

SKRIPSI

**PENGARUH PERBEDAAN SELANG WAKTU PEMBERIAN
EKSTRAK DAUN API-API (*Avicennia marina*)
TERHADAP FERTILITAS MENCIT JANTAN**



OLEH :

Miranti Candrarisna


SURABAYA - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1996**

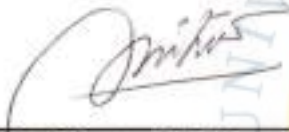
Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh - sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar

SARJANA KEDOKTERAN HEWAN


Menyetujui,
Panitia Penguji,



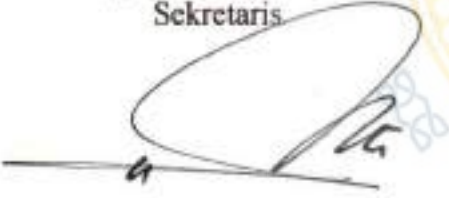
Dr. Sri Agus Sudjarwo, M.S., Drh
Ketua




Poedji Sianto, M. Kes., Drh
Sekretaris



Dr. Diah Kusumawati, SU., Drh
Anggota




Dr. Hardijanto, M.S., Drh
Anggota



Didik Handijatno, M.S., Drh
Anggota

Surabaya, 20 Agustus 1996
Fakultas Kedokteran hewan
Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Dr. H. Rochiman Sasmita, M.S., Drh
NIP. 130 350 730

**PENGARUH PERBEDAAN SELANG WAKTU PEMBERIAN
EKSTRAK DAUN API-API (*Avicennia marina*)
TERHADAP FERTILITAS MENCIT JANTAN**

Miranti Candrarisna

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan selang waktu pemberian ekstrak daun Api-api (*Avicennia marina*) terhadap fertilitas mencit jantan. Pengukuran berdasarkan angka kebuntingan dan jumlah fetus yang dikandung mencit betina normal (tanpa perlakuan) selama satu periode kebuntingan (19-20 hari) setelah dikawinkan dengan mencit jantan.

Penelitian ini menggunakan 25 ekor mencit jantan varietas albino Jerman yang berumur 14 minggu dalam keadaan sehat dengan berat badan antara 20 - 30 gram. Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima kelompok perlakuan dan lima ulangan. Analisis data dengan menggunakan sidik ragam yang dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Ekstrak daun Api-api diberikan secara per oral dengan dosis 0,3 g / kg berat badan setiap kali selama 36 hari. Kelompok P_0 sebagai kelompok kontrol, kelompok P_1 pemberian ekstrak daun Api-api sembilan hari sekali, kelompok P_2 setiap enam hari sekali, kelompok P_3 setiap tiga hari sekali dan P_4 setiap hari. Kemudian mencit jantan perlakuan dikawinkan dengan mencit betina normal (tanpa perlakuan) dengan metode monogami (*Monogamous pair mating*) untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun Api-api dengan selang waktu tertentu terhadap fertilitas mencit jantan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun Api-api dengan selang waktu tertentu pada mencit jantan menyebabkan penurunan angka kebuntingan mencit betina normal ($p < 0,05$) dari 100 % (kelompok P_0 , P_1 dan P_2) menjadi 20 % (kelompok P_3) dan 0 % (kelompok P_4). Sedangkan hasil jumlah fetus terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$) yaitu : 2,94 (kontrol), 2,526 (P_1), 2,335 (P_2), 0,942 (P_3) dan 0,710 (P_4). Berdasarkan penelitian disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun Api api dengan selang waktu tiga hari sekali sudah berpengaruh terhadap fertilitas mencit jantan sehingga menyebabkan penurunan angka kebuntingan dan rata-rata jumlah fetus yang dikandung mencit betina.

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan rahmatNya, maka penulisan hasil penelitian ini dapat diselesaikan .

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dari berbagai pihak maka penelitian ini tidak akan berhasil diselesaikan, sehingga penulis dengan rasa hormat menyampaikan terima kasih kepada : Bapak Dr. Hardijanto, M.S. , Drh selaku dosen pembimbing pertama dan Bapak Didik Handijatno, M.S. , Drh. selaku dosen pembimbing kedua , dengan ketulusan hati telah bersedia memberi bimbingan, saran dan nasihat yang berguna dalam penyusunan makalah ini.

Demikian pula penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas bantuan dan kesempatan yang diberikan kepada penulis sehingga terselesaikan penelitian ini. Tidak lupa penulis ucapkan terima kasih kepada Bapak Dr. Gde Astika, M.S. , Drs yang telah banyak memberikan informasi dan bantuan dalam pelaksanaan penelitian ini. Kepada Ayah, Ibu, seluruh anggota keluarga, dan teman-teman semua, terutama buat seseorang yang teristimewa, rasa terima kasih penulis sampaikan atas dorongan semangat dan dukungan doa selama pelaksanaan penelitian hingga terselesaikannya penyusunan makalah ini.

Penulis berharap semoga penulisan makalah hasil penelitian ini bermanfaat bagi yang memerlukan. Akhirnya penulis menyadari bahwa penulisan ini masih banyak terdapat kekurangan. Oleh karena itu jika ada kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan makalah ini sangat penulis harapkan.

Surabaya, Agustus 1996

Penulis



DAFTAR ISI

	halaman
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB I : PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Permasalahan	1
1.2. Perumusan Masalah	3
1.3. Tujuan	4
1.4. Hipotesis	4
1.5. Manfaat	5
BAB II : TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Tumbuhan Api-Api	6
2.1.1. Morfologi Tumbuhan Api-Api	6
2.1.2. Manfaat Tanaman Api-Api Dalam Kehidupan	
Sehari-hari	8
2.1.3. Zat-zat yang Terkandung dalam Tumbuhan	
Api-Api	10
2.1.4. Mekanisme Fisiologi Kandungan Tumbuhan	
Api-Api	11

2.2. Alat Reproduksi Ternak Jantan	14
2.2.1. Anatomi dan Fisiologi Alat Kelamin Mencit Jantan ..	14
2.2.2. Proses Spermatogenesis	17
2.2.3. Fisiologi Reproduksi Mencit Jantan	19
2.2.4. Fisiologi Reproduksi Mencit Betina	19
BAB III : MATERI DAN METODE PENELITIAN	21
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	21
3.2. Materi Penelitian	21
3.2.1. Hewan Percobaan	21
3.2.2. Bahan Penelitian	21
3.2.3. Alat Penelitian	22
3.3. Metode Penelitian	23
3.3.1. Persiapan Hewan Percobaan	23
3.3.2. Perlakuan Hewan Percobaan	23
3.3.2.1. Perlakuan Terhadap Mencit Jantan	23
3.3.2.2. Perlakuan Terhadap Mencit Betina	24
3.3.3. Perhitungan Angka Kebuntingan dan Jumlah Fetus ...	25
3.3.4. Rancangan Penelitian dan Analisis Data	25
BAB IV : HASIL PENELITIAN	27
4.1. Angka Kebuntingan Mencit Betina	27

4.2. Jumlah Fetus yang Dikandung Mencit Betina Hasil Perkawinan dengan Mencit Jantan Perlakuan	28
BAB V : PEMBAHASAN	32
BAB VI : KESIMPULAN	39
6.1. Kesimpulan	39
6.2. Saran	39
RINGKASAN	41
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	47



DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Angka Kebuntingan pada Mencit Betina Normal Setelah Dikawinkan Mencit Jantan Perlakuan	27
2. Jumlah Fetus yang Dikandung Mencit Betina Normal dalam Satu Periode Kebuntingan (selama 19 - 21 hari)	28



DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Tumbuhan Api-api pada habitatnya	7
2. Daun Tumbuhan Api-api	8
3. Sel Epithel Vagina (Sediaan Hapus Vagina) pada kelompok Mencit Betina tidak bunting	29
4. Sel Epithel Vagina (Sediaan Hapus Vagina) pada kelompok Mencit Betina Bunting	30
5. Sel Epithel Vagina (Sediaan Hapus Vagina) pada kelompok Mencit Betina Bunting dengan pembesaran 1000 x	30
6. Hasil pengamatan terhadap Jumlah Fetus yang dikandung Mencit Betina	31
7. Skema Mekanisme Kerja Lupeol	36
8. Skema Mekanisme Kerja Triterpena dan Lupeol	37

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Analisis Data Pengaruh Perbedaan Selang Waktu Pemberian Ekstrak Daun Api-Api terhadap Angka Kebuntingan Hasil Perkawinan Mencit Betina dengan Mencit Jantan Perlakuan (Uji Khi-Kuadrat).....	47
2. Evaluasi Statistik Jumlah Fetus yang Dikandung Mencit Betina Normal Hasil Perkawinan dengan Mencit Jantan Perlakuan.....	49
3. Pembuatan Ekstrak Daun Api-api.....	54
4. Pembuatan Preparat Ulas Vagina dengan Pewarnaan Giemsa	55



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Permasalahan

Pemenuhan sumber protein hewani dari tahun ke tahun semakin meningkat sejalan dengan peningkatan jumlah penduduk. Pemerintah selalu berusaha untuk meningkatkan produktivitas di bidang peternakan baik meliputi kualitas maupun kuantitas sehingga dapat untuk memenuhi kebutuhan pangan dan gizi tersebut. Hal ini selalu dicantumkan pemerintah dalam Rencana Pembangunan Lima Tahun di Indonesia.

Usaha untuk meningkatkan kuantitas dan kualitas ternak mutlak diperlukan upaya perbaikan mutu genetik melalui penyediaan dan penyebaran bibit unggul, terutama pejantan unggul. Ternak unggul dapat diperoleh dengan berbagai cara diantaranya dengan metode kawin suntik yang disertai program penentuan calon pejantan.

Perbaikan mutu dan kualitas ternak dapat dicapai dengan seleksi yang ketat, yaitu dengan cara kastrasi atau kebiri yang sering diterapkan pada ternak jantan yang tidak unggul. Sedangkan menurut Laksman (1991) kastrasi adalah suatu upaya untuk pengelibiran atau menghilangkan kelenjar kelamin sebagai penghasil sel spermatozoa / sel bibit. Dengan kastrasi umumnya seekor pejantan sudah tidak dapat menghasilkan

sel bibit dan tidak lagi mempunyai kemampuan untuk dapat membuahi ternak betina, sehingga diharapkan menyebarnya keturunan ternak yang kurang baik tersebut dapat dihindarkan. Menurut Partodiharjo (1982) pada ternak yang dikastrasi akan terjadi peningkatan berat badan sebagai akibat pertambahan timbunan lemak dan air. Kastrasi mengakibatkan perilaku ternak lebih tenang, kurang aktif, dan akan cepat bertambah berat badannya (Budiyatno dan Zaelani, 1977). Selain itu kastrasi bisa dijadikan salah satu upaya untuk meningkatkan kualitas dan kuantitas daging yang lebih baik daripada ternak yang tidak dikastrasi (Kimball, 1988). Selain dengan tindakan kastrasi, upaya membuat ternak menjadi infertil ataupun majir dapat dilakukan dengan cara pemberian bahan-bahan kimiawi maupun obat-obatan yang dapat menghambat atau menghentikan produksi sel mani / sel bibit. Bahan-bahan kimiawi sebagai antifertilitas dapat diperoleh secara tradisional maupun modern. Di berbagai daerah di Indonesia, telah dilaporkan pemakaian obat tradisional untuk kontrasepsi (Sutarjadi, 1983). Salah satu bahan antifertilitas tradisional yang telah lama dikenal adalah tumbuhan Api-api yang telah dibuat ekstrak.

Kandungan aktif yang terdapat di dalam ekstrak tumbuhan Api-api ini mempunyai target pada membran sel, sehingga dapat mengakibatkan terhentinya proses oogenesis ataupun spermatogenesis dalam jaringan gonad (Astika, 1989 dan Setyabudi, 1991). Bahan aktif ini tidak menimbulkan efek samping yang merugikan bila digunakan pada pemakaian dosis yang tepat (Perry, 1980 ; Sastrowardoyo, 1991 ; Soedarso, 1991 ; Suparto, dkk. 1991).

Ekstrak getah Api - api ternyata mampu menghambat perkembangan sel telur pada wanita maupun hewan betina untuk tujuan sterilisasi dan pengendalian kelahiran (Burkill, 1935 ; Harris, 1988 ; Heyne, 1978). Selain itu ekstrak getah Api-api lebih aman dan berpotensi untuk menghambat dan mencegah proses spermatogenesis pada mencit jantan yang berarti dapat juga dipakai untuk upaya sterilisasi pada hewan jantan (Setyabudi, 1991).

Menurut Setyabudi (1991) pemberian ekstrak getah Api-api secara peroral hanya menimbulkan sterilitas sementara pada hewan jantan ataupun hewan betina dengan dosis 0,1 - 1 g/kg berat badan dan 0,3 g/kg berat badan merupakan dosis optimum. Sedangkan pemberian ekstrak tumbuhan Api-api secara peroral dengan dosis 0,3 g/kg berat badan ternyata mampu menghambat proses spermatogenesis pada mencit jantan (Christsetyani, 1995). Perbedaan selang waktu pemberian ekstrak daun Api-api dalam penelitian tersebut merupakan salah satu upaya menghindari kemungkinan terjadinya stress pada hewan coba dan efisiensi pemberian bahan obat.

1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan landasan pemikiran tersebut di atas, dapat timbul permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah benar pemberian ekstrak daun Api-api secara peroral dengan selang waktu berbeda dapat mencegah kemungkinan terjadinya stress yang dapat mengurangi nafsu makan, aktivitas dan tingkah laku pada mencit jantan ?

2. Apakah benar efektifitas ekstrak daun Api-api yang diberikan peroral secara kontinyu pada selang waktu tertentu kemungkinan dapat memberikan pengaruh yang berarti dengan maksud agar mencit jantan tersebut menjadi steril atau majir, sehingga dapat mengurangi angka kebuntingan dan jumlah fetus yang dikandung mencit betina normal (tanpa perlakuan) yang telah dikawininya ?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

Untuk mengetahui selang waktu yang baik dan efisien dari pemberian ekstrak daun Api-api yang dilakukan secara peroral pada pemakaian dosis yang sama sehingga dapat menimbulkan sterilitas pada mencit jantan yang dikawinkan dengan mencit betina normal (tanpa diberikan perlakuan)

1.4. Hipotesis

Pada penelitian ini dapat dikemukakan hipotesis :

Pemberian Ekstrak Daun Api-api secara peroral pada mencit jantan dengan selang waktu yang berbeda dapat mengurangi angka kebuntingan dan jumlah fetus pada mencit betina normal (tanpa diberikan perlakuan) yang telah dikawininya.

1.5. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang kemungkinan penggunaan Ekstrak Daun Api-api sebagai bahan baku obat kontrasepsi yang tidak menimbulkan efek samping negatif bila digunakan dalam program pemuliaan ternak, sehingga program pemerintah dalam meningkatkan perbaikan kualitas dan kuantitas ternak akan tercapai.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tumbuhan Api-api

2.1.1. Morfologi Tumbuhan Api-api

Tumbuhan Api-api termasuk divisio *Spermatophyta* ; sub divisio *Angiospermae* ; class *Dycotyledonae* ; familia *Verbanaceae* ; species *Avicennia marina* (Steenis et al., 1992). Di Pulau Jawa dikenal dengan nama tumbuhan Api - api.

Negara Indonesia merupakan negara kepulauan yang mempunyai hutan bakau seluas 2.500 ha. Tumbuhan Api-api adalah salah satu pendukung hutan bakau tersebut (Sri Margono, 1972). Tumbuhan yang berasal dari hutan bakau ini, tingginya mencapai lebih dari 14 m bahkan kadang-kadang mencapai 23 m.

Menurut Steenis, et al. (1992) bagian kayu tumbuhan ini keras, agak berat, berwarna abu-abu pucat, serta terasnya berwarna coklat kehijauan sampai lembayung. Daun tumbuhan ini letaknya berhadapan, berbentuk ellips, jorong, bulat telur terbalik, berujung tumpul dan berbentuk baji. Permukaan daun rata serupa belulang, sisi atas mengkilat, sedangkan sisi bawah berwarna hijau pucat. Warna bunga kuning, dengan penampang 0,5 cm. Warna kelopak hijau pucat, pendek, dan terbagi 5-6 bagian. Tabung mahkota bunganya lebar, berbentuk

silinder, dan sisi bagian dalam tidak berambut. Benang sari berjumlah empat buah, tangkai sari sangat pendek dan berwarna kuning. Tangkai putik berambut dan kepala putik berbentuk melengkung (Steenis et al., 1992). Buah tumbuhan ini bergantungan dan bergerombol dua sampai empat, gepeng, miring dengan puncak kecil, diselubungi selaput hijau kelabu seperti wol (Heyne, 1950).



Gambar 1. Tumbuhan Api-api (*Avicennia marina*) pada habitatnya



Gambar 2. Daun Tumbuhan Api-api (*Avicennia marina*)

2.1.2. Manfaat Tanaman Api - Api Dalam Kehidupan Sehari-hari

Tanaman Api-api banyak bermanfaat dalam kehidupan sehari-hari, terutama bagi penduduk di sekitar hutan bakau tersebut. Selain berfungsi mencegah pengikisan air laut (abrasi), masing-masing bagian tanaman ini memiliki manfaat tersendiri. Kayu tumbuhan Api-api sebagai kayu bakar untuk mengasapi ikan, karena memberikan bau sedap, juga untuk menumbuk padi. Setelah biji bersih dari kulitnya, direndam semalam dan dimasak, dapat dimakan sebagai pengganti nasi (Heyne, 1950). Menurut Burkill (1935) yang dikutip Astika (1989), bagian daun dapat sebagai bahan pakan ternak di daerah pantai. Sedangkan getah dari kulit batang/damar yang berbau khas dan berasa pahit dimanfaatkan untuk obat

sakit gigi dan obat pencegah kehamilan yaitu dengan dosis 200-300 mg yang diminumkan setiap sebulan sekali ternyata dapat mempengaruhi kehamilan, siklus haid, dan tekanan darah. Pemberian getah Api-api pada sebagian kecil peserta keluarga berencana menimbulkan pusing, gatal, sakit perut, dan darah putih, serta mempengaruhi penambahan berat badan sebagian besar peserta keluarga berencana tersebut (Suparto, dkk 1991).

Cara pemakaian damar berbeda di berbagai daerah, antara lain : di Jawa Barat pemakaiannya dimakan bersama buah pisang (Heyne, 1950) ; di Madura pemakaiannya dengan cara diminum teratur (Haris, 1988) ; juga di Malaysia pemakaiannya dengan dicampur sari nanas muda (Astika, 1989). Penggunaan ini sudah lama dilakukan dan tidak menimbulkan efek samping yang merugikan pada dosis yang tepat (Perry, 1980). Pendapat ini didukung oleh Soedarso (1991) setelah menguji dengan analisa urin, uji hematologi dan histopatologi hati pada mencit betina.

Menurut Sastrowardoyo (1991) efek farmakologis getah Api-api menunjukkan sebagai antifertilitas dapat memperpendek fase estrus, dan menurunkan produksi hormon GnRH. Meskipun getah Api-api kurang menimbulkan toksisitas akut, pemakaian dalam jangka waktu panjang menyebabkan degenerasi hati dan ginjal, dan pada pemakaian dosis yang besar menimbulkan teratogenik dan embriotoksik.

Pemberian ekstrak buah Api-api dengan dosis 0,1-1 g/kg berat badan selama 42 hari dapat menghambat proses spermatogenesis pada mencit jantan (Setyabudi dan Soehadi, 1991). Sedangkan pemberian ekstrak daun Api-api dengan dosis 0,3 g/kg berat badan selama 36 hari ternyata dapat mempengaruhi proses spermatogenesis, sehingga terjadi penurunan jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit primer dan sel spermatozoa pada gambaran histologi testis mencit (Christsetiani, 1995)

2.1.3. Zat-Zat yang Terkandung dalam Tumbuhan Api-Api

Berdasarkan hasil isolasi dan identifikasi yang telah dilakukan, kandungan aktif dalam kulit batang tumbuhan Api-api adalah suatu glikosida yang sapogeninnya identik dengan triterpena asam golongan amirin dan gugus gulanya identik dengan asam uronat. Kandungan aktif itu berkhasiat sebagai antifertilitas pada mencit betina. Teridentifikasinya lupeol, betulinaldehyde, betulin dan asam betulinat merupakan informasi tambahan tentang kandungan kulit batang tersebut (Astika, 1989).

Di dalam tumbuhan Api-api, senyawa triterpena terdapat pada getah, buah, daun, dan kulit batang / damar. Senyawa triterpena merupakan senyawa hasil biosintesis hidrokarbon squalena yang terdiri dari rantai karbon berupa enam unit isoprena dengan struktur siklik yang relatif kompleks, dan sebagian besar merupakan senyawa alkohol, aldehyde, atau asam karboksilat, serta dikenal juga memiliki rasa pahit, misalnya limonin dan kukurbitasin (Harborne, 1973).

Senyawa-senyawa ini berkemampuan menghentikan pembelahan sel telur dan menghambat fase blastosis landak laut (Das dan Sashi, 1983).

Dalam tumbuhan Api-api, senyawa bebas triterpena dapat sebagai senyawa yang terikat yaitu sebagai saponin (Santos dkk, 1978), dimana triterpena merupakan senyawa pentasiklik yang mengikat unit gula atau asam uronat (Trease, 1978). Lupeol, betulin, dan betulinaldehide adalah hasil reaksi biogenesis asam betulinat (Astika, 1989).

Tidak kurang 500 jenis tumbuhan, termasuk tumbuhan dari famili *Verbenaceae* mengandung saponin yang banyak terdapat pada akar, batang, biji, bahkan mungkin pada seluruh bagian tumbuhan (Basu dan Rastogi, 1967).

Diketahui ada tumbuhan yang mengandung saponin yang di dalamnya terdapat sapogenin yang merupakan turunan asam oleanolat yang berguna sebagai obat antifertilitas, misalnya *Ilex cornuata* di Cina (Weyuan dkk, 1986) dan *Randia siamensis* di Thailand (Tovivich, 1984).

2.1.4. Mekanisme Fisiologi Kandungan Tumbuhan Api-api Sebagai Antifertilitas pada Hewan Jantan

Tumbuhan *Avicennia marina* yang dikenal dengan nama Api-api sudah lama digunakan kaum wanita sebagai obat antifertilitas yang pada umumnya tidak menimbulkan efek samping yang merugikan (Perry, 1991 ; Sastrowardoyo, 1991 ; Soedarso, 1991 ; Suparto, 1991). Zat-zat yang terkandung dalam tumbuhan

Api-api adalah triterpena, lupeol, betulin, betulinatdehide, dan asam betulinat (Astika, 1989).

Menurut Da Rocha et al. (1933) yang dikutip oleh Astika (1989) di dalam tubuh, lupeol merupakan senyawa yang bekerja dengan menekan susunan syaraf pusat mencit dan tikus sehingga dapat mengakibatkan gangguan pada jalur hipotalamus terutama pada hipofisa anterior yang selanjutnya mengakibatkan gangguan sekresi hormon *Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH)* yang berperan sebagai hormon pengatur sistem reproduksi pada hewan jantan dan betina.

Pada jantan *Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH)* terdiri dari *Folicle Stimulating Hormon (FSH)* dan *Interstitial Cell Stimulating Hormon (ICSH)*. *FSH* merangsang pertumbuhan *tubulus seminiferus* yang berfungsi sebagai tempat untuk dimulainya proses spermatogenesis (Peter, 1985). *FSH* juga merangsang pertumbuhan *sel sertoli* yang memberi nutrisi sel spermatozoa sampai sel spermatozoa dapat melepaskan diri ke dalam lumen tubulus. *FSH* mempermudah pembentukan protein mengikat androgen yang berperan dalam pengangkutan testosteron ke dalam tubulus seminiferus dan epididimis.

Mekanisme ini penting untuk mencapai kadar testosteron yang dibutuhkan untuk terjadinya spermatogenesis. Apabila *FSH* tidak ada karena terjadinya depresi susunan syaraf pusat oleh lupeol, maka produksi spermatozoa tidak terjadi. Sedangkan *ICSH* berfungsi menstimulir pertumbuhan *sel-sel interstitial* terutama *sel leydig* penghasil *Hormon testosteron*. *ICSH* bersama-sama dengan *testosteron* menstimulir pertumbuhan *sel-sel germinatif*. Selain itu fungsi hormon

testesteron adalah mempengaruhi pertumbuhan alat kelamin jantan, mengatur fungsi dari *epididimis*, *vas deferen*, dan *kelenjar asesoris* atau dikenal sebagai kelenjar tambahan ini mempunyai daya buffer tinggi, sehingga sel spermatozoa mempunyai daya hidup yang tinggi. Gangguan sekresi dan pembentukan *ICSH* sangat berpengaruh terhadap perkembangan alat kelamin sekunder pada hewan jantan. *ICSH* bersama-sama dengan *FSH* secara tidak langsung dapat berfungsi meningkatkan proses spermatogenesis dan sifat kejantanan pada seekor hewan jantan.

Apabila dilakukan kastrasi dengan ekstrak daun Api-api yang banyak mengandung lupeol, maka akan mengakibatkan penurunan aktivitas testis dan kelenjar asesoris, penurunan libido, dan peningkatan jumlah sel spermatozoa yang abnormal bentuknya karena adanya proses degenerasi *tubulus seminiferus* yang selanjutnya diikuti dengan penghentian produksi sel spermatozoa. Sedangkan di lain pihak, karena produksi *ICSH* menurun atau bahkan tidak ada, maka *sel leydig* tidak dapat menghasilkan hormon testosteron yang kemudian diikuti dengan menurunnya keinginan untuk mengawini hewan betina. Mengenai mekanisme kerja fisiologi glikosida triterpena yang terdapat dalam tumbuhan Api-api berdasarkan pada kemampuannya berinteraksi terutama berikatan dengan sterol membentuk ikatan kompleks dengan kolesterol yang terdapat dalam membran sel.

Membran yang mengelilingi sel bersifat semi permeabel. Susunan membran sel terdiri dari protein, lipid dan kolesterol/lemak . Berbagai jenis protein terdapat

dalam membran, dan tersebar secara acak pada permukaan luar dan dalam membran sel. Banyaknya kolesterol dan fosfolipid berbanding terbalik dengan jumlah cairan membran. Adanya ikatan kompleks triterpena dengan senyawa kolesterol dalam membran sel menyebabkan terjadinya perubahan perbandingan kolesterol dan fosfolipid dengan cairan membran sel, sehingga akan mengakibatkan kelainan-kelainan fungsi sel.

Diduga glikosida triterpena berpengaruh juga terhadap membran sel dan organel-organel sel termasuk inti sel yang pada akhirnya dapat menghambat atau meniadakan proses pembelahan *meiosis* yang seharusnya terjadi pada setiap sel *germinatip* (spermatosid dan oosit).

Pada sel kelamin terjadi pembelahan secara reduksi (*meiosis*). Hasil dari pembelahan *meiosis* berasal dari satu rantai *DNA* untuk tiap sel kelamin yang matang dan terbagi dua sama banyak yang masing-masing mengandung setengah jumlah bahan kromosom yang terdapat dalam sel somatik (*haploid*).

Pemakaian Api-api sebagai bahan antifertilitas akan mengakibatkan perubahan permeabilitas membran, sehingga akan mengakibatkan kelainan-kelainan fungsi sel, termasuk juga dalam proses replikasi *DNA* dan *RNA* sebagai pembawa sifat keturunan, yaitu pada saat terjadi pembelahan sel kelamin secara *meiosis*. Akibatnya spermatid tidak terbentuk sempurna, sehingga terjadi kegagalan proses pembentukan spermatozoa. Pada akhirnya akan menurunkan kemampuan sperma membuahi ovum.

2.2. Alat Reproduksi Ternak Jantan

2.2.1. Anatomi dan Fisiologi Alat Kelamin Mencit Jantan

Organ reproduksi pada hewan jantan terbagi menjadi empat bagian besar, tetapi umumnya mempunyai bentuk yang hampir sama. Beberapa organ reproduksi jantan yang penting antara lain terdiri dari sepasang *testis*, sepasang *vas deferen*, *kelenjar asesoris*, *uretra*, dan *penis*.

Fungsi fisiologi alat kelamin jantan dibagi menjadi alat kelamin primer dan alat kelamin sekunder. Testis adalah alat kelamin primer yang berfungsi untuk memproduksi sel spermatozoa dan hormon *androgen* yang berpengaruh pada fungsi reproduksi dan perilaku hewan (Partodiharjo, 1982).

Semasa embrional, testis dibentuk dekat ginjal, perkembangan selanjutnya testis bersama penggantungnya akan turun menuju kantung skrotum dengan melalui *kanalis inguinalis* yang disebut *Descensus testikulorum* (Purnomo, 1990).

Testis pada kebanyakan mamalia berada di dalam skrotum. Pada golongan rodensia, testis dapat dengan mudah berpindah-pindah dari dalam perut ke kantung skrotum. Hal ini terjadi pada musim kawin, sedang di luar musim kawin testis berada dalam rongga perut.

Kantung skrotum berfungsi untuk melindungi testis dari gangguan luar berupa pukulan, panas, dan dingin (Partodihardjo, 1982 ; Purnomo, 1990). Kantung skrotum terdiri dari beberapa lapisan, dari luar ke dalam berturut-turut

sebagai berikut, lapisan pertama adalah kulit yang diliputi oleh bulu-bulu dan kelenjar keringat di dalamnya. Lapisan kedua adalah *tunika dartos* yang terletak sangat rapat dengan kulit, dan berperan penting dalam mempertahankan suhu testis. Lapisan ketiga adalah *tunika vaginalis* yang mempunyai pelebaran sampai ke peritonium dari rongga perut. Sedangkan lapisan yang paling dalam dalam *tunika albuginea* atau lapisan tipis yang sering menempel pada dinding luar testis dan merupakan bagian dari testis (Hardijanto dan Hardjopranjoto, 1994).

Fungsi terpenting skrotum adalah menurunkan temperatur testis sampai tujuh derajat Fahrenheit di bawah temperatur tubuh hingga memungkinkan spermatogenesis secara sempurna (Partodihardjo, 1982). Selain itu menurut Tomaszewska, dkk (1991) sistem pembuluh darah testis yang membentuk anyaman *pleksus pampiniformis* sangat mendukung aliran darah pada jaringan testisnya tidak mengganggu perubahan suhu di dalam jaringan testis.

Testis terdiri dari beberapa bagian yaitu *tubulus seminiferus*, *tenunan pengikat* dan *sel interstitial* atau *sel leydig*. Tenunan pengikat mengandung darah, limfe, sel-sel syaraf dan sel-sel makropag. Di dalam *tubulus seminiferus* terdapat dua macam sel yang berbeda yaitu *sel sertoli* dan *sel germinatip*. *Sel sertoli* berfungsi memberi makan sel spermatozoa dan mempunyai kemampuan untuk memakan sel spermatozoa yang telah mati. Sel kecambah yang masih muda disebut *sel spermatogonia* yang nantinya akan mengalami proses spermatogenesis. Sedangkan *sel leydig* berfungsi untuk menghasilkan hormon *testosteron* (Hardjopranjoto, dkk 1981).

Fungsi testis diatur oleh hormon *gonadotropin* yang dihasilkan oleh kelenjar hipofisa anterior. Terdapat dua macam hormon *gonadotropin* yaitu *Folicle Stimulating Hormon (FSH)* dan *Interstitial Stimulating Hormon (ICSH)*. *Folicle Stimulating Hormon* akan merangsang pertumbuhan sel-sel *epitel germinatif* dan *tubulus seminiferus* dan mendorong proses spermatogenesis. *Interstitial Stimulating Hormon (ICSH)* akan merangsang pertumbuhan *sel leydig* untuk memproduksi hormon *testosteron* (Hardjopranjoto, dkk 1981).

Alat kelamin hewan jantan terdiri dari *vas deferen*, kelenjar asesoris, uretra, dan penis. Epididimis merupakan saluran berkelok-kelok dan berhubungan dengan testis melalui *vas eferen*. *Vas deferen* merupakan saluran penerus epididimis yang akan meninggalkan skrotum menuju rongga perut melalui *kanalis inguinalis*. Di dalam rongga perut *vas deferen* bergabung dengan uretra kemudian berakhir pada penis. Terdapat tiga kelenjar *asesoris* yaitu *kelenjar vesikula seminalis*, *kelenjar prostata*, dan *kelenjar bulbouretralis*. Kelenjar-kelenjar ini untuk setiap hewan mempunyai ukuran yang berbeda-beda. Cairan yang dihasilkan oleh kelenjar asesoris ini merupakan bagian yang terbesar dari cairan air mani dan banyak mengandung karbohidrat, protein, asam-asam amino, enzim-enzim, vitamin-vitamin yang larut dalam air, mineral-mineral, asam sitrat, dan bahan-bahan organik penting yang lain. Cairan asesoris ini mempunyai daya buffer yang tinggi untuk air mani yang mineral-mineral yang seimbang, sehingga sel spermatozoa yang ada dalam air mani mempunyai daya hidup yang cukup dan tahan lama (Purnomo, 1990).

Uretra yang membentang dari kelenjar ampul hingga ujung penis, selain berhubungan dengan vas deferens juga berhubungan dengan kandung kemih. Selain bermanfaat untuk menyalurkan produk urin, juga berfungsi sebagai alat transportasi air mani dari kelenjar ampula dan kelenjar aksesoris sampai ditumpahkan di dalam alat kelamin betina pada saat kopulasi. Letak penis di depan anus dan bagian yang paling peka adalah bagian kepala yang disebut *gland penis*. Pada saat penis berada dalam keadaan tidak ereksi bagian kepala tertutup kulit atau *preputium*, tetapi bila sedang ereksi *preputium* akan tertarik ke belakang (Dhami, 1982).

2.2.2. Proses Spermatogenesis

Sel-sel spermatozoa dibuat pada *tubulus seminiferus*. Sel spermatozoa berkembang dari sel spermatogonia dari *epitel germinativum tubulus seminiferus* yang berkembang dengan jalan pembelahan. Menurut Purnomo (1990), proses spermatogenesis pada hewan mamalia dibagi menjadi empat tahap yaitu tahap proliferasi, tahap pertumbuhan, tahap pematangan dan tahap transformasi.

Tahap proliferasi terjadi sebelum lahir sampai beberapa waktu setelah lahir. Bakal sel kelamin yang terletak pada membran basal dari *tubulus seminiferus* melepaskan diri dan membelah secara mitosis sampai berubah menjadi sel spermatogonia. Pada saat pertumbuhan sel spermatogonia membelah diri secara *mitosis* sebanyak empat kali sehingga dihasilkan 16 spermatisit primer.

Tahap pematangan merupakan tahap pembelahan miosis sehingga sel spermatosit primer menjadi sel spermatosit sekunder. Jumlah kromosomnya menjadi setengahnya dan beberapa jam kemudian akan berubah menjadi spermatid. Sel ini sukar ditemukan dalam potongan testis karena interfasesnya sangat cepat dan masuk proses meiosis kedua menjadi spermatid.

Pada tahap transformasi terjadi proses metamorfosa seluler dari sel spermatid sehingga terbentuklah sel spermatozoa. Jadi dari satu sel spermatogonium terbentuk 64 buah sel spermatozoa.

Setelah beberapa waktu sel-sel spermatozoa yang terbentuk ini akan bergabung dengan sel sertoli yang berfungsi sebagai sel pengasuh. Sel spermatozoa kemudian melepaskan diri dari tubulus seminiferus menuju epididimis dan sel spermatozoa disimpan sampai diejakulasikan.

2.2.3. Fisiologi Reproduksi Mencit Jantan

Mencit (*Mus musculus*) merupakan salah satu hewan coba yang sering dipakai untuk penelitian zat yang berpengaruh terhadap fertilitas (Lawrence dan Bacharach, 1964).

Pubertas pada mencit jantan ditandai dengan turunnya testis ke dalam skrotum dan siklus spermatogenesis yang secara teratur, sedangkan dewasa kelamin dicapai pada umur 30 - 40 hari. Menurut Oakbreg (1957) yang dikutip oleh Bennet dan Vickery (1970) bahwa proses spermatogenesis berlangsung selama 34,5 hari .

Menurut Daniel (1971) yang dikutip oleh Sukra (1983) volume air mani mencit adalah 0,003 ml dengan jumlah spermatozoa tiap ejakulasi adalah 0,002 milyar. Menurut Smith dan Mangkoewidjojo (1988) sistem kawin yang sering pada mencit adalah monogami (seekor betina dengan seekor jantan) dan poligami (dua atau tiga ekor betina dengan seekor jantan).

2.2.4. Fisiologi Reproduksi Mencit Betina

Pubertas mencit betina bersamaan dengan periode pertumbuhan dan pematangan oosit di ovarium kira-kira pada hari ke-28 sampai hari ke-49 pasca kelahiran yang disertai birahi pertama 1-2 hari setelah pembukaan vagina. Fertilitas maksimum dicapai umur 100-200 hari (Bennet dan Vickery, 1970).

Menurut Odor (1955); Edward dan Gars (1959) yang dikutip Bennet dan Vickery (1970), ovulasi terjadi 9-10 jam setelah birahi. Lama kebuntingan tergantung strain dan spesies, yang rata-rata 19-21 hari. Implantasi terjadi 4-5 hari setelah fertilisasi (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

BAB III

MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai tanggal 26 Desember 1994 sampai dengan 2 Maret 1995 di kandang hewan percobaan Jurusan Reproduksi dan Kebidanan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Hewan Percobaan

Penelitian ini menggunakan 25 ekor mencit jantan yang berumur 14 minggu dengan berat badan 20-30 gram dan 25 ekor mencit betina yang dewasa, sehat, dan pernah beranak satu kali. Mencit dipelihara dalam kandang berdasarkan kelompok perlakuan dan diberi pakan Par II (pakan untuk DOC) dan minum secara tak terbatas.

3.2.2. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini sebagai berikut : daun Api-api dan metanol 95 % untuk pembuatan ekstrak daun api-api, serta aquadest steril sebagai bahan suspensi ekstrak daun Api-api. Bahan-bahan untuk pemeriksaan prepat ulas vagina yaitu minyak emersi, larutan *Giemsa*, larutan NaCl fisiologis, methanol untuk fiksasi prepat ulas vagina. Sedangkan bahan

untuk pemeriksaan perkawinan mencit yaitu alkohol 70 % untuk sterilisasi alat bedah, kapas dan kloroform untuk anestesi.

3.2.3. Alat Penelitian

Alat yang digunakan terdiri dari alat-alat pembuatan ekstrak daun Api-api yaitu open pengering, ayakan nomor 20, alat penggiling buatan Arthur M. Thomas, perkolator, dan rotavapour. Cara pembuatan ekstrak daun Api-api dapat dilihat pada lampiran 3. Untuk pemberian obat peroral digunakan alat suntik yang dilengkapi dengan sonde. Alat untuk pemeriksaan preparat ulas vagina yaitu pipet, gelas obyek, pembakar spiritus, beaker glass, dan mikroskop. Cara pembuatan preparat ulas vagina dapat dilihat pada lampiran 4. Alat untuk pemeriksaan perkawinan dan penghitungan jumlah fetus yang dikandung mencit yaitu kandang mencit sebanyak 13 buah ember plastik berbentuk empat persegi panjang yang masing-masing dibagi menjadi 2 kamar dengan tutup dari anyaman kawat yang dilengkapi dengan tempat makan dan minum yang terbuat dari plastik, timbangan untuk menimbang berat badan mencit dan untuk menimbang ekstrak daun api-api, mikroskop untuk pemeriksaan preparat ulas vagina, kaca pembesar untuk pemeriksaan sumbat vagina, serta peralatan bedah untuk melakukan laparotomi guna memudahkan penghitungan jumlah fetus yang dikandung mencit betina normal.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Persiapan Hewan Percobaan

Setelah diperiksa kesehatannya secara klinis, mencit ditempatkan dalam kandang berdasarkan kelompok perlakuan. Mencit dipelihara selama satu minggu sebelum perlakuan dengan harapan mencit dapat beradaptasi.

3.3.2. Perlakuan Hewan Percobaan

3.3.2.1. Perlakuan Terhadap Mencit Jantan

Dua puluh lima ekor mencit dibagi secara acak menjadi 5 kelompok perlakuan yang masing-masing beranggotakan 5 ekor mencit. Lima perlakuan itu adalah :

- Kelompok P-0 : Sebagai kelompok kontrol.
- Kelompok P-1 : Perlakuan ekstrak daun api-api dosis 0,3 g/kg berat badan, sembilan hari sekali.
- Kelompok P-2 : Perlakuan ekstrak daun api-api dosis 0,3 g/kg berat badan, enam hari sekali.
- Kelompok P-3 : Perlakuan ekstrak daun api-api dosis 0,3 g/kg berat badan, tiga hari sekali.
- Kelompok P-4 : Perlakuan ekstrak daun api-api dosis 0,3 g/kg berat badan, satu hari sekali

Sebelum diberikan perlakuan mencit ditimbang terlebih dahulu untuk menentukan dosis ekstrak daun api-api yang diberikan dalam bentuk suspensi.

Pemberian dilakukan dengan alat suntik yang ujungnya dilengkapi dengan sonde sesuai kelompok perlakuan selama 36 hari. Kemudian masing-masing mencit jantan perlakuan dimasukkan dalam kamar-kamar untuk dilakukan perkawinan dengan mencit betina dengan metode perkawinan monogami (*Monogamous Pair Mating*).

3.3.2.2. Perlakuan Terhadap Mencit Betina

Setelah beradaptasi selama tujuh hari, mencit betina normal (tanpa diberikan perlakuan) sebanyak 25 ekor dilakukan perkawinan dengan mencit jantan perlakuan. Beberapa hari sebelum dilakukan perkawinan, dilakukan pemeriksaan ulas vagina terlebih dahulu untuk mengetahui siklus birahi normalnya. Kemudian 3-8 jam setelah dilakukan perkawinan, dilanjutkan dengan pemeriksaan sumbat vagina (*Vaginal plaque / Copulation plaque*) untuk mengetahui bahwa mencit betina telah melakukan perkawinan.

Pemeriksaan ulas vagina :

Pemeriksaan ulas vagina yaitu dengan cara mencit betina dipegang dengan tangan kiri pada tengkuknya dengan jari telunjuk dan ibu jari, sedangkan ekor dijepit dengan jari kelingking dan jari manis. Sedangkan tangan kanan memasukkan pipet yang berisi cairan NaCl Fisiologis ke dalam vagina mencit, setelah itu dipipetkan kembali untuk dilakukan pembuatan preparat ulas vagina pada lampiran 4.

ekstrak daun Api-api terhadap angka kebuntingan dihitung dengan uji Khi-kuadrat (*Chi-square test*). Sedangkan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun Api-api terhadap jumlah fetus dengan uji Fisher (uji F). Jika terdapat perbedaan yang nyata, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (uji BNT) untuk mengetahui pengaruh perlakuan yang terbaik (Kusriningrum,1989).



BAB IV

HASIL PENELITIAN

4.1. Angka Kebuntingan Mencit Betina

Berdasarkan hasil penelitian tentang ekstrak daun Api-api yang diberikan dengan selang waktu tertentu terhadap angka kebuntingan mencit betina yang telah dikawinkan dengan mencit jantan dari lima kelompok perlakuan untuk menguji fertilitasnya dapat diperoleh hasil seperti yang tercantum pada tabel 1.

Tabel 1. Angka Kebuntingan Pada Mencit Betina Setelah Dikawinkan Dengan Mencit Jantan Perlakuan.

Perlakuan	Σ Hewan Coba	Bunting	Tidak Bunting	Angka Kebuntingan
P ₀	5	5	0	100 %
P ₁	5	5	0	100 %
P ₂	4	4	0	100 %
P ₃	5	1	4	20 %
P ₄	5	0	5	0 %

Keterangan : - Pada kelompok P₂ jumlah mencit jantan 4 ekor karena mencit mati sebelum dikawinkan dengan mencit betina.

Tabel 1. Memperlihatkan bahwa ekstrak daun Api-api yang diberikan pada mencit jantan dengan beberapa perbedaan selang waktu ternyata setelah dikawinkan, dapat menyebabkan penurunan persentase angka kebuntingan pada mencit betina.

kelompok P_0 persentase angka kebuntingannya yang terbesar. Penurunan angka kebuntingan mulai terlihat nyata terdapat pada kelompok P_4 yang juga tidak berbeda nyata dengan kelompok P_3 .

Dari data yang diperoleh, dilakukan analisa statistik dengan menggunakan uji Khi-kuadrat (*Chi-square test*) antar kelima kelompok perlakuan. Hasil yang diperoleh adalah X^2 hitung sebesar 20,587 (lihat lampiran 1), sedangkan X^2 tabel (0,95) atau X^2 dengan taraf nyata (α) 0,05 dan $dk = 4$ adalah 9,49. Hal ini berarti X^2 hitung lebih besar daripada X^2 tabel (0,95)(4), sehingga dengan demikian bahwa pemberian ekstrak daun Api-api dengan perbedaan selang waktu pada mencit jantan dapat menurunkan angka kebuntingan hasil perkawinan dengan mencit betina normal.

4.2. Jumlah Fetus yang Dikandung Mencit Betina Hasil Perkawinan dengan Mencit Jantan Perlakuan

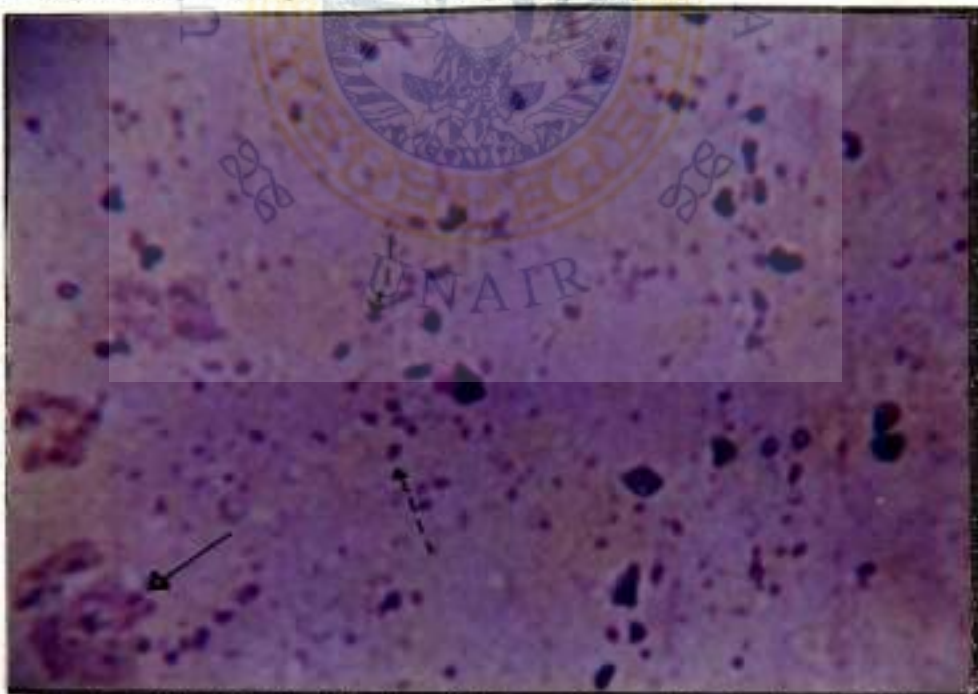
Tabel 2. Jumlah Fetus yang Dikandung dalam Satu Periode Kebuntingan (selama 19 - 21 hari)

Perlakuan	Jumlah Fetus Yang Dikandung ($\bar{X} \pm SD$)	
P_0	2,940 \pm 0,2982	a
P_1	2,526 \pm 0,4002	a
P_2	2,335 \pm 0,2483	a
P_3	0,942 \pm 0,5188	b
P_4	0,710 \pm 0,0000	b

Keterangan : Notasi huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) berdasarkan uji BNT 5 % dan 1 %.

Jumlah rata-rata fetus yang dikandung mencit betina dalam satu periode kebuntingan selama 19 - 21 hari setelah dikawinkan dengan mencit jantan dari tiap perlakuan dapat dilihat pada tabel 2 dan lampiran 2.

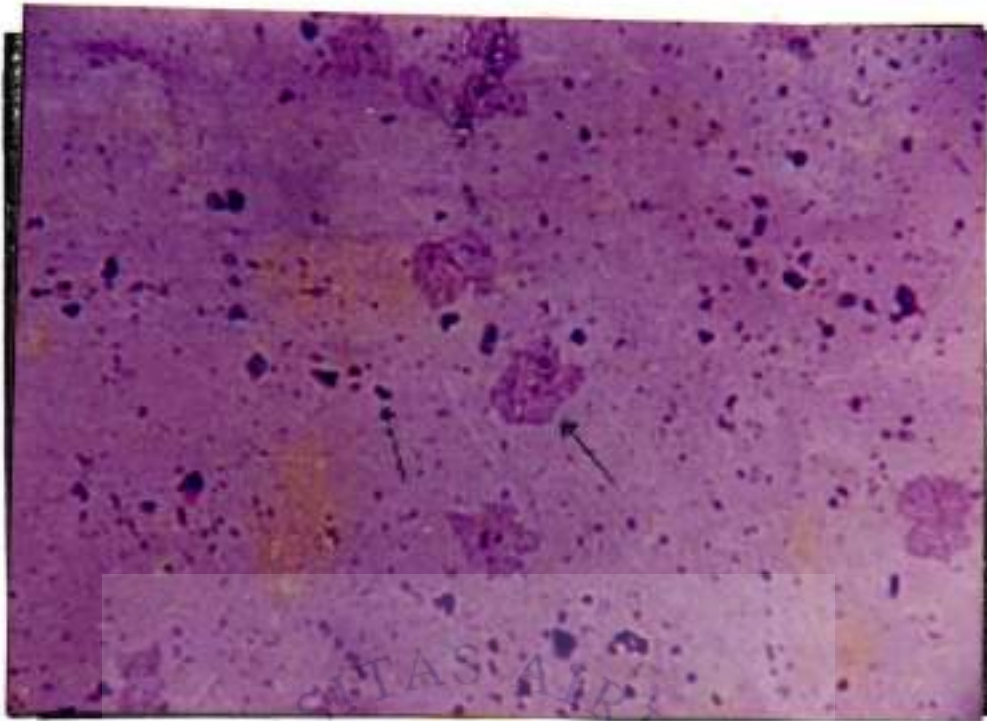
Setelah dianalisa dengan sidik ragam, ternyata jumlah fetus yang dikandung mencit betina terdapat perbedaan sangat nyata antar kelompok perlakuan ($p < 0,01$). Hasil uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5 % dan 1 % memperlihatkan jumlah fetus terbanyak terdapat pada kelompok kontrol (P_0) tidak berbeda nyata dengan kelompok P_1 dan P_2 . Sedangkan jumlah fetus yang terkecil terdapat pada kelompok P_4 dan tidak berbeda nyata dengan kelompok P_3 tetapi apabila P_3 dan P_4 dibandingkan dengan tiga kelompok yang lain (P_0 , P_1 dan P_2) menunjukkan perbedaan yang sangat nyata.



Gambar 3. Sel Epithel Vagina (Sediaan Hapus Vagina) pada Kelompok Mencit Betina Tidak Bunting (P_4 dan P_5) Pembesaran 100 X

Keterangan :

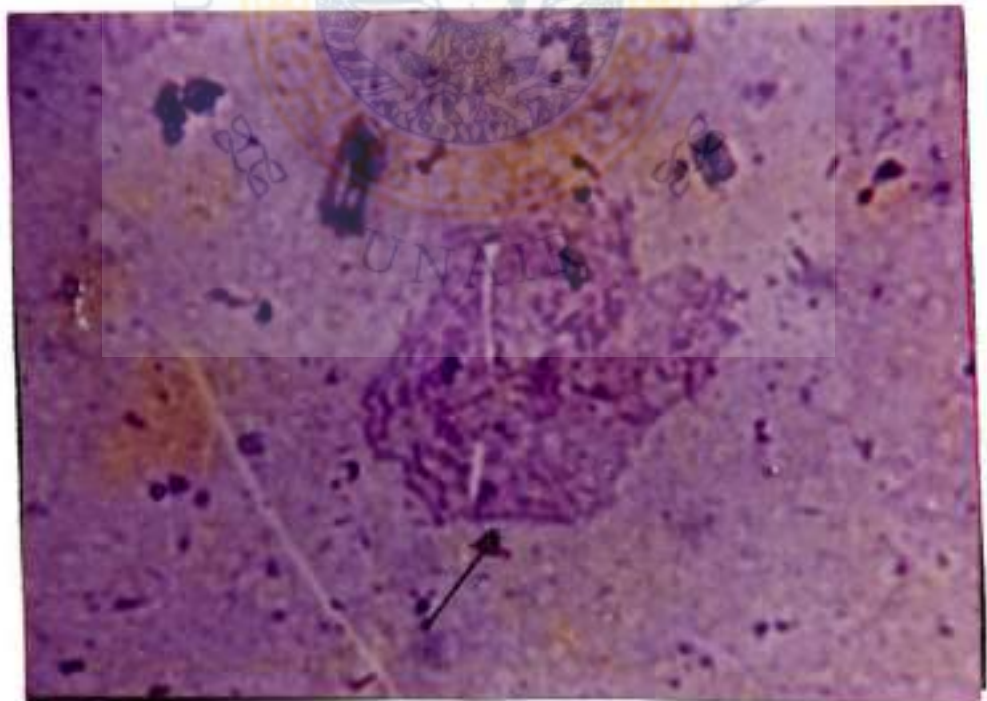
- : Sel intermedia / sel epithel vagina
- : Netrofil



Gambar 4. Sel Epithel Vagina (Sediaan Hapus Vagina) pada Kelompok Mencit Betina Bunting (P_0 , P_1 dan P_2) Pembesaran 100 X

Keterangan :

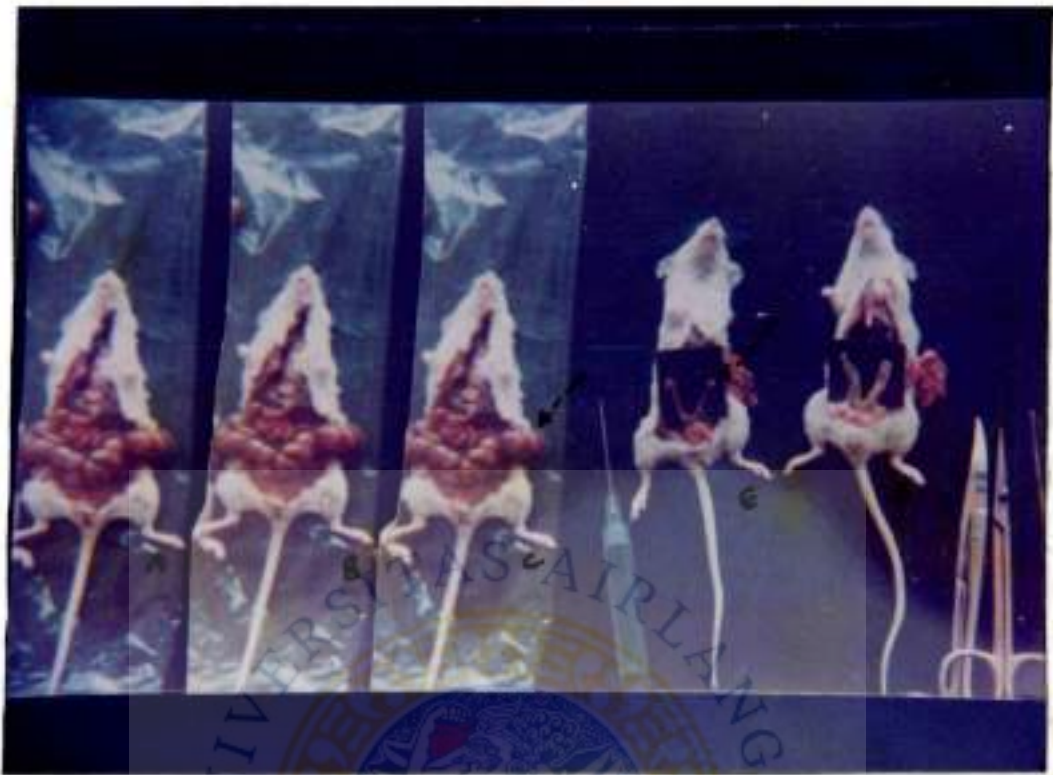
- : Sel-sel intermedia / Sel epithel vagina
-→ : Netrofil



Gambar 5. Sel Epithel Vagina (Sediaan Hapus Vagina) pada Kelompok Mencit Betina Bunting dengan Pembesaran 1000 X

Keterangan :

- : Sel-sel intermedia / Sel epithel vagina



Gambar 6. Hasil Pengamatan terhadap Jumlah Fetus yang Dikandung

- A. Kelompok Kontrol (P_0)
- B. Kelompok Perlakuan Selang Waktu 9 hari (P_1)
- C. Kelompok Perlakuan Selang Waktu 6 hari (P_2)
- D. Kelompok Perlakuan Selang Waktu 3 hari (P_3)
- E. Kelompok Perlakuan Selang Waktu 1 hari (P_4)

Keterangan :

————→ : Uterus keadaan bunting/berisi fetus

.....→ : Uterus keadaan tidak bunting/tidak berisi fetus

BAB V

PEMBAHASAN

Pemberian ekstrak daun Api-api secara per oral dengan selang waktu berbeda pada mencit jantan ternyata mengakibatkan penurunan angka kebuntingan pada mencit betina normal (tanpa perlakuan) ($p < 0.01$).

Angka kebuntingan dan jumlah rata-rata fetus yang dikandung mencit betina normal (tanpa perlakuan) setelah dikawinkan dengan mencit jantan perlakuan cenderung mengalami penurunan. Hal ini mungkin terjadi karena adanya kondisi *oligospermia / azoospermia* dan penurunan libido pada mencit jantan dari kelompok P₃ dan P₄ dan jika dibandingkan dengan tiga kelompok yang lain yang dapat menyebabkan penurunan angka kebuntingan pada mencit betina. Keadaan *azoospermia* dari air mani dan penurunan libido pada disebabkan karena terhambatnya proses spermatogenesis terutama pada proses meiosis. Sedangkan penurunan libido disebabkan karena menurunnya hormon testosteron.

Triterpena yang terkandung pada tumbuhan Api-api memiliki mekanisme kerja yang mampu berinteraksi dengan sterol membentuk ikatan kompleks dengan kolesterol dan membran sel, sehingga mengakibatkan perubahan permeabilitas membran dan terjadi kelainan fungsi sel, termasuk juga dalam proses replikasi *RNA* dan *DNA* sebagai

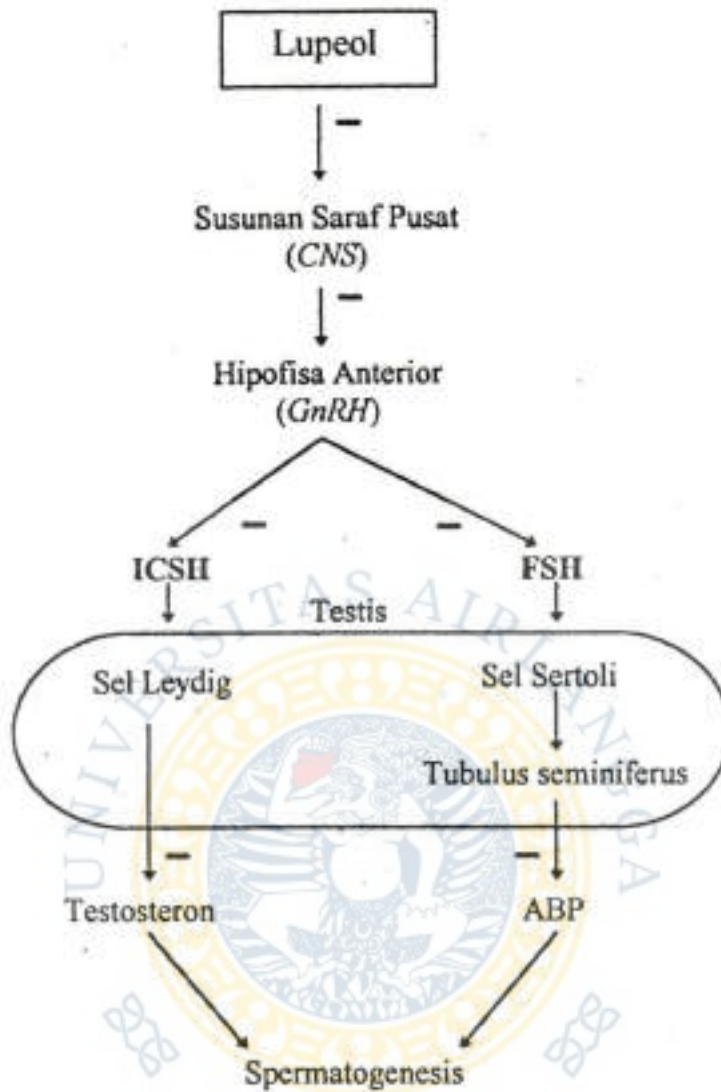
pembawa sifat keturunan pada saat pembelahan sel kelamin secara meiosis (Anisimov et al., 1979). Selain itu triterpena dapat menghambat proses pembelahan dan pematangan sel telur mencit betina yang diberi ekstrak daun Api-api sehingga menyebabkan penurunan jumlah fetus, bahkan mencit betina menjadi tidak bunting (Astika, 1989). Menurut hasil penelitian Soehadi dan Santa (1983) yang didukung Setyabudi (1991), pada mekanisme pembentukan spermatozoa (proses spermatogenesis), sel kelamin jantan mengalami meiosis yang pertama yang terjadi saat spermatozoit primer berubah menjadi spermatozoit sekunder. Selanjutnya terjadi proses meiosis kedua yaitu spermatozoit sekunder menjadi spermatid. Pada saat proses meiosis inilah triterpena bekerja, sehingga menyebabkan terjadinya penurunan jumlah sel-sel kelamin jantan dan akhirnya terjadi penurunan kemampuan pejantan untuk membuahi sel telur.

Menurut Da Rocha et. al., (1933) yang dikutip oleh Astika (1989) pada mencit dan tikus, lupeol yang terkandung dalam tumbuhan Api-api bekerja dengancara menekan susunan syaraf pusat sehingga terjadi gangguan pada jalur hipotalamus. Gangguan pada jalur hipotalamus tersebut menimbulkan gangguan sekresi *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH) yang berpengaruh pada sekresi *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Intertitial Cell Stimulating Hormone* (ICSH), sehingga berakibat proses spermatogenesis dapat terhambat (Fransworth et.al., 1975).

FSH merangsang terjadinya proses proliferasi spermatogenesis yaitu pada spermatosit primer menjadi spermatosit sekunder dalam tubulus seminiferus, meskipun *FSH* tidak dapat menyelesaikan sampai terbentuknya sel. Selain itu *FSH* merangsang pertumbuhan sel sertoli yang memberi nutrisi sel spermatozoa sampai sel spermatozoa melepaskan diri ke dalam lumen tubulus seminiferus. *FSH* juga mempermudah pembentukan protein pengikat androgen yang terikat dalam pengangkutan testosteron ke dalam tubulus seminiferus dan epididimis (Ganong, 1981). Mekanisme ini penting untuk mencapai kadar testosteron yang dibutuhkan untuk kelangsungan spermatogenesis tidak dapat berlangsung. Kegagalan spermatogenesis ini menyebabkan terjadinya penurunan sel-sel kelamin bahkan menunjang terjadinya keadaan *oligospermia* / *azoospermia* tersebut.

ICSH identik dengan *LH*, berfungsi menstimulir pertumbuhan sel *interstitial Leydig* untuk menghasilkan testosteron. Testosteron berfungsi untuk menjaga integritas sel-sel kelamin jantan dan merangsang aktivitas mitosis dan meiosis. Sedangkan testosteron bersama *ICSH* dapat menstimulir pertumbuhan sel-sel germinatip. Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Setyabudi (1991) gangguan sekresi *ICSH* akan menurunkan jumlah dan fungsi sel *leydig* pada testis mencit tersebut ternyata juga diikuti juga dengan berkurangnya produksi testosteron, sehingga dapat mengakibatkan penurunan jumlah sel-sel kelamin dan penurunan libido. Penurunan libido atau penurunan kemampuan sperma untuk membuahi ovum, juga akan menyebabkan ketidakbuntingan pada mencit betina.

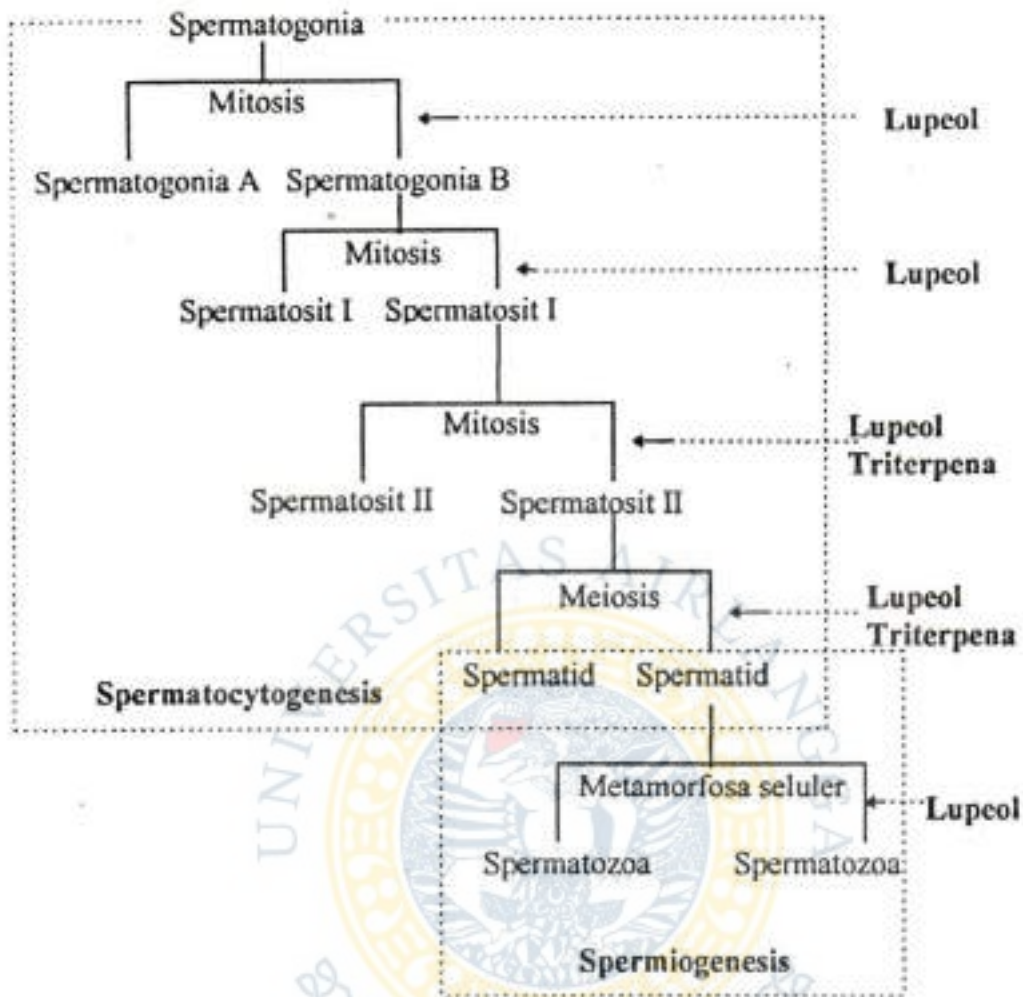
Menurut Daniel (1971) yang dikutip oleh Sukra (1983) volume air mani mencit secara normal adalah 0,003 ml dengan jumlah spermatozoa tiap ejakulasi adalah 0,002 milyar. Sedangkan di dalam penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan terhadap kuantitas dan kualitas air mani mencit jantan baik secara makroskopis dan mikroskopis karena sulitnya pengumpulan (Collecting) air mani mencit jantan yang disebabkan sedikitnya jumlah air mani dan ukuran tubuh hewan yang kecil. Namun penelitian sebelumnya telah diketahui bahwa telah terjadi penurunan yang sangat bermakna terhadap jumlah sel-sel kelamin jantan, terutama sel spermatozoa. Menurut Hardjopranjoto (1981) penyatuan satu sel telur atau ovum yang dihasilkan oleh ovarium dan satu sel spermatozoa yang dihasilkan oleh testes maka akan terjadi proses pembuahan / kebuntingan (Fertilisasi), yang akan menghasilkan Zygote / Embryo. Kemudian zygote inilah yang akan mengalami perkembangan lebih lanjut menjadi fetus. Penurunan jumlah sel-sel kelamin jantan terutama sel spermatozoa akibat pemberian bahan obat tersebut akan mendukung keadaan tidak terjadi kebuntingan, sehingga jumlah fetus yang dikandung mencit betina normal juga akan semakin berkurang bahkan tidak ada sama sekali. Adapun penurunan jumlah sel-sel kelamin jantan disebabkan terjadinya hambatan proses spermatogenesis oleh kandungan aktif tumbuhan Api-api tersebut. Triterpena bekerja secara langsung pada sel kelamin jantan, sedangkan lupeol bekerja secara tidak langsung melalui susunan syaraf pusat. Mekanisme kerja dari lupeol dan triterpena ini dapat dilihat lebih jelas pada gambar 7 dan 8.



Gambar 7. Skema Mekanisme Kerja Lupeol (Da Rocha, 1933)

Keterangan :

- = mengalami gangguan / hambatan

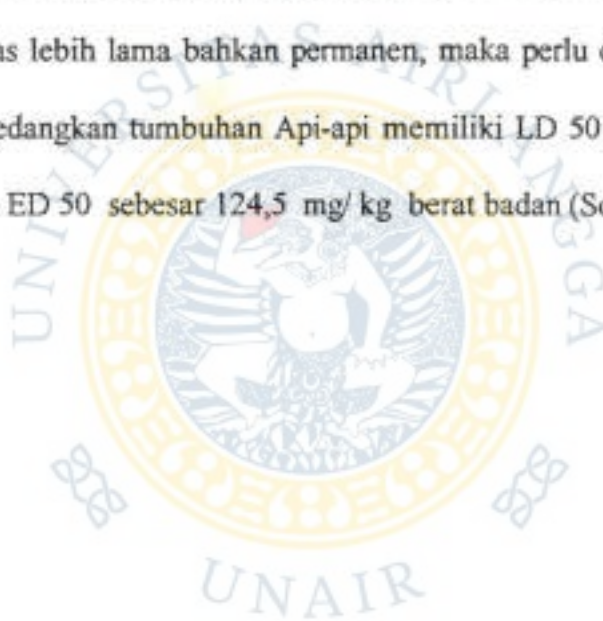


Gambar 8. Skema Mekanisme Triterpena dan Lupeol

Keterangan :

- Lupeol = bekerja tidak langsung pada SSP (Da Rocha, et. al., 1933)
- Triterpena = bekerja langsung pada sel kelamin (Anisimov, et. al., 1978)

Pada penelitian ini, pemberian selang waktu tiga hari sudah mampu menimbulkan efek fertilitas pada mencit jantan sehingga dapat menurunkan angka kebuntingan dan jumlah fetus yang berbeda sangat nyata dapat mengurangi bahaya stress yang tidak diinginkan, tidak merepotkan, dan dapat menghemat pemakaian bahan obat. Tetapi untuk mengetahui apakah pemberian obat tiga hari sekali dengan dosis yang lebih ditingkatkan sehingga dapat lebih memperpanjang terjadinya hambatan proses spermatogenesis yang diharapkan dapat menimbulkan efek antifertilitas lebih lama bahkan permanen, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut. Sedangkan tumbuhan Api-api memiliki LD 50 sebesar 5,01 g/kg berat badan dan ED 50 sebesar 124,5 mg/kg berat badan (Soedarso, 1991).



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang pemberian ekstrak daun Api-api dosis 0,3 g / kg berat badan dengan selang waktu sembilan hari sekali, enam hari sekali, tiga hari sekali dan setiap hari sekali, maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Pemberian ekstrak daun Api-api dengan selang waktu tertentu berpengaruh terhadap fertilitas mencit jantan, sehingga menyebabkan penurunan angka kebuntingan ($p < 0,05$) dan perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$) dari rata-rata jumlah fetus yang dikandung mencit betina normal.
2. Pemberian ekstrak daun Api-api dengan selang waktu tiga hari sekali sudah mampu menimbulkan efek anti fertilitas terhadap mencit jantan selama 36 hari.

6.2. Saran

Dari hasil penelitian yang telah didapat masih perlu penelitian lebih lanjut tentang :

1. Dosis yang efektif sebagai anti fertilitas jika diberikan ekstrak daun Api-api tiga hari sekali.

2. Pengaruh pemberian ekstrak daun Api-api terhadap kadar hormon FSH, ICSH dan testoteron.
3. Pengaruh daun Api-api sebagai anti fertilitas terhadap ternak atau hewan yang lain.
4. Kualitas dan kuantitas dari air mani ternak atau hewan percobaan lain yang lebih besar jika diberikan ekstrak daun Api-api.



RINGKASAN

Usaha perbaikan mutu genetik guna peningkatan kualitas dan kuantitas ternak dapat dengan berbagai cara antara lain melalui seleksi pada bibit ternak jantan yang tidak unggul agar tidak lagi digunakan dalam program breeding. Tujuan seleksi tersebut dapat dicapai dengan memakai ekstrak daun Api-api sebagai bahan obat kastrasi yang relatif murah dan aman.

Di dalam tumbuhan Api-api, triterpena dan lupeol merupakan kandungan aktif sebagai zat antifertilitas yang banyak terdapat pada bagian akar, kulit batang, getah dan daun. Mekanisme kerja triterpena mampu berinteraksi dengan sterol membentuk ikatan kompleks dengan kolesterol yang terdapat pada membran sel yang mengakibatkan laju pertumbuhan sel kelamin pada tahap pembelahan meiosis terhambat. Sedang lupeol bekerja menekan susunan saraf pusat dan menyebabkan gangguan pada hipotalamus, sehingga produksi dan sekresi hormon reproduksi terhambat yang pada akhirnya proses spermatogenesis juga terhambat. Setelah terjadi kegagalan proses pembentukan spermatozoa maka diikuti dengan ketidakmampuan sperma membuahi ovum.

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh perbedaan selang waktu pemberian ekstrak daun Api-api secara per oral terhadap fertilitas mencit jantan. Untuk mengetahui pengaruhnya terhadap fertilitas dilakukan perkawinan antara mencit jantan perlakuan dengan mencit betina normal (tanpa perlakuan)

kemudian dihitung angka kebuntingan dan jumlah fetus yang dikandung selama satu periode kebuntingan (19 - 21 hari).

Hewan coba yang digunakan adalah 25 ekor mencit jantan varietas albino Jerman berumur 14 minggu dengan berat badan 20 - 30 gr. Mencit dibagi secara acak menjadi lima kelompok dengan masing-masing lima ulangan. Kelompok P_0 tanpa perlakuan sebagai kontrol, sedang kelompok P_1 , P_2 , P_3 dan P_4 masing-masing diberikan ekstrak daun Api-api dengan dosis 0,3 g/kg berat badan dalam selang waktu sembilan hari, enam hari, tiga hari dan satu hari sekali. Pada hari ke-36 mencit jantan dikawinkan dengan mencit betina. Pemberian ekstrak daun Api-api tetap diberikan sampai terjadi kopulasi. Pada hari ke-10 pasca kopulasi setelah perkawinan dilakukan kaparotomi mencit betina untuk mengetahui angka kebuntingan dan jumlah fetus yang dikandung.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun Api-api dengan selang waktu tertentu peroral selama 36 hari pada mencit jantan menyebabkan penurunan angka kebuntingan ($p < 0,05$) dan perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$) pada rata-rata jumlah fetus yang dikandung mencit betina setelah dikawinkan dengan mencit jantan perlakuan. Sedangkan pemberian ekstrak daun Api-api dengan selang waktu tiga hari ternyata sudah mampu menimbulkan efek antifertilitas, sehingga menurunkan angka kebuntingan dan rata-rata jumlah fetus yang dikandung mencit betina normal.

DAFTAR PUSTAKA

- Anisimov, M.M.; Senthsova, E.B.; Scheglov, E.V.V; Strignina, L.I.; Shumilov, Yu.N.; Chetyrina, N.S.; Elyukov, G.B. 1978. Mechanism of Cytotoxic Action of some Triterpena Glikoside. Pregamon Press. Vol. 16 : 207-218.
- Astika, IG. N. 1989. Isolasi dan Identifikasi Kandungan Aktif Kulit Batang *Avicennia marina* (Forsk) Vierh Yang Berkhasiat Pada Mus musculus Betina. Disertasi. Univesitas Airlangga. Basu, N. and Rastogi, R.P. 1967. Triterpenoid from The Burk of *Avicennia marina*. Australia.
- Bennet, J.P. and B.H. Vickery, 1970. Rats and Mice. In : Reproduction and Breeding Techniques For Laboratory Animals, E.S.E. Havestz Ed. Lea and Fediger. Philadhelphia. 299 - 305.
- Budiyatno, S. dan Zailani, J. 1977. Seleksi dan Kastrasi Sapi Potong. Direktorat Jenderal Peternakan Jakarta
- Christsetiani, F. 1995. Pengaruh Perbedaan Selang Waktu Pemberian Ekstrak Daun Api-Api Terhadap Gambaran Histologis Testis Mencit. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Da Rocha ; Roselene, F. ; Lapa Antonio Jos ; Riberto da Vale Jos ; Brez Raimundo. 1933. Pharmacological Activity of Crude and Purified Extract from *A. Cosmium dasycarnum*. Yakvol. 33 : 158-162.
- Das, Manik, C. and Mahalo Shasi B. 1983. Triterpenoid , Phytochemistry. Vol.22 : 1071-1095.
- Dhami, P.S. and Dhami, D.K. 1982. Chordata Zoology. Richard and Co. Publisher. New Delhi.
- Farnsworth, Norman R., Binggel Audrey, and Fong Harry H.S. 1975. Potensial Value and Plan as Soureces of New Antifertility Agent II. J. Pharm Sei.
- Ganong, W.F. 1981. Fisiology Kedokteran. EGC Penerbit Buku Kedokteran. Edisi 10 : 373-379.
- Hafez, E.S.E. 1970. Reproduction in Farm Animal. Lea Febiger. Philadelphia. EGC 556 - 558.

- Hafez, E.S.E. 1980. Male Contraception. in : Human Reproduction, Conception and Contraception , E.S.E. Hafez ed. Lea Febiger. Philadelphia. EGC 56 - 57.
- Harborne, J.B. 1973. Phytochemistry Methodes. London: Chapman and Hall.
- Hardijanto; Sardjito, T. ; Hernawati, T. ; Susilowati, T; Harjopranoto, S. 1989. Pengaruh Pemberian Formalin terhadap Kualitas dan Kuantitas Air Mani Kambing Kacang Jantan. Universitas Airlangga.
- Hardijanto dan Harjopranjoto, S. 1994. Inseminasi Buatan Jurusan Veteriner. Fakultas Pertanian. Universitas Wijaya Kusuma.
- Hardjopranjoto, S. 1981. Fisiologi Reproduksi. Edisi II Fakultas Kedokteran Hewan . Universitas Airlangga.
- Heyne, K. 1987. Tumbuhan Berbunga Indonesia III. Cet. III 1385 - 1386.
- Heyne, K. 1988. Tanaman Berguna Indonesia. Vol.III. Badan Litbang Departemen Kehutanan Jakarta.
- Kimball, J.W. 1988. Biologi. Edisi 5. Terjemahan Siti Soetarmi dan Nawangsari. Penerbit Erlangga Jakarta. 630 - 635.
- Korollkovas, Takao, Fukushima, and Sawada Tokurosuke. 1981. Structure of Prospogenin Obtained From Saponin of Gleditsia. Japonica. Phitochemistry.
- Kusriningrum. 1989. Rancangan dan Percobaan. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.
- Laksman, H.T. 1991. Kamus Kedokteran Arti dan Keterangan Istilah., Edisi 16. Penerbit Djambatan. Jakarta. 40 - 41
- Lawrence, D.R and A.L. Bacharach. 1964. Evaluation of Drug Activities. Pharmacometrics. Vol. 2. London and New York. Academic Press.
- Mariano, S.H.D. 1986. Atlas of Human Histology. Edisi 5. EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. 242 - 243.
- Mustafa, Z.E.Q. 1992. Mikrostatis untuk Mengolah Data Statistik. Edisi III. Penerbit Andi Offset Yogyakarta.
- Norris, D.O. 1980. Vertebrate Endocrinology. Lea and Febiger. Philadelphia. 346 - 348

- Partodihardjo, S. 1982. Ilmu Reproduksi Hewan. Penerbit Mutiara Jakarta.
- Perry; Lily, M.; and Judith Metzger. 1980. Medicinals plants of East and South East Asia and Usses. London. The Mitt Press.
- Peter, A. Mayer; Daryck, Granner; Victor, W. Rodwell; D.W. Martin J.R. 1985. Biokimia Harper edisi 10. EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Purnomo, B. 1990. Ilmu Mudigah. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga. Surabaya.
- Sallisbury, G.W. and Denmark, N.L. 1985 . Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. Terjemahan Djanuar, R. Fakultas Peternakan. Universitas jendral Sudirman. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Santos, Alfredo C.; Guevara Beatrica, Q; Mascroda Alicia, M; and Estrada Conception, Q. 1978. Phytochemistry Microbiological and Pharmacological Screening of Medicinal Plants. Manila: Research Center of University of Santo Thomas.
- Sastrowardoyo, W. 1991. Prospek daun Api-api (*Avicennia officinallis* L) sebagai Kontrasepsi Wanita. Simposium daun Api-api sebagai Obat Tradisional. Laboratorium Farmakologi Universitas Airlangga.
- Setyabudi, G. 1991. Pengaruh Ekstrak Buah *Avicennia marina* (Forsk) Vierh pada Spermatogenesis serta Gambaran Histologis Hati dan Ginjal Mencit dalam Upaya Pencarian Obat Kontrasepsi Pria. Tesis. Universitas Airlangga.
- Smith, J. B. dan S. Mangkoewidjojo. 1988. Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 10-11.
- Soehadi, K. and Santa, IG.P. 1989. Perspective of Male Contraception with Regards to Indonesian Traditional Drugs. Proceeding of The International Symposium The Management of Infertility and Fertility Control in The Male.
- Soepardi, R. 1965. Apotik Hijau. Cetakan II. . Surakarta. PT. Purnawarman.
- Sri Margono. 1970. Mangrove sebagai Bahan Baku Pulp dari Kertas. Sifat-sifat Fisika Kimia dan Dimensi Serangga. Vol. 8.

- Steenis, C.G.G.J. 1992. Flora untuk Sekolah Indonesia. PT. Padya Paramitha. Cetakan 6.
- Sudarso. 1991. Prospek Pemanfaatan Getah Kayu Api-api sebagai bahan Kontrasepsi Tradisional Indonesia. Simposium Daun Api-api sebagai Obat Tradisional. Fakultas Ilmu Matematika dan Pengetahuan Alam. Universitas Airlangga.
- Sudjiharti Tjondronegoro. 1992. Role of Gonodotropins in The Control of Reproduction Function in The Rams. Phd Thesis. University of Western. Amsterdam.
- Sukra, Y. 1983. Pengantar Kuliah Embriologi I. Departemen Zoologi FKV. IPB. 42.
- Suparto, H. Sastrowardoyo, W. 1991. Penggunaan Getah Daun Api-api di Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Pelayanan Pengobatan Obat Tradisional. Simposium Daun Api-api sebagai Obat Tradisional. Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran. Universitas Airlangga.
- Sutarjadi. 1993. Pemanfaatan Sumber Alami Indonesia Menunjang Usaha Kemandirian Bidang Obat-obatan. Pidato Pengukuhan Guru Besar. Universitas Airlangga..
- Tomaszewska, M.W. ; I.K. Utama ; I.G. Putu ; Chaniago, T.D. 1991. Reproduksi, Tingkah laku, dan Produksi Ternak Di Indonesia. Penerbit PT. Gramedia PustakaUtama. Jakarta.
- Tovivich, Pichai. 1984. Chemical Contituents and Biological Activities of *Randia siamensis*. The Fifth Asian Symposium on Medicinal Plants and species. Seoul: Seoul National University.
- Weyuan, 1986. Triterpenoid Glicosides from Leaves of *Ilex Cornuata* Phytochemistry.

LAMPIRAN - LAMPIRAN



Lampiran 1 : Analisis Data Pengaruh Perbedaan Selang Waktu Pemberian Ekstrak Daun Api-api Terhadap Angka Kebuntingan Hasil Perkawinan Mencit Betina Dengan Mencit Jantan Perlakuan (Uji Khi - Kuadrat)

Perlakuan	Bunting	Tidak Bunting	Jumlah
P ₀	5 (3,125)	0 (1,875)	5
P ₁	5 (3,125)	0 (1,875)	5
P ₂	4 (2,5)	0 (1,5)	4
P ₃	1 (3,125)	4 (1,875)	5
P ₄	0 (3,125)	5 (1,875)	5
Jumlah	15	9	24

Hipotesis yang diuji :

H₀ = tidak terdapat perbedaan yang nyata di antara kelima perlakuan

H₁ = terdapat perbedaan yang nyata di antara kelima perlakuan

$$\text{Rumus : } \chi^2 = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^k \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}}$$

Perhitungan :

$$\begin{aligned} \chi^2 &= \frac{(5-3,125)^2}{3,125} + \frac{(5-3,125)^2}{3,125} + \frac{(4-2,5)^2}{2,5} + \frac{(1-3,125)^2}{3,125} + \frac{(0-3,125)^2}{3,125} + \\ &\frac{(0-1,875)^2}{1,875} + \frac{(0-1,875)^2}{1,875} + \frac{(0-1,5)^2}{1,5} + \frac{(4-1,875)^2}{1,875} + \frac{(5-1,875)^2}{1,875} \\ &= 1,125 + 1,125 + 0,9 + 1,445 + 3,125 + 1,875 + 1,875 + 1,5 + 2,408 + 5,208 \\ &= 20,587 \end{aligned}$$

Untuk X^2 hitung = 20,587 dan dk atau df = $(b - 1)(k - 1) = (5 - 1)(2 - 1) = 4$. Sedangkan X^2 dengan taraf nyata 0,05 dan dk = 4 atau $X^2_{0,95(4)} = 9,49$. Karena X^2 hitung $> X^2_{0,95(4)}$, maka H_1 diterima dan H_0 ditolak. Ini berarti pemberian ekstrak daun Api-api dalam perbedaan selang waktu memberikan pengaruh nyata terhadap angka kebuntingan mencit betina sebagai hasil perkawinan dengan mencit jantan perlakuan .



Lampiran 2 : Evaluasi Statistik Jumlah Fetus yang Dikandung Mencit Betina Normal dengan Mencit Jantan Perlakuan.

1. Analisa Data yang Diperoleh Sebenarnya

Ulangan	Perlakuan				
	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄
1	8	8	4	0	0
2	11	4	4	0	0
3	8	4	6	0	0
4	8	6	6	0	0
5	6	8		3	0

2. Analisa Data Setelah Ditransformasi dengan Transformasi $\sqrt{y + \frac{1}{2}}$

Ulangan	Perlakuan				
	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄
1	2,92	2,92	2,12	0,71	0,71
2	3,39	2,12	2,12	0,71	0,71
3	2,92	2,12	2,55	0,71	0,71
4	2,92	2,55	2,55	0,71	0,71
5	2,55	2,92		1,87	0,71
ΣX	14,70	12,63	9,34	4,71	3,55
ΣX^2	43,5738	32,5441	21,9938	5,5133	2,5205
\bar{X}	2,940	2,526	2,335	0,9420	0,710
SD	0,2982	0,4002	0,2483	0,5188	0,0000

$$FK = \frac{Y_{..}^2}{\Sigma n_i} = \frac{(44,93)^2}{24} = 84,1127$$

$$JKT = \sum_{i=1}^5 \sum_{j=1}^5 y_{ij}^2 - FK = (2,92)^2 + (3,39)^2 + \dots + (0,71)^2 - FK$$

$$= 106,1455 - 84,1127$$

$$= 22,0328$$

$$JKP = \sum_{i=1}^t \frac{y_i^2}{n_i} = \frac{(14,70)^2}{5} + \frac{(12,63)^2}{5} + \frac{(9,34)^2}{4} + \frac{(4,71)^2}{5} + \frac{(3,55)^2}{5} - FK$$

$$= 103,8876 - 84,1127$$

$$= 19,7749$$

$$JKS = JKT - JKP$$

$$= 22,0328 - 19,7749$$

$$= 2,2579$$

$$\text{Derajat bebas perlakuan} = t - 1 = 5 - 1 = 4$$

$$\text{Derajat bebas sisa} = \left[\sum_{i=1}^t n_i \right] - t = (5+5+4+5+5) - 5 = 19$$

$$\text{Derajat bebas total} = \left[\sum_{i=1}^t n_i \right] - 1 = (5+5+4+5+5) - 1 = 23$$

Untuk kuadrat tengah :

$$KTP = \frac{JKP}{\text{db perlakuan}} = \frac{19,7749}{4} = 4,9437$$

$$KTS = \frac{JKS}{\text{db sisa}} = \frac{2,2579}{19} = 0,1188$$

$$\text{Maka F hitung} = \frac{KTP}{KTS} = \frac{4,9437}{0,1188} = 41,6136$$

Daftar Sidik Ragam

Sumber Keragaman (SK)	Derajat bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	F hitung	F tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	4	19,7749	4,9437	41,6136	2,90	4,50
Sisa	19	2,2579	0,1188			
Total	23	22,0328				

$$H_0 = P_0 = P_1 = P_2 = P_3 = P_4$$

$$H_1 \neq P_0 \neq P_1 \neq P_2 \neq P_3 \neq P_4$$

F hitung > F tabel 0,01 maka H_0 ditolak dan H_1 diterima

Dari hasil sidik ragam disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun Api-api dengan perbedaan selang waktu menunjukkan jumlah fetus yang dikandung mencit betina yang berbeda sangat nyata antara kelompok perlakuan ($P > 0,01$)

Uji Beda Nyata Terkecil

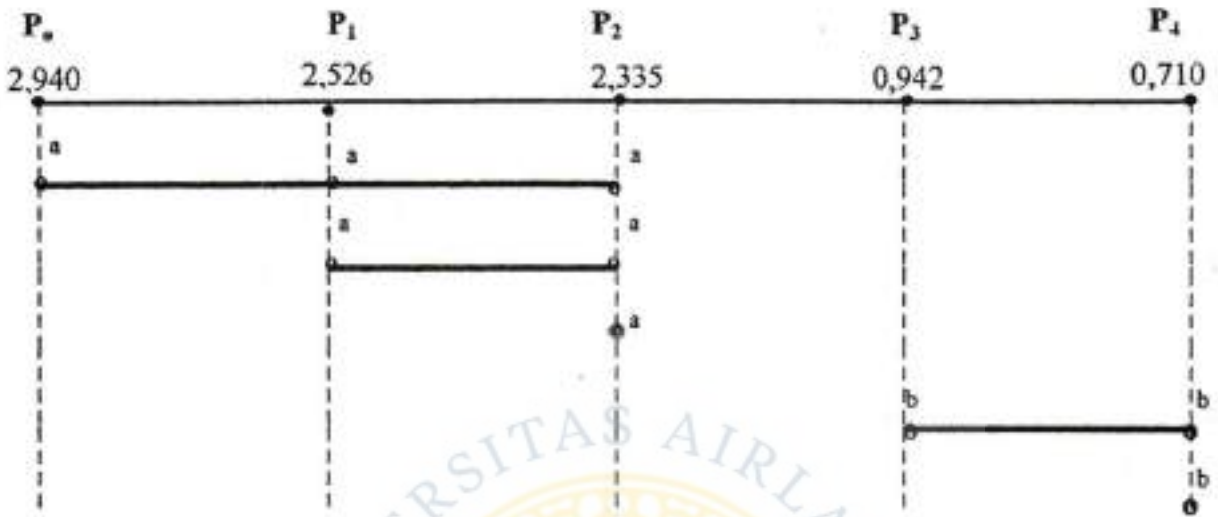
$$\begin{aligned}
 \text{BNT } 5\% &= (t_{5\%}) (\text{db sisa}) \times \sqrt{\text{KTS} \left(\frac{n}{A} + \frac{n}{B} \right)} \\
 &= 2,093 \times \sqrt{0,1188 \left(\frac{4}{5} + \frac{1}{4} \right)} \\
 &= 0,7392
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT } 1\% &= (t_{1\%}) (\text{db sisa}) \times \sqrt{\text{KTS} \left(\frac{n}{A} + \frac{n}{B} \right)} \\
 &= 2,861 \times \sqrt{0,1188 \left(\frac{4}{5} + \frac{1}{4} \right)} \\
 &= 1,0105
 \end{aligned}$$

Beda Rata-Rata Perlakuan Untuk Uji BNT

Perlakuan	Rata-Rata Perlakuan (\bar{X})	Beda (selisih)				BNT	
		$\bar{X} - P_4$	$\bar{X} - P_3$	$\bar{X} - P_2$	$\bar{X} - P_1$	5%	1%
P ₀	2,94 ^a	2,23 ^{**}	1,998 ^{**}	0,605	0,414	0,7392	1,0105
P ₁	2,526 ^a	1,816 ^{**}	1,584 ^{**}	0,191			
P ₂	2,335 ^a	1,625 ^{**}	1,393 ^{**}				
P ₃	0,942 ^b	0,232					
P ₄	0,71 ^b						

Notasi :



Dari hasil uji Beda Nyata Terkecil (BNT) baik 5 % maupun 1 % disimpulkan bahwa kelompok P_4 mempunyai jumlah fetus paling sedikit dan tidak berbeda nyata dengan kelompok P_3 , tetapi sangat berbeda nyata dengan kelompok P_0 , P_1 , dan P_2 .

Lampiran 3 : Pembuatan Ekstrak Daun Api-Api

Daun Api-api dimasukkan open pengering. Kemudian digiling dengan alat penggiling buatan Arthur M. Thomas dan diayak dengan ayakan nomor 20 sampai didapat serbuk halus sebanyak 1 kg. Serbuk tersebut dibasahi dengan cairan penyari (methanol) kurang lebih 600 ml. Aduk dan ratakan hingga seluruh bagian serbuk dapat terbasahi. Serbuk dipindahkan ke dalam perkolator sedikit demi sedikit. Kemudian tuangkan cairan penyari secukupnya hingga bahan terendam dan biarkan selama 24 jam. Lakukan penampungan perkolat dengan kecepatan konstan. Tambahkan pelarut bila bagian atas bahan tidak terendam methanol lagi. Penampungan perkolat dihentikan bila telah didapatkan sampai 80 % dari jumlah pelarut. Sisa di dalam perkolator diperas dengan kain flanel dan tambahkan pada penampungan pertama. Perkolat yang didapat segera disimpan dalam wadah tertutup selama 2 hari di tempat yang sejuk. Pemekatan dilakukan dengan alat pemekat dengan tekanan rendah dan suhu $\leq 50^{\circ}$. Hasil pemekatan dikeringkan dengan water bath sampai didapat ekstrak kering daun Api-api. Kemudian dilakukan pembuatan suspensi ekstrak dengan aquadest steril (anonimus, 1972).

Lampiran 4 : Pembuatan Preparat Ulas Vagina dengan Pewarnaan Giemsa

Gelas obyek/gelas alas dipanaskan dengan pembakar spiritus agar bersih dari lemak. Buat ulasan cairan yang telah diambil dari vagina dengan pipet pada gelas alas. Kemudian preparat dikeringkan sebentar di udara. Fiksasi preparat dengan merendam dalam larutan methanol selama 5-10 menit, dan keringkan di udara. Dilakukan pewarnaan dengan larutan Giemsa 10% - 15% selama 30 menit. Setelah itu dicuci dengan air kran, dan dikeringkan dengan cara mendirikan pada salah satu ujungnya. Preparat ditutup dengan gelas penutup/cover glass. Kemudian dilakukan pemeriksaan di bawah mikroskop dengan menggunakan minyak emersi.



