

# SKRIPSI

## PENYUNTIKAN SUSPENSII OOSIT IMMATUR KAMBING SEBAGAI ANTIFERTILITAS TERHADAP BIOMETRI ALAT REPRODUKSI MENCIT (*Mus musculus*) BETINA



Oleh :

**ZULFAH**

**SUMENEP - JAWA TIMUR**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA**

**2002**

**PENGARUH PENYUNTIKAN SUSPENSI OOSIT IMMATUR KAMBING  
SEBAGAI ANTIFERTILITAS TERHADAP BIOMETRI ALAT  
REPRODUKSI MENCIT (*Mus musculus*) BETINA**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

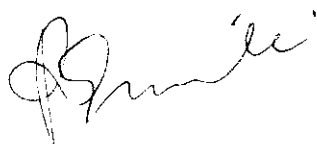
Pada

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

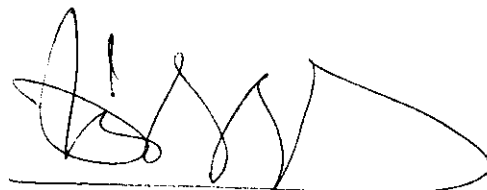
Oleh :

ZULFAH  
NIM.069512227

Menyetujui,  
Komisi Pembimbing



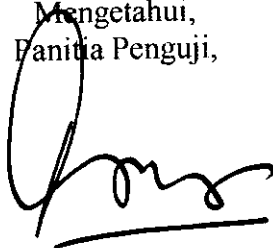
Rahayu Ernawati, MSc.,drh  
Pembimbing I



Ngakan Made Rai Widjaja. MS.,drh  
Pembimbing II

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

Mengetahui,  
Panitia Penguji,



Dr. Ismudiono, MS., drh  
Ketua



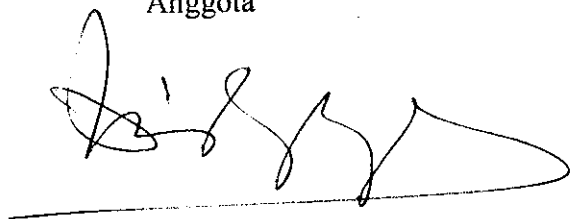
Sri Pantja Madyawati, MSi., drh  
Sekretaris



Benjamin Chr Tehupuring, MSi., drh  
Anggota

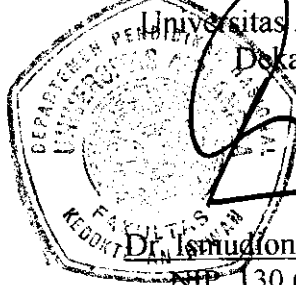


Rahayu Ernawati, MSc., drh  
Anggota



Ngakan Made Rai Widjaja, MS., drh  
Anggota

Surabaya, 2 Maret 2001  
Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Airlangga  
Dekan,



Dr. Ismudiono, MS., drh  
NIP. 130 687 297

**PENGARUH PENYUNTIKAN SUSPENSII OOSIT IMMATUR KAMBING  
SEBAGAI ANTIFERTILITAS TERHADAP BIOMETRI ALAT  
REPRODUKSI MENCIT (*Mus musculus*) BETINA**

**Zulfah**

**ABSTRAK**

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh penyuntikan suspensi oosit immatur kambing sebagai antifertilitas terhadap berat, uterus, panjang uterus dan berat ovarium mencit (*Mus musculus*).

Hewan coba yang digunakan terdiri dari 16 ekor mencit betina Balb-C berumur 2,5-3 bulan dengan berat 20-30 gram diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma Surabaya. Penelitian ini menggunakan RAL dan data yang dihasilkan diuji dengan menggunakan uji t. Mencit betina dibagi secara acak menjadi P0 (kontrol) dan P1 (perlakuan) dengan masing-masing delapan ulangan. Perlakuan yang diberikan pada berupa 0,05 ml suspensi oosit immatur kambing dalam 0,05ml *complete freund adjuvant* dengan dosis setara dengan 24 oosit yang disuntikkan secara subkutan pada hari ke 1, 14 dan 21. Perlakuan pada kontrol hanya diberikan 0,1ml NaCl fisiologis tanpa suspensi oosit immatur kambing.

Setelah 19 hari dari saat dikumpulkan mencit dibunuh dan dibuka perutnya untuk diambil ovarium dan uterusnya, Kemudian dilihat pengaruh antara P0 (kontrol) dan P1 (perlakuan). Hasil penelitian menunjukkan bahwa suspensi oosit immatur kambing tidak berpengaruh terhadap berat uterus, panjang uterus, dan berat ovarium mencit.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan puji syukur Alhamdulillah kehadirat Allah SWT atas karunia yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan suspensi ini dengan judul Pengaruh Penyuntikan Suspensi Oosit Immatur Kambing Sebagai Antifertilitas Terhadap Biometri Alat Reproduksi Betina Mencit (*Mus musculus*).

Dengan rasa hormat pada kesempatan ini disampaikan rasa terimakasih yang tak terhingga kepada Dr. Ismudiono, MS., drh selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Rahayu Ernawati, M.Sc., drh. selaku pembimbing pertama dan Ngakan Made Rai Widjaja, M.S. drh sebagai pembimbing kedua, yang telah bersedia memberikan saran, nasehat dan bimbingan serta Imam Mustofa, M.S., drh, yang telah memberikan bimbingan serta dorongan moril yang berguna dalam penyusunan skripsi ini.

Ucapan terima kasih dengan ketulusan hati juga disampaikan kepada Bapak dan Ibu tercinta, adik, Wawan, Indra, Aulia serta saudaraku Hosy dan Pay atas dorongan semangat dan do'a restunya.

Tidak lupa diucapkan terima kasih kepada temanku Ibun, Rina, Susi gandhi, Dyah, Fitri, Tyta, Anis, Widodo, Mimik, Mufid, Rahmad, Cipto, Mas Pomo, Mbak Surti dan seluruh teman-teman FKH angkatan '95 dan teman kost mulyorejo 90A yang selalu menyertai penulis dalam menyelesaikan penelitian dan penyusunan pada skripsi ini.

Akhirnya disadari bahwa masih banyak kekurangan didalam penulisan skripsi ini sehingga sangat diharapkan kritik dan saran yang berguna untuk penyempurnaannya.

Semoga hasil makalah ini dapat bermanfaat bagi pengetahuan terutama untuk menunjang program Keluarga Berencana.

## DAFTAR ISI

	Haiaman
DAFTAR TABEL .....	viii
DAFTAR LAMPIRAN .....	ix
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang Masalah .....	1
1.2. Landasan Teori .....	3
1.3. Perumusan Masalah .....	4
1.4. Tujuan Penelitian .....	4
1.5. Manfaat Penelitian .....	4
1.6. Hipotesa Penelitian .....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	5
2.1. Oosit .....	5
2.2. Antifertilitas .....	6
2.3. Siklus Birahi .....	7
2.4. Siklus Reproduksi betina mencit .....	8
2.5. Alat Reproduksi Betina .....	11
2.5.1. Ovarium .....	11
2.5.2. Uterus .....	12
2.5.3. Tuba Fallopi .....	13
2.6. Respon Imun .....	13
2.6.1. Respon Imun Spesifik .....	14
2.6.2. Respon Imun Non Spesifik .....	16

BAB III	MATERI DAN METODE.....	17
	3.1. Tempat dan Waktu Penelitian .....	17
	3.2. Bahan Dan Materi Penelitian .....	17
	3.2.1. Hewan Percobaan .....	17
	3.2.2. Bahan Penelitian.....	18
	3.2.3. Alat-alat yang Digunakan.....	18
	3.3. Metode Penelitian.....	19
	3.3.1. Persiapan.....	19
	3.3.2. Pembuatan Suspensi Oosit.....	19
	3.3.3. Perlakuan Hewan Coba.....	20
	3.3.4. Definisi Operasional.....	21
	3.3.5. Peubah Yang Diamati.....	21
	3.3.6. Rancangan Percobaan.....	21
BAB IV	HASIL PENELITIAN.....	22
BAB V	PEMBAHASAN .....	24
BAB VI	KESIMPULAN DAN SARAN.....	28
	6.1. Kesimpulan.....	28
	6.2. Saran.....	28
	RINGKASAN.....	29
	DAFTAR PUSTAKA.....	31
	LAMPIRAN.....	34



## DAFTAR TABEL

Tablei	Halaman
1. Rata-rata Panjang Uterus Mencit Setelah Penyuntikan Suspensi Oosit Immatur Kambing Secara Sub Kutan.....	22
2. Rata-rata Berat Uterus Mencit Setelah Penyuntikan Suspensi Oosit Immatur Kambing Secara Sub Kutan.....	22
3. Rata-rata Berat Ovarium Setelah Penyuntikan Suspensi Oosit Immatur Kambing Secara Sub Kutan.....	23

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Analisis Data Penyuntikan Suspensi Oosit Immatur Kambing terhadap Panjang Uterus.....	34
2. Analisis Data Penyuntikan Suspensi Oosit Immatur Kambing terhadap Berat Uterus.....	36
3. Analisis Data Penyuntikan Suspensi Oosit Immatur Kambing terhadap Berat Ovarium .....	38
4. Komposisi <i>complete freund adjuvant</i> .....	39

**BAB I**

**PENDAHULUAN**

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Pertambahan penduduk yang sangat pesat merupakan masalah yang sangat besar bagi negara berkembang, sehingga pemerintah berusaha untuk menekan pertumbuhan penduduk salah satunya dengan pelaksanaan program keluarga berencana.

Keluarga berencana di Indonesia bersifat kafeteria, yaitu masyarakat diberi kesempatan untuk memilih cara yang tepat dalam program keluarga berencana (Boyke, 1998). Keberhasilan program keluarga berencana di Indonesia karena adanya kesadaran dari masyarakat dan kemudahan dalam pelayanan keluarga berencana.

Istianah (2000) menyatakan metode imunokontrasepsi dengan menggunakan oosit immatur kambing dapat menurunkan angka kebuntingan serta menurunkan jumlah janin pada mencit pada satu periode kebuntingan.

Berbagai cara telah diterapkan pada pelaksanaan program keluarga berencana di Indonesia yaitu secara mekanis dengan menggunakan alat kontrasepsi dalam rahim (AKDR) dan kondom, sedang secara hormonal dengan metode suntikan, pil dan susuk (Boyke, 1998). Metode kontrasepsi yang dikenal sekarang ini kadang-kadang masih menimbulkan efek samping yang merugikan bagi akseptor. Efek samping tersebut antara lain adalah rasa nyeri, perubahan berat badan dan gangguan menstruasi (Sastrawinata, 1980).

Metode kontrasepsi yang dikembangkan saat ini adalah metode imunokontrasepsi. Dalam penelitian selama ini sebagian besar menggunakan bahan baku zona pelusida babi atau porcine zona pelusida (*pZp*). Zona pelusida babi tersebut dapat mengakibatkan hambatan atau meniadakan reaksi zona spermatozoa pada manusia (Hasegawa *et al.*, 1991). Apabila penelitian tersebut telah menghasilkan produk akhir yang siap disebarkan maka akan menimbulkan masalah baru berupa problem sosial bagi masyarakat muslim seperti halnya sebagian besar penduduk Indonesia. Oleh karena itu perlu adanya penelitian dengan menggunakan zona pelusida dari oosit kambing sebagai upaya untuk mengatasi problem sosial tersebut.

Selama ini informasi mengenai efek samping yang langsung berhubungan dengan perubahan biometri alat reproduksi betina (uterus dan ovarium) belum ada. Informasi lebih banyak dikaitkan dengan keluhan yang langsung dirasakan oleh akseptor. Oleh sebab itu tidak menutup kemungkinan bahwa sudah terjadi efek samping pada jaringan uterus dan ovarium tetapi tidak dirasakan oleh akseptor. Sebagai langkah awal untuk mendeteksi yang terjadi akibat dari penyuntikan suspensi oosit immatur kambing sebagai antifertilitas maka dalam penelitian ini dimulai dengan pengukuran terhadap biometri alat reproduksi betina mencit.

## **1.2. Landasan Teori**

Zona pelusida adalah bahan ekstra seluler yang mengelilingi oosit dan mengandung oligosakarida dari glikoprotein yang merupakan kunci dalam interaksi dengan spermatozoa (Talevi *et al.*, 1997). Umumnya zona pelusida

terdiri dari glycoprotein yang mempunyai berat molekul sekitar 200.000 K.D (Shimizu, 1982).

Menurut Hamamah *et al.*, (1997) oosit mengandung protein yang dapat digunakan sebagai antigen dan mempunyai efek antifertilitas.

Zona pelusida dengan molekul protein dan glikogen penyusunnya dapat bertindak sebagai immunogen yang merupakan kandidat bahan dasar dari pembuatan vaksin kontrasepsi pada wanita. Immunisasi terhadap betina dengan menggunakan zona pelusida yang berasal dari ovum atau oosit matur dapat menyebabkan hambatan kesuburan serta tidak menyebabkan perubahan pada siklus hormon dan perkembangan pada folikel. Oosit immatur bersifat antifertilitas (Istianah, 2000), serta dapat menekan pertumbuhan folikel dan corpus luteum menetap (Rinawati, 2000). Folikel terhambat menyebabkan kadar estrogen menurun (Partodihardjo, 1987).

### **1.3. Perumusan Masalah**

Dari uraian diatas ingin diketahui apakah penyuntikan suspensi oosit immatur kambing sebagai antifertilitas berpengaruh terhadap panjang uterus, berat uterus, dan berat ovarium mencit.

### **1.4. Tujuan Penelitian**

Untuk mengetahui pengaruh penyuntikan suspensi oosit immatur kambing sebagai antifertilitas terhadap panjang uterus, berat uterus, dan berat ovarium.

### **1.5. Manfaat Penelitian**

Adanya penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang efek samping dari keluarga berencana.

### **1.6. Hipotesis Penelitian**

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah penyuntikan suspensi oosit immatur kambing tidak berpengaruh terhadap panjang uterus, berat uterus, dan berat ovarium mencit betina.

**BAB II**

**TINJAUAN PUSTAKA**



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Oosit

Pada perkembangan oosit dikelilingi oleh selapis sel yang bentuknya disebut folikel primer. Folikel primer ini terdapat dibawah tunika albugenia. Folikel primer kemudian berkembang menjadi beberapa lapis sel yang disebut folikel sekunder dan berkembang kearah pusat stroma korteks. Pada stadium ini terbentuk zona pelusida yang bentuknya mirip gelatin yang kaya akan glikoprotein dan disekresikan oleh oosit dan sel granulosa yang keduanya ini memiliki vili-vili kecil yang masuk ke dalam zona pelusida (Hafez, 1993)

Pada tahap selanjutnya folikel sekunder menjadi folikel tersier yang ditandai dengan lebih banyaknya sel-sel granulosa, sehingga folikel tampak lebih besar dan letaknya lebih jauh dari permukaan. Folikel tersier ini akan mengalami proses pemasakan membentuk folikel de Graaf. Pada folikel de Graaf, ovum terbungkus oleh massa sel yang disebut dengan *comulus oophorus*. Massa sel yang membungkus dan terletak paling dekat dengan sel telur disebut *corona radiata* (Hafez, 1993).

Zona pelusida yang mengelilingi oosit mamalia berfungsi sebagai media bagi *initial recognition* dan sebagai pengikat spermatozoa terhadap oosit. Zona pelusida mengandung 3 jenis glycoprotein yang baik secara biokimia maupun imunologi termasuk langka, yakni ZP1, ZP2, dan ZP3. Peranan penting dari glycoprotein zona pelusida dalam proses reproduksi bersama dengan jaringan spesifik yang alami adalah sebagai kandidat antigen yang potensial untuk

imunokontrasepsi (Gupta *et al*,1997). Ditambahkan pula oleh Hamamah *et al*. (1997) bahwa imunisasi terhadap hewan betina dengan zona pelusida yang berasal dari oosit matur babi dapat menghambat terjadinya fertilisasi namun tidak menyebabkan perubahan pada perkembangan folikel pada ovariumnya dan siklus birahi.

## 2.2. Antifertilitas

Aktifitas bahan antigonadotropin dengan mekanisme umpan balik negatif mengakibatkan penurunan sekresi GnRH pada poros hipotalamus hipofisis anterior sehingga mengakibatkan penurunan sekresi hormon gonadotropin (FSH & LH) dari kelenjar hipofisis anterior sehingga mempengaruhi pembentukan, perkembangan dan pematangan folikel ovarium serta gangguan proses ovulasi (Meles dkk, 1991).

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

Bahan yang dapat digolongkan sebagai antifertilitas dapat bekerja pada berbagai tempat dalam tubuh yakni pada poros hipotalamus, hipofisis anterior, ovarium, tuba fallopi, uterus, vagina dan pada proses spermatogenesis. Antifertilitas yang bekerja pada ovarium dapat mempengaruhi proses pembentukan dan perkembangan folikel serta gangguan proses ovulasi. Kerja anti

fertilitas pada tuba fallopi dapat mempengaruhi transport sel telur maupun sel spermatozoa, proses fertilisasi dan transportasi zigot (Astika, 1988).

### 2.3. Siklus Birahi

Siklus birahi ialah ritme fungsi faal tertentu dari sistem kelainan, yang terdapat pada hewan ternak setelah masa pubertas dicapai. 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). Panjang siklus birahi pada mencit 4-5 hari, lama birahi 12-14 jam ovulasi terjadi dekat akhir periode estrus secara spontan, fertilisasi terjadi 2 jam sesudah kawin.

Siklus birahi secara kasar dapat dibagi menjadi empat periode menurut perubahan-perubahan yang tampak maupun tidak tampak dari luar selama siklus birahi yaitu: proestrus, estrus, metestrus, diestrus (Ismudiono, 1999). Fase proestrus disebut juga sebagai fase persiapan. Fase ini biasanya ditandai dengan adanya perubahan pada tingkah laku dan perubahan pada alat kelamin luar. Perubahan pada tingkah laku secara umum dapat terlihat mencit telah mulai dapat menerima pejantan walaupun belum mau untuk melakukan kopulasi. Perubahan pada alat kelamin luar terlihat terjadi peningkatan peredaran darah di daerah tersebut dan epitel vagina menebal, fase ini berlangsung 12 jam (Meles dkk, 1991).

Periode estrus merupakan masa keinginan kawin, periode ini ditandai dengan manifestasi birahi secara fisik (Ismudiono, 1999). Fase ini berlangsung sekitar 12 jam, yang ditandai dengan penurunan aktivitas berlari dalam arti mencit menjadi lebih tenang, daun telinga menunjukkan reaksi seperti gemetar, yang jelas mau menerima pejantan. Fase metestrus pada mencit berlangsung sekitar 21 jam yang ditandai dengan mencit betina tidak mau menerima pejantan. Sedang fase diestrus pada mencit berlangsung 57 jam, yang ditandai mencit betina tidak mau menerima mencit jantan (Meles dkk, 1991).

## **2.6. Siklus Reproduksi Mencit Betina**

Pada umumnya setiap perubahan siklus birahi yang terjadi secara normal menunjukkan perubahan yang sifatnya teratur. Jarak antara birahi satu sampai birahi berikutnya disebut satu siklus birahi. Sedangkan birahi itu sendiri adalah saat dimana hewan betina bersedia untuk menerima pejantan untuk berkopulasi. Kopulasi itu dapat menghasilkan kebuntingan yang selanjutnya dapat menghasilkan anak (Partodiharjo, 1992).

Perubahan fisiologi yang terjadi pada ovarium selama siklus birahi ditandai dengan adanya pertumbuhan folikel yang lambat kira-kira satu hari sebelum birahi dan biasanya pecahnya folikel sesudah siklus birahi. Segera sesudah folikel pecah, rongga folikel diisi dengan tenunan berwarna kuning kecoklatan yang kemudian lambat laun akan berkembang menjadi korpus luteum. Peranan korpus luteum adalah sebagai penghasil progesteron yang nantinya akan berperan didalam mempertahankan kebuntingan. Apabila kebuntingan tidak

terjadi maka korpus luteum akan mengalami regresi dan berubah menjadi korpus albicans (Salisbury and Van Denmark, 1985).

Selama siklus birahi berlangsung perubahan yang terjadi pada sistem reproduksi yang dipengaruhi oleh hormon hipofisis anterior yaitu *Folicle stimulating hormone* (FSH), *Luteinizing Hormon*(LH) dan *Luteotropic Hormone* (LTH) serta hormon yang dihasilkan oleh ovarium yaitu estrogen dan progesteron. Hormon ini dikenal mempunyai fungsi khusus dalam pengendalian siklus birahi. Fungsi utama FSH adalah menstimulir pematangan folikel. FSH bekerja sama dengan LH menstimulasi pematangan dan pelepasan folikel. Sesudah pematangan folikel LH menyebabkan ovulasi dengan menggertak pemecahan dinding folikel dan pemecahan ovum. LH juga berpengaruh terhadap pembentukan korpus luteum yang berasal dari folikel yang sudah pecah. Pada jenis tikus dan mencit aktivitas fungsional korpus luteum dalam mensekresi progesteron dipelihara oleh hormon LTH atau disebut juga dengan hormon prolaktin sehingga dapat dikatakan pula bahwa prolaktin menstimulir pelepasan progesteron (Toelihere, 1985).

Pada umumnya siklus birahi pada mencit dapat dibagi dalam empat fase yaitu proestrus, estrus, metestrus, diestrus. Perubahan- perubahan yang terjadi pada setiap fase dapat dilihat dari tingkah laku yang terjadi maupun dengan melihat perubahan vagina secara mikroskopis. Lama siklus birahi pada mencit antara 4-5 hari (Hafez, 1993).

Fase proestrus yang disebut dengan fase persiapan ditandai dengan adanya pertambahan jumlah folikel. Pada mencit fase proestrus berlangsung selama 12 jam. Pada fase ini terjadi perubahan tingkah laku dan perubahan pada alat

kelamin. Perubahan tingkah laku secara umum yaitu hewan mau didekati meskipun belum mau kopulasi. Perubahan pada alat kelamin luar nampak adanya peningkatan peredaran darah didaerah tersebut dan epitel vaginanya menebal (Salisbury and Van Denmark, 1985).

Fase estrus merupakan fase terpenting dalam siklus birahi karena dalam fase ini hewan mau menerima pejantan untuk kopulasi, hal ini disebabkan karena pengaruh estrogen yang berasal dari ovarium sehingga menunjukkan pola tingkah laku yang khas pada berbagai hewan. Ovum mengalami perubahan kearah pematangan. Dalam fase ini folikel de Graaf mengalami pembesaran dan pematangan (Toelihere, 1985).

Fase estrus pada mencit berlangsung kurang lebih 12 jam . Biasanya fase estrus ini dimulai jam 4 sore sampai jam 10 malam, biasanya hewan betina kawin dalam tiga jam pertama fase estrus. Terjadinya kopulasi ditandai dengan adanya sumbat vagina selama 16-48 jam (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

Fase metestrus merupakan fase yang terjadi setelah fase estrus selesai. Pada mencit biasanya berlangsung selama 21 jam . Gejala luar tidak tampak nyata namun masih terdapat sisa-sisa estrus. Meskipun gejala estrus masih tampak tetapi hewan tidak mau menerima pejantan untuk menerima aktivitas kopulasi. Pada ovarium terjadi pembentukan korpus hemoragikum pada tempat folikel de Graaf melepaskan ovum. Kelenjar endometrium menjadi lebih panjang dan diberbagai tempat mulai berkelok-kelok. Kelenjar-kelenjar merubah sifat sekresinya dari cair menjadi kental, dimana lendir kental ini berfungsi sebagai sumbat servik sehingga servik tertutup (Partodiharjo, 1992).

Fase diestrus merupakan periode terakhir dan paling lama dalam siklus birahi dan ditandai dengan tidak adanya aktivitas kelamin dan hewan dalam keadaan tenang. Periode permulaan diestrus, korpus hemoragikum mengerut karena dibawah lapisan hemoragik ini timbul sel kuning sehingga dinamakan korpus luteum. Korpus luteum menjadi matang dan menghasilkan progesteron. Pada akhir periode ini korpus luteum akan mengalami degenerasi. Fase ini pada mencit berlangsung selama 56 jam (Partodiharjo, 1992).

#### **2.4. Alat Reproduksi Betina**

Alat reproduksi betina terdiri dari alat kelamin utama yaitu gonad atau ovarium, saluran reproduksi yang terdiri dari tuba fallopi, uterus, servik dan vagina serta alat kelamin luar yang terdiri dari vulva dan klitoris (Ismudiono, 1999).

##### **2.4.1. Ovarium**

Ovarium merupakan struktur endokrin dan reproduksi. Ovarium terletak dekat lubang pelvis menggantung dari dinding perut samping bagian belakang oleh mesovarium yaitu bagian depan dari ligamentum, pada ligamentum penggantung ini lewat pembuluh darah arteri dan vena, limfe dan syaraf (simpatis dan para simpatis). Ovari tertanam dalam bursa ovari (dibentuk dari ligamentum penggantung) (Wodzicka dkk, 1991).

Menurut Toelihere (1985) ovarium terdiri dari suatu stroma atau jala tenunan pengikat dan pembuluh pembuluh darah yang dikelilingi oleh selaput

peritoneum kecuali pada batas pertautan atau hilus dimana pembuluh pembuluh darah dan syaraf memasuki ovarium. Didalam ovarium terdapat sel sel interstisial, sel telur primitif, folikel sekunder yang sedang berkembang, folikel de Graaf yang matang, folikel atretik atau yang berdegenerasi. Ovarium akan bertambah besar sewaktu hewan bertambah tua.

#### 2.4.2. Uterus

Uterus merupakan suatu struktur selubung muskuler yang diperuntukkan bagi penerimaan ovum yang telah dibuahi, pemberian makanan dan perlindungan terhadap fetus, dan bagi fase permulaan pengeluaran fetus pada waktu partus. Selubung muskuler uterus terdiri dari lapisan lapisan urat daging sirkuler dan longitudinal. Uterus menerima suplai darah dari arteri utero ovarial dan satu cabang dari arteri pudenda interna. Suplai syaraf ke uterus terdiri dari serabut serabut simpatik dari daerah thorakal bagian bawah yang membentuk plexus uteri dan plexus pelvis (Toelihere, 1985).

Menurut Nalbandov (1990) uterus biasanya memiliki dua buah tanduk dan sebuah tubuh. Seluruh organ tersebut melekat pada dinding pinggul dan dinding perut dengan perantaraan ligamentum uterus yang lebar yaitu ligamentum lata uteri. Melalui ligamentum inilah uterus menerima suplai darah dan syaraf. Lapisan luar ligamentum uterus yang melingkar yang disebut ligamentum teres uteri.

Pada mencit secara anatomis terdapat dua servik dengan dua tanduk terpisah (duplex) tanpa tubuh uterus. Menurut Toelihere (1985) dinding uterus



terdiri dari 3 lapisan: (1) perimetrium atau membrana serosa yang membungkus seluruh organ, (2) miometrium terdiri dari atas tiga lapisan yaitu: lapisan otot yang paling dalam tersusun membujur, sedang lapisan vaskuler memisahkan kedua lapisan otot tersebut, (3) endometrium terdiri dari: lapisan epitelium yang membatasi lumen, lapisan glanduler dan jaringan ikat.

### **2.4.3. Tuba Fallopii**

Tuba fallopi sering disebut oviduk merupakan saluran kelamin pada betina yang menghubungkan antara ovarium dan uterus. Organ tersebut berfungsi untuk menerima sel telur untuk diovulasikan oleh sel ovarium, menerima sel spermatozoa pada bagian ampulanya dan menyalurkan sel telur yang sudah dibuahi kedalam uterus (Partodiharjo, 1992).

Alat penggantung tuba fallopi disebut mesosalping. Tuba fallopi dibagi menjadi tiga bagian yaitu infundibulum dengan fimbriaenya, ampula dan istmus. Menurut Toelihere (1985) di dalam tuba fallopi inilah terjadinya kapasitasi sperma, fertilisasi dan pembelahan embrio yang pertama.

### **2.5 Respon Imun**

Respon imun tubuh ini mencakup semua mekanisme fisiologis yang membantu tubuh untuk mengenal benda-benda asing pada dirinya, untuk menetralkan, menyisihkan atau memetabolisasi benda asing tersebut dengan atau tanpa kerusakan pada jaringannya sendiri (Bellanti, 1993). Respon imun ini dipergunakan untuk tiga hal, yaitu pertahanan, homeostasis, dan pengawasan.

Respon imun dapat diartikan sebagai suatu sistem agar tubuh dapat mempertahankan keseimbangan antara lingkungan didalam maupun diluar tubuh. Tidak semua suntikan, antigen menimbulkan respon imun. Respon imun tergantung dosis, waktu pemberian, dan sifat antigen. Respon imun ini melibatkan dua mekanisme efektor utama yaitu antibodi humoral yang diproduksi oleh limfosit-B (bergantung bursa) dan mekanisme diperantarai sel yang melibatkan limfosit-T (bergantung timus) (Baratawidjaja, 1998).

### 2.5.1. Respon Imun Spesifik

Respon imun spesifik merupakan suatu reaksi hospes terhadap benda asing yaitu mencakup rangkaian interaksi seluler yang diekspresikan dengan penyebaran produk-produk sel spesifik. Menurut Bellanti (1993) respon imun spesifik dibedakan dari respon imun non spesifik dalam hal :

#### a. Spesifitas

Merupakan kemampuan respon imun dengan kepekaan yang tinggi. Produk-produk respon imun akan bereaksi seluruhnya dengan yang identik atau yang sama dengan benda yang terdahulu memulai respon. Landstimer (seperti dikutip Bellanti, 1993), pertama kali mendemonstrasikan spesifitas dan menunjukkan bahwa antibodi dapat membedakan zat-zat yang sangat erat hubungannya. Ini merupakan sifat dari respon imun spesifik yang membedakan satu antigen dari antigen lainnya. Jadi, respon imun dapat membedakan dan mendiferensiasi antigen yang berasal dari spesies yang berbeda (*species specificity*), dari individu yang berbeda (*individual specificity*), atau dari organ yang berbeda (*organs specificity*).

b. Heterogenitas

Berbagai jenis sel dan produk sel dipengaruhi untuk berinteraksi dengan macam-macam respon yang berbeda-beda menghasilkan produk-produk populasi sel yang heterogen pula, misalnya antibodi. Heterogenitas antibodi ini ikut memberikan sumbangan pada pengendalian homeostasis, karenanya hospes dapat bereaksi terhadap benda asing dengan cara yang sangat beragam dan spesifik.

c. Memori

Merupakan sifat yang dapat mempercepat dan memperbesar respon spesifik dengan cara proliferasi dan differensiasi sel-sel yang telah disensitisasi (*sensitized cell*) bila terjadi pemaparan berikutnya terhadap imunogen. Kejadian ini meningkatkan penyebaran produk-produk sel (Bellanti, 1993). Ada dua jenis mekanisme efektor yang menengahi respon imun spesifik yaitu:

1. Imunitas humoral

Imunitas humoral ditengahi oleh sekelompok limfosit yang berdefensiasi di sumsum tulang yang diberi nama limfosit asal sumsum tulang (*bone marrow derived*) atau limfosit-B.

2. Imunitas selluler

Imunitas selluler merupakan jenis utama yang kedua mekanisme efektor respon imun spesifik. Mekanisme ini ditengahi oleh sekelompok limfosit yang berdiferensiasi dibawah pengaruh timus dan diberi nama sel T.

### **2.5.2. Respon imun non spesifik**

Sistem imun non spesifik merupakan pertahanan tubuh terdepan dalam menghadapi serangan berbagai macam organisme oleh karena dapat memberikan respon langsung terhadap antigen. Sistem tersebut disebut non spesifik karena tidak ditujukan terhadap mikroorganisme tertentu, telah ada dan siap berfungsi sejak lahir yang berupa permukaan dan berbagai komponen dalam tubuh. Komponen sistem imun non spesifik dapat dibagi sebagai berikut: pertahanan fisik dan mekanik, pertahanan biokimia, pertahanan selluler (Baratawidjaja, 1998).

## **BAB III**

# **MATERI DAN METODE**

## **BAB III**

### **MATERI DAN METODE**

#### **3.1. Tempat dan Waktu Penelitian**

Pengumpulan oosit immatur kambing dilakukan di Laboratorium Kebidanan Veteriner, Fakultas kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya. Pembuatan suspensi oosit immatur kambing dilakukan di Laboratorium *Tropical Disease Centre*, Universitas Airlangga Surabaya. Pemberian perlakuan di kandang hewan percobaan Laboratorium Fisiologi Reproduksi Veteriner, Universitas Airlangga Surabaya. Penelitian dilaksanakan mulai tanggal 5 Mei sampai dengan 19 Juni 2000.

#### **3.2. Bahan dan Materi Penelitian**

##### **3.2.1. Hewan Percobaan**

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 16 ekor mencit betina (*Mus musculus*) Balb-C yang sudah dewasa kelamin dan pernah beranak dengan berat badan 20-30 gram, diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma, Surabaya. Mencit jantan yang digunakan sebagai pejantan dipilih yang sudah terbukti fertilitasnya.

##### **3.2.2. Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah oosit immatur kambing yang diperoleh dari Rumah Potong Hewan Pegirian Surabaya disimpan dalam *Phosphate Buffer Saline* (PBS) sebagai media oosit. Clorofom untuk membunuh

mencit. *Complete freund adjuvant* untuk mempertahankan titer antibodi. Makanan mencit berupa pakan ayam CP 511 produksi PT Charoen Pokphand dan air PDAM untuk minuman mencit serta NaCl fisiologis.

### 3.2.3. Alat-alat yang Digunakan

Alat- alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang mencit sebanyak delapan buah yang terbuat dari kotak plastik dengan tutup dari kawat. Tempat air minum dari botol. *Disposable syringe* (alat suntik) 5 ml dengan jarum 18 G untuk mengaspirasi oosit dari ovarium. Vial sebagai tempat oosit. *Microscope Disecting* (Meiji, Japan) untuk melihat dan menghitung jumlah oosit kambing. Alat *ultrasonik homogenizer* dengan probe berukuran 2 mm yang digunakan untuk proses sonikasi. Timbangan mikro untuk menimbang ovarium dan uterus serta alat pengukur panjang. Skalpel, pinset, gunting, bak seksi untuk membedah mencit.

## 3.3. Metode Penelitian

### 3.3.1. Persiapan

Mencit sebagai hewan percobaan diadaptasikan selama satu minggu untuk menyesuaikan kondisi lingkungan penelitian. Pakan dan minum diberikan secukupnya, dan ruangan tempat pemeliharaan mencit dalam keadaan bersih. Sistem perkawinan yang dipakai adalah sistem poligami yaitu seekor pejantan dengan dua ekor betina atau lebih (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

### 3.3.2. Pembuatan Suspensi Oosit Immatur Kambing

Ovarium segar dicuci kemudian direndam dalam cairan NaCl fisiologis selama perjalanan dari Rumah Potong Hewan (RPH) ke laboratorium. Folikel berukuran diameter 2-3 mm diaspirasi dengan menggunakan *Disposable Syringe* 5 ml dengan jarum 18 G yang telah berisi cairan PBS. Hasil aspirasi diletakkan dalam cawan petri, selanjutnya oosit dihitung dibawah *microscope dissecting* sampai berjumlah 600 buah.

Oosit yang sudah dihitung ditempatkan di vial-vial dan dihomogenkan menggunakan *ultrasonic homogenizer* supaya oosit tersebut hancur menjadi partikel yang lebih kecil, kemudian dibagi kedalam beberapa vial dengan dosis yang setara dengan 24 oosit. Masing- masing vial akan digunakan untuk satu kali perlakuan.

Sebelum suspensi oosit tersebut diinjeksikan pada mencit ditambahkan dahulu dengan *complete freund adjuvant* dengan perbandingan 1:1. Campuran tersebut dikocok dengan menggunakan *disposable syringe* secara berulang-ulang sampai berwarna putih.

### 3.3.3. Perlakuan Hewan Coba

Mencit betina yang sudah ditempatkan dalam kandang selama 10 hari untuk mendapatkan keseragaman dan untuk mengamati kondisi kesehatannya.

Setelah masa adaptasi selesai hewan coba diberi perlakuan dengan penyuntikan secara sub kutan sebagai berikut:

Kontrol (P0) di beri NaCl fisiologis 0,1 ml



Perlakuan I (P1) diberi suspensi oosit 0,05 ml yang setara dengan 24 oosit di tambah dengan *complete freund adjuvant* 0,05 ml.

Pemberian booster dilakukan pada hari ke 14 dan ke 21 setelah penyuntikan pertama karena titer antibodi tertinggi terhadap protein yang larut dicapai dalam 8-12 hari (Bellanti, 1993).

Setelah masa perlakuan selesai, mencit betina dikumpulkan dengan perbandingan satu jantan dan dua betina selama lima hari. Setiap 24 jam dilakukan pengamatan terjadinya kopulasi dengan melihat adanya sumbat vagina.

Pada hari ke 19 setelah dikumpulkan dengan membedah bagian linea alba. Pembedahan dengan tujuan untuk mengambil uterus dan ovarium pada mencit.

#### **3.3.4. Definisi Operasional**

Pengertian suspensi adalah partikel-partikel padat yang terdispersi dalam suatu cairan (Fessenden, 1992). Suspensi oosit immatur kambing adalah oosit immatur yang dilarutkan dalam cairan *phosphate buffer saline* (PBS).

Oosit immatur adalah oosit yang berproliferasi secara mitosis dan meiosis pertama serta telah terbentuk polar bodi pertama (Arief A, 1998). Komponen oosit yang disuntikkan adalah inti oosit, membran vittelin, dan zona pelusida.

*Complete freund adjuvant* yang digunakan mengandung dinding sel *mycobacterium* yang berfungsi untuk meningkatkan antibodi terhadap antigen spesifik (Tizard, 1988).

### **3.3.5. Peubah yang Diamati**

Peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah berat ovarium dan berat uterus (mg) serta panjang uterus (mm) pada kontrol (tidak dikawinkan) dan pada kelompok perlakuan yang tidak bunting.

### **3.3.6. Rancangan Percobaan**

Penelitian ini dilakukan dengan RAL, data yang terkumpul diuji dengan menggunakan uji beda rata-rata atau dengan uji t.

## **BAB IV**

# **HASIL PENELITIAN**

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN

Data yang diperoleh dari penelitian tentang pengaruh pemberian suspensi oosit immatur sebagai antifertilitas terhadap biometri alat reproduksi betina pada umur kebuntingan 19 hari disajikan dalam tabel 1, tabel 2, tabel 3 dibawah ini :

Tabel I. Rataan Panjang Uterus Mencit dalam milimeter (mm) Setelah Penyuntikan Suspensi Oosit Immatur Kambing Secara Subkutan.

Perlakuan	Jumlah hewan coba	Panjang uterus
P <sub>0</sub>	8	22,875±0,0373438
P <sub>1</sub>	8	23,9375±0,02714844

Keterangan: notasi yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan (  $P > 0,05$  )

Hasil analisis statistik menggunakan uji t terhadap panjang uterus diperoleh hasil,  $t_{(hitung)} = -8,855402$  sedangkan  $t_{(tabel)} = 2,145$ , sehingga  $t_{(hitung)} < t_{(tabel)}$  pada taraf signifikan 0,05 menunjukkan bahwa antara kedua perlakuan tidak terdapat perbedaan yang nyata.

Tabel II. Rataan Berat Uterus Mencit dalam miligram (mg) Setelah Penyuntikan Suspensi Oosit Immatur Kambing Secara Subkutan.

Perlakuan	Jumlah hewan coba	Berat uterus
P <sub>0</sub>	8	292,75±2,9705
P <sub>1</sub>	8	321,25±6,0047

Keterangan: notasi yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan (  $P > 0,05$  )

Dari hasil pengolahan data dengan menggunakan uji t terhadap berat uterus diperoleh hasil,  $t_{(hitung)} < t_{(tabel)}$  pada taraf signifikan 0,05 menunjukkan bahwa antara P<sub>0</sub> dan P<sub>1</sub> tidak terdapat adanya perbedaan yang nyata.

Tabel III. Rataan Berat Ovarium dalam miligram (mg) Setelah Penyuntikan Suspensi Oosit Immatur Kambing Secara Subkutan.

Perlakuan	Jumlah hewan coba	Berat ovarium
P <sub>0</sub>	8	44,3125±1,7611508
P <sub>1</sub>	8	321,25±1,694409375

Keterangan: notasi yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan (  $P > 0.05$  )

Hasil dari analisis data dengan menggunakan uji t terhadap berat ovarium diperoleh hasil  $t_{(hitung)} = 0,1161945$  dan  $t_{(tabel)} = 2,145$ . Sehingga  $t_{(hitung)} < t_{(tabel)}$  yang menunjukkan bahwa penyuntikan suspensi oosit immatur kambing tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap berat ovarium.

Dari hasil analisis data terhadap panjang uterus, berat uterus serta berat ovarium dengan menggunakan uji t diperoleh hasil  $t_{(hitung)} < t_{(tabel)}$  dengan taraf signifikan 0,05 menunjukkan bahwa penyuntikan suspensi oosit immatur kambing sebagai antifertilitas secara subkutan tidak mempengaruhi biometri alat reproduksi mencit betina.

**BAB V**

**PEMBAHASAN**

## **BAB V**

### **PEMBAHASAN**

Penelitian tentang penyuntikan suspensi oosit immatur kambing secara subkutan pada mencit betina ini dilakukan dengan maksud untuk mengetahui pengaruh oosit immatur kambing sebagai antifertilitas terhadap panjang dan berat uterus serta berat ovarium. Menurut Istianah (2000) penyuntikan suspensi oosit immatur kambing dengan dosis setara dengan 24 oosit ternyata tidak menghasilkan kebuntingan pada mencit.

Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa penyuntikan suspensi oosit immatur kambing dengan dosis 0,05 ml yang setara dengan 24 oosit tidak berpengaruh terhadap berat ovarium maupun berat uterus serta panjang uterus. Hal ini dibuktikan dengan didapatkannya beda tidak nyata ( $P > 0,05$ ) antara berat ovarium, berat uterus dan panjang uterus pada penyuntikan suspensi oosit immatur kambing dengan kontrol.

Diduga antibodi yang timbul karena oosit immatur kambing menyebabkan tertutupnya reseptor yang spesifik pada zona pelusida oosit immatur mencit yang pada akhirnya menyebabkan perkembangan folikel menjadi terhambat. Folikel tidak berkembang menjadi folikel sekunder, folikel tersier dan folikel de Graaf, sehingga ovulasi juga tidak akan terjadi (Rinawati, 2000). Menurut Crighton (1984) zona pelusida oosit mempunyai sifat sebagai antigen, dan Jackson *et al* (1998) menyatakan bahwa antigen zona pelusida tersebut akan merangsang respon imun spesifik untuk menghasilkan imunoglobulin terutama IgA dan IgG.

Kalau terjadi hambatan pada hipofisis anterior, FSH dan LH tidak diproduksi maka akan menghambat perkembangan dan pertumbuhan folikel pada ovarium sehingga tidak terjadi ovulasi. Menurut Sorensen (1997) kegiatan fisiologis kelenjar ovarium sangat tergantung kepada aktifitas kelenjar hipofisis anterior. Hormon gonadotropin dari kelenjar hipofisis anterior tersebut adalah FSH dan LH, yang mendorong pertumbuhan dan terjadinya ovulasi folikel-folikel yang ada pada ovarium.

Fungsi utama FSH dan LH adalah merangsang pertumbuhan folikel pada ovarium dan pada fase primordial, sehingga folikel menjadi matang, tetapi tidak menyebabkan ovulasi. FSH juga menyebabkan folikel peka terhadap LH (Ganong, 1990). Terjadinya ovulasi dikarenakan LH menggertak pemecahan dinding folikel dan pelepasan sel telur. Disamping itu LH berpengaruh juga terhadap pembentukan corpus luteum yang berasal dari folikel yang sudah pecah karena ovulasi. (Hafez, 1993).

Folikel primer merupakan perkembangan lebih lanjut dari sel germinatif dalam ovarium. Dengan terbentuknya sel folikel maka oosit dikelilingi oleh satu lapis sel folikel yang berbentuk pipih atau kuboidal dan selanjutnya lapisan sel folikel akan bertambah sesuai dengan bertambahnya tingkat perkembangan folikel (Partodihardjo, 1980; Hafez, 1993).

Apabila hipofisis anterior gagal melepaskan hormon LH dalam darah dengan kadar cukup, tetapi hormon FSH dihasilkan dalam keadaan normal, maka pada ovarium akan terjadi pertumbuhan folikel yang tidak normal. Folikel tidak tumbuh mencapai folikel de Graaf dan ovulasi. Folikel yang tidak mengalami ovulasi akan bertambah banyak, dan terbentuknya folikel ganda pada permukaan



ovarium sehingga dapat menyebabkan terjadinya kista ovarium (Hardjopranoto, 1995). Kista ovarium ini dapat menghambat fungsi ovarium dan menyebabkan penambahan berat ovarium (Ressang, 1984). Menurut Bagnara (1988) bertambahnya berat ovarium yang hebat disebabkan oleh meningkatnya jaringan lutein dan retensi cairan didalam kista.

Ovarium maupun uterus dalam melakukan fungsinya tidak lepas dari peranan beberapa faktor. Faktor-faktor tersebut dapat berupa faktor yang dilakukan manusia atau faktor alam, dan sebagai akibat berfungsinya ovarium atau uterus akan berpengaruh pula terhadap masing-masing ukuran yang ditimbulkan (Hardjopranoto, 1982). Ada keterkaitan antara ovarium dan folikel apabila fungsi ovarium terganggu folikel yang terbentuk akan kecil (Rinawati, 2000).

Penyuntikan dengan suspensi oosit immatur kambing pada mencit betina terbukti dapat menghambat perkembangan folikel dan corpus luteum menetap sehingga jumlah folikel menurun (Rinawati, 2000). Apabila jumlah folikel menurun maka kadar estrogen juga menurun (Partodihardjo, 1987). Corpus luteum menetap dapat menyebabkan kadar progesteron tinggi sehingga jaringan endometrium menebal (Hafez, 1993).

Estrogen dalam keadaan normal akan merangsang pertumbuhan dan mempengaruhi perubahan fisiologis alat kelamin, tingkah laku seksual, dan siklus birahi pada betina (Fransond, 1992). Sementara itu menurut Ismudiono (1999) estrogen beraksi terhadap uterus untuk meningkatkan massa endometrium dan miometrium dalam bentuk hiperplasia dan hipertropi.

Dalam penelitian ini uterus tidak mengalami perubahan baik dalam berat maupun panjangnya. Sementara kalau terjadi adanya perubahan mungkin disebabkan oleh pyometra dan hipertropi.

Menurut Ressay (1984) secara eksperimental pyometra dapat ditimbulkan dengan suntikan estrogen berkali-kali. Jadi pyometra oleh gangguan hormonal pada hewan memegang peranan penting. Sedangkan menurut Suherman (1995) penggunaan estrogen dosis besar dalam jangka waktu lama dapat menyebabkan otot uterus menjadi lunak dan mengalami hipertropi. Perubahan tersebut pada umumnya bersifat reversibel. Perubahan morfologik ini disebabkan oleh adanya perubahan biokimiawi dan enzimatik yang cukup kompleks akibat perubahan metabolisme endometrium. Hipertropi terjadi karena meningkatnya tebal dinding uterus akibat penambahan jumlah sel karena meningkatnya mitosis dan juga bertambah besarnya volume sel.

Dan penyuntikan oosit dalam waktu lebih lama dari penelitian ini mungkin juga dapat menyebabkan perubahan-perubahan terhadap biometri alat reproduksi mencit betina.

## **BAB VI**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh penyuntikan ekstrak oosit immatur kambing secara sub kutan pada hari ke 1, 14 dan 21 maka dapat ditarik kesimpulan bahwa :

Pemberian larutan ekstrak oosit immatur kambing yang setara dengan 24 oosit dalam *complete freund adjuvant* tidak berpengaruh terhadap berat uterus, panjang uterus dan berat ovarium mencit .

#### 6.2. SARAN

Berdasarkan hasil yang telah diperoleh, maka melalui penelitian ini diajukan beberapa saran yaitu:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang titer antibodi, histologi ovarium dan kemungkinan efek samping yang lain.

**RINGKASAN**

## RINGKASAN

ZULFAH. Pengaruh Penyuntikan Suspensi Oosit Immatur Kambing Sebagai Antifertilitas Terhadap Biometri Alat Reproduksi Mencit (*Mus musculus*) Betina. Rahayu Ernawati, M.Sc., drh. sebagai pembimbing pertama dan Ngakan Made Rai Widjaja M.S., drh. sebagai pembimbing kedua.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh penyuntikan suspensi oosit immatur kambing terhadap biometri alat reproduksi betina mencit.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan RAL dan data yang dihasilkan di uji dengan menggunakan Uji t Hewan percobaan yang digunakan adalah 16 ekor mencit betina berumur 2,5-3 bulan yang sudah diketahui fertilitasnya dan dibagi secara acak menjadi dua perlakuan dan delapan ulangan. Perlakuan yang diberikan pada perlakuan I (PI) berupa 0,05ml suspensi oosit immatur kambing dengan dosis yaitu setara dengan 24 oosit dalam 0,05ml *complete freund adjuvant*, perlakuan tersebut disuntikkan pada hari ke 1, 14, dan 21 dengan menggunakan *disposable syringe* 1ml, pada kontrol (P0) diberikan berupa 0,05ml NaCl fisiologis tanpa suspensi oosit immatur kambing.

Pada hari ke 26, mencit betina dikumpulkan dengan mencit jantan dengan perbandingan satu mencit jantan dan dua mencit betina sampai terjadi kopulasi. Pada hari ke 19 setelah dikumpulkan mencit dibunuh dan dibuka perutnya untuk diambil ovarium dan uterusnya. Ovarium dan uterus ditimbang dengan timbangan

mikro dalam keadaan basah, sedangkan panjang uterus diukur dengan memakai alat ukur penggaris dalam keadaan basah.

Hasil dari serangkaian analisis data yang telah dilakukan menunjukkan bahwa perlakuan penyuntikan suspensi oosit immatur kambing dalam *complete freund adjuvant* dengan dosis 24 oosit tidak berpengaruh terhadap berat uterus, panjang uterus dan berat ovarium mencit.

## **DAFTAR PUSTAKA**



## DAFTAR PUSTAKA

- Arief, A. 1988. Pengantar Embriologi Hewan Manusia. Institut Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Malang.
- Astika, G.N. 1998. Isolasi Dan identifikasi Kandungan Aktif Kulit Batang *Avicena Marina (Forsk)* Vierch yng berkhasiat Antifertilitas pada mencit betina. Disertasi. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Bagnara, J. T. 1988. Endokrinologi Umum. Edisi keenam. Airlangga Universitas Press. Surabaya.
- Boyke, D.N. 1998. Alternatif Kontrasepsi Pada Program KB. Femina Edisi bulan September.
- Baratawidjaja, K.G. 1998. Imunologi Dasar Edisi ketiga. Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Bellanti, J.A. 1993. Imunologi III. Edisi Bahasa Indonesia Gajah Mada Universitas Press. Yogyakarta.
- Crighton, D.B. 1983, Immunological Aspects of Reproduction Mammals. British Library. England.
- Epifano and Dean, J. 1994. Biology and Structure of Zona Pellucida : A Target for Imunocontraception. Hum Reprod.
- Franson, R.D. 1992. Anatomi dan Fisiologi ternak, Diterjemahkan Srigandono. Edisi 4. Gajah Mada University Press.
- Ganong, W.F. 1990. Fisiologi Kedokteran. Edisi 10. Diterjemahkan oleh Adji Dharma, Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Gupta, S.K., P. Jethandani, R. Kaul and R. Santhanam. 1997. Prospect of zona pellucida glikoprotein as immunogens for contraceptive vaccine. Hum. Reprod. 3.
- Hamamah, S., Royere, D., Jean, M., and Lucas, H. 1997. The Future of Male Contraception : Imunocontraception by Preventing Gamete Interaction. Human Reprod.
- Hafez, E.S.E. 1993. Reproduction and Breeding Techniques For Laboratory Animal. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Hardjopranoto, S. 1995. Ilmu Kemajiran. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.

- Hasegawa, A., K. Koyama and S. Isojima. 1991. Isolation of Sour Major Glycoprotein Families (ZP1, ZP2, ZP3, ZP4) of Porcine Zona Pellucida and Characterization of Antisera Raised to Each Glycoprotein Family. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zashi*. 43(2) : 221-6
- Hulme, M.J., Aitken, R.J., and Richardson, D.W. 1982. *Gamete research*. 5: 271-281.
- Ismudiono. 1999. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Istianah, F. 2000. Pengaruh Penyuntikan Suspensi Oosit Imatur Kambing terhadap Angka Kebuntingan dan Jumlah Janin Mencit (*Mus musculus*) Betina. Skripsi. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Jackson, R.J., Deborah, J.M., Lyn, A.H., and Ramshaw, A. 1998. Infertility in Mice Induced Recombinant Ectomelia Virus Expressing Mouse Zona Pellucida Glycoprotein. *Biology of Reprod.*
- Kusriningrum, R. 1989. Dasar Perancangan Percobaan Dan Rancangan Acak Lengkap. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Meles, D.K. 1991. Efek Antifertilitas Daun Manggis (*Garcinia mangostama* Linn) pada *Mus musculus* Betina. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga. Surabaya.
- Naz, R.K., Sacco, A., Singh, O., and Pal, R. 1995. Development of Contraceptive Vaccines For Human Using Antigens Derived From Gametes (Spermatozoa and Zona Pellucida) and Hormones (Human Chorionic Gonadotrophin) : Current Status. *Hum Reprod.* 1(1) : 1-18
- Nalbandov, A.V. 1990. Fisiologi Reproduksi Dan Kebidanan pada Mamalia dan unggas. Terjemahan K. Sunarya. Ed 3. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Partodihardjo, S. 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. Penerbit Mutiara. Jakarta.
- Rahayu, L. 1988. Efek Antifertilitas Salamun mamsum pada Mencit Betina. Thesis. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Ressang, A.A. 1984. Patologi Khusus Veteriner. Edisi 2. Team Leader IFAD Project. Denpasar.

- Rinawati, D.S. 2000. Pengaruh Penyuntikan Suspensi Oosit *Immature* Kambing Dalam Adjuvan Terhadap Perkembangan Folikel Pada Ovarium Mencit (*Mus musculus*). Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. UNAIR.
- Salisbury, G.H. and N. L. V. Denmark. 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. Diterjemahkan oleh R. Djanuar. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Sastrawinata, S.R. 1980. Tehnik Keluarga Berencana. Elstar Offset. Bandung.
- Shimizu, S., Ito, M., and Dean, J. 1982. Biochemical and Biophysical research Communication, 109.
- Smith, J. B. and Mangkoewidjojo. 1988. Pemeliharaan Dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Subowo. 1993. Imunologi. Penerbit Angkasa. Jakarta.
- Suherman, S.K. 1995. Estrogen, Antiestrogen, Progestin dan Kontrasepsi Hormonal. Farmakologi Dan Terapi. Edisi 4. Gaya Baru. Jakarta.
- Talevi, R., Guatteri, R., Tartaglioni, G., and Fortunalo, A. 1997. Heterogeneity of Zona Pellucida Carbohydrate Distribution In Human Oocytes Failing To Fertilize In Vitro. Human Reprod.
- Tizard, I. 1988. Veterinary Immunology In Introduction. 3rd . Ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia.
- Thoelihere, M.R. 1985. Fisiologi Reproduksi Pada Ternak. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Wagner and Wolf. 1977. New Natural Product and Plant Drug with Pharmacological Biological of Therapeutical Activity. Spinger Ver Lag. New York. PP : 1-36.
- Woodzicka, T.M.M. Utama, I. K. Putu, G.I. dan Chaniago, D.T. 1991. Reproduksi, Tingkah Laku dan Produksi Ternak di Indonesia. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

**LAMPIRAN**

## Lampiran 1

Penghitungan Analisis Statistik Dengan Uji t Untuk Melihat Pengaruh Suspensi Oosit Terhadap Panjang Uterus Dalam Satuan Centimeter

Ulangan	Kontrol (P <sub>0</sub> )	Perlakuan (P <sub>1</sub> )
	A	B
1	1,95	2,2
2	2,4	2,6
3	2,65	2,5
4	2,25	2,4
5	2,35	2,15
6	2,3	2,25
7	2,1	2,45
8	2,3	2,6
Total	18,3	19,15
Rata-rata	2,2875	2,39375

Menghitung standart error dari masing-masing perlakuan :

$$\begin{aligned} S_{A^2} &= \frac{\sum A^2 - \frac{(\sum A)^2}{n_1}}{n_1 - 1} = \frac{1,95^2 + 2,4^2 + 2,65^2 + \dots + 2,3^2 - \frac{(18,3)^2}{8}}{7} \\ &= \frac{42,16 - 41,86125}{7} \\ &= 0,042679 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} S_{B^2} &= \frac{\sum B^2 - \frac{(\sum B)^2}{n_2}}{n_2 - 1} = \frac{2,2^2 + 2,6^2 + 2,5^2 + \dots + 2,6^2 - \frac{(19,15)^2}{8}}{7} \\ &= \frac{46,0575 - 45,8403}{7} \\ &= 0,0310285 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 S_{(A-B)} &= \sqrt{\frac{S_A^2}{n_1} + \frac{S_B^2}{n_2}} \\
 &= \sqrt{\frac{(0,042679) + (0,0310285)}{8}} \\
 &= 0,0959866
 \end{aligned}$$

Membandingkan  $t_{(t \text{ hitung})}$  dengan  $t_{(tabel)}$

$$\begin{aligned}
 t_{(t \text{ hitung})} &= \frac{\bar{A} - \bar{B}}{S_{(A-B)}} = \frac{18,3 - 19,15}{0,0959866} \\
 &= -8,8554027 \\
 t_{(tabel)}^{(dbA+dbB)} &= t_{(tabel)}^{(n_1-1)+(n_2-1)} \\
 &= t_{(tabel)}^{(8-1)+(8-1)} \\
 &= t_{(tabel)}^{(7+7)} \\
 &= t_{(tabel)}^{(14)} \\
 t_{0,05(14)} &= 2,145
 \end{aligned}$$

$t_{(tabel)} > t_{(hitung)}$  maka  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak atau tidak terdapat perbedaan antara  $P_0$  (kontrol) dan  $P_1$  (perlakuan).

## Lampiran 2

Perhitungan Analisis Statistik Dengan Uji t Untuk Melihat Pengaruh Suspensi Oosit Terhadap Berat Uterus Dalam Satuan Gram

Ulangan	Kontrol (P <sub>0</sub> )	Perlakuan (P <sub>1</sub> )
	A	B
1	0,322	0,39
2	0,29	0,32
3	0,21	0,39
4	0,39	0,28
5	0,2	0,3
6	0,3	0,365
7	0,32	0,145
8	0,31	0,38
Total	2,347	2,57
Rata-rata	0,29275	0,32125

Menghitung standart error dari masing-masing perlakuan :

$$\begin{aligned}
 S_{A^2} &= \frac{\sum A^2 - \frac{(\sum A)^2}{n_1}}{n_1 - 1} = \frac{0,322^2 + 0,29^2 + 0,21^2 + \dots + 0,31^2 - \frac{(2,347)^2}{8}}{7} \\
 &= \frac{0,709384 - 0,685621}{7} \\
 &= 3,39471 \times 10^{-3}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 S_{B^2} &= \frac{\sum B^2 - \frac{(\sum B)^2}{n_2}}{n_2 - 1} = \frac{0,39^2 + 0,32^2 + 0,39^2 + \dots + 0,38^2 - \frac{(2,57)^2}{8}}{7} \\
 &= \frac{0,87365 - 0,82561}{7} \\
 &= 6,86284 \times 10^{-3}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 S_{(A-B)} &= \sqrt{\frac{S_A^2}{n_1} + \frac{S_B^2}{n_2}} \\
 &= \sqrt{\frac{(3,39471 \times 10^{-3}) + (6,86286 \times 10^{-3})}{8}} \\
 &= 0,0358077
 \end{aligned}$$

Membandingkan  $t_{(t \text{ hitung})}$  dengan  $t_{(tabel)}$

$$\begin{aligned}
 t_{(t \text{ hitung})} &= \frac{\bar{A} - \bar{B}}{S_{(A-B)}} = \frac{2,342 - 2,57}{0,0358077} \\
 &= -6,3673456 \\
 t_{(tabel)}^{(dbA+dbB)} &= t_{(tabel)}^{(n_1-1)+(n_2-1)} \\
 &= t_{(tabel)}^{(8-1)+(8-1)} \\
 &= t_{(tabel)}^{(7+7)} \\
 &= t_{(tabel)}^{(14)} \\
 t_{0,05(14)} &= 2,145
 \end{aligned}$$

$t_{(tabel)} > t_{(hitung)}$  maka  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak atau tidak terdapat perbedaan antara  $P_0$  (kontrol) dan  $P_1$  (perlakuan).



### Lampiran 3

Perhitungan Analisis Statistik Dengan Uji t Untuk Melihat Pengaruh Suspensi Oosit Terhadap Berat Ovarium Dalam Satuan Gram

Ulangan	Kontrol (P <sub>0</sub> )	Perlakuan (P <sub>1</sub> )
	A	B
1	0,0365	0,39
2	0,0465	0,04
3	0,06	0,05
4	0,036	0,31
5	0,042	0,0615
6	0,0365	0,047
7	0,05	0,0415
8	0,047	0,018
Total	2,3545	0,06
Rata-rata	0,0443125	0,349

Menghitung standart error dari masing-masing perlakuan :

$$\begin{aligned}
 S_{A^2} &= \frac{\sum A^2 - \frac{(\sum A)^2}{n_1}}{n_1 - 1} = \\
 &= \frac{0,0365^2 + 0,0465^2 + 0,06^2 + \dots + 0,047^2 - \frac{(0,3545)^2}{8}}{7} \\
 &= \frac{0,01619575 - 0,0157087}{7} \\
 &= \frac{4,871 \times 10^{-4}}{7} \\
 &= 6,9586 \times 10^{-5}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 S_{B^2} &= \frac{\sum B^2 - \frac{(\sum B)^2}{n_2}}{n_2 - 1} = \frac{0,04^2 + 0,05^2 + 0,031^2 + \dots + 0,06^2 - \frac{(0,349)^2}{8}}{7} \\
 &= \frac{0,0166985 - 0,0152251}{7} \\
 &= 2,10486 \times 10^{-4}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 S_{(A-B)} &= \sqrt{\frac{S_{A^2}}{n_1} + \frac{S_{B^2}}{n_2}} \\
 &= \sqrt{\frac{(6,9586 \times 10^{-5}) + (2,10486 \times 10^{-4})}{7}} \\
 &= 5,9168 \times 10^{-3}
 \end{aligned}$$

Membandingkan  $t_{(t \text{ hitung})}$  dengan  $t_{(t \text{ tabel})}$

$$t_{(t \text{ hitung})} = \frac{\bar{A} - \bar{B}}{S_{(A-B)}} = \frac{0,0443125 - 0,043625}{5,9168 \times 10^{-3}}$$

$$= 0,1161945$$

$$t_{(t \text{ tabel})}^{(dbA+dbB)} = t_{(t \text{ tabel})}^{(n_1-1)+(n_2-1)}$$

$$= t_{(t \text{ tabel})}^{(8-1)+(8-1)}$$

$$= t_{(t \text{ tabel})}^{(7+7)}$$

$$= t_{(t \text{ tabel})}^{(14)}$$

$$t_{0,05(14)} = 2,145$$

$t_{(t \text{ tabel})} > t_{(t \text{ hitung})}$  maka  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak atau tidak terdapat perbedaan antara  $P_0$  (kontrol) dan  $P_1$  (perlakuan).

#### Lampiran 4 : Komposisi *Complete freund Adjuvant*

*Complete freund adjuvan* dikemas dalam botol / 10 ml. Dalam setiap literanya mengandung :

- ☞ 850 ml Parafin oil.
- ☞ 150 ml Arlancel A®
- ☞ 500 mg Mycobacterium smegmatis (butyricum).

Dianjurkan disimpan pada suhu 2°-8° C.