

UNIVERSITAS AIRLANGGA
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

SKRIPSI

SEPARASI EKSTRAK SERUM KUDA BUNTING DENGAN SEPHADEX G-25 UNTUK SUPEROVULASI PADA MENCIT

39 - 0106
Ti
S



Oleh :

MELANY TRISNAATI
MALANG - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2004**



**Separasi Ekstrak Serum Kuda Bunting Dengan
Sephadex G-25 Untuk Superovulasi
Pada Mencit**

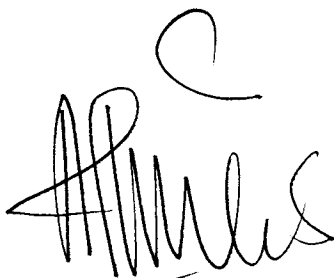
Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
Pada
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Oleh

MELANY TRISNAATI
NIM. 069812605

Menyetujui

Komisi Pembimbing



(Abdul Samik, MSI, Drh.)

Pembimbing Pertama



(Prof. Dr. Loba Mahaputra, MSc., Drh.)

Pembimbing Kedua

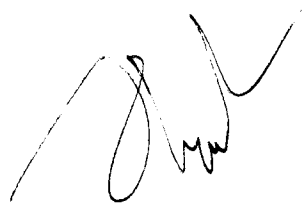
Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar **SARJANA KEDOKTERAN HEWAN**.

Menyetujui

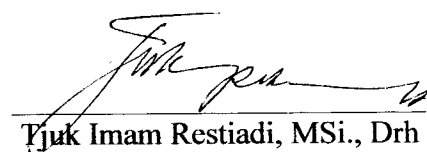
Panitia Penguji,



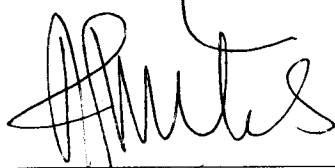
Husni Anwar, Dth.
Ketua



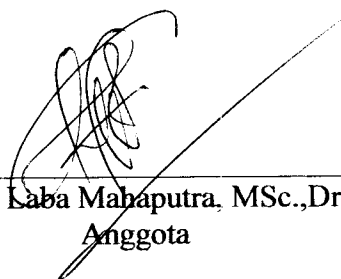
Herry Agoes Hermadi, MSi., Drh.
Sekretaris



Tjuk Imam Restiadi, MSi., Drh
Anggota



Abdul Samik, MSi., Drh.
Anggota



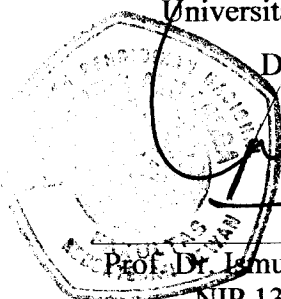
Prof. Dr. Laba Mahaputra, MSc., Drh.
Anggota

Surabaya, 30 Januari 2004

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan



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

**SEPARASI EKSTRAK SERUM KUDA BUNTING DENGAN
SEPHADEX G-25 UNTUK SUPEROVULASI
PADA MENCIT**

MELANY TRISNAATI

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah, untuk mengetahui sejauh mana kemampuan serum kuda bunting baik yang diekstraksi dan dipisahkan maupun yang tidak diekstraksi dan dipisahkan dalam menginduksi superovulasi serta untuk mendapatkan hasil separasi pada tabung berapa yang dapat menginduksi superovulasi secara maksimal.

Penelitian ini menggunakan 30 ekor mencit betina pluripara berumur \pm 4 bulan yang diberi 5 perlakuan (P0, P1, P2, P3, P4). Masing-masing perlakuan mendapatkan 6 ulangan. Perlakuan pertama adalah kontrol (P0) menggunakan PBS, perlakuan kedua (P1) menggunakan whole serum, perlakuan ketiga (P2) menggunakan ekstrak serum kuda bunting hasil separasi 3, 4, 5, perlakuan keempat (P3) menggunakan ekstrak serum kuda bunting hasil separasi 6, 7, 8, perlakuan kelima (P4) menggunakan ekstrak serum kuda bunting hasil separasi 9, 10, 11. Penyuntikan dilakukan pada fase diestrus dan pembedahan dilakukan 6 hari setelah perkawinan. Parameter yang diamati adalah jumlah korpus luteum. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dan data hasil penelitian ini dianalisis dengan analisis varian (Anava).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa serum hasil ekstraksi dan separasi, menginduksi superovulasi paling baik dan jumlah korpus luteum terbanyak terdapat pada P2, dimana PMSG yang diharapkan terkonsentrasi pada tetes ke-11 sampai ke-25.

KATA PENGANTAR

Puji syukur Alhamdulillah kehadirat Allah swt, yang telah melimpahkan curahan kasih sayang, nikmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan makalah seminar ini.

Adapun tujuan dari penyusunan makalah seminar ini adalah untuk memenuhi salah satu syarat guna memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa tanpa bantuan dari berbagai pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung penyusunan makalah seminar ini tidak akan berhasil. Rasa hormat dan terima kasih yang sedalam-dalamnya penulis sampaikan kepada Bapak Abdul Samik, MSi., Drh selaku pembimbing pertama dan Bapak Prof. Dr. Laba Mahaputra, M.Sc., Drh selaku pembimbing kedua atas segala kesabaran, dorongan, bimbingan dan nasehat-nasehatnya yang sangat membantu dalam penulisan makalah seminar ini.

Terima kasih juga penulis sampaikan kepada Bapak Dekan dan para Pembantu Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga beserta Staf atas didikan dan kesempatan yang diberikan kepada penulis selama ini. Kepada staf Laboratorium Kebidanan Veteriner Universitas Airlangga atas bantuan dan fasilitas yang diberikan selama penelitian, penulis sampaikan terima kasih.

Salam cinta dan hormat selalu penulis sampaikan kepada Ayah, Mama, dan Adik. Terima kasih untuk Mas Ditto tersayang yang selalu sabar menemani dan membantu selama penelitian, teman-teman FKH, teman-teman di Sutorejo 26.

Semoga Allah swt, melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya bagi kita semua dan disertai harapan agar makalah ini dapat bermanfaat bagi Ilmu Pengetahuan dan masyarakat.

Makalah ini jauh dari sempurna, penulis mengharap segala kritik dan saran bagi kesempurnaannya.

Surabaya, Januari 2004

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Penelitian	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Landasan Teori	3
1.4. Tujuan Penelitian	4
1.5. Manfaat Penelitian	4
1.6. Hipotesis	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Siklus Birahi pada Mencit Betina	5
2.2. Ovulasi	9
2.3. Kontrol Hormonal selama Ovulasi	10
2.4. Pregnant Mare Serum Gonadotropin	11
2.5. Perangsangan Superovulasi	13
2.6. Sephadex	13
BAB III MATERI DAN METODE	16
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	16
3.2. Materi Penelitian	16
3.2.1. Hewan Percobaan	16

3.2.2. Bahan Penelitian	16
3.2.3. Alat-alat Penelitian	17
3.3. Metode Penelitian	17
3.3.1. Pembuatan serum	17
3.3.2. Pembuatan Ekstrak Serum Kuda Bunting	17
3.3.3. Pembuatan Bahan Separasi	18
3.3.4. Separasi Ekstrak Serum Kuda Bunting	18
3.3.5. Pembuatan Sediaan Ulas Vagina	19
3.3.6. Perlakuan Hewan Coba	19
3.3.7. Rancangan Percobaan	20
3.3.8. Analisis Data	20
BAB IV HASIL PENELITIAN	21
BAB V PEMBAHASAN	23
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	27
RINGKASAN	28
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN	33

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Perubahan Fisiologi Kelamin dan Tingkah Laku Mencit selama Siklus Birahi	6
Tabel 2. Berbagai Jenis Sephadex dan Batas Eksklusinya.....	13
Tabel 3. Rata-rata Jumlah Korpus Luteum Mencit	21

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Irisan Dinding Vagina Mencit pada Berbagai Fase Siklus Birahi.....	8
Gambar 2. Hubungan Hormon-hormon yang Mengatur Reproduksi Hewan Betina.....	11
Gambar 3. Struktur Kimia Partial Sephadex	14
Gambar 4. Skema yang Menunjukkan Bagaimana Partikel Terpisah pada Saat Dilewatkan Sephadex	15
Gambar 5. Grafik Batang Perolehan Korpus Luteum Antara Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan yang Disuntik 3 Kelompok Hasil Separasi Ekstrak Serum Kuda Bunting.....	22

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil Perhitungan Korpus Luteum	34
Lampiran 2. Hasil Analisis Statistik dengan Analisis Varian (anova) terhadap Jumlah Korpus Luteum	35
Lampiran 3. Analisis Statistik dengan Uji BNT 1%	37

BAB I

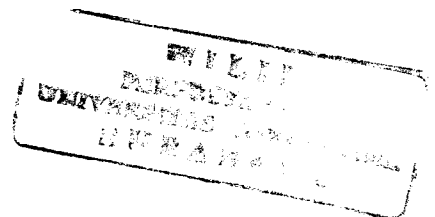
PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penyediaan protein hewani di Indonesia saat ini dinilai kurang mencukupi dibandingkan dengan laju pertumbuhan penduduk yang sangat pesat. Peningkatan ini mencapai 10,85 persen setiap tahunnya, sayangnya peningkatan ini tidak diikuti kenaikan jumlah populasi sapi yang hanya 4 – 5 persen pertahun (Erwan, 2003). Hal ini karena banyaknya kendala yang harus dihadapi, diantaranya adalah tingkat produktifitas ternak yang belum optimal, baik kuantitas maupun kualitasnya. Kenyataan seperti ini perlu mendapat penanganan yang serius dari pihak-pihak yang berkepentingan, termasuk dokter hewan.

Peningkatan mutu ternak merupakan salah satu aspek utama dalam pengembangan peternakan di Indonesia. Berbagai teknologi mutakhir yang diciptakan untuk meningkatkan efisiensi reproduksi ternak adalah transfer embrio dan superovulasi. Keberadaan teknologi transfer embrio dan superovulasi akan sangat bermanfaat, khususnya terhadap ternak yang saat ini mengalami penurunan populasi.

Transfer embrio adalah teknologi pemindahan embrio-embrio hasil superovulasi sapi donor ke sapi-sapi resipien. Sedangkan superovulasi adalah bertambahnya ovulasi (*ovulation rate*) dalam satu siklus birahi normal, yang digertak dengan preparat hormonal pada seekor hewan betina yang telah mencapai masa pubertas (Hardjopranjoto, 1984).



Bindon dan Piper (1981) serta Mahaputra (1997), melaporkan bahwa *Pregnant Mare Serum Gonadotropin* (PMSG) secara endokrinologi dapat digunakan untuk mendorong terjadinya superovulasi pada transfer embrio, menggertak birahi dan ovulasi pada hewan-hewan yang mengalami gangguan reproduksi, serta dapat meningkatkan jumlah sel telur yang diovulasikan. Untuk transfer embrio menurut Mahaputra (1991), pemberian PMSG pada induk donor dengan satu suntikan mampu menyebabkan birahi tiga sampai empat hari setelah penyuntikan. Untuk tujuan terapi, PMSG dapat dimanfaatkan untuk pengobatan kista ovarium pada sapi seperti yang telah dilaporkan oleh Coleman (1992) dan Allrich (2001).

Preparat PMSG yang beredar di Indonesia saat ini secara komersial hasil impor dari negara lain yang telah maju dibidang peternakan. Sejak krisis moneter melanda negara kita, PMSG merupakan salah satu obat hewan yang sangat mahal disamping langka keberadaannya. Hormon ini sangat dibutuhkan oleh peternak untuk menanggulangi hipofungsi ovarium pada ternaknya. Di sisi lain, peternak terutama peternak kecil di pedesaan kurang mampu membelinya. Untuk mengganti PMSG dapat digunakan preparat hormon gonadotrophin lainnya yaitu *Luteinizing Hormone* (LH) dan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH), tetapi lebih tidak meyakinkan karena harga kedua hormon tersebut jauh lebih mahal, melebihi harga PMSG.

PMSG merupakan hormon yang terdapat dalam serum bangsa *equide* yang sedang bunting. Berdasarkan permasalahan tersebut di atas, maka timbul

pemikiran untuk mendapatkan PMSG dari separasi ekstrak serum kuda bunting dan uji potensi biologis untuk superovulasi pada mencit.

1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan dari latar belakang tersebut, dapat dirumuskan permasalahan :

1. Apakah serum kuda bunting yang diekstraksi dan separasi maupun yang tidak diekstraksi dan diseparasi (*whole serum*) dapat menyebabkan superovulasi pada mencit ?
2. Hasil separasi ekstrak serum kuda bunting pada tabung berapakah yang dapat menyebabkan superovulasi secara maksimal pada mencit ?

1.3. Landasan Teori

PMSG mulai disintesis oleh sel-sel trofoblast (*chorionic girdle*) yang akhirnya membentuk endometrial cup, setelah umur kebuntingan kuda mencapai 35 hari (Stabenfeldt and Edqvist, 1993). Puncak konsentrasi PMSG dalam darah terdapat pada umur kebuntingan antara 110 – 130 hari (Davidson *et al*, 1997). PMSG termasuk dalam golongan glikoprotein yang bermassa molekul besar antara 45.000 – 65.000 Dalton (Knobil and Neill, 1994). Dengan berat molekul tersebut PMSG tidak dapat melewati sistem filter ginjal, akibatnya PMSG tidak disekresikan melalui urine tetapi terdapat dalam serum darah dengan konsentrasi yang tinggi (Toelihere, 1981). Adanya kandungan asam sialat yang tinggi dalam molekul PMSG menyebabkan waktu paruh panjang, sehingga mempunyai daya

kerja panjang dalam menstimulasi pertumbuhan folikel ovarium (Toelihere, 1985).

1.4. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sejauh mana kemampuan serum kuda bunting baik yang diseparaasi dan diekstraksi maupun yang tidak diseparaasi dan diekstraksi dalam menginduksi superovulasi serta untuk mendapatkan hasil separasi pada tabung berapa yang dapat menginduksi superovulasi secara maksimal.

1.5. Manfaat Hasil Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat dalam dunia peternakan di Indonesia, terutama dalam pemenuhan hormon PMSG yang selama ini harus diimpor dari luar negeri. Jika hormon PMSG dapat dihasilkan dalam penelitian ini, maka biaya pengeluaran untuk impor hormon PMSG dapat ditekan dan upaya untuk meningkatkan produktifitas ternak dapat diwujudkan.

1.6. Hipotesis

1. Serum kuda bunting baik yang diekstraksi dan diseparaasi maupun yang tidak diekstraksi dan diseparaasi dapat menyebabkan superovulasi pada mencit.
2. Superovulasi maksimal didapat pada penyuntikan hasil separasi ekstrak serum kuda bunting pada tabung 3, 4, 5 (tetes 11 – 25).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Siklus Birahi Mencit Betina

Hewan betina dewasa mengalami masa birahi secara periodik dan tahap ini disebut dengan siklus birahi (Akoso, 1996). Siklus birahi pada hewan menunjukkan variasi yang berbeda pada setiap spesies hewan. Pada umumnya setiap perubahan siklus birahi yang terjadi secara normal menunjukkan perubahan-perubahan yang sifatnya teratur. Jarak antara birahi yang satu dengan yang berikutnya disebut satu siklus birahi (Partodiharjo, 1992). Menurut Hardjopranjoto (1995), ada beberapa yang mempengaruhi lamanya siklus birahi, antara lain suhu, musim, cahaya matahari, umur, penyakit, makanan, faktor genetik dan faktor hormonal.

Mencit termasuk hewan poliestrus, artinya mengalami beberapa kali birahi dalam satu tahun. Birahi mulai pada umur 28-40 hari, dikawinkan pada umur lebih dari 50 hari (20-30 gram berat badan). Siklus birahi mencit 4-5 hari dan estrusnya mulai pada malam hari selama 12 jam (Van Zutphen, 1993).

Selama siklus birahi terjadi perubahan-perubahan fisiologis dari alat kelaminnya. Perubahan-perubahan tersebut dapat terjadi pada epitel vagina, folikel ovarium, lapisan endometrium dan miometrium pada uterus maupun tingkah laku hewan betina. Perubahan pada bentuk dan susunan epitel vagina disebabkan oleh fluktuasi sekresi hormon estrogen dan progesteron (Hafez, 1993). Perubahan ini digunakan untuk menentukan fase dalam siklus birahi.

Tabel 1. Perubahan fisiologis kelamin dan tingkah laku mencit selama siklus birahi

FASE	OVARIUM	UTERUS	VAGINA	TINGKAH LAKU
Proestrus (12 jam)	Regresi korpus luteum Pertumbuhan folikel cepat	Pertumbuhan memanjang Endometrium berisi cairan	Sel kornifikasi dan epitel menebal	Mau menerima pejection setelah akhir fase
Estrus (12 jam)	Ukuran folikel maksimum, dinding folikel mulai pecah	Pertumbuhan endometrium maksimum dan tampak hiperemis	Sel kornifikasi dipermukaan, epitel menebal	Tidak mau menerima pejection
Metestrus (15 jam)	Ovulasi	Pertumbuhan endometrium menurun, epitel berkelok-kelok	Sel kornifikasi lepas, terbentuk vaginal plug	Tidak mau menerima pejection
Metestrus akhir (6 jam)	Terbentuk korpus luteum	Regresi epitel	Sel kornifikasi menghilang, epitel menipis	Tidak mau menerima pejection
Diestrus (57 jam)	Korpus luteum dan folikel lebih besar	Sel epitel tumbuh kembali	Epitel tipis	Tidak mau menerima pejection

Sumber : Smith dan Mangkuwijoyo 1988

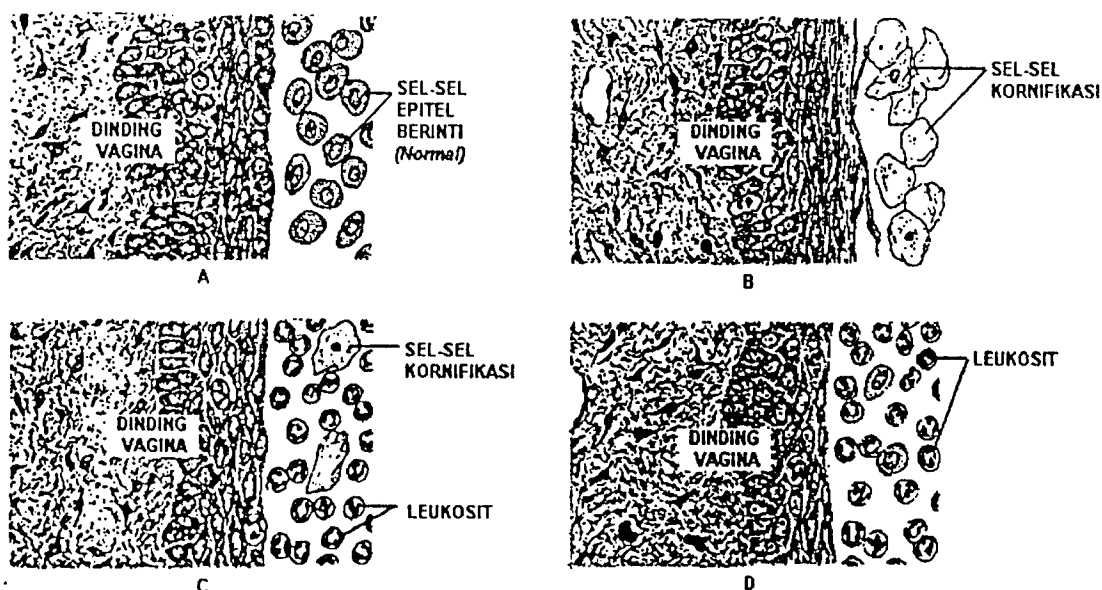
Siklus birahi pada mencit secara normal terbagi dalam empat periode yaitu proestrus, estrus, metestrus, dan diestrus. Masing-masing periode dan perubahannya dari periode satu ke periode lainnya dapat diketahui dengan membuat sediaan ulas vagina, mengamati tingkah laku hewan tersebut, melihat kejadian pada ovariumnya dan mengamati perubahan pada alat kelamin luarnya (Norris, 1980).

Periode proestrus ditandai dengan perubahan tingkah laku mencit yang mulai dapat menerima pejantan walaupun belum melakukan kopulasi. Perubahan pada alat kelamin luarnya terlihat peningkatan peredaran darah di daerah tersebut dan epitel vagina menebal. Periode ini berlangsung selama 12 jam dan pada sediaan ulas vagina terdapat sel-sel kecil dengan inti bulat (Smith dan Mangkuwidjojo, 1988).

Periode estrus ditandai dengan penurunan aktivitas berlari, telinga gemetar, mau menerima pejantan. Perubahan pada alat kelamin luar, epitel vagina menebal, terdapat lapisan sel kornifikasi di atas permukaan vagina. Periode ini berlangsung sekitar 9-15 jam dan pada sediaan ulas vagina terdapat sel-sel kornifikasi, sedangkan kejadian pada ovarium pada akhir estrus terjadi ovulasi.

Periode metestrus berlangsung sekitar 21 jam, yang ditandai dengan mencit betina tidak mau lagi menerima pejantan. Perubahan pada alat kelamin luar terlihat lapisan kornifikasi yang terlepas dari mukosa vagina. Pada sediaan ulas vagina terdapat lendir kental, sel-sel kornifikasi dengan beberapa leukosit. Pada ovarium akan tampak pembentukan korpus luteum.

Periode diestrus merupakan periode terpanjang yaitu sekitar 57 jam, yang ditandai dengan mencit tidak mau menerima pejantan lagi. Mukosa vagina kembali normal, dengan lapisan epitel menipis. Pada sediaan ulas vagina terlihat banyak leukosit dan sel-sel epitel dengan inti jelas.



Gambar 1. Irisan dinding vagina menciit pada berbagai fase siklius birahi, memperlihatkan sel-sel yang muncul di dalam preparat ulas vagina. A. Proestrus; B. Estrus; C. Metestrus; D. Diestrus. Sumber: Turner dan Bagnara, 1988.

Menurut Ismudiono (1999) ditinjau dari aktivitas ovarium pada pembentukan folikel dan korpus luteum, siklus birahi dibagi menjadi dua yaitu fase luteal dan fase folikuler. Fase luteal atau fase progesteronik ditunjukkan adanya korpus luteum yang aktif dan telah berkembang pada ovarium serta dominan dari hormon progesteron. Sedangkan fase folikuler atau estrogenic adalah fase dimulai dari regresi korpus luteum sampai terjadi ovulasi.

Sedangkan menurut Partodiharjo (1992), fase proestrus dan fase estrus disebut fase folikuler karena dalam fase inilah folikel tumbuh tumbuh secara cepat, sedangkan fase metestrus dan fase diestrus disebut fase luteal karena dalam

inilah korpus luteum tumbuh dan berfungsi. Fase folikuler pada umumnya berlangsung jauh lebih singkat dari fase luteal.

2.2. Ovulasi

Ovulasi didefinisikan sebagai pelepasan sel telur dari folikel de Graaf. Jumlah sel telur yang diovulasikan oleh ovarium pada satu periode estrus berbeda-beda menurut spesies hewan (Toelihere, 1985).

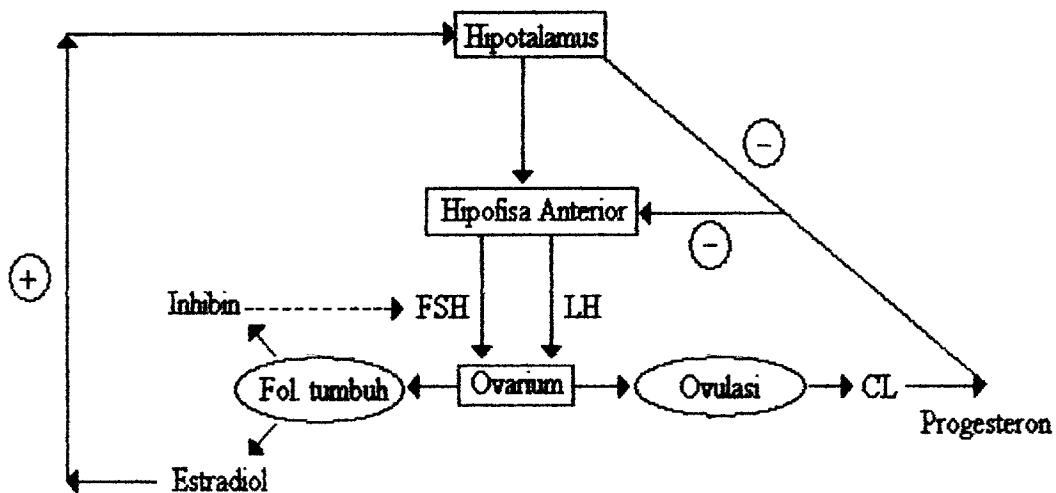
Pecahnya folikel de Graaf yang masak dan terlepasnya sel telur masak dari ovarium menandai proses ovulasi (Evans dan Maxell, 1987). Pada waktu menjelang ovulasi, folikel menjadi sangat membengkak dan lunak, kemudian lapisan dinding folikel paling luar secara lambat terpisah dan dua atau tiga lapisan yang dalam menjulur dan menerobos keluar membentuk suatu penonjolan stigma. Penonjolan ini tempat pecahnya folikel (Nalbandov, 1990)

Ovulasi terjadi karena adanya pelepasan *Luteinizing Hormone* (LH). Hormon ini menyebabkan jumlah aliran darah yang menuju ovarium menjadi meningkat sehingga menyebabkan hiperemia pada ovarium. Menurut Toelihere (1985) hiperemia ini membawa pengaruh terhadap terlepasnya enzim-enzim proteolitik seperti kolagenase ke dalam cairan folikuler. Enzim proteolitik ini menyebabkan melemahnya dinding folikel, sehingga terjadi daerah avaskuler (stigma) dan ovulasi terjadi pada daerah penonjolan superficial dinding folikel yang tidak ditunjang dengan stroma ovarium (Hafez, 1993). Sel telur bergerak menuju ke bagian yang sobek dan kemudian masuk ke infundibulum dari tuba falopii.

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

2.3. Kontrol Hormonal selama Ovulasi

Pada akhir dari fase diestrus, korpus luteum mengalami regresi. Regresi ini disebabkan oleh pengaruh prostaglandin yang dihasilkan oleh uterus. Akibat dari regresinya korpus luteum, kadar progesteron menurun dalam darah. Penurunan ini menyebabkan mekanisme umpan balik negatif progesteron terhadap hypothalamus dihilangkan, sehingga hypothalamus akan mensekresikan GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*). GnRH ini akan menyebabkan dilepaskannya FSH dan LH oleh hipofisa anterior. FSH menyebabkan pertumbuhan folikel dan dalam pertumbuhannya folikel menghasilkan estrogen dan inhibin. Inhibin bekerja dengan jalan menghambat kerja FSH, sedangkan estrogen bekerja sebagai umpan balik positif pada hypothalamus untuk mensekresikan LH. Sentakan LH menyebabkan terjadinya ovulasi dan korpus luteum dibentuk untuk menghasilkan progesteron. Progesteron bekerja sebagai umpan balik negatif terhadap hypothalamus dan hipofisa anterior (Tomaszewska dkk., 1991).



Gambar 2. Hubungan hormon-hormon yang mengatur reproduksi hewan betina
Sumber : Tomaszewska 1991

Keterangan : (+) : umpan balik positif (-) : umpan balik negatif

2.4. Pregnant Mare Serum Gonadotropin (PMSG)

Pregnant Mare Serum Gonadotropin (PMSG) atau equine Chorionic Gonadotropin (eCG) merupakan hormon yang didapatkan dalam darah kuda betina bunting, yaitu pada umur 40-140 hari masa kebuntingan. Hormon ini pertama kali ditemukan oleh Cole dan Hart pada tahun 1930. Serum kuda bunting disamping mengandung PMSG (Hunter, 1995), telah diteliti pula mengandung progesterone dan estradiol 17 β (Mahaputra, 1997).

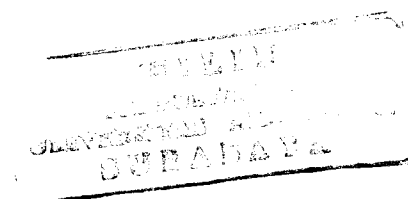
PMSG mulai disintesis oleh sel-sel tropoblas (*chorionic girdle*) yang akhirnya membentuk *endometrial cups*, setelah umur kebuntingan kuda mencapai 35 hari (Stabenfeldt dan Edqvist, 1993). Selanjutnya konsentrasi PMSG dalam darah kuda mencapai 100 IU/ml saat umur kebuntingan 40 hari dan semakin meningkat menjadi 150 IU/ml setelah umur kebuntingan 130 hari (Hafez, 1993).

Puncak konsentrasi PMSG dalam darah terdapat pada umur kebuntingan antara 110-130 hari (Davidson *et al.*, 1997).

PMSG merupakan hormon gonadotropin kelompok glikoprotein yang mempunyai berat molekul besar antara 45.000-65.000 Dalton (Knobil dan Neill, 1994). Subunit α tersusun dari 96 asam amino (Knobil dan Neill, 1994), sementara subunit β tersusun dari 149 asam amino (Murphy dan Martinuk, 1991). Perbedaan kandungan asam amino diantara kedua subunit tersebut menyebabkan massa molekul subunit β (25.000 – 35.000 Dalton) lebih besar dari pada subunit α (15.000 – 25.000 Dalton). PMSG dengan tingkat kemurnian sangat tinggi massa molekulnya dapat mencapai 43.000 – 63.000 Dalton (Affiland, 2002). Dengan berat molekul tersebut PMSG dapat melewati sistem filter ginjal, akibatnya PMSG tidak diekskresikan melalui urine tetapi terdapat dalam serum darah dengan konsentrasi yang tinggi (Toelihere, 1981).

PMSG mempunyai kandungan karbohidrat yang tinggi dibanding FSH dan LH, khususnya asam sialat (Hafez, 2000). Adanya kandungan asam sialat yang tinggi dalam molekul PMSG menyebabkan waktu paruh panjang sehingga mempunyai daya kerja yang panjang dalam menstimulasi pertumbuhan folikel ovarium dibanding FSH murni (Toelihere, 1985).

PMSG secara biologik mempunyai fungsi dan daya kerja serupa dengan campuran FSH dan LH dari kelenjar hipofisa anterior, tetapi pengaruh utamanya lebih menyerupai FSH (Hardjopranjoto, 1984 ; Turner dan Bagnara, 1988).



2.5. Perangsangan Superovulasi

Saat ovulasi selama siklus birahi diatur oleh tercapainya puncak sekresi hormon gonadotropin, terutama LH dan FSH yang dipicu oleh aksi umpan balik positif dari estrogen yang dihasilkan oleh folikel de Graaf matang (Hunter, 1995). Hormon yang berfungsi untuk meningkatkan ovulasi dapat digunakan kombinasi yang mempunyai aksi FSH dan LH seperti PMSG dan HCG (Samik, 2001).

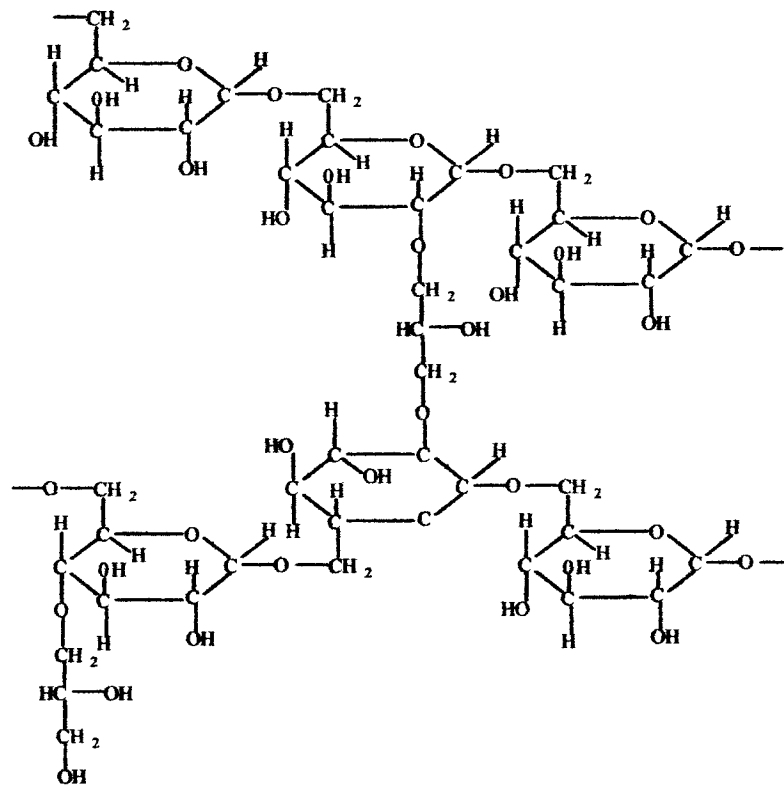
2.6. Sephadex

Sephadex merupakan salah satu bahan yang digunakan dalam teknik kromatografi filtrasi gel. Sephadex adalah gel yang berbentuk seperti embun dan merupakan ikatan silang antara dextran dan epiklorhidrin. Struktur kimia partial dapat dilihat pada gambar 1. Gel sephadex tidak larut dalam air, tahan dalam alkali, asam lemah, dan zat-zat pengoksidasi dan pereduksi yang lemah, sedangkan dalam asam kuat sephadex akan terhidrolisa. Tetapi bila diekspose pada waktu yang lama akan pecah. Penggunaan pada suhu di atas 120°C juga harus dihindari.

Tabel 2. Berbagai Jenis Sephadex dan Batas Eksklusinya

Jenis Sephadex	Batas Eksklusi (BM)
G-10	700
G-25	5.000
G-50	10.000
G-75	50.000
G-100	100.000
G-200	200.000

Sumber : Mochamad Adnan, 1997

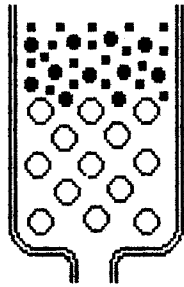


Gambar 3. Struktur Kimia Partial Sephadex

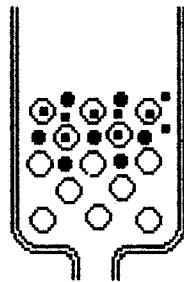
Sephadex tidak mencair dan dapat disterilisasi dengan sterilisasi basah pada pH netral atau sterilisasi kering dengan autoclave selama 30 menit pada suhu 120°C . Tetapi jika dipanaskan melebihi 120°C akan mengalami caramelisasi.

Mekanisme pemecahan dan pemisahan sephadex secara skematis dapat digambarkan sebagai berikut: partikel yang mempunyai berat molekul lebih besar tidak dapat memasuki pori-pori sephadex gel, sehingga partikel tersebut menerobos melewati ruang-ruang kosong yang berada di sekitar sephadex gel. Partikel yang berat molekulnya kecil akan turun lambat karena masih tersangkut pada pori-pori sephadex gel pada saat partikel yang lebih besar turun ke bawah.

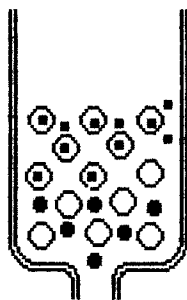
Partikel yang mempunyai berat molekul yang lebih kecil ini akan dikeluarkan terakhir kali.



Larutan yang berbeda berat molekulnya dimasukkan ke dalam permukaan sephadex column. Larutan ini ditunjukkan dengan gambar lingkaran yang lebih hitam, sedangkan lingkaran yang terbuka adalah partikel sephadex.



Larutan ini kemudian turun, molekul yang lebih kecil dapat memasuki pori-pori sephadex gel dan akan dihambat, sedangkan molekul dengan ukuran lebih besar yang terletak di antara partikel sephadex dapat menerobos ke bawah.



Molekul yang kecil akan turun lambat (di dalam gel) karena masih tersangkut dalam partikel sephadex ketika molekul yang lebih besar turun ke bawah. Larutan yang mempunyai berat molekul lebih kecil di keluarkan kemudian dengan pelarut yang lebih banyak.

Gambar 4. Skema yang menunjukkan bagaimana partikel terpisah pada saat dilewatkan Sephadex. (Day and Underwood, 1986).

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Pengambilan sampel darah kuda bunting dilakukan di peternakan kuda di daerah Kenjeran, Surabaya. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kebidanan dan Laboratorium Fisiologi Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Waktu penelitian dimulai bulan November 2002 sampai Pebruari 2003.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 ekor mencit betina yang sudah pernah beranak (pluripara) berumur \pm 4 bulan. Serta 3 ekor kuda pacu bunting 3,5 bulan sebagai sumber serum darah.

3.2.2. Bahan Penelitian

Serum kuda bunting umur 3,5 bulan, NaCl fisiologis untuk pembuatan preparat ulas vagina, Metanol untuk bahan ekstraksi, Sephadex G-25 dan pelarut *Phosphat Buffer Saline Dulbecco's* (PBSD) sebagai bahan separasi.

3.2.3. Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang mencit sebanyak 4 buah yang terbuat dari bak plastik dengan tutup dari anyaman kawat, tempat air minum dari botol dan mangkok plastik untuk tempat pakan. Papan dari kayu, gunting, pinset, skalpel, jarum pentul dan kaca pembesar untuk pembedahan dan pemeriksaan ovarium mencit. Tabung reaksi, alat pengocok (*vortex*), *blowing pump* dan *waterbath* untuk mengekstraksi serum. Mikroskop cahaya, obyek glass, *cottonbath* untuk pemeriksaan ulas vagina. Dan alat-alat tambahan seperti: spuit disposable 1 ml, 50 ml, pipet mikro, *sentrifuge*, *freezer* dan milifor 0,22 μm .

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Pembuatan serum

Darah diambil dari vena jugularis menggunakan *syringe* (spuit) 50 ml, kemudian ditampung dalam tabung kaca kemudian ditutup. Tabung dimiringkan 45° dan didiamkan selama 24 jam pada suhu kamar. Kemudian disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Serum yang didapat lalu disaring menggunakan milifor 0.22 μm . Serum ditampung pada vial dan disimpan dalam *freezer* dengan suhu -20°C.

3.3.2. Pembuatan Ekstrak Serum Kuda bunting.

Serum kuda bunting umur 3,5 bulan diambil sebanyak 9 ml. Kemudian dibagi ke dalam 9 tabung reaksi dengan volume masing-masing 1 ml. Setiap tabung reaksi ditambahkan 5 ml Metanol dan di kocok selama 3 menit kemudian

didiamkan 15 – 20 menit sampai terdapat 2 lapisan cairan. Supernatan diambil dengan *syringe* 5 ml dan dimasukkan ke tabung ekstraksi untuk diuapkan. *Blowing pump* atau penguapan dilakukan dalam *waterbath* dengan suhu 39°C sampai cairan menjadi kering. Kesembilan tabung hasil ekstraksi tersebut kemudian ditambahkan PBSD masing-masing 1 ml.

3.3.3. Pembuatan Bahan Separasi

Separasi dibuat dari campuran Sephadex G-25 dengan pelarut PBSD 25 persen yaitu 1 gram Sephadex G-25 dan 4 ml PBSD, larutan tersebut dimasukkan spuit yang dasarnya telah diberi *cotton wool* hingga ketinggian sephadex 5 cm dengan sebagian larutan PBSD tetap di atasnya, kemudian didiamkan selama 24 jam dalam suhu kamar sehingga terdapat dua lapisan larutan yaitu lapisan atas terdiri dari PBSD, dan lapisan bawah terdiri dari campuran antara PBSD dan Sephadex G-25.

3.3.4. Separasi Ekstrak Serum Kuda Bunting

Ekstrak serum kuda bunting yang telah dilarutkan dengan PBSD, diambil sebanyak tiga tabung sehingga didapatkan 3ml ekstrak serum kuda bunting, kemudian dimasukkan kedalam spuit yang berisi bahan separasi dimana sebelumnya permukaan PBSD dibuat rata dengan permukaan Sephadex. Penampungan dilakukan setiap 5 tetes untuk setiap tabung hingga tetes ke 55. Tabung 1 dan 2 yang masing-masing berisi 5 tetes I dan 5 tetes II tidak digunakan untuk penyuntikan hewan coba. Ekstrak serum hasil separasi yang digunakan

adalah ekstrak serum pada tabung 3, 4, 5 (tetes ke-11 sampai ke- 25) sebagai kelompok III, tabung 6, 7, 8 (tetes ke-26 sampai ke-40) sebagai kelompok IV, dan tabung 9, 10, 11 (tetes ke-41 sampai ke-55) sebagai kelompok V.

3.3.5. Pembuatan Sediaan Ulas Vagina

Mencit dipegang dengan jari telunjuk dan ibu jari tangan kiri, sedang ekornya dijepit di antara jari kelingking dan jari manis. *Cottonbath* yang telah dicelupkan ke dalam NaCl fisiologis dimasukkan ke dalam vagina dan diputar kesatu arah, kemudian diulaskan di atas obyek glass. Preparat ulas vagina dapat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali.

3.3.6. Perlakuan Hewan Coba

Mencit-mencit ditempatkan dalam kandang untuk diadaptasikan selama 10 hari. Setelah masa adaptasi selesai hewan coba diberi perlakuan sebagai berikut:

- a. Kelompok I Kontrol, masing-masing mencit disuntik PBS-D dosis 0,1ml
- b. Kelompok II, masing-masing mencit disuntik 0,1ml serum sebelum ekstraksi dan separasi (*whole serum*).
- c. Kelompok III, masing-masing mencit disuntik 0,1ml hasil separasi ekstrak serum pada tabung 3, 4, 5 (tetes ke-11 sampai ke-25)
- d. Kelompok IV, masing-masing mencit disuntik 0,1ml hasil separasi ekstrak serum pada tabung 6, 7, 8 (tetes ke-26 sampai ke-40)
- e. Kelompok V, masing-masing mencit disuntik 0,1ml hasil separasi ekstrak serum pada tabung 9, 10, 11 (tetes ke-41 sampai ke-55)

Penyuntikan (perlakuan) mencit dilakukan pada fase diestrus secara subkutan. Kemudian dikawinkan, setelah 5-6 hari dimana fase diestrus sudah dimulai, mencit-mencit tersebut dibedah untuk dihitung korpus luteumnya.

3.3.7. Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan lima macam perlakuan dan masing-masing perlakuan dengan enam ulangan.

3.3.8. Analisis Data

Analisis data yang digunakan untuk mengetahui pengaruh penyuntikan setiap kelompok perlakuan terhadap superovulasi pada mencit dilakukan dengan analisis varian (anava). Jika analisis tersebut terdapat perbedaan yang nyata, maka dilanjutkan dengan uji BNT (Kusriningrum, 1989).

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian tentang superovulasi dengan hasil separasi ekstrak serum kuda bunting maupun dengan whole serum, tercantum dalam tabel 3 di bawah ini.

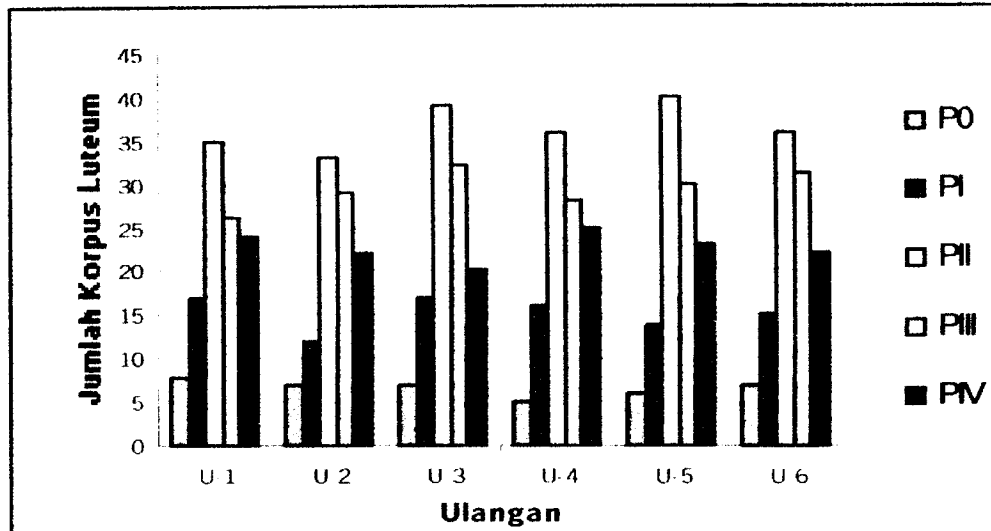
Tabel 3. Rata-rata jumlah korpus luteum dari ovarium mencit

Perlakuan	Jumlah Ulangan	Rata-rata Korpus Luteum ($\bar{x} \pm SD$)
P0	6	6,667 ^c \pm 1,032
PI	6	15,167 ^d \pm 1,940
PII	6	36,500 ^a \pm 2,588
PIII	6	29,333 ^b \pm 2,160
PIV	6	22,667 ^c \pm 1,751

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$)

Tabel 3 di atas dengan memperhatikan lampiran 2 menunjukkan bahwa daftar analisis varian dari hasil perhitungan korpus luteum adalah $F_{hitung} > F_{tabel}$ 0,01 yang berarti terdapat perbedaan yang sangat nyata diantara kelompok perlakuan ($p < 0,01$). Hal ini menegaskan bahwa hipotesis yang diajukan dapat diterima. Penyuntikan dengan hasil separasi ekstrak serum kuda bunting dan whole serum menyebabkan peningkatnya jumlah korpus luteum dibandingkan jumlah korpus luteum pada kelompok kontrol. Dengan memperhatikan lampiran 3 hasil terbaik didapat pada kelompok perlakuan II (tabung 3, 4, 5), diikuti oleh kelompok perlakuan III (tabung 6, 7, 8), kelompok perlakuan IV (tabung 9, 10,

11). dan hasil terendah pada kelompok perlakuan I (whole serum), dengan memperhatikan lampiran 1 perolehan korpus luteum pada tiap perlakuan dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 5. Grafik batang perolehan korpus luteum antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang disuntik dengan whole serum dan 3 kelompok hasil separasi ekstrak serum kuda bunting.

Keterangan :

P0 : 0,1 ml PBS

P1 : 0,1 ml Whole serum (serum tanpa ekstraksi dan separasi)

PII : 0,1 ml Ekstrak serum hasil separasi ke 3, 4, 5 (tetes ke-11 sampai ke-25)

PIII : 0,1 ml Ekstrak serum hasil separasi ke 6, 7, 8 (tetes ke-26 sampai ke-40)

PIV : 0,1 ml Ekstrak serum hasil separasi ke 9, 10, 11 (tetes ke-41 sampai ke-55)

U : Ulangan

BAB V

PEMBAHASAN

Respon ovarium terhadap penyuntikan hasil separasi ekstrak serum kuda bunting dengan menggunakan sephadex dalam penelitian ini cukup baik. Hal ini dapat dilihat dari banyaknya jumlah korpus luteum. Pada tabel 2 menunjukkan bahwa rata-rata jumlah korpus luteum antara kelompok kontrol dan perlakuan masing-masing adalah $6,667 \pm 1,032$; $15,167 \pm 1,940$; $36,500 \pm 2,588$; $29,333 \pm 2,160$; $22,667 \pm 1,751$, dengan analisis statistik menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$).

Peningkatan jumlah korpus luteum terlihat pada setiap perlakuan. Pada P0 dan P1 menunjukkan perbedaan yang sangat nyata, hal ini menunjukkan dalam serum kuda bunting yang disuntikkan mengandung PMSG yang mampu mematangkan folikel dan menyebabkan ovulasi, namun PMSG yang terkandung dalam serum masih tercampur dengan hormon lain karena serum tidak diekstraksi dan diseparasi terlebih dahulu, sehingga respon oleh PMSG tidak dapat bekerja secara maksimal.

P1I terdapat peningkatan jumlah korpus luteum lebih dari dua kali lipat dibandingkan dengan P1, hal ini disebabkan ekstraksi dan separasi PMSG yang terkandung dalam serum kuda bunting 3,5 bulan termasuk dalam konsentrasi puncak, yaitu umur kebuntingan 110 – 130 hari (Davidson *et al.*, 1997), sehingga PMSG yang terkandung bekerja secara maksimal dalam menginduksi superovulasi.

Sedangkan PIII dan PIV sudah terlihat adanya penurunan jumlah korpus luteum yang lebih rendah dari PII tetapi jumlahnya lebih banyak dari PI, hal ini disebabkan PMSG yang terkandung dalam hasil separasi konsentrasinya menurun sehingga dalam menginduksi superovulasi lebih rendah dari PII.

Kerja hormon PMSG seperti layaknya hormon FSH dan LH bekerja secara sinergis, kerja PMSG menyerupai hormon FSH yang mampu merangsang ovarium untuk dapat menumbuhkan folikel dan diikuti kerja LH yang dapat menginduksi ovulasi (Mahaputra, 1991).

Hafez (1993), melaporkan bahwa PMSG merupakan material gonadotropin pertama yang secara komersial digunakan untuk superovulasi dalam memacu perkembangan folikel pada program embrio transfer dan selama periode anestrus pada domba. Pemberian PMSG pada sapi, domba, dan babi mengakibatkan peningkatan pertumbuhan folikel khususnya pada akhir siklus birahi dan superovulasi terjadi karena pengaruh LH yang dihasilkan hewan itu sendiri (Salisbury dan Van Demark, 1985).

PMSG digunakan secara komersial dalam menginduksi superovulasi pada hewan sapi, domba, dan babi tetapi tidak efektif pada kuda (Ismudiono, 1999). Superovulasi dapat dilakukan dengan menyuntikkan hormon PMSG atau kombinasi PMSG dan HCG pada hewan betina yang telah mencapai remaja. Respon terjadinya ovulasi tergantung kepada dosis PMSG yang diberikan. Misalnya pada babi, dosis 750 – 1500 i.u. PMSG dapat menghasilkan ovulasi lebih dari 25 sel telur yang telah masak. Waktu penyuntikan juga memegang peranan penting dalam berhasilnya superovulasi (Harjopranjoto, 1995).

Hunter (1995), menyebutkan bahwa penggunaan hormon PMSG mempunyai keberhasilan tinggi dalam menginduksi superovulasi dan mengendalikan waktu ovulasi pada domba jika diberikan dosis 500 – 800 i.u. dan untuk memperoleh hasil yang diharapkan penyuntikan PMSG dilakukan pada akhir fase luteal. Siswanto (1989), telah membuktikan bahwa sampai dosis 3000 i.u. PMSG masih menunjukkan respon yang memuaskan terhadap jumlah ovulasi pada sapi-sapi FH.

Selain digunakan sebagai preparat superovulasi, Mustofa (1995), telah menggunakan PMSG untuk maksud menggetak birahi dan ovulasi tunggal dengan dosis mulai dari 500 i.u., 750 i.u., dan 1000 i.u. Semua dosis tunggal PMSG tersebut ternyata berhasil memperpendek awal munculnya birahi. Lamanya birahipun menjadi lebih panjang pada semua sapi perlakuan. Dosis rendah PMSG dan hCG masing-masing 400 i.u. dan 200 i.u. yang diberikan pada anak babi yang belum mencapai masa remaja dapat mendorong timbulnya birahi pada anak babi tersebut. Selain itu PMSG juga dapat digunakan sebagai terapi pada gangguan keseimbangan hormonal seperti hipofungsi ovarium dengan dosis yang dianjurkan adalah 400 – 700 i.u, yang dikombinasikan dengan hCG 2500 – 3000 i.u, dan pada kasus kista ovarium diberikan PMSG melalui penyuntikan subkutan dengan dosis 1000 – 2000 i.u (Harjopranto, 1995).

Respon superovulasi dari hewan-hewan betina dewasa berbeda-beda menurut jenis hewan, bangsa hewan, berat hidup, fase siklus birahi, umur, interval postpartus, musim, dan tingkatan makanan. Jumlah sel telur yang diovulasikan sesudah penyuntikan hormon gonadotropin ini juga tergantung pada potensi

hormon yang dipakai, frekuensi penyuntikan dan dosis yang digunakan (Toelihere, 1981), dan menurut Dewi (1997) dari beberapa faktor yang mempengaruhi respon superovulasi tersebut yang lebih banyak berpengaruh adalah dosis yang dipakai dan saat yang tepat dalam memberikan preparat hormon.

Umumnya pemberian PMSG dilakukan pada pertengahan fase luteal (Kanagawa, 1988), sedangkan Hardjopranto (1984) berpendapat pemberian PMSG bisa juga sampai awal fase folikuler mengingat bahwa pada saat-saat itu dimulainya pertumbuhan folikel-folikel baru. Pemberian PMSG pada fase folikuler akan mengurangi jumlah folikel atresia sehingga folikel masak yang dioovulasikan jumlahnya menjadi lebih banyak (Toelihere, 1981).

Disamping kegunaannya yang sangat luas, dalam program superovulasi PMSG juga dapat memberikan efek samping negatif berupa masih terdapatnya folikel yang tidak dioovulasikan atau bahkan dapat terjadi folikel sistik dan gangguan keseimbangan hormonal karena tingginya kadar estrogen darah. Efek samping tersebut terjadi akibat masih bekerjanya PMSG setelah proses ovulasi (Samik, 2001), maka perlu diperhatikan dosis yang dipakai dan saat yang tepat dalam pemberian preparat PMSG untuk menimbulkan respon superovulasi.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6. 1. Kesimpulan

Setelah dilakukan penelitian dapat diambil kesimpulan :

1. Penyuntikan serum kuda bunting baik yang sudah diekstraksi dan dipisahkan maupun yang belum diekstraksi dan dipisahkan (whole serum) dapat menyebabkan superovulasi pada kucing, dan hasil terbaik diperoleh pada penyuntikan serum yang sudah diekstraksi dan dipisahkan, sedangkan pada whole serum hasilnya tidak maksimal.
2. Hasil separasi ekstrak serum kuda bunting yang menyebabkan superovulasi maksimal terdapat pada tabung 3, 4, 5 (tetes 11 – 25).

6. 2. Saran

Berdasarkan kesimpulan di atas, maka penulis menyarankan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan perlakuan yang sama untuk superovulasi pada kambing atau sapi, sehingga manfaat dari penelitian ini dapat tercapai.

RINGKASAN

Melany Trisnaati. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sejauh mana kemampuan serum kuda bunting baik yang diekstraksi dan diseparsi maupun yang tidak diekstraksi dan diseparsi (whole serum) dalam menginduksi superovulasi serta untuk mendapatkan hasil separasi pada tabung berapa yang dapat menginduksi superovulasi secara maksimal.

Mencit betina pluripara sebanyak 30 ekor berumur \pm 4 bulan dibagi menjadi 5 perlakuan meliputi P0, P1, P2, P3, dan P4, masing-masing mendapatkan 6 ulangan. Perlakuan pertama (P0) adalah kontrol yang menggunakan Phosphat Buffer Saline (PBS), perlakuan kedua (P1) menggunakan whole serum yaitu serum yang belum diekstraksi dan belum diseparsi, perlakuan ketiga (P2) menggunakan ekstrak serum hasil separasi 3, 4, 5, perlakuan keempat (P3) menggunakan ekstrak serum hasil separasi 6, 7, 8, dan perlakuan kelima (P4) menggunakan ekstrak serum hasil separasi 9, 10, 11. Penyuntikan dilakukan pada fase diestrus dan dibedah setelah 6 hari perkawinan.

Parameter yang diamati adalah jumlah korpus luteum pada setiap ovarium mencit. Analisis data menggunakan Analisis Varian (Anava), sedangkan rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL).

Hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan jumlah korpus luteum, secara berturut-turut perlakuan P1, P4, P3, P2. Jumlah korpus luteum pada keempat perlakuan tersebut menunjukkan perbedaan yang nyata. Hasilnya berturut-turut adalah 91, 136, 176, 219. Bertitik tolak dari hasil tersebut

disimpulkan bahwa whole serum dan hasil separasi ekstrak serum kuda bunting umur 3,5 bulan dapat menginduksi superovulasi pada mencit, hal ini membuktikan bahwa whole serum dan hasil separasi tersebut mengandung PMSG sehingga dapat dimanfaatkan sebagai preparat superovulasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Affiland. 2002. PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotropin). In: Affinity Methodology In Biotechnology.
- Akoso, B. T. 1996. Kesehatan Sapi. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 37.
- Allrich, R. D. 2001. Ovarian Cystic in Dairy Cattle. Animal Sciences Dairy. Purdue University Cooperative Service, West Lafayette.
- Bindon, B. M. and L. R. Piper. 1981. Physiological Basic of Ovarian Respon to PMSG in Sheep and Cattle in Embryo Transfer in Cattle, Sheep and Goats. Australian Society for Reproductive Biology.
- Coleman, D. A. 1992. *Cystic Ovarian Disease*. The National Dairy Database. Northeast IRM Manual, West Virginia.
- Davidson AP, Stabenfeldt GH, Brinsko SP. 1997. Reproduction and Lactation. In (Cunningham JG, eds). Textbook of Veterinary Physiology. 2nd edition. Philadelphia. WB Sannders. 443 – 507.
- Day, Jr. R. A. and A. L. Underwood. 1986. Analisis Kimia Kuantitatif. Edisi ke-5. Terjemahan Aloysius Hadyana Pudjaatmaka. Penerbit Erlangga. 543 – 546.
- Dewi, E. I. K. 1997. Penggunaan Berbagai Dosis PMSG Terhadap Kejadian Birahi, Kebuntingan, dan Jumlah Anak pada Domba. Skripsi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. 14.
- Erwan, W. 2003. Rendahnya Populasi Sapi Dorong Daging Ilegal. Jawa Pos. 24 Agustus. 5
- Hafez, E. S. E. 1993. Reproduction in Farm Animals. 6th edition. Philadelphia: Lea and Febiger. 34 – 122; 130 – 407.
- Hafez, E. S. E. 2000. Reproduction in Farm Animals. 7th edition. Pennsylvania: Lea and Febiger. 361 – 384.
- Hardjopranjoto, S. 1984. Fisiologi Reproduksi. Edisi Kedua. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. 49 – 55; 100 – 101.
- Hardjopranjoto, S. 1995. Ilmu Kemajiran pada Ternak. Airlangga University Press. 37 – 38; 119 – 122; 164 - 169.

- Hunter, R. H. F. 1995. Fisiologi dan Teknologi Reproduksi Hewan Betina Domestik. Penerbit ITB Bandung, Penerbit Universitas Udayana.
- Ismudiono. 1999. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. 54; 74.
- Kanagawa, H. 1988. Bofine Embryo Transfer. Japan International Cooperation Agency. Hokaido Branch. 23 – 29; 47 – 59.
- Knobil E., J. D. Neill. 1994. The Physiology of Reproduction. Volume 2B. New York: Raven Press. 2122 – 2125.
- Kusriningrum. 1989. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. 53 – 59; 92 – 97.
- Mahaputra, L. 1991. Ilmu Kebidanan Veteriner. Ed II. Cet III. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya. 121 – 122.
- Mahaputra, L. 1997. *Analisis Progesteron dan Estradiol 17 β Dalam Serum dan Tinja Untuk Diagnosis Kebuntingan Pada Kuda*. Jurnal Pasca Sarjana Universitas Airlangga 6 (2): 111-115.
- Murphy, B. D., Martinuk S. D. 1991. Equine Chorionic Gonadotrophin. *Endocrin. Rev* 12: 27- 44 Abs.
- Mustofa, I. 1995. Pengaruh Penyuntikan Pregnant Mare Serum Gonadotropin (PMSG) dan waktu penyuntikan human Chorionic Gonadotropin (hCG) yang berbeda terhadap profil estrogen serum dan beberapa variabel reproduksi sapi perah . Tesis. Pasca Sarjana Universitas Airlangga.
- Nalbandov, A. V. 1990. Fisiologi Reproduksi pada Mamalia dan Unggas. Ed III. Penerbit Universitas Indonesia. 110; 192 – 200.
- Norris, D. O. 1980. Vertebrate Endocrinology. Lea and Febiger. Philadelphia
- Partodiharjo, S. 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. Cetakan ketiga. Jakarta. Mutiara Sumber Widya.
- Salisbury, G. W. dan N. L. Van Demark. 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. Terjemahan R. Djanuar. Gajah Mada University Press.
- Samik, A. 2001. Uji Biopotensi Antibodi Poliklonal Anti PMSG Pada Mencit. Tesis. Pascasarjana Universitas Airlangga. 7 – 13.

- Siswanto, R. 1989. Pengaruh dosis PMSG terhadap daya superovulasi pada sapi Friesian. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Smith, J. B. dan S. Mangkuwidjojo. 1988. Pemeliharaan Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Penerbit Universitas Indonesia.
- Stabenfeldt, G. H, Edqvist, L. E. 1993. Female Reproductive Processes. In (Swenson MJ, Reece WO, eds). *Dukes Physiology of Domestic Animals*. 11th edition. Ithaca: Comstock Publ Ass. 687.
- Toelihere, M. R. 1981. Fisiologi Reproduksi Pada Ternak. Penerbit Angkasa Bandung.
- Toelihere, M. R. 1985. Inseminasi Buatan pada Ternak. Penerbit Angkasa Bandung. 42 – 44.
- Tomaszewska, M. W., I. K. Utama, I. G. Putu dan T. D. Chaniago. 1991. Reproduksi Tingkah laku dan Produksi Ternak di Indonesia. Jakarta. Penerbit PT. Gramedia Pustaka.
- Turner, C. D. dan J. T. Bagnara, 1988. Endokrinologi Umum. Terjemahan: Harsojo. Airlangga University press.
- Van Zutphen, L. F. M., V. Baumans. A. C., and Beynen. 1993. Principles of Laboratory Animal Science. Elsevier Science. Amsterdam.

Lampiran 1. Hasil perhitungan korpus luteum

Ulangan	P0	PI	PII	PIII	PIV	Total
1	8	17	35	26	24	
2	7	12	33	29	22	
3	7	17	39	32	20	
4	5	16	36	28	25	
5	6	14	40	30	23	
6	7	15	36	31	22	
Total	40	91	219	176	136	662
Rata-rata	6,66667	15,16667	36,5	29,33333	22,66667	
SD	1,0328	1,94079	2,588436	2,160247	1,75119	

Lampiran 2. Hasil analisis statistik dengan analisis varian (anava) terhadap jumlah korpus luteum.

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{(662)^2}{6 \times 5} = 14608,1333$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= (8)^2 + (7)^2 + \dots + (22)^2 - \text{FK} \\ &= 17982 - 14608,1333 \\ &= 3373,8667 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \frac{(40)^2 + (91)^2 + (219)^2 + (176)^2 + (136)^2}{6} - \text{FK} \\ &= 3277,5334 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Sisa (JKS)} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\ &= 3373,8667 - 3277,5334 \\ &= 96,3333 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadrat Total Perlakuan (KTP)} &= \frac{\text{JKP}}{t-1} = \frac{3277,5334}{5-1} \\ &= 819,3834 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadrat Total Sisa (KTS)} &= \frac{\text{JKS}}{t(n-1)} = \frac{96,3333}{5(6-1)} \\ &= 3,8533 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} F_{\text{hitung}} &= \frac{\text{KTP}}{\text{KTS}} = \frac{819,3834}{3,8533} \\ &= 212,64 \end{aligned}$$

Sidik Ragam Pengaruh Perlakuan terhadap jumlah Korpus Luteum

SK	db	JK	KT	F _{hitung}	F _{tabel}	
					0,05	0,01
Perlakuan	4	3277,5334	819,3834	212,64	2,76	4,18
Sisa	25	96,3333	3,8533			
Total	29					

$F_{hitung} > F_{tabel} 0,01$

Kesimpulan : Terdapat perbedaan yang sangat nyata diantara perlakuan.

Lampiran 3. Analisis statistik dengan Uji BNT 1%

Uji BNT 1%

$$\text{BNT 1\%} = t \text{ 1\% (db sisa)} \times \sqrt{\frac{2KTS}{n}}$$

$$= 2,787 \times \sqrt{\frac{2 \times 3,8533}{6}}$$

$$= 2,531$$

Perbedaan rata-rata jumlah korpus luteum berdasarkan uji BNT

Perlakuan	\bar{x}	BEDA				BNT 1%
		$\bar{x} - P0$	$\bar{x} - P1$	$\bar{x} - PIV$	$\bar{x} - PIII$	
P11	36,5 ^a	29,83*	21,33*	13,83*	7,17*	2,531
P111	29,33 ^b	22,66*	14,16*	6,66*		
P11V	22,67 ^c	16*	7,5*			
P11	15,17 ^d	8,5*				
P0	6,67 ^e					

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata.

Kesimpulan : Perlakuan P11 menunjukkan hasil tertinggi dibandingkan dengan perlakuan P111, P11V, P11 dan P0.

Menentukan notasi :

