

# PENGARUH *PROPYLTHIOURACIL* TERHADAP KADAR TESTOSTERON DAN ESTROGEN PADA TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* BETINA

## Propylthiouracil Effect on Testosterone and Estrogen Levels In Female *Sprague dawley* Rats

Prihatin Broto Sukandar\*<sup>1</sup>, Sri Kadarsih Soejono<sup>2</sup>, Totok Utoro<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Balai Litbang GAKI Magelang  
Kapling Jayan Borobudur Magelang Jawa Tengah  
<sup>2</sup>Ilmu Kedokteran Dasar Fakultas Kedokteran UGM Yogyakarta  
\*E-mail: patin\_sukandar@yahoo.com

Naskah masuk: 16 September 2013, naskah direvisi: 13 November 2013, naskah disetujui terbit: 2 Desember 2013

### ABSTRACT

*Iodine Deficiency Disorders (IDD) was associated with female reproductive hormones disorders. Hypothyroidism inhibits follicular development which subsequently inhibited estrogen secretion. Biosynthesis of estrogen derived from testosterone through aromatization mechanism in ovarian granulose cells. This study aimed to determine changes in levels of serum testosterone and estrogen in hypothyroid rats induced by propylthiouracil. This study was an experimental post test only with controlled group design. Study used 11 Sprague dawley female rats aged 2.5 months with an average body weight 111.1 grams. Five rats given propylthiouracil in the drinking water with doses of 0.1 g/L for 30 days and six rats were used as controls. Hypothyroid rats were determined by measurements of free T4 levels. Data of free T4 levels, testosterone, and estrogen taken from blood serum and it were measured using ELISA technique. Data of testosterone, estrogen, and free T4 analysis using independent sample t test. Free T4 levels of treatment group were  $4.0 \pm 0.4$  pmol/L and the controlled group were  $8.1 \pm 1.6$  pmol/L, statistical analysis showed significant difference between the two groups with  $p$  values = 0.001. Testosterone levels of the treatment group were  $0.72 \pm 0.1$  pg/dL and control group were  $0.66 \pm 0.1$  pg/dL, statistical analysis showed no significant difference between the two groups with  $p$  values = 0.20. Estrogen levels of the treatment group were  $9.4 \pm 6.2$  pg/dL and control group were  $12.6 \pm 3.9$  pg/dL, statistical analysis showed no significant difference between the two groups with  $p$  values = 0.35. There was no significant change in the levels of testosterone and estrogen serum in Sprague dawley female hypothyroid rats induced by propylthiouracil.*

**Keywords:** *hypothyroidism, testosterone, estrogen, free T4, Sprague dawley.*

### ABSTRAK

Gangguan Akibat Kekurangan Iodium (GAKI) ada hubungannya dengan hormon reproduksi perempuan. Hipotiroid menghambat perkembangan folikuler sehingga sekresi estrogen terhambat. Biosintesis hormon estrogen berasal dari hormon testosteron melalui mekanisme aromatisasi di dalam sel granulosa ovarium. Penelitian ini bertujuan mengetahui perubahan kadar hormon testosteron dan estrogen serum pada tikus hipotiroid dengan induksi *propylthiouracil*. Penelitian ini adalah studi eksperimental dengan rancangan *post test only with controlled group*, menggunakan 11 tikus jenis *Sprague dawley* betina berumur 2,5 bulan dengan berat badan rata-rata 111,1 gram. Lima ekor tikus sebagai perlakuan diberi *propylthiouracil* dalam air minum dengan kadar 0,1 g/L selama 30 hari dan enam ekor tikus digunakan sebagai kontrol. Untuk menentukan tikus hipotiroid digunakan pengukuran kadar T4 bebas. Data kadar T4 bebas, testosteron, dan

estrogen diambil dari serum darah dan diukur dengan menggunakan teknik ELISA. Data kadar testosteron, estrogen, dan T4 bebas diuji dengan menggunakan uji statistik t tidak berpasangan. Kadar T4 bebas kelompok perlakuan ( $4,0 \pm 0,4$  pmol/L) dan kelompok kontrol ( $8,1 \pm 1,6$  pmol/L), uji statistik menunjukkan beda bermakna antara kedua kelompok dengan nilai  $p = 0,001$ . Kadar testosteron pada kelompok perlakuan ( $0,72 \pm 0,1$  pg/dL) dan kelompok kontrol ( $0,66 \pm 0,1$  pg/dL), uji statistik menunjukkan tidak beda bermakna antara kedua kelompok dengan nilai  $p = 0,20$ . Kadar estrogen pada kelompok perlakuan ( $9,1 \pm 6,2$  pg/dL) dan kelompok kontrol ( $12,6 \pm 3,9$  pg/dL), analisis statistik menunjukkan tidak beda bermakna antara kedua kelompok dengan nilai  $p = 0,35$ . Tidak terjadi perubahan signifikan kadar testosteron dan estrogen serum pada tikus *Sprague dawley* betina hipotiroid dengan induksi *propylthiouracil*.

**Kata kunci:** hipotiroid, testosteron, estrogen, T4 bebas, *Sprague dawley*.

## PENDAHULUAN

Gangguan Akibat Kekurangan Iodium (GAKI) khususnya gondok sudah lama dikenal di Indonesia, terbukti ada gambar gondok pada relief Candi Borobudur. Gangguan Akibat Kekurangan Iodium sampai saat ini masih menjadi masalah gizi di Indonesia. Di Jawa Tengah GAKI merupakan salah satu masalah gizi mikro selain anemia gizi besi dan kekurangan vitamin A.<sup>1</sup> Angka Total Goiter Rate (TGR) pada anak sekolah hasil survey pembesaran kelenjar gondok nasional yaitu 11,1% pada tahun 2003<sup>2</sup>. Di Jawa Tengah diperkirakan 1,5 juta penduduk menderita gondok, 10,5 juta penduduk bertempat tinggal di daerah endemik. Proporsi TGR pada tahun 2004 9,7%, proporsi iodium dalam urin atau *Urine Iodine Excretion* (UIE) < 50 µg/L sebesar 37,5 %<sup>1</sup>. Cakupan Penggunaan garam beriodium pada tahun 2007 secara nasional sebesar 62,3%, untuk Jawa Tengah 63,39%, jauh dibawah target yaitu 90%<sup>3</sup>. Hal ini berarti bahwa masyarakat Indonesia termasuk masyarakat Jawa Tengah masih berisiko tinggi menderita GAKI.

Kasus gondok perempuan dibanding laki-laki 5:1, baik yang eutiroid

ataupun hipotiroid.<sup>4</sup> Penyakit tiroid lima sampai sepuluh kali lebih banyak terjadi pada perempuan dibandingkan laki-laki, dan kejadian terbanyak pada usia reproduksi.<sup>5</sup> Pemberian suplemen *phytoestrogens* pada hipotiroid subklinik dapat meningkatkan risiko kejadian hipotiroid klinik tiga kali lebih banyak.<sup>6</sup> Begitu pula sebaliknya hipotiroid menghambat perkembangan folikuler sehingga sekresi estrogen terhambat.<sup>7</sup> Kasus GAKI berhubungan dengan hormon reproduksi perempuan seperti estrogen.

Hipotiroid dapat mengganggu fisiologi reproduksi wanita yaitu gangguan menstruasi, *amenorea* dan infertilitas.<sup>7</sup> Dampak hipotiroid pada fungsi menstruasi dan ovulasi berhubungan dengan berbagai interaksi hormon tiroid dengan sistem reproduksi wanita.<sup>8</sup> Gangguan reproduksi ini disebabkan karena hipotiroid dapat mengubah aksis hipofise-ovarium. Hipotiroid menyebabkan hipofise lebih peka dan *Thyroid Stimulating Hormone* (TSH) ataupun *Thyrotropin Releasing Hormone* (TRH) meningkat. Hormon TRH merangsang sel *laktotrop* untuk mensintesis *prolaktin* yang dapat mengganggu sekresi periodik *Gonadotropin Releasing Hormone*

(GnRH), menekan *Follicell Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH) sehingga tidak terjadi pematangan folikel.<sup>5</sup> Tidak matangnya folikel pada ovarium akan menyebabkan terhambatnya sekresi estrogen.

Keberadaan hormon estrogen tidak bisa dipisahkan dengan hormon testosteron. Hormon estrogen biosintesisnya berasal dari hormon testosteron melalui mekanisme aromatisasi oleh enzim P450 aromatase di dalam sel granulosa ovarium yang dihasilkan gen CYP19 mRNA.<sup>9</sup> Hormon tiroid berperan pada transkripsi gen, berpengaruh apabila kadar hormon tiroid khususnya T3 rendah.<sup>10</sup> Menurunnya sekresi estradiol dipengaruhi oleh kadar T3 yang rendah, hal ini diduga melalui penurunan ekspresi gen CYP19 mRNA di sel granulosa<sup>11</sup>. Hipotiroid menyebabkan gangguan pada reproduksi wanita melalui jalur aksis hipofise-ovarium dan jalur transkripsi gen di sel granulosa ovarium.

Untuk mengetahui mekanisme perubahan kadar hormon testosteron dan estrogen pada tikus yang menderita hipotiroid, maka tikus diinduksi dengan propylthiouracil (PTU). Pertanyaan penelitian ini adalah apakah ada perubahan kadar hormon testosteron dan estrogen pada tikus hipotiroid dengan induksi PTU? Penelitian ini bertujuan mengukur perubahan kadar hormon testosteron, estrogen, dan T4 bebas pada tikus hipotiroid dengan induksi PTU. Hipotesa dari penelitian ini adalah ada perubahan pada kadar estrogen dan testosteron

## METODE

Penelitian ini adalah eksperimen murni dengan rancangan *post-test only control group design*. Penelitian ini di-

laksanakan pada bulan Juni - Agustus 2011 di laboratorium Endokrinologi Bagian Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Penelitian ini menggunakan tikus jenis *Sprague dawley betina* berumur 2,5 bulan dengan berat badan rata-rata 111,1 gram. Banyaknya sampel penelitian ini 11 ekor tikus dikelompokkan secara random. Lima ekor tikus sebagai perlakuan diberi PTU pada air minum dengan kadar 0,1 g/L selama 30 hari sampai terjadi hipotiroid dan 6 ekor tikus digunakan sebagai kontrol diberi makanan dan air minum biasa.<sup>12</sup> Tikus diadaptasikan dengan lingkungan selama 7 hari untuk mendapatkan keseragaman kondisi. Kondisi kandang seimbang antara siang dan malam. Untuk menentukan tikus hipotiroid digunakan pengukuran kadar T4 bebas, dengan angka normal yaitu 5,27 - 17,34 pmol/L. Kadar T4 bebas, testosteron, dan estrogen diukur dengan menggunakan teknik ELISA di laboratorium Balai Litbang GAKI Magelang. Darah diambil dari pembuluh darah di sinus orbitalis tikus sebanyak 2 ml dengan menggunakan tabung mikro hematokrit yang sebelumnya dianestesi dengan ketamin HCL. Darah disimpan dalam *cool box*. Darah dipusingkan dengan kecepatan 3000 rpm (*rounds per minutes*) selama 10 menit. Serum diambil, disimpan dalam lemari es pada suhu 2-8° C dan selanjutnya diperiksa kadar hormon T4 bebas, testosteron, dan estrogen.

Data kadar testosteron, estrogen, dan T4 bebas antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol diuji dengan uji t tidak berpasangan. Untuk mengetahui distribusi data dilakukan uji normalitas dengan uji Saphiro-Wilk.

## HASIL

### Kadar T4 bebas

Hasil pengukuran kadar T4 bebas menunjukkan bahwa rata-rata kadar T4 bebas pada kelompok kontrol ( $8,1 \pm 1,6$  pmol/L) lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan ( $4,0 \pm$

$0,4$  pmol/L) seperti terlihat pada Tabel. Analisis statistik menunjukkan ada beda bermakna antara kedua kelompok dengan nilai  $p < 0,05$ . Uji normalitas data kadar T4 bebas dengan *uji Saphiro-Wilk* menunjukkan data terdistribusi normal ( $p > 0,05$ ).

**Tabel.** Kadar T4 bebas (mean  $\pm$  SEM) Tikus Kelompok Kontrol dan Perlakuan

Kelompok	Kadar T4 bebas (pmol/L)	p	Kadar testosteron serum (pg/dL)	p	Kadar estrogen serum (pg/dL)	p
Kontrol (n=6)	$8,1 \pm 1,6$	0,001	$0,72 \pm 0,1$	0,20	$12,6 \pm 3,9$	0,35
Perlakuan (n=5)	$4,0 \pm 0,4$		$0,66 \pm 0,1$		$9,4 \pm 6,2$	

### Kadar Testosteron

Hasil pengukuran kadar testosteron menunjukkan bahwa rata-rata kadar testosteron pada kelompok kontrol ( $0,72 \pm 0,1$  pg/dL) lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan ( $0,66 \pm 0,1$  pg/dL), tetapi secara statistik tidak berbeda bermakna (lihat Tabel). Analisis statistik menunjukkan tidak beda bermakna antara kedua kelompok dengan nilai  $p > 0,05$ . Uji normalitas data kadar testosteron dengan *uji Saphiro-Wilk* menunjukkan data terdistribusi normal ( $p > 0,05$ ).

### Kadar Estrogen

Hasil pengukuran kadar estrogen serum menunjukkan bahwa rata-rata kadar estrogen pada kelompok kontrol ( $12,6 \pm 3,9$  pg/dL) lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan ( $9,4 \pm 6,2$  pg/dL) (lihat Tabel). Analisis statistik menunjukkan tidak beda bermakna antara kedua kelompok dengan nilai  $p > 0,05$ . Uji normalitas data

kadar estrogen dengan *uji Saphiro-Wilk* menunjukkan data terdistribusi normal ( $p > 0,05$ ).

## PEMBAHASAN

### Kadar T4 bebas

Pada penelitian ini kelompok perlakuan 5 ekor tikus sudah menjadi hipotiroid. Menurut protokol Hapon *et al.* (2003) bahwa pemberian PTU dengan kadar  $0,1$  g/L dalam air minum selama 30 hari, dapat menjadikan tikus hipotiroid.<sup>12</sup> Kadar T4 bebas kelima tikus tersebut  $4,0 \pm 0,4$  di bawah normal ( $5,27-17,34$  pmol/L). Hal ini sesuai dengan penelitian ini kadar T4 bebas pada kelompok perlakuan lebih rendah dibanding kelompok kontrol. Kerja PTU menghambat *enzim tiroperoksidase* yang normalnya beraksi pada sintesis hormon tiroid dengan oksidasi anion iodida ( $I^-$ ) menjadi iodium ( $I^0$ ), memfasilitasi penambahan iodium menjadi tiroksin residu pada prekursor hormon tiroglobulin.<sup>13</sup>

### **Kadar Testosteron**

Pada penelitian ini tidak ada perubahan kadar testosteron pada kelompok perlakuan (hipotiroid) dan kelompok kontrol (eutiroid) ( $p > 0,05$ ) (lihat Tabel). Menurut Drummond (2006) bahwa testosteron akan menurunkan jumlah folikel primordial dan menambah jumlah folikel pada stadium perkembangan selanjutnya, hal ini mengindikasikan bahwa testosteron dapat berfungsi pada perkembangan folikular.<sup>14</sup> Tidak adanya perubahan kadar testosteron pada penelitian ini kemungkinan testosteron sudah digunakan untuk merangsang perkembangan folikular dan atau sudah diubah menjadi estrogen karena proses aromatisasi sendiri belum terhambat oleh keadaan hipotiroid yang masih ringan. Menurut Drummond (2006) bahwa pada awalnya kapasitas folikel mensintesis estrogen terjadi di akhir stadium preantral ketika sudah ada komponen dua sel, yang disebut *two gonadotrophins' model*. Meskipun di folikel antral yang kecil, produksi estrogen pada stadium perkembangan ini diperoleh dari produksi androgen oleh folikel tersebut dan dikonversi menjadi estrogen oleh aromatase. Perkembangan selanjutnya pada stadium antral kecil terjadi peningkatan aktivitas aromatase dan sintesis androgen, produk estrogen mencapai puncaknya pada stadium folikular preovulatori yang dipengaruhi oleh jumlah dan ukuran sel granulosa dan kapasitas aromatisasi androgen.<sup>14</sup>

Dengan adanya umpan balik negatif hipotiroid, TRH dapat menstimulasi TSH dan *gonadotropin*, sehingga kadar FSH dan LH dapat normal atau meningkat.<sup>15</sup> Penelitian Dias (2001) mendapatkan bahwa hipotiroid dengan induksi

PTU 0,05% dalam air minum selama 60 hari belum mampu memblokir sekresi dan aksi dari *gonadotropin* (FSH dan LH) sehingga keadaannya masih normal.<sup>16</sup> Pada penelitian ini dengan pemberian PTU 0,1 g/L selama 30 hari kemungkinan kadar LH dan FSH masih normal seperti pada penelitian Dias (2001), sehingga hasil yang diperoleh kadar testosteron serum pada hewan perlakuan (hipotiroid) sama dengan hewan kontrol (eutiroid). Pada penelitian ini kadar hormon FSH dan LH tidak diukur.

### **Kadar Estrogen**

Kadar estrogen serum tikus perlakuan (hipotiroid) tidak berbeda dengan kontrol (eutiroid) ( $p > 0,05$ ) (lihat Tabel). Estrogen serum tidak menggambarkan kadar estrogen ovarium. Estrogen serum sebagian besar berasal dari estrogen ovarium, selain itu juga berasal dari jaringan lain misalnya lemak, hati, adrenal, otot, dan otak.<sup>17</sup> Kadar estrogen serum belum menurun kemungkinan disebabkan ada pengaruh dari organ-organ lain yang juga mensekresi estrogen.

Kadar estrogen dipengaruhi beberapa faktor selain aromatisasi antara lain adalah kadar testosteron, sel-sel granulosa, kadar FSH.<sup>9</sup> Apabila ada perubahan pada salah satu faktor maka belum tentu ada perubahan pada kadar estrogen, sehingga perlu dilihat faktor-faktor lainnya. Hormon estrogen merangsang perkembangan dan pertumbuhan sel-sel granulosa terkait aktivitas biosintesisnya sehingga hanya sedikit hormon yang tersimpan dalam sel-sel granulosa.<sup>18</sup> Jadi pada waktu dilakukan pengukuran, hormon estrogen sudah beraktivitas pada sel-sel granulosa dan kadarnya akan berbeda seiring berubahnya waktu.

Pada penelitian ini estrogen serum belum menurun dimungkinkan juga karena pemberian PTU kurang lama sehingga hipotiroid yang terjadi masih tahap hipotiroid ringan. Pada hipotiroid yang kadar T4 bebas sudah menurun dapat juga kadar T3 bebas masih normal, hal ini disebabkan T4 akan diubah menjadi T3 seiring dengan penurunan kadar T4.<sup>19</sup> Hormon T3 lebih aktif dibanding hormon T4 dan T4 berfungsi sebagai cadangan sebelum diubah menjadi T3. Hormon T3 mengatur fungsi perkembangan dan fisiologis pada tingkat selular, yaitu mengontrol metabolisme, proliferasi dan diferensiasi ataupun apoptosis sel. Hormon T3 sebagian besar mempengaruhi transkripsi gen dengan cara berikatan dengan reseptor hormon tiroid yang terdapat dalam inti sel.<sup>10</sup>

Hasil pada penelitian ini sesuai dengan penelitian Dias (2001) bahwa tikus yang diberi PTU 0,05% selama 60 hari kadar *estradiol* turun tetapi secara statistik tidak beda bermakna dibandingkan kontrol.<sup>16</sup> Penelitian Hapon (2003) yang menggunakan tikus Wistar diberikan PTU 0,1 g/L dalam air minum selama 30 hari kadar *estradiol* serum belum menurun namun setelah diteruskan sampai hari ke-50 kadar *estradiol* serum menurun.<sup>12</sup>

Perbedaan dari penelitian Dias (2001) dan Hapon (2003) dengan penelitian ini berbeda dalam hal dosis PTU dan lamanya pemberian yaitu dosis PTU 0,1 g/L selama 30 hari, sedangkan penelitian Dias (2001) dosis PTU 0,05% diberikan selama 60 hari dan penelitian Hapon (2003) dosis PTU 0,1 g/L diberikan selama 50 hari.

## KESIMPULAN

Kadar estrogen tikus *Sprague dawley* betina hipotiroid dengan induksi propylthiouracil 0,1 g/L selama 30 hari lebih rendah dibandingkan dengan kontrol tetapi secara statistik tidak berbeda bermakna. Sedangkan kadar testosteron tikus perlakuan menunjukkan tidak berbeda dibandingkan dengan kontrol.

## SARAN

Perlu pemeriksaan kadar hormon LH, FSH, dan T3 untuk mengetahui pengaruhnya terhadap hormon estrogen dan testosteron. Dilakukan penelitian lebih lanjut dengan waktu lebih lama agar perubahan hormonal sudah benar-benar terjadi.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Kami panjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT atas karunianya. Kami ucapkan terima kasih kepada Kepala BP2GAKI Magelang dan Kepala Laboratorium Ilmu Faal FK UGM serta seluruh anggota tim penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Tengah. *Kebijakan Program Penanggulangan Gangguan Akibat Kekurangan Yodium Provinsi Jawa Tengah*. 2008. Diunduh dari [http://www.slideshare.net/lowo\\_ijo/gakydinkes#btnLast](http://www.slideshare.net/lowo_ijo/gakydinkes#btnLast), tanggal 28 Agustus 2013.
2. Indonesia, Ministry of Health. *Technical Assistance for Evaluation on Intensified Iodine Deficiency Control Project*. Jakarta: Directorate General of Community Health, Directorate of Community Nutrition; 2003.

3. Indonesia, Departemen Kesehatan RI. *Laporan Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2007*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan; 2008.
4. Davey P. *At a Glance Medicine Patrick Davey*. Jakarta: EMS; 2006.
5. Chang AY and Auchus RJ, *Endocrine Disturbances Affecting Reproduction*. In: S.S.C., Yen, R.B. Jafee (Ed.): *Reproductive Endocrinology Physiology, Pathophysiology and Clinical Management*, Philadelphia: Saunders; 2009. p. 561-75.
6. Sathyapalan T, Manuchehri AM, Thatcher NJ, Rigby AS, Chapman T, Eric S. *et al*. The Effect of Soy Phytoestrogen Supplementation on Thyroid Status and Cardiovascular Risk Markers in Patients with Subclinical Hypothyroidism: A Randomized, Double-Blind, Crossover Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011; 96(5):1442-9.
7. Tohei A. Studies on The Functional Relationship between Thyroid, Adrenal and Gonadal Hormone. *J. Reprod Dev*. 2004; 50: 9-20.
8. Poppe K and Velkeniers B. Female Infertility and The Thyroid. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2004; 18(2):153-65.
9. Jin JL, Sun J, Ge HJ, Cao YX, Wu XK, Liang FJ, *et al*. Association between CYP19gene SNP rs2414096 Polymorphism and Polycystic Ovary Syndrome in Chinese Women. *BMC Med Genet*. 2009; 10: 139: 1-5.
10. Bilesimo P, Jolivet P, Alfama G, Buisine N, Le Mevel S, Havis E, *et al*. Specific Histone Lysine 4 Methylation Patterns Define TR-binding Capacity and Differentiate Direct T3 Responses. *Mol Endocrinol*. 2011; 25(2): 225-37.
11. Hatsuta M, Tamura K, Shimizu Y, Toda K, Kogo H. Effect of Thyroid Hormone on CYP19 Expression in Varian Granulosa Cells from Gonadotropin-Treated Immature Rats. *J Pharmacol Sci*. 2004; 94: 420 -5.
12. Hapon MB, Simoncini M, Via G, Jahn GA. Effect of Hypothyroidism on Hormone Profiles in Virgin, Pregnant and Lactating Rats, and on Lactation. *Reproduction*. 2003; 126: 371-82.
13. Boron WF and Boulpaep EL. *Medical physiology, updated edition*. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005.
14. Drummond AE. The Role of Steroids in Follicular Growth. *Reprod Biol Endocrinol*. 2006; 10: 4-16.
15. Ryan GL, Feng X, D'Alva CB, Zhang M, Voorhis, BJV, Pinto EM, *et al*. Evaluating The Roles of Follicles-Stimulating Hormone Reseptor Polymorphisms in Gonadal Hyperstimulation Associated with Severe Juvenile Primary Hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007; 92: 2312-7.
16. Dias JA, Carvalho JJ, Breitenbach MMD, Franci, CR, Moura, EG. Is The Infertility in Hypothyroidism Mainly Due to Ovarian or Pituitary Functional Changes?. *Braz J Med Biol Res*. 2001; 34: 1209-15.
17. Simpson ER. Role Aromatse in Sex Steroid Action. *J Mol Endocrinol*. 2000; 25:149-56.

18. Goldfien Adan Monroe SE. Ovarium. In: F.S., Greenspan and J.D., Baxter (Ed.): *Endokrinologi dasar dan klinik*, Jakarta: EGC; 2000. p.545-612.
19. Pranoto A. Management Hyperthyroid and Hypothyroid. Thyroid Workshop-3. Surabaya: 10 Agustus 2008.