PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN SISIK NAGA (*Pyrrosia piloselloides*) TERHADAP TINGKAT KEMATANGAN FOLIKEL OVARIUM KAMBING (*Capra aegagrus* Hircus) SECARA *IN-VITRO*

SKRIPSI

Oleh :
INTAN RAFIKA PERMATA HATI
NIM. 10620102

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2016

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN SISIK NAGA (*Pyrrosia piloselloides*) TERHADAP TINGKAT KEMATANGAN FOLIKEL OVARIUM KAMBING (*Capra aegagrus* Hircus) SECARA *IN-VITRO*

SKRIPSI

Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Oleh :
INTAN RAFIKA PERMATA HATI
NIM. 10620102

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2016

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN SISIK NAGA (*Pyrrosia piloselloides*) TERHADAP TINGKAT KEMATANGAN FOLIKEL OVARIUM KAMBING (*Capra aegagrus hircus*) SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

Oleh:
INTAN RAFIKA PERMATA HATI
NIM. 10620102

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji:
Tanggal: 16 September 2016

Pembimbing I,	Pembimbing II,
Kholifah Holil, M.Si	Umaiyatus Syarifah, M.A
19751106 200912 2 002	19820925 200901 2 005

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi

Dr. Evika Sansi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN SISIK NAGA (*Pyrrosia piloselloides*) TERHADAP TINGKAT KEMATANGAN FOLIKEL OVARIUM KAMBING (*Capra aegagrus* Hircus) SECARA *IN-VITRO*

SKRIPSI

Oleh :
INTAN RAFIKA PERMATA HATI
NIM. 10620102

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan
Dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: September 2016

Penguji Utama	: Dr. drh. Bayyinatul M., M. Si NIP. 19751006 200312 1 001	
Ketua Penguji	: Dr. Eko Budi Minarno, M. Pd NIP. 19630114 199903 1 001	
Sekretaris Penguji	: Kholifah Holil, M. Si NIP. 19751106 200912 2 002	
Anggota Penguji	: Umaiyatus Syarifah, M. A NIP. 19820925 200901 2 005	

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Biologi

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

iv

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

SURAT PERNYATAAN

ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Intan Rafika Permata Hati

NIM : 10620102

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*) Terhadap Tingkat Kematangan Folikel Ovarium Kambing (*Capra aegagrus* Hircus) Secara *In-Vitro*.

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian saya ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan karya pernelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur-unsur jiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggung jawabkan, serta diproses sesuai peraturan yang berlaku

Malang, 28 September 2016

Penulis,

Intan Rafika Permata Hati

NIM. 10620102

v

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

PERSEMBAHAN

Syukur Alhamdulillah ...

Karya tulis penelitian dapatku tuntaskan.

Akan kupersembahkan kepada :

- Terimakasih Allah Subhanahu Wata'ala yang telah memeberikan berkah rahmat sehingga karya tulis ini akhirnya dapat terselesaikan.
- Sholawat serta salam tak ada habisnya kepada junjungan besar Nabi Muhammad Salallahu'alaihi wasallam
- Ibunda tercinta Ibu Kastini, dengan segenap kasih sayang serta perhatian yang tak berbatas yang selalu siap direpoti oleh anak yang tak kurang bandelnya ini, doa yang selalu tercurah disetiap hembusan nafasmu, sehingga dapat menguatkanku disetiap kesulitan yang menerpaku, didikan-didikan lembutmu yang akan selalu jadi panutanku, terimakasih bunda, I Will Always Love U, till the end of wy Life.
- Ayahanda tercinta Bpk. Nur Syamsi, terimakasih atas segala macam pelajaran hidup yang telah engkau berikan pada anakmu yang keras kepala ini, terimakasih telah mengembalikan semua kepercayaan yang pernah luntur "dulu". Terimakasih atas segala rezeki dari setiap kucuran keringatmu, terimakasih atas segala keikhlasan, pengorbanan, arahan, panutan, masukan-masukan yang selalu engkau berikan pada anakmu ini, doa Ayah dan Bunda menjadi bekal terbesar dalam hidup vika. I Will Always Love U, till the end of my life.
- Terimakasih juga tak lupa anakmu ini haturkan teruntuk Bpk. Mijan, dan Ibu Ning, terimakasih telah menjadi orang tua angkatku disini, ditanah rantau ini, semoga amal kalian dibalas oleh Allah SWT.
- Buat sodara-sodaraku mas Agus, Destri, dan Rahmat, terimakasih telah menjadi bentengku, terimakasih telah menjadi pelangiku, terimakasih karna telah menjadi sahabat serta rivalku, terimakasih telah menjadi segalanya buatku, vika sayang kalian

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

- Terimakasih sebesar-besarnya kepada dosen pembimbing ku Ibu Kholifah Holil, Ibu Umaiyatus Syarifah, beliau berdua benar-benar pahlawan tanpa tanda jasa buatku, terimakasih atas segala bimbingan dengan nasehatnya, maafkan anak didik kalian ini yang kerjaannya selalu merepotkan.
- Teruntuk semua laboran yang ada di jurusan Biologi (Mas Basyar, Mas Smel, Mas soleh, Mas Zulfan) special buat Mbak Lil,terimakasih banyak ya mbak sungguh bantuan sampean sangat berarti dalam penyusunan skripsiku ini.
- Kepada keluarga besar yang tak dapat ku sebutkan satu persatu, terimakasih atas segala dukungan kalian, suport kalian, do'a kalian, semoga imbalan baik dari Allah yang akan kalian semua dapatkan.
- Kepada sahabat-sahabat terbaikku, Ayu, mbak Riris, geng Syoubelita, (Anyonk, Dita), Keluarga besar ST 25, terimakasih sudah bersamaku selama ini terimakasih kalian selalu setia menemaniku, baik dalam keadaan terpurukku, maupun bahagiaku, serta mengajarkanku memaknai arti hidup.
- Keluarga besar Kav.8, terimakasih telah menjadi pelangi dalam kehidupan ku. Terimakasih telah menjadi kawan-kawan terbaikku,
- Teman-teman angkatan 2010 yang sudah menghilang ntah kemana, terimakasih sudah pernah mengisi hidupku.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah penulis ucapkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufiq dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana dalam bidang Biologi di Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.

Penyusunan skripsi ini tentu tidak lepas dari bimbingan, bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.Si selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibraim Malang.
4. Kholifah Holil, M.Si dan Umaiyatus Syarifa, MA selaku dosen pembimbing yang dengan penuh keikhlasan dan kesabaran telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan motivasi dalam penyusunan skripsi ini.
5. Seluruh dosen, Staf Administrasi, dan Laboran Jurusan Biologi, terima kasih atas semua ilmu dan bimbingannya.
6. Ayah dan Ibu yang menjadi penyemangat, serta motivasi kepada penulis sampai saat ini.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

7. Seluruh teman-teman Jurusan Biologi angkatan 2010, yang berjuang bersama-sama menyelesaikan studi di Jurusan Biologi

8. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik moril maupun materiil.

Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberi manfaat bagi penulis khususnya, dan bagi para pembaca pada umumnya. Semoga Allah *Subhanahu wa Ta'ala* senantiasa melindungi dan melimpahkan Rahmat dan Ridlo-Nya. Amin

Malang, 28 September 2016

Penulis

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL ..... **i**
HALAMAN PENGAJUAN ..... **ii**
HALAMAN PERSETUJUAN ..... **iii**
HALAMAN PENGESAHAN ..... **iv**
HALAMAN PERNYATAAN ..... **v**
HALAMAN PERSEMBAHAN ..... **vi**
HALAMAN MOTTO ..... **vii**
KATA PENGANTAR ..... **viii**
DAFTAR ISI ..... **x**
DAFTAR GAMBAR ..... **xiii**
DAFTAR TABEL ..... **xiv**
DAFTAR LAMPIRAN ..... **xv**
ABSTRAK ..... **xvi**
ABSTRACT ..... **xvii**
مستخلص البحث ..... **xviii**

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 5
1.3 Tujuan 5
1.4 Hipotesis 6
1.5 Manfaat 6
1.6 Batasan Masalah 7

BAB II KAJIAN PUSTAKA

2.1 Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*) 8
2.1.1 Tinjauan Umum Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*) 8
2.1.2 Taksonomi Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*) 9
2.1.3 Deskripsi Morfologi Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*) 10
2.1.4 Kandungan Daun Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*) 11
2.1.5 Steroid 11
2.1.6 Saponin 12
2.1.7 Flavonoid 13
2.2 Kambing 14
2.2.1 Tinjauan Umum Kambing 14
2.2.2 Klasifikasi Kambing 15
2.3 Tinjauan Umum Sistem Reproduksi Betina 15
2.4 Folikulogenesis 17
2.4.1 Folikel Primordial 19

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.4.2 Folikel Primer 20
2.4.3 Folikel Sekunder 21
2.4.4 Folikel Tersier 23
2.4.5 Folikel de Graff 25

2.5 Peran Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga Terhadap Tingkat Kematangan Folikel Ovarium 26
2.6 Metode Kultur Secara In Vitro 28
2.7 Medium Maturasi 29
2.8 Metode Ekstrasi 30

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian 35
3.2 Variabel Penelitian 35
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian 36
3.4 Alat dan Bahan 36
3.4.1 Alat 36
3.4.2 Bahan 36
3.5 Prosedur Penelitian 37
3.6 Langkah Penelitian 39
3.6.1.1 Persiapan Alat dan Bahan 39
3.6.1.2 Pembuatan Ekstrak Daun Sisik Naga 39
3.6.1.3 Pengenceran *dimethylsulfoxide* (DMSO) 40
3.6.1.4 Pengenceran Ekstrak Daun Sisik Naga dengan DMSO 41
3.6.1.5 Pembuatan Medium TCM 199 41
3.6.1.6 Penentuan Konsentrasi Ekstrak Daun Sisik Naga dalan Media Kultur 39
3.6.2 Tahap Pelaksanaan 41
3.6.2.1 Koleksi Ovarium 41
3.6.2.2 Isolasi Folikel dan Kultur Folikel Ovarium 42
3.6.2.3 Kultur Sel Folikel Ovarium dan Perlakuan 44
3.6.3 Analisis Data 45

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*) Terhadap Tingkat Kematangan Folikel Ovarium Kambing (*Capra aegagrus* Hircus) Secara *In-Vitro* 46
4.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*) Terhadap Kualitas Ovum 52

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan 56
5.2 Saran 56

DAFTAR PUSTAKA 57
LAMPIRAN 64

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1 Daun Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*) 11
Gambar 2.2 Struktur Steroid 12
Gambar 2.3 Struktur Flavonoid 13
Gambar 2.4 Kambing Etawa 15
Gambar 2.5 Tahap Folikulogenesis 18
Gambar 2.6 Folikel Primordial 20
Gambar 2.7 Folikel Primer 21
Gambar 2.8 Folikel Sekunder 23
Gambar 3.1 Bagan Penelitian 38

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR TABEL

Halaman

Gambar 4.1 Rata-Rata Pengaruh Pemberian Ektrak Etanol Daun Sisik Naga Terhadap Tingkat Kematangan Folikel Ovarium Kambing 47

Gambar 4.2 Tabel Anova Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*) Terhadap Tingkat Kematangan Folikel Ovarium Kambing secara In Vitro 50

Gambar 4.2 Tabel oosit hasil dari Folikel Yang dikultur Secara In Vitro selama 6 Hari masa inkubasi.....53

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ABSTRAK

Hati, Intan Rafika Permata. 2016. **Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga *(Pyrrosia piloselloides)* Terhadap Tingkat Kematangan Folikel Ovarium Kambing *(Capra aegagrus hircus)* Secara *In Vitro.*** Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing Biologi: Kholifah Holil, M.Si. pembimbing Agama: Umaiyatus Syarifah, M.A

Kata Kunci : Ekstrak Etanol, Daun Sisik Naga *(Pyrrosia piloselloides)*, Folikel, Ovum, In Vitro.

Sisik naga *(Pyrrosia piloselloides)* merupakan tanaman herbal yang mempunyai kandungan berupa steroid, saponin dan flavonoid. Ketiga senyawa ini diduga dapat mempengaruhi tingkat kematangan folikel dan kualitas oosit karena senyawa tersebut memiliki kandungan antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sisik naga *(Pyrrosia piloselloides)* terhadap tingkat kematangan folikel ovarium kambing *(Capra aegagrus hircus)* secara *in vitro.*

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan terdiri dari P0 (0% ekstrak), P1 (1% ekstrak), P2 (1,5% ekstrak), P3 (2% ekstrak), P4 (2,5% ekstrak) dan diulang sebanyak 3 kali. Subjek penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah folikel ovarium kambing yang didapatkan dari Rumah Potong Hewan (RPH) Sukun Malang dikultur dengan menggunakan media TCM 199 selama 6 hari masa inkubasi. Parameter dalam penelitian ini meliputi tingkat kematangan folikel dan kualitas ovum. Analisis data menggunakan deskriptif dan One Way Anova 5%.

Hasil dari penelitian ini secara deskriptif menunjukkan bahwa kandungan antioksidan dalam ekstrak etanol daun sisik naga memberikan pengaruh terhadap kematangan folikel ovarium kambing. Namun, secara statistik penggunaan ekstrak etanol daun sisik naga dengan perlakuan P0 (0%), P1 (1%), P2 (1,5%), P3 (2%), P4 (2,5%) menunjukkan tidak ada pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sisik naga *(Pyrrosia piloselloides)* terhadap tingkat kematangan folikel ovarium kambing *(Capra aegagrus hircus)* secara *in vitro*. Hal tersebut dimungkinkan karena kurangnya konsentrasi ekstrak etanol daun sisik naga yang digunakan dalan penelitian ini.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ABSTRACT

Hati, Intan Rafika Permata. 2016. The influence of giving of Extract Ethanol of Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*) against Maturity Level of goat Ovarian Follicles (*Capra aegagrus hircus*) Through In Vitro. Thesis. Department of Biology, Faculty of Science and Technology of the State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor: Kholifah Holil, M.Sc. Religion Supervisor: Umaiyatus Syarifah, M.A

Keywords: Extract of Ethanol, Leaf of Sisik Naga (Pyrrosia piloselloides), Follicle, In Vitro.

Sisik Naga (Pyrrosia piloselloides) is an herbal plant that has steroid content, saponins and flavonoids. All three of these compounds can affect the level of maturity of follicles and oocytes quality since the compound has antioxidant properties that can repair damage to the cells. This study aimed to determine the effect of ethanol extract of leaves of Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*) against the level of maturity of the goat ovarian follicle (*Capra aegagrus hircus*) through in vitro.

This study was an experimental study that was using a completely randomized design (CRD) with 5 treatments consisted of P0 (0% extract), P1 (1% extract), P2 (1.5% extract), P3 (2% extract), P4 (2,5% extract) and repeated in 3 times. The subject used the goat ovarian follicles obtained from Slaughter House (RPH) of Sukun Malang cultured using media of TCM 199 for 6 days of incubation in an incubator at a temperature of 37C, 5% CO2. The parameters in this study included follicle maturity level and quality of the ovum. Data analysis used descriptive and One Way Anova, it was 5%.

The results of this study descriptively indicated that the antioxidant content in the ethanol extract of leaves of Sisik Naga gave effect to the maturation of goat ovarian follicles. However, statistically the use of ethanol extract of leaves of Sisik Naga with treatment P0 (0%), P1 (1%), P2 (1.5%), P3 (2%), P4 (2.5%) had no effect on the level of maturity goat ovarian follicles (*Capra aegagrus hircus*) through in vitro. This was possible because of the lack of concentration of ethanol extract of leaves of Sisik Naga used role in this study, so it did not give effect to the level of maturity of the goat ovarian follicle (*Capra aegagrus hircus*) through in vitro

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

الملخص

هاتى، إنتان رافيكا فيرماتا. 2016. تأثير استخراج الايثانول ورقة *Pyrrosia piloselloides* على مستوى النضج المسام المبيض الماعز *Capra aegagrus hircus* في المختبر *In Vitro*. بحث جامعى. قسم الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا في جامعة الإسلامية الحكومية مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرف، خليفة خليل، الماجستيرة، المشرف الدين: أمية الشريفة، الماجستيرة

كلمات الرئيسية: استخراج الإيثانول، ورقة *Pyrrosia piloselloides*، المسام في المختبر.

Pyrrosia piloselloides هو نبات عشبي يحتوي على المحتوى الستيرويد، الصابونين وفلافونيدات. كل ثلاثة من هذه المركبات تمكن أن تؤثر على مستوى من النضج بصيلات والبويضات جودة منذ مركب له خصائص مضادة للأكسدة قد إصلاح الأضرار التي لحقت الخلايا. هدفت هذه الدراسة لتحديد تأثير استخراج الإيثانول من أوراق *Pyrrosia piloselloides* مستوى النضج المسام المبيض الماعز *Capra aegagrus hircus* في المختبر *In Vitro*

وكانت هذه الدراسة دراسة تجريبية باستخدام تصميم كامل العشوائية (CRD) مع خمسة علاجات تتكون من مقتطف P0 (0% استخراج) P1 (1% استخراج) P2 (5،1% استخراج) P3 (2% استخراج) P4 (5،2% استخراج) وتكرر 3 مرات. العينة المستخدمة في هذه الدراسة هي الماعز حويصلات المبيض تم الحصول عليها من مسالخ (RPH) سوكون مالانج مثقف باستخدام وسائل الإعلام TCM 199 لمدة 6 أيام من الحضانة في حاضنة عند درجة حرارة 37˚c, 5% CO2 وتشمل المعلمات في هذه الدراسة مستوى النضج بصيلات وجودة البويضة. تحليل البيانات باستخدام صفي وطريقة واحدة أنوفا One Way Anova 5٪.

نتائج هذه الدراسة تشير صفي أن مضادات الأكسدة في استخراج الإيثانول من أوراق سيسيك ناكا إنفاذ نضوج الجريبات المبيضية الماعز. ومع ذلك، كان إحصائيا استخدام استخراج الإيثانول من أوراق سيسيك ناكا مع العلاج P0 (0٪)، P1 (1)٪، P2 (1.5٪)، P3 (2%)، P4 (5،2%) أي تأثير على مستوى من النضج المبيض بصيلات الماعز في المختبر. وهذا ممكن بسبب عدم وجود تركيز استخراج الإيثانول من أوراق سيسيك ناكا استخدام دور في هذه الدراسة، لذلك لا يعطي المعنى إلى مستوى النضج المسام المبيض الماعز *Capra aegagrus hircus* في المختبر

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Folikel ovarium merupakan bagian terluar dari korteks yang merupakan salah satu unit fungsional terpenting pada ovarium dalam proses oogenesis yang akan menghasilkan ovum. Folikel memiliki inti sel yang dilapisi oleh membran sel serta beberapa sel folikuler. Inti sel ini mempunyai potensi untuk berkembang dan matang menjadi sel telur (ovum). Oleh karena itu matangnya ovum mengikuti perkembangan dan kematangan folikel. Akan tetapi, ada beberapa kendala yang terjadi pada folikel sehingga folikel tersebut tidak dapat berkembang dan matang.

Kendala yang terjadi pada proses tersebut disebabkan karena adanya penyimpangan pada saat folikulogenesis. Gangguan yang terjadi pada proses folikulogenesis adalah gangguan pada sel granulosa dan sel teka yang menyebabkan keduanya tidak dapat membentuk antrum dan mensekresikan cairan folikular yang mengandung estrogen tinggi (Yatim, 1996; Fitri, 2009; Kustono dkk, 2014; Kandar, 2014). Salah satu penyebab terjadinya gangguan yang terjadi pada sel teka dan sel granulosa adalah stres oksidatif.

Stres oksidatif merupakan suatu keadaan dimana rusaknya sel-sel yang ada didalam tubuh. Hal tersebut terjadi karena adanya radikal bebas, dimana atom atau molekul yang tidak berpasangan. Radikal bebas merupakan senyawa reaktif karena bersifat menyerang elektron disekitarnya. Cara untuk mengatasi gangguan tersebut adalah dengan menyediakan atom yang dapat berikatan dengan radikal bebas yang salah satunya adalah antioksidan.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*electron's donor*) atau reduktan. Antioksidan akan memberikan atau mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa oksidan, sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihambat. Antioksidan dapat menghambat kerusakan sel yang disebabkan oleh stres oksidatif maupun radikal bebas (Winarsi, 2007).

Stres oksidatif yang menggangu proses folikulogenesis pada folikel dapat dihindari dengan adanya agen kimia yang salah satunya adalah flavonoid. Senyawa Flavonoid dapat mempengaruhi kerja stres oksidatif pada folikulogenesis dengan cara mengaktifasi kerja enzim pada folikel agar hormon-hormon yang ada didalam folikel tidak terganggu, sehingga proses folikulogenesis dapat bekerja dengan baik (Moller, 1996). Flavonoid yang ada pada daun sisik naga yang mengandung antioksidan diharapkan mampu mengatur sistem kultur sel didalam medium, dimana Flavonoid tersebut dapat mendukung proses pematangan folikel serta dapat mempertahankan hidup sel lebih lama, agar dapat tetap tumbuh dan matang.

Salah satu tumbuhan yang memiliki kandungan flavonoid adalah *(Pyrossia piloselloides)* atau yang lebih dikenal dengan daun sisik naga. Dalam al-Qur'an yang terdapat dalam surat As-Syu'ara ayat 7 telah dijelaskan oleh Allah SWT meskipun tidak mengacu pada daun sisik naga secara langsung bahwa Allah SWT telah menumbuhkan tumbuhan yang baik yang mengandung banyak manfaat. Adapun surat as-Syu'ara (26 : 7) yang dimaksud adalah sebagai berikut:

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

أَوَلَمۡ يَرَوۡاْ إِلَى ٱلۡأَرۡضِ كَمۡ أَنۢبَتۡنَا فِيهَا مِن كُلِّ زَوۡجٖ كَرِيمٍ ۝٧

Artinya :"Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan dibumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik ?"

Berdasarkan firman Allah SWT pada al-Qur'an surat as-Syu'ara (26 : 7) kata Karim (كَرِيم) berarti baik/mulia. Adapun kata al-karam dalam bahasa arab adalah al-fadl (keutamaan). Kata tersebut menunjuk pada kata Anbatna (أَنۢبَتۡنَا) yang berarti menumbuhkan tanaman. Allah SWT menumbuhkan dan menjadikan tanaman tersebut sebagai tanaman yang baik yang memiliki banyak manfaat (Katsir 2004; Qurthubi 2008). Berdasarkan kedua tafsir tersebut dapat diambil kesimpulan bahwasanya Allah SWT telah menumbuhkan bermacam-macam tanaman yang ada dibumi yang memiliki banyak manfaat diantaranya dapat digunakan sebagai tanaman obat.

Berbagai penelitian baik secara in vivo maupun secara in vitro telah dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian antioksidan terhadap penyakit-penyakit yang berhubungan dengan stres oksidatif. Penelitian yang dilakukan oleh Kandar (2014) dengan menggunakan metode in vivo melaporkan bahwa penggunaan antioksidan jenis ALA (*Alpha Lipoic Acid)* secara oral dengan dosis 1,02 mg sangat efektif dalam menghambat gangguan folikulogenesis yang terjadi sebagai akibat stres oksidatif, dilihat dari penurunan jumlah folikel sekunder dan folikel de Graff serta jumlah folikel atresia pada mencit. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Goldman, M.B *et all* (2008) memaparkan bahwa penggunaan antioksidan (Vitamin E) dengan kadar (40 pg / ml) dapat membantu sel folikel

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

terhindar dari apoptosis dan membantu proses folikulogenesis agar terhindar dari gangguan ROS (Radikal oksidatif stres) dengan metode *in vitro*.

Penelitian yang dilakukan oleh Lima (2009) menggunakan antioksidan jenis *α*-tocopherol dan ternatin terhadap morfologi dan pertumbuhan folikel secara *in vitro* dalam 1 hari dan 5 hari masa kultur, penelitian tersebut membuktikan bahwa ada perbedaan hasil yang didapat pada folikel yang dikultur dalam waktu 1 hari serta folikel yang dikultur dalam waktu 5 hari. Penelitian ini dapat membantu sel agar terhindar dari stres oksidatif. Meskipun penelitian tersebut menggunakan antioksidan jenis lain, namun penelitian tersebut cukup membuktikan bahwa antioksidan dapat membantu sel dalam mengatasi stres oksidatif. Diharapkan dengan menggunakan antioksidan dari bahan alam juga memungkinkan punya potensi yang sama. Berdasarkan uji fitokima yang telah dilakukan oleh Chaqiqi (2013) didapatkan bahwa pada daun sisik naga mengandung steroid, tanin, dan flavonoid yang diduga memiliki kandungan antioksidan

Pada organ reproduksi betina hal yang sama yang mengalami stres oksidatif adalah folikel. Folikulogenesis menjadi bagian yang perlu diperhatikan agar terhindar dari stres oksidatif, karena diharapkan jika folikel mampu berkembang dengan baik maka akan dapat dihasilkan oosit/ovum juga dengan kualitas yang baik. Oleh karena itu penelitian ini menggunakan antioksidan alami dengan kadar 0%, 1%, 1,5%, 2%, dan 2,5%. Dosis ini sama dengan yang digunakan oleh Chaqiqi (2014) pada uji antioksidan alami pada organ reproduksi jantan, guna mengetahui kadar yang paling efektif pada antioksidan alami yang

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

didapat dari ekstrak etanol daun sisik naga *(pyrrosia piloselloides)* dapat membantu proses folikulogenesis agar terhindar dari gangguan stres oksidatif.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Apakah ada pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sisik naga *(Pyrrosia piloselloides)* terhadap tingkat kematangan folikel ovarium kambing secara in vitro ?
2. Bagaimana kualitas ovum yang didapat setelah menggunakan ekstrak etanol daun sisik naga yang diinkubasi selama 6 hari ?
3. Berapakah konsentrasi ekstrak etanol daun sisik naga yang paling berpengaruh terhadap tingkat kematangan folikel ovarium kambing secara in vitro ?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya :

1. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sisik naga *(Pyrrosia piloselloides)* terhadap tingkat kematangan folikel ovarium kambing secara in vitro.
2. Kualitas ovum yang didapat setelah menggunakan antioksidan pada daun sisik naga yang diinkubasi selama 6 hari.
3. Konsentrasi ekstrak etanol daun sisik naga yang paling berpengaruh terhadap tingkat kematangan folikel ovarium kambing secara in vitro.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

1.4 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah :

1. Adanya pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sisik naga *(Pyrrosia piloselloides)* terhadap tingkat kematangan folikel ovarium kambing secara in vitro.
2. Pada hari akhir inkubasi dapat ditemukan ovum dengan kualitas terbaik (metaphase II).
3. Dapat diketahui konsentrasi ekstrak etanol daun sisik naga yang paling berpengaruh terhadap tingkat kematangan folikel ovarium kambing secara in vitro.

1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang didapat dari penelitian ini adalah :

1. Secara teoritis, penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sisik naga *(Pyrrosia piloselloides)* terhadap tingkat kematangan folikel ovarium kambing secara in vitro
2. Memberikan informasi terkait kualitas ovum yang didapat setelah masa inkubasi
3. Secara aplikatif, penelitian ini diharapkan mampu memberikan kontribusi kepada masyarakat terkait penggunaan daun sisik naga *(Pyrrosia piloselloides)* yang diberikan kepada ternak agar ternak dapat terhindar dari gangguan stress oksidatif serta dapat menghasilkan ovum yang baik.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Ovarium yang digunakan didapat dari Rumah Potong Hewan daerah Sukun, dengan ukuran yang digunakan adalah :
   a. Ukuran folikel kecil : 2mm
   b. Ukuran folikel sedang : 3mm - 4mm
   c. Ukuran folikel besar : 5mm - 6mm
2. Masa inkubasi yang digunakan adalah selama 6 hari dengan menggunakan medium TCM-199, FBS, serta ekstrak etanol daun sisik naga dengan konsentrasi 0%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5%.
3. Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstrak daun sisik naga dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Bahan ekstraksi daun sisik naga yang didapatkan dari Materia Medica Malang.
4. Parameter pada penelitian ini adalah sebagai berikut:
   a. Tingkat kematangan folikel yang dilihat dari ukuran folikel pada hari ke 0 dan hari ke 6.
   b. Kualitas ovum yang dihasilkan oleh masing-masing folikel dilihat pada hari ke 6

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sisik Naga (*Pyrrosia Piloselloides*)

2.1.1 Tinjuan Umum Daun Sisik Naga (*Pyrrosia Piloselloides*)

Tanaman merupakan salah satu makhluk hidup ciptaan Allah. Tanaman yang tumbuh secara bebas dan dalam jumlah yang sangat banyak, memiliki manfaat yang dapat digunakan oleh manusia sebagai pemenuh kebutuhan hidup sehari-hari sebagai tanaman obat, salah satunya adalah tanaman daun sisik naga. Daun sisik naga merupakan salah satu bentuk nyata anugerah Allah SWT agar manusia senantiasa mengingat dan bersyukur kepadaNya. Allah berfirman dalam Q.S Al-An'am ayat 141 :

۞ وَهُوَ ٱلَّذِىٓ أَنشَأَ جَنَّٰتٍ مَّعْرُوشَٰتٍ وَغَيْرَ مَعْرُوشَٰتٍ وَٱلنَّخْلَ وَٱلزَّرْعَ مُخْتَلِفًا أُكُلُهُۥ وَٱلزَّيْتُونَ وَٱلرُّمَّانَ مُتَشَٰبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَٰبِهٍ ۚ كُلُوا۟ مِن ثَمَرِهِۦٓ إِذَآ أَثْمَرَ وَءَاتُوا۟ حَقَّهُۥ يَوْمَ حَصَادِهِۦ ۖ وَلَا تُسْرِفُوٓا۟ ۚ إِنَّهُۥ لَا يُحِبُّ ٱلْمُسْرِفِينَ ﴿١٤١﴾

Artinya: Dialah yang menjadikan kebun-kebun yang berjunjung dan yang tidak berjunjung, pohon korma, tanam-tanaman yang bermacam-macam buahnya, zaitun dan delima yang serupa (bentuk dan warnanya) dan tidak sama (rasanya). makanlah dari buahnya (yang bermacam-macam itu) bila Dia berbuah, dan tunaikanlah haknya di hari memetik hasilnya (dengan disedekahkan kepada fakir miskin); dan janganlah kamu berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang yang berlebih-lebihan (Q.S Al-An'am : 141).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa sesungguhnya Allah adalah Dzat yang menjadikan berbagai jenis tanaman. Ada yang tumbuh merambat di batang pohon, dan ada pula yang tidak merambat. Dia juga menciptakan pohon kurma dan berbagai jenis tumbuhan yang besar serta beraroma buahnya dan beraneka ragam.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Dia menjadikan buah zaitun dan delima yang serupa warnanya, tetapi tidak serupa rasanya, padahal tanahnya juga sama. Makanlah buahnya apabila ia berbuah, baik setelah matang ataupun belum. Keluarkan zakatnya pada waktu memetik (sebagian atau semua) hasilnya. Akan tetapi jangan berlebihan dalam memakan dan menginfakkannya, karena Allah pasti menyiksa orang orang yang melampaui batas syariatNya (Hamka, 1982).

Daun sisik naga merupakan salah satu jenis tumbuhan yang telah dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Sisik naga merupakan tanaman epifit yang tumbuh liar dibatang dan dahan pohon, sehingga dapat dengan mudah ditemukan dilingkungan sekitar. Sisik naga merupakan tumbuhan berhabitus terna dengan akar rimpang yang panjangnya 5-22cm, berukuran kecil, merayap, dan bersisik (Setiyowati, 2013).

Sahara (2014), menjelaskan bahwa daun sisik naga merupakan daun jenis herba yang banyak digunakan sebagai obat gondongan (*parotitis*), TBC kulit dengan pembesaran kelenjar getah bening (*skrofuloderma*), sakit kuning (*jaundice*), batuk, abses paru-paru, pendarahan pada perempuan, rematik, keputihan, kanker payudara, mimisan.

2.1.2 Taksonomi Sisik Naga (*Drymoglossum Piloselloides*)

Taksonomi *P. piloselloides* dalam sistematika tumbuhan adalah sebagai berikut (Hesti, 2008):

Kingdom : *Plantae*

Divisio : *Pteridophyta*

Class : *Pteridopsida*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Ordo : *Polypodiales*

Familia : *Polypodiaceae*

Genus : *Pyrrosia*

Spesies : *Pyrrosia piloselloides*

2.1.3 Deskripsi Morfologi Sisik Naga

Setiyowati (2013), mendefinisikan morfologi daun sisik naga berbentuk jorong atau jorong memanjang, ujungnya tumpul atau membundar, pangkal runcing, bertepi rata, tebal berdaging, dan bertangkai pendek. Permukaan daun yang tua tidak berambut atau berambut jarang pada permukaan bawahnya. Warna daunnya hijau sampai hijau kecokelatan. Daun yang fertil mengandung spora, bertangkai pendek atau duduk, berbentuk oval memanjang, panjangnya 1-5 cm, dengan lebar 1-2 cm. Sedangkan daun yang steril tidak mengandung spora, berbentuk bulat, panjangnya 1-3 cm, dengan lebar 1-2 cm.

Rahayu (2014), daun sisik naga berwarna hijau sampai hijau kecoklatan. Pada umumnya daun tanaman ini bertangkai pendek, tebal berdaging, berbentuk jorong atau jorong memanjang, ujungnya tumpul atau membundar serta tepi daunnya rata. Bentuk daun sisik naga yang bulat sampai jorong hampir sama dengan uang logam picisan, sehingga tanaman ini juga dinamakan picisan. Jarak tumbuh antara daun yang satu dengan daun yang lainnya sangat pendek. (gambar 2.1). Daun sisik naga dibagi menjadi dua jenis yaitu daun sisik naga berspora dan daun sisik naga mandul. Daun sisik naga berspora dapat dikembangbiakkan dengan spora yang dimiliki, sedangkan daun sisik naga yang mandul dikembanmgbiakkan dengan pemisahan akar.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Gambar 2.1 Morfologi Daun Sisik Naga (*D. piloselloides*)

2.1.4 Kandungan Daun Sisik Naga (*D. piloselloides*)

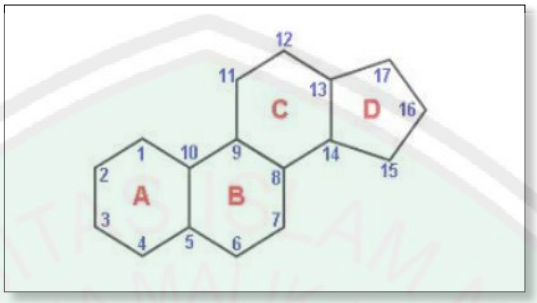
Daun sisik naga (*D. piloselloides*) mengandung senyawa bioaktif seperti steroid, saponin, polifenol, minyak atsiri, fenol, flavonoid dan tanin (Setiyowati, 2013). Penelitian yang dilakukan oleh Setiyowati (2013) juga mengemukakan bahwa kandungan bioaktif yang ada pada daun sisik naga berpotensial sebagai antifungi dan antibakteri. Sedangkan penelitian lainnya mengemukakan bahwa kandungan pada daun sisik naga berpotensial sebagai antioksidan serta obat (Rohyami, 2008). Penjelasan lebih rinci senyawa bioaktif yang terkandung dalam sisik naga adalah sebagai berikut (Rohyami, 2008):

2.1.5 Steroid

Steroid adalah sebuah kelas tanaman metabolit sekunder. Steroid merupakan senyawa organik lemak sterol tidak terhidrolisis yang merupakan hasil reaksi dari turunan terpena atau skualena. Steroid mempunyai kerangka dasar triterpena asiklik. Ciri umum steroid ialah sistem empat cincin yang tergabung. Cincin A, B dan C beranggotakan enam atom karbon, dan cincin D beranggotakan lima atom karbon (gambar 2:2) (Rahayu, 2013; Poedjiaji, 1994). Steroid digolongkan sebagai lipid karena tidak dapat larut dalam air. Steroid yang

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ada pada tumbuhan atau disebut juga fitosterol dapat diekstraksi menggunakan eter atau metanol (Rahayu, 2013).



Gambar 2.2 Struktur Kimia Steroid

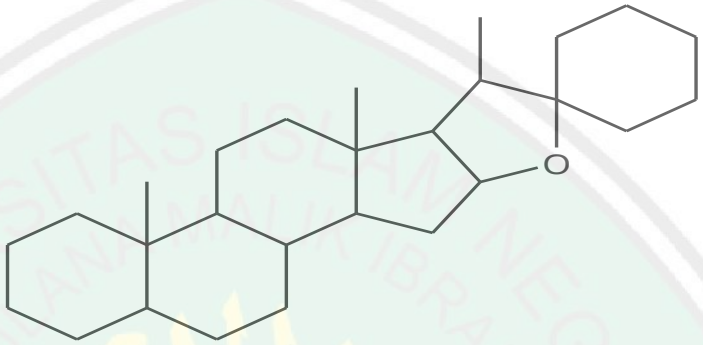
2.1.6 Senyawa Saponin

Saponin adalah suatu glikosida yang banyak ditemukan pada tanaman. Saponin ada pada seluruh tanaman dengan konsentrasi tinggi pada bagian-bagian tertentu, dan dipengaruhi oleh varietas tanaman dan tahap pertumbuhan. Fungsi dalam tumbuh-tumbuhan tidak diketahui, mungkin sebagai bentuk penyimpanan karbohidrat, atau merupakan *waste product* dari metabolisme tumbuh-tumbuhan. Kemungkinan lain adalah sebagai pelindung terhadap serangan serangga (Wati, 2010).

Saponin mengandung gugus gula terutama glukosa, galaktosa, xylosa, rhamnosa atau methilpentosa yang berikatan dengan suatu aglikon hidrofobik (sapogenin) berupa triterpenoid, steroid atau steroid alkaloid. Aglikon dapat mengandung satu atau lebih ikatan C-C tak jenuh. Rantai oligosakarida umumnya terikat pada posisi C3 (monodesmosidic), tetapi beberapa saponin mempunyai gugus gula tambahan pada C26 atau C28 (bidesmosidic). Struktur saponin yang sangat kompleks terjadi akibat bervariasinya struktur aglikon, sifat dasar rantai

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dan posisi penempelan gugus gula pada aglikon. Struktur kimia Saponin seperti pada gambar 2.3 di bawah ini (Wati, 2010).



Gambar 2.3 Struktur Kimia Saponin

2.1.7 Senyawa Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol yang terdapat pada tanaman hijau, kecuali alga. Secara umum flavonoid merupakan senyawa yang bertanggung jawab memberikan warna yang menarik terhadap bunga, buah dan daun. Warna yang dihasilkan berfungsi untuk menarik serangga dalam proses penyerbukan, proteksi terhadap jamur atau sinar UV-B dan lain sebagainya (Raharjo, 2012).

Flavonoid mempunyai dua cincin aromatis dengan 3 atom C diantara cincin (C_6-C_3-C_6) (Markham, 1988). Dari kerangka flavonoid tersebut dapat terbentuk tiga kelompok dasar struktur yaitu flavonoid, isoflavonoid dan neoflavonoid, sebagian flavonoid yang terdapat pada tumbuhan terikat pada molekul gula sebagai glukosida (Fitri, 2009). Sedangkan menurut Harbone (1987) flavonoid dapat digolongkan menjadi 6 kelas, yaitu flavone, flavonone, isoflavone, flavonol,

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

flavanol, dan anthocyanin (Hartoyo, 2003; Nabeel, 2010). Selain itu Harbone (1996) menjelaskan bahwa senyawa flavonoid memiliki kemampuan larut dalam air dan dapat diekstraksi dengan menggunakan etanol 70% serta akan tetap larut dalam lapisan air.

2.2 Kambing

2.2.1 Tinjauan Umum Kambing

Kambing merupakan jenis ternak yang sudah lama dibudidayakan. Kambing mempunyai beberapa sifat yang menguntungkan, diantaranya adalah cepat berkembang biak. Kambing merupakan ternak ruminansia kecil yang menduduki tempat tersendiri dikalangan bangsa-bangsa di Asia dan Afrika. (Sutiyono *et al*., 2006). Peran ternak ruminansia kecil ini telah memberi sumbangan yang sangat berarti bagi kesehatan dan gizi berjuta-juta penduduk di negara-negara berkembang, terutama mereka yang hidup di bawah garis kemiskinan (Sarwono, 2011).

Beberapa jenis kambing di Indonesia tersebar di daerah kering dan berbukit atau daerah pegunungan. Kambing adalah jenis hewan yang takut air. Salah satu contoh kambing yang ada di Indonesia adalah kambing kacang. Ciri-ciri kambing kacang adalah berbadan kecil, telinga pendek tegak, leher pendek, punggung meninggi, jantan dan betina bertanduk, tinggi badan jantan dewasa rata-rata 60-65 cm, tinggi badan betina dewasa rata-rata 56cm, bobot dewasa untuk betina rata-rata 20 kg dan jantan 25 kg (Prabowo, 2010).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Gambar 2.4 Kambing Kacang (Prabowo, 2010)

2.2.2 Klasifikasi Kambing

Klasifikasi kambing menurut Kusuma (2009):

Phylum : Chordata
Class : Mamalia
Order : Artiodactyla
Family : Bovidae
Genus : Capra
Species : *Capra aegagrus hircus* (linnaeus)

2.3 Tinjauan Umum Sistem Reproduksi Betina

Organ reproduksi wanita terdiri dari ovarium, tuba fallopii (oviduct), uterus, dan vagina (Ramaley *et al.*, 1979). Ovarium merupakan salah satu organ reproduksi primer betina yang mempunyai dua fungsi dasar yaitu sebagai organ eksokrin yang memproduksi sel telur dan sebagai organ endokrin yang memproduksi hormon kelamin betina yaitu estrogen, progesteron, androgen, dan prekursornya (Tarwoto *et al*., 2009).

Ovarium mempunyai ukuran dan bentuk yang bervariasi tergantung spesies dan siklus birahi. Pada domba dan kambing memiliki ovarium berbentuk oval (Hafez, 1987: Toelihere, 1977). Menurut Hardjopranjoto (1995), setiap ovarium terdiri dari dua bagian yaitu bagian tengah yang disebut medulla, dan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

sebuah lapisan yang tebal mengelilingi medulla yang disebut kortex. Bagian korteks terdiri dari epitel berkecambah, folikel dari berbagai ukuran dan tingkat pertumbuhan, korpus luteum, korpus albikan, dan tenunan pengikat. Bagian medulla terdiri dari pembuluh darah, syaraf dan pembuluh limfe, serta banyak tenunan pengikat fibroblast. Epitel kecambah (*germinal epithelium*) menyelimuti permukaan ovarium dan merupakan asal dari folikel yang selalu berkembang secara tetap.

Folikel ovarium merupakan organ penting dalam sistem reproduksi betina. Ovarium atau indung telur terdiri dari beberapa folikel. Masing-masing folikel mengandung satu sel telur. Setiap satu bulan, folikel mengalami perkembangan, dimana sel telur immature menjadi mature. Setelah sel telur mature, folikel akan mengeluarkannya dari ovarium, proses pengeluaran tersebut disebut ovulasi.

Hamdani dkk (2007), mengemukakan bahwa folikel kambing dibagi atas 3 kelompok berdasarkan ukuran diameternya. Diameter kecil berukuran <2mm, dan diameter sedang berukuran 3mm-5mm, serta diameter besar berukuran ≥5mm. Sedangkan Wahjuningsih (2011), mengemukakan bahwa folikel dibagi menjadi 2 kelompok yaitu ukuran kecil 2mm - 4mm sedangkan ukuran besar ≥4mm.

Folikel terdiri dari inti sel yang dilapisi oleh membran sel. Inti sel ini mempunyai potensi untuk berkembang dan matang menjadi sel telur apabila sel telur berkembang secara sempurna, tetapi ada beberapa folikel yang tidak mengalami pematangan dan perkembangan secara sempurna. Salah satu proses perkembangbiakkan folikel disebut folikulogenesis (Kandar, 2014).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.4 Folikulogenesis

Proses folikulogenesis adalah proses perubahan yang ditandai dengan adanya perubahan proliferasi dan differensiasi komponen sel pada folikel. Dari proses ini folikel akan berkembang mulai dari folikel primordial sampai folikel tersier. Selain itu pada tahap ini juga terjadi perubahan ekspresi mRNA yang mengkode reseptor GnRH dan hormon steroid. Hal tersebut terjadi karena adanya upaya untuk menyediakan lingkungan yang optimal untuk maturasi oosit (Fausiah, 2014). Folikulogenesis dapat dibagi menjadi tiga tahap yaitu (Fausiah, 2014):

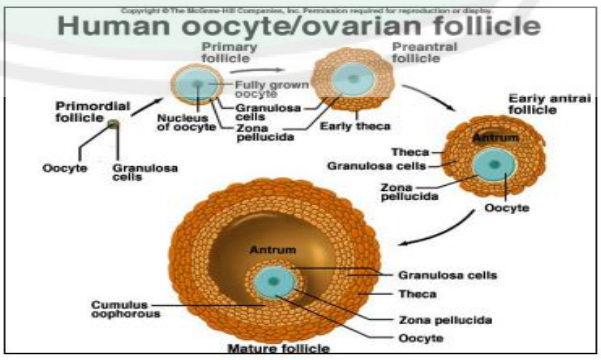
1. Rekrutmen, tahap pertumbuhan folikel yang cepat. Pertumbuhan ini terjadi dari folikel primordial menjadi folikel primer dan folikel sekunder.
2. Seleksi, proses penseleksian folikel untuk pertumbuhan lebih lanjut menjadi folikel subordinat.
3. Dominasi, proses perkembangan folikel dominan yang cepat dan perkembangan folikel subordinat akan tertekan oleh folikel dominan. Dominasi folikel dan penghambatan pertumbuhan folikel subordinat disebabkan oleh meningkatnya *follicle growt inhibiting factor* (FGIF) yang diproduksi oleh folikel dominan. FGIF akan menghambat proliferasi sel granulosa yang menstimulasi FSH dan aktivitas aromatase, selain itu juga menghambat vaskularisasi folikel subordinat. Selain hormon, proses folikulogenesis dikontrol oleh factor endokrin atau paraktrim seperti growth factor misalnya *insulin-like growth factor* (IGF), *Transforming Growth factor* (TGF β), *Fibroblast Growth Factor* (FGF) dan *Epidermal Growth Factor* (EGF). IGF

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

berfungsi untuk menstimulasi proliferasi dan diferensiasi sel granulosa dan sel teka (Fausiah, 2014).

Folikulogenesis dimulai dengan diambilnya folikel primordial ke dalam suatu kumpulan yang berisi folikel-folikel yang sedang tumbuh berkembang dan dapat diakhiri dengan ovulasi maupun atresia. Folikulogenesis merupakan proses yang sangat panjang. Waktu yang dibutuhkan sekitar 1 tahun bagi folikel primordial untuk tumbuh dan berkembang mencapai stadium ovulasi (Kandar, 2014).

Syamsuddin (2014), menjelaskan bahwa folikulogenesis dilihat dari perubahan ukuran, jumlah lapisan sel pada granulosa, perkembangan sel teka interna dan eksterna, posisi sel telur di sekeliling cumulus oophorusnya, dan peningkatan volume cairan rongga folikel. Oosit berada dalam folikel yang terdapat pada bagian korteks ovarium. Folikel mengalami berbagai tahap perkembangan yang berawal dari terbentuknya folikel primordial sampai berkembang menjadi folikel matang dan oosit siap diovulasikan. Berdasarkan perubahan morfologinya, folikel diklasifikasikan dalam 3 kelompok yaitu folikel primer, folikel sekunder dan folikel tersier atau folikel de Graaf (Sari, 2008).



Gambar 2.5 Tahapan perkembangan folikel ovarium

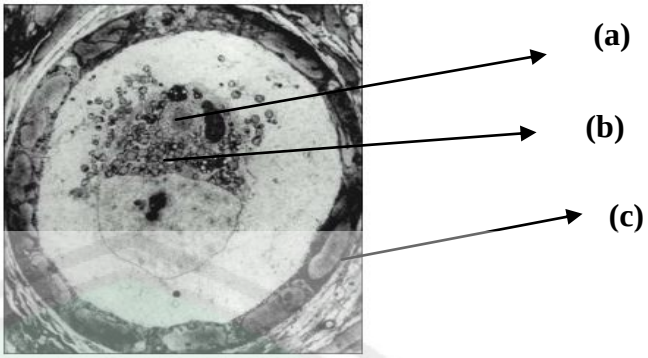
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.4.1 Folikel Primordial

Folikel primordial merupakan unit dasar terpenting reproduksi dari ovarium. Oleh karena itu folikel primordial berkembang menjadi folikel dominan. Masuknya suatu folikel primordial yang telah tersedia ke kumpulan folikel-folikel yang sedang tumbuh dikatakan sebagai proses pengambilan atau transisi folikel primordial menjadi folikel primer. Folikel primordial tumbuh dan berkembang menjadi folikel primer tidak tergantung pada *Follicle Stimulating Hormon* (FSH). (Sproff, 2005), karena folikel primordial tidak memiliki suplai darah sendiri sehingga hubungan dengan sistem endokrin pun menjadi terbatas (Anwar, 2005).

Secara histologis, folikel primordial mengandung satu oosit primer berukuran kecil (diameter -25µm) yang tertahan dalam stadium profase dari meiosis I, satu lapis sel granulosa gepeng atau skuamous, dan lamina basalis (gambar: 2.6). Dengan adanya lamina basalis maka akan tercipta suatu lingkungan mikro yang mendukung pertumbuhan dari sel granulosa dan oosit. lamina basalis ini berfungsi agar kontak langsung dengan sel-sel lain tidak terjadi. Seluruh folikel primordial (oosit) dibentuk pada saat masa fetus diantara umur gestasi bulan ke-6 dan ke-9. Oleh karena itu, dapat dipahami bahwa semua oosit yang berpartisipasi dalam siklus reproduksi betina selama hidupnya telah ada dalam ovarium sejak lahir. Jumlah folikel primordial dalam ovarium betina berhubungan dengan masa reproduksi betina atau *ovary reserve* (OR) (Anwar, 2005).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Gambar 2.6 Folikel primordial (PF). (a) Oosit dengan vesikel germinalnya (GV) atau (b) nucleus dikelilingi oleh satu lapis sel granulosa skuamosa (GC), (c) yang keduanya dikelilingi oleh lamina basalis (BL).

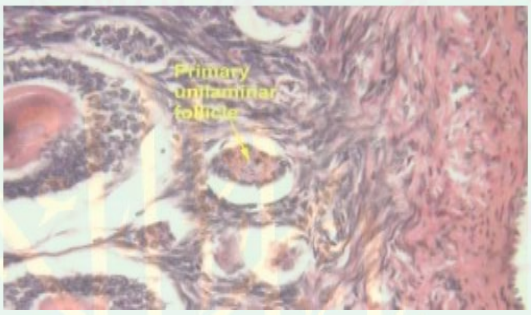
2.4.2 Folikel Primer

Folikel primer ditandai dengan adanya satu atau lebih sel granulosa kuboid yang tersusun dalam satu lapisan sel yang mengelilingi oosit. Proses perkembangan utama yang terjadi pada folikel primer termasuk ekspresi reseptor FSH pertumbuhan dan diferensiasi oosit (Anwar, 2005). Kandar (2014), menjelaskan bahwa tahapan folikulogenesis dimulai pada folikel primer, dimana oosit juga mulai tumbuh. Folikel primer terdiri dari oosit yang dikelilingi oleh satu lapisan (unilaminer) sel granulosa skuamosa. Sel granulosa terletak diatas suatu membran basalis yang memisahkan dari sel stroma di sekelilingnya yang membentuk teka folikuli. Sel-sel granulosa dan oosit akan mengeluarkan lapisan glikoprotein yang mengelilingi oosit, yang disebut zona pellusida. Proses utama yang terjadi pada folikel primer yaitu ekspresi reseptor FSH, pertumbuhan serta diferensiasi oosit.

Folikel primer terdiri dari oosit yang dikelilingi oleh lapisan sel epitel sedangkan sel teka belum terbentuk, sebagian besar folikel primer tersebut akan mengalami regresi. Lapisan sel-sel yang mengelilingi folikel primer disebut

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

stratum granulosum atau lapisan granulosa (Partodiharjo, 1980). Rusmiatik (2013), menjelaskan bahwa perkembangan folikel primer merupakan stadium pertama pertumbuhan folikel. Oosit mulai tumbuh dan terbentuk zona pellusida yang mengelilingi oosit. Zona pellusida tersebut disintesis oleh oosit dan sel granulosa yang terletak diantara oosit dan lapisan sel granulosa. Pada akhir stadium ini, sel-sel granulosa mengalami perubahan morfologi dari skuamosa menjadi kuboidal (gambar 2.9).



Gambar 2.9 Folikel Primer

Folikel primer dengan rangsangan dari FSH yang disekresikan oleh pituitari anterior akan tumbuh dan berkembang menjadi folikel sekunder (Guyton & Hall, 1996). Hal tersebut terjadi karena pada tahap ini reseptor FSH pada sel granulosa sudah terekspresi. Sehingga FSH yang disekresikan oleh pituitari anterior akan berikatan dengan reseptor FSH pada sel granolosa (Campbell, 2005) dan berperan penting dalam proses mitosis sel granulosa. Kekurangan FSH pada tahap ini akan menghambat pertumbuhan dan perkembangan folikel sehingga folikel menjadi atresia (Wiknjosastro, 2005).

2.4.3 Folikel Sekunder

Perkembangan selanjutnya adalah dari folikel primer membentuk folikel sekunder. Pada fase ini pertama kalinya folikel mengalami perbanyakan sel dan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

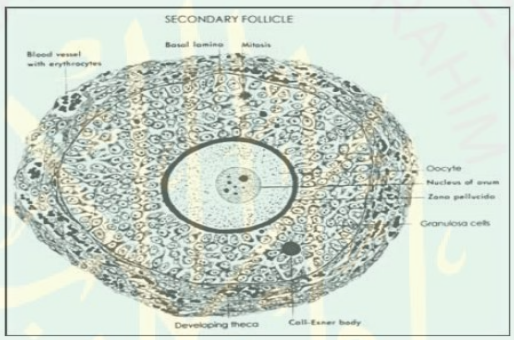
terdapat lapisan kedua disekitar oosit (Guerin, 2002). Oosit pada folikel ini memiliki volume maksimal dan letaknya agak ke pinggir (eksentrik) seperti pada folikel primer. Sel-sel granulosa terdiri dari 6-12 lapis sel. Pada folikel sekunder ovum sudah dilengkapi zona pelusida yang bergerak menuju korteks (Yatim, 1990).

Anwar (2005), menjelaskan bahwa dengan berlanjutnya folikulogenesis preantral, struktur folikel mulai mengalami perubahan. Perubahan yang utama selama perkembangan folikel sekunder yaitu peningkatan jumlah sel granulosa dan penambahan sel theca (gambar 2.10). Perkembangan folikel primer menjadi folikel sekunder yang berkembang sempurna merupakan hasil dari proses aktif pengaturan autokrin/parankrin termasuk faktor-faktor pertumbuhan yang dihasilkan oleh oosit.

Pada perkembangan akhir, folikel sekunder terlihat dikelilingi oleh ruangan yang tidak teratur dan merupakan hasil differensiasi sel-sel epitel dari stroma ovarium. Sel-sel epitel tersebut kemudian bersama-sama membentuk teka folikuli. Folikel sekunder dengan teka folikuli ini disebut juga sebagai folikel preantral. Pada perkembangan akhir folikel sekunder terjadi pemisahan teka folikuli menjadi teka interna dan teka eksterna (Guerin, 2002). Wiknojosastro (2005), menjelaskan bahwa berkembangnya sel teka pada folikel sekunder menyebabkan folikel memperoleh suplai darah tersendiri meskipun lapisan sel granulosa tetap berbentuk bulat dan berdinding tipis (avaskuler). Sel-sel granulosa membentuk reseptor-resptor FSH, estrogen, dan androgen.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Pada tahap ini FSH merupakan hormon yang berperan penting dalam proses aromatisasi androgen dan untuk menghasilkan lingkungan mikro yang estrogenik. Sel-sel granulosa pada folikel sekunder mampu mensintesis ketiga kelas dari steroid, namun lebih signifikan memproduksi estrogen daripada androgen lain atau progesteron. FSH bekerja melalui sistem adenilat siklase dan protein G. FSH dengan estrogen secara sinergis akan meningkatkan proses mitogenik sel-sel granulosa untuk menstimulasi proliferasi sel-sel granulosa (Sproff, 2005).



Gambar 2.10 Folikel sekunder normal, terdiri dari oosit yang tumbuh sempurna dikelilingi oleh zona pelusida, 5 sampai 8 lapis sel granulosa, lamina basalis, theca interna dan theca eksterna yang mengandung sejumlah pembuluh darah kecil.

2.4.4 Folikel Tersier

Pada stadium akhir perkembangan folikel adalah folikel tersier. Sel-sel folikel yang melengkapi oogenia akan membentuk antrum atau membentuk ruangan yang berisi cairan. Ruangan ini dikelilingi oleh sel-sel yang disebut membran granulosa. Ovum tertutup rapat oleh suatu masa yang padat yang terdiri dari sel-sel folikel yang membentuk cumulus oophorus (*discus proligerus)* menjulur ke antrum yang berisi cairan. Cairan folikel tersebut kaya akan protein dan terdapat pula hormon estrogen yang diproduksi oleh sel teka interna dan teka

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

eksterna. Cumulus oophorus menonjol kedalam antrum pada tempat yang berlawanan dengan folikel, kemudian folikel akan pecah dan terjadi ovulasi (Nalbandov, 1990 & Partodoharjo, 1992).

Rusmiatik (2013), menjelaskan bahwa folikel tersier atau *early antral phase* ditandai dengan pembentukan sebuah antrum atau rongga dalam folikel. Cairan antrum mengandung steroid, protein, elektrolit dan proteoglycans dibawah pengaruh FSH. Sel-sel sel-sel granulosa mulai berdiferensiasi membentuk membran periantral, cumulus oophorus, dan lapisan corona radiata.

FSH berperan penting dalam proses mitosis sel granulosa pada fase ini. Kekurangan FSH pada fase ini akan menghambat pertumbuhan dan perkembangan folikel sehingga folikel menjadi atresia. Dalam sel teka interna terbentuk sel-sel teka interstisial. FSH dan estrogen menstimulasi sel-sel teka interstisial agar meningkatkan jumlah reseptor LH dan meningkatkan aktivitas enzim-enzim steroidogenesis untuk sintesis androstenedion dan testosteron. Androstenedion mengalami aromatisasi menjadi estrogen dengan bantuan enzim p450scc. Estrogen akan meningkatkan jumlah reseptor FSH pada sel granulosa sehingga sel tersebut berproliferasi (wiknjosastro, 2005).

FSH dan estrogen bekerjasama dalam mengakumulasi cairan di dalam lapisan sel-sel granulosa, sehingga akan membentuk kavitas folikuler yang disebut antrum. Oosit dan bagian sel-sel granulosa yang mengelilinginya (sel-sel kumulus) secara bertahap bergeser ke salah satu sisi dari kavitas folikuler, terbentuklah folikel antral (folikel tersier) (sproff, 2005).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.4.5 Folikel de Graaf

Folikel matang (de Graaf) tampak sebagai vesikel transparan yang menonjolkan di permukaan ovarium, sebagai akibat penimbunan cairan dan rongga folikel makin membesar. Oosit melekat pada dinding folikel yang dibentuk oleh sel-sel granulosa. Pada stadium ini lapisan granulosa tampak menipis karena adanya penambahan cairan folikel (*liquor folikuli*) tidak seimbang dengan pembelahan sel-sel granulosa. Sel granulosa yang menyusun lapisan pertama disekitar ovum akan memanjang dan membentuk korona radiata yang menyertai ovum bila meninggalkan ovarium (Junqueira *et al.*, 1998).

Disamping itu, disekeliling oosit telah terbentuk dua atau tiga lapis sel granulosa yang disebut kumulus ooporus yang merupakan indikator kematangan oosit dan oositpunsiap diovulasikan (Yen & Jaffe, 1991). Sel-sel kumulus ini memiliki peranan yang sangat penting dalam proses pematangan oosit dan dengan tingkat ekspansinya dapat dievaluasikan tingkat kematangannya. Selain itu sel-sel kumulus juga berfungsi dalam pemasokan nutrisi bagi oosit melalui sistem *gap junction* (Nasich dkk, 2001). Ketika folikel telah benar-benar metang dan membesar, maka folikel akan pecah dan ovum akan dilepaskan kedalam rongga abdomen. Peristiwa ini disebut sebagai ovulasi. Ovum yang telah berada dalam abdomen diambil oleh ujung-ujung oviduk. Ovum disalurkan kedalam uterus dan bila tidak terjadi perubahan dikeluarkan lewat vagina (Ganong, 1997).

Wiknjosastro (2005) mengemukakan bahwa pada tahapan folikel de Graaf akan terjadi seleksi satu folikel dominan yang akan berovulasi. Penurunan kadar FSH, sehingga menyebabkan folikel-folikel antral yang lebih kecil mengalami

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

atresia, sedangkan folikel dominan terus tumbuh. Penurunan FSH juga menyebabkan lonjakan LH. LH merangsang sintesis progesteron dalam sel-sel granulosa. FSH, LH dan progesteron merangsang enzim-enzim proteolitik untuk menghancurkan kolagen di dinding folikel sehingga mudah ruptur. Prostaglandin akan menyebabkan otot polos ovarium berkontraksi untuk membantu pelepasan ovum.

2.5 Peran Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga Terhadap Tingkat Kematangan Folikel Ovarium

Ekstrak daun sisik naga memiliki beberapa kandungan bioaktif yang berpotensial sebagai antioksidan. Kandungan antioksidan yang dimiliki sisik naga merupakan antioksidan primer yang bekerja mencegah terjadinya stres oksidatif dengan cara mentrasfer satu elektron pada senyawa oksidan, sehingga menghambat aktivitas senyawa tersebut (Weardhany, 1999).

Stress oksidatif merupakan keadaan yang dapat menyebabkan gangguan folikulogenesis. Gangguan folikulogenesis dapat menurunkan kadar hormon-hormon yang ada pada setiap tahapan folikel. Hal tersebut akan mempercepat proses kerusakan sel, sehingga jumlah folikel berkembang akan mengalami penurunan dan terjadi peningkatan pada jumlah folikel yang rusak (atresia) (Kandar, 2014).

Senyawa yang dapat menghambat stres oksidatif salah satunya adalah antioksidan yang terbukti memiliki efek proteksi terhadap penyakit-penyakit yang berhubungan dengan stress oksidatif. Antioksidan dapat menetralisir radikal bebas, dengan cara meregenerasi antioksidan endogen yang bersifat ampifatik sehingga

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dapat bekerja di semua bagian sel serta dapat memperbaiki perkembangan in vitro folikel (Kandar, 2014).

Antioksidan dapat mensintesis dan mensekresikan berbagai substansi tertentu untuk pertumbuhan dan kematangan folikel. Perkembangan dan pertumbuhan sel folikel kemungkinan disebabkan karena adanya substansi yang terkandung dalam antioksidan yang secara langsung berguna merangsang pertumbuhan sel. Penambahan antioksidan kedalam media tanam merupakan cara terbaik. Hal tersebut akan membuat media dapat memberikan aktivitas metabolisme sel secara maksimal dan meningkatkan daya tahan hidup sel karena antioksidan mengandung komponen-komponen yang dibutuhkan dalam perkembangan sel (Maddison et al., 1992).

Apabila sel ditanam pada medium kultur yang sesuai, maka sel tersebut akan beradaptasi dengan lingkungan kultur serta sel dapat berproliferasi dengan baik. Khususnya dalam hal ini adalah sel teka dan sel granulosa pada folikel. Sel teka dan sel granulosa merupakan sel yang berperan penting dalam sekresi hormon estrogen dan androgen lainnya. Hormon estrogen merupakan hormon yang menyebabkan sel–sel granulosa membentuk reseptor FSH yang semakin banyak dan membuat proliferasi sel granulosa dan sekresi cairan folikel meningkat. Hal tersebut akan menyebabkan kestabilan pada perkembangan folikel (Nurcahyo,1999). Sehingga adanya antioksidan pada media kultur dapat menetralisir stres oksidatif dan menstimulasi proliferasi sel teka dan granulosa agar perkembangan folikel tetap stabil atau bahkan dapat berkembang lebih baik.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Perkembangan folikel yang baik juga akan menghasilkan oosit dengan kualitas yang baik. Karja (2013) mengemukakan bahwa oosit yang belum matang (*immature*) dapat dibagi menjadi beberapa kelompok sesuai dengan kualitas kelompok oosit. Kelompok oosit *immature* umumnya ditentukan berdasarkan penilitian visual dari kumpulan banyaknya sel folikel. Menurut Tappa (1995) oosit diklasifikasikan kedalam tiga kategori, yaitu :

1. Kualitas bagus (2) yaitu oosit yang dikelilingi oleh beberapa lapis sel granulosa tebal, kompak dan rata.
2. Kualitas sedang (1) yaitu oosit yang dikelilingi oleh beberapa lapis sel granulosa yang tidak kompak dan tidak rata.
3. Kualitas (0) yaitu oosit gundul dengan dikelilingi oleh 1-2 lapis sel granulosa.

Dalam proses pematangan oosit in vitro digunakan kualitas oosit immature pada kualitas 2, karena merupakan kualitas paling baik dan akan menghasilkan oosit metafase 2 (Tappa, 1995).

2.6 Metode Kultur Sel Seca ra *In Vitro*

Kultur sel merupakan teknik laboratorium untuk pengambilan sel dari jaringan atau organ makhluk hidup, yang telah diuraikan secara mekanis atau enzimatis menjadi suspensi sel. Suspensi sel dibiakkan pada kondisi yang terkontrol dan aseptik (Malole, 1990). Adapun istilah *in vitro* berasal dari bahasa latin yang berarti “di dalam kaca”, merupakan semua proses yang ada diluar tubuh, dan sebagai pengganti habitat aslinya diperankan oleh beberapa unsur, yaitu suhu, udara, substrat, dan medium. Oleh karena itu, lingkungan dan nutrisi untuk

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

pertumbuhan sel secara *in vitro*, diupayakan menyerupai keadaan sel secara *in vivo* (Khairinal, 2012).

Lingkungan yang baik yang digunakan yaitu kondisi yang disesuaikan dengan aslinya (*in vivo*). Kebanyakan sel yang berasal dari hewan perlu disimpan pada suhu 37˚c agar dapat tumbuh secara optimal. Keadaan tersebut dilakukan dengan penyimpanan dalam inkubator. Sedangkan medium yang digunakan harus dengan pH 7,0-7,4 agar pH tersebut tetap seimbang maka kadar CO_2 5% pada inkubator dipertahankan. Medium yang digunakan juga mengandung FBS yang berguna sebagai serum.

Malole (1990) menjelaskan bahwa kondisi lingkungan sel yang dikultur secara *in vitro* dapat diciptakan dengan pengaturan temperatur, pH, oksigen, CO_2, tekanan osmosis, permukaan untuk melekat sel, nutrien, proteksi terhadap zat toksik, dan faktor yang mengatur pertumbuhan sel (Malole, 1990). Temperatur yang ideal untuk pertumbuhan sel adalah pada 37˚C dengan pH optimum 7,4 (Paul 1970; Malole 1990). Pengaturan pH dapat dilakukan dengan menambahkan $NaHCO_3$ pada medium dan inkubasi pada CO_2 5%.

2.7 Medium Maturasi

TCM-199 merupakan medium kompleks yang banyak digunakan untuk pematangan *in vitro*. Medium ini terdiri atas garam Earl, buffer yang mengandung N-(2 hydroxythil)-piperazine-N-(2-ethanesulphonic acid), HEPES, sodium bikarbonat, disuplementasi dengan piruvat, laktat, asam amino, vitamin, purin,

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

serum, estradiol, hormon GnRH (FSH dan LH), mineral dan glukosa yang dapat membantu proses transformasi inti (Fausiah, 2014).

Tissue Culture Medium-199 (TCM-199) sering digunakan sebagai medium dasar untuk pematangan oosit secara in vitro karena mengandung unsur-unsur biokimia yang berperan dalam pematangan oosit. Penambahan serum sebagai sumber protein dalam TCM-199 dibutuhkan untuk mendukung proses pertumbuhan oosit (Wahjuningsih, 2011).

TCM merupakan medium kultur yang digunakan untuk memelihara sel yang mengandung asam amino, garam,glukosa, dan vitamin. FBS digunakan sebagai suplemen dalam kultur sel yang berasal dari janin sapi. Penicilin streptomycin merupakan antibiotik yang digunakan untuk mencegah kontaminasi bakteri. Hepes dan $NaHCO_3$ digunakan dalam reaksi biokimia dan sebagai agen buffering dibeberapa media kultur sel yang berfungsi untuk mempertahankan pH

FBS (*Fetal Bovine serum*) merupakan salah satu suplemen medium IVM berasal dari darah fetus sapi yang dibekukan dan dikoleksi secara aseptic. FBS digunakan untuk merangsang pertumbuhan dalam jumlah besar dari kultur jaringan sel. Konsentrasi serum dibutuhkan untuk mendukung pertumbuhan sel. Untuk pertumbuhan sel yang baik digunakan konsentrasi berkisar dari 5% sampai 10% (Wahjuningsih, 2011).

2.8 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah penarikan zat aktif yang diinginkan dari bahan mentah dengan menggunakan pelarut tertentu yang dipilih, sehingga zat yang diinginkan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dapat larut. Bahan mentah yang berasal dari tumbuh-tumbuhan dikumpulkan, dibersihkan atau dicuci, dikeringkan dan diserbuk. Hasil dari ekstraksi disebut ekstrak. Ekstrak tidak hanya mengandung satu unsur saja, tetapi berbagai macam unsur tergantung pada tumbuhan yang digunakan dan kondisi dari ekstraksi (Ansel, 1989: Rahayu, 2014).

Pemilihan pelarut dalam metode ekstraksi akan mempengaruhi hasil kandungan senyawa metabolit sekunder yang dapat terekstraksi. Pemilihan pelarut ekstraksi umumnya menggunakan prinsip *like dissolves like*, dimana senyawa yang nonpolar akan larut dalam palarut nonpolar sedangkan senyawa yang polar akan larut pada pelarut polar (Seidel, 2008: Warditiani dkk, 2010).

Proses ekstraksi pada dasarnya dibedakan menjadi dua fase (Voight, 1994) :

1. fase Pencucian

Dalam fase pertama ini, sebagian bahan aktif berpindah kedalam bahan pelarut. Semakin halus serbuk tumbuhan, maka semakin optimal jalannya proses pencucian tumbuhan.

2. Fase Ekstraksi

Membran sel yang mengering dan menciut yang terdapat dalam tumbuhan mula-mula harus dirubah dalam suatu keadaan yang memungkinkan suatu perlintasan bahan pelarut ke dalam bagian sel. Hal ini terjadi melalui pembengkakan yang kemudian terbentuk ruang antar sel, sehingga memungkinkan bahan ekstraksi mencapai kedalam ruang dalam sel secara osmosis. Mengalirnya bahan pelarut ke dalam ruang sel menyebabkan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

protoplasma membengkak dan bahan kandungannya dalam sel akan terlarut sesuai dengan kelarutannya. Gaya yang bekerja adalah adanya perbedaan konsentrasi antara larutan didalam sel dengan cairan ekstraksi yang mula-mula masih tanpa bahan aktif yang mengelilinginya. Bahan kandungan dalam sel akan menuju kesebelah luar dengan cara difusi melintasi membran sampai terbentuknya keseimbangan konsentrasi antara larutan disebelah dalam dan larutan disebelah luar sel. Terdapat beberapa macam metode ekstraksi antara lain (Voight, 1994):

1. Maserasi

Merupakan metode ekstraksi yang sederhana. Metode ini dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan ekstraksi selama beberapa hari pada temperatur kamar yang terlindung dari cahaya.

2. Soxhletasi

Merupakan ekstraksi simplisia secara berkesinambungan. Metode ini dilakukan dengan cara memanaskan cairan ekstraksi sehingga menguap. Uap cairan terkondensasi menjadi molekul-molekul air oleh pendingin balik dan turun mengekstraksi simplisia dalam labu ekstraksi dan selanjutnya masuk kembali ke dalam labu alas bulat setelah melewati pipa sifon.

3. Destilasi Uap

Merupakan metode yang sering digunakan untuk mengekstraksi minyak-minyak esensial dari sampel tanaman. Metode ini digunakan untuk mengekstraksi simplisia yang mengandung minyak atau mengandung komponen kimia yang mempunyai titik didih tinggi pada tekanan udara normal.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4. Perkolasi

Merupakan metode ekstraksi dengan cara mengalirkan cairan ekstraksi melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi sebelumnya. Istilah perkolasi berasal dari bahasa lain *per* yang artinya melalui dan *colare* yang artinya merembes. Secara umum dapat dinyatakan sebagai proses ekstraksi tumbuhan dengan menggunakan pelarut yang cocok dengan cara melewatkan pelarut tersebut secara perlahan-lahan dalam suatu kolom. Pada penelitian ini, pemisahan zat aktif dalam daun sisik naga dilakukan dengan metode perkolasi. Tumbuhan dimampatkan dalam alat ekstraksi khusus yang disebut perkolator, dengan ekstrak yang telah dikumpulkan disebut perkolat (Rahayu, 2014).

Perkolasi dilakukan dengan wadah silindris atau kerucut, yang memiliki jalan masuk dan keluar yang sesuai. Pelarut dalam ekstraksi dimasukkan secara *kontinue* dari atas wadah tersebut. Pelarut tersebut akan mengalir secara lambat melintasi serbuk kasar tanaman. Voight (1994) mengemukakan bahwa keuntungan dari perkolasi adalah hasil ekstrak mengandung bahan aktif yang tinggi, selain itu waktu relatif singkat dalam mengekstraksi tumbuhan yang diinginkan.

Cairan pengekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96% karena etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih rendah (Departemen Kesehatan RI, 1991). Voight (1994) menjelaskan bahwa etanol tidak menyebabkan pembengkakan membran sel, memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut, dan dapat menghambat

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

kerja enzim. Selain itu flavonoid merupakan senyawa polar, sehingga membutuhkan pelarut polar, salah satunya adalah etanol.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sisik naga (*Pyrrosia piloselloides*) terhadap tingkat kematangan folikel ovarium kambing *(Capra aegagrus hircus)* secara in vitro merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang menggunakan rancangan acak lengkap (RAL), lima perlakuan dan tiga ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah:

1. K0 : Tanpa perlakuan
2. K1 : Sel folikel + ekstrak daun sisik naga 1%
3. K2 : sel folikel + ekstrak daun sisik naga 1,5%
4. K3 : sel folikel + ekstrak daun sisik naga 2%
5. K4 : sel folikel + ekstrak daun sisik naga 2,5%

3.2 Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian pengaruh ekstrak etanol daun sisik naga (*Pyrrosia piloselloides*) terhadap tingkat kematangan folikel ovarium kambing (*Capra aegagrus* Hircus) secara *in vitro* meliputi **:**

1. Variabel bebas : ekstrak etanol daun sisik naga *(Pyrrosia piloselloides).*
2. Variabel terikat : Tingkat kematangan folikel ovarium kambing, serta kualitas ovum yang dihasilkan
3. Variabel kontrol : TCM-199, CO2 5%, FBS 10%, suhu 37 ^{0}C.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.3 Waktu dan Tempat

Penelitian pengaruh ekstrak etanol daun sisik naga (*Pyrrosia piloselloides*) terhadap tingkat kematangan folikel ovarium kambing (*Capra aegagrus* Hircus) secara *in vitro* dilaksanakan pada bulan November 2015 - Februari 2016 di Kultur Jaringan Hewan Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian meliputi neraca analitik, *rotary evaporator*, gelas percolator, LAF (*laminar air flow*), inkubator CO_2 5 %, oven, autoklaf, mikroskop inverted, *tissue culture dish* 30 mm-SPL, sentrifus, botol schott, erlenmeyer, beaker glass 50 mL, petri dish, gunting, pinset, alumunium foil, mikropipet 20-200 µl, mikropipet 100-1000 µl, TC dish, blue tip, yellow tip, tabung sentrifus, filter *single use* 0,20 µm, bunsen, korek api, masker, *hand glove*, *nursecup*, kantong plastik tahan panas, kertas label dan *tissue*.

3.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu ovarium kambing yang diperoleh dari Rumah Potong Hewan (RPH) Sukun Malang, ekstrak daun sisik naga (*Pyrrosia piloselloides*), TCM-199, aquades, NaCl fisiologis (0,9 %), alkohol 70%, spirtus, penicillin, streptomycin, tissue, spiritus, $NaHCO_3$, Hepes, *deionized water* (DI), FBS, tipol, wipol, dan etanol analitis.

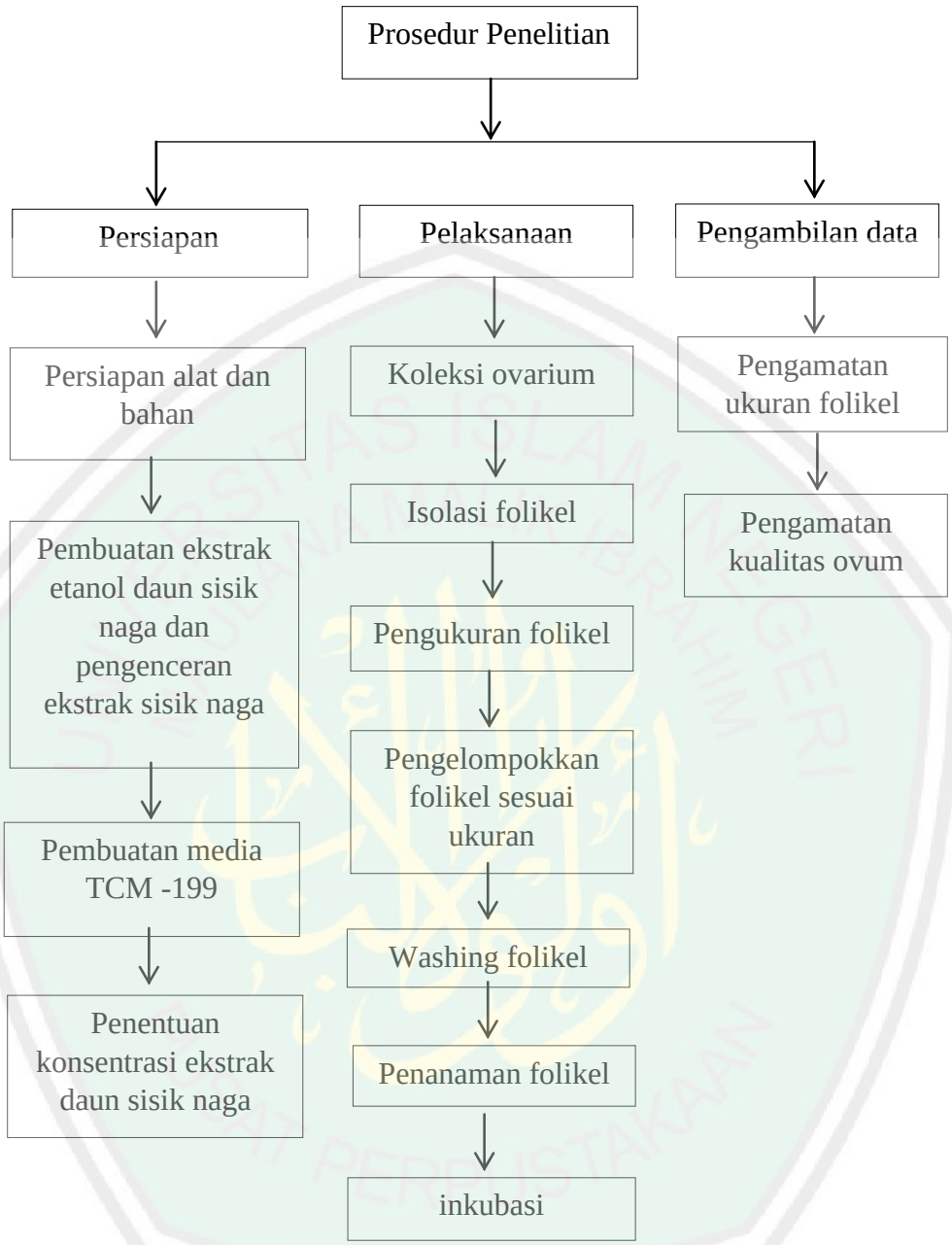
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.5 Prosedur Penelitian

Penelitian yang dilakukan meliputi 3 tahap, yaitu:

1. Tahap persiapan: tahap ini meliputi persiapan alat dan bahan yang akan digunakan, pembuatan ekstrak etanol daun sisik naga (*Pyrrosia piloselloides*), pembuatan media TCM-199, dan penentuan konsentrasi perlakuan.
2. Tahap pelaksanaan: tahap ini meliputi koleksi ovarium, isolasi folikel, pengukuran folikel, pengelompokkan ukuran folikel, washing folikel, penanaman folikel dengan media TCM 199 yang telah ditambahkan perlakuan ekstrak etanol daun sisik naga, dan diinkubasi dengan suhu 37˚c.
3. Tahap pengambilan data: tahap ini meliputi pengukuran folikel pada hari ke 0, dan hari ke 6, serta kualitas ovum yang dihasilkan.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Gambar 3.1 Skema Prosedur Penelitian

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.6 Langkah Penelitian

3.6.1.1 Persiapan Alat dan Bahan

1. Disiapkan semua alat yang akan digunakan baik yang terbuat dari logam, gelas, ataupun non gelas.
2. Direndam semua alat dengan tipol selama 1 x 24 jam.
3. Dibilas dengan air mengalir sejumlah 21 kali sampai tidak terlihat adanya busa dan pada bilasan terahir digunakan aquades. Jika masih terdapat busa maka kembali dibilas dengan air mengalir.
4. Dikeringkan di dalam oven dengan suhu 60°C selama ±1 jam.
5. Dibungkus dengan alumunium foil.
6. Disterilisasi alat gelas dan logam dengan menggunakan oven pada suhu 125°C selama 3 jam sedangkan alat yang berbahan plastik disterilisasi di dalam autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1,5 atm selama 15 menit dan dikeringkan di oven dengan suhu 50 °C selama 15 menit.
7. Dimasukkan alat yang sudah steril kedalam LAF kemudian di UV selama 2 jam sebelum digunakan.

3.6.1.2 Pembuatan Ekstrak Daun Sisik Naga *(Pyrrosia Piloselloides)*

Sampel yang digunakan adalah serbuk daun sisik naga (*Pyrrosia piloselloides*) yang didapatkan di laboratorium Materia Medika kota Batu Malang. Serbuk daun sisik naga diekstraksi menggunakan etanol analitis. Etanol memiliki

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

sifat polar sehingga dapat melarutkan senyawa polar dalam ekstrak, salah satunya adalah flavonoid. Metode ekstraksi yang digunakan adalah perkolasi.

Metode perkolasi dilakukan dengan cara menyaring serbuk menggunakan gelas perkolator dengan menambahkan etanol analitis berulang-ulang sampai tetesan saringan berwarna bening. Hasil tetesan di tampung dalam botol, kemudian dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator* dengan suhu 50-60°C kecepatan 60 rpm sampai ekstrak pekat dan pelarutnya tidak ada.

3.6.1.3 Pengenceran *dimethylsulfoxide* (DMSO)

Ekstrak daun sisik naga diencerkan dengan *dimethylsulfoxide* (DMSO). Untuk mendapatkan konsentrasi DMSO 10% maka dibutuhkan DMSO sebesar 10 ml dan ditambah akuades steril sebesar 90 ml. DMSO merupakan suatu bahan yang digunakan sebagai pelarut bahan organik maupun anorganik dan biasa digunakan pada industri obat.

Pelarut DMSO 10% merupakan pelarut organik dan tidak bersifat bakterisidal (Reynolds, 1996). Selain itu, pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa polar maupun non polar adalah *dimethylsulfoxide* (DMSO). DMSO dapat digunakan sebagai pengencer ekstrak untuk memperoleh ekstrak dengan kadar konsentrasi tertentu.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.6.1.4 Pengenceran Ekstrak Daun Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*) dengan DMSO *(dimethylsulfoxide)*

Ekstrak daun sisik naga sebanyak 5mg diencerkan kedalam larutan stok DMSO konsentrasi 10% sebanyak 5ml didalam tabung setrifug. Setelah itu, larutan tersebut dihomogenkan dengan menggunakan vortex agar partikel-partikel dari ekstrak daun sisik naga tersebut dapat homogen. Larutan yang telah homogen di sterilkan dengan menggunakan milliopore ukuran 0,22 µm dan dimasukkan kedalam botol schot. Larutan tersebut menjadi larutan ekstrak daun sisik naga dan DMSO sebanyak 5ml dengan konsentrasi 1%.

3.6.1.5 Pembuatan Medium TCM 199

Ditimbang 1,35g TCM 199, 0,37 $NaHCO_3$, 0,006g penicillin, 0,01g streptomycin dan 0,23g Hepes. Semua bahan tersebut dilarutkan dalam 100 ml *deionized water* (DI) steril. Kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* dan difilter menggunakan millipore ukuran 0,22 µm. Selanjutnya dimasukkan medium stock kedalam botol schot dan disimpan pada suhu 4^0C.

Faktor yang mendukung pertumbuhan sel dalam kultur adalah media pertumbuhan sel (Malole, 1990). Media kultur sel berfungsi untuk mempertahankan pH, osmolalitas esensial, menyediakan lingkungan yang kondusif bagi sel bertahan hidup, dan menyediakan substansi-substansi yang tidak dapat disintesis oleh sel itu sendiri. Pemilihan media pertumbuhan disesuaikan dengan jenis sel yang dikultur. Tissue Culture Medium (TCM)-199 merupakan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

medium kompleks yang bersifat komersial dan telah digunakan untuk produksi embrio domba (Gomez *et al*. 1998; Jaswandi *et al.* 2001).

Pada pembuatan medium kultur ditambahkan buffer dan antibiotik. Buffer yang biasa digunakan adalah NaHCO3, berfungsi untuk menjaga keseimbangan pH agar tetap memiliki nilai 7,4 (Freshney, 1994). Dalam medium kultur biasanya menggunakan satu atau dua sistem buffer. HEPES merupakan buffer alami yang menggunakan keseimbangan antara gas CO_2 dengan CO3 /HCO3. HEPES berfungsi untuk mempertahankan pH fisiologis meskipun perubahan konsentrasi karbon dioksida (diproduksi oleh respirasi sel). Penambahan penicillin dan streptomycin sebagai antibiotik yang bertujuan untuk mencegah tumbuhnya mikroorganisme pada medium. Penicillin menghambat pertumbuhan bakteri dengan menghambat sintesis peptidoglikan. Streptomisin memiliki antibiotik aminoglikosida dan menghambat pertumbuhan bakteri dengan menghambat sintesis protein. Pemilihan antibiotik didasarkan pada senyawa yang tidak bersifat toksik, ekonomis, dan mencegah pembentukan mikroba yang kebal.

Media TCM 199 tersebut merupakan medium stock yang sudah ditambah FBS (*Fetal Bovine Serum*) 10%. FBS adalah serum janin sapi yang kaya akan faktor pertumbuhan dan mengandung sedikit globulin. Penambahan serum sebagai sumber utama faktor pertumbuhan dan faktor hormonal stimulasi pertumbuhan dan aktivitas sel. Pada umumnya, serum ditambahkan dengan konsentrasi 5-20 % (Walum *et. al*., 1990).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.6.1.6 Penentuan Konsentrasi Ekstrak Daun Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*) dalam Media Kultur

Penentuan konsentrasi ekstrak daun sisik naga (*Pyrrosia pilosellodes*) adalah:

1. Kelompok K (0 %) = Media TCM-199 sebanyak 2700 µl + FBS 300 µl
2. Kelompok P1 (1 %) = Media TCM-199 sebanyak 2670 µl + FBS 300 µl + ekstrak daun sisik naga 30 µl
3. Kelompok P2 (1,5 %) = Media TCM-199 sebanyak 2655 µl + FBS 300 µl + eksrak daun sisik naga 45 µl
4. Kelompok P3 (2 %) = Media TCM-199 sebanyak 2640 µl + FBS 300 µl + eksrak daun sisik naga 60 µl
5. Kelompok P4 (2,5 %) = Media TCM-199 sebanyak 2625 µl + FBS 300 µl + eksrak daun sisik naga 75 µl

3.6.2 Tahap Pelaksanaan

3.6.2.1 Koleksi Ovarium

1. Disiapkan dua botol koleksi yang telah berisi 100 mL NaCl, 0,006g penicillin dan 0,01g streptomycin.
2. Dipotong jaringan ikat yang melekat pada ovarium dan dicuci dengan 100 mL larutan NaCl sampai bersih (larutan NaCl berwarna bening).
3. Dimasukkan ke dalam botol koleksi yang telah berisi 100 mL NaCl.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4. Dimasukkan botol koleksi tersebut ke dalam termos yang berisi air hangat dengan posisi botol ovarium dikelilingi air hangat.
5. Dibawa ke laboratorium

3.6.2.2 Isolasi Folikel dan Kultur Folikel Ovarium

1. Di laboratorium, dipindahkan ovarium hasil koleksi ke dalam botol koleksi yang berisi 100 mL NaCl, 0,006g penicillin dan 0,01g streptomycin yang telah disiapkan sebelumnya di waterbath pada suhu 37˚c.
2. Dibuat larutan Nacl 100mL yang telah ditambahkan 0,006g penicillin dan 0,01g sebagai media washing dan dibagi 100mL larutan Nacl tersebut kedalam 6 cawan petri yang berbeda diletakkan didalam LAF.
3. Dalam kondisi steril diisolasi folikel ovarium kambing menggunakan gunting, pinset dan scalpel serta dibedakan sesuai ukuran masing-masing 2mm, 3mm, 4mm, 5mm, 6mm.
4. Ditempatkan folikel hasil isolasi pada cawan yang telah berisi media washing

3.6.2.3 Kultur Sel Folikel Ovarium dan Perlakuan

1. Diambil folikel hasil isolasi yang telah di washing.
2. Dimasukkan ke dalam Tissue Culture dish (TCdish) yang telah diberi media Tanam (TCM-199, FBS, perlakuan ekstrak daun sisik naga).
3. Setiap 3 hari sekali dilakukan pergantian media dengan cara disedot media tanam yang lama mengguanakan micropipet dan yellow tip serta

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

blue tip, lalu diberi media tanam yang baru dengan perlakuan yang telah ditentukan.

4. Kultur dilakukan sampai hari ke 6.
5. Diamati perubahan ukuran folikel pada hari ke 0 hingga hari ke 6, setelah itu diamati kulaitas ovum yang didapatkan.
6.

3.6.3 Analisis Data

Data hasil pengujian pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sisik naga (Pyrrosia Piloselloides) terhadap tingkat kematangan folikel ovarium kambing (Capra aegagrus hircus) secara invitro dianalisis dengan menggunakan *One Way Anova*. Jika, F hitung > F tabel 5% maka H0 ditolak, maka dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan dengan taraf signifikan 5%.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga *(Pyrrosia piloselloides)* Terhadap Tingkat Kematangan Folikel Ovarium Kambing *(Capra aegagrus hircus)* Secara *In Vitro*

Folikel merupakan organ penting dalam sistem reproduksi betina, dimana setiap folikel mengandung satu sel telur. Setiap satu bulan, folikel mengalami perkembangan, dimana sel telur *immature* menjadi *mature*. Perkembangan tersebut dapat dilihat pada proses folikulogenesis. Proses folikulogenesis pada folikel ditandai dengan perubahan proliferasi serta differensiasi komponen sel yang ada pada folikel (Yatim, 1996).

Beberapa kendala dapat terjadi pada saat proses folikulogenesis. Salah satunya adalah gangguan stres oksidatif. Stres oksidatif dapat menyebabkan gangguan pada sel granulosa dan sel teka yang ada pada folikel sehingga keduanya tidak dapat membentuk antrum dan mensekresikan cairan folikular yang mengandung estrogen tinggi (Yatim, 1996; Kustono, 2014). Selain itu, adanya stres oksidatif pada proses folikulogenesis dapat menyebabkan kematian sel, serta atresia folikel (Souza, 1999). Oleh karena itu dibutuhkan antioksidan yang dapat berkontribusi bagi keberhasilan folikel pada proses folikulogenesis.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sisik naga naga *(Pyrrosia piloselloides)* terhadap tingkat kematangan folikel ovarium kambing *(Capra aegagrus hircus)* secara in vitro. Hasil yang didapatkan pada penelitian ini memiliki pengaruh yang berbeda-beda pada setiap folikel yang dikultur, sebagaimana tersaji pada tabel 4.1 sebagai berikut :

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.1.1 Tabel Rerata Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga *(Pyrrosia piloselloides)* Terhadap Tingkat Kematangan Folikel Ovarium Kambing *(Capra aegagrus hircus)* Secara *In Vitro*

Jenis Folikel	Perlakuan	Pengamatan Ukuran (mm)		Total Perubahan Ukuran
		Hari Ke 0	Hari Ke 6	
Kecil (2 mm)	P0 (0%)	2,0 ± 0.0	3,1 ± 0.1	1,1 mm
	P1 (1%)	2,0 ± 0.0	3,0 ± 0.0	1,0 mm
	P2 (1,5%)	2,0 ± 0.0	3,1 ± 0.1	1,1 mm
	P3 (2%)	2,0 ± 0.0	3,1 ± 0.1	1,1 mm
	P4 (2,5%)	2,0 ± 0.0	2,9 ± 0.0	0,9 mm
Sedang (2.1 mm – 4mm)	P0 (0%)	3,5 ± 0.0	3,7 ± 0.2	0,2 mm
	P1 (1%)	3,5 ± 0.0	3,9 ± 0.2	0,4 mm
	P2 (1,5%)	3,5 ± 0.0	3,8 ± 0.2	0,3 mm
	P3 (2%)	3,5 ± 0.0	4,4 ± 0.1	0,9 mm
	P4 (2,5%)	3,5 ± 0.0	3,4 ±0.1	-0,1 mm
Besar (4.1 mm – 6 mm)	P0 (0%)	5,5 ± 0.0	5,6 ± 0.1	0,1 mm
	P1 (1%)	5,5 ± 0.0	5,8 ± 0.2	0,3 mm
	P2 (1,5%)	5,5 ± 0.0	5,5 ± 0.1	0,0 mm
	P3 (2%)	5,5 ± 0.0	6,4 ± 0.1	0,9 mm
	P4 (2,5%)	5,5 ± 0.0	5,9 ± 0.4	0,4 mm

Keterangan : pada folikel sedang dengan penggunaan ekstrak etanol daun sisik naga sebanyak 2,5% menunjukkan tanda (-) yang berarti terjadi penyusutan ukuran pada folikel.

Tabel 4.1.1 menunjukkan bahwa semakin lama folikel dikultur maka semakin tinggi tingkat kematangan folikel, kecuali pada folikel sedang yang diberi perlakuan ekstrak etanol daun sisik naga sebanyak 2,5% (P4). Hal tersebut seperti dijelaskan oleh Cecconi (2004) bahwa pertumbuhan folikel dipengaruhi oleh lama kultur. Kultur folikel dapat dilakukan selama 6 hari karena ukuran folikel serta lapisan yang menyelimuti folikel sangat tipis, bila kurang dari 6 hari dimungkinkan akan terjadi kontaminasi pada folikel yang dikultur (Cecconi, 2004).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sisik naga terhadap tingkat kematangan folikel ovarium kambing secara in vitro selama masa inkubasi pada tabel 4.1.1 pada folikel kecil, jumlah rerata perubahan ukuran yang paling baik selama masa inkubasi adalah sebesar 1,1 mm pada perlakuan P0 (0%), P2 (1,5%), P3 (2%), sedangkan pada folikel sedang dan folikel besar jumlah rerata yang paling baik adalah 0,9 mm dengan perlakuan P3 (2%). Respon tersebut dikarenakan pada folikel dengan ukuran kecil sedang dalam masa pertumbuhan. Goto et al (1995) menyatakan bahwa kondisi kultur dapat dipengaruhi oleh ukuran folikel yang dikultur, lama masa kultur, umur folikel, bentuk folikel (tidak bulat) serta penambahan konsentrasi media yang digunakan (Cecconi, 2004).

Pengaruh ekstrak etanol daun sisik naga yang ditambahkan kedalam media TCM-199 ternyata direspon dengan baik oleh folikel ukuran kecil dibandingkan dengan folikel besar. Tabel 4.1.1 menunjukkan bahwa lama masa kultur pada folikel kecil menghasilkan rerata yang lebih tinggi dibandingkan folikel besar. Pahl *et al* (2004) menyatakan bahwa folikel dengan ukuran kecil lebih berpotensi untuk tumbuh dibandingkan dengan folikel besar. Hal ini karena dipengaruhi oleh kemampuan folikel kecil lebih tinggi dalam berinteraksi dengan media kultur dibandingkan folikel besar. Folikel besar memiliki tingkat pertumbuhan yang rendah, karena antrum sudah terbentuk sempurna sehingga respon terhadap medium rendah serta folikel dengan ukuran besar hampir mencapai tahap puncak pertumbuhan (folikel de Graff) (Shimada *et al*, 2002; Pahl *et al*, 2004).

Pertumbuhan folikel baik pada folikel kecil, sedang maupun folikel besar, dapat didukung dengan penambahan antioksidan yang didapat dari ekstrak etanol

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

daun sisik naga. Diharapkan dengan menambahkan ekstrak tersebut maka rendahnya pertumbuhan folikel dapat diatasi. Selain itu, kerusakan pada sel dapat dicegah termasuk kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. Kerusakan pada kultur sel diakibatkan karena gangguan stres oksidatif yang didapatkan dari lingkungan kultur itu sendiri, sehingga aktivitas metabolisme dalam sel menjadi terganggu serta daya tahan hidup sel menjadi menurun. Pentingnya penambahan antioksidan pada media tanam karena antioksidan mengandung komponen-komponen yang dibutuhkan dalam perkembangan sel sehingga sel dapat berproliferasi dengan baik (Murray *et al*, 2001; Tao *et al*, 2004; Maddison *et al*, 1992; Sadeghipour *et al*, 2005).

Stres oksidatif pada tahap folikulogenesis dapat terjadi karena adanya kondisi ischemia dan reoksigenasi (Wang, 2011). Kondisi ischemia serta reoksigenasi pada folikel dapat menyebabkan perubahan pada folikel karena berkurangnya oksigen, akumulasi hasil metabolisme, berkurangnya glukosa dan meningkatnya indeks apoptosis pada sel granulosa. Antioksidan yang ditambahkan pada media kultur dapat menetralisir stres oksidatif dan menstimulasi proliferasi sel teka dan sel granulosa agar perkembangan folikel tetap stabil atau bahkan dapat berkembang lebih baik serta terhindar dari gangguan stres oksidatif.

Secara deskriptif pemberian ekstrak etanol daun sisik naga (*Pyrrosia piloselloides*) berpengaruh terhadap tingkat kematangan folikel ovarium kambing (*Capra aegagrus hircus*) secara in vitro. Semakin lama masa kultur maka semakin baik hasil yang didapatkan, pada setiap folikel dalam berbagai ukuran. Semakin

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

tinggi konsentrasi yang digunakan pada folikel kecil menghasilkan jumlah rerata yang lebih baik dibandingkan dengan folikel sedang serta folikel besar. Akan tetapi, ini perlu diuji lebih lanjut dengan menggunakan ANOVA One Way.

Berdasarkan analisis statistik dengan ANOVA One Way tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sisik naga (*Pyrrosia piloselloides*) terhadap tingkat kematangan folikel ovarium kambing (*Capra aegagrus hircus*) diperoleh data statistik yang menunjukkan bahwa F hitung < F tabel 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sisik naga terhadap tingkat kematangan folikel ovarium kambing, sebagaimana tercantum pada tabel 4.1.2.

4.1.2 Tabel ANOVA One Way 5% Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*) Terhadap Tingkat Kematangan Folikel Ovarium Kambing (*Capra aegagrus hircus*) Secara In Vitro

SK	dB	JK	KT	F hitung	Ftabel 0.05
Perlakuan	4	0,623	0,156	0.73	4,33*
Galat	10	21,233	2,123		
Total	14	21,856			

Keterangan: * F Hitung < F tabel = H0 ditolak dan H1 diterima = Tidak berbeda Nyata

Dari hasil tabel 4.1.2 dapat diketahui bahwa konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini tidak memiliki pengaruh terhadap tingkat kematangan folikel ovarium kambing maka hasil tersebut tidak dapat diuji lanjut. Hasil tersebut terjadi karena konsentrasi ekstrak yang digunakan terlalu rendah, sehingga secara statistik tidak ada pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sisik naga terhadap tingkat kematangan folikel ovarium kambing. Lima (2009) mengutarakan bahwa tidak adanya pengaruh pemberian ekstrak terhadap kultur folikel karena jenis dan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

konsentrasi zat yang digunakan untuk pengenceran bahan aktif seperti flavonoid, serta metodologi yang digunakan. Sadeghipour *et al* (2005) menjelaskan bahwa beberapa flavonoid bisa memiliki tindakan oksidatif tergantung pada konsentrasi tinggi setelah jangka waktu tertentu. Pada penelitian ini dapat diambil kesimpulan, konsentrasi ekstrak yang digunakan dimungkinkan terlalu rendah sehingga tidak memberikan pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sisik naga *(pyrrosia piloselloides)* terhadap tingkat kematangan folikel ovarium kambing *(Capra aegagrus hircus)* secara *in vitro.*

Hasil penelitian diatas dapat ditarik kesimpulan bahwa, Allah SWT telah menciptakan segala sesuatu sesuai dengan kadarnya. Sama halnya dengan pemberian ekstrak etanol daun sisik naga terhadap tingkat kematangan folikel ovarium kambing. Tidak adanya pengaruh yang didapatkan dari hasil statistik dikarenakan kurangnya penggunaan ekstrak yang ditambahkan dalam media tanam. Allah SWT berfirman dalam surat al-Furqon ayat 2 yang berbunyi:

ٱلَّذِي لَهُۥ مُلۡكُ ٱلسَّمَٰوَٰتِ وَٱلۡأَرۡضِ وَلَمۡ يَتَّخِذۡ وَلَدٗا وَلَمۡ يَكُن لَّهُۥ شَرِيكٞ فِي ٱلۡمُلۡكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيۡءٖ فَقَدَّرَهُۥ تَقۡدِيرٗا ٢

Artinya : *"yang kepunyaan-Nya lah kerajaan langit dan bumi, dan Dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu bagi-Nya dalam kekuasaanNya, dan Dia telah menciptakan segala sesuatu, dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya".*

Berdasarkan firman Allah SWT pada al-Qur'an surat al-Furqon ayat 2 kata (فَقَدَّرَهُۥ تَقۡدِيرٗا) "Faqoddarohu Taqdiron" yang berarti Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya (Katsir, 2004). Makna kata tersebut jika mengacu pada penelitian pemberian ekstrak etanol daun sisik naga (*Pirrosia piloselloides)* terhadap tingkat kematangan folikel ovarium kambing *(Capra*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

aegagrus hircus) secara In Vitro, maka pemberian konsentrasi ekstrak harus sesuai dengan yang dibutuhkan pada setiap folikel agar terjadi pengaruh pada tingkat kematangan folikel.

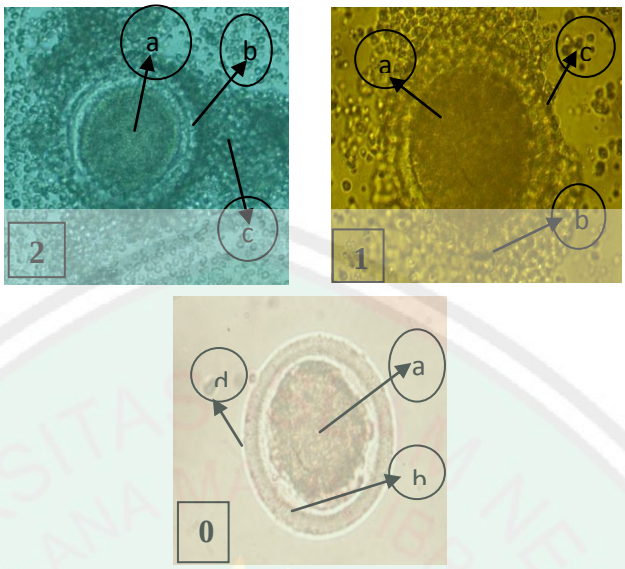
4.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga Terhadap Kualitas Ovum

Hasil pengamatan folikel yang dikultur setelah 6 hari masa inkubasi menunjukkan bahwa folikel dengan penambahan ekstrak etanol daun sisik naga belum terjadi kematangan oosit (oosit *mature*). Hal tersebut dikarenakan oosit yang didapat adalah oosit yang belum matang. Putro (1993) mengemukakan bahwa oosit yang diperoleh dari folikel ovarium merupakan oosit yang belum matang *(immature),* artinya belum mencapai tingkat maturasi sitoplasma yang siap dibuahi atau difertilisasi, sehingga oosit perlu dimaturasi terlebih dahulu sebelum dilakukan IVM *(In Vitro Maturation).*

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sisik naga *(Pyrrosia piloselloides)* terhadap kualitas ovum kambing *(Capra aegagrus hircus)* secara *in vitro* yang diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 40x10 (gambar 4.4), menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun sisik naga direspon berbeda-beda oleh oosit kambing (gambar 4.4). Oosit kambing dari folikel yang dikultur selama 6 hari masa inkubasi menghasilkan kualitas oosit yang berbeda-beda (kualitas 2, kualitas 1, dan kualitas 0) sebagaimana tersaji dalam tabel 4.2.3

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

.,



Gambar 4.4 Pengelompokan oosit berdasarkan kualitas : 2) oosit kambing *immature* yang dikelilingi oleh beberapa lapis sel granulosa tebal, kompak dan rata, 1) oosit kambing *immature* yang dikelilingi oleh beberapa lapis sel granulosa yang tidak kompak dan tidak rata, 0) oosit kambing *immature* yang gundul dan tidak dikelilingi oleh sel granulosa. Kriteria gambar a) oosit b) Zona Pelusida c) lapisan Granulosa d) Oosit Gundul. Perbesaran 40x10.

4.2.3 Tabel Oosit Hasil Dari Folikel yang di Kultur Secara In Vitro Selama 6 Hari Masa Inkubasi

Jenis Folikel	Jumlah Oosit	Kriteria Oosit		
		Kualitas 2	Kualitas 1	Kualitas 0
Folikel Kecil	15	8 (53%)	4 (27%)	3 (20 %)
Folikel Sedang	15	5 (33 %)	7 (47 %)	3 (20 %)
Folikel Besar	15	5 (33 %)	6 (40 %)	4 (27 %)

Tabel 4.2.3 menunjukkan bahwa folikel dengan ukuran kecil memiliki kualitas ovum adalah 2, 1, 0, sedangkan pada folikel sedang dan folikel besar kualitas ovum adalah 1, 2, 0. Hasil yang disajikan pada tabel 4.2.3 oosit hasil dari folikel yang di kultur secara in vitro selama 6 hari masa inkubasi di atas

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

menunjukkan bahwa folikel kecil lebih banyak menghasilkan ovum dengan kualitas 2 (kualitas baik) dibandingkan dengan folikel sedang ataupun folikel besar. Kualitas oosit *immature* pada kualitas 2 merupakan kualitas ovum yang dapat yang digunakan dalam *in vitro maturation*. Tappa (1995) mengemukakan bahwa oosit *immature* kualitas 2, merupakan kualitas yang paling baik untuk di maturasi secara in vitro.

Berdasarkan hasil yang didapatkan pada tabel 4.2.3 bahwa ovum masih pada tahap kualitas 1, 2 dan 3. Oosit kualitas 1 dan 2 termasuk oosit yang ada pada tahap folikel sekunder, Yatim (1990) mengemukakan bahwa oosit pada folikel ini terdiri dari sel-sel granulosa 5 lapis sel. Pada folikel sekunder sudah dilengkapi zona pelusida yang bergerak menuju kortex. Perbedaan yang terdapat antara oosit kualitas 1 dan 2 adalah meskipun kedua oosit tersebut ada pada tahap folikel sekunder namun, lapisan granulosa pada kualitas 2 terlihat lebih tebal, kompak dan rata dibandingkan dengan kualitas 1. Hal tersebut, bisa saja dikarenakan struktur folikel yang belum mengalami perubahan secara sempurna, sehingga ovum hanya ada pada kualitas 1.

Berbeda halnya dengan ovum yang ada pada kualitas 0, ovum yang ada pada kualitas tersebut terlihat gundul dan juga rusak. Susilowati (1997) menjelaskan bahwa oosit kualitas 0 merupakan oosit yang belum matang karena pematangan sitoplasma yang kurang sempurna, sehingga pembelahan inti tidak dapat dilanjutkan hingga metafase 2. Dari ketiga macam oosit yang didapatkan, maka oosit dengan kualitas 2 yang dapat dilanjutkan pada tahap *In Vitro Maturation* (IVM). Gordon (1994) menjelaskan bahwa perkembangan oosit pada

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

kualitas 2 merupakan oosit yang telah mengalami pengembangan sel kumulus secara sempurna.

Efek ekstrak etanol daun sisik naga (Pyrrosia piloselloides) terhadap kualitas oosit yang dihasilkan adalah pada folikel lebih banyak menghasilkan oosit yang ada pada kualitas 2 yaitu sebanyak 53%, pada kualitas 1 oosit yang dihasilkan sebanyak 27% dan kualitas 0 sebanyak 20%. Berbeda halnya pengaruh ekstrak yang ada pada folikel sedang dan folikel besar, oosit yang didapatkan lebih banyak pada oosit dengan kualitas 1 sebanyak 33% dibandingkan dengan kualitas 2 dan kualitas 0. Rao *et al* (2002) mengemukakan bahwa terjadinya proses maturasi pada oosit yang ditanam secara in vitro menggunakan media maturasi yang terdiri dari beberapa komponen yaitu hormon, protein, energi, sehingga oosit yang ditaman akan memberikan hasil yang maksimal.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB V
PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sisik naga *(Pyrrosia piloselloides)* terhadap tingkat kematangan folikel ovarium kambing *(Capra aegagrus hircus)* secara *in vitro* dapat disimpulkan bahwa:

1. Tidak ada pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sisik naga *(Pyrrosia piloselloides)* terhadap tingkat kematangan folikel ovarium kambing *(Capra aegagrus hircus)* secara *in vitro*
2. Efek ekstrak etanol daun sisik naga terhadap kualitas ovum yang dihasilkan dari penanaman folikel adalah folikel kecil menghasilkan oosit pada kualitas 2, 1 dan 0, sedangkan folikel sedang dan folikel besar menghasilkan oosit pada kualitas 1, 2, 0.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, ada beberapa saran yang perlu dilakukan untuk penelitian lebih lanjut, diantaranya adalah:

1. Untuk mengetahui efek ekstrak sisik naga *(Pyrrosia piloselloides)* terhadap tingkat kematangan folikel ovarium kambing, dibutuhkan ekstrak dengan konsentrasi yang lebih tinggi.
2. Untuk dapat melanjutkan ke penelitian yang lebih spesifik mengenai maturasi oosit hingga ada pada metafase II maka perlu dilakukan penelitian mengenai efek pemberian ekstrak etanol daun sisik naga terhadap maturasi oosit secara *in vitro maturation* (IVM).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR PUSTAKA

Abdullah. 2003. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 2*. Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafi'i

Ansel, R. 1987. Mammalian Oocyte Activation: Lesson from the Sperm and Impaction for Nuclear Transfer. Sidney: Cambridge University

Anwar, R. 2005. *Morfologi dan Fungsi Ovarium*. Bandung : Universitas Padjajaran

B. Goldman. M., Elizabeth H. Ruder., Terryl J. Hartman., Jeffrey Blumberg. 2008. Oxidative Stress and Antioxidants : Exposure and Impact on Female Fertility. Lebanan. Dartmouth Medical School Center, Departement of Obstetrics and Gynecology

Cecconi, S., Barboni, B., Coccia M and Mattioli M. 2014. In Vitro Development of Sheep Preantral Follicles. Biology of Reproduction

Champbell, N. A. 2005. *Biologi. Jakarta* : Erlangga

Fausiah, A. 2014. Pengaruh Penambahan Antioksidan GSH (Glutathio) Terhadap Tingkat Pematangan Oosit Sapi Bali Secara In Vitro. Makassar : Universitas Hasanuddin

Fitriyah. 2009. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan (Centella asiatica (L.) Urban) Terhadap Perkembangan Folikel Ovarium Mencit (Mus muscelus). Malang. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim

Ganong, W. F 1997. Review of Medical Physiology. New York : Lange Medical Books/McGraw-Hill Medical Publishing Dicision

Gordon, I. 2003. *Laboratory production of Cattle Embryos*, Cambridge : University Press

Goto, K. Y. Takuma, and N. Ooe. 1995. In Vitro Development of Bovine Ooeytes Collected from Ovaries of Individual Cows After Fertilization. Jpn J. Animal Reproduction

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Guerin, P., El Mouatassim S. Menezo Y. 2002. Oxidative Stres and Protection Against Reactive Oxygen Species in the Pre-Implantation Embryo and Its Surroundings. Human Reproduction Update

Guyton, A. C. And Hall, J. E. 1996. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran (dr. Irawati Setiawan, dkk. Terjemahan). Jakarta : EGC Penerbit Buku Kedokteran

Hafez, E. S. E. 1987. *Reproduction in Farm Animal*. Philadelphia : Lea and Febiger

Hafez, E. S. E. And B. Hafez. 2000. Folliculogenesis, Egg Maturation, and Ovulation. In Reprotuction in Farm Animals

Hamdani., Arman Sayuti., Tongku Nizwan Siregar., Muslim Akmal., Hamdan. 2007. Pengaruh Ukuran dan Jumlah Folikel Per Ovari Terhadap Kualitas Oosit Kambing Lokal. Universitas Syiah Kuala

Hamka. 1982. *Tafsir Al-Azhar Juz VIII*. Panji Masyarakat

Harbone, J. B. 1996. Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Penerjemah Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung : Institut teknologi Bogor

Hardjopranjoto, S. 1995. *Ilmu Kemajiran Pada Ternak*. Surabaya : Airlangga

Heti, D. 2008. Uji Sitoksik Ekstrak Etanol 70% Herba Sisik Naga (Drymoglossum piloselloides) Terhadap Sel T47D. Surakarta : Universitas Muhammadiyah Surakarta

Janqueira, L. C. 1998. *Histologi Dasar*. Edisi 3. Jakarta : Egc

Kandar, P. S. 2014. Pemberian Alpha Lipoic Acid per Oral Menghambat Gangguan Folikulogenesis pada Mencit (Mus musculus) Balb/c Betina yang Dipapar Asap Rokok. Denpasar : Universitas Udayana

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Karja, N. W. K., dan Dhia, M. E. 2013. Kualitas Oosit Domba dari Ovarium Setelah Penyimpanan pada Suhu dan Periode Waktu yang Berbeda. Bogor : Institut Pertanian Bogor

Kustono., Diah. T. W., Devita. H. F., Nony. A. 2014. Penggunaan Cairan Folikel Dalam Media Maturasi In Vitro Oosit Kambing Bligon. Jogjakarta : Universitas Gadjah Mada

Lima. P. F. LB. Lima Verde., M.H.T. Matos., J. B. Bruno., F. S. Martin., R.R Santos. 2009. Effect of α-Tocopherol and Ternatin Antioxidants on Morphology and Activation of Goat Preantral Follicles In Vitro Cultured. Brasilia: Universidade Federal do Ceara

Malole, M.B M. 1990. *Kultur Sel Hewan*. Depdikbud Dirjen Dikti. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Bogor : IPB

Murray R. K. Granner D. K. 2001. *Biokimia Harper*. Jakarta : EGC

Nalbandov. 1990. Reproductive Phisiologi of Mammals and Bird diterjemahkan oleh Sunarya Keman dalam Fisiologi Reproduksi pada Mamalia dan Unggas. Jakarta : UI-Press

Nasich, M., Ciptadi G., Wahjuningsih S. 2001. Perkembangann Kumulus Oosit Konplek (COG) dan Tingkat Metafase II Oosit Kambing. Jurnal Ilmu-Ilmu Hayat. Vol 13

Nurcahyo, Heru. 1999. Maturasi oosit dan fertilisasi in vitro menggunakan kultur sel granulosa folikel ovarium. Jogjakarta : UNY

Pahl, M., Hohlagschwandtner, M. 2004. Number and Size of Preantral Follicles as Predictive Factors in Vitro Fertilization and Embryo Transfer. Jurnal Assist. Reproduction Gene

Partodiharjo, S. 1980. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Jakarta : Mutiara

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Poedjiaji, A., Supriyanti, T. 2009. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta : UI-Press

Prabowo, A. 2010. *Petunjuk Budidaya Ternak Kambing*. Sumatra Selatan : BPTP

Al-Qurtubi, Syaikh Ilham. 2008. *Tafsir Al-Qurtubi*. Jakarta: Pustaka Azzam. (Penerjemah: Muyyiddin Masrida)

Raharjo, T. K. 2012. *Kimia Hasil Alam*. Jogjakarta : Pustaka Pelajar

Ramaley, J. A., Bevelender, G. 1988. *Dasar-Dasar Histologi Edisi Ke Delapan*. Bogor : Institut Pertanian Bogor

Rao, B. S., K.S, Naidu.,K. V. Brahmaiah. 2002. In Vitro Maturation of Sheep oocyte in Different Media During Breeding and Non-Breeding Season. Small Ruminant Research

Rohyami, Y. 2008. Penentuan Kandungan Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daging Buah Mahkota Dewa (Pheleria macrocarpa Scheff Boerl). Jogjakarta : UII

Rusmiatik. 2013. Pemberian Ekstrak Daun Gandarusa (justicia gendarusa, Burm f.) Menghambat Proses Penuaan Ovarium pada Marmut. Denpasar : Universitas Udayana

Sadeghipour, M., Terreux, R., Phipps, J. 2005. Flavonoids and Tyrosine Nitration: Structure Activity Relationship Correlation with Enthalpy of Formation. Toxicol In Vitro.

Sahara. E., Gde Agus. S. C., I Gusti A. 2014. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Anti Bakteri pada Daun Herba Sisik Naga (Drymoglossum piloselloides). Denpasar : Universitas Udayana

Sari, P. M. 2008. Tingkat Maturasi Oosit In Vitro Pada Kambing Umur Pra Pubertas dan Pubertas. Malang : Universitas Brawijaya

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Setiyowati, V., Rida. O. 2013. Uji Aktivitas Ekstrak Air Daun Fertil dan Steril Sisik Naga Terhadap Enteropatogenik E. Coli. Lampung : FKIP UNTIRTA

Shimada, K., TA Tateishi, K., Koji., 2005. Early Human Preantral Follicles have Relaxin and Relaxin Receptor their Development.

Sproff. 2005. The Endocrine System. Vol. 22 No. 3

Sproff. 2008. Perbedaan Pengaruh Pemberian Clomiphene Cirate dan Letrozole Terhadap Perkembangan Folikel Serta Profil Hormonal pada Wanita Dengan Uneplained Infertility. Semarang : Universitas Diponegoro

Syamsuddin, Rami. 2014. Pengaruh Diameter Oosit Sapi Bali Terhadap Tingkat Kematangan Inti Oosit Secara In Vitro. Makassar : Universitas Hasanuddin

Tao, Y., Zhou., Xia, G. 2011. Exposure to L- Ascorbic or α-Tocopherol Facilitates the Development of Porcine Denuded Oocytes from Metaphase I to Metaphase II and Prevents Cumulus Cells from Fragmentation. Reproduction Dom. Animals

Tappa, B. 1995. Bioteknologi Reproduksi. Bogor: Penelitian dan Aplikasi. Puslitbang. Bioteknologi – LIPI

Tarwoto. 2009. Anatomi dan Fisiologi untuk Mahasiswa keperawatan. Jakarta : Trans Info Media

Toelihere, M. R. 1985. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Bandung : Angkasa

Wahjuningsih. S., Rahayu. S, N. 2011. Suplementasi Fetal Bovine Serum (FBS) Terhadap Pertumbuhan In Vitro Sel folikel Kambing PE. Malang : Universitas Brawijaya

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Wang YS., Zhao X., Su JM., An ZX, Xiong XR, Wang LJ, Liu J., Quan FS., Hua S., Zhang Y. 2012. Lowering Storage Temperature During Ovary Transport is Beneficial to the Developmental Competence of Bovine Oocyte used for Somatic Cell Nuclear Transfer. Animal Repruction Science

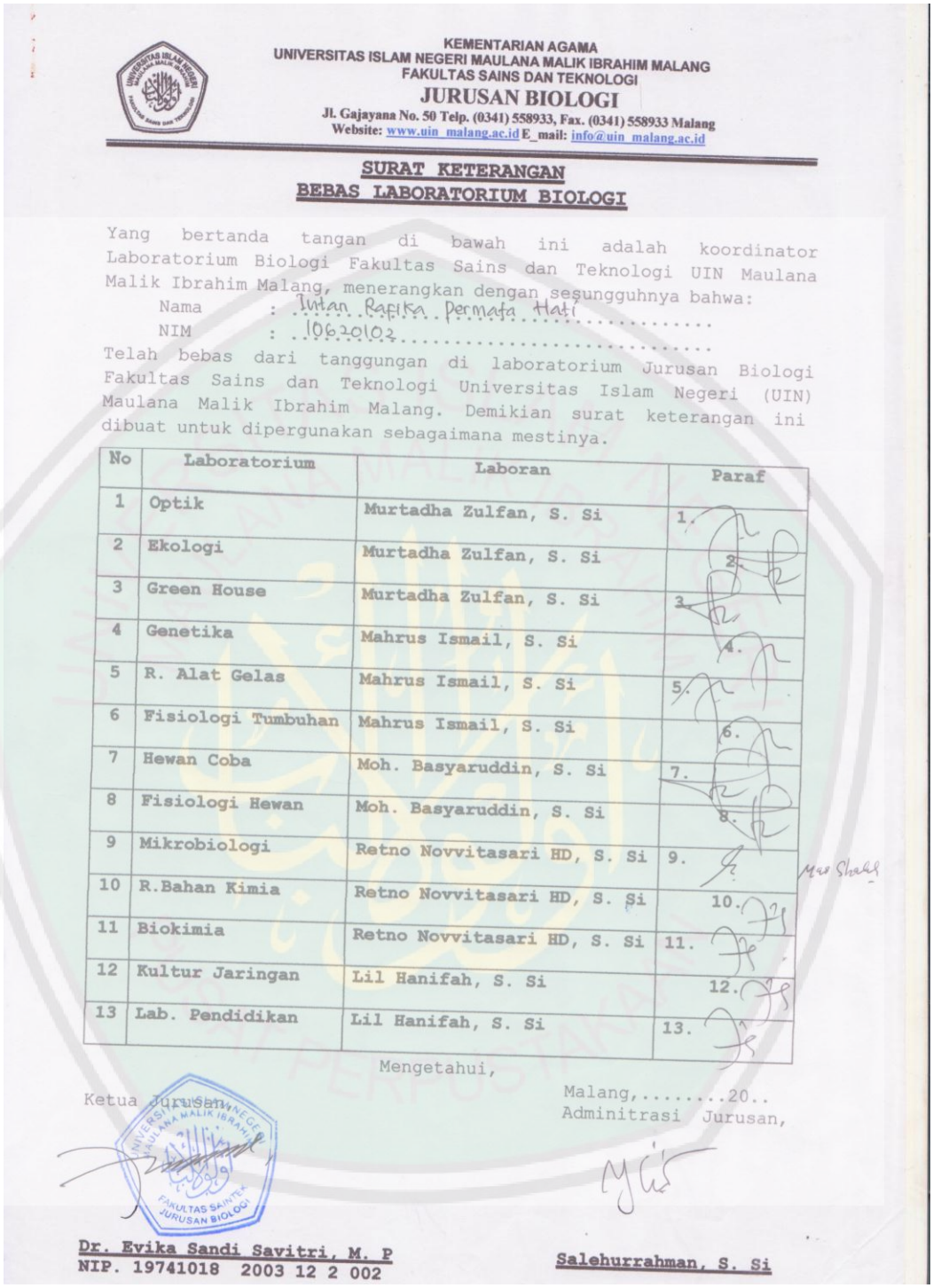
Wati, Andika. F. 2010. Pengaruh Air Perasan Kulit Jeruk Manis(Circus aurantium sub spesies sinensis) Terhadap Tingkat Kematian Larva Aedes aegeypti Instar III In Vitro. Surakarta : Universitas Sebelas Maret

Wiknjosastro, H. 2005. Ilmu Kebidanan. Jakarta: Yayasan Ina Pustaka Sarwono Prawiroharjo. P.45-54

Winarsih, H. 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas : Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan. Jogjakarta : Penerbit Kanisius

Yatim, W. 1994. *Reproduksi dan Embriologi*. Bandung : Penerbit Tarsito

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



KEMENTARIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Telp. (0341) 558933, Fax. (0341) 558933 Malang
Website: www.uin-malang.ac.id E-mail: info@uin-malang.ac.id

SURAT KETERANGAN
BEBAS LABORATORIUM BIOLOGI

Yang bertanda tangan di bawah ini adalah koordinator Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, menerangkan dengan sesungguhnya bahwa:

Nama : Intan Rafika Permata Hati
NIM : 10620102

Telah bebas dari tanggungan di laboratorium Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

No	Laboratorium	Laboran	Paraf
1	Optik	Murtadha Zulfan, S. Si	1.
2	Ekologi	Murtadha Zulfan, S. Si	2.
3	Green House	Murtadha Zulfan, S. Si	3.
4	Genetika	Mahrus Ismail, S. Si	4.
5	R. Alat Gelas	Mahrus Ismail, S. Si	5.
6	Fisiologi Tumbuhan	Mahrus Ismail, S. Si	6.
7	Hewan Coba	Moh. Basyaruddin, S. Si	7.
8	Fisiologi Hewan	Moh. Basyaruddin, S. Si	8.
9	Mikrobiologi	Retno Novvitasari HD, S. Si	9.
10	R.Bahan Kimia	Retno Novvitasari HD, S. Si	10.
11	Biokimia	Retno Novvitasari HD, S. Si	11.
12	Kultur Jaringan	Lil Hanifah, S. Si	12.
13	Lab. Pendidikan	Lil Hanifah, S. Si	13.

Mengetahui,
Ketua Jurusan,

Dr. Evika Sandi Savitri, M. P
NIP. 19741018 2003 12 2 002

Malang,.....20..
Adminitrasi Jurusan,

Salehurrahman, S. Si

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: http://biologi.uin-malang.ac.id Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Intan Rafika Permata Hati
NIM : 10620102
Program Studi : Biologi
Semester : 13 TA. 2016/2017
Pembimbing : Kholifah Holil, M.Si
Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Gaharu terhadap Tingkat Kematangan Folikel Ovarium Kambing Secara In Vitro

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
	13 Januari 2015	BAB I	
	16 Februari 2015	BAB I	
	9 Maret 2015	BAB I + Konsultasi ke Pembimbing Agama	
	28 Maret 2015	BAB I	
	17 September 2015	BAB I	
	9 November 2015	BAB I	
	11 November 2015	BAB I + BAB II	
	25 November 2015	BAB I + BAB II + Pembimbing Agama	
	26 November 2015	BAB II + BAB III	
	30 November 2015	BAB II + BAB III	
	2 Desember 2015	BAB II + Pembimbing Agama	
	15 Desember 2015	BAB III	
	25 Agustus 2016	BAB IV	
	29 Agustus 2016	BAB IV + Pembimbing Agama	
	31 Agustus 2016	BAB IV	
	7 September 2016	BAB IV	

Malang, 8 September 2016

Pembimbing Skripsi,

Kholifah Holil, M.Si
NIP. 19751106 200912 2 002

Ketua Jurusan,

Dr. Evika Sandi Savitri, MP
NIP 19741018200312 002

Certificate No. ID08/1219

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: http://biologi.uin-malang.ac.id Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Lutan Rafika permata Hati
NIM : 10620102
Program Studi : B101091
Semester : 13 TA. 2016 /2017
Pembimbing : Kholifah Hdil, M.Si
Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirih merah Terhadap Tingkat Kematangan folikel Ovarium Kambing Secara Invitro

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
	8 September 2016	BAB IV	
	9 September 2016	BAB IV, V, ABSTRAK.	
	13 September 2016	BAB IV, V, ABSTRAK	

Malang, 8 September 2016

Pembimbing Skripsi,

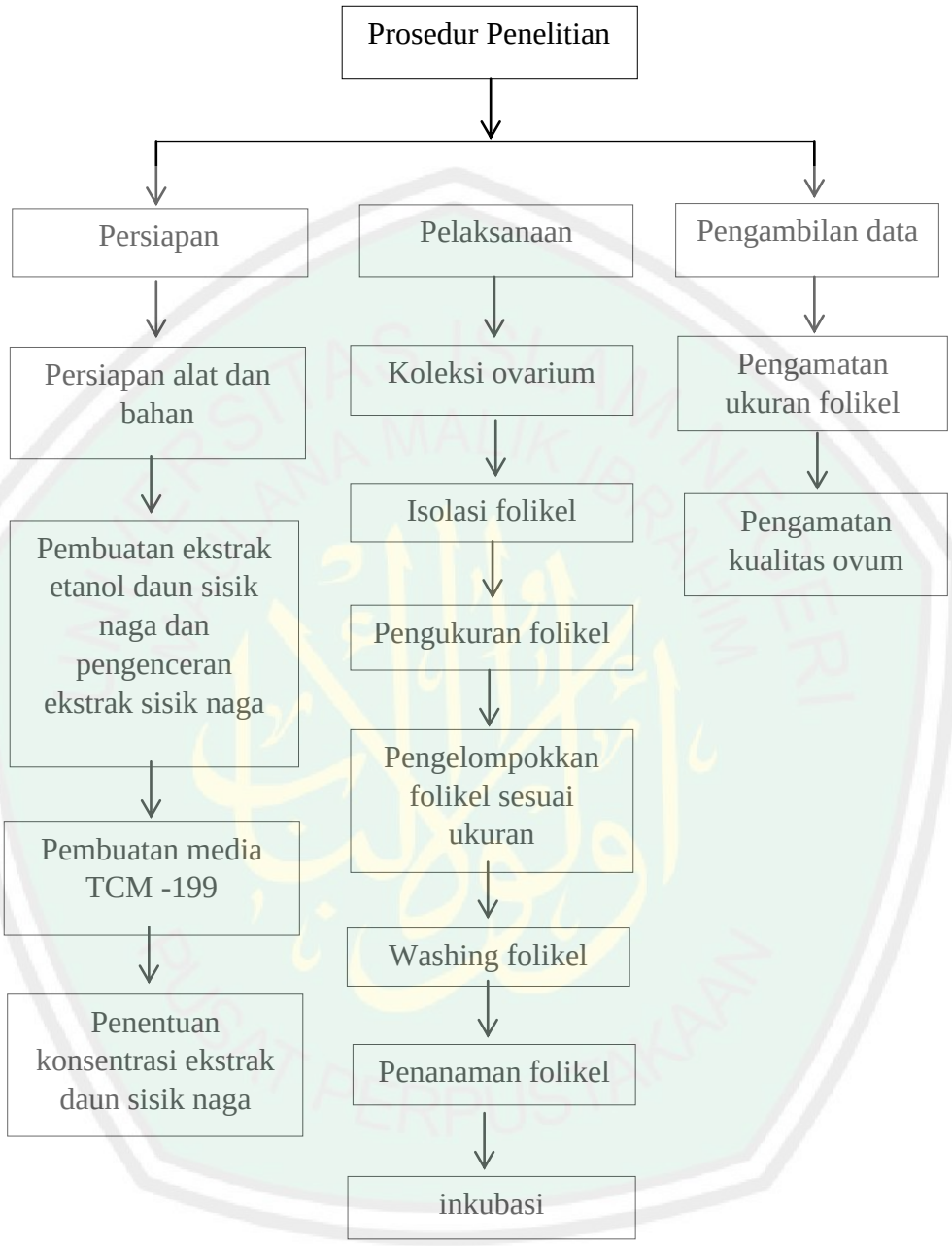
Kholifah Hdil, M.Si
NIP. 19751106 2 00912 2 002

Ketua Jurusan,

Dr. Evika Sandi Savitri, MP
NIP. 19741018200312 002

Kedalaman Spiritual, Keagungan Akhlak, Keluasan Ilmu, Kematangan Profesional

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Gambar 3.1 Skema Prosedur Penelitian

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.1.1 Tabel Rerata Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga *(Pyrrosia piloselloides)* Terhadap Tingkat Kematangan Folikel Ovarium Kambing *(Capra aegagrus hircus)* Secara *In Vitro*

cc	Perlakuan	Pengamatan Ukuran (mm)		Total Perubahan Ukuran
		Hari Ke 0	Hari Ke 6	
Kecil (2 mm)	P0 (0%)	2,0 ± 0.0	3,1 ± 0.1	1,1 mm
	P1 (1%)	2,0 ± 0.0	3,0 ± 0.0	1,0 mm
	P2 (1,5%)	2,0 ± 0.0	3,1 ± 0.1	1,1 mm
	P3 (2%)	2,0 ± 0.0	3,1 ± 0.1	1,1 mm
	P4 (2,5%)	2,0 ± 0.0	2,9 ± 0.0	0,9 mm
Sedang (2.1 mm – 4mm)	P0 (0%)	3,5 ± 0.0	3,7 ± 0.2	0,2 mm
	P1 (1%)	3,5 ± 0.0	3,9 ± 0.2	0,4 mm
	P2 (1,5%)	3,5 ± 0.0	3,8 ± 0.2	0,3 mm
	P3 (2%)	3,5 ± 0.0	4,4 ± 0.1	0,9 mm
	P4 (2,5%)	3,5 ± 0.0	3,4 ±0.1	-0,1 mm
Besar (4.1 mm – 6 mm)	P0 (0%)	5,5 ± 0.0	5,6 ± 0.1	0,1 mm
	P1 (1%)	5,5 ± 0.0	5,8 ± 0.2	0,3 mm
	P2 (1,5%)	5,5 ± 0.0	5,5 ± 0.1	0,0 mm
	P3 (2%)	5,5 ± 0.0	6,4 ± 0.1	0,9 mm
	P4 (2,5%)	5,5 ± 0.0	5,9 ± 0.4	0,4 mm

Keterangan : pada folikel sedang dengan penggunaan ekstrak etanol daun sisik naga sebanyak 2,5% menunjukkan tanda (-) yang berarti terjadi penyusutan ukuran pada folikel.

4.1.2 Tabel ANOVA One Way 5% Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*) Terhadap Tingkat Kematangan Folikel Ovarium Kambing (*Capra aegagrus hircus*) Secara In Vitro

SK	dB	JK	KT	F hitung	Ftabel 0.05
Perlakuan	4	0,623	0,156	0.73	4,33*
Galat	10	21,233	2,123		
Total	14	21,856			

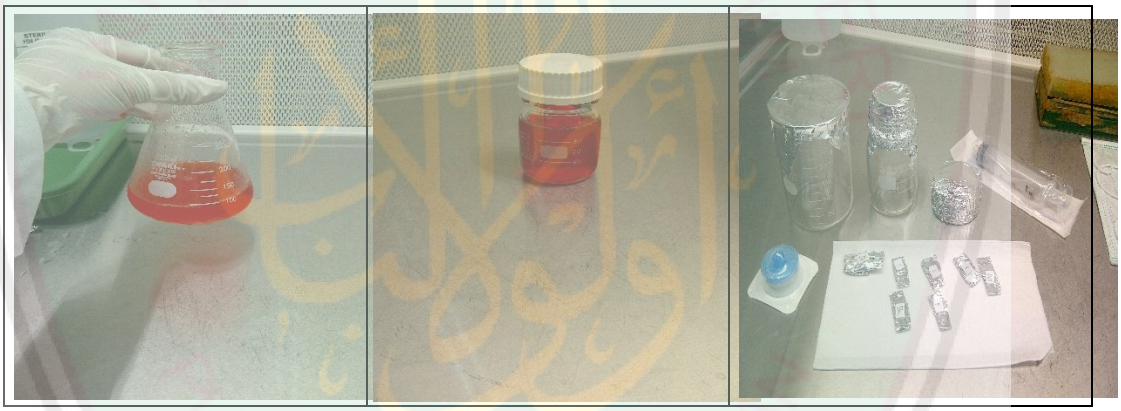
Keterangan: * F Hitung < F tabel = H0 ditolak dan H1 diterima = Tidak berbeda Nyata

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.2.3 Tabel Oosit Hasil Penanaman Folikel Secara In Vitro Berdasarkan Kualitas Oosit

Kriteria Folikel	Jumlah Oosit	Kriteria Oosit		
		Kualitas 2 (A)	Kualitas 1 (B)	Kualitas 0 (C)
Folikel Kecil	15	8 (53%)	4 (27%)	3 (20 %)
Folikel Sedang	15	5 (33 %)	7 (47 %)	3 (20 %)
Folikel Besar	15	5 (33 %)	6 (40 %)	4 (27 %)

MEDIA TCM 199

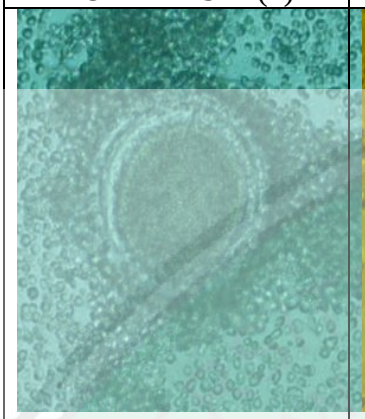
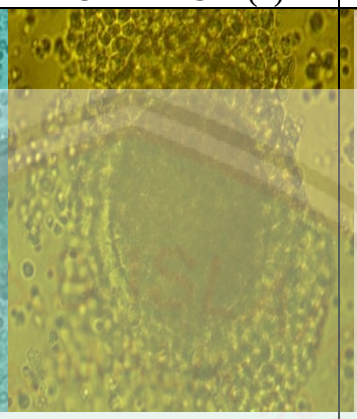


CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

EKSTRAK ETANOL DAUN SISIK NAGA

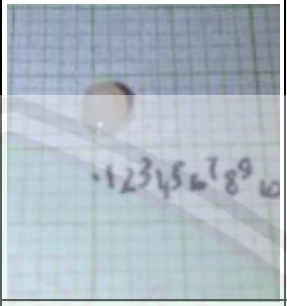
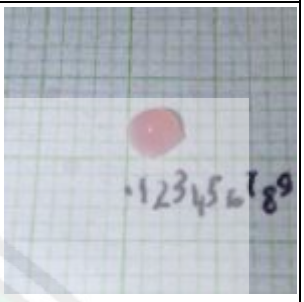
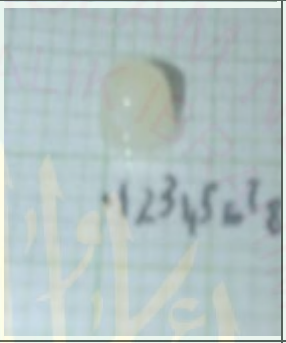
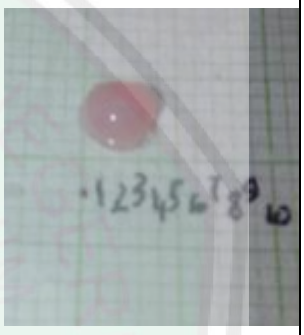
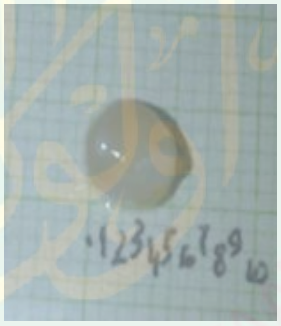
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

KUALITAS OOSIT

KUALITAS A (2)	KUALITAS B (1)	KUALITAS C (0)
		

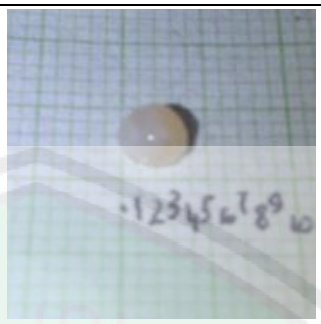
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

KEMATANGAN FOLIKEL

Kriteria Folikel	Perlakuan	Hari ke 0	Hari Ke 6
Kecil	**2%**		
Sedang	**2%**		
Besar	**2%**		

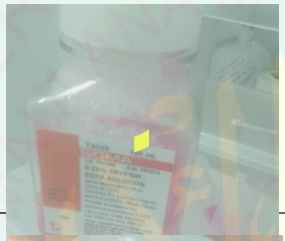
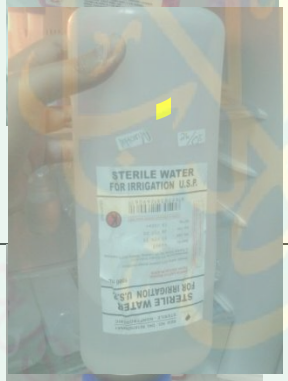
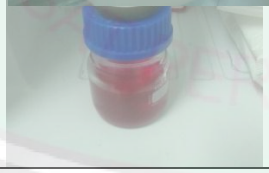
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

FOLIKEL RUSAK

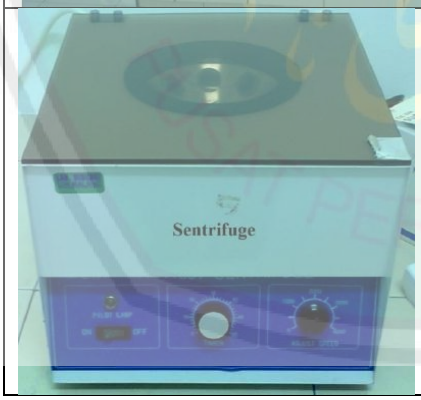
Kriteria Folikel	Perlakuan	Hari Ke 0	Hari Ke 6
Folikel Sedang	**2,5%**		

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

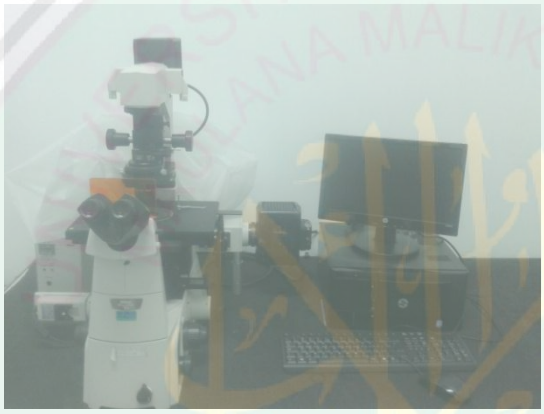
b. Alat dan bahan

	Bahan Sterilisasi 1. Alumunium Foil 2. Wipol 3. Tepol 4. Alkohol 70% 5. Aquades 6. Sabun Cuci
	1. Serum
	1. DI
	1. Tripan Blue 2. DI
	Alat- Alat Kultur 1. Alumunium foil 2. Tissue 3. Bunsen 4. Mikropipet 5. Cawan petri 6. Speed 5 ml 7. Pinset 8. Gunting 9. Corong 10. Beker glas 50 ml

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

	11. Well 24 12. Tc Disk 13. Alkohol 14. Rak 15. Yellow tipe 16. Blue tipe
	1. Autoklaf
	1. Oven
	1. Sentrifuge

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

	1. Inkubator
	1. Mikroskop Inverted
	1. Timbangan Analitik

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG