

LAPORAN PENELITIAN

**EFEK ANTIFERTILITAS ETHINYL ESTRADIOL DAN CYPROTERONE
ACETATE TERHADAP SIKLUS ESTRUS TIKUS BETINA (*Rattus norvegicus*
Berkenhout 1796)**



DISUSUN OLEH

**NURLIAN AUGUSTIN N, M.Sc
NIP. 199508052022032001**

Program Studi Biologi

Universitas Islam Negeri Sumatera Utara

Medan

2023

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UIN SUMATERA UTARA MEDAN**

Nurlian Augustin Ningrum

Efek Antifertilitas Ethinyl Estradiol Dan Cyproterone Acetate Terhadap Siklus Estrus Tikus Betina (*Rattus Norvegicus* Berkenhout 1796)

v + 40 halaman + 16 gambar

Abstrak

Mahluk hidup dalam mempertahankan keturunan dan keberlangsungan hidupnya melakukan proses biologi yaitu berkembangbiak dan bereproduksi. Mamalia selain primate memiliki siklus reproduksi berupa siklus estrus yang regulasinya diatur oleh hormone reproduksi berupa estrogen dan progesterone. Tikus putih merupakan salahsatu jenis hewan yang umum digunakan sebagai hewan coba model dalam penelitian biomedik karena memiliki similiaritas dengan mamalia manusia. *Rattus norvegicus* memiliki siklus estrus 4 fase, yaitu : estrus, metestrus, diestrus dan proestrus. Diketahui bahwa siklus estrus ini dipengaruhi oleh hormone progesterone dan estradiol, level progesterone dan estradiol tertinggi terjadi selama fase proestrus. Pada siklus estrus Progesterone dan estradiol memuncak selama proestrus dan menyebabkan banyak perubahan fisiologis seperti aktivitas fisiologis, peningkatan plastisitas, densitas sinapsis pada hippocampus. Penelitian yang dilakuakn untuk mengetahui pengaruh progesterone sintetik pada siklus estrus *Rattus norvegicus*. Tikus yang digunakan berjumlah 4 ekor dan dikelompokkan menjadi 2 kelompok yaitu kontrol dengan pemberian aquades 0.5mL dan Treatment menggunakan larutan Diane-35 0,5 mL. setiap 24jam dilakukan pengecekan epitel vaginal (vaginal smear) pada keempat hewan uji. Hasil yang didapatkan siklus estrus pada perlakuan menjadi lebih panjang sebanyak 3 kali dalam 14 hari sedangkan pada control terjadi 4 kali selama 14 hari.

SURAT REKOMENASI

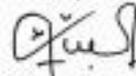
Saya yang bertanda tangan di bawah ini, menyatakan bahwa penelitian saudara:

Nama : Nurlan Augustin Ningrum, M.Sc.
NIP : 1995080520220320001
Tempat/Tanggal Lahir : Binjai, 05 Agustus 1995
Jenis Kelamin : Perempuan
Agama : Islam
Pangkat/Gol : Perata Muda Tk.I (III/b)
Unit Kerja : Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sumatera Utara Medan
Judul Penelitian : Efek Antifertilitas Ethinyl Estradiol dan Cyproterone Acetate terhadap Siklus Estrus Tikus Betina (*Rattus norvegicus* Berkenhout 1796)

Telah memenuhi syarat sebagai suatu karya ilmiah, setelah membaca dan memberikan masukan serta saran-saran terlebih dahulu.

Demikian surat rekomendasi ini diberikan untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Medan, 29 Mei 2023
Konsultan,



Dr. Abdul Halim Daulay, S.T., M.Si.
NIP. 19811106 200501 1 003

DAFTAR ISI

Judul	i
Abstrak	ii
Surat rekomendasi	iii
Daftar isi	iv
Bab I PENDAHULUAN	1
Bab II TINJAUAN PUSTAKA	4
Bab III METODE PENELITIAN	24
Bab IV HASIL dan PEMBAHASAN	28
Daftar Pustaka	40

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Salah satu ciri makhluk hidup adalah bereproduksi untuk menghasilkan keturunannya, reproduksi adalah proses fisiologis yang terjadi pada seluruh makhluk hidup guna mempertahankan keturunan dan kelangsungan hidup. Proses ini memerlukan bantuan hormon reproduksi yaitu hormon yang secara langsung atau tidak langsung berpartisipasi dalam proses reproduksi.). Periode estrus pada hewan terjadi secara berulang dan membentuk suatu siklus yang disebut siklus estrus. Siklus estrus merupakan salah satu aspek reproduksi yang menggambarkan perubahan kandungan hormon reproduksi yang disebabkan oleh aktivitas ovarium dibawah pengaruh hormon gonadotrophin. Perubahan kandungan hormon reproduksi selanjutnya menyebabkan perubahan struktur pada jaringan penyusun saluran reproduksi (Sitasiwi, 2008).

Beberapa hormon yang termasuk dalam hormon reproduksi adalah estrogen, progesteron dan testosteron. Estrogen adalah salah satu hormon reproduksi yang dihasilkan oleh sel-sel granulosa folikel de Graaf dan berfungsi untuk merangsang pertumbuhan dan perkembangan organ reproduksi, perkembangan sifat seksual sekunder, perilaku persiapan kawin (siklus estrus), persiapan uterus untuk implantasi (kehamilan) dan perkembangan kelenjar mammae (Hafez *et al.* 2000)

Siklus estrus pada Tikus (*Rattus norvegicus*) terdiri dari 4 fase yaitu : estrus, metestrus, diestrus dan proestrus. Level progesterone dan estradiol tertinggi terjadi selama fase proestrus (Marcondes dalam Sayin 2014). Daur ini diberi nama demikian karena adanya periode “panas” (estrus) yang mencolok pada saat ovulasi, yang biasanya merupakan satu-satunya waktu dimana terjadi peningkatan keinginan seksual pada hewan betina. Pada spesies-spesies yang mengalami ovulasi spontan dengan siklus estrosa, misalnya tikus, tidak terdapat perdarahan vagina episodik tetapi proses-proses endokrin yang mendasari pada prinsipnya sama seperti proses pada daur haid. Siklus ini dapat dengan mudah diamati dengan melihat perubahan sel-sel penyusun lapisan epitel vagina yang dapat dideteksi dengan metode apus vagina pewarnaan Giemsa (Narulita, *et all*, 2017).

Pada siklus estrus Progesterone dan estradiol memuncak selama proestrus dan menyebabkan banyak perubahan fisiologis seperti aktivitas fisiologis, peningkatan plastisitas, densitas sinapsis pada hippocampus (Sayin, 2014). Periode estrus pada hewan terjadi secara berulang dan membentuk suatu siklus yang disebut siklus estrus. Siklus estrus merupakan salah satu aspek reproduksi yang menggambarkan perubahan kandungan hormon reproduksi yang disebabkan oleh aktivitas ovarium dibawah pengaruh hormon gonadotrophin. Perubahan kandungan hormon reproduksi selanjutnya menyebabkan perubahan struktur pada jaringan penyusun saluran reproduksi (Sitasiwi, 2008). Menurut Mogheiseh (2017) kelenjar pituitary sensitif terhadap GnRH dan ovarium responsive terhadap LH dan FSH meningkat sebelum proestrus. Konsentrasi FSH dalam serum tinggi pada periode anestrus (tidak estrus), dan konsentrasi LH rendah kecuali pada anestrus akhir. Pemberian progesteron eksogenous dapat mengganggu kadar puncak follicle-stimulating hormone (FSH) dan Luteinizing hormone (LH), sehingga meskipun terjadi ovulasi, produksi progesteron yang berkurang dari korpus luteum menyebabkan penghambatan dari implantasi. Progesteron dalam dosis yang besar dapat menghambat sekresi LH, jadi bertanggung jawab pada penghambatan ovulasi serta pada sekresi estrogen (estradiol) (Narulita,et all, 2017).

Diane-35 merupakan pil kontrasepsi yang berperan sebagai antifertilitas pada manusia, menurut Tartagni et al. (2000) Diane-35 mengandung CPA (cyproterone acetate) (2 mg) dan ethinyl estradiol (35 µg). Ethinyl estradiol merupakan hormon sintetis dari estrogen. Estrogen merupakan salah satu hormon reproduksi pada hewan betina. Estrogen terdiri dari tiga jenis hormon yang berbeda, yaitu estron, estradiol, dan estriol. Menurut Heffner dan Schust (2006), estradiol merupakan estrogen utama yang disekresi oleh ovarium. Estrogen meningkatkan aliran darah uterus dan mempunyai efek penting pada otot polos uterus (Ganong, 1999). Estrogen disekresikan dalam jumlah yang semakin meningkat oleh folikel yang sedang tumbuh, merupakan suatu sinyal hormonal pada uterus yang menyebabkan endometrium menebal (Campbell, 2004). Pemberian progesteron secara sistemik dan untuk jangka waktu yang lama menyebabkan endometrium mengalami fase istirahat. Pemberian progesteron dalam dosis yang besar dapat menghambat sekresi LH, menghambat terjadinya ovulasi dan menghambat sekresi estrogen (estradiol) (Nalbandov, 1990). Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dilakukan pengamatan efek pemberian ethinyl estradiol dan cyproterone acetate terhadap siklus estrus *Rattus norvegicus*.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah ada pengaruh pemberian antiinfertilitas terhadap siklus estrus tikus betina ?

1.3. Batasan Masalah

Permasalahan pada penelitian ini dibatasi pada zat antiinfertilitas yang digunakan adalah estradiol dan cyproterone acetate yang terdapat pada pil kb merk diane-35 pada Tikus putih betina.

1.4. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui antifertilitas ethinyl estradiol dan cyproterone acetate terhadap siklus estrus tikus betina (*rattus norvegicus* berkenhout 1796)

1.5. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan tambahan informasi kepada mahasiswa dan pembaca fakultas sains dan teknologi UIN Sumatera Utara terkait efek dari antiinfertilitas terhadap siklus estru tikus betina. Penelitian ini juga diharapkan dapat menjadi referensi peneliti lainnya dalam menulis penelitian yang berkaitan dengan hasil penelitian.

BAB III METODELOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah *Rattus norvegicus* Berkenhout 1796 betina berumur 6 minggu sebanyak 4 ekor yang sudah matang secara seksual, tablet kontrasepsi Diane-35, aquades, pewarna giemsa, asam pikrat, metanol dan pakan tikus, sedangkan alat yang digunakan adalah kanul atau jarum sonde, 2 buah syringe 1mL, mortar, kaca objek, seperangkat kandang tikus dan mikroskop.

Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1796) betina sebanyak empat ekor yang dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, dimana masing-masing kelompok terdiri atas 2 ekor tikus betina. Tikus diberi tanda pada bagian tubuhnya menggunakan asam pikrat agar tidak tertukar, sehingga pengamatan menjadi lebih mudah. Pembagian kelompok tikus berdasarkan penandaan dengan asam pikrat yaitu:

Kontrol 1: diberi aquades 0,5ml (tanda dibagian kepala)

Kontrol 2: diberi aquades 0,5ml (tanda dibagian kepala dan punggung)

Perlakuan 1: diberi Diane-35 2mg yang dilarutkan dalam 0,5ml aquades (tanda di punggung)

Perlakuan 2: diberi Diane-35 2mg yang dilarutkan dalam 0,5ml aquades (tanda dibagian ekor)

Tikus betina dipelihara dalam kandang berupa kotak kaca (37cm x 30cm) dengan tutup kawat dan alas kandang dilapisi sekam secukupnya, sekam kering diganti setiap 3 hari sekali agar kebersihannya terjaga. Pemberian pakan pelet dan air minum dilakukan setiap hari secara *ad libitum*.

Perhitungan Konversi Dosis

Hewan coba ditimbang untuk mengetahui rata-rata bobot badan. Hasil penimbangan didapatkan data bobot badan tikus seberat 251gr, 286gr, 225gr dan 242gr. Dosis pil antifertilitas yang dikonsumsi manusia sebesar 100mg/70kg BB, sedangkan nilai HEDnya diketahui sebesar 1,428 mg/kg. Dosis hewan uji didapatkan dengan cara:

Dosis hewan : $HED \times (km \text{ manusia} / km \text{ hewan})$

: $1,428(37/6)$

: 8,806mg/kg

Rata-rata berat badan tikus : $(233,5\text{gr}/1000)8,806$

: 2,056 mg/rata-rata BB tikus

Sehingga dosis pil antifertilitas yang dapat dipakai sebanyak 2mg yang dilarutkan kedalam 0,5 ml aquades.

Pemberian Pil Antiferilitas

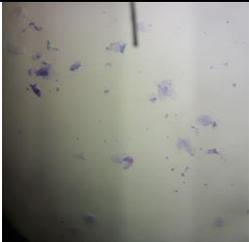
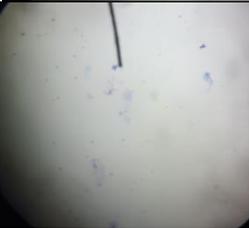
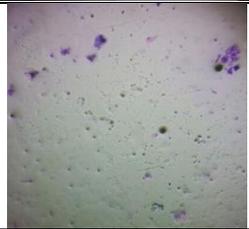
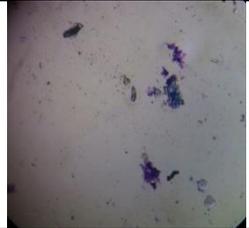
Hormon estrogen dan progesteron yang digunakan berasal dari pil antifertilitas Diane35. Tikus kelompok perlakuan diberi pil antifertilitas secara oral gavage dengan dosis 2 mg yang dilarutkan dalam 0,5 ml aquades, perlakuan oral gavage dilakukan setiap hari. Kelompok kontrol diinduksi aquades 0,5 ml secara oral gavage sehingga kedua kelompok uji mendapatkan stressing gavage yang sama. Pemberian aquades dan pil antifertilitas dilakukan selama 14 hari dimulai dari hari pertama dan berakhir pada hari ke-14.

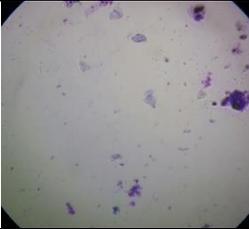
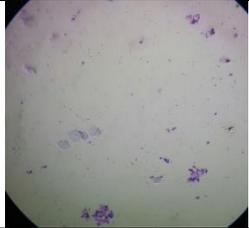
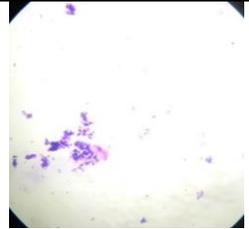
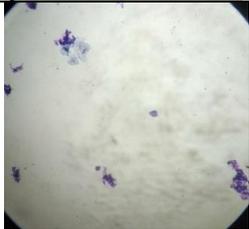
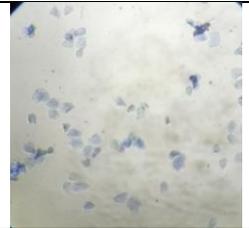
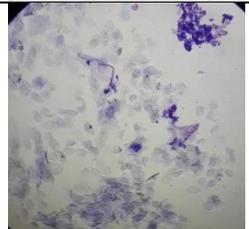
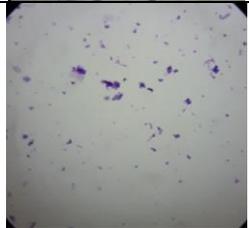
Pembuatan Preparat Apus Vagina

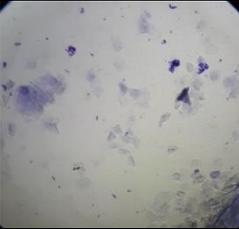
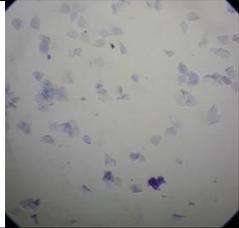
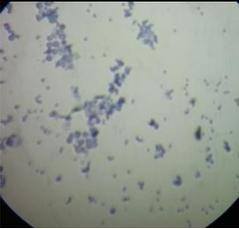
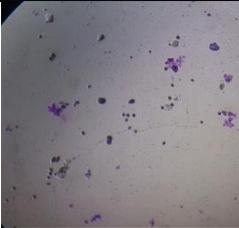
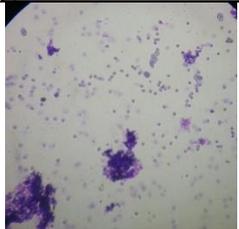
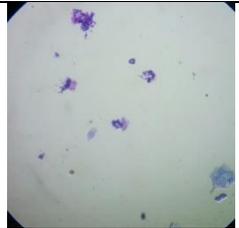
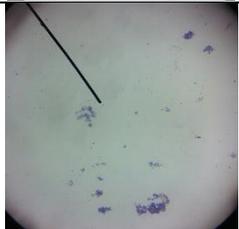
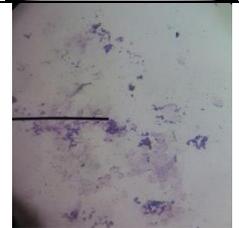
Cara pembuatan preparat apus vagina dilakukan dengan memasukkan cotton bud yang sudah dibasahi dengan aquades ke dalam vagina tikus, kemudian diputar searah jarum jam sehingga epitel vagina dapat menempel pada cotton bud. Epitel vagina yang terdapat pada cotton bud dioleskan pada kaca preparat, kemudian ditetesi metanol yang berfungsi sebagai fiksasi sel epitel. Preparat diwarnai dengan menggunakan pewarna giemsa, preparat didiamkan beberapa menit sampai sel terwarnai kemudian dibilas dengan aquades. Preparat apus vagina yang sudah jadi diamati menggunakan mikroskop untuk mengetahui tahapan estrus yang sedang dialami oleh tikus.

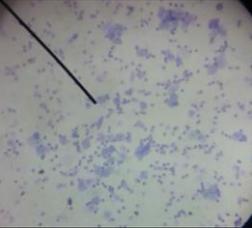
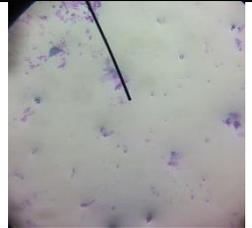
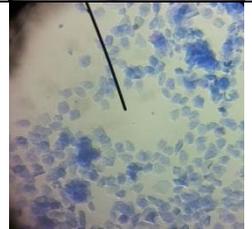
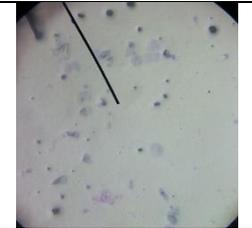
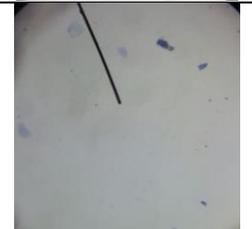
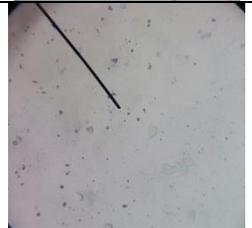
BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

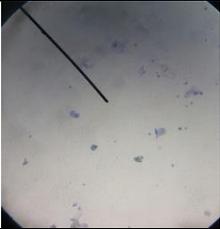
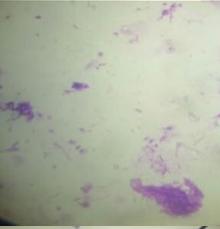
Penelitian yang telah dilakukan selama 14 hari dengan menggunakan zat uji berupa pil KB yang mengandung hormone progesterone dan estrogen sintetis terhadap siklus estrus Tikus (*Rattus norvegicus*) pada preparat apusan vagina :

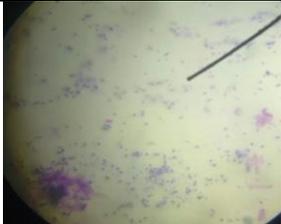
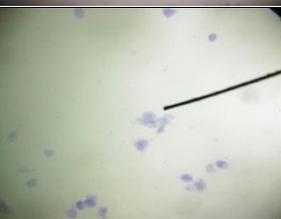
Hari ke-	Hasil	Keterangan
0 Kontrol I		Proestrus
Kontrol II		Estrus
Perlakuan I		Metestrus
Perlakuan II		Estrus
2 Kontrol I		Diestrus
Kontrol II		Metestrus

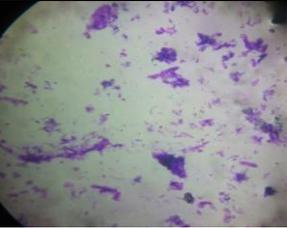
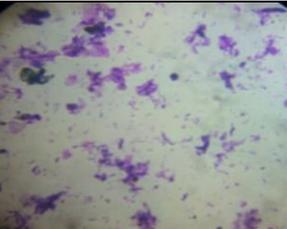
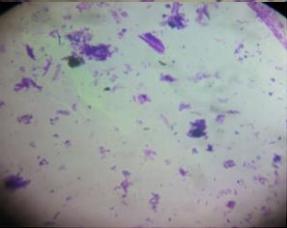
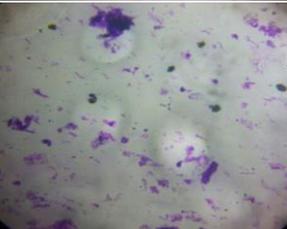
Perlakuan I		Metestrus
Perlakuan II		Estrus awal
2 Kontrol I		Diestrus
Kontrol II		Diestrus
Perlakuan I		Diestrus
Perlakuan II		Estrus
3 Kontrol I		Estrus
Kontrol II		Diestrus

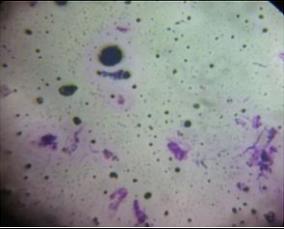
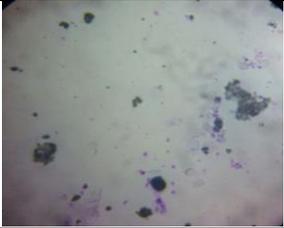
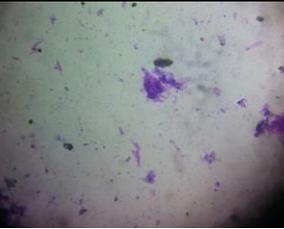
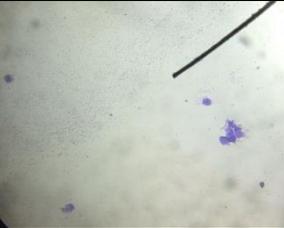
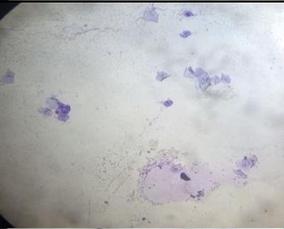
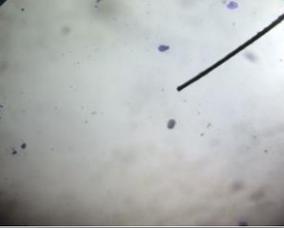
Perlakuan I		Estrus
Perlakuan II		Estrus
4 Kontrol I		Metestrus
Kontrol II		Proestrus
Perlakuan I		Diestrus
Perlakuan II		Diestrus
5 Kontrol I		Diestrus
Kontrol II		Estrus

Perlakuan I		Metestrus
Perlakuan II		Diestrus
6 Kontrol I		Proestrus
Kontrol II		Metestrus
Perlakuan I		Estrus
Perlakuan II		Estrus
7 Kontrol I		Estrus
Kontrol II		Diestrus

Perlakuan I		Metestrus
Perlakuan II		Estrus
8 Kontrol I		Diestrus
Kontrol II		Proestrus
Perlakuan I		Diestrus
Perlakuan II		Diestrus
9 Kontrol I		Proestrus
Kontrol II		Estrus awal

Perlakuan I		Diestrus
Perlakuan II		Diestrus
10 Kontrol I		Estrus
Kontrol II		Estrus
Perlakuan I		Diestrus
Perlakuan II		Estrus
11 Kontrol I		Proestrus

Kontrol II		Estrus
Perlakuan I		Estrus
Perlakuan II		Metestrus
12 Kontrol I		Proestrus
Kontrol II		Proestrus
Perlakuan I		Proestrus
Perlakuan II		Proestrus
13 Kontrol I		Metestrus

Kontrol II		Proestrus
Perlakuan I		Metestrus
Perlakuan II		Proestrus
14 Kontrol I		Estrus
Kontrol II		Estrus
Perlakuan I		Estrus
Perlakuan II		Estrus

Pengamatan pada Kontrol I :

Pengamatan yang dilakukan pada kelompok Kontrol I yang dimulai dari hari ke-0 sampai pada hari ke-14 yaitu : proestrus, diestrus, diestrus, estrus, metestrus, diestrus, proestrus, estrus, diestrus, proestrus, estrus, proestrus, proestrus, metestrus, dan estrus. Pengamatan pada

kelompok control I menunjukkan hewan coba mengalami siklus estrus 4 kali dengan siklus estrus pertama berlangsung selama 3 hari , siklus estrus kedua berlangsung selama 3 hari, siklus ketiga berlangsung selama 3 hari dan siklus terakhir berlangsung selama 3 hari.

Pengamatan pada Kontrol II :

Pengamatan yang dilakukan pada kelompok Kontrol I yang dimulai dari hari ke-0 sampai pada hari ke-14 yaitu : estrus, metestrus, diestrus, diestrus, proestrus, estrus, metestrus, diestrus, proestrus, estrus, awal estrus, estrus, proestrus, proestrus, dan estrus. Pengamatan pada kelompok control II menunjukkan hewan coba mengalami siklus estrus yang normal.

Pengamatan pada Perlakuan I :

Pengamatan yang dilakukan pada kelompok perlakuan I yang dimulai dari hari ke-0 sampai pada hari ke-14 yaitu : metestrus, metestrus, diestrus, estrus, diestrus, metestrus, estrus, metestrus, diestrus, diestrus, diestrus, estrus, proestrus, metestrus dan estrus. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa siklus estrus terjadi selama 3 kali. Pada siklus ekstrus pertama berlangsung selama 5 hari, siklus estrus kedua berlangsung selama 2 hari dan yang terakhir selama 6 hari. Hal ini menunjukkan ketidaknormalan siklus estrus pada Tikus yang telah di beri perlakuan.

Pengamatan pada Perlakuan II :

Pengamatan yang dilakukan pada kelompok perlakuan I yang dimulai dari hari ke-0 sampai pada hari ke-14 yaitu : estrus, awal estrus, estrus, estrus, diestrus, diestrus, estrus, estrus, diestrus, diestrus, estrus, metestrus, proestrus, proestrus, dan estrus. Hasil pengamatan menunjukan bahwa siklus estrus terjadi 3 kali. Siklus estrus pertama terjadi selama 6 hari, seiklus estrus kedua berlangsung selama 4 hari dan siklus estrus ketiga selama 4 hari juga.

Hasil Uji SPSS Mann- Whitney

Ranks

Perlakuan pada Tikus		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fase Estrus	Kontrol Aquades	30	28,32	849,50
	Perlakuan Estradiol	30	32,68	980,50
	Total	60		

Test Statistics^a

	Fase Estrus
Mann-Whitney U	384,500
Wilcoxon W	849,500
Z	-1,014
Asymp. Sig. (2-tailed)	,311

a. Grouping Variable:
Perlakuan pada Tikus

Berdasarkan hasil uji Mann-Whitney dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan nyata antara kelas perlakuan estradiol dengan kontrol yang ditandai dengan nilai signifikansi lebih besar dari 0,05

Tikus Kontrol

Penentuan fase dalam siklus estrus pada penelitian ini didasarkan pada hasil pengamatan preparat apus vagina yang diamati menggunakan mikroskop. Ward et al. (2005) berpendapat bahwa sediaan apus vagina ditentukan fase siklus estrusnya melalui identifikasi sel epitel, sel epitel terkornifikasi (tanduk) dan leukosit. Marcondes et al. (2002) Fase proestrus didominasi oleh sel epitel berinti. Fase metestrus didominasi oleh sel tanduk dan leukosit. Fase diestrus yang paling dominan terlihat adalah sel leukosit.

Hasil pengamatan siklus estrus kelompok kontrol hewan coba 1 mulai dari hari ke-0 (sebelum diberi perlakuan) sampai hari ke-14 didapatkan data sebagai berikut, proestrus, diestrus, diestrus, estrus, metestrus, diestrus, proestrus, estrus, diestrus, proestrus, estrus, proestrus, proestrus, metestrus dan estrus. Hasil pengamatan terhadap hewan coba 2 didapatkan hasil sebagai berikut, estrus, metestrus, diestrus, diestrus, proestrus, estrus, metestrus, diestrus, proestrus, estrus, awal estrus, estrus, proestrus, proestrus dan estrus. Goldman et al. (2007) menyatakan bahwa siklus estrus normal berlangsung selama 4 sampai 5 hari, dimana 1 sampai 2 hari merupakan siklus estrus dan 2-3 hari siklus diestrus, siklus yang panjang memiliki 3 sampai 4 hari siklus estrus dan 4 sampai 5 hari siklus diestrus, serta siklus abnormal memiliki siklus estrus lebih dari 4 hari dan siklus diestrus lebih dari 6 hari. Sehingga dapat disimpulkan bahwa kelompok kontrol, baik hewan coba 1 maupun 2 walaupun memiliki siklus estrus yang lebih pendek dari siklus normal namun fase estrus dan diestrusnya cenderung normal, sehingga perlakuan aquades tidak mempengaruhi siklus estrus yang terdapat pada tikus.

Pengamatan terhadap kelompok kontrol menunjukkan hewan coba 1 mengalami siklus estrus 4 kali dimana siklus estrus pertama berlangsung selama 3 hari dimana proestrus seharusnya terletak antara fase diestrus hari ke-2 dan fase estrus hari ke-3 namun tidak teramati karena fasenya sudah terlewat, siklus kedua berlangsung selama 3 hari, siklus ketiga berlangsung selama 3 hari dan siklus estrus keempat berlangsung selama 3 hari, sedangkan 2 hari sisanya merupakan tahapan fase menuju siklus keempat. Pengamatan kelompok kontrol hewan coba 2 menunjukkan siklus estrus terjadi sebanyak 3 kali, dimana siklus pertama terjadi selama 5 hari, siklus kedua terjadi selama 6 hari, dan siklus ketiga terjadi selama 3 hari. Akbar (2010) berpendapat bahwa tikus termasuk hewan yang bersifat poliestrus dan memiliki siklus reproduksi yang sangat pendek. Setiap siklus lamanya berkisar antara 4-5 hari. Pengamatan yang dilakukan terhadap hewan coba 1 menunjukkan adanya fase yang terlewat disetiap siklusnya. Pengamatan hewan coba 2 pada hari ke-13 sampai hari ke-15 menunjukkan tahap proestrus dan estrus dimana terdapat 2 tahap yang terlewat antara hari ke-12 dan hari ke-13, kedua tahap tersebut adalah metestrus dan diestrus. Goldman et al. (2007) menyatakan bahwa panjang dari empat tahap siklus estrus bervariasi antara 6 sampai 72 jam tergantung pada tahap dan individu rodensia, oleh karena itu, beberapa tahap pendek mungkin tidak terlihat terutama jika sampel diambil terlalu pagi atau terlalu malam. Berdasarkan pengamatan hewan kontrol 2 maka dapat dilihat pada hari ke-0 sampai hari ke-12 menunjukkan bahwa siklus estrus berlangsung dengan normal sesuai tahapan estrus.

Hal ini sesuai dengan pendapat Taylor (1994) yang menyatakan bahwa periode estrus pada hewan terjadi secara berulang dan membentuk suatu siklus yang disebut siklus estrus. Siklus estrus merupakan salah satu aspek reproduksi yang menggambarkan perubahan kandungan hormon reproduksi yang disebabkan oleh aktivitas ovarium dibawah pengaruh hormon gonadotrophin. Perubahan kandungan hormon reproduksi selanjutnya menyebabkan perubahan struktur pada jaringan penyusun saluran reproduksi. Siklus estrus pada mencit terdiri dari 4 fase utama, yaitu proestrus, estrus, metestrus dan diestrus. Brancroft and Steven (1999) menambahkan bahwa Siklus estrus dapat dengan mudah diamati dengan melihat perubahan sel-sel penyusun lapisan epitel vagina yang dapat dideteksi dengan metode apus vagina pewarnaan Giemsa.

Tikus Perlakuan

Hasil pengamatan siklus estrus terhadap kelompok perlakuan hewan coba 1 mulai dari hari ke-0 (sebelum diberi perlakuan pil kontrasepsi) sampai hari ke-14 didapatkan urutan fase estrus sebagai berikut, metestrus, metestrus, diestrus, estrus, diestrus, metestrus, estrus, metestrus, diestrus, diestrus, diestrus, estrus, proestrus, metestrus dan estrus. Hasil pengamatan siklus estrus terhadap hewan coba 2 didapatkan fase estrus sebagai berikut: estrus, estrus awal, estrus, estrus, diestrus, diestrus, estrus, estrus, diestrus, diestrus, estrus, metestrus, proestrus, proestrus dan estrus. Berdasarkan pengamatan hewan coba 1, didapatkan bahwa siklus estrus pertama berlangsung selama 5 hari, siklus estrus kedua berlangsung selama 2 hari dan siklus estrus ketiga berlangsung selama 6 hari, hal ini menunjukkan abnormalitas pada siklus estrus karena siklus kedua terjadi terlalu cepat. Pengamatan yang dilakukan pada hewan coba 2 terdapat 3 siklus estrus selama 14 hari, dimana siklus estrus pertama berlangsung selama 6 hari sedangkan siklus estrus kedua dan ketiga berlangsung selama 4 hari.

Campbell et al. (2004) menyatakan bahwa satu siklus estrus normal yang terjadi pada tikus rata-rata berkisar 5 hari. Goldman et al. (2007) menambahkan bahwa siklus estrus normal berlangsung selama 4 sampai 5 hari, dimana 1 sampai 2 hari merupakan siklus estrus dan 2-3 hari siklus diestrus, siklus yang panjang memiliki 3 sampai 4 hari siklus estrus dan 4 sampai 5 hari siklus diestrus, serta siklus abnormal memiliki siklus estrus lebih dari 4 hari dan siklus diestrus lebih dari 6 hari. Sehingga dapat disimpulkan bahwa siklus estrus pada hewan coba 1 berlangsung normal, karena fase estrusnya berlangsung 1-2 hari dan fase diestrusnya berlangsung 2-3 hari, namun pada hewancoba 2 siklus estrus pertama berlangsung panjang karena memiliki fase estrus 4 hari, sedangkan siklus estrus kedua dan ketiga berlangsung dengan normal. Hewan coba 1 dan 2 mengalami 4 kali fase estrus selama 14 hari, hal ini disebabkan oleh hormon estrogen yang terdapat pada obat antifertilitas Diane-35 menyebabkan percepatan penebalan epitel pada vagina hal ini sesuai dengan pendapat Kusmana et al. (2007) bahwa kadar estrogen yang meningkat menyebabkan percepatan penebalan epitel untuk memasuki fase proestrus. Adapun terjadinya fase estrus yang lebih lama pada perlakuan estrogen dikarenakan estrogen yang berikatan pada masing-masing RE α sel epitel vagina lebih banyak dibandingkan kontrol.

Pengikatan estrogen pada RE α sel epitel vagina menyebabkan diferensiasi sel-sel epitel vagina. Hal tersebut yang kemudian menyebabkan keratinisasi pada lapisan bagian atas epitel vagina sehingga siklus estrus berlangsung lebih lama. Folikel mulai berkembang dan akhirnya kembali ke fase proestrus (sumarmin, 2016). Beberapa fase dalam satu siklus tidak teramati karena fasenya sudah terlewat, Goldman et al. (2007) menyatakan bahwa panjang dari empat tahap siklus estrus bervariasi antara 6 sampai 72 jam tergantung pada tahap dan individu rodensia, oleh karena itu, beberapa tahap pendek mungkin tidak terlihat terutama jika sampel diambil terlalu pagi atau terlalu malam.

Bahan antifertilitas yang bekerja pada poros hipotalamus-hipofise-ovarium mempunyai aktifitas gonadotropin, dengan mekanisme umpan balik negatif dari hipotalamus yang menyebabkan penurunan produksi GnRH. Hal ini akan berpengaruh pada sekresi FSH dan LH dari hipofisa anterior, sehingga sekresi FSH dan LH rendah, dimana kedua hormon ini sangat berpengaruh dalam pembentukan, perkembangan dan pematangan folikel ovarium sertaproses ovulasi (Gomes, 2001). Estrogen akan di produksi optimal pada fase proliferasi dan menjelang ovulasi, yaitu pada fase proestrus akhir atau fase estrus (Kusumawati, 2004). Sekresi LH dan FSH yang dihambat oleh pil antifertilitas menyebabkan pematangan folikel ovarium dan ovulasi terganggu sehingga siklus estrus pada tikus yang diberi perlakuan pil antifertilitas berlangsung lebih lama dibanding tikus kontrol. Pil antifertilitas Diane-35 mengandung ormon estrogen yang berupa ethinyl estradiol, sehingga pemberian ethinyl estradiol secara terus

menerus dapat meningkatkan hormon estrogen dalam tubuh melebihi konsentrasi normal. Hal ini menyebabkan fase estrus pada tikus yang diberi perlakuan antifertilitas berlangsung lebih lama dibandingkan tikus kontrol, khususnya dapat dilihat pada siklus estrus pertama tikus perlakuan 2.

Pembahasan

Percobaan yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui siklus estrus pada tikus yang telah diberi perlakuan pil KB Diane-35 yang mengandung progesteron dan estrogen. Hal ini dapat dilihat dari apusan vagina tikus selama 14 hari. Sitasiwi, (2007) menyatakan bahwa periode estrus pada hewan terjadi secara berulang dan membentuk suatu siklus yang disebut siklus estrus. Siklus estrus merupakan salah satu aspek reproduksi yang menggambarkan perubahan kandungan hormon reproduksi yang disebabkan oleh aktivitas ovarium dibawah pengaruh hormon gonadotrophin.

Percobaan kelompok perlakuan yang telah dilakukan memiliki fase estrus yang lebih panjang dan tidak teratur dibandingkan dengan kelompok kontrol. Fase siklus yang normal pada tikus normal itu sekitar 4-5 hari, siklus estrus normal terjadi selama 4 sampai 5 hari dimana 1- 2 hari merupakan siklus estrus, 2-3 hari merupakan siklus diestrus, hari ke 3 sampai ke 5 merupakan siklus metestrus,(Goldman et al, 2007). Secara normal rata-rata fase proestrus terjadi selama $18,86 \pm 9,44$ jam, fase estrus $69,43 \pm 11,93$ jam, metestrus $110,57 \pm 11,93$ dan diestrus $41,14 \pm 10,64$ (Agustina, et al, 2013). Kadar estrogen yang tinggi dalam darah akan memicu umpan balik negatif ke hipofisa anterior untuk tidak melepaskan FSH dan menimbulkan umpan balik positif pada hipofisa anterior untuk mensekresi LH saat praovulasi. Kadar LH yang tinggi ini merupakan fase metestrus awal dimulainya ovulasi. Jika dibandingkan dengan siklus birahi normal secara keseluruhan fase metestrus lebih panjang, tetapi bila dibandingkan dengan tiap perlakuan tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata. Hal ini dikarenakan permulaan fase metestrus ditandai dengan tingginya kadar estrogen. Dapat disimpulkan bahwa pada hewan uji perlakuan I termasuk kedalam siklus yang normal dikarenakan fase estrus yang terjadi selama 1-2 hari dan fase diestrusnya berlangsung selama 2-3 hari.

Periode estrus pada hewan terjadi secara berulang dan membentuk suatu siklus yang disebut siklus estrus. Siklus estrus merupakan salah satu aspek reproduksi yang menggambarkan perubahan kandungan hormon reproduksi yang disebabkan oleh aktivitas ovarium dibawah pengaruh hormon gonadotrophin. Perubahan kandungan hormon reproduksi selanjutnya menyebabkan perubahan struktur pada jaringan penyusun saluran reproduksi. Siklus estrus pada mencit terdiri dari 4 fase utama, yaitu proestrus, estrus, metestrus dan diestrus. Siklus ini dapat dengan mudah diamati dengan melihat perubahan sel-sel penyusun lapisan epitel vagina yang dapat dideteksi dengan metode apus vagina pewarnaan Giemsa (Narulita, et al, 2017). Nalbandov (1990) menjelaskan bahwa panjang pendek satu siklus estrus dikendalikan oleh sistem hormonal reproduksi melalui poros hipotalamus-hipofisis-ovarium. Jika terjadi penyimpangan pada lama siklus estrus, hal itu menunjukkan telah terjadi gangguan pada mekanisme pengendalian tersebut.

Puspaningtyas (2007) menyatakan fase estrus merupakan fase dimana terjadi peningkatan kadar hormone progesterone dalam darah. Kadar hormone progesterone yang tinggi dihasilkan oleh korpus luteum pasca ovulasi. Folikel yang matang dan mengalami ovulasi jumlahnya menurun yang mengakibatkan korpus luteum dalam mensekresikan progesterone menjadi menurun. Hal ini mengakibatkan umpan balik positif terhadap hipotalamus dan pituitary anterior untuk mensekresikan FSH-RH sehingga stadium diestrus diperpendek

Pada penelitian ini pemberian progesteron secara oral selama 14 hari telah merubah lama fase siklus estrus tikus. Pemanjangan siklus ini kemungkinan disebabkan terjadinya hambatan proses perkembangan sel folikel dalam ovarium. Folikel telur dalam ovarium nasibnya tergantung pada hormon gonadotropin (FSH dan LH). LH mendorong perkembangan akhir masaknya sel folikel dan mendorong perkembangan korpus luteum yang mensekresikan progesteron. Perubahan sekresi gonadotropin yang membawa dampak pada siklus ovarium diperlihatkan dengan terjadinya pemanjangan setiap fase estrus (proestrus, estrus, metestrus dan diestrus) tikus perlakuan.

Siklus Estrus pada *Rattus norvegicus*

Proestrus adalah fase sebelum estrus yaitu periode dimana folikel ovarium tumbuh menjadi folikel de graaf dibawah pengaruh FSH. Fase ini berlangsung 12 jam. Setiap folikel mengalami pertumbuhan yang cepat selama 2-3 hari sebelum estrus. Sistem reproduksi memulai persiapan-persiapan untuk pelepasan ovum dari ovarium yang membuat sekresi estrogen dalam darah semakin meningkat sehingga akan menimbulkan perubahan-perubahan fisiologis dan saraf, disertai kelakuan birahi pada hewan-hewan betina peliharaan. Perubahan fisiologis tersebut meliputi pertumbuhan folikel, meningkatnya pertumbuhan endometrium, uteri dan serviks serta peningkatan vaskularisasi dan keratinisasi epitel vagina pada beberapa spesies. Preparat apus vagina pada fase proestrus ditandai akan tampak jumlah sel epitel berinti dan sel darah putih berkurang, digantikan dengan sel epitel bertanduk atau kornifikasi.

Estrus adalah fase yang ditandai oleh penerimaan pejantan oleh hewan betina untuk berkopulasi, fase ini berlangsung selama 12 jam. Folikel de graaf membesar dan menjadi matang serta ovum mengalami perubahan-perubahan kearah pematangan. Pada fase ini pengaruh kadar estrogen meningkat sehingga aktivitas hewan menjadi tinggi, telinganya selalu bergerak-gerak dan punggung lordosis. Ovulasi hanya terjadi pada fase ini dan terjadi menjelang akhir siklus estrus. Pada preparat apus vagina ditandai dengan menghilangnya leukosit dan epitel berinti, yang ada hanya epitel bertanduk dengan bentuk tidak beraturan dan berukuran besar.

Metestrus adalah periode segera sesudah estrus. Saat fase ini corpus luteum tumbuh lebih cepat dari sel granulosa folikel yang telah pecah di bawah pengaruh LH dan adenohipofisis. Metestrus sebagian besar berada di bawah pengaruh progesteron yang dihasilkan oleh corpus luteum. Progesteron menghambat sekresi FSH oleh adenohipofisis sehingga menghambat pembentukan folikel de graaf yang lain dan mencegah terjadinya estrus. Selama metestrus uterus mengadakan persiapan-persiapan seperlunya untuk menerima dan memberi makan pada embrio. Menjelang pertengahan sampai akhir metestrus, uterus menjadi agak lunak karena pengendoran otot uterus. Fase ini berlangsung selama 21 jam. Pada preparat apus vagina ciri yang tampak yaitu epitel berinti dan leukosit terlihat lagi dan jumlah epitel menanduk makin lama makin sedikit.

Diestrus adalah periode terakhir dan terlama siklus birahi pada ternak ternak dan mamalia. Fase ini berlangsung selama 48 jam. Serviks menutup dan lendir vagina mulai kabur dan lengket. Selaput mukosa vagina pucat dan otot uterus mengendor. Pada akhir periode ini corpus luteum memperlihatkan perubahan-perubahan retrogresif dan vakualisasi secara gradual. Endometrium dan kelenjar-kelenjarnya berubah keukuran semula. Mulai terjadi perkembangan folikel-folikel primer dan sekunder dan akhirnya kembali ke proestrus. Pada preparat apus vagina dijumpai banyak sel darah putih dan epitel berinti yang letaknya tersebar dan homogen (Karlina, 2003).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Percobaan yang telah dilakukan menghasilkan bahwa tidak ada perbedaan nyata terhadap percobaan control dan percobaan perlakuan tidak memberikan perbedaan yang signifikan berdasarkan uji SPSS Mann-Whiney, namun dari pengamatan apusan vagina diketahui bahwa siklus estrus yang dialami oleh kelompok perlakuan menjadi lebih panjang, hal ini ditandai bahwa selama 14 hari percobaan kedua tikus percobaan perlakuan pemberian progesterone sintetik mengalami 3 kali siklus estrus sedangkan pada kelompok control mengalami 4 kali siklus estrus.

Saran

Peneliti menyarankan untuk dilakukan penelitian lanjutan terkait efek antiinfertilitas ini kepada hewan uji lain yang memiliki siklus estrus, sehingga dapat memberi informasi yang lebih lengkap lagi.

Daftar Pustaka

- Agustina, G. C., Mustofa, I., & Sunarso, A. (2013). The Effect of Green Bitter Melon Fruit Flesh (*Momordica charantia* L.) Extract on Mice (*Mus musculus*) Estrous Cycle which Superovulated with PMSG and HCG. *Veterinaria Medika*, Vol 6, No.2
- Akbar, B. 2010. Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi sebagai Bahan Antifertilitas. Jakarta: Adabia Press.
- Alarid E.T., N. Bakopoulos, and N. Solodin. 1999. Proteasome-Mediated Proteolysis of Estrogen Receptor: A Novel Component in Autologous Down-Regulation. *Molecular Endocrinology*. 13:1522-1534.
- Brancroft, J.D. dan A. Stevens. 1999. *Theory and Practise of Histological Techniques Fourth Edition*. Edinburg: Churchill Livingstone.
- Campbell, N., J. Reece, dan L. Mitchael. 2004. *Biologi Jilid Ketiga Edisi Kelima*. Jakarta: Erlangga.
- Frandsen, R. D. 1996. *Anatomi dan Fisiologi Ternak*. Terjemahan: B. Srigandono dan Koen Praseno. Yogyakarta: UGM press.
- Ganong, W. F. 1999. *Buku-Ajar Fisiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Goldman, J. M., A. S. Murr and R. L. Cooper. 2007. The rodent estrous cycle: Characterization of vaginal cytology and its utility in toxicological studies. *Birth Defects Res* 80:84–97.
- Goldman, J., et all (2007), The Rodent Estrous Cycle : Characterization of Vaginal Cytology and its Utility in toxicological study. *Birth Defect Res* 80 : 84 -97.
- Gomes Y, P.N. Velazques, I.D. Pelalta, M.C. Mendez, F. Vilchia, M.A.O. Juarez and E. Pedenernera. 2001. Follicle Stimulating Hormone Regulates Steroigenic Enzymes in Culture Cells of The Chick Embryo Ovary. *Gen Comp Endocrinol* 121(3):305-315.
- Gruber, C. J., W. Tschugguei, C. Schneebege, J. C. Huber .2002. Production and action of estrogens. *N Engl J Med*. 346: 340-50.
- Hanson JL, Hurley LM. 2012. Female Presence and Estrous State Influence Mouse Ultrasonic Courtship Vocalizations. *PLoS ONE* 7(7): e40782. doi:10.1371/journal.pone.0040782
- Heffner, L. J. dan Schust, D. J. 2008. *At a Glance Sistem Reproduksi*. Jakarta: Erlangga.
- Karlina, Y., 2003, Siklus Estrus Dan Struktur Histologi Ovarium Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Setelah Pemberian Alprazolam, Tesis, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Surakarta
- Nalbandov, A.V., 1990. *Fisiologi Reproduksi Pada Mamalia dan Unggas*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI Press).
- Narulita, E., Prihatin, J., Anam, K., & Oktavia, F. A. (2017). Perubahan Kadar Estradiol dan Histologi Uterus Mencit (*Mus musculus*) Betina dengan Induksi Progesteron Sintetik. *Biosfera*, Vol 34, No 3 117 -122.

- Novriyanti , E., Sumarmin, R., Zayani, N., & Ramadhani, S. A. (2014). Pengaruh Ekstrak Biji Kapas (*Gossypium Hirsutum L.*) Terhadap Reproduksi Mencit Betina (*Mus musculus L.*, Swiss Webster). *Jurnal Sainstek* , Vol. VI No. 1: 1-16.
- Puspaningtyas, Y. (2007). Pengaruh Pemberian Perasan Daun Semanggi Air (*Marsiela crenata*) terhadap Siklus Birahi Mencit Betina (*Mus musculus*). Universitas Airlangga : Fakultas Kedokteran Hewan.
- Rusmiati. 2010. Pengaruh Ekstrak Metanol Kulit Kayu Durian (*Durio zibethinus Murr*) Pada Struktur Mikroanatomi Ovarium dan Uterus Mencit (*Mus Musculus L*) Betina. *Jurnal Sains dan Terapan Kimia*. 4(1) : 15-18.
- Sayin, A., Derindz, O. Yuksel, N., and Sahin, S., (2014) The Effect of the estrus cycle and citalopram on anxiety-like behaviors and c-fos expression in rats, *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 124 : 180 -187.