

# SKRIPSI

## KONFIRMASI DIAGNOSTIK MENOPOUSE BERDASARKAN EVALUASI SELULER VAGINA DAN KADAR HORMON ESTROGEN PADA MENCIT (*Mus musculus*)



Oleh :

**WAHYU DESI ROSANTY**

**060213067**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2007**

**KONFIRMASI DIAGNOSTIK MENOPOUSE BERDASARKAN  
EVALUASI SELULER VAGINA DAN KADAR HORMON  
ESTROGEN PADA MENCIT (*Mus musculus*)**

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

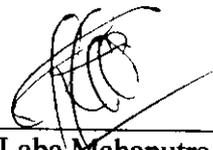
Oleh  
**WAHYU DESI ROSANTY**  
NIM 060213067

Menyetujui  
Komisi Pembimbing,



---

(Nove Hidajati, MKes.,Drh)  
Pembimbing Pertama



---

(Prof. Dr. Laba Mahaputra, MSc., Drh)  
Pembimbing Kedua

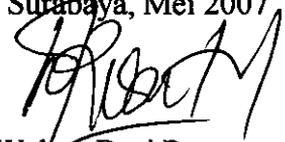
## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

**Konfirmasi Diagnostik Menopause Berdasarkan Evaluasi Seluler  
Vagina dan Kadar Hormon Estrogen pada Mencit (*Mus musculus*)**

tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, Mei 2007



Wahyu Desi Rosanty

NIM. 060213067

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 27 Juli 2007

**KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN**

Ketua : Boedi Setiawan, M.P., Drh  
Sekretaris : Trilas Sardjito, M.Si., Drh  
Anggota : Indah Norma Triana, M.Si., Drh  
Pembimbing I : Nove Hidajati, M.Kes., Drh  
Pembimbing II : Pror. Dr. Laba Mahaputra, M.Sc., Drh

Telah diuji pada

Tanggal : 03 Agustus 2007

**KOMISI PENILAI SKRIPSI HASIL PENELITIAN**

**Ketua** : Boedi Setiawan, M.P., Drh  
: Trilas Sardjito, M.Si., Drh  
: Indah Norma Triana, M.Si., Drh  
: Nove Hidajati, M.Kes., Drh  
: Pror. Dr. Laba Mahaputra, M.Sc., Drh

Surabaya, 12 Agustus 2008

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Hj. Romziah Sidik Ph.D., drh

NIP. 130 687 305

## KATA PENGANTAR

Puji syukur Penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat serta karunia-Nya dalam penelitian ini, sehingga dapat diselesaikannya penulisan hasil penelitian yang berjudul Konfirmasi Diagnostik Menopause Berdasarkan Evaluasi Seluler Vagina dan Kadar Hormon Estrogen Pada Mencit (*Mus musculus*).

Pada kesempatan ini Penulis mengucapkan terima kasih kepada yang terhormat Prof. Drh. Hj. Romziah Sidik, Phd. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan, Ibu Hj. Nove Hidayati, M.Kes, Drh selaku pembimbing pertama yang memberi semangat, Bapak Prof. Dr. Laba Mahaputra, MSc., Drh selaku pembimbing kedua yang memberi semangat, pengarahan dan saran.

Terima kasih juga yang sebesar- besarnya kepada bapak dan ibu atas doa dan semangatnya baik secara lahir maupun bathin. Adik-adik, Anto dan Finan yang menjadi penyemangat.

Aditya Triaji Putra Amanda yang selalu mendukung dan membantu dalam pengerjaan penelitian hingga penulisan skripsi.

Mbak surti dan Mbak Ida yang selalu membantu dan memberi semangat serta seluruh staf laboratorium Kebidanan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang telah mengizinkan penulis melakukan penelitian di laboratorium Kebidanan.

Teman- temanku yang baik, Ghea, Asih dan Ririn, terima kasih atas perhatiannya dan semangat yang diberikan. Teman- temanku angkatan 2002 yang

selalu memberi dukungan. Maisy, Oyu dan keempat anaknya yaitu Cemot, Tompi, Putih dan Mellow yang selalu memberikan hiburan dikala duka dengan segala tingkah lakunya.

Penulis menyadari bahwa penelitian ini masih memerlukan banyak penyempurnaan, untuk itu Penulis mengharapkan saran dan kritik. Semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Surabaya, April 2007

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PERNYATAAN .....	ii
HALAMAN IDENTITAS .....	iii
ABSTRACT .....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH .....	v
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR LAMPIRAN .....	xi
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG .....	xii
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang Masalah .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	3
1.3. Tujuan Penelitian .....	3
1.4. Landasan Teori .....	4
1.5. Manfaat Penelitian .....	5
1.6. Hipotesis Penelitian .....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....	6
2.1. Siklus Birahi Mencit .....	6
2.2. Gambaran Seluler dan Perubahan Ovarium dalam Siklus Birahi.....	8
2.2.1. Periode Proestrus .....	8
2.2.2. Periode Estrus .....	9
2.2.3. Periode Metestrus .....	10
2.2.4. Periode Diestrus .....	10
2.3. Peranan Hormon dalam Siklus Birahi .....	11
2.4. Hormon Estrogen .....	12
2.5. Superovulasi .....	16
2.6. Hormon <i>Pregnant Mare's Serum Gonadotropin</i> (PMSG) .....	17
2.7. Radioimmunoassay (RIA) .....	18
2.8. Menopause atau Anestrus .....	20
BAB 3 MATERI DAN METODE .....	24
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian .....	24
3.2. Materi Penelitian .....	24
3.2.1. Hewan Percobaan .....	24
3.2.2. Alat- Alat dan Bahan Penelitian .....	24
3.3. Metode Penelitian .....	25
3.3.1. Pemeriksaan Siklus Birahi Mencit ( <i>Mus musculus</i> ) Betina .....	25

3.3.2. Penyuntikan Hormon untuk Superovulasi .....	25
3.4. Pemeriksaan Sampel .....	26
3.4.1. Pemeriksaan Bentuk dan Populasi Sel Epithel Vagina .....	26
3.4.2. Pemeriksaan Kadar Hormon Estrogen .....	27
3.5. Peubah yang Diamati .....	28
3.6. Rancangan Penelitian dan Analisis Data .....	29
 BAB 4 HASIL PENELITIAN .....	 30
4.1. Hasil Evaluasi seluler Vagina Mencit .....	30
4.2. Hasil Pengukuran Kadar Hormon Estrogen dengan Uji RIA .....	31
 BAB 5 PEMBAHASAN .....	 34
 BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN .....	 42
6.1. Kesimpulan .....	42
6.2. Saran .....	42
 RINGKASAN .....	 43
 DAFTAR PUSTAKA .....	 45
 LAMPIRAN .....	 51

**DAFTAR TABEL**

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
4.1. Jumlah Populasi Sel Basal, Parabasal dan Leukosit Pada Saat Diestrus dan Menopause pada Mencit .....	30
4.2. Rataan ( $\pm$ sd) Kadar Hormon Estrogen Dalam Satuan pg/ml Mencit Pada Saat Diestrus dan Menopause.....	31
4.3. Hasil Analisis Statistik Kadar Hormon Estrogen dengan Uji RIA (Radioimmunoassay) Antara Fase Diestrus dengan Fase Menopause .....	32
4.4. Data Biologis Mencit .....	55

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.2.1. Periode Proestrus .....	9
2.2.2. Periode Estrus.....	9
2.2.3. Periode Metestrus .....	10
2.2.4. Periode Diestrus .....	11
2.2.5. Fase Menopause .....	33
2.2.6. Fase Diestrus .....	33

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Analisis Statistik Pemeriksaan Kadar Hormon Estrogen Mencit .....	50
2. Bahan yang Digunakan untuk Uji RIA .....	52
3. Alat- Alat yang Digunakan dalam Uji RIA.....	53
4. Data Biologis Mencit .....	55

## SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

B	= <i>Basal</i>
CL	= <i>Corpus Luteum</i>
CPM	= <i>Count Per Minute</i>
FSH	= <i>Foliceal Stimulating Hormone</i>
FSH-RH	= <i>Folikel Stimulating Hormon-Releasing Hormon</i>
GnRH	= <i>Gonadotropin Releasing Hormon</i>
HCG	= <i>Human Chorionic Gonadotropin</i>
LH	= <i>Luteinizing Hormone</i>
LH-RH	= <i>Luteinising Hormon-Releasing Hormon</i>
LPB	= <i>Ligand Binding Assay</i>
P	= <i>Parabasal</i>
PMSG	= <i>Pregnant Mare's Serum Gonadotropin</i>
RIA	= <i>Radioimmunoassay</i>

# **BAB 1**

# **PENDAHULUAN**

## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1. 1. Latar Belakang Masalah

Mencit (*Mus musculus*) adalah salah satu hewan coba yang sering digunakan untuk tujuan suatu penelitian karena mencit memiliki berbagai kelebihan, antara lain, siklus birahinya pendek dengan ovulasi terjadi secara spontan (*spontaneous ovulation*), mudah diberi perlakuan, mudah ditenakkan, harganya jauh lebih murah dibandingkan dengan hewan coba lainnya, mudah dikendalikan terhadap lingkungan dan memiliki perubahan sel epitel vagina yang jelas.

Mencit termasuk hewan poliestrus yaitu hewan yang mengalami beberapa kali birahi dalam sebulan atau setahun, birahi dimulai pada umur 28 – 40 hari. Siklus birahi mencit berlangsung antara 4 – 5 hari dan estrus dimulai pada malam hari selama 12 jam (Kusumawati, 2004).

Siklus birahi mencit terbagi dalam 4 periode yang dapat dibedakan dari gambaran hapusan vagina, yang antara lain sebagai berikut :

#### a. Proestrus.

Ciri dari fase proestrus, pada sediaan hapusan vagina terdapat sel-sel epitel (bentuk kecil dengan inti bulat yang mengisi hampir  $\frac{3}{4}$  bagian sel, dan sebagian kecil sel berkembang dengan proporsi sitoplasma lebih besar dari inti). Periode ini berlangsung selama 12 jam.

#### b. Estrus

Ciri dari fase estrus, pada sediaan hapusan vagina ditemukan sel-sel epitel yang mengalami kornifikasi dengan inti sel karioreksis dan kariolisis. Fase ini berlangsung selama 9 – 15 jam.

#### c. Metestrus

Fase ini pada sediaan hapusan vaginanya memperlihatkan gambaran sel-sel epitel yang mengalami kornifikasi dengan inti mulai lisis dan munculnya sel basal serta sel leukosit dan eritrosit disekitar sel-sel epitel. Fase ini berlangsung selama 12 jam.

#### d. Diestrus

Fase ini merupakan fase terpanjang yaitu sekitar 56 – 60 jam. Pada sediaan hapusan vagina hanya tampak sel-sel leukosit dengan adanya sel-sel epitel yang jarang berbentuk basal.

Selama ini fase menopause yang secara alami terjadi baik pada mamalia maupun hewan yang sudah tidak mampu berkembang biak, belum ditemukan pada mencit sebagai hewan coba yang paling sering digunakan untuk penelitian medis. Menopause atau anestrus atau accyling adalah suatu fase dimana mencit tidak lagi mengalami siklus birahi atau berhenti bersiklus (accyling). Pada sediaan hapusan vaginanya hanya akan ditemukan sel-sel basal dan parabasal (Beimborn, 2003). Dengan ditemukannya fase menopause pada mencit, maka berbagai penelitian medis yang berhubungan dengan fase menopause seperti reproduksi, endokrinologi, kesehatan tulang dan lain sebagainya dapat semakin dikembangkan.

Berdasarkan pertimbangan yang telah dijelaskan, maka perlu suatu pemecahan masalah dengan suatu penelitian tentang diagnosis menopause dengan metode evaluasi seluler vagina dan kadar hormon estrogen pada mencit dengan melakukan superovulasi, dimana superovulasi adalah bertambahnya jumlah ovulasi dalam satu periode birahi yang normal dengan menggertak seekor hewan betina memakai preparat hormon, dalam hal ini preparat hormon yang digunakan adalah hormon PMSG (*Pregnant Mare's Serum Gonadotropin*) dan pemeriksaan RIA (*Radio Immuno Assay*).

### **1. 2. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan rumusan masalah yang dapat diajukan adalah :

1. Apakah bentuk dan populasi sel dapat dipakai untuk diagnosa menopause pada mencit?
2. Apakah kadar hormon estrogen dapat dipakai mendiagnosis fase menopause pada mencit?

### **1. 3. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui bentuk dan populasi sel epitel vagina serta kadar hormon estrogen pada fase menopause mencit sehingga dengan diketemukannya bentuk dan populasi sel epitel vagina serta kadar hormon estrogen fase menopause dapat bermanfaat untuk melakukan berbagai penelitian medis.

#### 1. 4. Landasan Teori

Tikus, mencit, hamster dan marmot sebagai hewan coba pada laboratorium merupakan spesies poliestrus yang mengulang siklus-siklusnya sepanjang tahun tanpa banyak variasi, apabila tidak diganggu oleh kebuntingan atau bunting semu.

Superovulasi dengan menyuntikkan preparat hormon PMSG menimbulkan birahi karena hormon ini mempunyai aktivitas biologis yang menyerupai FSH dan LH yang lebih dikenal dengan hormon gonadotropin yang berfungsi untuk mengendalikan pertumbuhan, pemasakan folikel dan sekresi estrogen. Aktivitas biologis PMSG ini menimbulkan terjadinya transformasi folikel yang tidak aktif menjadi folikel fase pertumbuhan dengan proliferasi sel granulosa dan meningkatkan sekresi estrogen. Penyuntikan PMSG dengan tujuan superovulasi menyebabkan jumlah ovum atau sel telur yang diovulasikan akan semakin bertambah dari jumlah ovulasi pada normalnya, sehingga sisa sel telur yang ada semakin berkurang dan akibatnya sekresi hormon estrogen juga akan menurun (Rahardja, 2005).

Preparat hapusan vagina mencit fase estrus mengandung banyak sel epitel yang mengalami kornifikasi dengan inti berdegenerasi merupakan indeks aksi terpecaya untuk aksi estrogen. Estrogen menandukkan sel-sel epitel vagina mencit pada saat fase estrus dan biasa disebut sel kornifikasi yang tampak pada preparat hapusan vagina (Hardjopranto, 1995)

Di bawah pengaruh FSH, selusin atau lebih folikel ovarium tumbuh dengan cepat dengan demikian fase estrus merupakan periode sekresi estrogen yang meninggi. Fase diestrus pada siklus birahi mencit ditandai dengan ditemukannya

banyak sel-sel leukosit pada preparat hapusan vagina. Fase ini juga merupakan fase dimana kadar estrogen paling rendah pada mencit betina yang masih bersiklus (Hernadi, 2005). Pada fase menopause dimana kadar hormon estrogen akan terus-menerus menurun, menyebabkan tidak terjadinya penandukkan atau kornifikasi sel epitel vagina turun sehingga pada preparat hapusan vagina hanya akan terlihat sel-sel basal dan sel-sel parabasal. Sel basal adalah sel ukuran kecil dengan jumlah sitoplasma kecil. Sel parabasal bentuknya bulat dengan inti bulat dan memiliki sitoplasma, umumnya bentuknya tampak seragam baik ukuran dan bentuk. Penurunan estrogen juga menyebabkan tidak terjadinya perubahan pada siklus birahi mencit (Mahaputra, dkk, 2006).

#### **1. 5. Manfaat Penelitian**

Penetapan kadar hormon estrogen dan gambaran seluler vagina mencit menopause diharapkan dapat membantu penelitian yang berhubungan dengan menopause, seperti farmasi, farmakologi, reproduksi dan sebagainya dengan menggunakan mencit fase menopause

#### **1. 6. Hipotesis Penelitian**

1. Bentuk populasi hapusan vagina dapat dipakai untuk mendiagnosis mencit dalam fase menopause.
2. Kadar hormon estrogen dapat dipakai untuk mendiagnosis mencit dalam fase menopause.

## **BAB 2**

# TINJAUAN PUSTAKA

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2. 1. Siklus Birahi Mencit Betina

Siklus birahi ialah ritme fungsi faal tertentu yang terdapat pada hewan ternak setelah masa pubertas dicapai. Pada hewan ternak, perkawinan terbatas hanya pada waktu birahi yang kemudian diikuti dengan terjadinya ovulasi. Pada manusia dan primata, perkawinan tidak terbatas selama siklus menstruasi, sedangkan ovulasi terjadi pada pertengahan siklus (Ismudiono, 1999).

Siklus pemasakan sel telur dari pre antral folikel hingga menjadi folikel de Graaf pada kebanyakan mamalia melalui *siklus estrus*, sedangkan siklus pemasakan telur pada primata disebut *siklus menstruasi*. Kedua siklus tersebut memperlihatkan adanya perbedaan. Pada hewan yang mengalami siklus estrus, selama satu siklus hewan betina siap menerima hewan jantan untuk kawin hanya dalam waktu yang singkat, yaitu pada masa estrus atau subur. Selain itu, dinding saluran reproduksi terutama rahim pada akhir siklus tidak mengalami disintegrasi dan tidak luruh sehingga tidak ada perdarahan atau menstruasi seperti pada manusia (Isnaeni, 2006).

Mencit termasuk hewan poliestrus yaitu mengalami beberapa kali birahi dalam satu bulan dan satu tahun. Birahi dimulai pada umur 28- 40 hari. Berat badan antara 20- 30 gram. Siklus birahi mencit berlangsung antara 4- 5 hari dan estrus dimulai pada malam hari selama 12 jam. Ovulasi terjadi secara spontan mendekati akhir periode estrus dan akan terjadi fertilisasi dua jam setelah kawin. Perkawinan dilakukan secara berkelompok terdiri dari satu pejantan dan empat

betina. Jumlah anak pada masa kebuntingan pertama umumnya 3-4 ekor dan cenderung meningkat pada kebuntingan berikutnya. Siklus birahi mencit terbagi dalam empat periode yaitu: Proestrus, Estrus, Metestrus dan Diestrus (Ismudiono, 1999). Menurut Chukwuochat *et al* (1994) sistematika mencit berdasarkan taksonominya dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Animal  
Fillum : Cordata  
Class : Rodensia  
Family : Muridae  
Genus : *Mus*  
Spesies : *Mus musculus*

Perubahan fase siklus birahi pada mencit (*Mus musculus*) dapat dipakai sebagai indikator untuk mendeteksi kemungkinan perubahan fisiologis yang berkaitan dengan perubahan profil hormon reproduksi dan perubahan pada glandula mamaria (Fata *et al.*, 2001 seperti dikutip dalam Mahaputra, dkk, 2006) maupun aktivitas sintesis protein dalam uterus. Siklus birahi pada mencit dapat diamati berdasarkan pemeriksaan preparat hapusan vagina. Siklus birahi merupakan respon terhadap dinamika endokrin reproduksi.

Siklus birahi dikontrol oleh mekanisme endokrin poros hipotalamushipofisisovarium (Hafez, 2000). Hipotalamus berfungsi menstimulasi hipofisa anterior untuk melepaskan *Gonadotropin Releasing Hormon* (GnRH), sehingga hipofisa mensekresi *Folicle Stimulating Hormone* (FSH). Selanjutnya FSH akan merangsang pertumbuhan folikel di ovarium

sampai mencapai stadium Folikel de Graaf yang akan menghasilkan hormon estrogen. Pertumbuhan sampai dengan pematangan folikel pada ovarium tersebut mengakibatkan terjadinya fase proestrus sampai fase estrus. Estrogen selanjutnya memberikan positif feedback terhadap poros hipotalamushipofisa untuk mensekresi *Luteinizing Hormone* (LH) yang menyebabkan ovulasi. Sel-sel teka interna yang mengalami luteinasi membentuk korpus luteum yang menghasilkan progesteron. Ovulasi sampai terbentuknya korpus luteum matang yang menghasilkan hormon progesteron menyebabkan fase metestrus sampai diestrus (Jasper *et al* 2000 seperti dikutip dalam Mahaputra, dkk, 2006).

## **2. 2. Gambaran Seluler dan Perubahan Ovarium dalam Siklus Birahi**

Periode-periode siklus birahi dapat dilihat dan dibedakan dengan membuat sediaan hapusan vagina (*swab smear*), pengamatan terhadap tingkah laku hewan meliputi perubahan pada ovariumnya serta perubahan alat kelamin luarnya.

### **2. 2. 1. Periode Proestrus**

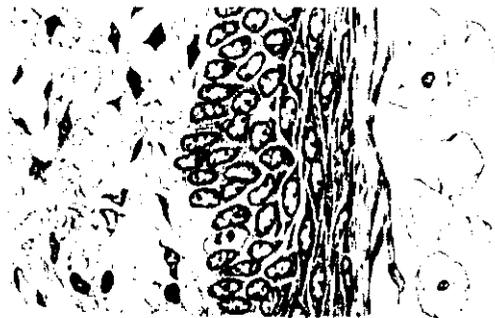
Disebut juga dengan fase persiapan yang ditandai dengan perubahan tingkah laku yaitu, mencit betina mulai dapat menerima pejantan walaupun belum mau melakukan kopulasi (*jumping heat*). Perubahan pada alat kelamin luar terlihat adanya peningkatan peredaran darah dan epitel vagina mengalami penebalan. Pada sediaan hapusan vagina terdapat sel-sel epitel utuh (sel parabasal) dan pada ovarium terjadi pertumbuhan folikel. Periode ini berlangsung 12 jam (Meles dkk, 1991). Gambaran seluler periode proestrus dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Periode proestrus (Turner-Bagnara, 1988)

### 2. 2. 2. Periode Estrus

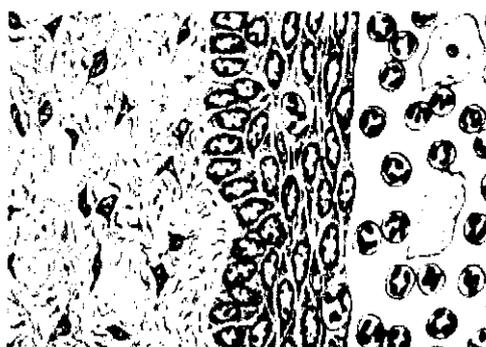
Merupakan masa keinginan kawin, periode ini ditandai dengan penurunan aktivitas seperti berlari, telinga gemetar dan sudah mau menerima pejantan untuk melakukan kopulasi (*standing heat*). Terdapat perubahan pada alat kelamin luar seperti penebalan dan kornifikasi dinding vagina. Pada sediaan hapusan vagina terdapat sel-sel epitel yang mengalami kornifikasi dan inti sel karioreksis. Periode ini berlangsung selama 9 – 15 jam. Gambaran seluler periode estrus dapat dilihat pada Gambar 2



Gambar 2. Periode estrus (Turner-Bagnara, 1988)

### 2. 2. 3. Periode Metestrus

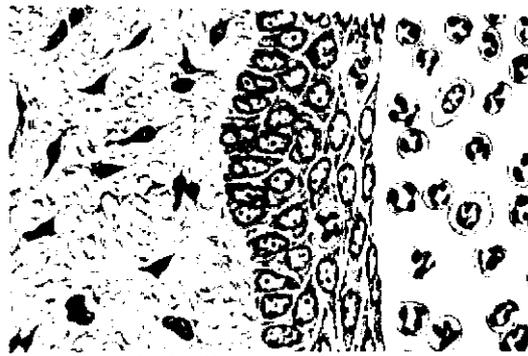
Periode ini berlangsung sekitar 12 jam, yang ditandai dengan penolakan mencit betina terhadap mencit jantan. Perubahan pada alat kelamin luar yaitu lepasnya lapisan mukosa vagina yang mengalami kornifikasi dan adanya lendir kental. Pada sediaan hapusan vagina terlihat sel-sel epitel yang mengalami kornifikasi dan inti mulai lisis dan munculnya sel-sel leukosit dan eritrosit disekitar sel-sel epitel. Pada ovarium tampak adanya pembentukan korpus luteum. Gambaran seluler periode metestrus dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Periode metestrus (Turner-Bagnara, 1988)

### 2. 2. 4. Periode Diestrus

Merupakan periode terpanjang dari keempat periode birahi yaitu sekitar 56 – 60 jam yang ditandai penolakan terhadap mencit jantan, mukosa vagina kembali ke bentuk sedia kala, lapisan epitel menipis. Pada sediaan hapusan vagina hanya tampak sel-sel leukosit dan sel basal tanpa adanya sel-sel epitel berproliferasi atau bila ada, dalam jumlah yang sangat sedikit dan sering tidak terdeteksi. Ovarium berisi bentukan korpus luteum. Gambaran seluler periode diestrus dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Periode diestrus (Turner-Bagnara, 1988)

### 2.3. Peranan Hormon dalam Siklus Birahi

Pada akhir dari fase diestrus, korpus luteal mengalami regresi sehingga produksi progesteron menurun, yang berarti pencegah produksi FSH-RH/ LH-RH (*Folicle Stimulating Hormone Releasing Hormone/ Luteinizing Hormone Releasing Hormone*) oleh hipotalamus dihilangkan. FSH-RH/ LH-RH merangsang produksi dan pelepasan FSH (*Folicle Stimulating Hormone*) yang disusul oleh produksi LH (*Luteinizing Hormone*). FSH menyebabkan pertumbuhan dan perkembangan folikel lapisan sel teka interna dan sel granulosa pada folikel de Graff menghasilkan estrogen (Hafez, 2000). Semakin masak atau semakin besar dimensi folikel de Graff semakin tinggilah produksi estrogen. Kadar estrogen dalam darah mencapai derajat ketinggian tertentu, maka terjadilah efek positif terhadap produksi dan pelepasan LH dari hipofisa anterior. Mekanisme ini disebut umpan balik positif, kadar LH dalam darah mendadak meningkat sedemikian rupa sehingga terjadi ovulasi. Setelah ovum meninggalkan folikel yang pecah, terjadilah perdarahan pada bekas folikel tersebut dan berkembang menjadi corpus rubrum. Darah menggumpal mengisi ruang bekas ovum dan cairan folikel, sehingga pada permukaan ovarium terlihat sebagai bintik

merah. Gumpalan darah pada ruang bekas folikel disebut *corpus hemorrhagicum* (Partodiharjo, 1982).

Setelah ovulasi terjadi, kadar LH menurun dengan cepat, tetapi tidak kembali ke kadar dasar, melainkan cukup untuk merangsang sel- sel teka interna untuk membentuk sel- sel yang berbentuk polymorph dan berwarna kuning yang selanjutnya disebut *corpus luteum*. Sejak terbentuknya corpus luteum, sel- sel ini memproduksi hormon progesteron, yang mempunyai fungsi meredakan aktivitas estrogen (Partodiharjo, 1982).

Bila hewan tidak bunting, corpus luteum dengan cepat mengalami regresi dibawah pengaruh faktor lisis asal uterus (*prostaglandin F2a*). Sekresi progesteron berkurang sebagai akibat luteolisis ini, dan siklus birahi berlanjut dengan sasaran kembalinya dengan segera kondisi birahi dan kesempatan kawin. Peniadaan pengaruh umpan balik negatif progesteron memungkinkan aktifnya sekresi gonadotropin hipofisa, dibawah pengaruh ini satu folikel de Graff akan menjadi masak, mensekresikan estrogen dalam jumlah meningkat dan mendorong terjadinya perubahan yang mengawali birahi dan ovulasi (Hunter, 1995).

#### **2.4. Hormon Estrogen**

Hormon dapat dikelompokkan dalam dua kelompok besar yaitu hormon yang berasal dari asam- asam amino (protein) dan hormon- hormon yang merupakan turunan lipid (lemak). Kelompok hormon lain yang juga merupakan turunan lemak ialah steroid. Senyawa- senyawa ini disintesis dari kolesterol oleh kelenjar- kelenjar endokrin yang terdapat di korteks adrenal dan gonad (Schumn. 1993). Hormon steroid seks sangatlah penting (essensial) bagi fungsi reproduksi

dan ciri- ciri seks sekunder. Hormon steroid jantan yang utama ialah *testosteron*, sedangkan hormon steroid betina yang utama ialah *estrogen* dan *progesteron*. Hormon- hormon ini bertanggung jawab dalam menjamin produksi ovum dan sperma serta dalam mempertahankan ciri- ciri kelamin sekunder. Ovarium menghasilkan *estradiol* dan *estron* dari *testosteron* (Leeson, 1996).

Ovarium merupakan kelenjar ganda yaitu sebagai kelenjar eksokrin dan kelenjar endokrin karena mampu menghasilkan sekreta berupa ovum (sekresi eksokrin) dan menghasilkan hormon ovarium terutama *estrogen* dan *progesteron* (sekresi endokrin) (Delmann-Brown, 1992). Substansi yang mempunyai aktivitas estrogenik dapat ditemukan pada hewan maupun tanaman. Tiga unsur utama dari hormon estrogen yaitu *estradiol* ( $C_{18}H_{26}O_2$ ), *estron* ( $C_{18}H_{25}O_2$ ) dan *estriol* ( $C_{18}H_{27}O_3$ ). Dalam sekresinya hormon estradiol merupakan proporsi yang paling banyak (Ismudiono, 1999).

Hormon estrogen ini diproduksi oleh sel- sel granulosa dari folikel pada fase antral hingga folikel de Graff. Estrogen ditranspor di dalam darah dalam bentuk berikatan dengan protein. Estrogen berperan pada sistem saraf pusat dalam menginduksi tingkah laku birahi pada betina. Estrogen mempunyai efek positif dan negatif feedback mekanisme melalui hipotalamus dari hipofisa terhadap pelepasan FSH dan LH. Efek negatif pada pusat tonus dan efek positif pada pusat preovulatori. Estrogen yang berasal dari tanaman disebut *isoflavons* dan dapat ditemukan pada tumbuhan terutama dari golongan *leguminosa* misalnya clover (semanggi) dan alfafa (Ismudiono, 1999).

Estrogen terutama dihasilkan oleh sel- sel granulosa yang mengubah androgen, yang dihasilkan oleh sel- sel teka interna menjadi estrogen. Hormon estrogen mendorong pertumbuhan serta perkembangan saluran kelamin betina serta membangkitkan gejala birahi. Pertumbuhan dan pemasakan folikel ovarium dan sekresi estrogen dikendalikan oleh hormon gonadotropin hipofise, yakni FSH dan LH. Sebaliknya, sekresi estrogen oleh ovarium memicu pelepasan gelombang LH untuk ovulasi, biasanya pada masa birahi (Delmann- Brown, 1992).

Pada hewan betina, estrogen mempunyai beberapa pengaruh (Hardjopranjoto, 1995) :

1. Estrogen mempunyai peranan penting untuk timbulnya tingkah laku seksual pada hewan betina. Penyuntikkan estrogen dalam ventrikel otak, dapat menimbulkan birahi pada hewan betina tersebut.
2. Pada metabolisme tubuh, estrogen menambah sintesa dan sekresi *growth* hormon sehingga dapat menstimulir pertumbuhan sel- sel dalam tubuh, mempercepat pertambahan berat badan, merangsang korteks kelenjar adrenal untuk lebih banyak meningkatkan metabolisme protein karena adanya retensi nitrogen yang meningkat.
3. Pada pertumbuhan tulang, estrogen mendorong pertumbuhan tulang panjang pada waktu muda. Tetapi adanya perkapuran pada tulang rawan (epifisa) dari tulang yang lebih cepat menyebabkan cepat berhentinya pertumbuhan memanjang, disamping rongga bagian dalam tulang yang seharusnya luas menjadi menyempit sehingga sumsum tulang menjadi lebih sedikit dan pembentukan sel darah merah menjadi berkurang.

Tulang menjadi lebih pendek, dan inilah penyebab kebanyakan hewan betina lebih pendek dan lebih kecil dari hewan jantan.

4. Pada kulit, estrogen menyebabkan kulit menjadi lebih halus. Kulit sekitar vulva lebih lunak dan berwarna kemerah-merahan dan cairan sekitar kemaluan yang meningkat pada waktu birahi, disebabkan oleh membanjirnya hormon estrogen pada saat tersebut. Inilah yang menyebabkan pejantan tertarik pada betina. Kemerahan dan kelembutan kulit disebabkan oleh adanya vasodilatator dari kapiler di daerah itu.
5. Pada vagina, estrogen menyebabkan perubahan-perubahan pada epitel vagina. Ia mengakibatkan terjadinya proliferasi sel epitel vagina. Estrogen juga menyebabkan terjadinya kornifikasi sel-sel epitel vagina.
6. Pada uterus, estrogen menyebabkan terjadinya hipertropi dan hiperplasia tunas endometrium dan miometrium, menyebabkan uterus bertambah berat karena adanya pembendungan air. Dengan progesteron, estrogen bekerja secara sinergis artinya sesudah stimulasi dengan estrogen, progesteron akan melanjutkan proliferasi dari tunas yang semula telah mengalami perubahan-perubahan oleh hormon estrogen. Progesteron sendiri akan menyebabkan proliferasi tunas uterus, tetapi jumlah yang diperlukan harus jauh lebih banyak kalau diberikan bersama-sama estrogen. Hormon ini juga menyebabkan uterus peka terhadap pengaruh oksitosin pada saat menjelang pertus. Estrogen bekerjasama dengan relaksin dapat merelaksasi serviks dan ligamentum pelvis.

7. Terhadap tuba falopii dan rambut getarnya, estrogen menyebabkan pergerakan aktif dari rambut getar dan dinding tuba falopii berkontraksi. Ini disebabkan karena rambut getar dan dinding tuba memperoleh pemberian darah yang lebih banyak akibat kerja estrogen.
8. Pada kelenjar ambing, estrogen bersama-sama progesteron dan LTH dari kelenjar hipofisa anterior, menyebabkan perkembangan kelenjar ambing. Estrogen penting untuk pertumbuhan sistem pembuluh kelenjar ambing, sedang progesteron menyebabkan pertumbuhan sistem alveolarnya.
9. Terhadap ovarium, estrogen dapat mengembalikan fungsi dan besarnya ovum pada hewan betina yang menderita hipofisektomi.

### 2.5. Superovulasi

Superovulasi adalah bertambahnya jumlah ovulasi dalam satu periode birahi yang normal, dengan menggertak seekor hewan betina memakai preparat hormon (Hardjopranjoto, 1995). Superovulasi dapat dilakukan dengan menyuntikkan hormon PMSG (*Pregnant Mare Serum Gonadotropin*) atau kombinasi PMSG dan HCG (*Human Chorionic Gonadotropin*) pada hewan betina yang telah mencapai remaja. Respon terjadinya ovulasi tergantung pada dosis PMSG yang diberikan. Waktu penyuntikan juga memegang peranan penting dalam berhasilnya superovulasi.

Penyuntikan PMSG menyebabkan timbulnya birahi karena PMSG mempunyai aktivitas biologis menyerupai FSH. Aktivitas tersebut dapat menimbulkan terjadinya transformasi folikel yang tidak aktif menjadi folikel fase

pertumbuhan dengan proliferasi sel granulosa, bertambahnya cairan dalam antrum dan sekresi estrogen. Kerja hormon estrogen adalah untuk meningkatkan sensitivitas organ kelamin betina yang ditandai dengan perubahan pada vulva dan keluarnya lendir transparan (Siregar, 2004).

Mekanisme peningkatan ovulasi akibat pemberian PMSG (*Pregnant Mare Serum Gonadotropin*) disebabkan PMSG mempunyai aktivitas yang mirip LH. Hormon LH dapat merangsang ovulasi folikel masak, dimana folikel masak atau yang dikenal dengan folikel de Graaf yang mampu memproduksi estrogen. Estrogen kemudian akan mengadakan umpan balik positif pada hipofisa anterior yang menyebabkan dilepaskannya LH ke dalam darah. Pelepasan LH ini akan menimbulkan ovulasi pada folikel masak (Hardjopranto, 1995).

Terbentuknya CL (*Corpus Luteum*) akibat pemberian PMSG membuktikan bahwa PMSG mempunyai aktivitas yang mirip FSH dan pada kuda akan menstimulasi pembentukan corpus luteum assesoris (Hafez, 1993 seperti dikutip oleh Siregar, 2004). Secara alami, PMSG akan merangsang pertumbuhan folikel pada ovarium. Beberapa folikel akan diovulasikan dan mengalami lutinisasi karena PMSG juga mempunyai efek seperti LH (Hardjopranto, 1995). Mahaputra (2006) berhasil membuat preparat PMSG (gonadoplast) yang mampu meningkatkan superovulasi hingga 29 ovulasi pada mencit.

## **2.6. Hormon *Pregnant Mare Serum Gonadotropin* (PMSG)**

Plasenta dari kuda betina (mare) juga dapat memproduksi gonadotropin yang disebut *equine Chorionic Gonadotropin* (eCG) atau *Pregant Mare Serum Gonadotropin* (PMSG). Chorionic gonadotropin telah diidentifikasi pada kuda,

keledai, zebra dan hybrid mereka. PMSG adalah suatu glikoprotein yang terdiri dari dua ikatan non kovalen yang dihubungkan dengan sub unit. Rangkaian asam amino mereka tidak sama dengan sub unit alfa lainnya. Sub unit alfa mengandung 96 asam amino. Sub unit beta mengandung 149 asam amino dan identik dengan sub unit beta pada hormon LH kuda.

*Pregnant Mare's Serum Gonadotropin* (PMSG) dibentuk dalam jaringan cangkir- cangkir kecil endometrium (*endometrial cups*) kuda bunting (Cole dan Hart, 1930 dikutip oleh Hafez, 1993), dimana pada kuda betina (mare) mulai berkembang pada usia kebuntingan 36 hari. Cup endometrial dibentuk ketika sel-sel trophoblastik dari penempelan khorion pada epitel endometrium dan migrasi ke dalam endometrium. Cup- cup tersebut mulai berdegenerasi pada hari ke 60 periode kebuntingan dan tetap berlangsung sampai usia kebuntingan 120 hari.

Pada kuda betina, PMSG muncul dalam darah induk pada usia kebuntingan 40 hari (McDonald's, 1994). Konsentrasi darah meningkat cepat sekali dan mencapai nilai puncaknya antara hari ke-60-65 usia kebuntingan (Nalbandov, 1990) kemudian menurun ke konsentrasi yang lebih rendah pada usia kebuntingan 125 hari. *eqine CG* memiliki aktivitas tertinggi yang mirip dengan FSH dan digunakan pada hewan ternak sapi untuk merangsang superovulasi pada transfer embrio.

## 2.7. Radioimmunoassay (RIA)

Teknik ini merupakan salah satu penerapan tenaga nuklir untuk membantu kesejahteraan hidup manusia dalam membantu pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi. Dalam RIA, tenaga nuklir tersebut dimanifestasikan untuk menera

kadar hormon dari berbagai cairan tubuh secara kuantitatif. Penerapan teknik RIA dalam menganalisis suatu hormon dapat menentukan kadar hormon tersebut secara kuantitatif dengan sensitifitas yang sangat tinggi dan dapat diperiksa ulang meskipun assay dilakukan dalam jumlah besar. Radioimmunoassay adalah suatu metode analisa *in vitro* berdasarkan reaksi antigen atau hapten dengan antibodi. Antigen adalah suatu zat yang bersifat antigenik atau mampu menstimulir pembentukan antibodi yang sesuai dan bereaksi khas dengan antibodi tersebut. Hapten adalah suatu zat yang tidak bersifat immunogenik tetapi mempunyai struktur yang khas sehingga mampu bereaksi dengan antibodi secara selektif. Radioantigen (antigen yang ditandai dengan unsur radioaktif) bersaing dengan antigen yang diukur konsentrasinya. Dalam kesempatan mengikat antibodi maka banyaknya radioantigen yang terikat tersebut dapat diukur konsentrasi antigen (Sastrodipradjo, 1979).

Yang umum dipakai adalah radioimmunoassay kompetitif yang menggunakan antigen yang diberi label isotop seperti  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$  atau  $^{125}\text{I}$ . Teknik RIA ada dua fase yaitu fase padat dan cair. Teknik RIA fase padat lebih sering dipakai karena RIA fase cair lebih mahal, sampah radioktifnya lebih banyak, mudah terbakar dan analisisnya memerlukan waktu lebih lama sehingga tidak begitu disukai peneliti (Anonimus, 1984).

Prosedur RIA yang sudah dipakai sekarang baik itu RIA fase cair ataupun fase padat bereaksi dengan cara mengadakan persaingan antara radioligand dengan ligand terhadap antibodi spesifik yang disebut *Competitive Protein Binding* (LPB) atau *Ligand Binding Assay* (Lengemann dan Reimers, 1982)

persaingan antara hormon yang akan diperiksa (ligand) dengan hormon bertanda (radioligand) menduduki reseptor site antibodi spesifik terjadi berbanding terbalik dengan jumlah kadar hormon yang akan diperiksa. Makin banyak kadar hormon yang diperiksa, mengakibatkan makin sedikit kesempatan radioligand menempatkan diri pada reseptor site antibodi, sehingga pembacaan dalam peneraannya di dalam gamma counter makin sedikit. Demikian terjadi sebaliknya yaitu bila hormon yang diperiksa makin sedikit kadarnya maka radioligand berikatan pada antibodi makin banyak sehingga pembacaan dalam bentuk Count Per Minute (CPM) semakin besar. Banyak tidaknya ikatan hormon dan radioligand yang terjadi pada antibodi juga ditentukan oleh kekhasan, kemurnian serta kekuatan dari antibodi spesifiknya. Jadi makin kuat afinitas suatu antihormon maka kepekaan hormon yang dihitung akan makin kecil.

## **2.8. Menopause atau Anestrus**

Anestrus adalah suatu keadaan pada hewan betina yang tidak menunjukkan gejala birahi secara klinis dalam waktu lama (Hardjopranjoto, 1995). Hewan betina yang menderita anestrus akan ditandai dengan tidak adanya manifestasi gejala birahi, pada alat kelaminnya baik ovarium maupun uterus dalam keadaan tidak aktif dan merupakan gejala dari berbagai kondisi reproduksi baik normal maupun tidak normal. Faktor- faktor yang dapat menyebabkan terjadinya anestrus antara lain:

1. Umur, anestrus pada hewan muda disebabkan poros hipotalamus-hipofisa-ovarium belum berfungsi dengan baik. Hormon gonadotropin

belum cukup dihasilkan oleh kelenjar hipofisa anterior, sehingga ovarium belum dapat didorong untuk menghasilkan hormon estrogen karena belum terjadi pertumbuhan folikel secara sempurna. Sebaliknya pada hewan tua, poros hipotalamus-hipofisa-ovarium telah mengalami perubahan dan penurunan fungsinya, mendorong berkurangnya sekresi hormon gonadotropin disertai dengan penurunan respon ovarium terhadap hormon gonadotropin tersebut. Pada manusia hal ini alami terjadi pada wanita tua yang sering disebut dengan menopause.

2. Kebuntingan, pada hewan bunting, pada ovariumnya terdapat korpus luteum yang mampu menghasilkan hormon progesteron dalam jumlah besar, dimana hormon ini berperan penting dalam menjaga kebuntingan. Hormon ini juga menghambat kegiatan kelenjar hipofisa anterior karena adanya mekanisme umpan balik negatif pada kelenjar hipofisa anterior diikuti sekresi hormon gonadotropin (FSH dan LH) yang menurun. Akibatnya tidak terjadi pertumbuhan folikel baru pada ovarium sehingga tidak ada hormon estrogen yang disekresi yang berakibat tidak terjadi birahi dan induk selalu dalam keadaan anestrus.
3. Laktasi. Pada induk yang sedang menyusui khususnya pada sapi perah yang memproduksi susu tinggi, hormon LTH atau prolaktin yang tinggi kadarnya dalam darah mendorong terbentuknya korpus luteum persisten sebagai lanjutan dari korpus luteum graviditium yang ada pada saat bunting sebelumnya.

4. Pakan. Ransum pakan yang rendah kualitas maupun kuantitasnya atau ransum yang terdapat kekurangan salah satu kandungan gizinya dapat menyebabkan terjadinya anestrus.
5. Musim. Musim dapat mempengaruhi secara langsung maupun tidak langsung terhadap siklus bitahi. Musim yang kurang serasi khususnya di banyak negara dengan empat musim, seperti pada musim dingin maupun musim panas dapat menyebabkan gangguan reproduksi, ditandai dengan timbulnya anestrus selama musim yang tidak serasi tersebut. Anestrus musiman ini banyak terjadi pada ternak kuda dan domba.
6. Lingkungan. Lingkungan yang kurang serasi merupakan stress bagi ternak yang bersangkutan, diikuti oleh timbulnya anestrus.
7. Patologi ovarium dan uterus. Berbagai kelainan pada ovarium maupun uterus mendorong terjadinya anestrus pada hewan betina. Birahi yang normal membutuhkan kondisi ovarium dan uterus yang baik. Birahi hanya timbul bila ada keserasian antara kondisi ovarium dan uterus, sehingga poros hipotalamus-hipofisa-ovarium dapat berfungsi dengan baik. Patologi ovarium dan uterus dapat disebabkan oleh faktor genetik dan non-genetik.

Menopause adalah istilah medis yang artinya berakhirnya dari periode menstruasi wanita, hal ini merupakan proses yang alami dalam penuaan dan proses ini terjadi ketika indung telur berhenti memproduksi hormon estrogen. Hal ini menyebabkan turunnya kadar estrogen yang menyebabkan berakhirnya periode menstruasi bulanan (Bioyoung, 2001).

Berhentinya folikulogenesis (pembentukan folikel dalam ovarium) akan menyebabkan turunnya kadar estrogen dalam darah, akibatnya terjadi peningkatan gonadotropin (FSH dan LH), atropi kulit, atropi uterus, kekeringan vagina dan demineralisasi tulang. Turunnya kadar estrogen memacu peningkatan Gonadotropin Releasing Hormon yang dihasilkan oleh hipotalamus sehingga menimbulkan perubahan fisiologis.

## **BAB 3**

# **MATERI DAN METODE**

## **BAB 3 MATERI DAN METODE**

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

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kebidanan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Waktu pelaksanaan dimulai tanggal 14 Oktober 2005 sampai 02 Januari 2006.

### **3.2. Materi Penelitian**

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

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit betina sebanyak 15 ekor, keadaan sehat, umur 10- 12 bulan, berat badan  $\pm$  32,0 gram, sudah dewasa kelamin, masih memiliki fase siklus birahi, tidak bunting dan belum pernah mendapatkan perlakuan apapun. Mencit yang masih memiliki fase siklus birahi ditunjukkan dengan melakukan pemeriksaan *swab smear* atau hapusan vagina.

#### **3.2.2. Alat-alat dan Bahan Penelitian**

Alat- alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari kit Estradiol 17 $\beta$  (DPC USA), tabung prophylyene berukuran 70 x 12 mm yang telah dilapisi antibodi estradiol 17 $\beta$ , pipet skala 10- 100 $\mu$ l (Eppendorf Varipette 4710), pipet skala 10- 1000 $\mu$ l (Eppendorf Repeater 4780), pengocok listrik (Vortexer, type 37600 mixer), gamma counter (Mini Assay type 6-20, mini instruments), objek glass, aquadest, pewarna giemsa, mikroskop bisecting (Meiji) perbesaran 400X, waterbath (Memmerf), freezer (Sharp Japan) dan pipet mikrohematokrit.

### 3.3. Metode Penelitian

#### 3.3.1. Pemeriksaan Siklus Birahi Mencit (*Mus musculus*) Betina

Seluruh sampel diberi nomor dengan melakukan penandaan pada bagian ekor. Hisap aquadest dengan pipet kemudian masukkan pipet ke lubang vagina mencit, bilas vagina dengan aquadest yang ada pada pipet. Hisap aquadest kembali dengan pipet dan teteskan pada obyek glass. Sapu merata pada permukaan obyek glass dan biarkan hingga mengering. Teteskan alkohol diatas permukaan cairan vagina tersebut, diamkan selama tiga menit (sampai benar-benar kering). Teteskan pewarna Giemsa pada obyek glass dan diamkan selama tiga menit. Bilas perlahan- lahan dengan air mengalir kemudian keringkan. Periksa preparat tersebut dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali.

#### 3.3.2. Penyuntikan Hormon untuk Superovulasi

Semua preparat hapusan vagina yang telah diperiksa di bawah mikroskop dan telah ditentukan fase siklus birahinya, apabila ditemukan fase diestrus segera dilakukan penyuntikan dengan menggunakan preparat hormon *Pregnant Mare Serum Gonadoplas* buatan lokal dengan dosis 100 mikroliter (15IU) per ekor. Jika hasil pemeriksaan hapusan vagina pada salah satu atau beberapa mencit belum menunjukkan fase diestrus tidak disuntik dengan PMSG yang bertujuan superovulasi tapi tetap dibuat hapusan vaginanya keesokan harinya sampai ditemukan fase diestrus dan disuntik PMSG untuk superovulasi. Tetapi yang sudah mengalami menopause tetap dikontrol setiap dua hari hingga hari keenam.

### **3.4. Pemeriksaan Sampel**

#### **3.4.1. Pemeriksaan Bentuk dan Populasi Sel Epithel Vagina**

Setelah dilakukan penyuntikan PMSG yang bertujuan superovulasi pada saat fase diestrus, mencit baru dibuat hapusan vagina lagi dua minggu kemudian. Tiap mencit akan berbeda waktu penyuntikannya karena perbedaan fase siklus birahinya. Setelah dua minggu, dibuat preparat hapusan vagina tiap dua hari lagi untuk dilihat apakah masih terjadi perubahan fase- fase siklus birahi, misalnya hari pertama ditemukan fase proestrus, dua hari kemudian fase estrus dan dua hari berikutnya fase metestrus. Jika masih ditemukan seperti itu dilakukan penyuntikan ulang superovulasi pada saat fase diestrus dengan preparat hormon PMSG sebanyak 100 mikroliter per ekor dan diperiksa lagi fase- fase siklus birahinya dua minggu kemudian.

Setelah dua kali penyuntikan PMSG untuk superovulasi dengan preparat hormon, tiap mencit dibuat kembali hapusan vaginanya dan dilihat dibawah mikroskop dengan perbesaran 400X. Jika dalam hapusan vagina terlihat banyak sel basal dan sel parabasal tanpa leukosit maka sampel tersebut didiagnosa telah memasuki fase menopause, namun agar diagnosa menjadi lebih pasti, lakukan kembali pemeriksaan hapusan vagina tiga kali berturut- turut dengan selang waktu dua hari. Setelah tiga kali pemeriksaan hapusan vagina dan tidak menunjukkan perubahan siklus (hanya tampak sel basal dan parabasal tanpa leukosit) maka sampel diklasifikasikan sebagai fase menopause.

### 3.4.2. Pemeriksaan Kadar Hormon Estrogen

Mencit- mencit yang terklasifikasi fase menopause dilakukan penimbangan berat badan dan pengambilan darah melalui sinus orbitalis dengan menggunakan pipet mikrohematokrit sebanyak masing- masing  $\pm 0,5$  cc per ekor. Keesokan harinya disuntikkan estrogen tressor 100mikro per ekor secara intra peritoneal, namun terlebih dahulu diperiksa dulu kandungan Count Per Minute-nya (CPM). Darah yang telah diambil tersebut dimasukkan dan dibiarkan dalam tabung reaksi dengan posisi miring selama  $\pm 30$  menit. Setelah 30 menit, pada bagian dinding tabung ditusuk- tusuk agar tersedia rongga bagi serum untuk keluar. Serum kemudian disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Serum- serum yang terpisah dari plasma diambil dengan pipet Eppendorf untuk dimasukkan dalam tabung penyimpanan untuk disimpan dan kemudian dilakukan Radioimmunoassay (RIA) untuk mengetahui kadar hormon estrogen mencit menopause.

Prosedur pelaksanaan assay hormon dengan uji RIA dilakukan dengan langkah- langkah sebagai berikut:

1. Beri label pada empat tabung polypropylene yang tidak dilapisi antibodi (uncoated tubes) untuk TC dan untuk NSB.
2. Beri label juga untuk 14 tabung yang sudah terlapisi antibodi (Estradiol Ab- coated tubes) untuk standart A hingga G
3. Beri label tabung- tabung lain yang sudah terlapisi antibodi (Estradiol Ab- coated tubes) untuk kontrol dan sampel dan semuanya dilakukan duplikasi.

4. Tambahkan 100 $\mu$ l standart, control dan sampel pada tabung- tabung yang sudah terlapisi antibodi sesuai dengan nomornya dengan menggunakan pipet.
5. Lakukan pengocokan dengan vortex
6. Segera tambahkan 1ml  $^{125}$ I Estradiol (tracer) pada seluruh tabung.
7. Lakukan pencampuran dengan vortex.
8. Inkubasi pada suhu ruangan selama tiga jam.
9. Setelah masa inkubasi terlewati, tuang semua isi tabung, kecuali tabung TC dengan cara membalikkan tabung- tabung dalam rak pada tempat penampungan sampah radioaktif.
10. Biarkan tabung- tabung dalam rak tersebut tetap dalam keadaan terbalik pada kertas hisap selama 5- 10 menit.
11. Hasilnya dibaca dengan menggunakan Gamma Counter selama satu menit.

### 3.5. Peubah yang diamati

Peubah yang diamati adalah

1. Perubahan bentuk sel dan populasi epitel vagina dengan melihat hapusan vagina.
2. Kadar hormon estrogen berdasarkan uji RIA (Radioimmunoassay) yang digunakan untuk konfirmasi diagnostik menopause.

### **3.6. Rancangan Penelitian dan Analisis Data**

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Purposive, hanya sampel yang memiliki kriteria bentukan spesifik dalam hapusan vagina yang kadar hormonnya akan dianalisa dengan menggunakan uji t yang membandingkan nilai kadar hormon estrogen hasil uji RIA antara fase diestrus dengan menopause.

## **BAB 4**

# **HASIL PENELITIAN**

## BAB 4 HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai konfirmasi diagnostik menopause berdasarkan evaluasi seluler vagina dan kadar hormon estrogen pada mencit dapat dilihat pada kedua tabel dan bahasan di bawah ini :

### 4.1. Hasil Evaluasi Seluler Vagina

**Tabel 1 : Jumlah populasi sel basal, parabasal dan leukosit pada saat diestrus dan menopause pada mencit.**

No	DIESTRUS					MENOPOUSE			
	B	P	L	B:P	B:L	B	P	L	B : P
1	20	1	6	10 : 0,5	10 : 3,0	6	5	0	10 : 8,3
2	14	2	3	10 : 1,4	10 : 2,1	20	12	0	10 : 6,0
3	16	0	5	10 : 0,0	10 : 3,1	24	26	0	9,2 : 10
4	13	0	7	10 : 0,0	10 : 5,4	12	4	0	10 : 3,3
5	15	0	8	10 : 0,0	10 : 5,3	22	28	0	7,8 : 10
6	17	0	6	10 : 0,0	10 : 3,5	12	4	0	10 : 3,3
7	18	0	7	10 : 0,0	10 : 3,9	10	10	0	10 : 10,0
8	14	0	9	10 : 0,0	10 : 6,4	16	2	0	10 : 1,25
9	15	0	11	10 : 0,0	10 : 7,3	9	3	2	10 : 3,3
10	12	0	14	10 : 0,0	8,6 : 10	16	2	0	10 : 1,25
11	16	0	8	10 : 0,0	10 : 5,0	10	2	0	10 : 2,0
12	19	0	8	10 : 0,0	10 : 4,2	14	3	0	10 : 2,1
13	17	0	7	10 : 0,0	10 : 4,1	18	4	0	10 : 2,2
14	12	0	4	10 : 0,0	10 : 3,3	16	2	0	10 : 1,25
15	21	0	8	10 : 0,0	10 : 3,8	18	12	0	10 : 6,7
<b>Mean</b>				<b>10 : 0,12</b>					<b>9,8 : 4,73</b>
<b>Proporsi</b>				<b>84 : 1,0</b>					<b>2,0 : 1,0</b>

Keterangan : B : Sel Epithel Basal  
P : Sel Epithel Parabasal  
L : Sel Leukosit

Dari Tabel 1. diatas didapatkan hasil bahwa populasi dan bentuk sel epithel vagina pada fase menopause atau anestrus dapat digunakan untuk melakukan konfirmasi diagnostik menopause pada mencit dengan akurasi 100%, dilihat dari perbandingan proporsi sel basal dan parabasal (B:P = 2:1).

#### 4.2. Hasil Pengukuran Kadar Hormon Estrogen dengan Uji RIA

Untuk mengukur kadar hormon estrogen mencit (*Mus musculus*) betina fase menopause maupun diestrus dilakukan uji RIA (Radioimmunoassay). Pengukuran tersebut dilanjutkan dengan analisis statistik dengan menggunakan uji t tidak berpasangan dan hasilnya menunjukkan bahwa kadar hormon estrogen fase menopause dengan fase diestrus berbeda sangat bermakna ( $p < 0,01$ ).

**Tabel 2. Rataan ( $\pm$  sd) kadar estrogen dalam satuan pg/ml mencit pada saat diestrus dan menopause.**

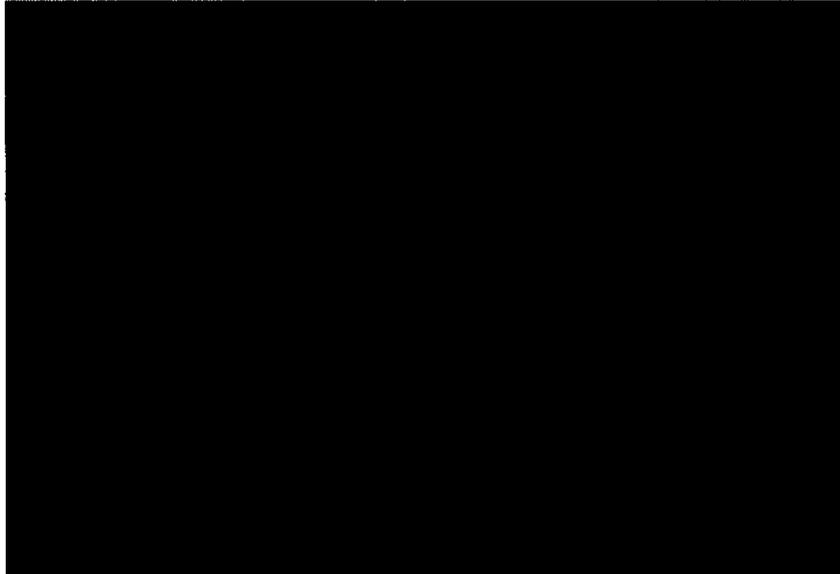
No.	DIESTRUS	MENOPOUSE
1	33	18
2	36	16
3	33	12
4	33	18
5	32	10
6	34	4
7	35	4
8	30	12
9	35	7
10	34	8
11	31	9
12	39	11
13	35	8
14	28	6
15	26	5
Rataan	32,9 <sup>a</sup>	9,9 <sup>b</sup>
Sd	3,24	4,6
n	15	15

Hasil penelitian tersebut dilanjutkan dengan analisis statistik dengan menggunakan uji t (*t independent test*) dan hasilnya adalah seperti yang terdapat pada tabel berikut ini:

**Tabel 3. Hasil Analisis Statistik Kadar Hormon Estrogen (pg/ml) dengan Uji RIA (*Radioimmunoassay*) Antara Fase Diestrus dengan Fase Menopause**

Fase	Kadar Hormon
	$\bar{x} \pm SD$
Diestrus	32,93 <sup>a</sup> ± 3,240
Menopause	9,87 <sup>b</sup> ± 4,658

### **Hasil Gambaran Seluler Vagina Mencit**



**Gambar 5. Fase Menopause**



**Gambar 6. Fase Diestrus**

## **BAB 5**

# **PEMBAHASAN**

## BAB 5 PEMBAHASAN

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui bentuk dan populasi sel epitel vagina serta kadar hormon estrogen pada fase menopause mencit. Estrogen adalah hormon yang dihasilkan oleh ovarium dan merupakan salah satu faktor yang berpengaruh dalam siklus birahi. Siklus birahi adalah ritme fungsi faal tertentu yang terdapat pada hewan ternak setelah masa pubertas dicapai. Mencit (*Mus musculus*) yang digunakan dalam penelitian ini adalah hewan poliestrus yaitu mengalami beberapa kali birahi dalam satu tahun, dimana siklus birahi mencit terbagi dalam empat periode yaitu: Proestrus, Estrus, Metestrus dan Diestrus. (Ismudiono,1999).

Konfirmasi diagnostik menopause pada mencit berdasarkan evaluasi seluler vagina dapat dilakukan karena empat periode siklus birahi mencit tersebut dapat dibedakan berdasarkan bentukan seluler dari hapusan vagina mencit. Periode Proestrus ditunjukkan dengan ditemukannya sel-sel epitel berinti, yang muncul secara tunggal atau berkelompok. (Turner-Bagnara,1988). Diketemukannya sel-sel epitel yang mulai mengalami penadukan atau kornifikasi dan dipakai sebagai petunjuk estrus. Periode Metestrus adalah stadium yang segera sesudah ovulasi dan merupakan saat antara estrus dan diestrus. Pada preparat hapusan vagina mulai ditemukan leukosit bersama dengan sedikit sel-sel yang mengalami kornifikasi. Periode terakhir yaitu Diestrus, leukosit akan tampak dominan pada preparat hapusan vagina. Perbedaan keempat bentukan seluler vagina pada periode siklus birahi pada mencit juga menunjukkan

mekanisme kerja dan kadar dari hormon estrogen, sehingga pemeriksaan kadar hormon estrogen pada mencit dengan melakukan uji RIA (*Radioimmunoassay*) dapat juga digunakan untuk melakukan konfirmasi diagnostik pada mencit.

Prinsip dasar yang digunakan untuk konfirmasi diagnostik menopause baik secara evaluasi seluler vagina maupun dengan pengukuran kadar hormon estrogen pada mencit adalah adanya sel-sel epitel vagina yang mengalami penandukan atau yang disebut dengan cornified cell (sel kornifikasi) yang tampak pada preparat hapusan vagina mencit fase estrus. Penandukan atau kornifikasi sel-sel epitel vagina dengan inti berdegenerasi merupakan indeks aksi terpecaya untuk aksi estrogen (Turner-Bagnara, 1988). Hal yang sama juga disebutkan oleh Hardjopranjoto (1995), bahwa pada vagina, estrogen menyebabkan perubahan-perubahan pada epitel vagina. Ia mengakibatkan terjadinya proliferasi sel epitel vagina. Estrogen juga menyebabkan terjadinya kornifikasi sel-sel epitel vagina (Hardjopranjoto, 1995).

Kegiatan fisiologis kelenjar ovarium sangat tergantung kepada aktivitas kelenjar hipofisa anterior. Hormon gonadotropin memegang peranan penting dalam mengatur aktivitas ovarium dalam suatu siklus birahi. Hormon LH dan FSH mendorong pertumbuhan dan terjadinya ovulasi folikel-folikel yang ada pada ovarium. Akibatnya, estrogen akan disekresi lebih banyak dalam darah. Hormon prolaktin (LTH) melanjutkan pengaruh LH dalam pertumbuhan korpus luteum yang terbentuk dan produksi hormon progesteron. Sekresi FSH menyebabkan pertumbuhan folikel, sedangkan LH menyebabkan ovulasi dan pertumbuhan

korpus luteum, dimana korpus luteum yang terbentuk akan mempersiapkan uterus untuk kebuntingan dan mencegah birahi. Estrogen menyebabkan hewan dalam keadaan birahi atau penting dalam pertumbuhan dan perkembangbiakkan sistem alat kelamin hewan betina. (Hardjopranto, 1995).

Gambaran siklus estrus sangat berkaitan erat dengan produksi hormon estrogen menurut Fox dan Laird (1970) yang disadur dari Jurnal Veteriner (Veterinary Journal) Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana (Jvet Vol 6(4) 2005). Estrogen yang tinggi pada saat estrus mengakibatkan penebalan dinding vagina dan mengakibatkan sel- sel superfisial mengalami pertandukan atau kornifikasi dan terlepas dari dinding epitel vagina. Akibatnya gambaran estrus pada hapusan vagina didominasi oleh sel- sel superfisial yang mengalami kornifikasi. Sebaliknya, pada saat produksi estrogen menurun pada fase metestrus dan diestrus, maka sel- sel superfisial yang mengalami kornifikasi secara berangsur- angsur menghilang, sehingga gambaran hapusan vagina saat metestrus ditandai mulai munculnya leukosit dan eritrosit sebanding dengan sisa sel superfisial yang mengalami kornifikasi. Pada saat diestrus, gambaran hapusan vaginannya akan didominasi sepenuhnya oleh leukosit. Pada saat proestrus, estrogen mulai diproduksi lagi seiring dengan perkembangan folikel di ovarium. Karena aktivitas estrogen menyebabkan proliferasi sel- sel epitel vagina, maka gambaran hapusan vagina pada fase ini akan ditandai dengan keberadaan sel- sel epitel berinti. Dari keterangan diatas dapat disimpulkan bahwa fase diestrus adalah fase dimana kadar estrogen terendah pada mencit yang masih memiliki siklus birahi.

Pada penelitian ini untuk mendapatkan mencit fase menopause atau anestrus dilakukan superovulasi dengan penyuntikkan hormon PMSG (*Pregnant Mare Serum Gonadotropin*), sehingga ovum yang diovulasikan dalam satu kali periode ovulasi lebih dari jumlah yang normal, sehingga tidak ada lagi ovum yang diovulasikan akibatnya akan terjadi penurunan aktivitas ovarium yang berpengaruh pada sekresi hormon estrogen. Penyuntikan superovulasi dengan menggunakan preparat hormon PMSG untuk memperoleh jumlah telur optimal gonadotropin dilakukan pada fase diestrus awal (Rahardja, 2005).

Menurut Hafez (2000), anestrus adalah suatu keadaan dari tidak aktifnya kemampuan seksual secara lengkap yang ditandai dengan tidak adanya manifestasi estrus atau birahi dan gejala birahi. Walau anestrus ditemukan selama beberapa keadaan fisiologis, seperti sebelum masa pubertas, selama kebuntingan dan laktasi dan pada masa- masa perkembangbiakan. Hal ini sering menjadi pertanda dari penurunan aktivitas ovarium (anestrus sebenarnya) baik secara permanen atau sementara yang dapat disebabkan oleh perubahan musim pada lingkungan fisik, defisiensi nutrisi, stres akibat laktasi dan usia. Jika anestrus disebabkan oleh usia maka hal ini sama yang terjadi secara alamiah pada wanita usia lima puluh tahun keatas (manula) yaitu menopause. Maka dapat dikatakan jika hewan mengalami anestrus karena faktor usia atau telah menurunnya jumlah atau tidak adanya sel telur yang dapat diovulasikan maka dapat dikatakan bahwa hewan tersebut telah memasuki fase menopause. Manifestasi dari menopause atau anestrus ini adalah terjadinya penurunan birahi dengan gejala yang menyertainya, yang diakibatkan oleh adanya penurunan kadar hormon estrogen

dalam darah yang disebabkan oleh penurunan aktivitas ovarium sebagai penghasil utama estrogen pada hewan betina.

Gambaran seluler vagina dari fase menopause atau anestrus ini akan ditemukan hanya sel basal dengan sedikit sel parabasal karena adanya penurunan kadar hormon estrogen sehingga tidak akan ditemukan perubahan bentuk sel menjadi sel kornifikasi atau *cornified cell* walaupun setiap hari diulang pemeriksannya dengan membuat hapusan vagina. Sebagai pembanding populasi dan bentuk sel fase menopause adalah populasi dan bentuk sel dari fase diestrus, seperti yang dapat dilihat pada tabel 1., dimana pada fase diestrus pada hapusan vaginanya akan tampak sel basal dengan leukosit, namun pada fase menopause tidak akan ditemukan lagi leukosit.

Hasil evaluasi seluler vagina yang dilakukan pada penelitian ini, menunjukkan bahwa terdapatnya bentukan seluler yang dapat dijadikan landasan untuk melakukan konfirmasi diagnostik menopause pada mencit yaitu ditemukannya sel basal dan sedikit parabasal dan tanpa adanya leukosit. Berdasar gambar pada lampiran 4. bahwa sel basal mendominasi pada populasi sel fase menopause dibandingkan populasi sel pada fase diestrus sebagai pembanding yang populasi selnya sangat didominasi oleh leukosit dengan sedikit sel basal. Pada tabel 1. mencit nomor satu dan dua pada fase diestrus ditemukan adanya sel parabasal, hal ini dapat disebabkan karena masih adanya hormon FSH yang masih bekerja karena adanya mekanisme saling ketergantungan antara FSH dan estrogen. FSH berperan dalam pertumbuhan dan pematangan sel telur (Rahardja,

2005) dan merangsang terbentuknya Folikel de Graaf yang menghasilkan estrogen, semakin besar Folikel de Graaf semakin tinggi pula kadar hormon estrogen. Setelah kadar estrogen mencapai ketinggian tertentu pelepasan FSH oleh kelenjar hipofisa anterior terhambat sampai kadar FSH dalam darah menjadi rendah sekali (Partodihardjo, 1982). Merendahnya sekresi hormon gonadotropin menyebabkan beberapa folikel mengalami atresia dan menimbulkan tidak terjadinya estrus atau birahi. Folikel yang atretis menyebabkan penurunan sekresi hormon estrogen yang akan diikuti oleh meningkatnya produksi hormon gonadotropin dari kelenjar hipofisa anterior untuk mendorong pertumbuhan folikel baru (Hardjopranjoto, 1995). Hormon gonadotropin dalam hal ini yang dimaksud adalah FSH karena FSH berperan dalam pertumbuhan dan pematangan sel telur.

Evaluasi seluler vagina mencit fase menopause yang ada dalam tabel 1. mencit nomor sembilan, ditemukan leukosit, yang seharusnya tidak ada dalam populasi sel fase menopause, disebabkan terjadinya luka pada saat pengambilan cairan vagina pada saat swab vagina atau *swab smear* untuk membuat hapusan vagina. Melihat bentuk spesifik populasi atau proporsi sel antara basal : parabasal adalah 2:1 yang didapatkan pada menopause atau anestrus dan tidak sama dengan fase dalam siklus birahi yang lain, ini dapat sebagai indikator diagnosis fase menopause hingga 100%.

Pada penelitian ini, untuk pemeriksaan kadar hormon estrogen mencit menopause yang diperiksa adalah kadar estradiol  $17\beta$ . Estron, estradiol  $17\beta$  estriol adalah hormon- hormon estrogen alamiah yang diproduksi oleh ovarium atau plasenta hewan mamalia. Disamping ovarium mamalia, korteks adrenal, testis dan plasenta adalah sumber- sumber alamiah untuk estrogen utama yang dihasilkan oleh ovarium sapi, babi, kuda dan anjing adalah estradiol  $17\beta$ . (Fradsan, 1992). Pada umumnya setelah kadar estrogen mencapai ketinggian tertentu pelepasan FSH oleh kelenjar hipofisa anterior terhambat sampai kadar FSH dalam darah menjadi rendah sekali. Merendahnya sekresi hormon gonadotropin menyebabkan beberapa folikel mengalami atresia dan menimbulkan tidak adanya fase estrus. Folikel yang atretis menyebabkan penurunan sekresi hormon estrogen yang akan diikuti oleh meningkatnya produksi hormon gonadotropin dari kelenjar hipofisa anterior untuk mendorong pertumbuhan folikel baru (Hardjopranto,1995), dalam hal ini hormon gonadotropin yang dimaksud adalah FSH, karena FSH berfungsi untuk membentuk folikel. umnya estrogen tidak ditimbun dalam kelenjar endokrinnya, tetapi diproduksi secara kontinyu. Efek biologik estrogen pada umumnya pendek. Ovarium memproduksi estrogen, dengan bagian yang paling poten adalah sel- sel teka interna mencapai maksimal, atau fase Folikel de Graaf dan biasanya disebut estradiol  $17\beta$ . Kadar estradiol  $17\beta$  pada fase ini lebih besar. Dan efek biologiknya terlihat maksimal pula. Efek biologik ditandai oleh terlihatnya tingkah laku hewan betina birahi. Estrogen dalam urin ditemukan dalam bentuk terkonjugasi, terikat oleh asam

glukoronat, dengan asam sulfat atau keduanya. Dalam darah, estrogen yang tidak terkonjugasi dan estrogen sulfat juga ditemukan.

Pengukuran kadar hormon estrogen fase menopause dibandingkan dengan fase diestrus dengan uji RIA (*Radioimmunoassay*) pada penelitian ini ditunjukkan pada tabel 2. yang kemudian dianalisa dengan uji t menunjukkan bahwa nilai kadar hormon estradiol  $17\beta$  antara fase diestrus dan fase menopause berbeda sangat bermakna. Hasil analisis statistik kadar hormon estrogen fase menopause jauh lebih rendah dari fase diestrus. Hal ini disebabkan karena adanya penurunan fungsi endokrin dari kelenjar hipofisa anterior dan ovarium karena menurunnya atau habisnya sel telur yang seharusnya diovulasikan akibat dilakukannya superovulasi dengan menyuntikkan hormon *Pregnant Mare's Serum Gonadotropin* (PMSG) lokal. Poros hipotalamus, hipofisa dan ovarium sudah tidak berfungsi secara baik. (Hardjopranto, 1995). Kadar estrogen serum darah pada saat menopause jauh lebih rendah secara signifikan  $p < 0,01$  daripada saat estrogen terendah (fase diestrus) selama siklus maka ini dapat mendiagnosis menopause hingga 100%.

## **BAB 6**

# **KESIMPULAN DAN SARAN**

## **BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN**

### **6.1. Kesimpulan**

Setelah dilakukan penelitian tentang konfirmasi diagnostik menopause berdasarkan evaluasi seluler vagina dan kadar hormon estrogen pada mencit dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Bentuk dan populasi sel dalam hapusan vagina dapat dipakai untuk mendiagnosis mencit dalam fase menopause. Bentuk dan proporsi sel hapusan vagina fase menopause akan terlihat sel basal dan parabasal dengan perbandingan basal dan parabasal yaitu 2:1.
2. Kadar hormon estrogen dapat dipakai untuk mendiagnosis mencit dalam fase menopause karena kadarnya yang jauh lebih rendah secara signifikan daripada kadar estrogen terendah yakni pada saat fase diestrus.

### **6.2. Saran**

Saran yang dapat diberikan untuk hasil penelitian ini adanya diperlukan penelitian yang lebih lanjut untuk mengetahui bentuk alat reproduksi dan organ tubuh lainnya mencit fase menopause sehingga dapat diterapkan pada berbagai penelitian medis yang berhubungan dengan menopause baik pada manusia maupun hewan terutama hewan ternak.

# RINGKASAN

## RINGKASAN

Menopause atau anestrus adalah suatu kondisi dimana terjadi penurunan fungsi endokrin dari kelenjar hipofisa anterior dan ovarium pada hewan betina yang sudah tua maupun pada wanita usia lanjut yang secara alami terjadi. Penurunan fungsi- fungsi tersebut diatas disebabkan oleh tidak berfungsinya dengan baik poros hypothalamus, hipofisa dan ovarium, sehingga kadar estrogen dalam darah menurun tajam.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah bentuk dan populasi sel epitel vagina dan kadar hormon estrogen dengan uji Radioimmunoassay (RIA) dapat dipakai mendiagnosis fase menopause pada mencit.

Penelitian ini menggunakan mencit sebagai hewan coba dalam keadaan sehat, berumur  $\pm$  10- 12 bulan, mempunyai berat badan  $\pm$ 32,0 gram, sudah dewasa kelamin, masih memiliki siklus birahi, tidak bunting dan belum pernah mendapatkan perlakuan apapun. Sejumlah 15 ekor dengan perlakuan yang sama yaitu dilakukan penyuntikan preparat hormon PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotropin) sebanyak 100 mikro untuk superovulasi dan disuntikkan pada saat mencit masuk fase diestrus.

Prinsip dasar yang digunakan untuk menetapkan bentukan seluler vagina dan kadar hormon estrogen mencit menopause sama dengan prinsip dasar pada wanita menopause yaitu terjadinya penurunan kadar hormon estrogen secara terus menerus. Hormon estrogen juga menjadi kunci penting untuk melakukan konfirmasi diagnostik secara evaluasi seluler vagina, karena estrogen

manandukkan (mengkornifikasikan) sel- sel epitel vagina dengan inti berdegenerasi pada mencit pada saat fase estrus yang tampak pada preparat hapusan vagina dan merupakan indeks aksi terpercaya untuk aksi estrogen

Mencit diambil cairan vaginanya untuk dibuat preparat hapusan vagina untuk dievaluasi bentukan selnya, setelah diadakan pengamatan dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x, terdapat adanya bentukan spesifik dari terjadinya penurunan kadar estrogen, yaitu dengan tidak diketemukannya sel epitel yang mengalami kornifikasi, hanya didapatkan sel basal dengan sedikit sel parabasal tanpa leukosit. Pemeriksaan dilanjutkan dengan melakukan penghitungan kadar hormon dengan uji RIA dan hasilnya adalah terdapat perbedaan yang sangat bermakna antara kadar hormon estrogen fase menopause dengan fase diestrus yaitu rata- rata 32,93 dengan SD 3,240 untuk fase diestrus dan rata- rata 9,87 dengan SD 4,658 untuk fase menopause. Hal ini didapatkan karena terjadinya penurunan fungsi ovarium sehingga terjadi penurunan sekresi hormon estrogen.

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah bahwa evaluasi seluler vagina dan pemeriksaan kadar hormon estrogen dapat digunakan untuk mendiagnosa menopause pada mencit.

# DAFTAR PUSTAKA

## DAFTAR PUSTAKA

- Baron, D.N. 1995. Kapita Selekta Patologi Klinik. EGC. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
- Beimborn, R; L.T. Valerie, J.B. Perry, S.I. Kenneth. 2003. The Canine Estrous Cycle: Staging Using Vaginal Cytological Examination <http://www.vet.uga.edu/vpp/clerk/Beimborn>
- Biology of the Mouse. 2007. <http://www.lvma.org/mouse.html>.
- Bio-young 2001. Mitos Tentang Menopause. <http://www.bio-young.com/id/library/women/library>
- Baziad A. dan S. Rianto. 1993. Endokrinologi Ginekologi. kSERI dan Media Aesculopius.
- Chuckwuocha, R.U., A.D. Hartman and A.Z. Feeney. 1984. Sequences of Four New Members of the pVH7 183 Gene Family in BALB/c mice. Journal Immunogenetics.
- De Groot L.J. 1995. Endocrinology. Vol.3. W. B. Saunders Company Philadelphia.
- Fradson, R.D. 1992. Anatomi dan Fisiologi Ternak. Gajah Mada University Press.
- Ganiswara. 1995. Farmakologi dan Terapi. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Garcia-Segure LM, F. Naftolin, J.B. Hutchinson, I. Azcoitia, J.A. Chowen. 1999. Role of astroglia in estrogen regulation of synaptic plasticity and brain repair. J Neurobiol 40.

- Goldman, J, A.S. Murr, R.L. Cooper. 2006. The Rodent Estrous Cycle: Characterization of Vaginal Cytology and Its Utility in Toxicological Studies. <http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/abstract>
- Guidelines For Breeding Genetically Engineered Mice. 2004. <http://www.med.nyu.edu/dlar/assets/breedinggeneticallyengineeredmice.pdf>
- Gusty, P.Reni. 2007. Efek Pemberian Berulang Epinefrin Dosis Terapeutik Maksimal Pada Jumlah Folikel Ovarium Mencit (*Mus musculus*) Betina. <http://www.adln.lib.unair.ac.id>.
- Hafez, E.S.E. 1993. Reproduction in Farm Animal. 7<sup>th</sup> Ed. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Hafez, E.S.E. 1993. Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals. Lea and Febiger Philadelphia.
- Hafez, E.S.E. 2000. Anatomy of Female Reproduction In: Hafez, E.S.E. (Ed). Reproduction in Farm Animals. 7<sup>th</sup> Ed. Philadelphia; Lippincot Williams and Wilkins. Pp 13-20.
- Hafez, E.S.E. and B. Hafez. 2000. Folliculogenesis Egg Maturation and Ovulation, In: Hafez, E.S.E. (Ed). Reproduction in Farm Animals. 7<sup>th</sup> Ed. Lippincot Williams and Wilkins. Philadelphia. Pp 68-81.
- Hamzah, KA. 1991. Rancangan Percobaan, Teori dan Aplikasi. Rajawali Press, Jakarta.
- Hardjopranjoto dan Soehartojo. 1982. Fisiologi Reproduksi. Surabaya: Airlangga University Press.
- Hardjopranjoto, S. Ilmu Kemajiran pada Ternak. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.

- Herisman Hernardi, Kusdiantoro Mohammad, Ita Djuwita. 2005. Allograft of Newborn Mice Ovary Into Adult Recipient: Their Effect of Oestrous Cycles of Recipient and Morphology of Donor Ovary. *Jvet Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana Vol 6 (4) 2005.* <http://www.jvetudayana.com>
- Hunter, RHF. 1995. *Fisiologi dan Teknologi Reproduksi Hewan Betina Domestik.* ITB Bandung.
- Ismudiono. 1996. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak.* Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Isnaeni, W. 2006. *Fisiologi Hewan.* Kanisius. Yogyakarta.
- Jilka RL. 1998. Cytokines, bone remodelling and estrogen deficiency: an update, *Bone.*
- Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba.* Gadjah Mada University Press. Jogjakarta.
- Lee A.V., J.G. Jackson, J.L. Gooch., H.C. Heinsalm, C.K. Osborne and D.Yee, 1999. Enhancement of Insulin- Like Growth Factor Signalling in Human Breast Cancer: Estrogen Regulation of Insulin Receptor Substrat-1 Expression Invitro and Invivo, *Mol Endocrinology.*
- Leeson, T.S, C.R. Leeson, A.A. Paparo. 1996. *Buku Ajar Histologi.* Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Madyawati, S.P. Pembuatan Serta Efektivitas Anti-Androstenedion terhadap Perolehan Sel Telur pada Mencit (*Mus musculus*). 2004. *Media Kedokteran Hewan Vol.20 No.3 September 2004.*
- Mahaputra, L. 1990. Pengukuran Kadar Progesteron Air Susu dan LH Serum untuk Menentukan Status Reproduksi dan Upaya Penanggulangan Infertilitas pada Sapi Perah Pasca Lahir. *Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.*
- Mahaputra, L. 1994. *Ilmu Kebidanan I.* Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.

- Mustofa, I, L. Mahaputra, S. Mulyati. 2006. Estrous Cycle and Serum Progesterone Level of Mice (*Mus musculus*) Before and After Immunization Using Antifertility Substance Goat Zona Pellucida-3 (ZP3). *Vet Med J*. Vol 22 Jan 2006: 1-67.
- McDonalds's. 2003. *Veterinary Endocrinology and Reproduction*. Fifty Edition. Iowa State Press.
- Meles, D.K, W.S. Wurlina, Yuliastuti dan Hamzah. 1992. Efek Antifertilitas Daun Manggis (*Garcinin mangostana lin*) pada *Mus musculus* betina. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Mouse Estrous Cycle. [www.embriology.med.unsw.edu.au/otherEmb/mouse2htm](http://www.embriology.med.unsw.edu.au/otherEmb/mouse2htm)
- Nalbandov, A.V. 1990. *Fisiologi dan Reproduksi pada Mamalia dan Unggas*. Edisi 3. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Palter, S.F, A.B. Tavares, A. Hourvits, J.D. Veldhuis, E.Y. Adashi. 2001. Are Estrogen of Import to Primate/Human Ovarian Folliculogenesis?. <http://edrv.endojournals.org/cgi/content/abstract/22/3/389>.
- Papandaki, L., Beilby D.W. Chowanic, J, Coulson, W.F. and Darby, A. 1989. *Hormone Replacement Therapy in The Menopause*.
- Pessina, M.A, R.F. Hoyt, I. Goldstein, A.M. Traish. 2001. Differential Effects of Estradiol, Progesterone and Testosterone on Vaginal Structural Integrity. <http://endo.endojournals.org/cgi/content/abstract/147/1/61>
- Partodihardjo. 1982. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Penerbit Mutiara. Jakarta.
- Pritchard, J.A., M. Paule, and F.G. Norman. 1984. *Obstetri Williams*. Penerbit Airlangga University Press. Surabaya.

- Rahardja.J. 2005. Induksi Superovulasi dan Superkehamilan pada Mencit Swiss Webster Dewasa oleh Gonadotropin. <http://www.digilib.bi.itb.ac.id>.
- Salisbury, G.H. and N.L.V. Denmark. 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. Diterjemahkan oleh Prof. Drh. R. Djanuar. Penerbit Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Sarmanu. 1990. Statistik Parametrik Uji T dan Anova Satu Arah. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga. Surabaya.
- Schumm, D.E. 1993. Intisari Biokomia. Binarupa Aksara. Jakarta.
- Smith, J.B. and S. Mangkoewidjojo. 1988. Pemeliharaan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Tengku Nizwan Siregar, Nazari Aruby, Ginta Riady dan Amirrudin. 2004. The Influence of Giving Pregnant Mare Serum Gonadotropin (PMSG) to the Ovary Response and Embryo Quality in Prepuberty Local Goats. Media Kedokteran Hewan Vol. 20 No.3 September 2004.
- Toelihere M.R. 1981. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Angkasa. Bandung.
- Turner, C.D, T.B. Joseph. 1988. Endokrinologi Umum. Airlangga University Press. Surabaya.
- Valerie.R., Beimborn,DVM; L.T. Heather,DVM; J.B. Perry,DVM,Phd; S.L. Kenneth,DVM,Phd. 2003. The Canine Estrous Cycle: Staging Using Vaginal Cytological Examination. <http://www.vet.uga.edu/vpp/clerk/Beimborn>

Yuwono, S.S., S. Edhie, P.Y. Rabea. 2007. Keadaan Nilai Normal Baku Mencit *strain CBR Swiss Derived* di Pusat Penelitian Penyakit Menular. <http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files15keadaanNilaiNormal92.pdf/15Keadaannormal92.html>.

<http://www.rgs.ucl.edu/ular/mousebreeding/breedinginfo-females.htm>.

<http://embryology.med.unsw.edu.au/wwwhuman/Mcycle/Ocycle.htm>

<http://en.wikipedia.org/mice>

[http://en.wikipedia.org/wiki/Menstrual\\_cycle](http://en.wikipedia.org/wiki/Menstrual_cycle)

[http://education.dlam.ucla.edu/attachments/optional\\_reference\\_forms/Biology\\_of\\_the\\_mouse.pdf](http://education.dlam.ucla.edu/attachments/optional_reference_forms/Biology_of_the_mouse.pdf)

# LAMPIRAN

**Lampiran 1. Hasil Analisis Statistik Pemeriksaan Kadar Hormon Estrogen Mencit**

Case Summaries<sup>a</sup>

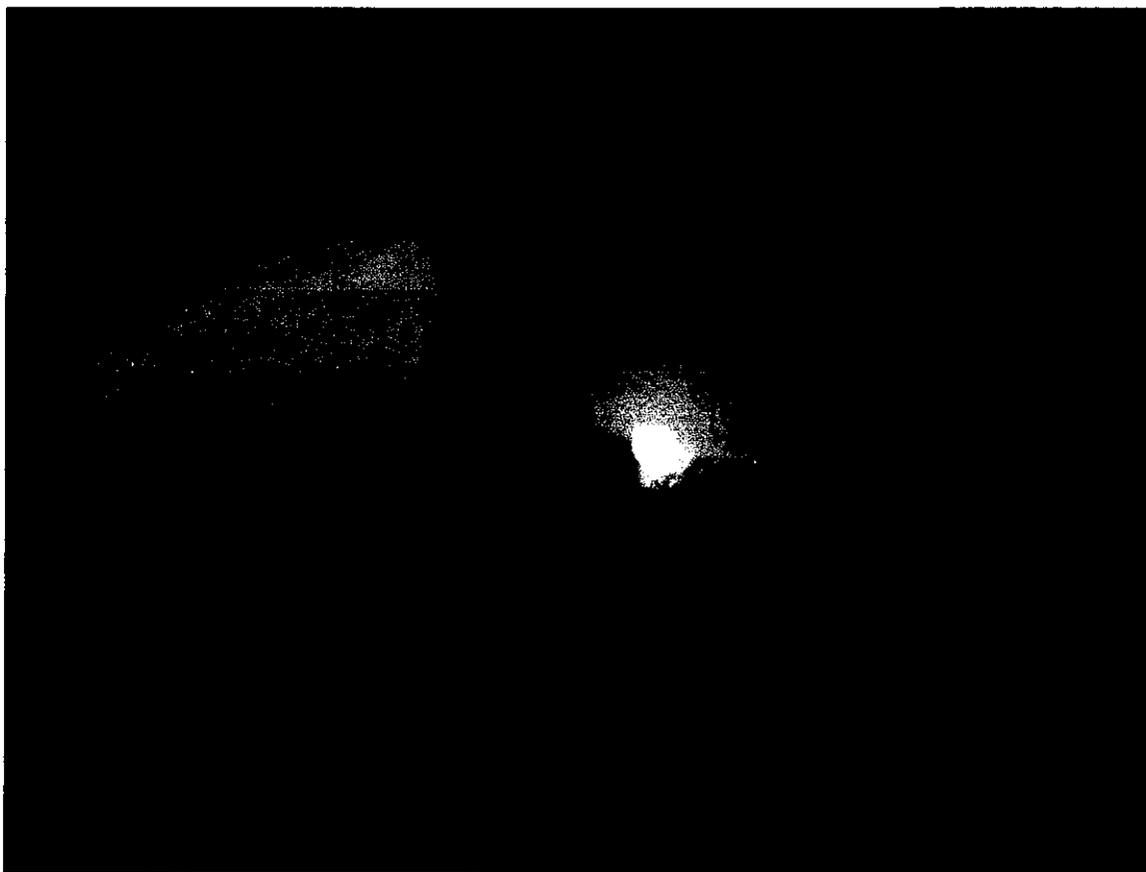
Status			Kadar hormon
Diestrus	1		33
	2		36
	3		33
	4		33
	5		32
	6		34
	7		35
	8		30
	9		35
	10		34
	11		31
	12		39
	13		35
	14		28
	15		26
	Total	N	15
		Sum	494
		Mean	32.93
		Std. Deviation	3.240
Menopause	1		18
	2		16
	3		12
	4		18
	5		10
	6		4
	7		4
	8		12
	9		7
	10		8
	11		9
	12		11
	13		8
	14		6
	15		5
	Total	N	15
		Sum	148
		Mean	9.87
		Std. Deviation	4.658
Total		N	30
		Sum	642
		Mean	21.40
		Std. Deviation	12.375

a. Limited to first 100 cases.

**T-Test****Independent Samples Test**

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means				
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
Kadar hormon	Equal variances assumed	2.469	.127	15.746	28	.000	23.067	1.465
	Equal variances not assumed			15.746	25.0	.000	23.067	1.465

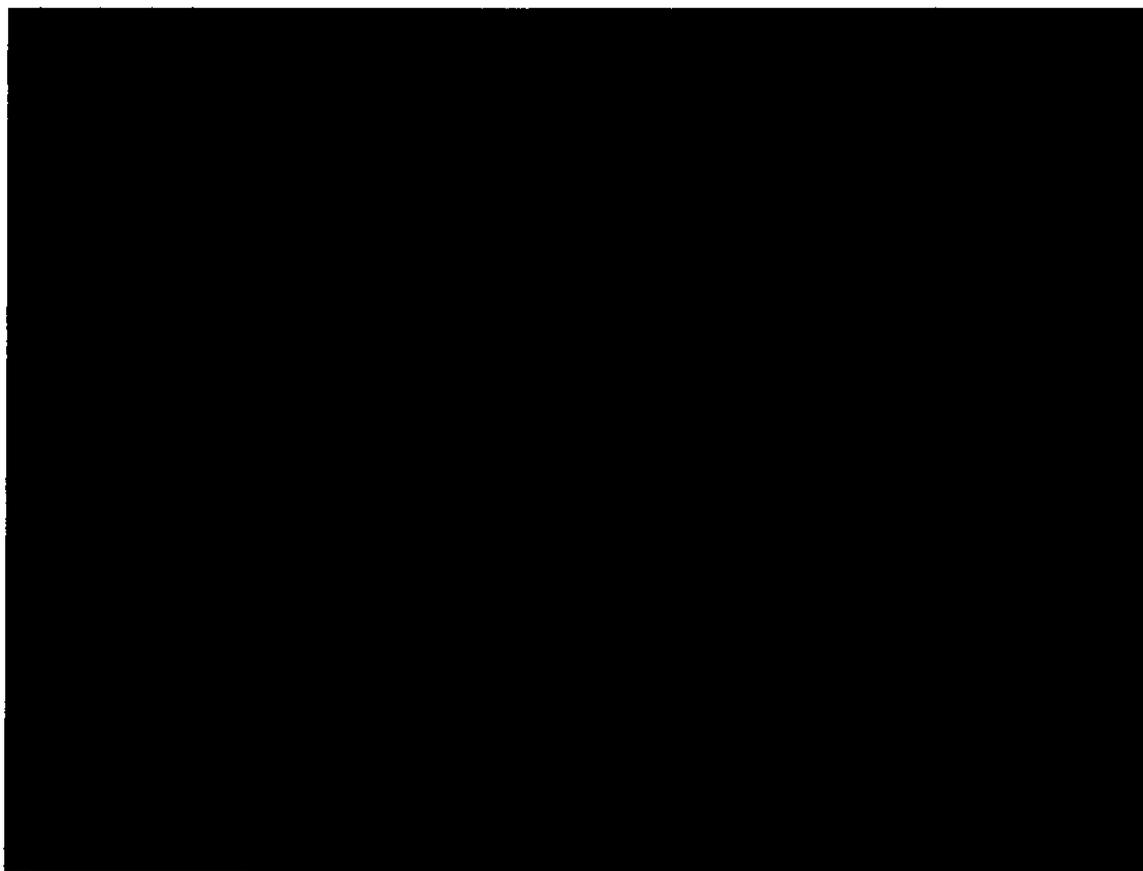
## Lampiran 2. Bahan yang Digunakan Untuk Uji RIA



Keterangan Gambar:

- A. Estradiol 17  $\beta$  kit (Tracer)
- B. Tabung propylene yang berlapis antibodi (Ab-coated tubes)

### Lampiran 3. Alat- Alat yang Digunakan Dalam Uji RIA



#### Keterangan:

- A. Gamma Counter (Mini Assay type 6-20, mini instruments)
- B. Pengocok listrik (Vortexer, type 37600 mixer)
- C. Mini instruments Timer (penghitung waktu)
- D. Pipet skala 10- 100  $\mu$ l (Eppendorf Varipette 4710)
- E. Pipet skala 10- 1000  $\mu$ l (Eppendorf Repeater 4780)
- F. Rak
- G. Sarung tangan (gloves)

**Tabel 4.4. Data Biologis Mencit**

Lama hidup	: 1-2 tahun, bisa sampai 3 tahun
Lama produksi ekonomis	: 9 bulan
Lama bunting	: 19- 21 hari
Kawin sesudah beranak	: 1 sampai 24 jam
Umur disapih	: 21 hari
Umur dewasa	: 35 hari
Umur dikawinkan	: 8 minggu (jantan dan betina)
Siklus kelamin	: poliestrus
Siklus estrus (birahi)	: 4-5 hari
Lama estrus	: 12- 14 jam
Perkawinan	: pada waktu estrus
Ovulasi	: dekat akhir periode estrus, spontan
Fertilisasi	: dua jam sesudah kawin
Berat dewasa	: 20- 40 gram jantan; 18- 35 gram betina
Berat lahir	: 0,5- 1,0 gram
Jumlah anak	: rata- rata enam, bisa 15
Temperatur tubuh (°C)	: 36,5
Tekanan darah	
Sistolik (mmHg)	: 133- 160
Diastolik (mmHg)	: 102- 110
Frekuensi respirasi (per menit)	: 163
Plasenta	: diskoidal hemokorial
Uterus	: dua kornua, bermuara sebelum serviks