

615.36
sit
h e.1



Nomor Kontrak : 015/DCRG/URGE/2000

Laporan Akhir Penelitian DCRG

- I. HUBUNGAN PERUBAHAN KANDUNGAN HORMON REPRODUKSI DENGAN RESPONS ORGAN PENYUSUN SALURAN REPRODUKSI PADA *Petaurus breviceps papuanus* dan *R. rattus diardli* SELAMA SATU SIKLUS ESTRUS

- II. PENGARUH MANGOSTIN TERHADAP KORNIFIKASI VAGINA MENCIT (*Mus musculus*) SWISS WEBSTER

Peneliti :

Dra. Agung Janika Sitasiwi, MSi.

Dra. Enny Yusuf WY, MP

Perguruan Tinggi Asal : Universitas Diponegoro

Host Institusi : Institut Teknologi Bandung

**DOMESTIC COLLABORATIVE RESEARCH GRANT
PROYEK PENELITIAN UNTUK PENGEMBANGAN PASCASARJANA/URGE**

DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI

DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL

2000/2001

**LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN HASIL PENELITIAN
PROGRAM DOMESTIC COLLABORATIVE RESEARCH GRANT
PROYEK PENELITIAN UNTUK PENGEMBANGAN
PASCASARJANA/URGE**

A. Judul Penelitian :

- I. Hubungan perubahan kandungan hormon reproduksi dengan respons organ penyusun saluran reproduksi pada *Petaurus breviceps papuanus* dan *R. rattus diardii* selama satu siklus estrus.
- II. Pengaruh mangostin terhadap kornifikasi epitel vagina mencit (*Mus musculus*)

B. Tim Peneliti :

Nama	Jenis Kelamin	Pangkat/Gol/ NIP	Bidang Keahlian	Fakultas/ Jurusan	Perguruan Tinggi
Dra. Agung Janika S, MSi	Perempuan	Asisten Ahli/ IIIb/131964514	Zoologi/ Reproduksi	MIPA/ Biologi	UNDIP
Dra. Enny Yusuf WY, MP	Perempuan	Lektor Muda/ IIIId/	Zoologi/ Fisiologi	MIPA/ Biologi	UNDIP

C. Pembimbing/Host Institusi : Dr. Lien A. Sutasurya, ITB
Dr. Anggraini Barlian, ITB

D. Pendanaan dan Jangka Waktu Penelitian

1. Jangka waktu penelitian di Host Institution : 4 bulan
 2. Jangka waktu penelitian di tempat asal : 6 bulan
- Biaya : Rp. 111.850.000,-

Mengetahui
Dekan Fakultas MIPA UNDIP

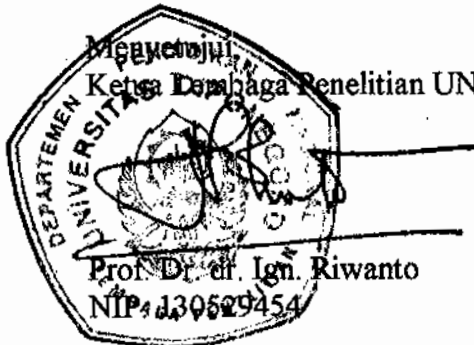


Dr. W. S. P. M. Eng., PhD.
NIP. 130807409

Peneliti

Dra. Agung Janika S, MSi
NIP. 131964514

Mengetahui
Ketua Lembaga Penelitian UNDIP



Prof. Dr. dr. Ign. Riwanto
NIP. 130629454

Pembimbing dari
Host Institution

Dr. Lien A. Sutasurya
NIP. 130611523

BAGIAN I : PROSES PELAKSANAAN PENELITIAN

PROSES PELAKSANAAN PENELITIAN

1. Efektifitas magang
 - Intensitas komunikasi dengan pembimbing : cukup sering, IX seminggu (terjadwal)
 - Kecukupan peralatan dan efektifitas pengguna : cukup mendukung (baik kualitas maupun kuantitas)
 - Efektifitas pelaksanaan kerja di lab & field work : sangat efektif.
2. Kontribusi magang terhadap kompetensi sebagai peneliti dan akademisi :
 - Mendapatkan pengetahuan mengenai metode penelitian yang relatif baru/belum pernah dilakukan di institusi asal.
 - Mendapatkan kemudahan dalam mengakses informasi melalui internet.
 - Mendapatkan kemudahan mendapatkan pustaka baik yang menunjang pelaksanaan penelitian maupun beberapa kegiatan perkuliahan di institusi asal.
3. Hambatan-hambatan yang terjadi dalam proses pelaksanaan.
 - Turunnya dana tidak sesuai jadwal sehingga menyulitkan pengaturan waktu.
 - Mundurnya jadwal menyebabkan kesulitan pengaturan/koordinasi dengan rekan kerja di institusi asal.
 - Waktu yang tersedia tidak/belum mendukung perolehan data yang maksimal untuk penelitian ini.
4. *Specific lessons learned*, saran-saran untuk Proyek URGE :
 - Ada kesatuan informasi dari DIKTI/Proyek URGE sehingga setiap stafnya dapat memberi informasi yang dibutuhkan peneliti untuk mengatasi masalah.
 - Ada kejelasan/kepastian pendanaan, baik yang harus dikeluarkan/dipakai di *host* institusi atau yang harus ditanggung oleh peneliti.
 - Tepat waktu dalam penurunan dana sehingga pelaksanaan penelitian tidak ada kemunduran/perubahan jadwal.

- Ada kelanjutan dari proyek yang sudah terlaksana, dengan arah sepenuhnya untuk pengembangan teknologi di institusi asal.

5. *Plan for action*

- Untuk pencapaian hasil penelitian yang maksimal, *critical mass* dapat dicapai dengan minimal 3 researcher, 2 orang dengan bidang reproduksi dan 1 orang dengan bidang fisiologi.
- Rencana pengembangan penelitian ini nantinya dilakukan dengan *recruitment* staf dengan bidang yang sama (reproduksi) yang saat ini sedang mengikuti pendidikan S₂ (terdapat 3 orang) sehingga 1 - 2 tahun mendatang dapat dikaji banyak aspek.

Penelitian yang berkaitan dan lebih "*advanced*"

- Mengkaji pola ekspresi gen yang terlibat dalam perubahan struktur jaringan penyusun saluran reproduksi hewan liar sehingga dapat dilakukan manipulasi untuk mengatur fertilitasnya, terutama yang berkaitan dengan implantasi embrio dan perkembangan kebuntingan hewan liar.
- Meneliti, mengidentifikasi serta mengisolasi agensia hormonal dan non-hormonal yang berperan dalam implantasi embrio dan perkembangan kebuntingan sebagai target kontrasepsi hewan liar, terutama yang berperan sebagai vektor penyakit bagi hewan dan manusia.
- Melakukan manipulasi gen yang berperan dalam perubahan struktur jaringan penyusun saluran reproduksi hewan liar sehingga dapat meningkatkan populasi hewan langka dan menekan populasi hama dalam waktu singkat, tanpa mengganggu populasi hewan yang lain.

BAGIAN II: LAPORAN PENELITIAN

I. Correlation between reproductive hormones content and reproductive organ response on *P. b. papuanus* and *R. rattus diardii* during one oestrus cycle

A.J. Sitaswi* & E.Y.W. Yuniwati*

ABSTRACT

Experiment to determine the correlation between reproductive hormones content and reproductive organ response on *P. b. papuanus* and *R. rattus diardii* during one oestrus cycle has been performed. Observation have been done on twenty five adult female *P. b. papuanus* and twelve *R. rattus diardii* from July 200 till February 2001. The oestrus cycle phases determined by making vaginal smears. Hormones (FSH, LH and P) content were determined by RIA while immunohistochemistry and immunoblotting using K10 antibody was performed to observe the response of reproductive organ which were characterised on vaginal epithelial cells. The results showed that the highest of *P. b. papuanus* FSH and LH content occurred during pro-oestrus and oestrus phase coincide with progressive cytokeratin expression on the vaginal epithelial cells while the highest of P content occurred in met-oestrus phase. The immunoblotting result showed that there was cytokeratin differences concentration of vaginal protein which sampled during pro-oestrus phase. In *R. rattus diardii*, the highest of FSH and LH content occurred in the oestrus and the highest of P content occurred in met-oestrus phase. It could be concluded that reproductive hormones content during oestrus phase in *P. b. papuanus* correlate with cytokeratin 10 expression.

II. Influence of mangostin on vaginal cornification of Swiss Webster mice (*Mus musculus*)

A.J. Sitaswi* & E.Y.W. Yuniwati*

ABSTRACT

The aim of this experiment was to study the influence of mangostin on the vaginal cornification of Swiss Webster mice. Six weeks old virgin mice were treated by mangostin dose 50 mg/kg bw subcutaneously. Mangostin was dissolved in peanut oil and injected for three consecutive days to pro-oestrus phase mice. Observation was performed on histological structure of vagina by immunohistochemistry with K10 antibody. The result showed that cytokeratin expression was reduced and the epithelial cells were more progressively shed on treated mice compared to control. It could be concluded that mangostin promote cornification on the vaginal epithelial cells of Swiss Webster mice.

* Dept. of Biology, Faculty of MIPA Diponegoro University

RINGKASAN

Telah dilakukan dua buah penelitian dengan judul "Hubungan perubahan kandungan hormon reproduksi dan respons organ reproduksi pada *P. breviceps papuanus* dan *R. rattus domesticus* selama satu siklus estrus" dan "Pengaruh mangostin terhadap kornifikasi epitel vagina mencit (*Mus musculus*) Swiss Webster". Penelitian ini dilakukan dari bulan Juli 2000 sampai Februari 2001.

Penelitian I menggunakan 27 ekor *P. breviceps papuanus* betina dewasa dan 12 ekor tikus rumah betina dewasa, dengan tujuan untuk mengetahui hubungan perubahan kandungan hormon reproduksi (FSH, LH dan P) serta respons organ reproduksi, yang ditunjukkan dengan ekspresi K10 pada jaringan epitel vagina. Penentuan siklus estrus *P. breviceps papuanus* dilakukan dengan metoda Sitasiwi & Sutasurya (2000) sedangkan pada *R. rattus domesticus* dilakukan dengan metoda Little & Snell (1941) dan Rugh (1963). Penentuan kandungan hormon reproduksi dilakukan dengan metode RIA sedangkan respons organ reproduksi dilakukan dengan immunohistokimia dan *immunoblotting* menggunakan antibodi K10 (DAKO). Sampel untuk pengukuran hormon diambil dari semua fase penyusun siklus estrus sedangkan sampel untuk immunohistokimia dan *immunoblotting* jaringan vagina *P. breviceps papuanus* diambil dari fase pro-estrus sampai fase estrus. Immunohistokimia dilakukan dengan terlebih dahulu membuat sediaan histologi dengan tebal sayatan 6 μ m sedangkan *immunoblotting* dilakukan dengan terlebih dahulu mengisolasi protein vagina pada fase proestrus dan melakukan *Western blotting* pada hasil elektroforesis protein vagina. Analisa data dilakukan dengan ANOVA dilanjutkan dengan uji Wilayah Berganda Duncan dan uji BNT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan hormon (FSH dan LH) pada *P. breviceps papuanus* mencapai maksimal pada fase proestrus dan estrus bersamaan dengan meningkatnya berat organ penyusun saluran reproduksi serta terekspresinya K10 pada sel-sel epitel penyusun jaringan vagina, sedangkan kandungan P maksimal dicapai pada fase met-estrus. Pada *R. rattus domesticus* kandungan hormon (FSH dan LH) dicapai bersamaan pada fase estrus sedangkan kandungan P mencapai maksimal pada fase

met-estrus. Dapat disimpulkan bahwa perubahan kandungan hormon reproduksi berkorelasi dengan ekspresi K10 pada sel-sel epitel penyusun jaringan vagina.

Penelitian II dilakukan dengan memberikan mangostin dengan dosis 50 mg/kgBB selama 3 hari berturut-turut pada mencit betina dewasa dara yang berada pada fase pro-estrus. Penentuan siklus estrus dilakukan dengan metode Rugh (1963). Sampel diambil pada hari pertama, kelima dan kesembilan setelah perlakuan berakhir. Terjadinya kornifikasi pada sel-sel penyusun epitel vagina diamati pada hasil immunohistokimia dengan antibodi K10. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol, hewan berada pada fase pro-estrus yang ditunjukkan dengan adanya lapisan epitel yang belum berproliferasi penuh dengan intensitas warna coklat (hasil deteksi immunohistokimia) yang kuat serta adanya sedikitnya lapisan epitel superfisial yang dilepaskan ke dalam lumen. Pada kelompok perlakuan, hewan berada pada fase estrus yang ditunjukkan dengan terjadinya proliferasi sel-sel epitel penyusun vagina dan adanya warna coklat yang lemah serta melimpahnya sel-sel superfisial yang dilepaskan ke dalam lumen. Dapat disimpulkan bahwa mangostin memacu terjadinya kornifikasi pada sel-sel epitel vagina mencit (*M. musculus*) Swiss Webster.

PRAKATA

Atas rahmat dan ridla Allah SWT penelitian dengan judul "Hubungan perubahan kandungan hormon reproduksi dengan respons organ reproduksi pada *P. breviceps papuanus* dan *R. rattus diardii* selama siklus estrus" dapat dilaksanakan. Penelitian ini dilakukan dengan sistim kolaborasi dari bulan Juli 2000 sampai Februari 2001, memungkinkan peneliti dari *proposer institution* mendapatkan banyak teknik dan metoda yang dikembangkan oleh *host institution*.

Dalam pelaksanaannya, penelitian ini menemui kendala utama yaitu keterlambatan penurunan dana yang berakibat pada perubahan jadwal pelaksanaan penelitian. Dengan demikian, tidak memungkinkan peneliti melaksanakan keharusan magang pada *host institution* sesuai dengan waktu yang ditetapkan proyek. Disamping itu, juga mengakibatkan beberapa kegiatan penelitian masih berjalan dan belum dapat disampaikan pada laporan ini. Namun, selama kegiatan magang di *host institution* telah dilakukan penelitian tambahan dengan judul "Pengaruh mangostin terhadap kornifikasi vagina mencit (*Mus musculus*) Swiss Webster".

Pada kesempatan ini kami sampaikan terima kasih kepada pengelola Proyek Penelitian untuk Pengembangan Pascasarjana/URGE No. 015/DCRG/URGE/2000 yang telah mendukung sepenuhnya pendanaan penelitian ini melalui proyek Domestic Collaborative Research Grant, sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

Ucapan terima kasih juga kami sampaikan kepada :

Rektor, Ketua Lembaga Penelitian, Dekan, Ketua Jurusan, Ketua Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Diponegoro, yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas yang kami perlukan untuk pelaksanaan penelitian.

Rektor, Ketua Lembaga Penelitian, Dekan, Ketua Jurusan, Ketua Laboratorium Biologi Sel dan Perkembangan Jurusan Biologi FMIPA ITB, atas

kerjasama, kesempatan dan fasilitas yang kami perlukan untuk melaksanakan sebagian kegiatan penelitian.

DR. Lien A. Sutasurya dan DR. Anggraini Barlian selaku *supervisor* atas sumbangan pemikiran dan penulisan, baik selama penyusunan proposal, pelaksanaan penelitian maupun penulisan laporan.

Ibu Ratnawati Kukuh dan mbak Natalia dari Puslitbang PPTN BATAN Bandung yang telah membantu dalam pelaksanaan sebagian kegiatan penelitian.

Semua pihak yang tak dapat kami sebutkan satu per satu.

Semoga Allah Yang Maha pengasih dan penyayang, membalas segala kebaikan yang kami terima dan menggantikannya dengan barokah yang tidak ada putusnya.

Meskipun belum sempurna, kami berharap hasil penelitian ini dapat melengkapi informasi dasar reproduksi hewan liar dan sumbangan pemikiran bagi dunia pendidikan.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN	ii
ABSTRACT	iii
RINGKASAN	iv
PRAKATA	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
I. PENDAHULUAN	1
II. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	3
III. TINJAUAN PUSTAKA	4
IV. BAHAN DAN CARA KERJA	7
V. HASIL DAN PEMBAHASAN	10
VI. KESIMPULAN	14
DAFTAR PUSTAKA	15
LAMPIRAN.....	17

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Rata-rata kandungan hormon reproduksi (LH, FSH dan P) pada <i>Petaurus breviceps papuanus</i> selama satu siklus estrus	17
2. Rata-rata berat (mg) organ reproduksi <i>Petaurus breviceps papuanus</i> selama satu siklus estrus	18
3. Hasil deteksi imunohistokimia protein K10 pada sayatan melintang vagina <i>P.b. papuanus</i>	19
4. Profil protein vagina <i>P.b. papuanus</i> selama satu siklus estrus	20
5. Hasil <i>immunobloting</i> protein K10 vagina <i>P.b. papuanus</i> pada fase proestrus	21
6. Rata-rata kandungan hormon reproduksi (LH, FSH, dan P) <i>R. rattus diardii</i> selama satu siklus estrus	22
7. Rata-rata berat (mg) organ reproduksi <i>R. rattus diardii</i> selama satu siklus estrus	23
8. Gambaran perubahan organ reproduksi tikus rumah selama siklus estrus ...	24
9. Rata-rata berat (mg) organ reproduksi mencit (<i>Mus musculus</i>) setelah pemberian mangostin dengan dosis 50 mg/kg BB selama 3 hari	25
10. Hasil deteksi imunohistokimia protein K10 pada sayatan melintang vagina <i>Mus musculus</i> setelah pemberian mangostin dengan dosis 50 mg/kg BB	26

I. PENDAHULUAN

Pengetahuan mengenai biologi reproduksi hewan merupakan dasar untuk pengaturan fertilitas hewan, terutama hewan liar. Penelitian mengenai reproduksi hewan liar menjadi penting artinya mengingat pada kondisi alami hewan liar dapat berpotensi sebagai hama atau bahkan punah baik oleh populasi hewan yang lain ataupun oleh kerusakan habitat karena meningkatnya aktivitas manusia.

Pengamatan terhadap keteraturan siklus hewan betina dalam mengalami periode reseptif terhadap hewan jantan merupakan salah satu aspek reproduksi yang dapat dikaji dengan mudah. Periode yang dikenal sebagai siklus estrus tersebut menggambarkan perubahan kandungan hormon reproduksi yang selanjutnya menyebabkan perubahan pada jaringan penyusun saluran reproduksi. Dengan mengetahui siklus estrus termasuk perubahan kandungan hormon reproduksi serta perubahan histologi saluran reproduksi maka dapat diperkirakan teknik manipulasi reproduksi mungkin dapat diterapkan terutama dalam mengembangkan metoda kontrasepsi hewan liar.

Salah satu spesies hewan liar yang berpeluang mengalami gangguan habitat karena meningkatnya aktivitas manusia adalah marsupialia khas Indonesia yang hanya terdapat di Irian Jaya, salah satunya adalah *Petaurus breviceps papuanus* (Flanery, 1995). Hewan ini digunakan sebagai obyek penelitian yang dilakukan di *host institution* mengingat informasi mengenai reproduksi hewan ini masih sangat sedikit bahkan dapat dikatakan tidak ada.

Berbeda dengan *Petaurus breviceps papuanus*, *R. rattus diardii* atau tikus rumah merupakan hewan yang berpotensi sebagai hama dan bahkan vektor penyakit berbahaya bagi manusia. Hewan ini digunakan sebagai obyek penelitian yang dilakukan di institusi asal mengingat informasi biologi reproduksinya sangat diperlukan untuk pengaturan fertilitas hewan ini terutama dalam pencarian metode untuk menekan populasi hewan tersebut.

Manipulasi reproduksi hewan liar, yang biasanya difokuskan pada perubahan histologi, terutama histologi vagina dan atau uterus, dapat dikaji dengan memberikan senyawa alami yang mudah didapat dan diketahui

mempengaruhi siklus reproduksi hewan tertentu. Salah satu senyawa alami dengan sifat tersebut adalah mangostin sehingga dengan memberikan mangostin pada hewan uji lain (*Mus musculus*) dapat diperkirakan pengaruhnya jika diterapkan sebagai agensia manipulator reproduksi.

Pengkajian yang dilakukan dalam penelitian ini mendapatkan hasil adanya perubahan kandungan hormon reproduksi (LH, FSH dan P) baik pada *P. briviceps papuanus* maupun *R. rattus diardii* selama satu siklus estrus, pola ekspresi protein K10 pada jaringan epitel penyusun vagina pada *P. briviceps papuanus* maupun pada *Mus musculus* karena pengaruh mangostin, serta perubahan struktur jaringan penyusun saluran reproduksi *R. rattus diardii* selama satu siklus estrus.