

## **Hubungan Kadar Hormon Estradiol 17- $\beta$ dan Tebal Endometrium Uterus Mencit (*Mus musculus* L.) selama Satu Siklus Estrus**

**Agung Janika Sitasiwi\***

*\*Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan Jurusan Biologi FMIPA UNDIP*

### **Abstract**

Research about animal reproduction can be observed from many aspects, i.e. oestrous cycle. The oestrous cycle is the manifestation of reproduction hormones changes, especially oestradiol 17- $\beta$ . The oestradiol 17- $\beta$  hormones causes changes of tissues structures of reproductive tracts. This research have been done to analyze the correlation between changes of oestradiol 17- $\beta$  hormones and uterine endometrial thickness along the oestrous cycles. The adult female Swiss Webster mice were used as laboratory animal. The phase of oestrous cycle determined by vaginal smears. Blood and uterine samples collected in each oestrous phases. Hormones concentration counted with RIA, the thickness of endometrial determined on uterine histological slides with paraffin methods and stained with HE. This search showed that a positive correlation between oestradiol 17- $\beta$  hormones and uterine endometrial thickness along the oestrous cycle. It also showed that oestradiol 17- $\beta$  hormones have a proliferative effects on reproductive tissues.

*Key words : oestrous cycle, oestradiol 17-  $\beta$  hormones, uterine endometrial*

### **Abstrak**

Pengamatan atau penelitian mengenai reproduksi hewan dapat dikaji dari berbagai aspek, satu diantaranya siklus estrus. Siklus estrus merupakan manifestasi dari perubahan kandungan hormon reproduksi, terutama estradiol 17- $\beta$ . Hormon estradiol 17- $\beta$  menyebabkan perubahan struktur jaringan penyusun saluran reproduksi, termasuk lapisan endometrium uterus. Penelitian ini dilakukan untuk menganalisis hubungan antara perubahan kandungan hormon estradiol 17- $\beta$  dan tebal endometrium uterus mencit selama satu siklus estrus. Mencit Swiss Webster betina dewasa digunakan sebagai hewan uji. Penentuan siklus estrus dilakukan dengan mengamati hasil apusan vagina. Sampel darah dan uterus diambil pada setiap fase penyusun siklus estrus. Pengukuran kadar hormon dilakukan dengan metoda RIA, sedangkan tebal endometrium ditentukan pada sayatan melintang sediaan histologis uterus dengan metoda parafin dan pewarnaan HE. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hubungan terdapat hubungan positif antara kadar hormon estradiol 17 $\beta$  dengan ketebalan endometrium uterus selama satu siklus estrus. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa estradiol 17- $\beta$  memiliki efek proliferasi pada jaringan penyusun saluran reproduksi.

*Kata kunci : siklus estrus, estradiol 17-  $\beta$ , endometrium*

### **PENDAHULUAN**

Pengetahuan mengenai reproduksi secara menyeluruh dan mendalam merupakan modal untuk pengaturan fertilitas. Hal tersebut disebabkan karena secara alami hewan berpotensi menjadi

hama atau bahkan punah oleh tekanan populasi hewan yang lain. Pengamatan atau penelitian mengenai reproduksi hewan dapat dikaji dari berbagai aspek, satu diantaranya adalah dari keteraturan hewan betina untuk mengalami periode reseptif terhadap hewan

jantan. Periode tersebut dikenal sebagai periode estrus.

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 (Taylor, 1994). Siklus ini dapat dengan mudah diamati dengan melihat perubahan sel-sel penyusun lapisan epitel vagina yang dapat dideteksi dengan metode apus vagina pewarnaan Giemsa (Brancroft and Steven, 1996). Hasil apus vagina menunjukkan hasil yang bervariasi sepanjang siklus estrus, terdiri dari sel epitel berinti, sel epitel yang mengalami kornifikasi, leukosit serta adanya lendir (Johnson and Everitt, 1988; Taylor, 1994).

Fase proestrus ditandai dengan sel epitel yang berbentuk oval, berwarna biru dengan inti sel berwarna merah muda pada hasil apus vagina. Hasil apus vagina pada fase estrus ditandai dengan sel-sel epitel yang mengalami penandukan (kornifikasi), tanpa inti dan berwarna pucat. Fase metestrus ditandai dengan hasil apus vagina berupa sel epitel terkornifikasi dan

keberadaan leukosit. Hasil apus vagina fase diestrus menunjukkan sel epitel berinti, leukosit serta adanya lendir (Taylor, 1994). Perubahan struktur epitel penyusun dinding vagina merupakan hasil regulasi hormon reproduksi yang terjadi selama satu siklus estrus, terutama hormon estrogen (Johnson and Everitt, 1988).

Estrogen merupakan salah satu hormon reproduksi pada hewan betina. Hormon ini terutama disekresi oleh sel-sel granulosa penyusun folikel ovarium. Struktur hormon estrogen tersusun atas 18 atom C, gugus -OH fenolik pada C-3, sifat aromatik cincin A dan tidak mempunyai gugus metil pada C-10 (Dellman dan Brown, 1992). Bentuk hormon estrogen dalam tubuh hewan betina berupa estradiol 17- $\beta$ , estron dan estriol, namun yang paling poten dan dijumpai dengan jumlah yang cukup tinggi dan paling poten dalam tubuh adalah estradiol 17- $\beta$  (Johnson and Everitt, 1988; Hiller, 1995; Ganong, 2003).

Estrogen dibentuk oleh sel-sel granulosa dalam folikel ovarium melalui serangkaian konversi melalui reaksi enzimatis. Substrat utama pembentuk estrogen adalah kolesterol. Kolesterol secara berurutan mengalami perubahan menjadi pregnenolon, progesteron, 17 $\alpha$ -hidroksi progesteron, androstenedion dan testoteron. Androstenedion kemudian diubah menjadi estron, sedangkan testoteron diubah menjadi estradiol 17- $\beta$ , baik di sel teka maupun sel granulosa pada folikel ovarium. Sintesis

hormon estrogen akan meningkat seiring dengan perkembangan folikel dalam ovarium (Johnson and Everitt, 1988; Hiller, 1995; Ganong, 2003).

Fluktuasi hormon estradiol 17- $\beta$  selama satu siklus estrus sejalan dengan perkembangan folikel dalam ovarium. Saat perkembangan folikel (fase folikular) hormon ini mengalami kenaikan secara bertahap, seiring perkembangan folikel primer menjadi folikel tersier. Puncak sekresi hormon estradiol terjadi sebelum terjadi ovulasi. Setelah terjadi ovulasi dan terbentuk korpus luteum pada ovarium (fase luteal), hormon ini mengalami penurunan secara bertahap sampai akhir fase luteal (Johnson and Everitt, 1988; Chateu and Boehm, 1995).

Estrogen merupakan hormon seks steroid yang berperan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan seksual sekunder betina, seperti kelenjar mammae dan organ reproduksi yang lain. Pengaruh estrogen dalam jaringan reproduksi, terutama memacu proliferasi sel. Aksi estrogen dalam jaringan atau sel target, membutuhkan reseptor estrogen yang dikendalikan oleh gen pada kromosom (Johnson and Everitt, 1988; Ganong, 2003).

Aktivitas estrogen di dalam sel dimulai setelah terjadi ikatan estrogen dengan reseptor di dalam sitosol. Kompleks estrogen dan reseptor selanjutnya berdifusi ke dalam inti sel dan melekat pada DNA. Ikatan kompleks estrogen-reseptor dengan

DNA menginduksi sintesis dan ekspresi mRNA berupa sintesis protein sehingga meningkatkan aktivitas sel target, yang ditunjukkan dengan terjadinya proliferasi sel (Johnson and Everitt, 1988; Hiller, 1995; Ganong, 2003; Campbell *et al.*, 2004).

Uterus merupakan salah satu organ reproduksi betina yang berfungsi sebagai penerima dan tempat perkembangan ovum yang telah dibuahi. Uterus pada mencit berupa tabung ganda, disebut tipe dupleks (Partodihardjo, 1988). Dinding uterus terdiri dari tiga lapisan utama, yaitu lapisan endometrium, miometrium dan perimetrium (Burkitt *et al.*, 1993). Lapisan endometrium merupakan lapisan yang responsif terhadap perubahan hormon reproduksi, sehingga perubahan lapisan ini bervariasi sepanjang siklus estrus dan dapat dijadikan indikator terjadinya fluktuasi hormon yang sedang terjadi pada hewan tersebut (Johnson and Everitt, 1988; Dellman and Brown, 1992).

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis hubungan antara perubahan hormon estradiol 17- $\beta$  dan tebal endometrium uterus mencit (*Mus musculus* L.) selama satu siklus estrus. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan dasar untuk pengaturan reproduksi pada rodentia umumnya.

## **METODOLOGI**

### **Hewan Uji**

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit betina dewasa

strain Swiss Webster, sebanyak 16 ekor, berumur 35 hari, dengan berat 25 – 30 gram. Hewan uji dipelihara dalam kandang individu terbuat dari plastik dengan atap berupa ram kawat. Pakan dan minum hewan uji diberikan secara *ad libitum*. Pakan hewan uji berupa pellet BR2 sedangkan air minum berupa air PAM. Pemeliharaan hewan uji dilakukan pada laboratorium dengan kondisi yang terkontrol dan konstan.

#### **Pengamatan Siklus Estrus**

Siklus estrus ditentukan dengan melihat hasil apus vagina dan pewarnaan GIEMSA, sesuai metoda Bancroft and Steven (1996). Sampel apus vagina diambil setiap hari sekitar jam 10 pagi. Penentuan fase penyusun siklus estrus dilakukan dengan melihat perbandingan sel epitel berinti, sel epitel menanduk (kornifikasi), leukosit dan lendir, pada hasil apus vagina.

#### **Pengambilan dan Pengukuran Sampel Hormon**

Sampel darah untuk pengukuran hormon estradiol 17- $\beta$  diambil pada setiap fase penyusun siklus estrus. Masing-masing dengan 4 kali ulangan. Sampel darah diambil langsung dari jantung, sesuai metoda Oduma *et al.* (1995). Pengukuran kandungan hormon dilakukan dengan metode RIA (*Radio Immuno Assay*).

Pengukuran kandungan hormon menggunakan Kit Coat A Count untuk Estrogen produksi DPC.

#### **Penentuan Tebal Endometrium Uterus**

Sampel uterus diambil pada setiap fase penyusun siklus estrus, menggunakan hewan yang diambil sampel darahnya untuk pengukuran hormon. Uterus dibuat sediaan histologis dengan pewarnaan HE dengan ketebalan 6  $\mu$ . Penentuan tebal endometrium dilakukan dengan menghitung rerata dari endometrium dengan ukuran tebal tertinggi dan terendah pada setiap sayatan uterus sampel. Pengamatan dan pengukuran dilakukan pada setiap 5 sayatan uterus pada setiap fase penyusun siklus estrus.

#### **Analisa Data**

Data yang diperoleh ditabulasikan dan dilakukan uji homogenitas serta normalitas. Selanjutnya dilakukan analisa dengan uji korelasi menggunakan SPSS versi 12.0.

#### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil pengukuran kandungan hormon dan ukuran tebal endometrium uterus mencit selama satu siklus estrus disajikan pada tabel 01.

Tabel 01. Hubungan antara kadar estradiol 17- $\beta$  dan tebal endometrium uterus mencit selama satu siklus sestrus

	Fase Siklus Estrus			
	DE	PE	E	ME
<b>Kadar Hormon Estradiol 17-<math>\beta</math> (pg/mL)</b>	<b>8,2 <math>\pm</math> 0,25</b>	<b>38,4 <math>\pm</math> 6,16</b>	<b>26,5 <math>\pm</math> 1,89</b>	<b>8,43 <math>\pm</math> 1,89</b>
<b>Tebal Endometrium (<math>\mu</math>)</b>	<b>177,16 <math>\pm</math> 5,62</b>	<b>351,28 <math>\pm</math> 12,7</b>	<b>307,13 <math>\pm</math> 15,02</b>	<b>295,61 <math>\pm</math> 3,57</b>
<b>Nilai Hubungan (r)</b>	<b>0,694</b>	<b>0,947</b>	<b>0,472</b>	<b>0,343</b>

Kandungan hormon Estradiol 17- $\beta$  sepanjang siklus estrus menunjukkan perubahan yang berjalan seiring dengan dicapainya perubahan fase dalam siklus estrus. Fase folikular yaitu fase diestrus sampai fase proestrus ditandai dengan kenaikan hormon estradiol. Kandungan hormon saat fase diestrus mencapai 8,2 pg/mL sedangkan pada fase proestrus mencapai 38,4 pg/mL. Fase luteal, yaitu fase estrus dan metestrus ditandai dengan kandungan hormon yang menunjukkan penurunan, yaitu 26,5 pg/mL dan 8,43 pg/mL.

Hasil penelitian ini menunjukkan pola fluktuasi yang relatif sama dengan hasil penelitian Chateu dan Boehm (1995) yang dilakukan pada tikus. Kandungan hormon estradiol pada tikus selama fase proestrus dan estrus masing-masing 45 pg/mL dan 15 pg/mL. Perbedaan angka hasil pengukuran ini kemungkinan disebabkan karena perbedaan titik pengamatan. Hal tersebut dapat terjadi karena fase penyusun siklus

estrus pada fase folikular berlangsung singkat (Taylor, 1994) sehingga perbedaan waktu pengamatan yang relatif kecil memungkinkan hasil pengukuran yang berbeda.

Hasil penelitian Chateu dan Boehm (1995) pada fase metestrus dan diestrus relatif sama dengan hasil penelitian ini, yaitu berkisar 6 – 8 pg/mL. Hal ini dapat terjadi karena fase metestrus dan diestrus berlangsung relatif lama, dari beberapa jam sampai beberapa hari, sehingga perbedaan titik pengamatan relatif tidak menunjukkan perbedaan hasil yang nyata.

Hasil pengukuran kandungan hormon pada penelitian ini dalam fase estrus kandungan hormon menunjukkan hasil yang lebih rendah dari fase proestrus. Secara teori fase estrus awal merupakan fase yang memiliki kandungan hormon Estradiol 17- $\beta$  paling tinggi. Hal ini dapat terjadi karena penentuan fase penyusun siklus estrus dilakukan dengan melihat hasil apus vagina. Perubahan hasil apus vagina merupakan

hasil regulasi hormon, sehingga perubahan terjadi setelah terjadi perubahan kandungan hormon (Johnson dan Everitt, 1988; Cooke *et al.*, 1995; Hillisch, 2004). Pengambilan sampel hormon pada penelitian ini dilakukan setelah mengamati hasil apusan vagina, pada saat tersebut hewan sudah memasuki fase estrus akhir sehingga menyebabkan hormon yang terukur dipastikan telah mengalami penurunan.

Uterus merupakan organ reproduksi yang memiliki reseptor estrogen (Johnson dan Everitt, 1988; Cooke *et al.*, 1995; Haibin, 2005) sehingga perubahan yang terjadi pada lapisan penyusun dinding uterus merupakan hasil regulasi hormon, terutama hormon estradiol. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ukuran tebal endometrium uterus saat fase folikular berjalan seiring dengan kenaikan hormon estradiol, semakin tebal pada fase proestrus. Namun, saat fase estrus dan metestrus ukuran endometrium tetap tebal walaupun kandungan hormon estrogen telah turun.

Penyusun lapisan endometrium uterus adalah selapis epitel kolumnar dan lamina propia yang terdiri dari jaringan ikat dan kelenjar (Johnson dan Everitt, 1988; Burkitt *et al.*, 1999). Kelenjar uterus di dalam endometrium merupakan kelenjar tubular sederhana yang mengalami perubahan sepanjang siklus estrus. Aksi hormon estradiol sepanjang fase folikular menyebabkan proliferasi lapisan

endometrium, termasuk kelenjar endometrial (Johnson dan Everitt, 1988; Chateu and Boehm, 1995; Cooke *et al.*, 1995).

Nilai hubungan antara estradiol dan tebal endometrium uterus ditunjukkan dengan adanya nilai yang positif. Nilai hubungan yang positif menggambarkan bahwa perubahan ukuran tebal endometrium merupakan hasil regulasi perubahan hormon Estradiol 17- $\beta$ .

Nilai *r*, yang menyatakan hubungan kandungan hormon dengan ukuran tebal endometrium uterus, pada fase diestrus menunjukkan nilai sebesar 0,694. Hal tersebut menggambarkan bahwa sintesis dan sekresi hormon Estradiol 17- $\beta$  mulai terjadi pada fase ini, meskipun terjadi dengan laju yang relatif kecil. Kenaikan hormon Estradiol 17- $\beta$  mengakibatkan kenaikan ukuran tebal endometrium uterus.

Nilai *r* pada fase proestrus menunjukkan nilai yang besar yaitu 0,947. Hal ini menunjukkan bahwa sintesis dan sekresi hormon Estradiol 17- $\beta$  sudah berlangsung dengan laju yang cukup tinggi. Kenaikan hormon Estradiol 17- $\beta$  menyebabkan ukuran tebal endometrium uterus mencapai maksimal, dibandingkan dengan fase siklus estrus yang lain.

Fase estrus dan metestrus menunjukkan nilai *r* yang relatif rendah dibandingkan fase siklus estrus yang lain, yaitu 0,472 dan 0,343. Nilai yang relatif

sama pada kedua fase tersebut menunjukkan bahwa pada kedua fase tersebut sudah tidak terjadi lagi kenaikan sintesis dan sekresi hormon Estradiol 17-β.

Kandungan hormon Estradiol 17-β pada fase estrus ke metestrus pada penelitian ini menunjukkan penurunan, tetapi tebal endometrium uterus tidak lagi mengalami perubahan ukuran. Hal tersebut dapat terjadi karena estrogen menyebabkan proliferasi sel, sehingga jika hormon Estradiol 17-β tidak mengalami kenaikan maka tidak terjadi kenaikan ukuran tebal endometrium uterus.

Ukuran tebal endometrium uterus pada fase estrus dan metestrus menunjukkan penurunan yang relatif kecil dan berbeda tidak bermakna dibandingkan fase proestrus. Hal tersebut dapat terjadi karena pada kedua fase tersebut merupakan penyusun dari fase luteal. Saat memasuki fase luteal (akhir fase folikular), kelenjar pada endometrium uterus diregulasi oleh hormon progesteron. Aksi hormon progesteron pada jaringan menyebabkan aktivitas sekresi sel, sehingga pada fase luteal kelenjar endometrial mengalami peningkatan aktifitas sekresi (Johnson dan Everitt, 1988; Chateu and Boehm, 1995; Cooke *et al.*, 1995; Haibin, 2005). Kelenjar endometrial yang aktif sekresi menyebabkan endometrium uterus tetap tebal walaupun kadar hormon estrogen telah menurun, seperti tampak pada hasil penelitian ini.

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya hubungan yang positif antara kandungan hormon Estradiol 17-β dengan ukuran tebal endometrium uterus sehingga dapat disimpulkan bahwa hormon Estradiol 17-β menyebabkan proliferasi jaringan penyusun lapisan endometrium uterus.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Brancroft, J.D. dan A. Stevens. 1999. *Theory and Practise of Histological Techniques*. Fourth Ed. Churchill Livingstone. Edinburg.
- Burkitt, H.G., B. Young dan J.W. Heath. 1999. *Wheaters Functional Histology. A Text and Colour Atlas*. Third Ed. Churchill Livingstone. Edinburg.
- Campbell, N.A., J.B. Reece, L.G. Mitchell and M.R. Taylor, 2003. *Biology. Concept and Connections*. Forth Edition. Benjamin Cummings. San Francisco.
- Chateu, D and E.M. Brwon. 1995. Regulation of Differentiation and Keratin 10 Expression by All-trans Retinoic Acid during Estrous Cycle in the Rat Vaginal Epithelium. *Cell and Tissue Research* 284 : 373 – 381.
- Cooke, P.L., D.L. Buchanan, D.B. Lubchan dan G.R. Cunha. 1995. Mechanism of estrogen action : lessons from the estrogen receptor-α knockout Mouse. *Biol. Reprod.* 59 : 470 – 475.
- Dellmann, H.D. and E.M. Brown, 1992. *Buku Teks Histologi Veteriner II*. Third Edition. Alih bahasa : R. Hartono. Penerbit UI. Jakarta

- Ganong, W.F. 2003. Review of Medical Physiology. International Edition. Mc Graw Hill Book. San Francisco.
- Haibin, W., T. Sussane, X. Huirong, H. Gregory, K.D. Sanjoy and K.D. Sudhansu, 2005. Variation in Commercial Rodent Diets Induces Disparate Molecular and Physiological Changes in The Mouse Uterus. PNAS 28 (102) : 9960 – 9965.
- Hiller, S.G., 1991. Ovarian Endocrinology. Blackwell Sci. Publ. London
- Hillisch, A. O. Peter, D. Kosemund, G. Muller, A. Waller, B. Schneider, G. Reddersen, W. Eiger dan K.H. Fritzemeier. 2004. Dissecting Physiological Roles on Estrogen  $\alpha$  and  $\beta$  Potent Selective Ligands from Structure-Based Design. <http://www.ehpoline.org/realfiles/2004/6848/6848.html>. 26 Maret 2007.
- Johnson, M.H. dan B.J. Everitt, 1988. Essential Reproduction. Third Edition. Blackwell Sci. publ. London.
- Oduma, J.A., E.O. Wango, D.O. Okulo, D.W. Mawakitri, W. Odongo, 1995. In vivo and in vitro effect of graded doses of the pesticide heptachlor on female sex steroid hormone production in rats. Comp. Biochem. Physiol. 111 (2) : 191 – 196.
- Partodihardjo, S. 1980. Ilmu Reproduksi Hewan. Mutiara. Jakarta.
- Taylor, Pamela. 1994. Practical Teratology. WB Saunders Co. London.