



LAPORAN PENELITIAN PROYEK DUE-Like BATCH III



Judul Penelitian

**ANTI-ANDROSTENEDIONE SEBAGAI BAHAN BIOAKTIF
UNTUK PERBAIKAN FERTILITAS TERNAK
DI INDONESIA**

Oleh :

SRI PANTJA MADYAWATI, Drh., M.Si.

ABDUL SAMIK, Drh., M.Si.

ERMA SAFITRI, Drh.

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN**

005907191

**UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
NOPEMBER 2002**

**LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN Hibah PROYEK DUE-Jike**

A. Judul Penelitian : Anti-Androstenedione sebagai Bahan Bioaktif untuk Perbaikan Fertilitas Ternak di Indonesia

B. Ketua Peneliti

Nama : Sri Pantja Madyawati, M.Si., Drh.
 Jenis Kelamin : Perempuan
 Pangkat/Golongan/NIP : Lektor / III-c/131 837 006
 Bidang Keahlian : Reproduksi
 Fakultas/Jurusan : Fakultas Kedokteran Hewan/Reproduksi dan Kebidanan
 Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

C. Tim Peneliti

NO	NAMA	BIDANG KEAHLIAN	FAKULTAS/JURUSAN	PERGURUAN TINGGI
1.	Abdul Samik	Reproduksi	Kedokteran Hewan/ Reproduksi dan Kebidanan	UNAIR
2.	Erna Safitri	Reproduksi	Kedokteran Hewan/ Reproduksi dan Kebidanan	UNAIR

D. Pendanaan dan jangka waktu penelitian .

Jangka waktu penelitian yang diusulkan : 6 bulan
 Biaya total yang diusulkan : Rp 30.000.000,00
 Biaya yang disetujui : Rp 30.000.000,00

Surabaya, 13 Desember 2002
 Ketua Peneliti

Mengetahui
 Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
 Universitas Airlangga

Dr. Ismaeliono, M.S., Drh.
 NIP. 130 687 297

Sri Pantja Madyawati, M.Si., Drh.
 NIP. 131 837 006

Menyetujui,
 Direktur Eksekutif LPIU
 Universitas Airlangga



Tj. H. S. Wahjandari, Ph.D.
 NIP. 131 801 627

RINGKASAN

Keberhasilan suatu peternakan tidak lepas dari keberhasilan pengelolaan reproduksi. Beberapa teknologi yang telah diciptakan guna meningkatkan efisiensi reproduksi ternak adalah superovulasi dan transfer embrio.

Rendahnya tingkat fertilitas ternak yang berupa banyaknya folikel yang tidak terovulasikan disebabkan karena kurang sensitivitasnya folikel dominan terhadap LH sebagai akibat adanya androstenedione yang dihasilkan oleh sel teka dari folikel ovarium.

Penelitian ini secara umum bertujuan untuk mengetahui efektivitas pemberian anti-androstenedione sebagai bahan bioaktif untuk meningkatkan fertilitas ternak di Indonesia. Subyek penelitian ini adalah androstenedione sebagai antigen dan anti-androstenedione yang diperoleh dari serum kelinci. Penelitian yang meliputi aspek :

- a. Produksi antibodi poliklonal anti-androstenedione
- b. Penentuan titer antibodi poliklonal anti-androstenedione dengan ELISA tidak langsung
- c. Purifikasi antibodi poliklonal anti-androstenedione dengan presipitasi ammonium sulfat
- d. Uji biopotensi pada mencit dan kambing

Dalam pembuatan antibodi poliklonal anti-androstenedione, digunakan 6 ekor kelinci jantan strain New Zealand. Satu ekor kelinci sebagai kontrol, tanpa mendapat suntikan androstenedione dan lima ekor kelinci sebagai perlakuan yang disuntik dengan 200 µg androstenedione dalam pelarut Freund's lengkap. Darah diambil dari vena auricularis pada setiap minggu mulai minggu pertama sampai minggu keenam untuk diperiksa titer antibodi poliklonal anti-androstenedione dengan menggunakan ELISA tidak langsung.

Untuk uji potensi biologis antibodi poliklonal anti-androstenedione pada hewan yang meliputi pengaruhnya terhadap perolehan sel telur, sigot dan anak mencit masing-masing digunakan 25 ekor mencit jantan dan betina strain Balb/C.

Sedangkan untuk uji potensi biologis pada kambing digunakan 21 ekor kambing betina lokal. Pemberian antibodi poliklonal anti-androstenedione dilakukan pada fase folikuler dari siklus birahi meniti dan kambing.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap. Sedangkan data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan ANOVA dan dilanjutkan dengan uji BNT.

Hasil pemeriksaan kadar antibodi poliklonal anti-androstenedione dinyatakan positif dan mulai muncul pada minggu pertama pada kelinci B, C dan E. Sedangkan pada kelinci A dan D pada minggu pertama antibodi poliklonal anti-androstenedione belum muncul. Pada minggu ke empat pada kelinci A, B, C dan E titer antibodi poliklonal anti-androstenedione mencapai puncak dan kemudian diikuti penurunan titer pada minggu berikutnya. Sedangkan pada kelinci D titer antibodi poliklonal anti-androstenedione mencapai puncak pada minggu kelima.

Rataan jumlah sel telur meniti yang diperoleh pada kelompok kontrol ($8,00 \pm 1,87$), kelompok pengenceran 1:20 ($21,00 \pm 1,73$), kelompok pengenceran 1:40 ($18,60 \pm 2,41$), kelompok pengenceran 1:80 ($9,00 \pm 1,41$), kelompok pengenceran 1:160 ($9,40 \pm 1,14$). Secara statistik kelompok pengenceran 1:20 adalah yang terbaik ($p < 0,01$).

Rataan jumlah sigot meniti yang diperoleh pada kelompok kontrol ($8,00 \pm 1,87$), kelompok pengenceran 1:20 ($18,20 \pm 1,92$), kelompok pengenceran 1:40 ($13,60 \pm 1,14$), kelompok pengenceran 1:80 ($8,20 \pm 1,10$), kelompok pengenceran 1:160 ($9,00 \pm 1,87$). Secara statistik kelompok pengenceran 1:20 adalah yang terbaik ($p < 0,01$).

Rataan jumlah anak meniti yang diperoleh pada kelompok kontrol ($8,20 \pm 3,03$), kelompok pengenceran 1:20 ($14,40 \pm 3,58$), kelompok pengenceran 1:40 ($10,40 \pm 1,82$), kelompok pengenceran 1:80 ($8,40 \pm 1,95$), kelompok pengenceran 1:160 ($6,00 \pm 1,33$). Secara statistik kelompok pengenceran 1:20 adalah yang terbaik ($p < 0,01$).

Rataan jumlah korpus luteum kambing yang diperoleh pada kelompok kontrol ($2,71 \pm 0,76$), kelompok pemberian anti-androstenedione 1 ml ($3,86 \pm 0,69$), kelompok pemberian anti-androstenedione 2 ml ($4,43 \pm 0,53$) dan secara statistik kedua kelompok perlakuan tidak berbeda, namun berbeda dengan kelompok kontrol ($p < 0,01$).

Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian ini adalah pemberian antibodi poliklonal anti-androstenedione pada menyet dan kambing menunjukkan bahwa antibodi poliklonal anti-androstenedione dapat meningkatkan pemelehan jumlah sel telur, sigot, anak menyet dan jumlah korpus luteum kambing.

Dari hasil penelitian disarankan untuk menggunakan anti-androstenedione pada fase folikuler dari siklus birahi sehingga dapat meningkatkan fertilitas ternak.



PRAKATA

Perkembangan bioteknologi peternakan khususnya bioteknologi reproduksi telah menarik penulis untuk mengangkatnya dalam penelitian ini. Pemilihan judul "Anti-Androstenedione sebagai Bahan Bioaktif untuk Perbaikan Fertilitas Ternak di Indonesia" dilandasi oleh informasi-informasi ilmiah khususnya yang berkaitan dengan masih rendahnya reproduktivitas sapi yang disebabkan oleh gangguan yang berkaitan dengan hormon-hormon reproduksi.

Pada kesempatan ini tak lupa peneliti sampaikan ucapan terima kasih kepada :

- Rektor Universitas Airlangga Surabaya
- Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya
- Direktur LPU Bidang Akademik Universitas Airlangga Surabaya

Yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian ini.

Kami menyadari bahwa penulisan laporan hasil penelitian ini masih jauh dari sempurna, meskipun sudah diusahakan semaksimal mungkin. Oleh karena itu masukan berupa kritik dan saran sangatlah diharapkan demi kesempurnaan penulisan ini. Akhirnya, semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi kita semua, bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dibidang imunologi reproduksi

Surabaya, Desember 2002

Penulis

DAFTAR ISI

	Hal.
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
PRAKATA	vi
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Ruang Penelitian	2
1.3. Lokasi Penelitian	3
1.4. Hasil yang diharapkan	3
1.5. Hipotesis Penelitian	3
II. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN TAHUN I	4
2.1. Tujuan Penelitian	4
2.2. Manfaat Penelitian	4
III. TINJAUAN PUSTAKA	6
3.1. Pubertas dan Siklus <i>Birahi Mammalia</i>	6
3.2. Fisiologi Kebuntingan Muncit	7
3.3. Siklus Reproduksi Kambing	8
3.3.1. Pubertas dan Siklus Birahi Kambing	9
3.3.2. Kontrol Hormonal selama Siklus Birahi	12
3.3.3. Ovulasi dan Pembentukan Korpus Luteum	13
3.3.4. Kontrol Hormonal selama Ovulasi	14
3.4. Antibodi Poliklonal	15
3.4.1. Androstenedione dan Anti-Androstenedione	16
IV. METODE PENELITIAN	20
4.1. Metode Penelitian	20
4.1.1. Pembuatan Anti-Androstenedione	20
4.1.2. Purifikasi Anti-Androstenedione dengan Presipitasi Ammonium Sulfat	20

4.1.3.	Uji Potensi Biologis Anti-Androstenedione pada Mencit	21
4.1.3.1.	Perolehan Sel Telur pada Penyuntikan Anti-Androstenedione pada Fase Folikuler dari Siklus Birahi Mencit	22
4.1.3.2.	Perolehan Sigos pada Penyuntikan Anti-Androstenedione pada Fase Folikuler dari Siklus Birahi Mencit	24
4.1.3.3.	Perolehan Anak pada Penyuntikan Anti-Androstenedione pada Fase Folikuler dari Siklus Birahi Mencit	25
4.1.3.4.	Uji Potensi Biologis Anti-Androstenedione pada Kambing	27
4.2.	Rancangan dan Analisis Statistik	28
V.	HASIL DAN PEMBAHASAN	29
5.1.	Pembuatan Anti-Androstenedione	29
5.2.	Uji Potensi Biologis Anti-Androstenedione pada Mencit	32
5.2.1.	Perolehan Sel Telur Setelah Pemberian Anti-Androstenedione pada Fase Folikuler dari Siklus Birahi Mencit	33
5.2.2.	Perolehan Sigos Setelah Pemberian Anti-Androstenedione pada Fase Folikuler dari Siklus Birahi Mencit	36
5.2.3.	Perolehan Anak Mencit Setelah Pemberian Anti-Androstenedione pada Fase Folikuler dari Siklus Birahi Mencit	38
5.2.4.	Perolehan Korpus Luteum Kambing Setelah Pemberian Anti-Androstenedione pada Fase Folikuler dari Siklus Birahi Mencit	40
VI.	KESIMPULAN DAN SARAN	43
6.1.	Kesimpulan	43
6.2.	Saran	43
	DAFTAR PUSTAKA	44
	LAMPIRAN	47

DAFTAR TABEL.

Tabel	Hal.
5.1. Rataan titer anti-androstenedione pada minggu pertama setelah Penyuntikan androstenedione dalam pelarut Freund's complete	30
5.2. Rataan jumlah sel telur mencit yang diperoleh pada pemanenan setelah empat jam perkawinan	34
5.3. Rataan jumlah sigot mencit yang diperoleh pada pemanenan setelah empat jam perkawinan	37
5.4. Rataan jumlah anak mencit setelah pemberian anti-androstenedione	39
5.5. Rataan jumlah korpus luteum kambing setelah pemberian anti-androstenedione	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Hal
3.1	Pembentukan androstenedione dari progesterone melalui hidroksilasi atom C17.	17
5.1	Grafik garis titer anti-androstenedione pada minggu pertama setelah pemberian androstenedione	30
5.2	Grafik garis titer anti-androstenedione dari minggu pertama Sampai minggu keenam	31
5.3.	Kampong fertilisasi yang ditemukan empat jam setelah perkawinan	33
5.4	Grafik batang perolehan sel telur mencit setelah pemberian anti-androstenedione	35
5.5.	Grafik batang perolehan sigot mencit setelah pemberian anti-androstenedione	36
5.6.	Grafik batang perolehan anak mencit setelah pemberian anti-androstenedione	38
5.7.	Grafik batang jumlah korpus luteum kambing setelah pemberian anti-androstenedione	41

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Hal.
1. Cara kerja ELISA tidak langsung untuk pemeriksaan antibodi poliklonal anti-androstenedione	47
2. Hasil pemeriksaan titer anti-androstenedione dengan ELISA indirect minggu pertama setelah penyuntikan androstenedione pada kelinci	49
3. Hasil pemeriksaan titer anti-androstenedione dengan ELISA indirect minggu kedua setelah penyuntikan androstenedione pada kelinci	50
4. Hasil pemeriksaan titer anti-androstenedione dengan ELISA indirect minggu ketiga setelah penyuntikan androstenedione pada kelinci	51
5. Hasil pemeriksaan titer anti-androstenedione dengan ELISA indirect minggu keempat setelah penyuntikan androstenedione pada kelinci	52
6. Hasil pemeriksaan titer anti-androstenedione dengan ELISA indirect minggu kelima setelah penyuntikan androstenedione pada kelinci	53
7. Hasil pemeriksaan titer anti-androstenedione dengan ELISA indirect minggu keenam setelah penyuntikan androstenedione pada kelinci	54
8. Analisis statistik ANOVA dan BNT dari titer antibodi anti-androstenedione satu minggu setelah penyuntikan androstenedione	55
9. Analisis statistik ANOVA dan BNT dari titer antibodi anti-androstenedione minggu kedua setelah penyuntikan androstenedione	57
10. Analisis statistik ANOVA dan BNT dari titer antibodi anti-androstenedione minggu ketiga setelah penyuntikan androstenedione	58

11.	Analisis statistik ANOVA dan BNT dari titer antibodi anti-androstenedione minggu keempat setelah penyuntikan androstenedione	59
12.	Analisis statistik ANOVA dan BNT dari titer antibodi anti-androstenedione minggu kelima setelah penyuntikan androstenedione	61
13.	Analisis statistik ANOVA dan BNT dari titer antibodi anti-androstenedione minggu keenam setelah penyuntikan androstenedione	63
14.	Jumlah sel telur mencit yang diperoleh empat jam setelah perkawinan	65
15.	Sel telur mencit yang diperoleh empat jam setelah perkawinan	66
16.	Analisis statistik jumlah sel telur mencit setelah pemberian antibodi anti-androstenedione	67
17.	Jumlah sigot mencit yang diperoleh empat jam setelah perkawinan	68
18.	Sigot mencit yang diperoleh empat jam setelah perkawinan	69
19.	Analisis statistik jumlah sigot mencit setelah pemberian antibodi anti-androstenedione	70
20.	Jumlah anak mencit yang diperoleh empat jam setelah perkawinan	71
21.	Analisis statistik jumlah anak mencit setelah pemberian antibodi anti-androstenedione	72
22.	Jumlah korpus luteum kambing setelah disuntik dengan anti-androstenedione	73
23.	Analisis statistik jumlah korpus luteum kambing setelah pemberian anti-androstenedione	74

BAB I PENDAHULUAN



1.1. Latar Belakang

Peningkatan mutu ternak merupakan salah satu aspek utama dalam pengembangan peternakan di Indonesia. Berbagai teknologi mutakhir yang diciptakan telah digunakan untuk meningkatkan efisiensi reproduksi ternak adalah superovulasi dan transfer embrio. Keberhasilan teknologi superovulasi dan transfer embrio akan sangat besar manfaatnya, khususnya terhadap ternak yang saat ini mengalami penurunan populasi. Namun kenyataan di lapangan masih banyak kendala dan tingkat keberhasilannya masih rendah. Menurut Tappa (1996) bahwa salah satu faktor dalam teknik transfer embrio yang sampai saat ini masih sulit dikontrol adalah variasi dan ketidakpastian hasil superovulasi.

Penggunaan beberapa preparat hormonal untuk tujuan perbaikan reproduksi telah banyak dilakukan. Salah satu kombinasi hormon yang dapat dipakai untuk produksi embrio melalui program superovulasi adalah *Pregnant Mare Serum Gonadotropin* (PMSG) dan *Human Chorionic Gonadotropin* (hCG).

Walaupun PMSG sangat potensial dalam menstimulasi fungsi ovarium, akan tetapi hasil panen embrionya belum memuaskan. Waktu paruh yang panjang dalam sirkulasi darah (18-123 jam) memungkinkan untuk menginduksi pertumbuhan dan perkembangan folikel, tetapi juga mendatangkan efek samping yang negatif (Moor *et al.*, 1984).

Ovarium yang terus terangsang disertai tidak adanya sekresi *Luteinizing Hormon* (LH) akan menghasilkan folikel-folikel yang gagal berovulasi. Dampak

lanjutan dari masih beredarnya PMSG dalam sirkulasi darah adalah gangguan keseimbangan hormonal, gangguan fertilisasi dan pengangkutan embrio di saluran telur (Greve *et al.*, 1984). Sedangkan menurut Rivera *et al.* (2000) bahwa sensitivitas folikel-folikel dominan yang gagal berovulasi disebabkan karena kurang responsifnya folikel-folikel tersebut terhadap LH sebagai akibat adanya produksi androstenedione oleh sel-sel teka dari folikel-folikel tersebut.

Oleh karena itu pembuatan anti-Androstenedione sebagai salah satu hormon yang berperan dalam proses reproduksi merupakan pilihan yang tepat untuk bahan alternatif menggantikan PMSG dalam memperbaiki fertilitas ternak sebagai upaya meningkatkan perolehan sel telur dan embrio

1.2. Subyek Penelitian

Subyek penelitian ini adalah androstenedione sebagai antigen dan antibodi poliklonal anti-androstenedione yang diperoleh dari serum darah kelinci yang mendapat suntikan berulang dengan hormon androstenedione. Penelitian ini meliputi aspek-aspek

- a. Produksi antibodi poliklonal anti-androstenedione
- b. Penentuan titer antibodi poliklonal anti-androstenedione dengan ELISA indirek
- c. Purifikasi antibodi poliklonal anti-androstenedione dengan presipitasi ammonium sulfat
- d. Uji biopotensi pada mencit dan kambing

1.3. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Veteriner, Laboratorium Fisiologi Reproduksi, Laboratorium in vitro dan Taman Ternak Pendidikan Fakultas Kedokteran Hewan Unair.

1.4. Hasil yang diharapkan

Beberapa keluaran utama dari penelitian ini adalah :

- a. Produksi antibody poliklonal anti-androstenedione
- b. Pertaikan fertilitas ternak

1.5. Hipotesis Penelitian

- a. Anti-Androstenedione dapat dibuat dengan menyuntikkan Androstenedione dalam pelarut Freund's lengkap.
- b. Anti-Androstenedione mampu meningkatkan perolehan sel telur, signat dan anak kecil
- c. Anti-Androstenedione mampu meningkatkan jumlah korpus luteum kambing.

BAB II TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

Penelitian dengan judul “Anti androstenedione sebagai Bahan Bioaktif untuk Perbaikan Fertilitas Ternak di Indonesia” dirancang dengan tujuan sebagai berikut :

2.1. Tujuan Penelitian

Tujuan yang akan dicapai dalam penelitian ini adalah

- a. Pembuatan antibodi poliklonal anti-Androstenedione (anti-androstenedione)
- b. Uji potensi biologi secara laboratories anti-Androstenedione terhadap perolehan sel telur, sigot dan anak meniti.
- c. Uji potensi biologi secara lapangan anti-Androstenedione terhadap perolehan jumlah korpus luteum kambing.

2.2. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi :

- a. Membuat suatu model teknologi pembuatan anti-Androstenedione pada hewan coba lainnya.
- b. Peneliti sebagai bahan informasi ilmiah dalam rangka mengkaji pembuatan anti-Androstenedione serta peran anti-Androstenedione dalam memperbaiki perolehan sel telur (ositit), embrio dan penyediaan embrio unggul sebagai bahan perbaikan genetik ternak.

- c. Peternak, sebagai bahan informasi tentang penggunaan anti -Androstenedione sebagai bahan biaktif dalam usaha memperbaiki fertilitas ternak.
- d. Mendukung program Pemerintah dalam upaya peningkatan populasi ternak melalui perbaikan fertilitas dan jumlah anak yang dilahirkan



BAB III TINJAUAN PUSTAKA

3.1. Pubertas dan Siklus Birahi Mencit

Dewasa mencit dicapai pada umur 35 hari, pada saat ini alat kelamin telah cukup matang dan perkawinan pertama dianjurkan pada umur 56 hari (Smith dan Mangkuwidjaja, 1988). Menurut Jacoby and Fox (1984) dijelaskan bahwa timbulnya pubertas didasarkan atas terjadinya pembukaan vagina pada umur 72 hari (dengan kisaran antara 34 sampai 102 hari). Ovulasi pertama kira-kira pada umur 77 hari (dengan kisaran antara 45 sampai 147 hari).

Menurut Knobil *et al.* (1988) bahwa setelah terjadinya pembukaan vagina akan disusul oleh birahi pertama. Birahi adalah keadaan dimana hewan betina bersedia menerima pejantan untuk berkopulasi. Lama birahi dan waktu terjadinya ovulasi bervariasi tergantung spesies hewan. Jarak antara birahi sampai birahi berikutnya disebut siklus birahi.

Selama siklus birahi terjadi perubahan-perubahan fisiologis alat kelamin luar maupun dalam, baik itu perubahan pada folikel ovarium, kelenjar endometrium, epitel vagina maupun perubahan tingkah laku kelamin (Partodihardjo, 1992).

Lama satu siklus birahi pada mencit berkisar 4-5 hari dan berdasarkan perubahan-perubahan epitel vagina siklus birahi dapat dibagi menjadi empat fase yaitu proestrus, estrus, metestrus dan diestrus.

Fase proestrus merupakan fase pemasakan folikel sebagai persiapan untuk ovulasi dan proliferasi endometrium yang diikuti oleh pengecilan korpus luteum dari siklus

sebelumnya. Fase ini berlangsung kira-kira 12 jam dan pada sedimen hapus vagina dapat dilihat adanya sel-sel kecil dengan inti bulat (Smith dan Mangkowitzjojo, 1988).

Fase estrus merupakan fase terpenting dalam siklus estrus karena hanya dalam fase ini hewan betina mau menerima pejantan untuk berkopulasi. Fase ini berlangsung kira-kira 12 jam dan pada sedimen hapus vagina terdapat sel-sel kornifikasi yaitu sel-sel epitel vagina mengalami penebalan dan seringkali intinya piknotik atau tanpa inti.

Fase metestrus terjadi segera setelah ovulasi. Fase ini dibagi menjadi dua yaitu metestrus I dan metestrus II yang masing-masing berlangsung kira-kira 15 jam dan 6 jam. Metestrus I ditandai dengan sumbat air mani yang mengempal dalam vagina dan metestrus II ditandai dengan adanya sel-sel kornifikasi dan mulai tampak adanya leukosit pada sedimen hapus vagina.

Fase diestrus merupakan fase yang terlama dengan memakan waktu kira-kira 57-60 jam dan pada sedimen hapus vagina terlihat adanya sel-sel epitel dan leukosit. Selama fase ini terjadi pertumbuhan dari korpus luteum.

3.2. Fisiologi Kebuntingan Mencit

Proses pembuahan merupakan penggabungan antara sel jantan dan sel telur yang berlangsung di dalam rongga selama tuba fallopi sebagai hasil dari kopulasi. Proses ini menghasilkan zigot dan pada saat ini hewan betina dikatakan bunting. Menurut Jacoby and Fox (1981) bahwa 3-8 jam setelah terjadinya kopulasi pada mencit akan disusul dengan terbentuknya sumbat vagina dan selanjutnya akan disusul terjadinya ovulasi pada 8-20 jam kemudian. Ovulasi sempurna setelah 11 jam dari awal estrus dan telur yang dihasilkan akan mencapai tuba fallopi pada akhir fase metestrus. Sedangkan menurut

Knobil *et al.* (1988) bahwa 24 jam setelah terbentuknya sumbat vagina dapat dianggap sebagai awal dari suatu kebuntingan dari menyet.

Setelah terjadi kopulasi, spermatozoa masuk ke tuba falopii dan bertemu dengan sel telur untuk melakukan fertilisasi pada bagian ampula. Sebelum mampu membuahi sel telur, spermatozoa selama dalam saluran tuba falopii mengalami proses kapasitasi dan reaksi akrosom (Susanto, 1985).

Setelah terjadi fertilisasi sel telur oleh spermatozoa maka akan terbentuk zigot. Zigot yang terbentuk akan mengalami beberapa pembelahan sampai terdiri dari berpuluh-puluh sel kecil yang disebut *blastomere*. *Blastomere* membelah membentuk bebutakan seperti bola yang tiak berongga dan disebut sebagai morula. Morula akan membelah dan menyusun diri membentuk *central cavity* sehingga membentuk *blastocyst*. Waktu yang dibutuhkan pembentukan embrio menyet stadium 2 sel adalah satu hari, 2,5 hari untuk embrio stadium 8 sel, umur 3 hari sudah masuk dalam uterus dan *blastocyst* terbentuk 3,5 hari setelah fertilisasi (Partodiharjo, 1992). Pada jenis hewan beranak banyak, *blastocyst* didistribusikan dan diimplantasikan sepanjang kornua uteri. Setelah *blastocyst* berimplantasi terjadilah pertumbuhan dan perkembangan sehingga terbentuk fetus. Pada akhir masa kebuntingan (pada menyet 19-21 hari) fetus dan placenta dikeluarkan dari induk (Toelihare, 1981)

3.3. Siklus Reproduksi Kambing

Siklus reproduksi ialah rangkaian kejadian biologik kelamin yang berlangsung secara sambung-menyambung hingga terlahir generasi baru dari suatu makhluk hidup. Siklus reproduksi meliputi pembertas, siklus birahi, perkawinan,

kebuntingan, kelahiran, laktasi dan aktivitas seksual post partum. Beberapa faktor yang mempengaruhi siklus reproduksi adalah lingkungan, genetik, fisiologik, hormonal dan psicososial. Tingkat fertilitas suatu individu dimulai pada waktu pubertas dan dipertahankan selama beberapa tahun sebelum kemudian menurun selama proses ketuaan (Hafez, 1993)

3.3.1. Pubertas dan Siklus Birahi Kambing

Kambing mencapai pubertas pada umur 7 bulan dimana pada saat ini kambing akan mulai mengalami proses reproduksi ditandai dengan birahi pertama kali. Meskipun sudah birahi untuk pertama kali namun perkawinan untuk pertama kalinya dianjurkan pada umur 9-12 bulan, hewan betina akan mulai mengalami proses reproduksi ditandai dengan birahi pertama kali (Toelihere, 1985).

Panjang siklus birahi pada kambing berkisar 20-21 hari. Siklus birahi secara kasar dapat dibagi menjadi empat periode menurut perubahan-perubahan yang tampak maupun yang tidak tampak dari luar selama siklus birahi yaitu: proestrus, estrus, metestrus dan diestrus (Hafez, 1993)

Proestrus merupakan periode persiapan yang ditandai dengan pematangan pertumbuhan folikel oleh FSH (Follicle Stimulating Hormone). Folikel yang sedang bertumbuh menghasilkan cairan folikel yang mengandung hormon estrogen yang lebih banyak. Hormon estrogen inilah yang akan mempengaruhi suplai darah ke saluran alat kelamin dan meningkatkan pertumbuhannya. Vulva agak membengkak dan vestibulum menjadi berwarna kemerahan karena adanya kongesti pembuluh darah. Bagian vagina dan serviks membesar karena pembengkakan sel-sel mukosa dan dimulailah sekresi lendir dari saluran serviks. Proestrus pada kambing berlangsung selama 2 - 3

hari. Pada periode ini biasanya kambing akan menolak bila dinaki pejantan maupun sesama betinanya, tetapi akan berusaha menaiki betina yang lainnya yang dikenal sebagai *jumping heat* (Toelihere, 1985).

Periode estrus merupakan masa keinginan kawin, periode ini ditandai dengan manifestasi birahi secara fisik. Kambing akan sering mengembik dan biasanya tidak tenang, nafsu makan dan memamah biak menurun. Apabila kambing tersebut dilepas dipadangan maka akan mencari pejantan untuk mengawininya dan akan menaiki sesama betina. Kambing yang tepat berada pada periode birahi ini apabila dikumpulkan dengan sesama betina akan memperlihatkan tingkah diam bila dinaiki yang dikenal *standing heat*. Gejala ini adalah yang terpenting dari gejala-gejala yang lain. Ekor biasanya diangkat dan dikibas-kibaskan, lendir transparan menggantung di vulva atau terdapat di pantat atau ekor. Vulva membengkak, lunak, oedematous dan relaks. Dohing yang birahi terlihat sering kencing. Pada pemeriksaan vaginal, mukosa vagina merah dan oedematous. Lendir birahi yang terdapat di dalam vagina berasal dari sel-sel selaput lendir serviks dibawah pengaruh estrogen. Os servikalis eksterna berwarna merah jambu, oedematous, agak mengendor dan membuka pada waktu estrus (Toelihere, 1985). Pembuatan preparat atas vagina selama oiestrus dan estrus menunjukkan peningkatan jumlah sel-sel yang berkondifikasi, tetapi variasi perubahan tersebut terlampau besar antara individu dohing sehingga cara ini tidak dapat dipakai sebagai indikasi birahi. kira-kira 3 jam setelah perkawinan jumlah leukosit meningkat pesat. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh adanya semen di dalam alat reproduksi hewan betina. Periode estrus pada kambing berlangsung 24-36 jam (Fuquay dan Bearden, 1980).

Metestrus ditandai dengan berhentinya birahi yang tiba-tiba. Pada periode ini terjadi ovulasi dengan pecahnya folikel dan rongga folikel secara berangsur-angsur akan mengecil, pengeluaran lendir dari serviks juga telah berhenti. Korpus luteum tumbuh dengan cepat dari sel-sel granulos folikel yang telah pecah di bawah pengaruh hormon LH. Pada periode ini alat kelamin betina berada di bawah pengaruh hormon progesterone yang akan menghambat sekresi FSH oleh hipofisa anterior sehingga menghambat pembentukan folikel de Graaf yang baru dan mencegah terjadinya estrus. Lama periode ini pada kambing kurang lebih sama dengan waktu yang diperlukan ovum untuk mencapai uterus yaitu selama 3-4 hari (Toelthiere, 1985). Apabila kebuntingan tidak terjadi, uterus dan saluran reproduksi berregresi ke keadaan kurang aktif yang disebut dengan diestrus.

Periode diestrus merupakan periode akhir dari siklus birahi, dimana ditandai dengan berkembangnya korpus luteum dibawah pengaruh *Luteotrophic Hormone* (LTH) dan menghasilkan hormon progesteron. Oleh pengaruh hormon progesteron inilah endometrium menebal, kelenjar dan urat daging uterus berkembang, sebagai persiapan uterus untuk menampung dan memberi makan embrio serta pembentukan plasenta bila terjadi kebuntingan. Bila ovum tidak terbuahi (tidak terjadi kebuntingan), korpus luteum akan tetap berfungsi selama kurang lebih 17-19 hari. Endometrium dan kelenjarnya berregresi berubah ke keadaan semula, diikuti perkembangan folikel pada ovarium dan akhirnya kembali ke periode praestrus. Selama diestrus vagina terlihat pucat dan kering, mukus sedikit serta agak kiat. Lama periode ini pada kambing berkisar 10-12 hari (Toelthiere, 1985).

3.3.2. Kontrol Hormonal selama Siklus Birahi

Siklus birahi diatur oleh sistem hormonal poros hypothalamus-hipofisa-ovarium. Hypothalamus menghasilkan *Releasing Hormone* (RH) yang berperan merangsang sintesis dan sekresi hormon-hormon dari hipofisa anterior. Hormon-hormon yang dihasilkan oleh hipofisa anterior adalah FSH dan LH. Hormon FSH yang dihasilkan oleh hipofisa anterior berperan merangsang pertumbuhan folikel pada ovarium dan merangsang pembentukan reseptor LH pada sel-sel folikel (Peterson, 1985).

Pada fase proestrus terjadi pertumbuhan dan pemasakan folikel dalam ovarium. Sel-sel theka interna dan sel-sel granulosa dari folikel yang masak akan menghasilkan estrogen yang sebagian besar dalam bentuk estradiol-17 beta (Arthur *et al.*, 1990). Peningkatan sekresi estrogen ini bersamaan dengan penurunan kadar progesterone darah

Peningkatan kadar estradiol-17 beta mencapai puncaknya pada saat estrus dimulai. Meningkatnya estrogen akan mengaktifkan sistem saraf pada otak tengah sehingga menghasilkan tingkah laku birahi dan melepaskan rangsangan ke pusat sekresi LH dari hipofisa anterior pada awal birahi (Arthur *et al.*, 1990).

Perubahan yang terjadi selama fase metestrus adalah pertumbuhan korpus rubrum menjadi korpus luteum di bawah pengaruh LH dan LTH. Pada fase ini kadar progesterone di dalam darah semakin meningkat sehingga dapat menekan sekresi FSH dari hipofisa anterior dan meningkatkan hambatan pada pertumbuhan folikel serta mencegah terjadinya ovlasi (Tealichere, 1985).

Pada fase diestrus pertumbuhan korpus luteum semakin jelas dan pada akhir fase ini, hormon progesterone menurun tajam sebagai akibat berkurangnya sekresi LTH dari kelenjar hipofisa anterior disertai dengan meningkatnya aktifitas bahan luteolitik yang

berasal dari uterus. Regresi korpus luteum juga disebabkan oleh adanya aktifitas luteolitik prostaglandin E₂ alfa (Hafez, 1993).

3.3.3. Ovulasi dan Pembentukan Korpus Luteum

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 (Foolihere, 1985).

Ovulasi terjadi karena pengaruh LH yang melepaskan histamin sehingga menyebabkan hiperemi pada ovarium dan merangsang pelepasan enzim proteolitik yaitu kolagenase ke dalam cairan folikel. Enzim proteolitik akan melemahkan dinding folikel sehingga terjadi daerah avaskuler (stigma) dan ovulasi terjadi pada daerah pecan'olan superficial dinding folikel yang tidak ditunjang stroma ovarium (Hafez, 1993).

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

Pembentukan korpus luteum melalui proses luteinisasi dari sel-sel granulosa dan sel-sel theka folikel. Semakin bertambahnya umur korpus luteum, maka bertambah pula besarnya. Penebesaran tersebut terjadi karena hipertropi dan hiperplasia sel-sel granulosa dan sel-sel theka folikel (Partodihardjo, 1992).

Apabila tidak terjadi kehamilan, korpus luteum lambat laun mengecil dan diikuti terbentuknya tonjolan sel-sel pengikat, lemak dan struktur semacam hiatus diantara sel-sel luteal. Korpus luteum berubah menjadi jaringan parut berwarna kecoklatan yang disebut korpus albikan (Partodihardjo, 1992).

Apabila terjadi kehamilan, maka korpus luteum yang menghasilkan hormon progesterone tetap dipertahankan dan disebut sebagai korpus luteum graviditatum yang berfungsi sampai menjelang kelahiran (Partodihardjo, 1992).

3.3.4. Kontrol Hormonal selama Ovulasi

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

3.4. Antibodi Poliklonal

Antibodi atau immunoglobulin (Ig) adalah protein yang diproduksi untuk merespon adanya molekul asing didalam tubuh. Antibodi yang didapat dari hiperimmunisasi dikenal sebagai antibodi poliklonal. Antibodi mempunyai sifat yang unik dibanding protein lain karena terbuat dengan jutaan bentuk yang berbeda, masing-masing tempat pengikatan berbeda yang hanya mengenali molekul tertentu (antigen) yang menginfeksi dan merangsang pembuatannya (Male, 1991; Albert *et al* , 1994).

Bila sistem imun terpapar oleh zat yang dianggap asing, maka akan terjadi dua jenis respon yaitu respon imun non spesifik dan respon imun spesifik. Respon imun non spesifik umumnya merupakan imunitas bawaan dalam arti bahwa respon imun terhadap zat asing dapat terjadi walaupun tubuh sebelumnya tidak pernah terpapar oleh zat tersebut. Sedangkan respon imun spesifik merupakan respon didapat yang timbul terhadap antigen tertentu yaitu tubuh pernah terpapar sebelumnya (Kresno, 1996).

Limfosit T yang bertanggungjawab untuk respon selular dirangsang untuk memproduksi sejumlah zat yang diperlukan untuk memacu berbagai reaksi, sedangkan aktivasi sel limfosit B mengakibatkan sel limfosit B berproliferasi dan berdiferensiasi. Sel B akan mengenali epitop antigen sehingga merangsang dan memproduksi antibodi (Baratawidjaya, 2000)

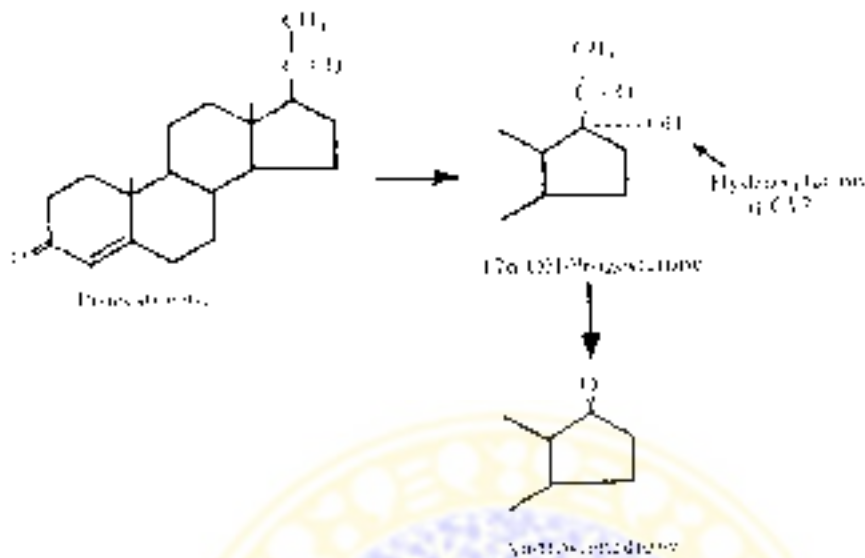
Interaksi antara antigen yang dipresentasikan oleh *antigen presenting cell* (APC) dengan limfosit T-penolong (Th) merupakan tahap awal terjadinya respon imun selular maupun humoral. Aktivasi sel APC berlangsung cepat dan dapat diinduksi oleh unsur antigen atau imunogen (Kresno, 1996).

Sel T yang diaktivasi oleh antigen dapat memproduksi IL-2 yang diperlukan untuk proliferasi sel T sendiri tetapi sel T juga memproduksi berbagai faktor atau limfokin yang dapat merangsang perubahan pada berbagai jenis sel antara lain sel B, sel T sitotoksik, makrofag dan lain-lain karena itu sel itu disebut sebagai sel T *inducer*. Beberapa jenis limfokin yang diproduksi oleh sel T dan digunakan untuk merangsang sel B adalah *B cell stimulatory factor (IL-4)*, *B-cell growth factor (IL-6)*, *B-cell differentiation factor-mu (BCDF-mu)*, BCDF-gama serta *gamma-interferon*. Dengan rangsangan limfokin di atas sel B berproliferasi dan berdeferensiasi lebih lanjut menjadi sel plasma dan memproduksi imunoglobulin. BCDF-mu merangsang produksi IgM sedangkan BCDF-gama menyebabkan perubahan kelas (*class-switch*) IgM menjadi IgG, selanjutnya sintesis dan sekresi imunoglobulin oleh sel plasma (Kresno, 1996).

3.4.1. Androstenedione dan Anti-Androstenedione

Pada hewan betina androstenedione merupakan hormon steroid yang dibentuk dari kolesterol di dalam sel-sel teka dari folikel ovarium yang sedang tumbuh oleh pengaruh LH. Sedangkan pada hewan jantan androstenedione dibentuk di dalam sel-sel Leydig (Austin and Short, 1979).

Androstenedione terbentuk dari perubahan pregnanolone dan progesterone melalui hidroksilasi pada atom C17 yang diikuti dengan hilangnya atom C21 seperti terlihat pada gambar di bawah ini (Austin and Short, 1979)



Gambar 3.1. Pembentukan androstenedione dari progesterone melalui hidraksilasi atom C17 (Austin and Short, 1979).

Cox *et al.* (1990) membuat anti-Androstenedione dengan cara menyuntik Androstenedione-HAS pada domba dengan dua kali suntikan dengan selang waktu 14 hari. Titer Anti-Androstenedione ditentukan mulai minggu pertama setelah injeksi kedua Androstenedione-HAS. Sedangkan Bonden *et al.* (1987) melakukan imunisasi hormon steroid untuk mendapatkan anti-steroid dengan dua kali penyuntikan dengan selang waktu 21 hari.

Keberhasilan antibodi terhadap Androstenedione diidentifikasi dengan uji ELISA. Prinsip ELISA didasarkan pada dua pengamatan yaitu pertama, antibodi dan beberapa antigen dapat menempel pada piringan plastik polistiren dan kemampuan imunologisnya tetap terjaga secara penuh. Kedua, antigen dan antibodi dapat dikatkan pada enzim dan kompleks yang terbentuk masih tetap berfungsi penuh, baik secara imunologis maupun enzimatik. Kegiatan enzim merupakan ukuran bagi jumlah antigen dan antibodi

yang ada di dalam contoh yang diuji. Enzim yang digunakan di dalam ELISA meliputi β -galaktosidase, glucose oksidase, peroksidase dan alkalim fosfatase (Pelczar *et al.*, 1988).

Hasil penelitian Wong *et al.* (1987) menyimpulkan bahwa penyuntikan dua kali androstenedione-HAS dalam pelarut dextran DEAE pada domba dengan selang waktu 19 hari mampu meningkatkan *ovulation rate* dan jumlah anak yang dilahirkan. Sedangkan Bindon *et al.* (1987) melakukan imunisasi domba dengan androstenedione dalam pelarut dextran DEAE ditambah Freund's dengan selang penyuntikan 21 hari dan diperoleh hasil jumlah sel telur yang diovulasikan pada kelompok kontrol sebesar $1,47 \pm 0,12$, sedangkan pada perlakuan $3,75 \pm 0,55$.

Tetsuka *et al.* (1990) menyatakan bahwa imunisasi dengan androstendion dengan selang waktu 21 hari akan menyebabkan metabolisme 5 α -dehidrotetosterone (DHT) sehingga kadar dalam darah sangat rendah dan titer anti-androsteron ditemukan pada pengenceran 1:100 dan 1:598.

Cox *et al.* (1990) mengemukakan bahwa imunisasi dengan androstenedione, dehidroepiandrosterone (DHEA) dan steroid lain mampu meningkatkan *ovulation rate* dan persentase kelahiran. Hasil penelitiannya menyatakan bahwa *ovulation rate* pada domba mencapai 1,97 sedangkan pada kontrol hanya 1,37 dan jumlah fetus yang dikandung per ekor domba adalah 1,67 sedangkan pada kontrol 1,23.

Lemire *et al.* (1991) mendapatkan hasil dari penelitiannya bahwa imunisasi dengan steroid pada sapi dapat meningkatkan sekresi LH dan jumlah folikel dominan (diameter > 10 mm). Demikian juga hasil penelitian Scaramuzzi *et al.* (1993) menyimpulkan bahwa imunisasi dengan androstendione akan menyebabkan peningkatan

ovulation rate, kadar LH dan progesterone. *Ovulation rate* yang diperoleh pada kelompok perlakuan sebesar $1,9 \pm 0,10$ dan pada kontrol $1,2 \pm 0,10$.



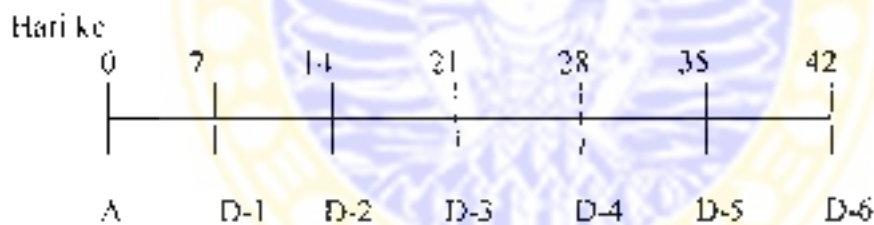
BAB IV METODE PENELITIAN

4.1. Metode Penelitian

4.1.1. Pembuatan Anti-Androstenedione

1. Sebanyak 6 ekor kelinci jantan lokal disuntik secara sub kutan dengan 200 μg Androstendion 7 α -BSA dalam pelarut Freund's *complete*.
2. Sampel darah diambil dari masing-masing kelinci sebanyak 3 cc dari v *auricularis* setiap minggu mulai minggu pertama (7 hari) sampai minggu ke enam untuk dianalisa titer antibodi terhadap Androstenedione dengan menggunakan ELISA tidak langsung.

Jadwal pelaksanaan pembuatan anti-androstenedione



A : 200 μg Androstendion 7 α -BSA dalam pelarut Freund's *complete*

D 1-6 : Pengambilan darah

4.1.2. Purifikasi anti-androstenedione dengan presipitasi ammonium sulfat

1. Jernihkan serum darah dari kontaminan-kontaminan lainnya dengan jalan sentrifugasi pada 17.000 g selama 15 menit, 4 °C. Ambil supernatan yang jernih dan biarkan di dalam lemari es.

2. Tarabahkan pelan-pelan dengan volume yang sama ammonium sulfat **jenis**, biarkan pada 4 °C selama 2 jam.
3. Pindahkan cairan tadi ke dalam tabung sentrifuge dan pisah pada 1000 rpm, 10 menit, 4 °C.
4. Pellet dari endapan yang didapat dicuci 2 kali dengan 50 % ammonium sulfat dingin. Perencian dapat dilakukan dengan melarutkan pellet tadi ke dalam air dan selanjutnya dilangi presipitasi dengan 50 % ammonium sulfat.
5. **Pellet** dilarutkan dalam aquades dengan 1/10 volume cairan semula.
6. Pindahkan larutan tersebut ke dalam tabung dialysis yang sudah dipersiapkan dan dialisa terhadap PBS pada 4 °C dengan 2 kali pergantian volume.
7. Sentrifuge dan pisahkan presipitat, aliquot dalam volume kecil dan disimpan pada -70 °C.

4.1.3. Uji Potensi Biologis Anti-Androstenedione pada Mencit

Untuk mengetahui kemampuan kerja dari anti-androstenedione dan terbentuknya kantong fertilisasi dilakukan penelitian pendahuluan yang meliputi pemberian anti-androstenedione pada fase folikuler dan fase luteal dari mencit. Sebelum disuntik dengan anti-androstenedione semua mencit diperiksa fase birahinya dengan cara ulas vagina. Pembedahan untuk menemukan kantong fertilisasi dilakukan pada 4, 6, 8, 10 jam setelah mencit jantan dan betina dikawinkan. Hasil dari penelitian pendahuluan ini bahwa kantong fertilisasi tempat sel telur ditemukan 4 jam setelah

perkawinan pada pemberian anti-androstenedione pada fase folikuler, sedangkan pada fase luteal tidak ditemukan adanya kantong fertilisasi. Maka itu penelitian selanjutnya mengacu pada hasil yang telah dicapai pada penelitian pendahuluan

4.1.3.1. Penyebaran sel telur pada penyuntikan anti-Androstenedione pada fase folikuler dari siklus birahi mencit

Dua puluh lima ekor mencit betina strain Balb/c yang berumur 2 bulan dikelompokkan secara acak menjadi lima perlakuan dengan masing-masing perlakuan mendapat lima ulangan sebagai berikut :

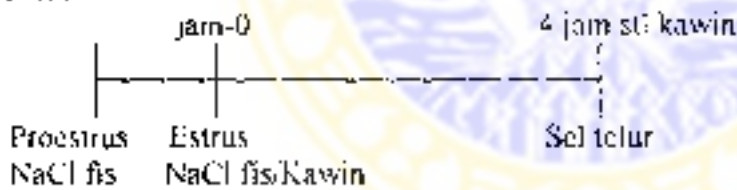
- P0 (kontrol) : mencit disuntik NaCl fisiologis secara sub kutan tanpa pemberian anti-Androstenedione secara sub kutan dan dikawinkan secara individual dengan mencit jantan yang telah mengalami pseudo kastrasi dengan cara menjepit kantong skrotum dengan arteri klem selama 5-10 menit
- P1 : Mencit mendapat suntikan 0,1 ml dari pengenceran 20 kali anti-Androstenedione dan dikawinkan secara individual dengan mencit jantan yang telah mengalami pseudo kastrasi.
- P2 : Mencit mendapat suntikan 0,1 ml dari pengenceran 40 kali anti-Androstenedione dan dikawinkan secara individual dengan mencit jantan yang telah mengalami pseudo kastrasi.

- P3 : Mencit mendapat suntikan 0,1 ml dari pengenceran 80 kali anti-Androstenedione dan dikawinkan secara individual dengan mencit jantan yang telah mengalami pseudo kastrasi.
- P4 : Mencit mendapat suntikan 0,1 ml dari pengenceran 160 kali anti-Androstenedione dan dikawinkan secara individual dengan mencit jantan yang telah mengalami pseudo kastrasi.

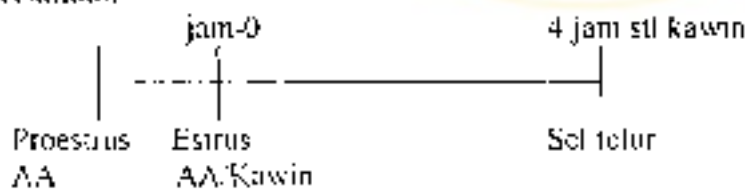
Observasi dengan cara pembesahan untuk menemukan kantong fertilisasi yang berisi sel telur dilakukan pada 4 jam setelah perkawinan.

Jadwal pelaksanaan panen sel telur pada mencit

Kontrol



Perlakuan



- Dosis NaCl fis : 0,1 ml
 AA : Anti-Androstenedione
 Dosis anti-Androstenedione : 0,1 ml dari pengenceran 20, 40, 80, 160 kali

4.1.3.2. Perolehan sigot pada penyuntikan anti-Androstenedione pada fase folikuler dari siklus birahi mencit

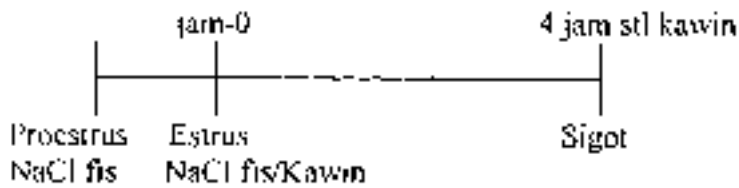
Dua puluh lima ekor mencit betina strain Balb/c yang berumur 2 bulan dikelompokkan secara acak menjadi lima perlakuan dengan masing-masing perlakuan mendapat lima ulangan sebagai berikut :

- P0 (kontrol) : mencit disuntik NaCl fisiologis secara sub kutan tanpa pemberian anti-Androstenedione secara sub kutan dan dikawinkan secara individual dengan mencit jantan.
- P1 : Mencit mendapat suntikan 0,1 ml dari pengenceran 20 kali anti-Androstenedione dan dikawinkan secara individual dengan mencit jantan.
- P2 : Mencit mendapat suntikan 0,1 ml dari pengenceran 40 kali anti-Androstenedione dan dikawinkan secara individual dengan mencit jantan.
- P3 : Mencit mendapat suntikan 0,1 ml dari pengenceran 80 kali anti-Androstenedione dan dikawinkan secara individual dengan mencit jantan.
- P4 : Mencit mendapat suntikan 0,1 ml dari pengenceran 160 kali anti-Androstenedione dan dikawinkan secara individual dengan mencit jantan.

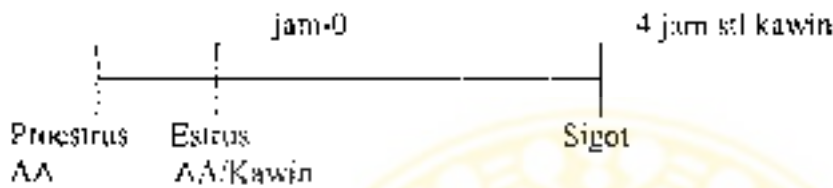
Observasi dengan cara pembedahan untuk menemukan kantong fertilisasi yang berisi sigot dilakukan pada 4 jam setelah perkawinan.

Jadwal pelaksanaan panen sigot pada mencit

Kontrol



Perlakuan



Dosis NaCl fis : 0,1 ml
 AA : Anti-Androstenedione
 Dosis anti-Androstenedione : 0,1 ml dari pengenceran 20, 40, 80, 160 kali

4.1.3.3 Perolehan anak pada penyuntikan anti-Androstenedione pada fase folikuler dari siklus birahi mencit

Dua puluh lima ekor mencit betina strain Balb/c yang berumur 2 bulan dikelompokkan secara acak menjadi lima perlakuan dengan masing-masing perlakuan mendapat lima ulangan sebagai berikut :

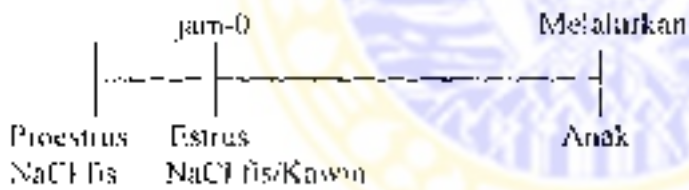
- P0 (kontrol) : mencit disuntik NaCl fisiologis secara sub kutan tanpa pemberian anti-Androstenedione secara sub kutan dan dikawinkan secara individual dengan mencit jantan.
- P1 : Mencit mendapat suntikan 0,1 ml dari pengenceran 20 kali anti-Androstenedione dan dikawinkan secara individual dengan mencit jantan.

- P2 . Mencit mendapat suntikan 0,1 ml dari pengenceran 40 kali anti-Androstenedione dan dikawinkan secara individual dengan mencit jantan.
- P3 . Mencit mendapat suntikan 0,1 ml dari pengenceran 80 kali anti-Androstenedione dan dikawinkan secara individual dengan mencit jantan.
- P4 . Mencit mendapat suntikan 0,1 ml dari pengenceran 160 kali anti-Androstenedione dan dikawinkan secara individual dengan mencit jantan.

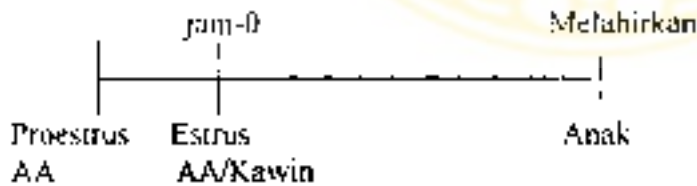
Observasi jumlah anak yang dilahirkan dilakukan setelah mencit melahirkan.

Jadwal pelaksanaan penghitungan anak mencit

Kontrol



Perlakuan



Dosis NaCl fis : 0,1 ml

AA : Anti-Androstenedione

Dosis anti-Androstenedione : 0,1 ml dari pengenceran 20, 40, 80, 160 kali

4.1.3.4. Uji Potensi Biologis Anti-Androstenedione pada Kambing

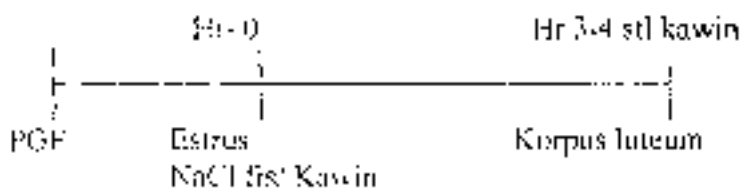
Untuk produksi embrio (dengan melihat korpus rubrum) digunakan dua puluh satu ekor kambing betina lokal yang sudah dewasa dan pernah beranak yang dikelompokkan secara acak menjadi tiga perlakuan dengan masing-masing perlakuan mendapat rujuk ulangan dan perkawinan dilakukan dengan kawin alam

- P0 (kontrol) : Kambing tanpa mendapat suntikan anti-Androstenedione dan setelah birahi dikawinkan dengan pejantan.
- P1 : Kambing mendapat suntikan I.V. 1 ml anti-Androstenedione pada saat birahi, tanpa dikawinkan dengan pejantan.
- P2 : Kambing mendapat suntikan I.V. 2 ml anti-Androstenedione pada saat birahi, tanpa dikawinkan dengan pejantan.

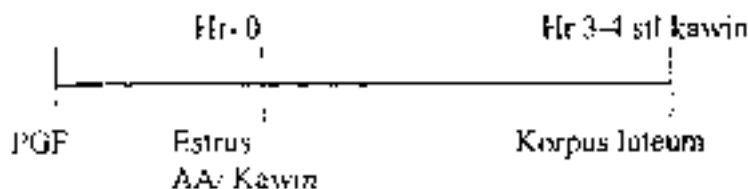
Laparotomi dilakukan 3-4 hari setelah perkawinan untuk memeriksa adanya korpus luteum.

Jadwal pelaksanaan pemeriksaan korpus luteum kambing

Kontrol



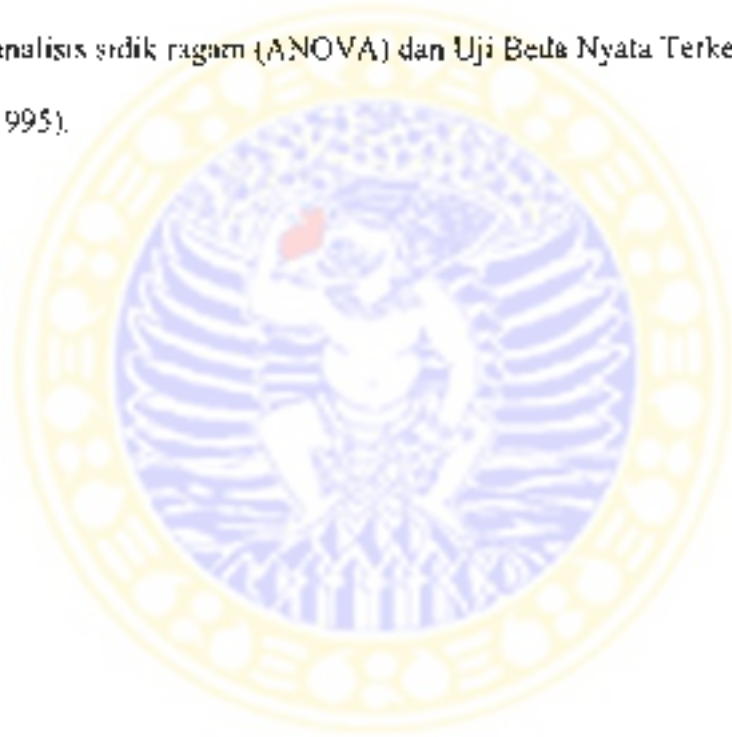
Perlakuan



Dosis PGF_{2α} 7 mg
Dosis anti-Androstenedione : 1 dan 2 ml
AA : Anti-Androstenedione

4.2. Rancangan dan Analisis Statistik

Variabel yang diamati meliputi titer anti-androstenedione, jumlah sel telur, srgot dan anak mencit serta jumlah korpus luteum kambing. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dan analisis data yang akan digunakan adalah analisis sidik ragam (ANOVA) dan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) (Steel and Torrie, 1995).



BAB V HASIL PENELITIAN

5.1. Pembuatan anti-androstenedione

Penelitian ini bertujuan untuk memproduksi antibodi poliklonal anti-androstenedione pada kelinci. Kelinci mendapatkan suntikan hormon androstenedione-BSA sebesar 200 µg dalam pelarut Freund's *complete* secara subkutan. Untuk menentukan mulai munculnya antibodi sampai antibodi tertinggi, serum darah kelinci diambil setiap minggu sampai minggu ke enam. Serum darah yang didapat diuji dengan menggunakan ELISA *indirect* (Lampiran 1) untuk menentukan adanya titer anti-androstenedione. Hasil titer anti-androstenedione yang didapat dari uji ELISA tersebut dapat dilihat pada Lampiran 2 sampai 7.

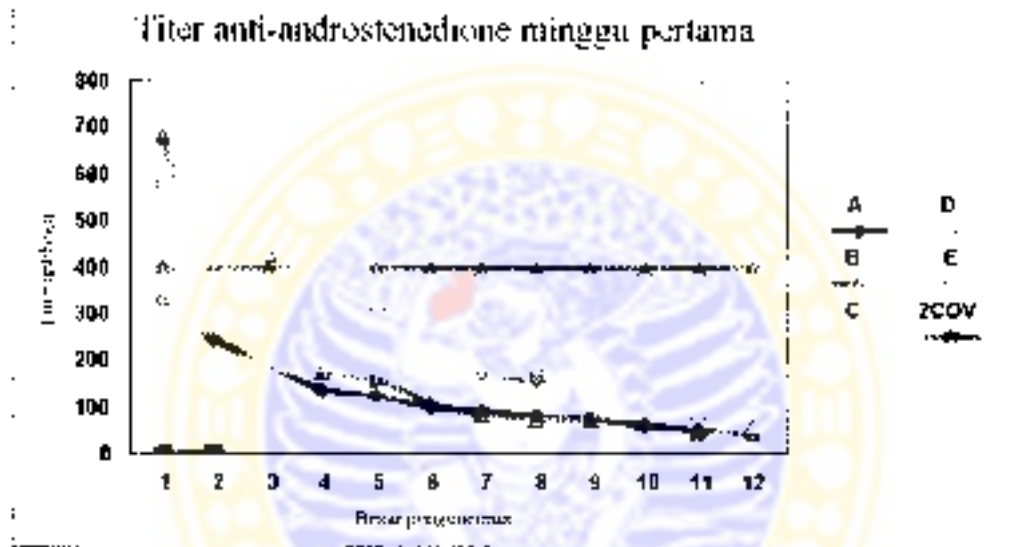
Hasil perhitungan titer anti-androstenedione pada ke enam kelinci perlakuan pada minggu pertama dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

Tabel 5.1. Rataan titer anti-androstenedione pada minggu pertama setelah penyuntikan androstenedione dalam pelarut Freund's complete

Perlakuan	N	Rentangan	Rataan Titer Anti-Androstenedione
kelinci A	12	326 - 43	128,83 ± 85,56 ^b
kelinci B	12	683 - 49	175,25 ± 181,31 ^b
kelinci C	12	590 - 61	301,08 ± 150,32 ^a
kelinci D	12	301 - 84	195,67 ± 66,37 ^b
kelinci E	12	419 - 132	217,42 ± 80,05 ^{ab}
kontrol	12	188 - 119	152,00 ± 23,89 ^b

Superskrip dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$)

Pembacaan titer anti-androstenedione dilakukan dengan menggunakan ELISA *side* pada panjang gelombang 405 nm setelah sample diinkubasi selama 60 menit. Titer anti-androstenedione dinyatakan positif bila menunjukkan nilai lebih dari dua kali rata-rata kontrol negatif (*cut of value, COV*). *Cov* ditentukan dengan rata-rata kontrol negatif ditambah 2-3 simpangan baku. Hasil pembacaan titer anti-androstenedione dapat digambarkan seperti pada gambar di bawah ini :



Gambar 5.1. Grafik garis titer anti-androstenedione pada minggu pertama setelah penyuntikan androstenedione

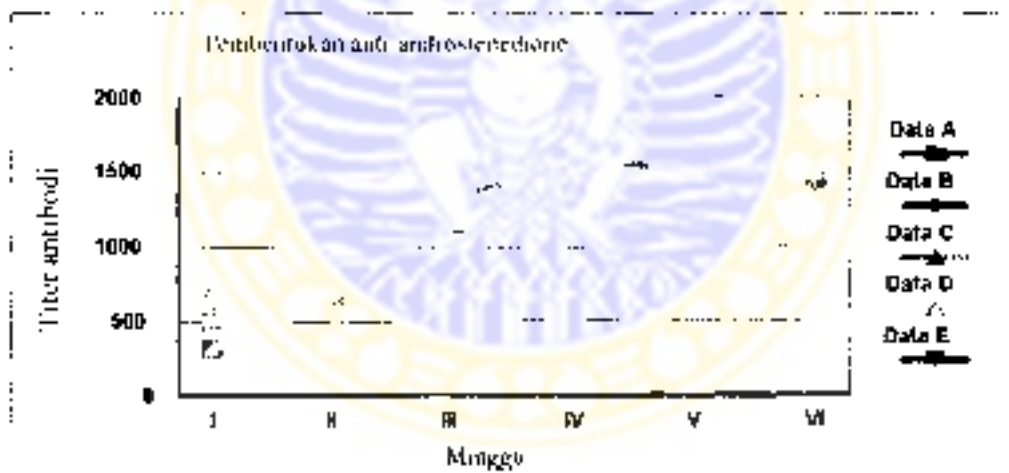
Keterangan :

- Pengenceran 1 adalah 1:20
- Pengenceran 2 adalah 1:40
- Pengenceran 3 adalah 1:80
- Pengenceran 4 adalah 1:160
- Pengenceran 5 adalah 1:320
- Pengenceran 6 adalah 1:640
- Pengenceran 7 adalah 1:1280
- Pengenceran 8 adalah 1:2560
- Pengenceran 9 adalah 1:5120
- Pengenceran 10 adalah 1:10240
- Pengenceran 11 adalah 1:20480
- Pengenceran 12 adalah 1:40960

- A - E : Kelinci perfakuan 1-5
- COV (*Cut of Value*) : Rata-rata kontrol negatif + 2 kali simpangan baku

Berdasarkan uji statistik ANOVA dan dilanjutkan dengan uji BNT (Lampiran 8) pada minggu pertama diperoleh bahwa terdapat perbedaan ($p < 0,01$) mulai munculnya atau titer positif anti-androstenedione antara kontrol dan perlakuan. Demikian juga pada minggu ke empat (Lampiran 11), lima (Lampiran 12) dan enam (Lampiran 13) terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$), sedangkan pada minggu ke dua (Lampiran 9) dan minggu ke tiga (Lampiran 10) secara statistik tidak menunjukkan adanya perbedaan ($p > 0,05$).

Secara keseluruhan titer anti-androstenedione dari ke enam kelinci perlakuan pada minggu pertama sampai ke enam dapat digambarkan sebagai berikut :



Gambar 5.2. Grafik garis titer anti-androstenedione dari minggu pertama sampai minggu keenam

Keterangan :

- A – E : Kelinci perlakuan 1-5

Seperti terlihat pada gambar 5.1 bahwa pada minggu pertama yang sudah menampakkan atau titer positif adanya anti-androstenedione adalah kelinci B, C dan E karena nilai titer anti-androstenedione diatas nilai dua kali COV. Sedangkan kelinci A dan D pada minggu pertama belum memberikan respon imun (belum terbenak anti-androstenedione) terhadap androstenedione karena nilainya di bawah dua kali COV

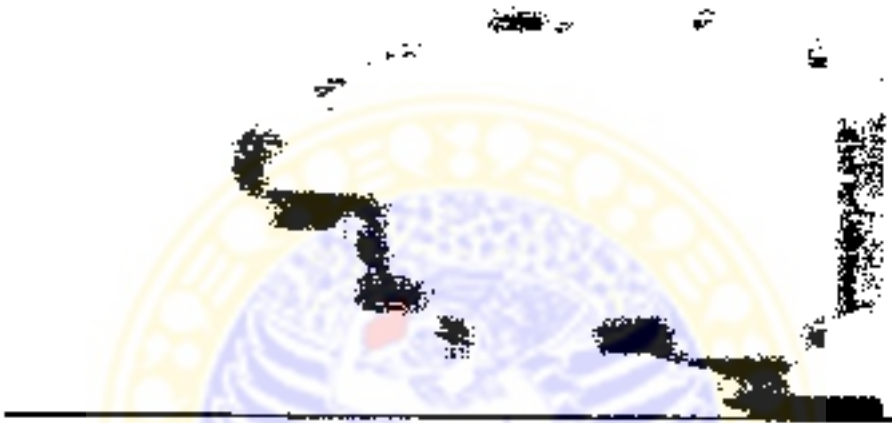
Sedangkan pada Gambar 5.2. terlihat bahwa pada kelinci A, B, C dan E titer anti-androstenedione mulai naik dari minggu pertama sampai minggu ke empat, kemudian setelah minggu ke empat titer anti-androstenedione mulai turun. Sedangkan pada kelinci D titer anti-androstenedione mulai turun setelah minggu ke lima. Dari hasil ini menunjukkan bahwa respon imun terhadap androstenedione dengan terbentuknya anti-androstenedione terbaik dihasilkan oleh kelinci D, meskipun secara statistik tidak ada perbedaan diantara ke lima kelinci tersebut.

5.2. Uji Potensi Biologis Anti-Androstenedione pada mencit

Setelah anti-androstenedione yang dihasilkan dilakukan purifikasi dengan presipitasi asam sulfat, maka selanjutnya digunakan untuk penelitian pendahuluan pada mencit yaitu dilakukan penyuntikan anti-androstenedione pada fase folikuler (proestrus, estrus) dan fase luteal (metestrus dan diestrus).

Hasil yang diperoleh dari penelitian pendahuluan ini menunjukkan bahwa pemberian anti-androstenedione memberikan efek hifa disuntikannya pada fase folikuler dengan terlihatnya kantong fertilisasi (Gambar 5.3.) yang berisi sel telur atau sigot setelah empat jam perkawinan. Sedangkan pada fase luteal tidak

ditemukan kantong fertilisasi Sehingga untuk uji selanjutnya dipakai fase folikuler



Gambar 5.3. Kantong fertilisasi yang ditemukan empat jam setelah perkawinan

5.2.1. Perolehan sel telur setelah pemberian anti-androstenedione pada fase folikuler dari siklus birahi mencit

Pada penelitian ini ditunjukkan untuk mengetahui perolehan jumlah sel telur mencit setelah pemberian anti androstenedione. Pemeriksaan dan penghitungan jumlah sel telur (Lampiran 14) dilakukan empat jam setelah mencit melakukan perkawinan yang ditandai oleh adanya sumbat vagina. Gambaran sel telur yang diperoleh dapat dilihat pada Lampiran 15.

Rataan jumlah sel telur yang diperoleh pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

Tabel 5.2. Rataan jumlah sel telur mencai yang diperoleh pada pemanenan setelah empat jam perkawinan

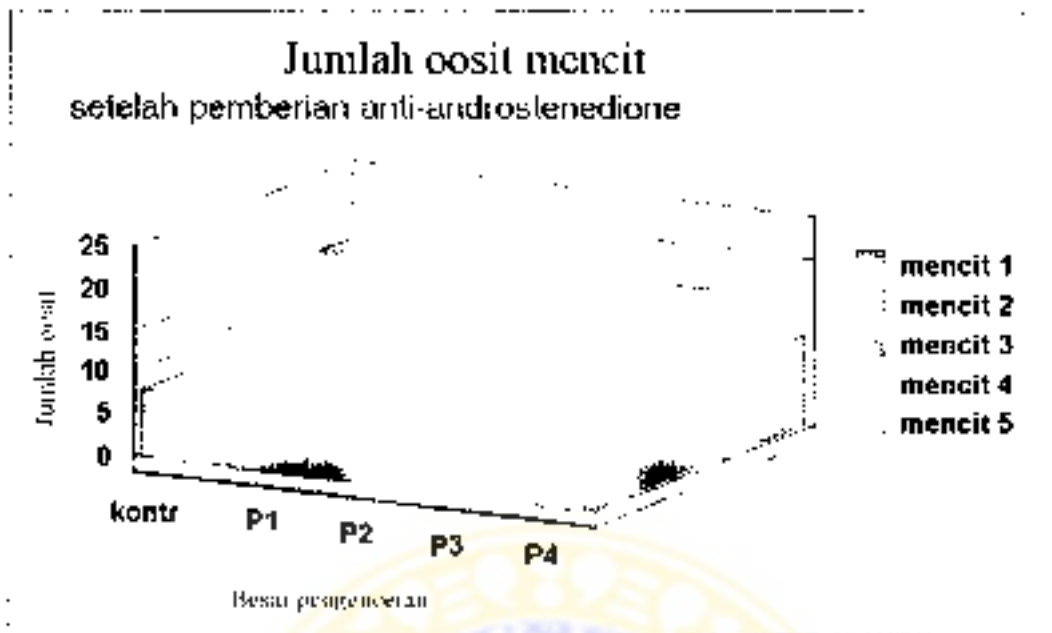
Perlakuan	N	Rentangan	Rataan Jumlah Sel Telur
Kontrol	5	11 - 6	8,00 ± 1,87 ^c
1:20	5	22 - 18	21,00 ± 1,73 ^a
1:40	5	22 - 16	18,60 ± 2,41 ^b
1:80	5	10 - 7	9,00 ± 1,41 ^{cd}
1:160	5	11 - 8	9,40 ± 1,14 ^{cd}

Superskrip dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$)

Keterangan :

- 1:20 : pengenceran anti-androstenedione 20 kali
- 1:40 : pengenceran anti-androstenedione 40 kali
- 1:80 : pengenceran anti-androstenedione 80 kali
- 1:160 : pengenceran anti-androstenedione 160 kali

Berdasarkan uji statistik ANOVA (Lampiran 16) terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$) diantara kelompok kontrol dan perlakuan. Setelah dilayutkan dengan uji BNT diperoleh bahwa yang paling baik diantara kelompok tersebut adalah kelompok yang mendapat suntikan anti-androstenedione pada pengenceran 20 kali diikuti kelompok dengan pengenceran 40 kali. Kelompok dengan pengenceran 80, 160 kali dan kontrol meskipun jumlah perolehan sel telur berbeda namun secara statistik tidak menunjukkan perbedaan seperti terlihat pada Tabel 5.2. Sedangkan grafik perolehan sel telur dapat dilihat pada gambar di bawah ini :



Gambar 5.4. Grafik batang perolehan sel telur mencit setelah pemberian anti-androstenedione

Keterangan :

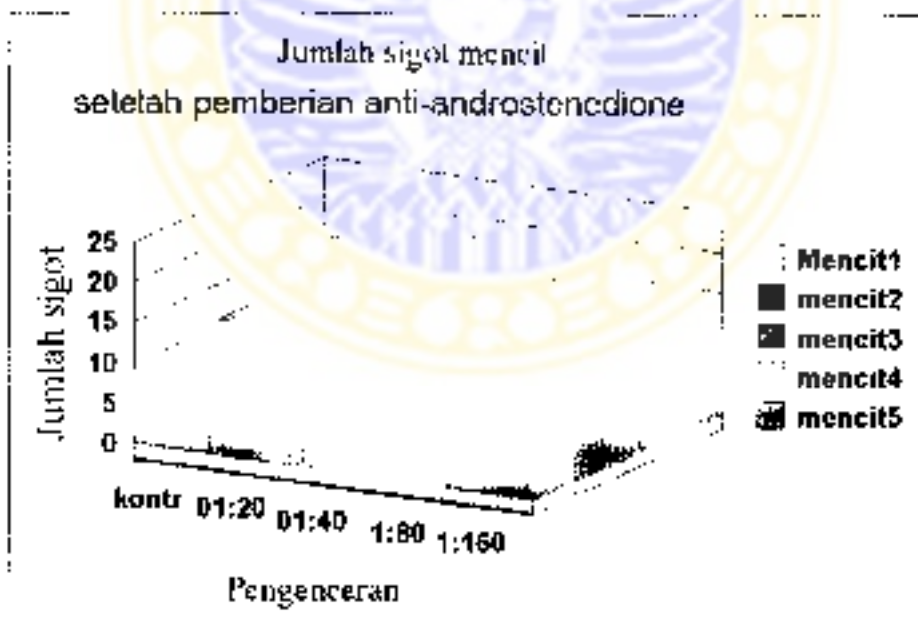
- Kontrol : Tanpa pemberian anti-androstenedione
- P1 : Pengenceran anti-androstenedione 1:20
- P2 : Pengenceran anti-androstenedione 1:10
- P3 : Pengenceran anti-androstenedione 1:80
- P4 : Pengenceran anti-androstenedione 1:160

Peningkatan perolehan jumlah sel telur ini mengindikasikan bahwa pemberian anti-androstenedione mampu meningkatkan *ovulation rate* sesuai dengan hasil penelitian Cox *et al.* (1990). Sedangkan menurut Lerrite *et al.* (1991) imunisasi dengan steroid dapat meningkatkan sekresi LH endogen dan jumlah folikel dominan. Demikian juga hasil penelitian Scaramuzzi *et al.* (1993) yang menyatakan bahwa imunisasi dengan androstenedione akan menyebabkan peningkatan *ovulation rate*. Sensitivitas folikel dominan terhadap LH akan meningkat apabila androstenedione yang dihasilkan oleh sel-sel teka dari folikel tersebut ditambat kerjanya dengan pemberian anti-androstenedione. Sebagai

akibat sensitivitas folikel dominan terhadap LH ini maka *ovulation rate* akan meningkat sehingga sel telur yang diperoleh lebih banyak.

5.2.2. Perolehan sigot mencit setelah pemberian anti-androstenedione pada fase folikuler dari siklus birahi mencit

Pada penelitian ini ditujukan untuk mengetahui perolehan jumlah sigot mencit setelah pemberian anti androstenedione. Pemeriksaan dan penghitungan jumlah sigot (Lampiran 17) dilakukan empat jam setelah mencit melakukan perkawinan yang ditandai oleh adanya sumbat vagina. Gambaran sigot yang diperoleh dapat dilihat pada Lampiran 18. . Sedangkan grafik perolehan sigot mencit dapat dilihat pada gambar di bawah ini :



Gambar 5.5. Grafik batang perolehan sigot mencit setelah pemberian anti-androstenedione

Rataan jumlah sigot yang diperoleh pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel di bawah ini

Tabel 5.3. Rataan jumlah sigot mencit yang diperoleh pada pemanenan setelah empat jam perkawinan

Perlakuan	N	Rentangan	Rataan Jumlah Sigot
Kontrol	5	11 - 6	8,00 ± 1,87 ^a
1/20	5	21 - 16	18,20 ± 1,92 ^b
1/40	5	15 - 12	13,60 ± 1,14 ^c
1/80	5	10 - 7	8,20 ± 1,10 ^{cd}
1/160	5	11 - 6	9,00 ± 1,87 ^{cd}

Superskrip dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$)

Keterangan :

- 1/20 : pengenceran anti-androstenedione 20 kali
- 1/40 : pengenceran anti-androstenedione 40 kali
- 1/80 : pengenceran anti-androstenedione 80 kali
- 1/160 : pengenceran anti-androstenedione 160 kali

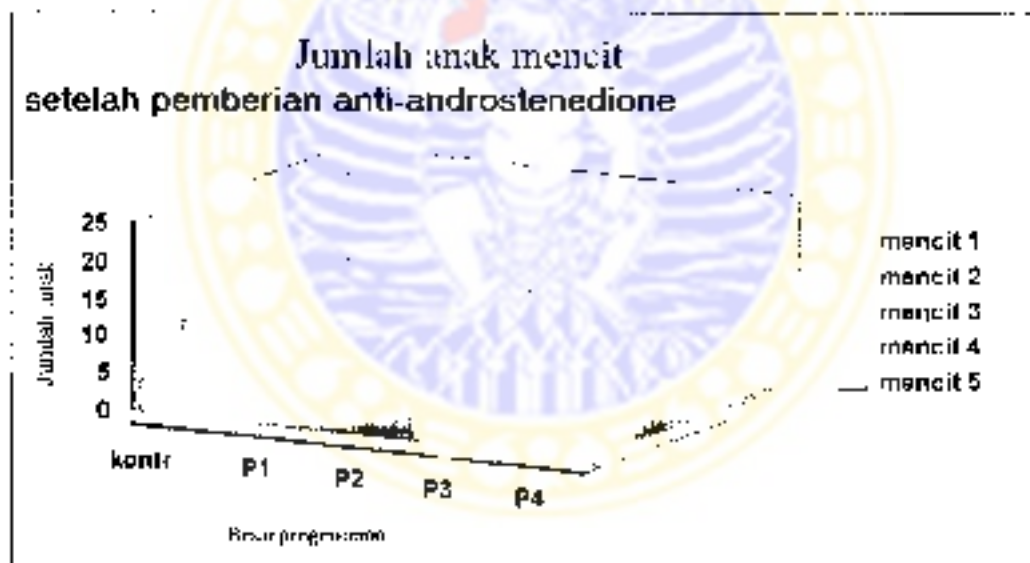
Berdasarkan uji statistik ANOVA (Lampiran 19) terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$) diantara kelompok kontrol dan perlakuan. Setelah dilanjutkan dengan uji BNT diperoleh bahwa yang paling baik diantara kelompok tersebut adalah kelompok yang mendapat suntikan anti-androstene pada pengenceran 20 kali diikuti kelompok dengan pengenceran 40 kali. Kelompok dengan pengenceran 80, 160 kali dan kontrol meskipun jumlah perolehan sel telur berbeda namun secara statistik tidak menunjukkan perbedaan (Tabel 5.3).

Peningkatan jumlah sigot yang diperoleh pada penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Cox *et al.* (1990) yang menyatakan bahwa

immunisasi dengan androstenedione dapat meningkatkan *ovulation rate* dan jumlah fetus.

5.2.3. Perolehan anak mencit setelah pemberian anti-androstenedione pada fase folikuler dari siklus birahi mencit

Pada penelitian ini ditujukan untuk mengetahui perolehan jumlah anak mencit setelah pemberian anti androstenedione. Pemeriksaan dan penghitungan jumlah anak (lampiran 20) dilakukan setelah mencit melahirkan. Sedangkan grafik perolehan sigot mencit dapat dilihat pada gambar di bawah ini :



Gambar 5.6. Grafik batang perolehan anak mencit setelah pemberian anti-androstenedione

Keterangan :

- Kontrol : Tanpa pemberian anti-androstenedione
- P1 : Pengenceran anti-androstenedione 1:20
- P2 : Pengenceran anti-androstenedione 1:40
- P3 : Pengenceran anti-androstenedione 1:80
- P4 : Pengenceran anti-androstenedione 1:160

Rataan jumlah anak menceit yang diperoleh pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

Tabel 5.4. Rataan jumlah anak menceit setelah pemberian anti-androstenedione

Perlakuan	N	Rentangan	Rataan Jumlah Anak
Kontrol	5	12 - 4	$8,20 \pm 3,03^{bc}$
1/20	5	20 - 12	$14,40 \pm 3,58^a$
1/40	5	12 - 8	$10,40 \pm 1,82^b$
1/80	5	11 - 6	$8,40 \pm 1,95^{bc}$
1/160	5	7 - 5	$6,00 \pm 1,00^{bc}$

Superskrip dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$)

Keterangan :

- 1-20 : pengenceran anti-androstenedione 20 kali
- 1-40 : pengenceran anti-androstenedione 40 kali
- 1-80 : pengenceran anti-androstenedione 80 kali
- 1-160 : pengenceran anti-androstenedione 160 kali

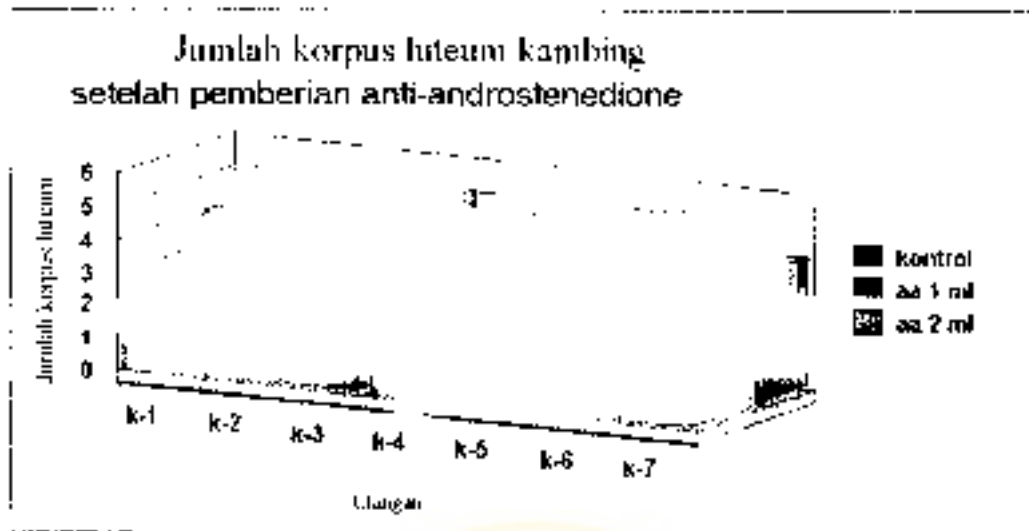
Berdasarkan uji statistik ANOVA (Lampiran 21) terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$) diantara kelompok kontrol dan perlakuan. Setelah dilanjutkan dengan uji BNT diperoleh bahwa yang paling baik diantara kelompok tersebut adalah kelompok yang mendapat suntikan anti-androstene pada pengenceran 20 kali diikuti kelompok dengan pengenceran 40 kali. Kelompok dengan pengenceran 80, 160 kali dan kontrol meskipun jumlah perolehan sel telur berbeda namun secara statistik tidak menunjukkan perbedaan seperti terlihat pada tabel 5.4

Setelah terjadi kopulasi, spermatozoa masuk ke tuba falopii dan bertemu dengan sel telur untuk melakukan fertilisasi pada bagian ampulla. Sebelum mampu membuahi sel telur, spermatozoa selama dalam saluran tuba falopii mengalami proses kapasitasi dan reaksi akrosom (Susanto, 1985).

Setelah terjadi fertilisasi sel telur oleh spermatozoa maka akan terbentuk zigot. Zigot yang terbentuk akan mengalami beberapa pembelahan sampai terdiri dari berpuluh-puluh sel kecil yang disebut *blastomere*. *Blastomere* membelah membentuk bentukan seperti bola yang tidak berongga dan disebut sebagai morula. Morula akan membelah dan menyusun diri membentuk *central cavity* sehingga membentuk *blastocyst*. Setelah *blastocyst* berimplantasi terjadilah pertumbuhan dan perkembangan sehingga terbentuk fetus. Pada akhir masa kebuntingan (pada menci 19-21 hari) fetus dan placenta dikeluarkan dari induk (Toeihere, 1985)

5.2.4. Perolehan korpus luteum kambing setelah pemberian anti-androstenedione pada fase folikuler dari siklus birahi kambing

Pada penelitian ini ditujukan untuk mengetahui perolehan jumlah korpus luteum kambing setelah pemberian anti androstenedione. Pemeriksaan dan penghitungan jumlah korpus luteum (Lampiran 22) dilakukan setelah 3-4 hari setelah perkawinan. Sedangkan grafik perolehan korpus luteum dapat dilihat pada gambar di bawah ini :



Gambar 5.7. Grafik batang jumlah korpus luteum kambing setelah pemberian anti- androstenedione

Keterangan :

- k : Kambing
- aa : anti-androstenedione

Rataan jumlah korpus luteum yang diperoleh pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

Tabel 5.5. Rataan jumlah korpus luteum kambing setelah pemberian anti-androstenedione

Perlakuan	N	Rentangan	Rataan Jumlah Korpus Luteum
Kontrol	7	4 - 2	2,71 ± 0,76 ^b
1 ml	7	5 - 3	3,86 ± 0,69 ^a
2 ml	7	5 - 4	4,43 ± 0,53 ^a

Superskrip dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$)

Berdasarkan uji statistik ANOVA (F ampiran 23) terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$) diantara kelompok kontrol dan perlakuan. Setelah dilanjutkan

dengan uji BNT diperoleh bahwa diantara kelompok perlakuan yang mendapat suntikan anti-androstene 1 ml dan 2 ml secara intra vena tidak menunjukkan perbedaan yang nyata seperti terlihat pada Tabel 5.5.

Pemberian anti-androstenedione mampu meningkatkan sensitivitas folikel dominan terhadap LH sehingga meningkatkan terjadi ovulasi. Ovulasi terjadi karena pengaruh LH yang melepaskan histamin sehingga menyebabkan hiperemi pada ovarium dan merangsang pelepasan enzim proteolitik yaitu kolagenase ke dalam cairan folikel. Enzim proteolitik akan melemahkan dinding folikel sehingga terjadi daerah avaskuler (stigma) dan ovulasi terjadi pada daerah penonjolan superfisial dinding folikel yang tidak ditunjang stroma ovarium (Hafez, 1993).

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

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah didapat maka dapat disimpulkan :

- a. Anti-Androstenedione dapat dibuat dengan penyuntikan androstenedione dalam pelarut Freund's lengkap dan titer anti-androstenedione mulai muncul pada minggu pertama, titer tertinggi dicapai pada minggu keempat sampai minggu ke lima.
- b. Anti-androstenedione mampu meningkatkan perolehan jumlah sel telur, sigut dan anak mencit. Jumlah anak mencit yang lahir meningkat sampai 75,6 % dari 8,2 anak pada kelompok kontrol menjadi 14,4 anak pada kelompok pengenceran 20 kali.
- c. Anti-androstenedione mampu meningkatkan jumlah korpus luteum kambing sebesar 63,5 % dari 2,71 pada kelompok kontrol menjadi 4,43 pada kelompok dengan pemberian 2 ml anti-androstenedione

6.2. Saran

Saran yang diajukan adalah

- a. Anti-androstenedione perlu diberikan pada ternak pada saat menjelang birahi sehingga diperoleh fertilitas yang lebih baik
- b. Perlu penelitian lebih lanjut pemberian anti-androstenedione pada program superovulasi sehingga diperoleh embrio yang lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Alberts, B., D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, and J.D. Watson. 1994. *Biologi Molekuler Sel*. Edisi kedua. Jakarta . Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama p 53-54
- Arthur, G.H., D.E. Noakes and H. Pearson. 1990. *Veterinary Reproduction and Obstetrics* 6th Ed Bailliere Tindall p 3-7
- Austin, C.R. and R.V. Short. 1979. *Hormonal Control of Reproduction, Reproduction in Mammals* London, New York, New Rochelle, Melbourne, Sydney Cambridge University Press. p. 97-100
- Baratawidjaja, K.G. *Imunologi Dasar* 2000. Edisi 4. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. p 47-104
- Bindon, S.M. and L.R. Piper. 1987. *Physiological Basis of the Ovarian Response to PMSG in Sheep and Cattle*. Symposium Embryo Transfer in Sheep, Goat and Cattle. Canberra. p. 22
- Cox, R.I., P.A. Wilson and M.S.F. Wong. 1984. *Change of Ovulation Rate with Time in Ewes Immunized Against Androstenedione*. Proceedings of The Sixteenth Annual Conference. Australia Society for Reproductive Biology. Melbourne Australia. p. 64.
- Cox, R.I., M.S.F. Wong and P.A. Wilson. 1990. *Increased Ovulation Rate and Prolificacy in Sheep Immunized Against Dehydroepiandrosterone (DHEA)*. Proceedings of the 33rd Annual Meeting. The Endocrine Society of Australia. University of Auckland, Auckland. p. 25
- Fuquay, J.W. and H.J. Bearden. 1980. *Applied Animal Reproduction*. A Prentice-Hall Company. Reston Virginia p 53-63
- Greve, T., H. Callesen and P. Hyttel. 1984. *Characterization of Plasma LH-Profils in Superovulated Dairy Cows*. *Theriogenology* 21:237.
- Hafez, E.S.E. 1993. *Reproduction in Farm Animal* 6th Ed. Philadelphia: Lea & Febiger. p. 34-122; 130-407
- Jacoby, R.O and L.G. Fox. 1984. *Biology and Diseases of Mice*. Academic Press. Inc p 36-44

- Knobil, E., J.D. Neill, L.L. Ewing, G.S. Greenwald, C.L. Maarkert and D.W. Pfaff: 1988. *The Physiology of Reproduction*, Volume 2. New York : Raven Press p.1703-1716
- Kresno, S.B. 1996. *Imunologi - Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Edisi ketiga Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. p. 40-50
- Lermite, V., J. Delaby, J. Thimontier, R. Defour and M. Terqui. 1991. Increase of LH Secretion and Ovarian Follicles Growth after Passive Immunization Against Testosterone in Dairy Cows and Rustic Heifers. *J. Reprod. Fert.* 8 : 51
- Male, D. 1991. *Immunology an Illustrated Outline*. 2nd ed. London-New York . Gower Medical Publishing p. 10-20
- Moor, R.M., Th.A.M. Krupp and D. Green. 1984. Intraovarian Control of Folliculogenesis : Limits to Superovulation. *Theriogenology* 18:33-34.
- Pattodihardjo S. 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Cetakan ketiga. Jakarta : Mutiara Sumber Widya. p. 165-188
- Pelezar, M.J., E.C.S. Chan dan M.F. Pelezar. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jilid 2 Jakarta . Penerbit Universitas Indonesia. p. 575-588
- Peters, A.R. 1985. Hormonal Control of The Bovine Oestrus Cycle I. The Natural Cycle. *Br. Vet. J.* 141 (6): 564-573
- Scaramuzzi, R.J., B.K. Campbell and G.B. Martin. 1993. Immunological Approaches of Fertility Regulation in Domestic Livestock. *Immunology and Cell Biology* 71 : 489-499.
- Smith, J.B. dan S. Mangkuwidjojo. 1988. *Peneliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Penerbit Universitas Indonesia. p. 18-23
- Steel, R.G.D dan J.H. Torrie. 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistika*. Jakarta : Penerbit PT. Gramedia Pustaka Utama. p. 68-205
- Susanto, I. 1985. *Langman Embriologi Kedokteran*. Edisi 5 Jakarta : Penerbit FGC Buku Kedokteran. p. 18-22
- Teppa, B. 1996. Peranan dan Perkembangan Embrio Transfer pada Ternak Sapi di Indonesia. *Prosiding Seminar Nasional Bioteknologi dan Teknologi Inovatif Bidang Peternakan*. Malang. p. 10-14

- Toelihere, MR. 1985. Inseminasi Buatan pada Ternak. Penerbit Angkasa Bandung p. 98-254
- Tomaszewska, M.W., I.K. Sutarna, i.G. Putu dan T.D. Chariago. 1991. Reproduksi, Tingkat Laku dan Produksi Ternak di Indonesia. Jakarta . Penerbit PT. Gramedia Pustaka Utama. p. 27-43
- Wong, M.S.F., P.A. Wilson and R.I. Cox. 1987. Increased Ovulation Rate in Merino Ewes by Single Immunization Against Several Steroids with Drakeol as Immunoadjuvant. Proceedings of The Nineteenth Annual Conference. Australian Society for Reproductive Biology. Sydney Australia. p. 55.



Lampiran 1. Cara kerja ELISA tidak langsung untuk pemeriksaan antibodi poliklonal anti-androstenedione

1. Hormon Androstenedione diencerkan dengan *buffer coating* sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 5 unit/100 μ l. 100 μ l larutan tersebut dimasukkan kedalam setiap sumuran mikroplat ELISA.
2. Larutan dalam mikroplat diinkubasi semalam (\pm 18 jam) pada suhu 4 $^{\circ}$ C.
3. Setiap sumuran mikroplat dicuci dengan NaCl-Triton sebanyak 5 kali.
4. *Buffer blocking* (BSA) sebesar 150 μ l ditambahkan kedalam setiap sumuran mikroplat
5. Sumuran mikroplat diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37 $^{\circ}$ C.
6. Setiap sumuran mikroplat dicuci dengan NaCl-Triton sebanyak 5 kali.
7. Antibodi kelinci anti-Androstenedione diencerkan dengan *buffer blocking* pada 1:10 dengan menggunakan tabung mikro. Pengenceran antibodi tersebut dilanjutkan sehingga diperoleh pengenceran 1/20, 1/40, 1/80, ... 1/40960 dengan menggunakan mikroplat lain (bukan mikroplat ELISA). Masing-masing pengenceran dipindahkan dengan urutan sebagai berikut :
 - Ab1 diisikan pada baris A
 - Ab2 diisikan pada baris B
 - Ab3 diisikan pada baris C
 - Ab4 diisikan pada baris D
 - Ab5 diisikan pada baris E
 - Ab6 (kontrol negatif) diisikan pada baris F
 - Kontrol PBS diisikan pada baris G
8. Mikroplat diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37 $^{\circ}$ C.
9. Setiap sumuran mikroplat dicuci dengan NaCl-Triton sebanyak 5 kali.
10. Konjugat *goat-anti-rabbit* yang dilabel enzim alkaline fosfatase diencerkan dengan *buffer blocking* sehingga diperoleh pengenceran 1/2000, kemudian 100 μ l larutan tersebut ditambahkan kedalam setiap sumuran mikroplat.
11. Sumuran mikroplat diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37 $^{\circ}$ C.
12. Setiap sumuran mikroplat dicuci dengan NaCl-Triton sebanyak 5 kali.

13. Substrat 4-NPP (*Nitro Phenyl Phosphate*) dilarutkan dengan *buffer substrat*, kemudian 100 μ l larutan tersebut ditambahkan kedalam setiap sumuran mikroplat.
14. Sumuran mikroplat yang mengandung larutan diatas diinkubasi selama 30-90 menit dalam ruang gelap pada suhu kamar (37°C).
15. Larutan *stopper* (NaOH) sebanyak 50 μ l diberikan pada setiap sumuran mikroplat untuk menghentikan reaksi.
16. Pembacaan nilai absorbansi dengan menggunakan *ELISA reader* pada panjang gelombang 405 nm



Lampiran 2. Hasil pemeriksaan titer anti-androstenedione dengan ELISA indirect minggu pertama setelah penyuntikan androstenedione pada kelinci

NO	BESAR PENGECERAN											
	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120	1:10240	1:20480	1:40960
A	0,326	0,244	0,192	0,139	0,129	0,100	0,098	0,083	0,081	0,057	0,054	0,043
B	0,685*	0,439	0,224	0,177	0,161	0,109	0,097	0,076	0,074	0,072	0,051	0,049
C	0,502*	0,404	0,317	0,372	0,320	0,292	0,281	0,266	0,239	0,158	0,092	0,061
D	1,301	0,382	0,252	0,224	0,221	0,201	0,173	0,150	0,154	0,140	0,137	0,081
E	0,419*	0,278	0,262	0,251	0,277	0,213	0,195	0,179	0,164	0,153	0,135	0,122
F	0,144	0,121	0,126	0,119	0,157	0,188	0,143	0,175	0,142	0,180	0,177	0,151

Keterangan : A-E : kelinci perlakuan 1-5
 F : kelinci kontrol
 * : titer positif

$$\bar{X} = 0,152 \pm 0,024$$

$$COV = 0,152 + 0,048 = 0,2$$

$$2 \times COV : 0,4$$

Lampiran 3. Hasil pemeriksaan titer anti-androstenedione dengan ELISA indirect minggu kedua setelah penyuntikan androstenedione pada kelinci

NO	BESAR PENGECERAN											
	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560	1/5120	1/10240	1/20480	1/40960
A	0,660*	0,464*	0,347	0,256	0,124	0,117	0,099	0,063	0,250	0,041	0,036	0,035
B	0,983*	0,824*	0,644*	0,489*	0,334	0,229	0,142	0,092	0,071	0,082	0,058	0,047
C	0,918*	0,654*	0,546*	0,517*	0,392	0,248	0,169	0,151	0,199	0,090	0,052	0,043
D	0,681*	0,696*	0,417*	0,287	0,211	0,139	0,071	0,064	0,063	0,055	0,032	0,042
E	0,871*	0,742*	0,561*	0,426*	0,254	0,165	0,122	0,09	0,049	0,036	0,035	0,033
F	0,144	0,126	0,183	0,083	0,177	0,096	0,133	0,155	0,147	0,154	0,143	0,140

Keterangan : A-E : kelinci perlakuan 1-5
 F : kelinci kontrol
 * : titer positif

X : $0,141 \pm 0,030$ COV : $0,141 - 0,060 = 0,201$ 2 X COV : 0,402

Lampiran 4. Hasil pemeriksaan titer anti-androstenedione dengan ELISA indirect minggu ketiga setelah penyuntikan androstenedione pada kelinci

NO	BESAR PENGECERAN											
	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560	1/5120	1/10240	1/20480	1/40960
A	1,175*	1,155*	1,104*	0,736*	0,477*	0,427*	0,254	0,171	0,114	0,099	0,052	0,071
B	1,292*	1,257*	1,085*	0,655*	0,795*	0,517*	0,356	0,205	0,142	0,097	0,056	0,058
C	1,247*	1,021*	1,071*	0,623*	0,579*	0,417*	0,352	0,245	0,153	0,120	0,090	0,079
D	1,225*	1,081*	1,016*	0,945*	0,640*	0,412*	0,323	0,179	0,075	0,063	0,024	0,022
E	1,178*	1,024*	0,968*	0,867*	0,601*	0,426*	0,305	0,277	0,157	0,121	0,106	0,087
F	0,124	0,122	0,112	0,124	0,129	0,140	0,138	0,166	0,090	0,177	0,183	0,154

Keterangan : A-E : kelinci perlakuan 1-5
 F : kelinci kontrol
 * : titer positif

X : $0,140 \pm 0,028$

COV : $0,140 + 0,056 = 0,196$

2 X COV : 0,392

Lampiran 5 Hasil pemeriksaan titer anti-androstenedione dengan ELISA indirect minggu keempat setelah penyuntikan androstenedione pada kelinci

NO	BESAR PENGECERAN											
	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560	1/5120	1/10240	1/20480	1/40960
A	1,576*	1,528*	1,503*	1,379*	1,138*	1,902*	0,739*	0,353	0,235	0,141	0,083	0,076
B	1,582*	1,527*	1,120*	1,214*	1,045*	0,765*	0,589*	0,168	0,204	0,124	0,067	0,035
C	1,578*	1,526*	1,492*	1,339*	0,992*	0,951*	0,665*	0,420*	0,274	0,188	0,104	0,065
D	1,536*	1,437*	1,383*	1,126*	0,865*	0,636*	0,515*	0,475*	0,284	0,043	0,037	0,036
E	2,389*	1,511*	1,273*	1,036*	0,802*	0,599*	0,576*	0,279	0,169	0,141	0,073	0,046
F	0,121	0,115	0,181	0,098	0,162	0,175	0,177	0,182	0,129	0,129	0,156	0,125

Keterangan : A-E : kelinci perlakuan 1-5
 F : kelinci kontrol
 * : titer positif

N : $0,144 + 0,030$ COV : $0,144 - 0,060 = 0,204$ $2 \times \text{COV} : 0,408$

Lampiran 6. Hasil pemeriksaan titer anti-androstenedione dengan ELISA indirect minggu kelima setelah penyuntikan androstenedione pada kelinci

NO	BESAR PENGECERAN											
	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560	1/5120	1/10240	1/20480	1/40960
A	1,560*	1,548*	1,415*	1,269*	0,978*	0,219*	0,639*	0,416*	0,273	0,175	0,086	0,056
B	1,523*	1,460*	1,198*	0,909*	0,883*	0,518*	0,421*	0,213	0,133	0,076	0,047	0,022
C	1,602*	1,539*	1,427*	1,320*	1,245*	1,077*	0,889*	0,707*	0,576*	0,451*	0,353	0,286
D	1,753*	1,298*	1,351*	1,001*	0,921*	0,834*	0,720*	0,612*	0,405*	0,341	0,257	0,133
E	1,577*	1,473*	1,273*	1,057*	0,968*	0,808*	0,676*	0,489*	0,421*	0,304	0,279	0,204
F	0,189	0,119	0,135	0,176	0,187	0,154	0,165	0,171	0,176	0,136	0,130	0,138

Keterangan : A-E : kelinci perlakuan 1-5
 F : kelinci kontrol
 * : titer positif

X : $0,151 \pm 0,023$ COV : $0,151 + 0,046 = 0,197$ 2 X COV : 0,394

Lampiran 7 Hasil pemeriksaan user anti-androstenedione dengan ELISA indirect minggu keenam setelah penyuntikan androstenedione pada kelinci

NO	BESAR PENGECERAN											
	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120	1:10240	1:20480	1:40960
A	1,446*	1,440*	1,371*	1,326*	1,219*	0,969*	0,674*	0,407	0,286	0,175	0,115	0,097
B	1,424*	1,385*	1,323*	1,162*	0,953*	0,668*	0,434*	0,260	0,199	0,128	0,099	0,086
C	1,490*	1,460*	1,340*	0,923*	0,903*	0,929*	0,601*	0,579*	0,383	0,212	0,168	0,166
D	1,600*	1,565*	1,500*	1,453*	1,119*	0,855*	0,742*	0,503*	0,410	0,325	0,219	0,191
E	1,522*	1,500*	1,479*	1,269*	1,212*	1,104*	0,897*	0,678*	0,581*	0,441*	0,258	0,155
F	0,116	0,132	0,123	0,187	0,166	0,177	0,176	0,164	0,159	0,159	0,112	0,114

Keterangan : A-E : kelinci perlakuan 1-5
 F : kelinci kontrol
 * : titer positif

X : $0,149 \pm 0,029$ COV : $0,149 - 0,058 - 0,207$ 2 X COV : 0,414

Lampiran 8. Analisis statistik ANOVA dan BNT dan titer antibodi anti androstenedione satu minggu setelah penyuntikan androstenedione

Oneway

Descriptives

MINGGU1

	N	Mean	S.D.	S.E.	95% Confidence Interval for Mean Lower Bound	Upper Bound	Min.	Maxi
Kelinci A ^a	12	128,83	80,58	24,70	74,47	183,20	43	326
Kelinci B ^b	12	175,25	181,51	52,24	60,05	290,45	49	583
Kelinci C ^a	12	301,00	150,32	43,39	205,57	386,56	51	590
Kelinci D ^b	12	195,67	68,37	19,76	153,50	237,84	84	201
Kelinci E ^b	12	217,42	80,05	23,11	166,55	268,28	122	419
Kontrol ^a	12	152,00	23,89	6,90	136,62	167,18	119	188
Total	72	195,04	120,82	14,24	166,85	223,43	43	583

ANOVA

MINGGU1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	220494,458	5	44096,892	3,567	,006
Within Groups	815938,417	66	12362,703		
Total	1036422,875	71			

Post Hoc Test

Multiple Comparisons

Dependent Variable: MINGGU1
LSD

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelinci A	kelinci B	-46,42	45,39	,310	-137,05	44,21
	kelinci C	-172,25*	45,39	,000	-262,88	-81,62
	kelinci D	-66,83	45,39	,149	-157,46	23,80
	kelinci E	-88,58	45,29	,055	-179,21	2,05
	kontrol	-23,17	45,39	,611	-113,80	67,46
	kelinci B	kelinci A	46,42	45,39	,310	-44,21
kelinci C		-125,93*	45,29	,007	-210,46	-25,20
kelinci D		-76,42	45,39	,554	-111,05	70,21
kelinci E		-42,17	45,29	,356	-132,80	48,46
kontrol		23,25	45,39	,510	-67,38	113,88
kelinci C		kelinci A	172,25*	45,39	,000	81,62
	kelinci B	125,93*	45,39	,007	35,20	216,46
	kelinci D	105,42*	45,39	,023	14,79	196,05
	kelinci E	83,67	45,39	,070	6,96	174,30
	kontrol	149,08*	45,39	,002	58,45	239,71
	kelinci D	kelinci A	66,83	45,39	,149	23,80
kelinci B		20,42	45,39	,854	-70,21	111,05
kelinci C		-105,42*	45,39	,023	-196,05	-14,79
kelinci E		-21,75	45,39	,833	-112,39	68,88
kontrol		43,67	45,39	,340	-46,96	134,30
kelinci E		kelinci A	88,58	45,39	,055	-2,05
	kelinci B	42,17	45,39	,356	-48,46	132,80
	kelinci C	-83,67	45,39	,070	-174,30	6,96
	kelinci D	21,75	45,39	,833	-68,88	172,39
	kontrol	65,42	45,39	,154	-25,21	156,05
	kontrol	kelinci A	23,17	45,39	,611	-67,46
kelinci B		-23,25	45,39	,610	-113,88	67,38
kelinci C		-149,08*	45,39	,002	-239,71	-58,45
kelinci D		-43,57	45,39	,340	-134,30	46,96
kelinci E		-65,42	45,39	,154	-156,05	25,21

* The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 9 Analisis statistik ANOVA dan BNT dari nilai antibodi anti androstenedione minggu kedua setelah penyuntikan androstenedione

Oneway

Descriptives

antibodi	N	Mean	S D	S E	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
kelinci A	12	196,42	206,98	59,75	83,91	326,93	33	686
kelinci B	12	334,58	325,99	94,11	127,46	541,71	47	983
kelinci C	12	326,25	284,48	82,12	145,53	507,00	43	916
kelinci D	12	224,00	227,55	65,69	79,42	366,56	42	691
kelinci E	12	277,50	300,24	86,67	86,74	468,26	23	871
kontrol	12	141,25	29,89	8,62	122,28	160,22	63	183
Total	72	249,83	250,41	29,51	150,89	308,68	33	983

ANOVA

antibodi	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	350476,667	5	70095,333	1,128	,354
Within Groups	4101419,333	66	62142,717		
Total	4451896,000	71			

Lampiran 10. Analisis statistik ANOVA dan BNT dari titer antibodi anti androstenedione minggu ketiga setelah penyuntikan androstenedione

Oneway

Descriptives

antibodi

	N	Mean	S D	S E	95% Confidence Lower Bound	Interval for Mean Upper Bound	Min	Max
kelinci A	12	489,75	440,85	127,23	209,65	789,85	71	1175
kelinci B	12	569,83	481,43	138,98	263,95	875,72	58	1292
kelinci C	12	494,75	408,20	117,84	235,39	754,11	79	1247
kelinci D	12	495,33	457,65	132,11	194,56	776,11	22	1225
kelinci E	12	531,75	435,73	125,78	254,90	808,50	87	1239
kontrol	12	139,67	28,22	8,15	121,74	157,60	50	183
Total	72	451,95	417,69	49,23	353,69	550,05	22	1292

ANOVA

antibodi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1465825,569	5	293185,114	1,772	,121
Within Groups	10321379,700	66	156475,451		
Total	12337305,319	71			

Lampiran 11. Analisis statistik ANOVA dan BNT dari titer antibodi anti androstenedione minggu keempat setelah penyuntikan androstenedione

Oneway

Descriptives

antibodi

	N	Mean	SD	SE	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
kelinci A	12	803,33	608,28	176,59	416,65	1189,81	78	1578
kelinci B	12	746,42	592,28	170,98	379,10	1122,74	55	1582
kelinci C	12	797,67	587,35	169,56	424,49	1170,85	65	1578
kelinci D	12	697,75	563,38	162,63	339,80	1055,70	36	1526
kelinci E	12	671,17	568,42	164,09	310,01	1032,32	46	1569
kontrol	12	144,00	29,65	8,56	125,18	162,84	38	182
Total	72	643,39	563,39	65,40	511,00	775,78	36	1589

ANOVA

antibodi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3757374,944	5	751474,989	2,841	,031
Within Groups	18778604,167	66	284524,306		
Total	22535979,111	71			

Post Hoc Test

Multiple Comparisons

Dependent Variable: antibodi
LSD

(i) KELINCI	(j) KELINCI	Mean Difference (i-j)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelinci A	kelinci B	56,92	217,76	,795	-377,66	491,69
	kelinci C	5,67	217,76	,979	-429,11	440,44
	kelinci D	105,58	217,76	,529	-329,19	540,36
	kelinci E	132,17	217,76	,548	-302,61	566,54
	kontrol	669,33*	217,76	,004	224,56	1094,11
kelinci B	kelinci A	-56,92	217,76	,795	-491,69	377,66
	kelinci C	-51,25	217,76	,815	-496,03	383,53
	kelinci D	48,67	217,76	,824	-386,11	483,44
	kelinci E	75,25	217,76	,731	-359,53	510,03
	kontrol	602,42*	217,76	,007	167,64	1037,19
kelinci C	kelinci A	-5,67	217,76	,979	-440,44	429,11
	kelinci B	51,25	217,76	,815	-383,53	499,03
	kelinci D	59,92	217,76	,648	-334,66	534,69
	kelinci E	126,50	217,76	,563	-308,28	551,28
	kontrol	653,67*	217,76	,004	218,69	1088,44
kelinci D	kelinci A	-105,58	217,76	,629	-540,36	329,19
	kelinci B	-48,67	217,76	,624	-483,44	386,11
	kelinci C	-99,92	217,76	,648	-534,66	334,66
	kelinci E	26,58	217,76	,903	-461,36	461,36
	kontrol	553,75*	217,76	,013	118,97	988,53
kelinci E	kelinci A	-132,17	217,76	,546	-566,94	302,61
	kelinci B	-75,25	217,76	,731	-510,03	359,53
	kelinci C	-126,50	217,76	,563	-561,28	308,28
	kelinci D	-26,58	217,76	,903	-461,36	461,19
	kontrol	527,17*	217,76	,018	92,39	961,94
kontrol	kelinci A	-669,33*	217,76	,004	-1094,11	-224,56
	kelinci B	-602,42*	217,76	,007	-1037,19	-167,54
	kelinci C	-653,67*	217,76	,004	-1088,44	-218,69
	kelinci D	-553,75*	217,76	,013	-988,53	-118,97
	kelinci E	-527,17*	217,76	,018	-961,94	-82,39

* The mean difference is significant at the .05 level

Lampiran 12 Analisis statistik ANOVA dan BN1 dan uji titer antibodi anti androstenedione minggu kelima setelah penyuntikan androstenedione

Oneway

Descriptives

antibodi

	N	Mean	S.D.	S.E.	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
kelinci A	12	775,53	581,65	187,91	405,76	1144,90	36	1560
kelinci B	12	625,58	522,92	152,47	265,99	981,18	22	1513
kelinci C	12	957,50	477,38	137,81	654,19	1250,81	285	1602
kelinci D	12	784,83	475,78	137,63	481,90	1087,76	133	1753
kelinci E	12	790,50	470,25	135,75	491,72	1089,28	204	1577
kontrol	12	153,50	22,70	6,55	136,08	164,32	119	199
Total	72	580,38	522,25	61,55	557,65	603,10	22	1753

ANOVA

antibodi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4714796,625	5	942932,325	4,247	.002
Within Groups	14651532,250	66	221992,913		
Total	19366328,875	71			

Post Hoc Test

Multiple Comparisons

Dependent Variable: antibodi
LSD

(I) KELINCI	(J) KELINCI	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelinci A	kelinci B	151,75	192,35	,433	-232,29	535,79
	kelinci C	-182,17	192,35	,347	-556,21	201,87
	kelinci D	-9,50	192,35	,961	-393,54	374,54
	kelinci E	-15,17	192,35	,937	-399,21	368,87
	kontrol	624,83*	192,35	,002	240,79	1009,87
kelinci B	kelinci A	-151,75	192,35	,433	-535,79	232,29
	kelinci C	-333,92	192,35	,087	-717,96	50,12
	kelinci D	-161,25	192,35	,405	-545,29	222,79
	kelinci E	-166,92	192,35	,389	-550,96	217,12
	kontrol	473,08*	192,35	,017	99,04	857,12
kelinci C	kelinci A	182,17	192,35	,347	-201,87	556,21
	kelinci B	333,92	192,35	,087	-50,12	717,96
	kelinci D	172,67	192,35	,373	-211,37	556,71
	kelinci E	167,00	192,35	,388	-217,04	551,04
	kontrol	807,00*	192,35	,000	422,96	1191,04
kelinci D	kelinci A	9,50	192,35	,961	-374,54	393,54
	kelinci B	161,25	192,35	,405	-222,79	545,29
	kelinci C	172,67	192,35	,373	-556,71	211,37
	kelinci E	-9,67	192,35	,977	-389,71	378,37
	kontrol	634,33*	192,35	,002	250,29	1018,37
kelinci E	kelinci A	15,17	192,35	,937	-399,87	399,21
	kelinci B	166,92	192,35	,389	-217,12	550,96
	kelinci C	-167,00	192,35	,388	-551,04	217,04
	kelinci D	9,67	192,35	,977	-378,37	389,71
	kontrol	640,00*	192,35	,001	255,96	1024,04
kontrol	kelinci A	-624,83*	192,35	,002	-1009,87	-240,79
	kelinci B	-473,08*	192,35	,017	-857,12	-99,04
	kelinci C	-807,00*	192,35	,000	-1191,04	-422,96
	kelinci D	-634,33*	192,35	,002	-1018,37	-250,29
	kelinci E	-640,00*	192,35	,001	-1024,04	-255,96

* The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 13. Analisis statistik ANOVA dan BNT dari titer antibodi anti androstenedione minggu keenam setelah penyuntikan androstenedione

Oneway

Descriptives

antibodi

	N	Mean	S.D.	S.E.	95% Confidence Interval for Mean.		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
kelinci A	12	782,28	553,16	151,13	437,44	1146,72	97	1446
kelinci B	12	678,57	540,93	156,15	334,99	1022,35	86	1424
kelinci C	12	754,50	487,53	140,74	444,74	1064,28	166	1450
kelinci D	12	873,50	552,62	159,53	522,38	1224,62	191	1600
kelinci E	12	925,50	498,01	143,76	609,08	1241,92	135	1522
kontrol	12	148,75	29,11	8,40	130,26	167,24	112	187
Total	72	695,50	532,29	62,73	570,42	820,58	89	1600

ANOVA

antibodi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4759347,167	5	951869,433	4,091	,003
Within Groups	15357010,833	66	232681,992		
Total	20116358,000	71			

Post Hoc Test

Multiple Comparisons

Dependent Variable: antibodi
_SD

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelinci A	kelinci B	113,42	196,93	,567	-279,76	506,59
	kelinci C	37,59	196,93	,849	-355,59	430,76
	kelinci D	-81,42	196,93	,681	-474,59	311,76
	kelinci E	-133,42	196,93	,500	-526,59	259,76
	kontrol	643,33*	196,93	,002	250,16	1036,51
kelinci B	kelinci A	-113,42	196,93	,567	-506,59	279,76
	kelinci C	-75,83	196,93	,701	-469,01	317,34
	kelinci D	-194,83	196,93	,326	-588,01	198,34
	kelinci E	-246,83	196,93	,214	-640,01	146,34
	kontrol	529,92*	196,93	,009	136,74	923,09
kelinci C	kelinci A	-37,58	196,93	,845	-430,76	355,59
	kelinci B	75,83	196,93	,701	-317,34	469,01
	kelinci D	-119,00	196,93	,548	-512,18	274,18
	kelinci E	-171,00	196,93	,388	-564,18	222,18
	kontrol	605,75*	196,93	,003	212,57	998,93
kelinci D	kelinci A	81,42	196,93	,681	-311,76	474,59
	kelinci B	194,83	196,93	,326	-198,34	588,01
	kelinci C	119,00	196,93	,548	-274,18	512,18
	kelinci E	-52,00	196,93	,793	-445,18	341,18
	kontrol	724,75*	196,93	,000	331,57	1117,93
kelinci E	kelinci A	133,42	196,93	,500	-259,76	526,59
	kelinci B	246,83	196,93	,214	-146,34	640,01
	kelinci C	171,00	196,93	,388	-222,18	564,18
	kelinci D	52,00	196,93	,793	-241,18	445,18
	kontrol	776,75*	196,93	,000	383,57	1169,93
kontrol	kelinci A	-643,33*	196,93	,002	-1036,51	-250,16
	kelinci B	-529,92*	196,93	,009	-923,09	-136,74
	kelinci C	-605,75*	196,93	,003	-998,93	-212,57
	kelinci D	-724,75*	196,93	,000	-1117,93	-331,57
	kelinci E	-776,75*	196,93	,000	-1169,93	-383,57

* The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 14. Jumlah sel telur menen yang diperoleh empat setelah jam perkawinan

ULANGAN	PERLAKUAN				
	K	1/20	1/40	1/80	1/160
Menit-1	8	18	20	8	10
Menit-2	7	22	18	10	8
Menit-3	11	22	22	7	9
Menit-4	8	22	16	10	9
Menit-5	6	21	17	10	11

Lampiran 15. Sel telur menciit yang diperoleh empat jam setelah perkawinan



Lampiran 16 Analisis statistik jumlah sel telur mentes setelah pemberian antibodi anti androstenedione

Oneway

Descriptives

	N	Mean	S D	S E	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol ^d	5	8,00	1,87	,84	5,68	10,32	6	11
1/20 ^e	5	21,00	1,73	,77	18,85	23,15	18	22
1/40 ^e	5	18,60	2,41	1,03	15,61	21,59	16	22
1/80 ^{af}	5	9,00	1,41	,83	7,24	10,76	7	10
1/160 ^{af}	5	9,40	1,14	,61	7,98	10,82	8	11
Total	25	13,20	5,80	1,13	10,80	15,60	6	22

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	745,600	4	186,400	59,744	,000
Within Groups	62,400	20	3,120		
Total	808,000	24			

Post Hoc Test

Multiple Comparisons

LSD

I)	J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol	1/20	-13,00*	1,12	,000	-15,33	-10,67
	1/40	-10,60*	1,12	,000	-12,93	-8,27
	1/80	-1,00	1,12	,381	-3,33	1,33
	1/160	-1,40	1,12	,225	-3,73	,93
1/20	kontrol	13,00*	1,12	,000	10,67	15,33
	1/40	2,40*	1,12	,044	6,97E-02	4,73
	1/80	12,00*	1,12	,000	9,67	14,33
	1/160	11,80*	1,12	,000	9,27	13,93
1/40	kontrol	10,60*	1,12	,000	8,27	12,93
	1/20	-2,40*	1,12	,044	-4,73	-6,97E-02
	1/80	9,80*	1,12	,000	7,27	11,93
	1/160	9,20*	1,12	,000	6,87	11,53
1/80	kontrol	1,00	1,12	,381	-1,33	2,33
	1/20	-12,00*	1,12	,000	-14,33	-9,67
	1/40	-9,60*	1,12	,000	-11,93	-7,27
	1/160	-.40	1,12	,724	-2,73	1,93
1/160	kontrol	1,40	1,12	,225	-,93	3,73
	1/20	-11,60*	1,12	,000	-13,93	-9,27
	1/40	-9,20*	1,12	,000	-11,53	-6,97
	1/80	-.40	1,12	,724	-1,93	2,73

* The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 17 Jumlah sigot: mencit yang diperoleh empat jam setelah perkawinan

ULANGAN	PERLAKUAN				
	K	1/20	1/40	1/80	1/160
Mencit-1	5	16	14	8	9
Mencit-2	7	17	12	30	9
Mencit-3	11	21	15	7	11
Mencit-4	8	19	13	8	10
Mencit-5	6	18	14	8	6



Lampiran 18. Sigot menicit yang diperoleh empat jam setelah perkawinan



Lampiran 19 Analisis statistik jumlah sigot menicit setelah pemberian antibodi anti androstenedione

Oneway

Descriptives

jumlah sigot menicit

	N	Mean	S D	S E	95% Confidence Interval for Mean		Min	Maxi
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol ^a	5	8,00	1,87	,84	5,93	10,32	6	11
1/20 ^a	5	16,20	1,92	,86	15,91	20,59	16	21
1/40 ^b	5	13,60	1,14	,51	12,18	15,02	12	15
1/80 ^{c,d}	5	9,20	1,10	,49	6,84	9,56	7	10
1/160 ^{c,d}	5	9,00	1,87	,84	6,68	11,32	6	11
Total	25	11,40	4,31	,86	9,52	13,18	6	21

ANOVA

jumlah sigot menicit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	393,200 ^a	4	98,300	37,235	,000
Within Groups	52,800	20	2,640		
Total	446,000	24			

Post Hoc Test

Multiple Comparisons

Dependent Variable: jumlah sigot menicit

LSD

(i) DOSIS	(j) DOSIS	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol	1/20	-10,20*	1,33	,000	-12,34	-8,06
	1/40	-5,60*	1,03	,000	-7,74	-3,46
	1/80	-,20	1,03	,648	-2,31	1,94
	1/160	-1,00	1,03	,342	-3,14	1,14
1/20	kontrol	10,20*	1,03	,000	8,06	12,34
	1/40	4,60*	1,03	,000	2,46	6,74
	1/80	10,00*	1,03	,000	7,86	12,14
	1/160	9,20*	1,03	,000	7,06	11,34
1/40	kontrol	5,60*	1,03	,000	3,46	7,74
	1/20	-4,60*	1,03	,000	-6,74	-2,46
	1/80	5,40*	1,02	,000	3,25	7,54
	1/160	4,60*	1,03	,000	2,46	6,74
1/80	kontrol	-,20	1,03	,648	-1,94	1,54
	1/20	-10,00*	1,03	,000	-12,14	-7,86
	1/40	-5,40*	1,03	,000	-7,54	-3,25
	1/160	-,80	1,03	,445	-2,94	1,24
1/160	kontrol	1,00	1,03	,342	-1,14	3,14
	1/20	-9,20*	1,03	,000	-11,34	-7,06
	1/40	-4,60*	1,03	,000	-6,74	-2,46
	1/80	-,80	1,03	,445	-1,34	2,94

* The mean difference is significant at the .05 level

Lampiran 20. Jumlah anak mencit yang dilahirkan setelah pemberian anti-androstenedione

CLANGAN	PERILAKUAN				
	K	1/20	1/40	1/80	1/160
Mencit-1	4	12	12	9	6
Mencit-2	10	12	12	9	5
Mencit-3	7	16	8	6	5
Mencit-4	12	12	11	11	7
Mencit-5	8	20	9	7	7

Lampiran 21 Analisis statistik jumlah anak menit setelah pemberian antibodi anti androstenedione

Oneway

Descriptives

	N	Mean	S.D.	S.E.	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol ⁰⁰⁰	5	8,20	3,03	1,36	4,43	11,97	4	12
1/20 ^a	5	14,40	3,59	1,50	9,86	16,84	12	20
1/40 ^b	5	10,40	1,82	,81	9,14	12,66	8	12
1/80 ^{bc}	5	8,40	1,95	,87	5,98	10,82	6	11
1/160 ^{bc}	5	6,00	1,00	,45	4,73	7,24	5	7
Total	25	9,48	3,65	,73	7,97	10,89	4	20

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	199,240	4	49,860	8,299	,003
Within Groups	123,400	20	6,020		
Total	322,240	24			

Post Hoc Test

Multiple Comparisons

LSD

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
pengencer kontrol	1/20	-6,20*	1,55	,001	-9,44	-2,96
	1/40	-2,20	1,55	,172	-5,44	1,04
	1/80	,20	1,55	,899	-3,44	3,04
	1/160	2,20	1,55	,172	-1,04	5,44
	kontrol	6,20*	1,55	,001	2,96	9,44
1/20	1/40	4,00*	1,55	,018	,76	7,24
	1/80	6,00*	1,55	,001	2,76	9,24
	1/160	8,40*	1,55	,000	5,16	11,64
	kontrol	2,20	1,55	,172	-1,04	5,44
	1/20	-4,00*	1,55	,018	-7,24	-,76
1/40	1/80	2,00	1,55	,212	-1,24	5,24
	1/160	4,40*	1,55	,010	1,16	7,64
	kontrol	,20	1,55	,899	-3,04	3,44
	1/20	-6,00*	1,55	,001	-9,24	-2,76
	1/40	-2,00	1,55	,212	-5,24	1,24
1/80	1/160	2,40	1,55	,138	-,84	5,64
	kontrol	,20	1,55	,899	-3,04	3,44
	1/20	-6,00*	1,55	,001	-9,24	-2,76
	1/40	-2,00	1,55	,212	-5,24	1,24
	1/80	2,40	1,55	,138	-,84	5,64
1/160	kontrol	-2,20	1,55	,172	-5,44	1,04
	1/20	-8,40*	1,55	,000	-11,64	-5,16
	1/40	-4,40*	1,55	,010	-7,64	-1,16
	1/80	-2,40	1,55	,138	-5,64	,84
	1/160	-2,40	1,55	,138	-5,64	,84

* The mean difference is significant at the .05 level

Lampiran 22 Jumlah corpus luteum kambing setelah disuntik dengan anti-androstenedione

ULANGAN	PERLAKUAN		
	P0	P1	P2
Kambing-1	3	3	5
Kambing-2	3	4	4
Kambing-3	2	4	5
Kambing-4	4	4	4
Kambing-5	2	3	5
Kambing-6	2	5	5
Kambing-7	3	4	4

Lampiran 23. Analisis statistik jumlah corpus luteum kambing setelah pemberian antibodi anti androstenedione

Oneway

Descriptives

	N	Mean	S.D.	S.E.	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol ^a	7	2,71	,76	,29	2,52	3,41	2	4
1 ml ^a	7	3,86	,69	,26	3,22	4,50	3	5
2 ml ^a	7	4,43	,53	,20	3,93	4,92	4	5
Total	21	3,67	,97	,21	3,23	4,11	2	5

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10,667	2	5,333	12,600	,000
Within Groups	8,000	18	,444		
Total	18,667	20			

Post Hoc Test

Multiple Comparisons

LSD

(I) AA	(J) AA	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Interval Confidence	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol	1 ml	-1,14*	,36	,005	-1,89	-,39
	2 ml	-1,71*	,36	,000	-2,46	-,97
1 ml	kontrol	1,14*	,36	,005	,39	1,89
	2 ml	-,57	,36	,126	-1,32	,18
2 ml	kontrol	1,71*	,36	,000	,97	2,46
	1 ml	,57	,36	,126	-,18	1,32

* The mean difference is significant at the .05 level

**PEMBENTUKAN ANTI-ANDROSTENEDIONE SETELAH
PENYUNTIKAN ANDROSTENEDIONE 7 α -BSA
PADA KELINCI (*Oryctolagus cuniculus*)**

oleh :

RINI NILAMSARI
NIM 069812498

Menyetujui

Komisi Pembimbing



(Dr. Bambang Poerwanto S., M.Sc., Drh.)

Pembimbing Pertama



(Abdul Samik, M.Sc., Dra.)

Pembimbing Kedua

**PEMBENTUKAN ANTI- ANDROSTENEDIONE SETELAH
PENYUNTIKAN ANDROSTENEDIONE 7 α - BSA
PADA KELINCI (*Oryctolagus cuniculus*)**

Rani Niamsari

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan waktu mulai munculnya anti- Androstenedione lar hiter tertinggi yang diperoleh setelah penyuntikan Androstenedione 7 α - BSA pada kelinci dengan dosis 200 μ g dalam satu kali penyuntikan. Penyuntikan Androstenedione 7 α - BSA pada kelinci dilakukan secara sub kutan dengan menggunakan *Freund's Adjuvant Complete*. Pada minggu pertama sampai keenam dilakukan pengamatan darah dan setelah dilakukan uji ELISA ternyata memberikan hasil yang positif.

Dalam pembuatan antibodi anti - Androstenedione, digunakan enam ekor kelinci jantan strain New Zealand. Satu ekor kelinci sebagai kontrol, tanpa mendapat suntikan Androstenedione 7 α - BSA dan lima ekor kelinci sebagai perlakuan yang disuntik dengan 200 μ g Androstenedione 7 α - BSA dalam pelarut *Freund's Complete* pada minggu ke - 0.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari semua kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang nyata dengan kontrol ($P < 0,05$). Setelah dilakukan uji ANOVA ternyata antar perlakuan tidak berbeda nyata tetapi berbeda nyata dengan kontrol.

Ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan waktu mulai munculnya anti Androstenedione sedangkan hiter tertinggi anti - Androstenedione terdapat perbedaan yang nyata pada minggu pertama, keempat, kelima dan keenam. Sedangkan pada minggu kedua dan ketiga tidak terdapat perbedaan yang nyata.

**EFEKTIVITAS PEMBERIAN ANTI-ANDROSTENEDIONE
TERHADAP PEROLEHAN SEL TELUR MENCIT
(*Mus musculus*)**



(Rr. Sri Pantja Madyawati, M.Si., drh.)
Pembimbing Pertama

(Wiójuati, M.Si., drh.)
Pembimbing Kedua

**EFEKTIVITAS PEMBERIAN ANTI-ANDROSTENEDIONE
TERHADAP PEROLEHAN SEL TELUR MENCIT
(*Mus musculus*)**

DINI MARMANSARI

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui pengaruh penyuntikan anti-androstenedione terhadap efektivitas perolehan sel telur pada mencit serta mendukung perbaikan fertilitas dengan menyediakan embrio yang fertil dan siap untuk dilakukan transfer pada hewan resipien. Anti-androstenedione merupakan preparat hormon yang didapatkan dengan cara melakukan imersasi antigen yang berupa Androstenedione yang dilarutkan dengan pelarut Freund's pada hewan coba kelinci lokal.

Sebanyak 25 ekor mencit betina strain Balb/C yang pernah beranak, diberikan perlakuan berupa penyuntikan anti-androstenedione dosis 0,1 ml secara sub kutan, pada mencit betina pada fase antara proestras dan estrus. Pengenceran yang diberikan dibedakan menjadi lima kelompok, yaitu 1:20, 1:40, 1:80, 1:60, dan kontrol dimana mencit hanya disuntik dengan NaCl fisiologis. Setiap kelompok pengenceran dan kontrol terdiri dari lima ekor mencit yang siap untuk dikawinkan dengan pejantan pseudo kastrasi secara individu. Mencit betina yang telah dikawin oleh pejantan pseudo kastrasi, empat jam sesudahnya kemudian dibedah dan dilakukan *flushing* sel telur. Pengamatan/ penghitungan langsung dilakukan dibawah Mikroskop Differential Interferon Contrast (DIC) dengan perbesaran 400X guna mendapatkan hasil yang diharapkan.

Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan menggunakan ANOVA dan dilanjutkan dengan Uji BNT. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penyuntikan anti-androstenedione 0,1 ml pada pengenceran 1:20 dan 1:40 dapat meningkatkan jumlah sel telur yang divulasikan, sedangkan penyuntikan anti-androstenedione pada pengenceran 1:20 merupakan pengenceran terbaik yang memberikan respon tertinggi terhadap peningkatan jumlah sel telur.

Kata Kunci : Anti-androstenedione, Mencit, Sel Telur

Di bayar oleh Proyek DUF-Like Bacth III

**PENGARUH ANTI-ANDROSTENEDIONE
TERHADAP PEROLEHAN ZYGOT MENCI' (*mus musculus*)**

OLEH

BAGUS NANANG LUWITO
NIM 069812549



Menyetujui

Komisi pembimbing

(Prof. Dr. Sarmanu, M.S., Drh)
Pembimbing Pertama

(Rr. Sri Pantja Madyawati, M.Si., Drh)
Pembimbing Kedua

**EFEKTIVITAS PEMBERIAN ANTI-ANDROSTENEDIONE
TERHADAP PEROLEHAN ZYGOT MENCIT
(*Mus musculus*)**

BAGUS NANANG LUWITO

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui pengaruh penyuntikan anti-androstenedione terhadap perolehan zygot pada mencit. Anti-androstenedione merupakan preparat hormon yang didapatkan dengan cara melakukan imunisasi antigen yang berupa Androstenedione yang dilarutkan pada pelarut 1 reagent's pada hewan coba kelinci lokal.

Sebanyak 25 ekor mencit betina strain Balb/C yang pernah beranak diberikan perlakuan berupa penyuntikan anti-androstenedione dosis 0,1 ml secara subkutan, pada mencit betina pada fase antara proestrus dan estrus. Pengenceran yang diberikan dibedakan menjadi lima kelompok, yaitu 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, dan kontrol, dimana kontrol ini adalah mencit hanya disuntik dengan NaCl fisiologis. Setiap kelompok pengenceran dan kontrol terdiri dari lima ekor mencit yang siap untuk dikawinkan dengan pejantan normal secara individu setelah diberi perlakuan. Mencit betina yang telah dikawin oleh pejantan normal empat jam sesudahnya kemudian dibedah dan dilakukan *flushing* untuk pemanenan zygot. Pengamatan serta penghitungan langsung dilakukan dibawah Mikroskop Differential Interferon Contrast (DIC) dengan perbesaran 400X guna mendapatkan hasil yang diharapkan.

Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan menggunakan ANOVA dan dilanjutkan dengan Uji BNT. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penyuntikan anti-androstenedione 0,1 ml pada pengenceran 1:20 dan 1:40 dapat meningkatkan jumlah zygot. Sedangkan penyuntikan anti-androstenedione pada pengenceran 1:20 merupakan pengenceran terbaik yang memberikan respon tertinggi terhadap peningkatan jumlah zygot.

Kata Kunci : Anti-Androstenedione ; Mencit ; Jumlah Zygot

Dibiayai oleh Proyek DUE-Like Baeth III

**EFEKTIVITAS PEMBERIAN ANTI- ANDROSTENEDIONE TERHADAP
PEROLEHAN JUMLAH ANAK MENCIT (*Mus musculus*)**

Endah Kusumawati
069812586



Mengetahui,
Komisi Pembimbing

Dr. Ismudiono, M. S., Drh.

(Pembimbing Pertama)

Hastuti Endah Natumi, M. P., Drh.

(Pembimbing Kedua)

EFEKTIFITAS PEMBERIAN ANTI-ANDROSTENEDIONE TERHADAP PEROLEHAN JUMLAH ANAK MENCIT (*Mus musculus*)

Endah Kusumawati

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perolehan jumlah anak mencit (*Mus musculus*) yang dihasilkan setelah pemberian anti - Androstenedione .

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit betina berjumlah 25 ekor dan mencit jantan berjumlah 10 ekor yang berguna untuk mengawini betina setelah penyuntikan anti - Androstenedione . Mencit yang digunakan berasal dari strain Balb / C dan berumur sekitar 2 bulan. Mencit dikelompokkan secara acak menjadi lima perlakuan dengan masing - masing perlakuan mendapat lima ulangan. Rancangan Percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (*Complete Randomized Design*). Data dianalisis dengan Analisis Ragam yang dilanjutkan dengan Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)

Sebelum melakukan penelitian ini, terlebih dahulu dilakukan *smear* vagina di bawah mikroskop untuk melihat fase folikuler (estrus & metestrus). Setelah didapatkan fase folikuler kemudian dilakukan penyuntikan anti - Androstenedione 0,1 ml dengan pengenceran masing-masing 1 / 20, 1 / 40, 1 / 80, 1 / 160 Untuk kontrol disuntik NaCl fisiologis 0,1 ml , setelah itu 1 betina dikawinkan dengan 1 pejantan. Satu minggu pejantan dipisah dan pada yang betina diamati adanya *vaginal plug* , sebagai tanda bahwa mencit itu sudah kawin dan bunting . Setelah 21 hari diamati mencit yang sudah bunting dan siap melahirkan kemudian dihitung jumlah anaknya.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian anti - Androstenedione sangat berpengaruh terhadap perolehan jumlah anak mencit terutama pengenceran 1 / 20 pada fase folikuler.

**PERBAIKAN FERTILITAS KAMBING LOKAL
DENGAN PEMBERIAN ANTI- ANDROSTENEDIONE**

OLEH :

SUPRIYANTO

NIM. 060032841

Menyetujui :

Komisi Pembimbing



(Rr. Sri Pantja Madyawati, M.Si., Drh.)

Pembimbing Pertama



(Widjiati, M.Si., Drh.)

Pembimbing Kedua

PERBAIKAN FERTILITAS KAMBING LOKAL DENGAN PEMBERIAN ANTI-ANDROSTENEDIONE

Supriyanto

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian anti-androstenedione terhadap jumlah korpus luteum kambing betina lokal. Masing-masing perlakuan tersebut dilakukan pengujian untuk mengetahui perbedaan antara kelompok perlakuan kontrol dan kelompok perlakuan maupun antara perlakuan satu dan dua.

Kambing betina lokal sebanyak 21 ekor secara acak dibagi menjadi tiga kelompok, masing-masing kelompok 7 ekor kambing. Kelompok pertama sebagai kontrol (P0), kelompok kedua dengan perlakuan pemberian anti-androstenedione dosis 1 ml (P1), kelompok ketiga dengan perlakuan pemberian anti-androstenedione dosis 2 ml (P2). Penelitian ini dilaksanakan di Terasan Ternak Pendidikan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Hasil penelitian didapatkan rata-rata jumlah korpus luteum P0 = 2,71 ± 0,29 ; P1 = 3,86 ± 0,69 ; P2 = 4,43 ± 0,53. Setelah itu dianalisa dengan uji Anova dan dilanjutkan dengan uji BNT 5 % apabila ada perbedaan yang sangat nyata dan signifikan. Hasil uji Anova menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang sangat nyata antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol pada taraf signifikan 0,01 ($p < 0,01$). Setelah dilakukan uji BNT 5 % menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan antara Perlakuan dua (P2) dan Perlakuan satu (P1). Dari hasil perhitungan dan analisa statistik tersebut dapat disimpulkan bahwa perlakuan dengan pemberian anti-androstenedione dapat berpengaruh terhadap peningkatan jumlah korpus luteum kambing betina lokal.

Kata kunci : Antibodi poliklonal anti-androstenedione, kambing lokal, korpus luteum.

Dibiayai oleh Hibah Due Like Batch III