh
Pembimbing II : Rr. Ratih Ratnasari, SU., Drh

Telah diuji pada

Tanggal : 5 Januari 2007

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Dr. Wurlina, M.S., Drh

Anggota : Dr. Imam Mustofa, M. Kes., Drh

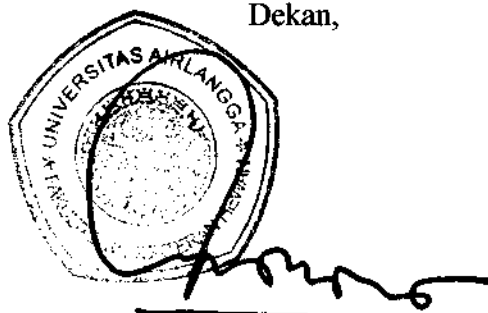
: Dr. Ngakan Made Ray W, M.S., Drh

: Indah Norma Triana, MSi., Drh

: Rr. Ratih Ratnasari, SU., Drh

Surabaya, 25 Januari 2007

Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga
Dekan,



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

**THE EFFECT OF URINE TREATMENT OF POST MENOPAUSE
WOMAN WHICH HAD BEEN NETRALIZED WITH ACTIVATED
CHARCOAL AGAINST GROWTH OF FOLLICLE AND
CORPUS LUTEUM IN MOUSE (*Mus musculus*)**

Deny Ambarwati

ABSTRACT

The aim of this research was to determine effect of urine treatment of post menopause woman which contained hMG (Human Menopause Gonadotropin) against the amount of secunder follicle, tertier follicle, de Graaf follicle, and corpus luteum. Main substance that used in this research was urine of post menopause woman which had been separated by activated charcoal from toxic substances and color substance. This research performed 30 mice strain balb/C spesification female, aged two months, weight 35 g, divided into five groups. Groups 1 (control, n = 6) injected by 0,1 ml PZ, groups 2 (treatment, n = 6) injected by 0,1 ml urine, groups 3 (tretment, n = 6) injected by 0,2 ml urine, groups 4 (tretment, n = 6) injected by 0,3 ml urine, groups 5 (treatment, n = 6) injected by 0,4 ml urine. This treatment was given during 10 days. Amount of secunder follicle, tertier follicle, de Graaf follicle and corpus luteum was examined and analyzed by Oneway Anova and continued with Duncan Multiple Range Test (DMRT) using SPSS ver.13.00 *for windows*. The result showed that between control (group 1) and treatment (group 2, 3, 4 and 5) there's significant correlation ($p < 0,05$) in secunder follicle, high significant correlation ($p < 0,01$) in corpus luteum, but there's no significant correlation ($p > 0,05$) in tertier follicle and de Graaf folicle due to urine effect.

Key words : hMG, secunder follicle, tertier follicle, de Graaf follicle, corpus luteum.

UCAPAN TERIMAKASIH

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala Rahmat dan Karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan dengan judul "Pengaruh Pemberian Urin Wanita *Post Menopause* Yang Telah Disentrifugasi Dengan *Activated Charcoal* Terhadap Pertumbuhan Folikel dan Korpus Luteum".

Pada kesempatan ini penulisan ingin menyampaikan terima kasih kepada:

Prof. Dr. Ismudiono, M.P., Drh, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Ibu Indah Norma Triana., MSi., Drh., selaku dosen pembimbing pertama dan ibu Rr. Ratih Ratnasari selaku dosen pembimbing kedua atas segala saran, dan perhatian serta kesabarannya dalam membimbing penulis.

Ibu Wurlina, M.S., Drh dan Bapak Herry Agoes Hermadi, Msi, Drh atas bimbingannya selama penelitian.

Ayahnda Nanang Kasilan (Almarhum) dan Ibunda Supatmi atas segala kasih sayang, do'a dan pengorbanannya selama ini, serta om, tante, budhe atas kasih sayang, perhatian dan petuah-petuahnya. Mas Danu, Mbak Riphi, Mas Zens atas semangat yang telah diberikan.

Sahabat-sahabatku Arnie, Finna, Anna, Nery, Sri Watini dan rekan seangkatan yang telah mengisi kehidupan selama kuliah diFKH. Anak-anak didikku yang lucu-lucu yang telah menghiburku.

Teaman-temanku satu penelitian, Patricia, Dewi, Christien atas kerjasamanya yang baik selama penelitian berlangsung hingga penulisan skripsi ini selesai.

Penulis menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang telah banyak membantu dalam penulisan ini.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan yang terdapat dalam penulisan ini, kritik, dan saran dari pembaca sangat penulis harapkan. Semoga bermanfaat bagi pembaca sekalian.

Surabaya, Januari 2007

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PERNYATAAN	ii
HALAMAN IDENTITAS	iii
ABSTRACT	v
UCAPAN TERIMAKASIH	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
SINGKATAN	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1. Latar belakang	1
1.2. Rumusan masalah	4
1.3. Landasan teori	4
1.4. Tujuan penelitian	5
1.5. Manfaat penelitian	6
1.6. Hipotesis	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Siklus birahi mencit betina	7
2.2. Anatomi dan Fisiologi ovarium	10
2.3. Ovulasi pada hewan mamalia	14
2.4. Kontrol endokrin terhadap ovulasi	17
2.5. Superovulasi dengan hormon gonadotropin	19
2.6. <i>human Menopause Gonadotropin</i>	20
2.7. <i>Activated charcoal</i> (karbon aktif)	24
BAB 3 MATERI DAN METODE PENELITIAN	
3.1. Waktu dan Tempat penelitian	25
3.2. Materi penelitian	25
3.3. Metode penelitian	26
3.3.1. Pemisahan urin wanita <i>menopause</i> dengan <i>activated charcoal</i>	26
3.3.2. Perlakuan pada hewan coba	26
3.3.3. Pengambilan ovarium pada hewan coba	27
3.3.4. Pembuatan sediaan histologi ovarium	27
3.3.5. Rancangan percobaan	28
3.3.6. Peubah	28
3.3.7. Analisis data	28

BAB 4 HASIL PENELITIAN	
4.1. Folikel sekunder, folikel tersier, folikel <i>de Graaf</i>	29
4.4. Korpus luteum	31
BAB 5 PEMBAHASAN	34
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1. Kesimpulan	40
6.2. Saran.....	40
RINGKASAN	41
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	48

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 2.1. Ekskresi FSH dan LH melalui urin wanita berbagai tahapan reproduksi berbagai macam umur	22
Tabel 2.2. Kadar estrogen yang disekresikan dalam urin (MU/24 jam)	23
Tabel 2.3. Kadar gonadotropin yang dikeluarkan melalui urin (MU/24 jam).....	23
Tabel 4.1. Hasil ratahan dan simpangan baku jumlah folikel sekunder, folikel tersier, folikel <i>de Graaf</i>	29
Tabel 4.4. Hasil ratahan dan simpangan baku jumlah korpus luteum.....	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 4.1. Diagram batang jumlah perhitungan folikel sekunder, folikel tersier, folikel <i>de Graaf</i>	30
Gambar 4.4. Diagram batang jumlah perhitungan korpus luteum ...	33
Gambar 5.1. Folikel sekunder ovarium mencit dengan pewarnaan <i>Hematoxylin Eosin</i> pada perlakuan 1 (P1) dengan pembesaran mikroskop 400x.....	35
Gambar 5.2. Folikel tersier ovarium mencit dengan pewarnaan <i>Hematoxylin Eosin</i> pada perlakuan 4 (P4) dengan pembesaran mikroskop 400x.....	36
Gambar 5.3. Folikel <i>de Graaf</i> ovarium mencit dengan pewarnaan <i>Hematoxylin Eosin</i> pada perlakuan 3 (P3) dengan pembesaran mikroskop 400x.....	37
Gambar 5.4. Korpus luteum ovarium mencit dengan pewarnaan <i>Hematoxylin Eosin</i> pada perlakuan 4 (P4) dengan pembesaran mikroskop 400x.....	34
Gambar 4.9. Ovarium pada perlakuan 4 (P4) dengan pembesaran 400x terlihat adanya bentukan folikel sekunder dan korpus luteum	35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
Lampiran 1. Hasil analisis statistik jumlah folikel sekunder dengan SPSS versi 13. <i>Oneway Anova</i>	50
Lampiran 2. Hasil analisis statistik jumlah folikel tertier dengan SPSS versi 13. <i>Oneway Anova</i>	51
Lampiran 3. Hasil analisis statistik jumlah folikel de Graaf dengan SPSS versi 13. <i>Oneway Anova</i>	52
Lampiran 4. Hasil analisis statistik jumlah korpus luteum dengan SPSS versi 13. <i>Oneway Anova</i>	53

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

PMSG	= Pregnant Mare Serum Gonadotrophin
FSH	= Follicle Stimulating Hormone
LH	= Luteinizing Hormone
hMG	= Human Menopause Gonadotrophin
IU	= International Unit
MU	= Mouse Unit
g	= Gram
DMRT	= Duncan Multiple Range Test
GnRH	= Gonadotrophin Releasing Hormone
kDa	= Kilo Dalton

BAB 1
PENDAHULUAN

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Peningkatan mutu ternak merupakan salah satu aspek utama dalam pengembangan peternakan khususnya sapi perah di Indonesia. Berbagai teknologi telah diciptakan untuk memperbaiki mutu genetik ternak serta meningkatkan efisiensi reproduksi ternak. Proses reproduksi ternak merupakan proses yang sangat rumit, karena untuk terjadinya reproduksi yang normal dipengaruhi oleh banyak faktor dari dalam maupun dari luar tubuh. Tidak munculnya salah satu atau lebih faktor-faktor tersebut, dapat menyebabkan hambatan dalam proses reproduksi sehingga dapat menyebabkan kemajiran dalam ternak (Hardjopanjoto,1995).

Gangguan keseimbangan hormon khususnya FSH dan LH merupakan salah satu faktor gangguan reproduksi yang menyebabkan menurunnya kesuburan dan kemajiran pada ternak. Gangguan reproduksi karena adanya ketidak seimbangan hormonal dapat terjadi pada setiap fase dari siklus reproduksi. Gangguan pengeluaran hormon gonadotropin yang dihasilkan oleh kelenjar hipofisa anterior seperti FSH dan LH atau dapat dikatakan FSH dan LH rendah dapat mengakibatkan hipofungsi ovarium (Hardjopanjoto, 1995), karena kadar FSH dan LH di dalam darah yang rendah menyebabkan terjadinya hipofungsi ovarium yang permukaannya licin karena tidak terjadinya pertumbuhan folikel maupun korpus luteum, walaupun besarnya tidak berubah (artinya ovarium ukurannya normal) (Hardjopranjoto, 1995). Keadaan tersebut disebabkan karena

kurang makan dalam waktu lama, stres lingkungan dan defisiensi hormon, dan sapi perah menunjukkan gejala anestrus (tidak adanya birahi) dalam waktu yang lama. Kondisi ini menyebabkan terjadinya gangguan terhadap poros hipotalamus-hipofisis-ovarium. Salah satu manifestasinya adalah menurunnya sekresi *Gonadotropin Releasing Hormon* oleh hipotalamus diikuti dengan menurunnya hormon gonadotropin FSH dan LH serta mengakibatkan tidak tumbuhnya folikel pada ovarium (Hardjopranjoto,1995). Untuk mengatasi hipofungsi ovarium adalah dengan memperbaiki kualitas makanan, sehingga keadaan ovarium kembali normal. Superovulasi merupakan bertambahnya jumlah ovulasi (*ovulation rate*) dalam satu periode birahi yang normal dengan menggertak seekor hewan betina yang pubertas dengan menggunakan salah satu macam preparat hormon gonadotropin (Hardjopanjoto,1995).

Hormon gonadotropin yang dapat digunakan untuk superovulasi yaitu PMSG (*Pregnant Mare Serum Gonadotropin*) dan hMG (*human Menopause Gondotropin*) (Hunter, 1995). Kendala dalam mengatasi hipofungsi adalah besarnya biaya operasional, karena mahalnya hormon gonadotropin yang digunakan untuk superovulasi. hMG adalah salah satu sediaan hormon gonadotropin yang kaya akan aktivitas FSH dan LH yang diisolasi dari urin wanita *post menopause*. hMG mengandung FSH 80 iu/mg dan kadar LH yang terdapat pada hMG tidak kurang dari 60 iu/mg (Ganong, 1995). hMG tersusun dari glikoprotein dengan kandungan karbohidrat dan asam sialat dalam jumlah kecil, mempunyai waktu paruh pendek, dan tidak menimbulkan sistik ovari.

Urin merupakan hasil akhir metabolisme yang disekresikan melalui ginjal dan masih mengandung beberapa substansi yang terlarut dalam filtrat dengan berat molekul tertentu (Guyton, 1994). Komposisi urin terdiri atas 95% air; 2,5% urea dan sisa 2,5% yang lainnya merupakan campuran dari mineral, garam, hormon, dan enzim (Van der Kroon, 2001).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Chandrasari, 2004 tentang urin wanita *post menopause* yang digunakan untuk preparat superovulasi, dengan menggunakan metanol sebagai penetral urin wanita *post menopause* untuk mengetahui folikel yang dominan pada mencit. Penelitian kali ini peneliti menggunakan *activated charcoal* sebagai penetral dari urin wanita *post menopause* yang mengandung FSH dan LH dari zat-zat toksik. Hasil dari penetralan urin wanita *post menopause* akan digunakan sebagai superovulasi, pada tahap selanjutnya bisa dilakukan untuk transfer embrio atau bank embrio.

Activated Charcoal dibuat dari partikel karbon yang sangat kecil yang mempunyai kemampuan untuk mengikat bahan kimia. *Activated charcoal* selain harganya murah dan mudah didapat mempunyai keunggulan dapat mengabsorpsi zat toksik, zat warna, dan hormon steroid yang terdapat pada urin wanita *post menopause*, sehingga yang tertinggal pada urin adalah FSH dan LH. *Activated charcoal* juga mempunyai kelemahan, yaitu mempunyai titik kejenuhan dalam mengabsorpsi (Miller dan Mc Carty, 1999).

Urin wanita *post menopause* yang merupakan limbah air buangan melalui penelitian ini dapat dimanfaatkan untuk superovulasi dengan cara menetralkan

zat-zat toksik pada urin wanita *post menopause*, yang mengandung hMG dengan menggunakan *charcoal*, yang aktifitasnya sama dengan FSH dan LH.

1.2 Rumusan masalah

Berdasarkan dari latar belakang yang telah diuraikan diatas, dalam penelitian ini dapat dirumuskan permasalahan:

1. Apakah urin wanita *post menopause* yang telah dinetralkan dengan *activated charcoal* berpengaruh terhadap jumlah folikel mencit?
2. Apakah urin wanita *post menopause* yang telah dinetralkan dengan *activated charcoal* berpengaruh terhadap jumlah korpus luteum mencit?

1.3 Landasan teori

Penentuan hormon dengan metode uji biologis diklasifikasikan sebagai uji kualitatif (Ismudiono, 1999). FSH dan LH termasuk dalam golongan hormon gonadotropin yang mengandung heksosa, manosa, galaktosa, heksamin n-asetil galaktosamin, dan asetil glikosamin serta metil pentosa fukosa, juga mengandung asam sialat (Ganong, 1995).

human Menopause Gonadotrophin merupakan salah satu hormon gonadotropin yang dapat di gunakan untuk induksi superovulasi. hMG tersusun dari glikoprotein dengan kandungan karbohidrat dan asam sialat dalam jumlah kecil, mempunyai waktu paruh pendek, dan tidak menimbulkan sistik ovari. Hormon ini di hasilkan oleh kelenjar hipofisa anterior wanita *post menopause* dan kaya akan aktifitas FSH dan LH (Hunter, 1995). FSH dan LH mempunyai peranan sangat penting dalam pertumbuhan dan perkembangan folikel. Hormon ini juga mengakibatkan berkembang dan membesarnya folikel di dalam ovarium (Hunter,

1995), sedangkan LH berfungsi untuk merangsang tumbuhnya sel-sel interstitial pada ovarium serta merangsang terbentuknya sel-sel lutein. Selain itu, LH juga bekerja sama dengan FSH untuk menginduksi sekresi estrogen dari folikel *de Graaf* sekaligus menyebabkan terjadinya ovulasi pada folikel yang telah masak (Partodihardjo, 1992; Ismudiono, 1999).

Tingginya FSH akan mengaktifkan ovarium dalam memproduksi folikel-folikel. Selama pertumbuhan folikel sampai folikel menjadi masak estrogen menjadi upan balik negatif pada hipotalamus, setelah folikel masak maka estrogen menjadi upan balik positif bagi hipotalamus untuk mengaktifkan hipofisa anterior dalam mensekresi LH. Meningkatnya LH dalam darah merangsang adanya ovulasi pada folikel-folikel yang telah masak, dan akan terbentuknya korpus luteum. LH dapat memperpanjang korpus luteum selama tidak terjadi kebuntingan, apabila terjadi kebuntingan korpus luteum akan teregresi. Jadi jumlah korpus luteum yang terbentuk tergantung pada jumlah hormon dalam darah selain itu sensitifitas dari lapisan ovarium (Hernawan, 2003).

1.4 Tujuan penelitian

1. Menghitung jumlah folikel mencit setelah penyuntikan urin wanita *post menopause* secara sub kutan.
2. Menghitung jumlah korpus luteum mencit setelah penyuntikan urin wanita *post menopause* secara sub kutan.

1.5 Manfaat penelitian

Memberikan informasi ilmiah tentang hMG yang terkandung dalam urin wanita *post menopause* dapat digunakan sebagai bahan dasar alternatif preparat superovulasi yang kedepannya dapat digunakan sebagai tarsfer embrio.

1.6 Hipotesis penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah:

1. Urin wanita *post menopause* yang telah dinetralkan dengan *activated charcoal* secara sub kutan berpengaruh terhadap jumlah folikel kecil.
2. Urin wanita *post menopause* yang telah dinetralkan dengan *activated charcoal* secara sub kutan berpengaruh terhadap jumlah korpus luteum kecil.

BAB 2
TINJAUAN PUSTAKA

Rahayu

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Siklus birahi mencit betina

Ritme fungsi faal tertentu dari sistem kelamin, yang terdapat pada hewan ternak setelah masa pubertas dicapai disebut siklus birahi. Pada hewan ternak, perkawinan terbatas hanya pada waktu birahi yang kemudian diikuti dengan terjadinya ovulasi. Pada manusia dan primata, perkawinan tidak terbatas selama siklus menstruasi, sedangkan ovulasi terjadi pada pertengahan siklus (Ismudiono, 1999). Pada siklus birahi terjadi adanya perubahan endokrin ovarium kebanyakan dialami oleh mamalia berplasenta atau dalam siklus primata. Meskipun perubahan histologi dapat teridentifikasi dalam saluran reproduksi sebagai respon atas perubahan pola sekresi hormon steroid ovarium, stadium penentu siklus birahi dapat lebih langsung dikenali sebagai waktu saat hewan mau menerima pejantan dan dapat dikawini. Beberapa faktor yang mempengaruhi lamanya siklus birahi antara lain suhu, musim, sinar matahari, umur, penyakit, makanan, genetik, dan faktor hormonal (Hardjopranjoto, 1995).

Hewan percobaan yang digunakan untuk menguji suatu hormon adalah golongan rodensia (mencit / *Mus musculus*) yang paling sering digunakan, karena memiliki beberapa kelebihan dibandingkan dengan hewan percobaan lain, antara lain efisien dan ekonomis karena mudah dipelihara, memiliki banyak anak perkelahiran, ukuran tubuhnya yang kecil tidak memerlukan banyak tempat, selain itu mencit juga peka terhadap pemberian berbagai macam obat (Smith dan Mangkuwidjoyo, 1998). Mencit dikawinkan pada umur lebih dari 50 hari

(Smith dan Mangkoewidjojo, 1998 ; Van Zutphen *et al.*, 1993). Adanya perubahan pada ovarium mempengaruhi bagian lain dari sistem reproduksi secara siklik sehingga menimbulkan siklus birahi atau siklus estrus (Frandsen, 1996). Selama siklus birahi terjadi perubahan-perubahan pada epitel vagina, folikel ovarium, lapisan endometrium, dan myometrium pada uterus serta, tingkah laku hewan betina, dan juga pada bentuk susunan epitel vagina yang disebabkan karena fluktuasi sekresi hormon estrogen dan progesteron (Hafez, 2000). Perubahan-perubahan ini yang digunakan untuk menentukan fase dalam siklus birahi. Siklus birahi pada hewan betina dibagi menjadi empat fase yaitu *proestrus*, *estrus*, *metestrus*, dan *diestrus* (Frandsen, 1992), dimana *proestrus* dan *estrus* termasuk fase folikuler, sedangkan *metestrus* dan *diestrus* termasuk fase luteal (Partodihardjo, 1992).

Proestrus merupakan fase persiapan yang ditandai dengan pemacuan pertumbuhan folikel oleh FSH. Folikel yang sedang tumbuh menghasilkan cairan folikel yang mengandung hormon estrogen. Hormon estrogen inilah yang mempengaruhi suplai darah ke saluran alat kelamin dan meningkatkan pertumbuhannya. Vulva membengkak dan vestibulum berwarna kemerahan karena adanya kongesti pembuluh darah. Bagian vagina dan servik membesar karena pembengkakan sel-sel mukosa dan dimulainya sekresi lendir dari saluran servik (Ismudiono, 1999). Pada fase *proestrus*, terdapat pertumbuhan dan pemasakan folikel dimana sel-sel teka interna dan sel-sel granulosa dari folikel yang masak akan menghasilkan estrogen yang sebagian besar dalam bentuk estradiol 17β (Arthur *et. al.*, 1990). *Proestrus* merupakan periode folikel *de*

Graaf di bawah pengaruh FSH. Di sini, sistem reproduksi mulai persiapan untuk ovulasi (Poernomo, 2004).

Estrus merupakan fase keinginan kawin, periode ini ditandai dengan manifestasi birahi secara fisik (Ismudiono, 1999). Merupakan fase terpenting dalam siklus birahi karena hanya pada fase ini hewan betina mau menerima pejantan. Ciri dari fase estrus yang khas adalah terjadinya kopulasi. Dalam ovarium, folikel *de Graaf* membesar serta mengalami perubahan-perubahan kearah pematangan (Poernomo, 2004). Perubahan yang terjadi dalam fase estrus yaitu pada alat kelamin luar, terlihat adanya penebalan epitel vagina dan adanya lapisan sel kornifikasi. Preparat ulas vagina untuk fase ini terlihat banyaknya sel-sel epitel yang mengalami kornifikasi. Fase estrus akan berakhir kira-kira pada saat pecahnya folikel ovarium atau saat terjadinya ovulasi (Frandsen, 1992).

Metestrus ditandai dengan berhentinya birahi yang tiba-tiba, pada fase ini terjadi ovulasi dengan pecahnya folikel dan rongga folikel secara berangsur-angsur akan mengecil, pengeluaran lendir dari servik juga telah berhenti. Dimulainya ini ditandai dengan mencit tidak mau lagi menerima pejantan untuk aktifitas kopulasi (Ismudiono, 1999). Pada fase ini korpus luteum tumbuh cepat dari sel granulosa folikel yang pecah. Periode metestrus sebagian besar di bawah pengaruh progesteron yang berasal dari korpus luteum. Progesteron menghambat sekresi FSH, sehingga menghambat pembentukan folikel *de Graaf* yang lain dan mencegah terjadinya estrus (poernomo, 2004).

Diestrus merupakan fase terakhir dari siklus birahi, dimana ditandai dengan tidak adanya aktifitas kelamin dan hewan tenang, selain itu

berkembangnya korpus luteum dan menghasilkan hormon progesteron (Ismudiono, 1999; Poernomo, 2004). Pada fase ini pengaruh hormon progesteron terhadap saluran reproduksi semakin nyata. Pada akhir periode ini, korpus luteum menyebabkan perubahan-perubahan retrogresif dan vakuolisasi secara gradual mulai terjadi perkembangan folikel-folikel primer dan sekunder dan akhirnya kembali ke periode proestrus (Poernomo, 2004). Berdasarkan aktivitas ovarium pada pembentukan folikel dan korpus luteum, siklus birahi dibagi menjadi dua fase yaitu fase folikuler yang meliputi fase proesterus dan estrus serta fase luteal yang meliputi fase metestrus dan diestrus (Ismudiono, 1999). Fase folikuler adalah fase yang dimulai dari regresi korpus luteum sampai terjadinya ovulasi. Sedangkan fase luteal dimulai dengan tumbuh dan berfungsinya korpus luteum pada ovarium (Partodiharjo, 1992).

2.2. Anatomi dan Fisiologi ovarium

Ovarium terdapat dua buah, kanan dan kiri dan terletak dalam pelvis. Bentuk dan ukuran ovarium berbeda-beda menurut spesies dan fase dari siklus birahi. Setiap spesies mempunyai sepasang ovarium yang berwarna putih kekuningan sampai merah muda dengan permukaan licin pada sebelum terjadi ovulasi secara teratur. Ovarium mempunyai peranan penting dalam reproduksi yaitu menghasilkan sel telur dan pembentukan hormon untuk mengatur saluran reproduksi yang merupakan fungsi endokrinologi dari ovarium (Ismudiono, 1999). Pada mamalia besar, ovarium relatif sangat kecil dibandingkan dengan besar tubuh dan jumlah sel telur yang dihasilkan dalam satu kali periode pemasakan sedikit (Poernomo, 2004). Dalam sayatan ovarium dapat dibedakan

dua daerah, yaitu daerah tepi ovarium disebut korteks dan daerah tengah ovarium disebut medula. Di daerah kortek, pada ovarium dewasa bisa dilihat berbagai bentuk sel telur yang sedang berkembang. Bentuk-bentuk tersebut berupa oogonium yang sedang tumbuh menjadi oosit primer, oosit sekunder, oosit tersier, dan sel telur. Oogonium merupakan sel berdiri sendiri, disebelah luarnya tidak diselimuti oleh sel-sel yang berdiri lain dan letaknya berkelompok-kelompok atau tersebar. Oleh karena itu, mudah dibedakan dari bentuk-bentuk lain. Oosit diselimuti oleh lapisan sel-sel folikel, oosit beserta sel-sel folikel yang mengitarinya disebut folikel (Hardjopranto, 1995 ; Poemomo, 2004).

Ovarium dewasa dapat ditemukan beberapa bentuk folikel, dan dalam mencapai perkembangannya, folikel melalui tingkatan-tingkatan perkembangan yaitu folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier (yang sedang bertumbuh) dan folikel *de Graaf* (yang matang). Perbedaan ini didasarkan oleh keadaan lapisan sel-sel folikel yang mengitarinya. Pada ovarium yang belum dewasa, bentuk-bentuk folikel belum ada, tetapi hanya oogonium. Folikel tersier atau folikel *de Graaf* mudah dibedakan dari folikel yang lain, karena besarnya dan ada rongga (*antrum*) folikel. Rongga tersebut berisi cairan folikel yang mengandung hormon estrogen. Dua komponen penting yang terdapat pada ovarium yaitu folikel dan korpus luteum. Folikel pada ovarium berasal dari epitel benih yang melapisi permukaan ovarium (Hernawan, 2003)

Perkembangan folikel terjadi pertumbuhan pada waktu hewan betina masih berada didalam kandungan dan setelah lahir. Dalam tahap ini terjadi folikel primer yang berasal dari satu sel epitel benih yang membelah diri. Sel yang

nantinya menjadi ovum berada ditengah-tengah dikelilingi oleh sel-sel kecil pembelahan tadi. Folikel primer selain letaknya yang berada dipermukaan juga ovum belum terbungkus oleh membrana viteline (Ismudiono, 1999).

Pertumbuhan folikel primer menjadi sekunder ini terjadi pada waktu betina telah lahir dan menjalani proses pendewasaan tubuh. Folikel sekunder dapat dibedakan secara mikroskopis, selain lebih besar bentuknya karena jumlah sel-sel granulosanya telah lebih banyak, juga terletak agak jauh dari permukaan ovarium. Ovumnya telah mempunyai pembungkus tipis yang disebut membrana viteline, serta terdapatnya membrana yang lebih tebal yang disebut zona pelusida (Hunter, 1995).

Pada tahap ketiga terjadi perkembangan selanjutnya folikel sekunder menjadi folikel tertier yang ditandai dengan lebih banyaknya sel-sel granulosa, sehingga folikel tampak lebih besar dan letaknya lebih jauh dari permukaan. Perkembangan folikel sekunder menjadi folikel tertier ini terjadi pada waktu hewan menjadi dewasa dan dilanjutkan pada waktu hewan mengalami siklus birahi (Ismudiono, 1999).

Pertumbuhan folikel tersier menjadi folikel *de Graaf* oleh beberapa peneliti dikatakan hanya terjadi proses pemasakan saja, sebab folikel tersier hanya berbeda dalam besarnya dan terjadi hanya beberapa hari menjelang estrus. Pada folikel *de Graaf*, ovum atau sel telur terbungkus oleh masa sel yang disebut kumulus oophorus. Diameter folikel *de Graaf* berbeda-beda menurut jenis hewan. Karena ukurannya bertambah besar, folikel *de Graaf* yang matang menonjol keluar melalui kortek permukaan ovarium (Poernomo, 2004).

Jumlah folikel *de Graaf* yang terbentuk per-siklus birahi, tergantung pada faktor keturunan dan lingkungan (Poernomo, 2004). Selain itu jumlah dan derajat kematangan folikel dipengaruhi oleh sekresi hormon gonadotropin dari hipofisis. Pemberian hormon gonadotropin dari luar dapat merangsang jumlah folikel yang menjadi matang, fenomena ini dipergunakan untuk superovulasi (Ismudiono, 1999). Di dalam folikel *de Graaf*, sel telur seperti terletak disuatu bukit yang dibentuk oleh sel-sel folikel. Bukit tersebut disebut kumulus oophorus. Jumlah sel telur yang ada dalam sebuah folikel *de Graaf* tidak selalu satu jumlahnya, tetapi dapat lebih dari satu seperti pada hewan multipara (hewan beranak banyak) (Poernomo, 2004).

Folikel *de Graaf* menunjukkan bahwa sel telur yang ada didalamnya telah siap untuk diovulasikan. Jika sel telur berhasil diovulasikan, maka sisa folikel *de Graaf* akan berkembang menjadi korpus luteum. Proses ini berlangsung secara bertahap dan perkembangannya bergantung pada nasib sel telur yang di ovulasikan (Poernomo, 2004). Secara berurutan perkembangan sisa folikel *de Graaf* mula-mula disebut korpus luteum haemoragikum (korpus rubrum) (Hardjopranjoto, 1995).

Korpus haemoragikum berbentuk tidak teratur dan mengandung bekuan-bekuan darah. Bentuk ini tidak lain dari folikel *de Graaf* yang mengempis, karena sel telur telah di ovulasikan dan cairan antrum keluar. Bentuk sisa folikel menjelang korpus luteum graviditatum di tandai oleh bekuan-bekuan darahnya berkurang atau sudah lenyap dan tampak sel-sel lutein. Sel besar ini berasal dari sel-sel folikel dari stratum graviditatum. Disamping itu, ada sel-sel yang

bentuknya kecil dan berasal dari teka interna. Sel-sel yang berbentuk lebih besar menghasilkan hormon estrogen dan sel-sel kecil menghasilkan hormon progesteron, oleh karena itu ovarium disebut kelenjar eksokrin dan endokrin. Hasil eksokrinnya berupa sel telur, sedangkan hasil endokrinnya berupa hormon-hormon kelamin betina (Hardjopranto, 1995).

Pada perkembangan berikutnya adalah terbentuknya korpus luteum graviditatum dan dibentuk jika sel telur diovulasikan berkembang terus, artinya induk menjadi bunting. Jika sel telur gagal berkembang menjadi embrio, maka yang dibentuk bukan korpus luteum, tetapi korpus luteum persisten terjadi umumnya akibat adanya kelainan uterus, misalnya pada keadaan endometritis yang kronis, pyometra, mumifikasi fetus. Biasanya korpus luteum persisten menyebabkan terjadinya anestrus. Hal ini disebabkan kegagalan pelepasan bahan luteolitik dari endometrium uterus (Hardjopranto, 1995). Korpus luteum akan luruh atau regresi, hal ini terjadi setelah fungsi korpus luteum berakhir yang disebut korpus albicans, karena mengandung serabut-serabut jaringan pengikat, banyaknya lebih kecil dan sel-sel lutein menjadi sedikit, proses pembentukan folikel selalu lancar, oleh karena sel telur adakalanya mati sebelum ovulasi. Sisa folikel demikian disebut folikel atresi (Poernomo, 2004).

2.3. Ovulasi pada mamalia

Golongan mamalia dikenal dua macam proses ovulasi yaitu ovulasi spontan (*spontaneous ovulation*) dan ovulasi tertangkap (*induced ovulation*). Ovulasi spontan yaitu ovulasi tanpa adanya suatu stimulasi fisik apapun sebelumnya. Proses ovulasi pada hewan betina akan diulangi secara teratur setiap jangka waktu

tertentu yang tetap. Lamanya jangka waktu yang tetap ini berbeda-beda satu spesies hewan dengan spesies lainnya. Jangka waktu ini disebut satu siklus birahi. Ovulasi terjadi pada periode birahi dari satu siklus birahi. Pada hewan betina yang mengalami kebuntingan, siklus birahi akan berhenti dan ovulasipun tidak terjadi serta periodenya diganti dengan periode graviditas. Hewan yang memperlihatkan adanya ovulasi spontan adalah sapi, domba, babi, kuda, primata.

Pada ovulasi tertentak, proses ovulasinya terjadi karena adanya stimulasi atau gertakan servik pada waktu proses koitus. Hewan-hewan yang termasuk ovulasi tertentak adalah kelinci, kucing, tikus, mencit, dan marmot, serta anggota famili unta (Hardjopranjoto, 1995; Frandson, 1992).

Hewan-hewan yang tergolong *induced ovulator* tidak mempunyai siklus birahi (*estrus cycle*). Oleh karena itu secara teoritis, hewan *induced ovulator* dapat menerima pejantan setiap waktu (Hardjopranjoto, 1995).

Pecahnya folikel yang telah masak dan disertai keluarnya ovum dari folikel disebut dengan ovulasi (Ismudiono, 1999). Proses ovulasi ditandai dengan retaknya dinding folikel dibagian stigma dan setelah itu cairan folikel meleleh keluar. Bersamaan dengan keluarnya cairan folikel inilah sel telur keluar dari dalam folikel (Partodihardjo, 1992 ; Poernomo, 2004). Stigma adalah permukaan folikel yang menonjol keluar dari badan ovarium, bebas dari pembuluh darah, dan menjadi tempat pecahnya folikel. Penonjolan itu disebabkan karena adanya tekanan yang lebih besar dari dalam folikel sehingga stigma menonjol kemudian robek dan pada saat sel telur sudah masak dan siap untuk diovulasikan. Lama

ovulasi tergantung pada letak sel telur didalam folikel, menjelang sel telur diovulasikan (Partodihardjo, 1992).

Folikel *de Graaf* mendekat kepermukaan ovarium bahkan menonjol keluar. Cairan folikel yang mengisi antrum maksimal dan kumulus oophorus mulai berdesintegrasi, sehingga sel telur berikut selaputnya bebas bergerak dalam folikel. Cairan folikel keluar setelah interval singkat, sel telur bergerak menuju bagian yang terbuka atau robek. Lebih banyak cairan yang mengalir keluar folikel membawa sel telur yang masih diikat oleh kumulus oophorus, kemudian ditangkap oleh fimbriae dari infundibulum. Waktu yang dibutuhkan oleh seluruh proses ovulasi tergantung kepada lokasi sel telur dalam folikel (Hardjopranto, 1995).

Proses terjadinya ovulasi merupakan rangkaian mekanisme fisiologik, biokimikal, biofisikal. Kadar hormon gonadotropin sebelum ovulasi akan meningkatkan produksi prostaglandin pada folikel yang diproduksi oleh sel-sel granulosa. Prostaglandin akan merangsang kontraksi ovarium dan mengaktifkan fibroblast sel teka untuk berproliferasi dan mengeluarkan enzim proteolitik yang akan melunakan dinding folikel dan lamina dasar. Hormon steroid terutama progesteron dalam hal ini sangat berperan. Untuk terjadinya ovulasi, berlangsung disosiasi yang progresif dan dekomposisi dari beberapa lapisan sel pada sekeliling apeks folikel sebelum ovulasi. Hasil dari aktivitas enzim proteolitik yang diproduksi oleh sel-sel granulosa dan atau fibroblast merupakan respon terhadap pengaruh LH, progesteron, dan prostaglandin. Kebanyakan hewan berovulasi secara spontan menjelang akhir birahi (Ismudiono, 1999).

Proses terjadinya korpus luteum yaitu setelah terjadinya ovulasi, rongga folikel terisi oleh darah dan cairan limfe akibat terjadinya perdarahan dalam folikel, sehingga membentuk struktur yang disebut korpus haemoragikum (Hafez, 2000). Dengan adanya perdarahan, hewan betina tidak lagi birahi dan memasuki fase luteal. Fase luteal darah yang ada akan membeku dalam rongga folikel diresorpsi dan proses luteinisasi dimulai sehingga terbentuklah korpus luteum oleh sel-sel granulosa dan sel-sel teka (Nalbandov, 1990). Bila terjadi kebuntingan, korpus luteum akan dipertahankan dan dikenal dengan nama korpus luteum graviditatum, namun jika tidak terjadi kebuntingan maka korpus luteum akan mengalami regresi (Thomaszewska, 1991).

2.4. Kontrol endokrin terhadap ovulasi

Proses pertumbuhan dan perkembangan folikel ovarium sangat bergantung pada kehadiran FSH dan LH, karena kedua hormon tersebut sangat esensial dalam sintesis estrogen. Ovarium merupakan organ otonom, kemampuan fungsionalnya dipengaruhi oleh banyak rangsangan dari luar yang disalurkan ke sistem saraf pusat kemudian diterjemahkan ke dalam pesuruh-pesuruh kimia yang bereaksi secara langsung pada ovarium. Pertumbuhan dan perkembangan folikel ovarium mamalia tergantung pada FSH, namun LH diperlukan pemasakan akhirnya. LH bereaksi terhadap folikel yang sudah dipersiapkan oleh FSH untuk menggiatkan pertumbuhan praovulasi dan sekresi estrogen (Hernawan, 2003 ; Ismudiono, 1999).

Folikel ovarium matang dan kadar estrogen di atas ambang akan berespon terhadap hipotalamus untuk menekan pelepasan FSH dan selanjutnya

memfasilitasi pelepasan LH untuk menandai proses ovulasi (Intervet, 1998). Pada saat tersebut sel-sel granulosa memproduksi inhibin yang bekerja secara khusus untuk menghambat produksi FSH (*feedback negatif*), tingginya kadar estrogen merupakan sinyal untuk pelepasan LH dalam kaitannya dengan persiapan ovulasi. Pelepasan lebih lanjut LH menyebabkan ovulasi dan transformasi folikel kosong menjadi korpus luteum (Hernawan, 2003).

Korpus Luteum mengalami regresi pada akhir periode akhir fase diestrus, hal ini menyebabkan terjadinya penurunan progesteron dalam darah. Penurunan progesteron mengakibatkan terjadinya mekanisme umpan balik positif terhadap hipotalamus, sehingga hipotalamus akan mensekresikan GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*). GnRH merangsang hipofisa anterior untuk mensekresikan hormon gonadotropin yaitu FSH dan LH (Ismudiono 1999).

FSH dianggap sebagai substansi yang mengawali siklus birahi dan berfungsi untuk merangsang folikel. Dalam pertumbuhannya folikel menghasilkan hormon inhibin yang menghambat kerja FSH dan hormon estrogen yang bekerja dengan mekanisme umpan balik positif pada hipotalamus untuk mensekresikan LH. Membanjirnya LH pada saat pre ovulasi menyebabkan pecahnya dinding folikel dan terjadinya ovulasi, selain itu LH juga berfungsi untuk mengawali pertumbuhan tunas luteal serta merangsang pertumbuhan korpus luteum. Korpus luteum yang terbentuk menghasilkan progesteron yang bekerja dengan mekanisme umpan balik negatif terhadap hipotalamus dan hipofisa anterior (Tomaszewska dkk, 1991).

2.5. Superovulasi dengan hormon gonadotropin

Superovulasi merupakan suatu teknik untuk merangsang pembentukan sejumlah besar folikel dalam ovarium dan mematangkan lebih cepat dari kemampuan alamiah. Lebih lanjut dikemukakan untuk dapat terjadinya superovulasi diperlukan pemakaian hormon gonadotropin. Superovulasi secara komersial dilakukan pada ternak betina unggul dengan menyuntikan hormon gonadotropin yang berfungsi merangsang pertumbuhan folikel dan mematangkan lebih cepat, sehingga diharapkan jumlah sel telur yang dapat diovulasikan lebih baik dari keadaan normal (Hernawan, 2003).

Metode untuk memperoleh superovulasi yang terkendali adalah dengan menggunakan gonadotropin yaitu PMSG, FSH, dan hMG. Dalam periode ovulasi siklus birahi diatur oleh hormon gonadotropin terutama FSH dan LH. Aktifitas kedua hormon ini dipicu oleh mekanisme umpan balik positif dari estrogen yang dihasilkan oleh folikel *de Graaf* yang masak (Hunter, 1995). PMSG ditemukan pada plasenta yang didapat dari darah kuda yang bunting. PMSG merupakan hormon glikoprotein terdiri dua sub unit α dan β mirip dengan LH dan FSH tetapi dengan kandungan karbohidrat yang lebih tinggi terutama asam sialat. Sekresi PMSG merangsang pembentukan folikel pada ovarium seperti FSH juga mempunyai efek seperti LH. Jadi PMSG diterangkan mempunyai aksi biologi seperti FSH dan LH dimana efek FSH lebih dominan dari pada LH. PMSG bekerja dengan cara mencegah atau menghambat proses atresia dari folikel ovarium. Kelemahan dari PMSG adalah waktu paruh yang panjang mengakibatkan terjadinya overstimulasi ovarium, folikel unovulasi, kista ovarium,

dan menurunkan kualitas embrio yang dihasilkan (Hardjopranjoto, 1995 ; Putro, 2001).

FSH merupakan hormon glikoprotein yang tersusun dari dua sub unit α dan β , sub unit tersebut tidak mempunyai aktifitas biologik apabila bekerja sendiri-sendiri. Pada hewan betina, FSH merangsang pertumbuhan dan maturasi dari folikel *de Graaf* pada ovarium. FSH bukan penyebab terjadinya sekresi estrogen dari ovarium sendiri tetapi adanya LH yang merangsang produksi estrogen dari ovarium. Secara umum penggunaan FSH untuk superovulasi lebih disukai karena menghasilkan lebih banyak ovulasi, jumlah folikel unovulasi lebih sedikit, embrio yang dapat diperoleh lebih banyak dan kualitasnya juga lebih baik dibandingkan penggunaan PMSG (Hernawan, 2003). Hormon gonadotropin selain FSH dan PMSG, hMG juga dapat digunakan untuk induksi superovulasi, tetapi hormon ini belum dikenal dikalangan masyarakat peternak sekaligus kurang mendapat perhatian khusus dari para peneliti di Indonesia.

2.6. human Menopause Gonadotrophin (hMG)

Siklus seksual wanita yang berusia antara 45-55 tahun, menjadi tidak teratur dan ovulasi tidak terjadi selama siklus birahi. Seiring dengan bertambahnya usia dan penurunan fungsinya, ovarium manusia menjadi tidak berespon terhadap gonadotropin sehingga siklus birahi berhenti (Ganong, 1995). Saat siklus birahi berhenti dan hormon kelamin menghilang dengan cepat sampai tidak ada, dikenal dengan sebutan menopause. Menopause adalah haid terakhir atau terjadinya haid terakhir (Guyton, 1997).

human Menopause Gonadotrophin dihasilkan dalam jumlah tinggi pada wanita yang telah mengalami masa *post menopause* dan dikeluarkan lewat ginjal melalui urin (Christopher dan Rayturn, 2001). Urin merupakan hasil akhir metabolisme yang disekresikan melalui ginjal dan masih mengandung beberapa substansi yang terlarut dalam filtrat dengan berat molekul tertentu (Guyton, 1994). Komposisi urin terdiri atas 95% air; 2,5% urea dan sisa 2,5% yang lainnya merupakan campuran dari mineral, garam, hormon, dan enzim (Van der Kroon, 2001).

human Menopause Gonadotropin merupakan hormon glikoprotein yang terdapat pada urin wanita *menopause* dan *pasca menopause*. Hormon ini berasal dari kelenjar pituitari dan memiliki aktifitas biologik mirip FSH dan LH (dominan FSH), meskipun potensiasinya lebih rendah dibandingkan dengan hormon FSH dan LH yang terdapat pada kelenjar pituitari (Van Rijkom.,*et al*, 2002).

human Menopause Gonadotropin juga dapat digunakan untuk superovulasi karena kaya akan aktifitas FSH dan LH. Hormon FSH merupakan hormon glikoprotein yang larut air dengan berat molekul 30 kDa-37 kDa, mengandung 207 macam asam amino dan 15 macam karbohidrat serta mempunyai waktu paruh antara 2-5 jam, seangkan LH merupakan hormon glikoprotein yang mempunyai berat molekul 26 kDa-30 kDa, dengan 216 macam asam amino dan waktu paruhnya 30 menit karena kandungan asam sialatnya sangat rendah (Rabe, 2003; Putro, 2001). Hormon FSH dan LH tersusun atas dua sub unit α dan β , keduanya tidak mempunyai aktifitas biologik jika bekerja sendiri-sendiri. Sub unit α merupakan rangkaian asam amino dengan karbohidrat

yang dikenal sebagai glikoprotein. Sub unit β merupakan asam amino yang menjadikan masing-masing hormon bersifat spesifik (Jaffe, 2004; Ismudiono, 1999; Partodiharjo, 1992).

Peningkatan yang sangat tajam ini terjadi karena ovarium dari wanita *post menopause* tidak lagi mensekresi hormon steroid dalam jumlah yang cukup besar sehingga efek umpan balik positif dari estrogen dan progesteron terhadap hypothalamus menjadi berkurang. Hal inilah yang menyebabkan sekresi FSH dan LH meningkat sangat tajam (Ganong, 1995). hMG dapat digunakan untuk memacu perkembangan ovum, selain itu dapat pula dipergunakan sebagai terapi pada kasus inovulasi karena menunjukkan respon yang sangat baik setelah dilakukan terapi dengan hMG. Diketahui umur wanita juga sangat mempengaruhi besarnya kandungan hMG yang disekresikan pada urin (Chahill *et al*, 1994).

Tabel 2.1. Ekresi FSH dan LH melalui urin wanita dalam berbagai tahapan reproduksi berdasarkan umur

<i>Reproduksi stage</i>	<i>No. of subjects</i>	<i>Age range (Yr)</i>	<i>FSH Excretion (IU/24 h)</i>	<i>LH Excretion (IU/24 h)</i>
<i>Early reprodktive</i>	6	19-25	11,1 \pm 1,1	7,3 \pm 0,7
<i>Premenopausal</i>	6	37-42	79,4 \pm 20,7	20,7 \pm 4,6
<i>Perimenopausal</i>	6	40-51	87,1 \pm 12,5	18,6 \pm 4,6
<i>postmenopausal</i>	6	50-63	80,1 \pm 27,7	69,7 \pm 28,0

Sumber : Odell, 1995

Pengalaman terapi *infertility* dengan menggunakan hMG untuk ovulasi sejak awal tahun 1960an. Disamping sulitnya melakukan ekstraksi hMG dari urin wanita *post menopause*, kontaminasi lain masih terjadi (Guidice *et al*, 1994). Pada

saat pertama uji coba hMG sedikit dijumpai lokal alergi dan kejadian ini tidak selalu konsisten (Rogers *et al*, 1995). Efek yang terpenting diketahui bahwa konsentrasi estradiol, tidaklah terlalu terjadi peningkatan secara drastis, sehingga dapat dikatakan sistik ovarii jarang terjadi (Teisser *et al*, 1999).

Menurut Guyton (1994) :

Tabel 2.2. Kadar estrogen yang disekresikan dalam urin (MU/24 jam)

Umur (tahun)	Jumlah kadar estrogen dalam urin (MU/24 h)
0-12	Estrogen yang disekresikan sedikit \pm 25 MU
12-13	Estrogen terus meningkat antara 200-300 MU
13-40	Estrogen mencapai puncaknya yaitu 400 MU dan lambat laun mulai mengalami penurunan sampai 200 MU
40-60	Estrogen terus menurun dan kemudian stabil pada 50 MU

Tabel 2.3. Kadar gonadotropin yang dikeluarkan melalui urin (MU/24 jam)

Umur (tahun)	Jumlah kadar gonadotropin dalam urin (MU/24 h)
0-10	Gonadotropin belum diproduksi
10-20	Gonadotropin yang diproduksi < 10 MU
20-40	Gonadotropin terus meningkat \pm 10 MU
40-60	Gonadotropin meningkat tajam hingga 60 MU, selanjutnya mengalami penurunan terus menerus

2.7. *Activated charcoal* (karbon aktif)

Charcoal (karbon) berupa bahan yang berwarna hitam, porous, dan lunak, yang dibuat dengan cara memanaskan atau membakar bahan-bahan yang mengandung substansi karbon (batang kayu, atau pohon, kulit kelapa) dengan jumlah udara yang terbatas. Sedangkan serbuk *activated charcoal* dibuat dari partikel karbon yang sangat kecil yang mempunyai kemampuan untuk mengikat bahan kimia organik (pestisida) sangat tinggi (Miller dan Mc Carty, 1999).

Activated charcoal sering digunakan untuk mengabsorpsi bahan-bahan kimia organik selama bertahun-tahun, yaitu untuk memindahkan kontaminan organik air buangan, dan untuk memurnikan air. Oleh karena kebanyakan pestisida merupakan bahan kimia organik, maka *activated charcoal* sangat efektif bila digunakan untuk menginaktifkan atau mengabsorpsi pestisida dalam tanah. *Activated charcoal* juga efektif dalam mengabsorpsi substansi bertipe aromatik (acetaminopen, salicylates, barbiturates, dan tricyclic-depresan atau benzoid) (Miller dan McCarty, 1999).

BAB 3
MATERI DAN METODE

Revisi

848

MATHEMATIKA

BAB 3 MATERI DAN METODE

3.1. Waktu dan Tempat penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kemajiran Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya, waktu penelitian dimulai dari bulan Januari sampai bulan Februari 2006.

3.2. Materi dan Alat penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : menggunakan hewan coba mencit betina sebanyak 30 ekor yang diperoleh dari PUSVETMA, *Urin wanita post menopause* yang berusia 50-80 tahun. *Activated charcoal* (karbon aktif), NaCl fisiologis untuk pembuatan ulas vagina dan untuk perlakuan kontrol.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini, terutama pada pemisahan urin wanita *post menopause* dengan *activated charcoal* yang mengandung hMG diperlukan alat-alat sebagai berikut : timbangan analitik, tabung reaksi, elenmeyer, tabung berskala, gelas ukur, alat sentrifugasi, spuit, kertas saring, bak plastik lima buah dengan tutup anyaman kawat sebagai kandang mencit, tempat pakan, botol untuk tempat minum mencit, pinset bedah, skalpel, mikroskop, obyek glass, freezer, kertas label.

3.3. Metode penelitian

3.3.1. Pemisahan urin wanita *post menopause* dengan *activated charcoal*

Tahap pertama dilakukan pemisahan urin wanita *post menopause* dari zat toksik , zat warna, dan hormon steroid dengan menggunakan *charcoal*. *Charcoal*

berfungsi untuk mengabsorpsi dan menginaktifkan bahan-bahan kimia organik, dan biasanya digunakan untuk memisahkan kontaminan organik dari air buangan, dan memurnikan air. Pemisahan ini dilakukan untuk mencegah terjadinya kontaminasi baan-bahan kimia organik terhadap protein hMG yang terdapat pada urin wanita *post menopause*, sehingga tidak mempengaruhi hasil yang diharapkan.

Charcoal ditimbang sebanyak 5 mg, lalu dicampurkan kedalam tabung reaksi yang berisi urin wanita *post menopause* sebanyak 10 ml. Campuran *charcoal* dan urin diaduk hingga homogen, yang selanjutnya dituang pada tabung sentrifus dan disentrifus denga kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Supernatan hasil dari sentrifus disaring hingga jernih kedalam tabung erlenmeyer dengan menggunakan kertas saring. Kemudian dimasukkan kedalam *freezer* untuk menghindari terjadinya kontaminasi.

3.3.2. Perlakuan pada hewan coba

Tahap perlakuan untuk memulai penelitian ini adalah persiapan mencit sebanyak 30 ekor mencit betina untuk ditempatkan dalam kandang khusus, setiap kandang berisi enam ekor mencit betina yang mempunyai kisaran umur dua bulan yang diambil secara random. Pakannya menggunakan pakan ayam BR-1 dan diberi air minum adlibitum. Sebelum diberi perlakuan mencit diadaptasikan selama dua minggu. Dari 30 ekor mencit yang diambil secara random ditempatkan dalam lima perlakuan yaitu: P0 kelompok perlakuan dengan dosis penyuntikan 0,1 ml PZ, P1 kelompok perlakuan dengan dosis penyuntikan 0,1 ml urin, P2 kelompok perlakuan dengan dosis penyuntikan 0,2 ml urin, P3 kelompok perlakuan dengan dosis penyuntikan 0,3 ml urin, P4 kelompok perlakuan dengan

dosis penyuntikan 0,4 ml urin, yang masing-masing perlakuan berisi enam ekor mencit. Penyuntikan dilakukan secara sub kutan dengan interval waktu 24 jam selama 10 hari. Penyuntikan pada penelitian ini dilakukan secara sub kutan kaerena cara kerjanya lebih lama, sehingga bisa bekerja pada fase-fase birahi pada mencit.

3.3.3. Pengambilan ovarium pada hewan coba

Hewan coba dikorbankan dengan menggunakan eter sebelum dilakukan pengambilan ovarium. Pengambilan ovarium dengan pembedahan pada mencit tepat pada bagian abdomen, kemudian ovarium diambil dan dibersihkan dari bagian-bagian lainnya, setelah itu dimasukkan pada alkohol 10 % supaya organ tidak mengkerut.

3.3.4. Pembuatan sediaan histologi ovarium

Metode pembuatan histologi ovarium meliputi : fiksasi dan pencucian, dehidrasi dan clearing, infiltrasi (*embedding*), pembuatan balok parafin, pengirisan dengan mikrotom secara melintang pada beberapa bagian ovarium. Pengirisan organ ovarium dilakukan secara acak, dan dalam satu obyek glass terdapat tiga irisan. Kemudian dilakukan pewarnaan dengan metode Harris dengan menggunakan *Hematoxylin Eosin* dan penutupan *obyek glass* dengan *cover glass (mounting)*. Preparat dilihat dibawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali.

3.3.5. Rancangan percobaan

Rancangan ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit betina dewasa kelamin sebanyak 30

ekor dan pengambilan dilakukan secara acak, terdiri dari lima perlakuan dan enam ulangan.

3.3.6. Peubah

Peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah peubah bebas dan peubah tidak bebas . Peubah bebasnya adalah konsentrasi urin wanita *post menopause*, sedangkan peubah tidak bebas yaitu: jumlah folikel sekunder, folikel tersier, folikel *de Graaf*, dan korpus luteum.

3.3.7. Analisis data

Analisis data dilakukan dengan Uji *Anova* untuk mengetahui adanya perbedaan yang nyata diantara perlakuan yaitu jumlah folikel-folikel yang dihitung dan jumlah korpus luteum. Jika terdapat perbedaan yang nyata dilakukan dengan menggunakan Uji *Duncan* dengan taraf signifikan 5% (Kusriningrum, 1989).

BAB 4
HASIL PENELITIAN

Pustaka

BAB 4 HASIL PENELITIAN

Pemberian urin wanita *post menopause* yang telah dinetralkan dengan *charcoal* pada mencit, urin wanita *post menopause* mengandung FSH dan LH untuk memanipulasi pertumbuhan folikel sekunder, folikel tersier, folikel *de Graaf*, dan korpus luteum. Penyuntikan dilakukan setiap hari secara sub kutan, selama sepuluh hari dengan dosis yang berbeda pada setiap perlakuan.

Data hasil pemeriksaan pertumbuhan folikel dianalisis dengan *Oneway Anova* (SPSS versi 13) dan dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Hasil rataan dan simpangan baku folikel sekunder, folikel tertier, folikel *de Graaf*, dan korpus luteum dapat dilihat pada tabel di bawah berikut ini.

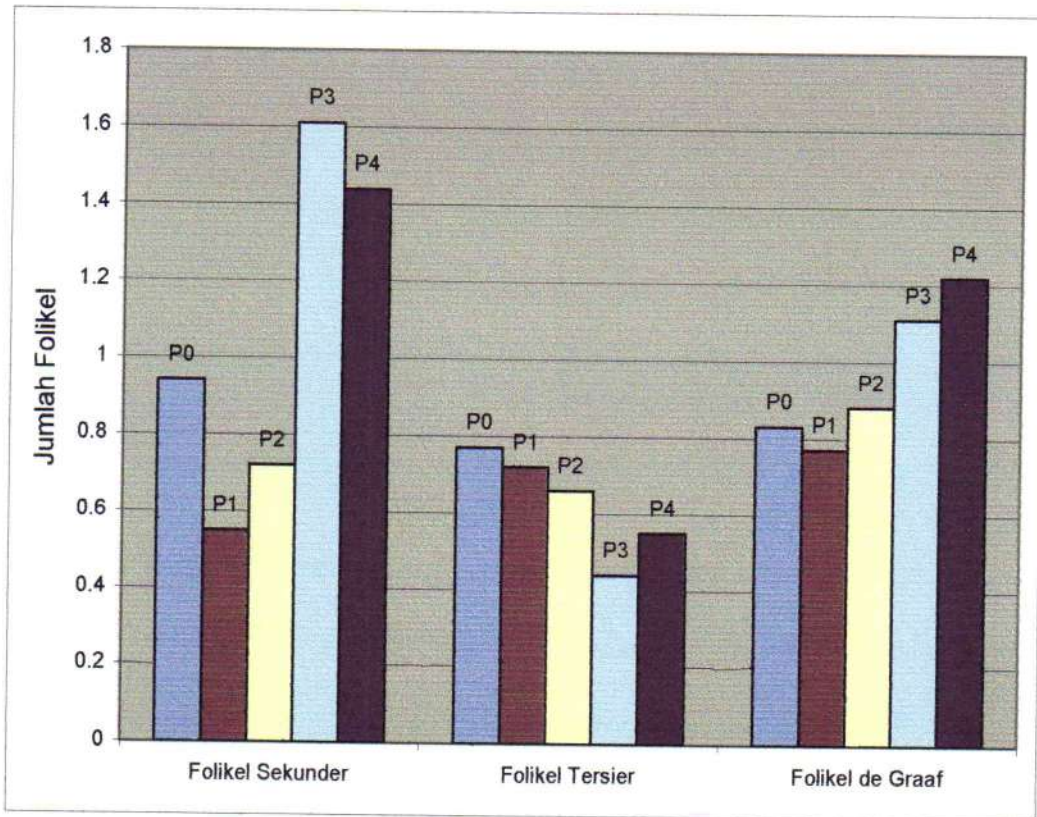
4.1. Folikel sekunder, folikel tersier, folikel *de Graaf*

Tabel 4.1. Hasil rataan dan simpangan baku jumlah folikel sekunder, folikel tersier dan folikel *de Graaf*

Perlakuan	Jumlah folikel sekunder ($\bar{x} \pm SB$)	Jumlah folikel tersier ($\bar{x} \pm SB$)	Jumlah folikel <i>de Graaf</i> ($\bar{x} \pm SB$)
P0	0,94 ^{abc} ± 0,61	0,77 ^a ± 1,00	0,83 ^a ± 0,83
P1	0,55 ^a ± 0,45	0,72 ^a ± 0,74	0,77 ^a ± 0,49
P2	0,72 ^{ab} ± 0,49	0,66 ^a ± 0,55	0,88 ^a ± 0,54
P3	1,61 ^c ± 0,82	0,44 ^a ± 0,43	1,11 ^a ± 0,27
P4	1,44 ^{bc} ± 0,71	0,55 ^a ± 0,50	1,22 ^a ± 0,93

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

- P0 : Perlakuan dengan pemberian 0,1 ml PZ
- P1 : Perlakuan dengan pemberian 0,1 ml urin
- P2 : Perlakuan dengan pemberian 0,2 ml urin
- P3 : Perlakuan dengan pemberian 0,3 ml urin
- P4 : Perlakuan dengan pemberian 0,4 ml urin



Gambar 4.1. Diagram batang jumlah perhitungan folikel sekunder, folikel tersier, folikel de Graaf.

Keterangan: P0 : Perlakuan dengan pemberian 0,1 ml PZ
 P1 : Perlakuan dengan pemberian 0,1 ml urin
 P2 : Perlakuan dengan pemberian 0,2 ml urin
 P3 : Perlakuan dengan pemberian 0,3 ml urin
 P4 : Perlakuan dengan pemberian 0,4 ml urin

Berdasarkan data pada tabel 4.1 dan perhitungan analisis data menggunakan *Oneway Anova* yang dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT), ternyata terdapat perbedaan yang nyata pada jumlah folikel sekunder antara perlakuan. P1 sangat berbeda nyata dengan P3 dan P4 ($P < 0,01$), perbedaan tersebut juga dapat dilihat pada gambar 4.1. diagram batang jumlah perhitungan folikel sekunder, folikel tersier, dan folikel *de Graaf*, sehingga pada penelitian ini peningkatan jumlah folikel sekunder dapat dipengaruhi oleh

pemberian urin wanita *post menopause* yang telah dinetralkan dengan *activated charcoal* secara sub kutan.

Jumlah folikel tersier pada perlakuan tidak dipengaruhi dengan adanya pemberian urin wanita *post menopause* secara sub kutan. Dapat dilihat bahwa antara perlakuan P1, P2, P3, P4 tidak berbeda dengan P0 (kontrol) ($P > 0,05$). Pada gambar 4.1 dapat dilihat tidak adanya peningkatan jumlah folikel tersier, jadi folikel sekunder dalam pertumbuhan normal.

Tabel 4.1 menunjukkan hasil rata-rata dan simpangan baku pada folikel *de Graaf* dengan pemberian urin wanita *post menopause* yang telah dinetralkan dengan *activated charcoal* ternyata tidak mempengaruhi jumlah folikel *de Graaf*. Perlakuan P1, P2, P3, dan P4 tidak berbeda nyata dengan perlakuan pada kontrol ($P > 0,05$). Gambar 4.1 menunjukkan bahwa pertumbuhan folikel *de Graaf* sangat sedikit sekali, sehingga dapat disimpulkan tidak adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan.

4.2. Korpus Luteum

Tabel 4.2. Hasil rata-rata dan simpangan baku jumlah korpus luteum

Perlakuan	Jumlah korpus luteum ($\bar{x} \pm SB$)
P0	2,05 ^{ab} \pm 1,85
P1	2,27 ^b \pm 0,85
P2	4,55 ^c \pm 0,93
P3	4,88 ^c \pm 1,32
P4	0,61 ^a \pm 1,01

Keterangan : superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan terdapat perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,05$)

P0 : Perlakuan dengan pemberian 0,1 ml PZ

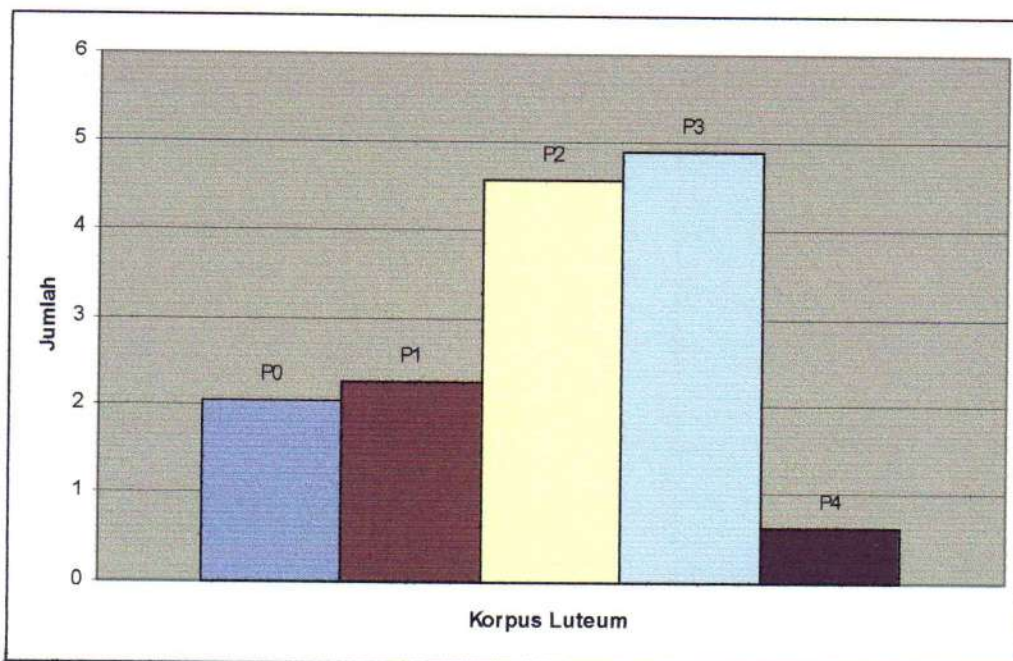
P1 : Perlakuan dengan pemberian 0,1 ml urin

P2 : Perlakuan dengan pemberian 0,2 ml urin

P3 : Perlakuan dengan pemberian 0,3 ml urin

P4 : Perlakuan dengan pemberian 0,4 ml urin

Berdasarkan data pada tabel 4.2 dan perhitungan analisis data menggunakan *Oneway Anova* yang dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT), ternyata terdapat perbedaan yang sangat nyata pada jumlah korpus luteum antar perlakuan. Hasil tertinggi terdapat pada perlakuan P4 yang sangat berbeda nyata dengan P0, P1, P2, dan P3 ($P < 0,01$), sehingga pada penelitian ini jumlah korpus luteum dipengaruhi oleh pemberian urin wanita *post menopause*. Perbedaan tersebut juga dapat dilihat melalui diagram batang dibawah ini.



Gambar 4.2. Diagram batang jumlah perhitungan korpus luteum

Keterangan: P0 : Perlakuan dengan pemberian 0,1 ml PZ
 P1 : Perlakuan dengan pemberian 0,1 ml urin
 P2 : Perlakuan dengan pemberian 0,2 ml urin
 P3 : Perlakuan dengan pemberian 0,3 ml urin
 P4 : Perlakuan dengan pemberian 0,4 ml urin

BAB 5

PEMBAHASAN

Rahayu

TAB. 3
HASIL HASIL

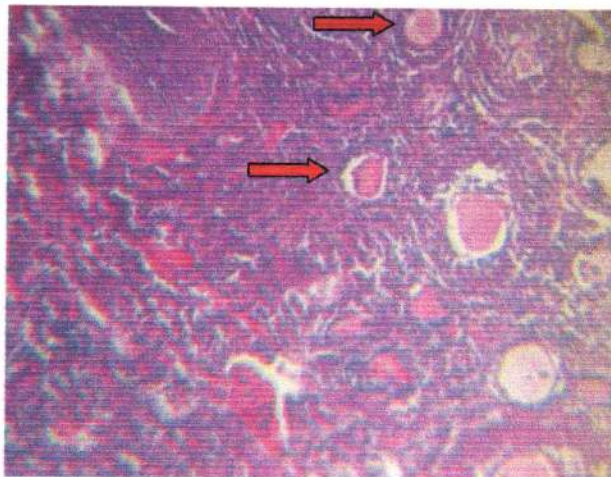
BAB 5 PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil yang telah diperoleh dari penelitian dengan judul pengaruh pemberian urin wanita *post menopause* yang telah dinetralkan dengan *activated charcoal* terhadap pertumbuhan folikel-folikel pada ovarium dan korpus luteum mencit (*Mus musculus*) betina, diketahui jumlah folikel sekunder pada perlakuan P0: $0,9 \pm 0,61/ 10$ hari; P1: $0,55 \pm 0,45/ 10$ hari; P2: $0,72 \pm 0,49/ 10$ hari; P3: $1,61 \pm 0,82/ 10$ hari; P4: $1,4442 \pm 0,65/10$ hari. Jumlah folikel tersier pada perlakuan P0: $0,77 \pm 1,00/ 10$ hari; P2: $0,66 \pm 0,55/ 10$ hari; P3: $0,44 \pm 0,40/ 10$ hari; P4: $0,55 \pm 0,50/ 10$ hari. Jumlah folikel de Graaf pada perlakuan P0: $0,83 \pm 0,83/ 10$ hari; P1: $0,72 \pm 0,49/ 10$ hari; P2: $0,88 \pm 0,54/ 10$ hari; P3: $1,11 \pm 0,27/ 10$ hari; P4: $1,22 \pm 0,38/ 10$ hari. Jumlah korpus luteum pada perlakuan P0: $2,05 \pm 1,85/ 10$ hari; P2: $2,27 \pm 0,85/ 10$ hari; P3: $4,88 \pm 1,32/ 10$ hari; P4: $0,61 \pm 1,01/ 10$ hari.

Tahapan pertama perkembangan folikel terjadi pertumbuhan pada waktu hewan betina masih berada dalam kandungan dan setelah lahir. Folikel pertama yang terbentuk adalah folikel primer, pada penelitian ini folikel primer tidak dimasukkan dalam pembahasan, ini dikarenakan folikel primer merupakan folikel yang normal sejak lahir.

GnRH (*Gonadotrophin Relaeasing Hormone*) akan merangsang hipotalamus anterior untuk melepaskan FSH dan LH. FSH akan merangsang pertumbuhan folikel-folikel pada ovarium dan folikel-folikel tersebut akan menghasilkan estrogen dan inhibin. Inhibin berfungsi untuk menghambat aktifitas

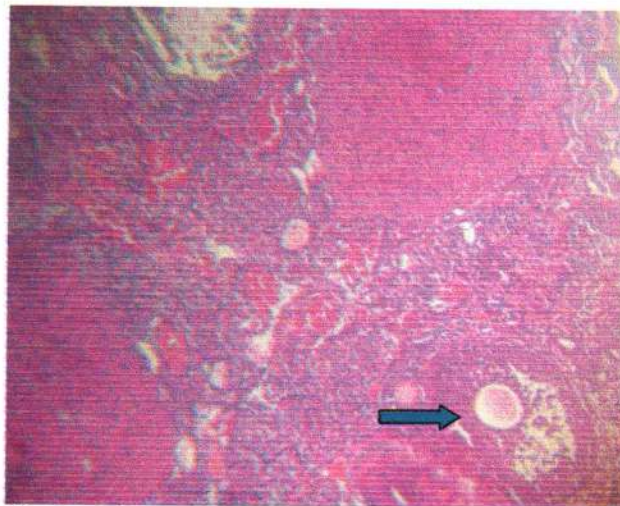
FSH dan estrogen bekerja sebagai umpan balik negatif selama perkembangan folikel sampai folikel masak. Hasil dari penelitian jumlah folikel sekunder terdapat adanya perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$), yaitu terlihat adanya perkembangan folikel lebih dari normal, dengan berkembangannya folikel sekunder berarti FSH yang diproduksi dari hipofisa anterior telah menunjukkan fungsinya dalam merangsang pertumbuhan folikel tersebut. Dengan bertambah banyaknya folikel sekunder maka sekresi estrogen dalam darah meningkat. Pemberian urin wanita *post menopause* yang telah dinetralkan dengan *activated charcoal*, dimana dalam urin wanita *post menopause* yang diduga mengandung hMG ternyata dapat merangsang pertumbuhan folikel sekunder, sehingga jumlah folikel sekunder setelah pemberian urin wanita *post menopause* selama 10 hari menjadi meningkat.



Gambar : 5.1. Folikel sekunder ovarium menciit dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* pada perlakuan I (P1) dengan pembesaran mikroskop 400x .

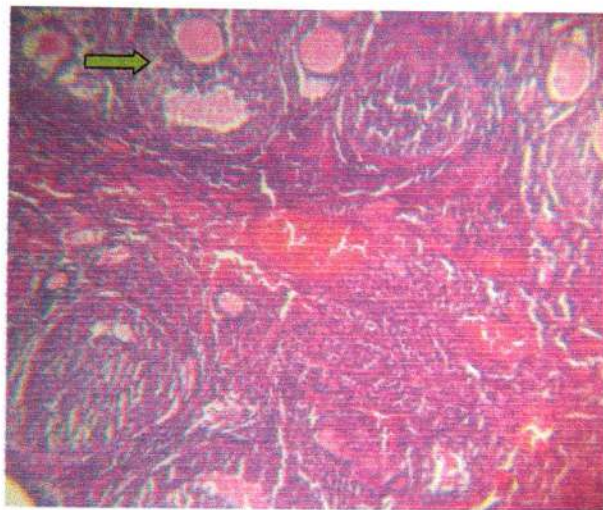
Keterangan:  folikel sekunder

Hasil pengamatan pada folikel tersier menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata antara masing-masing kelompok perlakuan. Folikel tersier yang ditandai dengan banyaknya sel-sel granulosa, sehingga folikel tampak lebih besar dan letaknya lebih jauh dari permukaan. Perkembangan folikel tersier terjadi pada waktu hewan menjadi dewasa dan dilanjutkan pada waktu hewan mengalami siklus birahi (Ismudiono, 1999). Pemberian urin wanita *post menopause* yang telah dinetralkan dengan *activated charcoal* ternyata tidak merangsang ovarium untuk meningkatkan perkembangan folikel tersier, sehingga perkembangan folikel tersier berlangsung normal dan estrogen yang dihasilkan oleh sel teka dan granulosa pada folikel tersier normal. Kadar estrogen yang normal tidak dapat mempengaruhi hipotalamus dalam mensekresikan GnRH yang melepaskan FSH, dimana FSH yang merangsang pertumbuhan folikel. Oleh karena itu pertumbuhan folikel tersier tidak menunjukkan perbedaan yang nyata.



Gambar : 5.2. Folikel tersier ovarium menciit dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* pada perlakuan 4 (P4) dengan pembesaran mikroskop 400x.
Keterangan: ➡ folikel tersier

Jumlah folikel *de Graaf* dari hasil penelitian menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata. Jumlah dan derajat kematangan folikel *de Graaf* dipengaruhi oleh sekresi hormon gonadotropin dari hipotalamus anterior. Pemberian urin wanita *post menopause* yang telah dinetralkan dengan *activated charcoal* tidak menyebabkan rangsangan pada ovarium dan tidak mempengaruhi perkembangan folikel *de Graaf*, serta tidak merangsang hipotalamus untuk mensekresi FSH, disini mekanisme hormonal FSH berjalan normal, dan mengakibatkan folikel *de Graaf* tetap dalam keadaan normal yaitu tidak mengalami peningkatan.

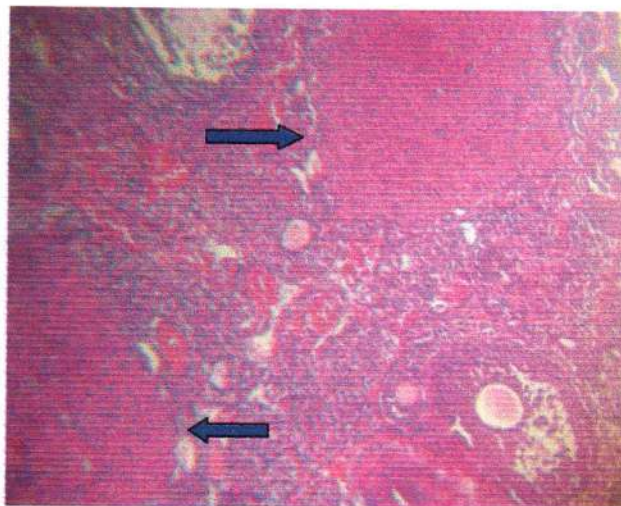


Gambar : 5.3. Folikel *de Graaf* ovarium menciit dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* pada perlakuan 3 (P3) dengan pembesaran mikroskop 400x.

Keterangan: → folikel *de Graaf*

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari penelitian menunjukkan terdapat perbedaan yang sangat nyata pada jumlah korpus luteum kelompok perlakuan P1, P2, P3, dan P4 terhadap P0. Pemasakan folikel-folikel pada ovarium dipengaruhi oleh FSH. FSH akan merangsang pertumbuhan pada folikel ovarium, dan folikel

akan menghasilkan estrogen. Setelah folikel masak, estrogen bekerja menjadi umpan balik positif pada hipotalamus untuk mensekresikan LH-RH (*Luteotropik Hormone-Releasing Hormone*), dan merangsang hipofisa anterior untuk meningkatkan pelepasan LH. Peningkatan LH menyebabkan terjadinya ovulasi, setelah ovulasi maka akan terbentuklah korpus luteum dan menghasilkan progesteron. Pemberian urin dapat menyebabkan rangsangan terhadap hipofisa anterior sehingga mempengaruhi sekresi LH pada mencit. Dibawah pengaruh LH maka korpus luteum tumbuh dengan cepat dari sel-sel granulosa folikel yang telah pecah. Pada mencit juga diketahui bahwa LH berfungsi untuk mempertahankan korpus luteum (Partodihardjo, 1992).



Gambar : 5.4. Korpus luteum ovarium mencit dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* pada perlakuan 4 (P4) dengan pembesaran mikroskop 400x.

Keterangan : ➡ korpus luteum

Keberhasilan penelitian ini dipengaruhi oleh banyak faktor antara lain adanya keseragaman pada siklus birahi mencit, pembuatan preparat histologi ovarium mencit terutama penentuan letak irisan pada ovarium, karena ini sangat

menentukan pada perhitungan jumlah folikel dan korpus luteum. Pemisahan urin wanita *post menopause* dengan menggunakan activated charcoal, telah diketahui *activated charcoal* dapat mengabsorpsi bahan-bahan kimia, zat warna, bau.

BAB 6
KESIMPULAN DAN SARAN

Rahayu

DARU

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian penyuntikan pada mencit secara sub kutan dengan urin wanita *post menopause* yang telah dinetralkan oleh *activated charcoal* dengan dosis 0,1 ml; 0,2 ml; 0,3 ml; dan 0,4 ml adalah:

1. Urin wanita *post menopause* yang telah dinetralkan dengan *activated charcoal* tidak mempengaruhi jumlah folikel tersier dan folikel de Graaf.
2. Urin wanita *post menopause* yang telah dinetralkan dengan *activated charcoal* mempengaruhi jumlah folikel sekunder dan korpus luteum

6.2. Saran

1. Metode pembuatan preparat histologi pada waktu pengirisan dengan mikrotom, seharusnya pengirisan dilakukan secara acak pada bagian-bagian ovarium yang mengandung folike-folikel dan korpus luteum.
2. Perlu metode pemurnian yang lebih spesifik untuk memisahkan hormon gonadotropin yang terdapat pada urin wanita *post menopause*.
3. Berdasarkan hasil yang diperoleh dalam penelitian ini disarankan untuk menggunakan preparat hMG yang telah dimurnikan *patent* sebagai kontrol positif.

RINGKASAN

Pengaruh Pemberian Urin Wanita *Post Menopause* yang Telah Dinetralkan dengan *activated Charcoal* Terhadap Pertumbuhan Folikel dan Korpus Luteum, dibawah bimbingan Indah Norma Triana, MSi., Drh. selaku pembimbing pertama dan Rr.Ratih Ratnasari, M.S., Drh. selaku pembimbing kedua.

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh urin wanita *post menopause* yang mengandung hMG yang disuntikan pada mencit secara sub kutan dengan dosis pemberian 0,1 ml urin; 0,2 ml urin; 0,3 ml urin; 0,4 ml urin, kemudian diamati perubahan jumlah folikel dan korpus luteum pada ovarium mencit betina.

Penelitian ini menggunakan mencit betina strain balb /C yang umur dan beratnya seragam. Mencit tersebut disuntik dengan urin wanita *Post Menopause* secara sub kutan setiap hari selama 10 hari (dua kali siklus birahi mencit), setelah dilakukan 10 hari penyuntikan dengan urin maka dilakukan pembedahan untuk dilakukan pemeriksaan pada jumlah folikel-folikel dan korpus luteum.

Hasil yang didapat dari penelitian menunjukkan pemberian urin wanita *Post Menopause* yang telah dinetralkan dengan *activated charcoal* memberikan pengaruh pada jumlah folikel sekunder dan jumlah korpus luteum, karena adanya peningkatan estrogen, FSH, dan LH dalam darah sehingga dapat mempengaruhi jumlah dari folikel sekunder dan jumlah korpus luteum. Pemberian urin wanita *post menopause* yang telah dinetralkan dengan *activated charcoal* tidak

memberikan perubahan pada folikel tersier dan folikel de Graaf. Tidak adanya perubahan ini bisa terjadi karena rendahnya FSH dalam darah sehingga tidak memacu adanya perubahan jumlah pada folikel tersier dan folikel de Graaf.

DAFTAR PUSTAKA

Rahayu

- Gurnee and Lake, C. 2004. Day 3 FSH Testing Follicle Stimulating Hormone. Testing for egg quality: Ovarian reserve. Advanced Fertility Center of Chicago IVF and Infertility Specialists. Illinois. Chicago.
http://www.advenced_fertility..com/day3fsh.htm. [15 Februari 2006].
- Guyton, Guidice, F., Crisei., and Eshkol, A. 1994. Composition of commercial gonadotrophin preparation extracted from human post-menopausal urine : characterization of non gonadotrophin proteins. *Hum. Reprod.*, 9, 2291-2299. [Abstract].
- Guyton, A. C. 1997. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi Kesembilan. Penerbit Buku Kedokteran ECG. Jakarta.
- Hafez, E.S.E. 1993. *Reproduction in Farm Animals*. 6th edition. Philadelphia: Lea and Febiger. 59 – 106; 130 – 139.
- Hafez, E.S.E. 2000. *Reproduction in Farm Animals*. 7th edition. Phennsylvania: Lea and Febiger.
- Hardjopranto, S. 1995. Ilmu Kemajiran pada Ternak. Airlangga University Press. Surabaya. 37 – 38.
- Herdis., Ida Kusuma., Maman. 2006. Peningkatan Populasi Dan Mutu Genetik Sapi. <http://www.Peningkatangenetik.com/day3fsh.htm>. [11 November 2006]
- Hernawan, E. 2003. Peningkatan Kinerja Reproduksi pada Phase Kebuntingan Melalui Teknik Superovulasi Pada Ternak Domba. <http://www.sinkronisasi birahi. Com. Htm>. (11 November 2006).
- Hunter, E.S.F., 1995. Fisiologi dan Teknologi Reproduksi Hewan Betina Domestik. Penerbit ITB. Bandung. Penerbit Universitas Udayana. Bali. 74-78.
- Imam ., Fahriyan., 1992. In Vitro Fertilisasi, Transfer Embrio dan Pembekuan Embrio. Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB. Bogor
- Ismudiono, 1999. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. 49 – 74.
- Jacob, T.Z., 1997. Ilmu Kandungan. Edisi kedua. Yayasan Bina Pustaka. Sarworo Prawirodiharjo. Jakarta. 62-105.
- Jacob, S., Drudy, L., and Conroy, R. 1998. Outcome from consecutive in vitro fertilisation /intracytoplasmic sperm injection attempts in the final group.

- Jaffe, R.B., 2004. Hrmon. <http://www.hormone.org/endo101/index.html> (23 mei 2004, accessed 26 Mei 2004).
- Jaffe, R. B. and S. S. C. Yen. 1991. *Reproduction Endokrinology*. 3th edition. Philadelphia : W. B. Saunders. 106 – 148 ; 389 – 392.
- Kusriningrum, R. 1989. *Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Kusumawati, D. 2002. *Bahan Ajar Hewan Coba*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Mercan, R., Mayer, J.F., and Walker, D. 1997. Improved oocyte is obtained with follicle stimulating hormone alone than with follicle stimulating hormone / human menopausal gonadotrophin combination. *Hum. Reprod.*, 12, 1886-1889. [Abstrac].
- Miller, L.C., and McCarty, L.B. 1999. Activated Charcoal For Pesticide Deactivation. <http://www.sodsolutions.com/turnfmgt/charcoal.html>. [24 Maret 2006].
- Mustofa, I. 1995. Pengaruh Penyuntikan PMSG (*Pregnant Mare Serum Gonadotrophin*) dan Waktu Penyuntikan hCG (*Human Chorionic gonadotrophin*) terhadap Profil Estrogen Serum dan Beberapa Variable Reproduksi Spi Perah. Tesis Pasca Sarjana Universitas Airlangga. 75 – 80.
- Moor, R. M., Th. A. M. Kruip. And D. Green. 1984. Intraovarian control of folliculogenesis: Limit to superovulation. *Theriogenology*. 18:33-34.
- Nalbandov, A. V. 1990. *Fisiologi Reproduksi pada Mamalia dan Unggas*. Edisi Ketiga. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. 110; 190 – 201.
- Odell, W.D. 1995. *Endrokrinologi*. Vol 3. 3Edition. Leslei J De Groot. W.B. Saunders Company. 2128-2131.
- Partodihardjo, S. 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Cetakan Ketiga. Mutiara Sumber Widya. Jakarta. 103-114.
- Poernomo, B. dkk. 2004. *Penuntun Embriologi*. Pustaka Melati. Surabaya. 57 – 66.
- Putro, P.P. 2001. *Transfer Embrio Pada Sapi*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah mada. Yogyakarta.
- Rabe, T. 2003. *Ilmu Kandungan*. Hipokrates. Jakarta.

- Riyanto, S. 2002. *Tehnik Superovulasi dan Sinkronisasi Estrus Donor*. Balai Embrio Ternak. Cipelang – Bogor.
- Salisbury, G. W. Dan N. L. Van Denmark. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi*. Terjemahan R. Djanuar. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Smith, J.B. dan S. Mangkuwidjojo. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Suherman, S.K. 1995. *Estrogen, Antiestrogen, Progestin, dan Kontrasepsi Hormonal, Farmakologi dan Terapi*. Edisi 4. Gaya Baru. Jakarta.
- Teisser, M.P., Chable, H., and Paulae, S. 1999. Recobinant Human Follicle Stimulating Hormone Versus Human Menopausal Gonadotrophin induction: effect in matur follicle endrocrinology. *Hum. Reprod.*, 14, 2236-2241. [Abstract / Free Full Text].
- Thomaszewska, M. W., I. K. Utama, I. G. Putu dan T. D. Chaniago. 1991. *Reproduksi Tingkah Laku dan Produksi Ternak di Indonesia*. Penerbit PT. Gramedia Pustaka. Jakarta.
- Trisnaati, M. 2003. *Separasi Ekstrak Serum Kuda Bunting Denan Sephadex G-25 untuk superovulasi pada mencit..* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Van der Kroon. 2001. *Terapi Urine*. Prestasi Pustaka. Jakarta. 18 – 27; 167 - 168.
- Van Zuptphen, L. F. M, V. Baumans. A. C., and Beynen. 1993. *Principles of Laboratory Animal Scienci*. Elsevier Science. Amsterdam.
- Yang, T.S ., Tsan, S.H. 1996. *The Evaluation of a new 7-day gonadotropin-releasing hormone agonist protocol in the controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization*.

LAMPIRAN

Rahayu

JAMUR

Case Summaries^a

			Folikel Sekunder	Folikel Tersier	Folikel de Graaf	Corpus Luteum
Perlakuan P0	1		1.00	.00	.00	2.00
	2		.33	.00	2.33	5.66
	3		.33	.00	.33	.66
	4		2.00	2.33	1.00	1.66
	5		1.00	.66	1.00	1.66
	6		1.00	1.66	.33	.66
	Total	Mean	.9433	.7750	.8317	2.0500
		Sum	5.66	4.65	4.99	12.30
		Std. Deviation	.61295	1.00163	.83626	1.85489
	P1	1		.00	.00	1.00
2			.00	.00	1.00	2.33
3			1.00	2.00	1.33	1.66
4			.66	.66	.00	3.00
5			.66	1.00	.66	3.33
6			1.00	.66	.33	2.33
Total		Mean	.5533	.7200	.7200	2.2750
		Sum	3.32	4.32	4.32	13.65
		Std. Deviation	.45478	.74307	.49051	.85423
P2		1		1.00	1.00	1.00
	2		.66	.66	.66	5.66
	3		1.33	1.00	.00	4.66
	4		1.00	.00	.66	3.66
	5		.00	.00	1.00	5.66
	6		.33	1.33	1.00	4.00
	Total	Mean	.7200	.6650	.7200	4.5500
		Sum	4.32	3.99	4.32	27.30
		Std. Deviation	.49051	.55898	.39008	.93413
	P3	1		2.00	.66	1.00
2			2.33	.33	1.00	6.00
3			1.66	.66	1.00	4.66
4			1.66	.00	1.66	3.33
5			2.00	1.00	1.00	6.33
6			.00	.00	1.00	3.33
Total		Mean	1.6083	.4417	1.1100	4.8850
		Sum	9.65	2.65	6.66	29.31
		Std. Deviation	.82700	.40241	.26944	1.32805
P4		1		2.00	1.00	1.00
	2		1.00	.33	.33	.00
	3		.66	.33	.33	.33
	4		2.33	.33	2.00	.00
	5		1.66	1.33	1.00	.33
	6		1.00	.00	2.66	2.66
	Total	Mean	1.4417	.5533	1.2200	.6083
		Sum	8.65	3.32	7.32	3.65
		Std. Deviation	.65570	.50170	.93413	1.01803
	Total	Mean	1.0533	.6310	.9203	2.8737
	Sum	31.60	18.93	27.61	86.21	
	Std. Deviation	.71142	.63860	.62890	2.01169	

a. Limited to first 100 cases.

Lampiran 1. Hasil Analisa Statistik Jumlah Folikel Sekunder dengan SPSS versi 13. Oneway Anova.

Oneway

Descriptives

Folikel Sekunder

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
P0	6	.9433	.61295	.25024	.3001	1.5866	.33	2.00
P1	6	.5533	.45478	.18566	.0761	1.0306	.00	1.00
P2	6	.7200	.49051	.20025	.2052	1.2348	.00	1.33
P3	6	1.6083	.82700	.33762	.7404	2.4762	.00	2.33
P4	6	1.4417	.65570	.26769	.7536	2.1298	.66	2.33
Total	30	1.0533	.71142	.12989	.7877	1.3190	.00	2.33

ANOVA

Folikel Sekunder

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.992	4	1.248	3.222	.029
Within Groups	9.685	25	.387		
Total	14.677	29			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Folikel Sekunder

Duncan^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
P1	6	.5533		
P2	6	.7200	.7200	
P0	6	.9433	.9433	.9433
P4	6		1.4417	1.4417
P3	6			1.6083
Sig.		.316	.068	.091

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Lampiran 2. Hasil analisa statistik jumlah folikel tersier dengan SPSS versi 13. *Oneway Anova.*

Oneway

Descriptives

Folikel Tersier								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
P0	6	.7750	1.00163	.40892	-.2762	1.8262	.00	2.33
P1	6	.7200	.74307	.30336	-.0598	1.4998	.00	2.00
P2	6	.6650	.55698	.22739	.0805	1.2495	.00	1.33
P3	6	.4417	.40241	.16428	.0194	.8640	.00	1.00
P4	6	.5533	.50170	.20482	.0268	1.0798	.00	1.33
Total	30	.6310	.63860	.11659	.3925	.8695	.00	2.33

ANOVA

Folikel Tersier					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.430	4	.108	.236	.915
Within Groups	11.397	25	.456		
Total	11.827	29			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Folikel Tersier

Duncan^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05
		1
P3	6	.4417
P4	6	.5533
P2	6	.6650
P1	6	.7200
P0	6	.7750
Sig.		.453

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Lampiran 3. Hasil analisa statistik jumlah folikel *de Graaf* dengan SPSS versi 13. *Oneway Anova*.

Oneway

Descriptives

Folikel de Graaf									
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			
P0	6	.8317	.83626	.34140	-.0459	1.7093	.00	2.33	
P1	6	.7200	.49051	.20025	.2052	1.2348	.00	1.33	
P2	6	.7200	.39008	.15925	.3106	1.1294	.00	1.00	
P3	6	1.1100	.26944	.11000	.8272	1.3928	1.00	1.66	
P4	6	1.2200	.93413	.38136	.2397	2.2003	.33	2.66	
Total	30	.9203	.62890	.11482	.6855	1.1552	.00	2.66	

ANOVA

Folikel de Graaf					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.283	4	.321	.787	.544
Within Groups	10.186	25	.407		
Total	11.470	29			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Folikel de Graaf

Duncan^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05
		1
P1	6	.7200
P2	6	.7200
P0	6	.8317
P3	6	1.1100
P4	6	1.2200
Sig.		.236

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Lampiran 4. Hasil analisa statistik jumlah corpus luteum dengan SPSS versi 13. *Oneway Anova*.

Oneway

Descriptives

Corpus Luteum

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
P0	6	2.0500	1.85489	.75725	.1034	3.9966	.66	5.66
P1	6	2.2750	.85423	.34874	1.3785	3.1715	1.00	3.33
P2	6	4.5500	.93413	.38136	3.5697	5.5303	3.66	5.66
P3	6	4.8850	1.32805	.54217	3.4913	6.2787	3.33	6.33
P4	6	.6083	1.01803	.41561	-.4600	1.6767	.00	2.66
Total	30	2.8737	2.01169	.36728	2.1225	3.6248	.00	6.33

ANOVA

Corpus Luteum

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	78.145	4	19.536	12.455	.000
Within Groups	39.215	25	1.569		
Total	117.360	29			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Corpus Luteum

Duncan^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
P4	6	.6083		
P0	6	2.0500	2.0500	
P1	6		2.2750	
P2	6			4.5500
P3	6			4.8850
Sig.		.057	.758	.647

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

