

**PENENTUAN KANDUNGAN ESTRADIOL ( $E_2$ ) DAN LUTEINIZING  
HORMONE (LH) PADA *PETAURUS BREVICEPS PAPUANUS*  
(MARSUPIALIA) SELAMA SATU SIKLUS ESTRUS**

**Lien A. Sutasurya\*, Agung Janika Sitasiwi\*\*,  
Ratnawati Kukuh \*\*\***

**\*Departemen Biologi FMIPA-ITB**

**\*\* Jurusan Biologi, FMIPA-UNDIP**

**\*\*\* Puslitbang Teknik Nuklir-BATAN**

**ABSTRAK**

**PENENTUAN KANDUNGAN ESTRADIOL ( $E_2$ ) DAN LUTEINIZING HORMONE (LH) PADA *PETAURUS BREVICEPS PAPUANUS* (MARSUPIALIA) SELAMA SATU SIKLUS ESTRUS.** Telah dilakukan penentuan kandungan estradiol ( $E_2$ ) dan *Luteinizing hormone* (LH) plasma darah selama satu siklus estrus pada *Petaurus breviceps papuanus* betina dewasa, suatu marsupialia yang hidup di Irian Jaya dan Kepulauan Aru. Data biologi reproduksi jenis hewan ini sangat sedikit. Kadar hormon  $E_2$  dan LH plasma darah pada setiap fase selama siklus estrus ditentukan dengan metode RIA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan hormon  $E_2$  dan LH mengalami kenaikan dan penurunan secara nyata dan berjalan seiring dengan dicapainya perubahan fase selama siklus estrus. Kandungan hormon  $E_2$  dan LH tertinggi dicapai pada fase estrus, sedang kandungan terendah pada fase diestrus. Pada fase estrus, LH memperlihatkan terjadinya lonjakan konsentrasi yang berarti bahwa pada periode estrus ini terjadi ovulasi. Akan tetapi, pada penelitian ini, waktu terjadinya ovulasi belum dapat ditentukan. Dapat disimpulkan bahwa kandungan  $E_2$  dan LH pada *Petaurus breviceps papuanus* betina dewasa selama satu siklus mencapai kandungan tertinggi pada fase estrus dan terendah pada fase diestrus.

**Kata kunci :** estradiol, *luteinizing hormone*, RIA, Marsupialia, siklus estrus

**ABSTRACT**

**DETERMINATION OF ESTRADIOL ( $E_2$ ) AND LUTEINIZING HORMONE (LH) OF *PETAURUS BREVICEPS PAPUANUS* (MARSUPIALIA) DURING ONE ESTRUS CYCLE.** Concentration of plasma estradiol ( $E_2$ ) and luteinizing hormone during one estrus cycle of adult female *Petaurus breviceps papuanus*, a marsupialia living in Irian Jaya and Aru islands, has been determined. Data on the reproductive biology of this animal is very rare. Plasma estradiol and LH

during the estrus cycle phases was determined using RIA method. The results revealed that estradiol and LH concentration changes significantly along with the phases of the estrus cycle, the highest concentration was at estrus and the lowest was at diestrus. A surge of LH concentration occurred at estrus, which means that during this period ovulation could occur. However, timing of ovulation in this experiment could not be determined. It could be concluded that the highest concentration of E<sub>2</sub> and LH of adult female *Petaurus breviceps papuanus* during one estrus cycle was at estrus and the lowest one was at diestrus.

**Key words:** estradiol, luteinizing hormone, RIA, Marsupialia, estrus cycle.

## PENDAHULUAN

Reproduksi hewan mamalia dikendalikan oleh hormon-hormon reproduksi utama, yaitu gonadotropin dan hormon seks yang saling mempengaruhi. Peranan dan kandungan hormon reproduksi pada hewan mamalia eutheria telah banyak diketahui sedang pada hewan marsupialia masih sangat sedikit.

*Petaurus breviceps papuanus* (sugar glider) merupakan marsupialia kecil, mirip tupai, arboreal dan hidup dalam koloni kecil dalam lubang di pohon. Jenis ini terdapat di Irian Jaya dan Maluku [1] dan hidup berdekatan dengan penduduk. Data mengenai reproduksi hewan betina jenis hewan ini belum diketahui demikian pula mengenai fertilitas hewan betina di alam maupun dalam penangkaran. Seperti telah diketahui, hormon reproduksi berperan dalam pengaturan reproduksi hewan mamalia. Kandungan androgen dan *Gonadotrophin Releasing Hormone* (GnRH) pada hewan jantan sejenis hewan ini telah diteliti [2, 3] dan diketahui bahwa hormon reproduksi ini turut berperan dalam perilaku reproduksi dalam koloninya.

Siklus estrus merupakan aspek reproduksi hewan mamalia betina yang menggambarkan perubahan kandungan hormon reproduksi yang disebabkan oleh aktivitas ovarium di bawah pengaruh hormon gonadotropin. Pada hewan mamalia betina, E<sub>2</sub> (hormon seks) dan LH (gonadotropin) adalah hormon reproduksi penting,

yang konsentrasinya dalam plasma darah mengalami perubahan selama siklus estrus dan dapat digunakan untuk menentukan waktu terjadinya ovulasi.

Siklus estrus *Petaurus breviceps papuanus* [4] berlangsung sekitar 28 – 33 hari, dengan panjang proestrus, estrus, metestrus dan diestrus masing-masing 3-4, 2-3, 3-4 dan 18-21 hari. Penentuan siklus estrus ini dilakukan atas dasar kepadatan (persentase) sel epitel menanduk yang berasal dari vagina (apusan vagina) dan terkandung dalam urin yang dikeluarkan. Telah diketahui pula bahwa pada hewan marsupialia, seperti halnya pada mamalia umumnya, kelangsungan siklus estrus dikontrol secara langsung oleh hormon ovarium yang sekresinya berada di bawah pengaruh hormon gonadotropin.

Data mengenai hormon reproduksi yang berkaitan dengan siklus estrus pada marsupialia belum banyak dijumpai. Menurut Smith [5], pada *Bettongia penivicillata*, lonjakan LH terjadi 24 – 48 jam sebelum ovulasi sedang menurut Hinds *et al.* [6] periode estrus pada *Tammar wallaby* adalah sama seperti pada eutheria yaitu diatur oleh estrogen maupun LH. Pada *Didelphis virginiana*, konsentrasi estrogen mengalami peningkatan seiring dengan perkembangan folikel ovarium dan terjadi dengan interval waktu 2 – 4 hari (7).

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kandungan estradiol ( $E_2$ ) dan LH dalam plasma darah selama satu siklus estrus pada *Petaurus breviceps papuanus* betina dewasa. Penentuan kandungan  $E_2$  dan LH dilakukan dengan teknik RIA, pada tahapan-tahapan siklus estrus yang telah ditentukan berdasarkan kepadatan sel epitel menanduk pada apusan vagina. Dengan membandingkan hasil kandungan  $E_2$  dan LH dengan tahapan siklus estrus yang ditentukan secara selular ketepatan penentuan siklus estrus tersebut dapat diketahui, terutama fase estrus di mana ovulasi berlangsung.

## **BAHAN DAN TATAKERJA**

### **Bahan dan peralatan**

Dalam penelitian ini digunakan plasma darah dari lima fase siklus estrus *Petaurus breviceps papuanus* betina dewasa. Untuk masing-masing fase digunakan tiga ekor hewan. Untuk penentuan estradiol digunakan Kit RIA Estradiol, *coat a count* dan untuk LH digunakan Kit RIA LH, *double antibody* yang masing-masing diperoleh dari Diagnostic Product Corporation (DPC).

Peralatan yang digunakan adalah alat pencacah sinar- $\gamma$  (Miniassay type 6-20), alat sentrifus yang dilengkapi pendingin (IEC Centra-7R).

### **Persiapan Sampel**

Sampel darah diambil dari hewan uji yang telah dibius dengan eter kemudian dibedah. Pengambilan darah dilakukan langsung dari jantung dengan menggunakan alat suntik dengan jarum 23G yang telah dibilas dengan heparin 1000 IU. Darah yang diperoleh, disentrifus selama 7,5 menit pada 3000 rpm. Plasma yang diperoleh kemudian disimpan pada  $-20^{\circ}\text{C}$  sampai waktu pengukuran [8]. Hewan uji yang darahnya digunakan sebagai sampel untuk RIA adalah hewan betina dewasa yang berada pada fase diestrus-1 (hari ke 3 - 4 setelah siklus estrus sebelumnya), fase proestrus (hari ke 9 -10 siklus estrus), fase estrus (hari ke 12 - 13 siklus estrus), metestrus (hari ke 15 - 16 siklus estrus) dan diestrus-2 ( 6 - 7 hari setelah metestrus).

### **Penentuan kandungan estradiol ( $\text{E}_2$ )**

Untuk pembuatan kurva baku digunakan 100  $\mu\text{L}$  larutan baku estradiol yang mengandung 0, 20, 50, 150, 500, 1800, 3600 pg/mL yang masing-masing dimasukkan ke dalam tabung yang telah dilapisi antibodi estradiol, sedang penentuan nilai ikatan tak spesifik dilakukan pada tabung yang tidak dilapisi antibodi estradiol dengan menambahkan 100  $\mu\text{L}$  larutan baku 0 pg/mL. Ke dalam setiap tabung kemudian

ditambahkan 1,0 mL estradiol bertanda <sup>125</sup>I. Campuran diaduk dengan vortex, kemudian diinkubasi selama 3 jam pada suhu kamar. Cairan dari setiap tabung dituang secara hati-hati dengan menggunakan alat pendekantasi dan keaktifan residu dicacah dengan pencacah sinar- $\gamma$ . Hal yang sama dilakukan untuk cuplikan kontrol rendah, menengah dan tinggi serta sampel yang akan ditentukan kandungan estradiolnya. Dari hasil seluruh percobaan dibuat kurva baku antara fraksi terikat dan konsentrasi estradiol. Kadar sampel yang akan ditentukan dapat diperoleh dari kurva baku.

### **Penentuan kandungan LH**

Untuk pembuatan kurva baku digunakan 200  $\mu$ L larutan baku LH yang mengandung 0, 3, 10, 20, 40 dan 100 mIU/mL. Kemudian ditambahkan pula 100  $\mu$ L LH bertanda <sup>125</sup>I dan 100  $\mu$ L antiserum LH. Pada tabung untuk penentuan ikatan tak spesifik tidak ditambahkan antiserum LH. Campuran diaduk dengan vortex, kemudian diinkubasi selama 60 menit pada suhu kamar. Setelah diinkubasi, ke dalam setiap tabung ditambahkan 1,0 mL larutan pengendap dingin (larutan antibodi kedua), campuran diaduk kembali dengan vortex. Setelah disentrifus, cairan dari setiap tabung didekantasi dan keaktifan residu dicacah dengan pencacah sinar- $\gamma$ . Hal yang sama dilakukan untuk cuplikan kontrol rendah, menengah dan tinggi serta sampel yang akan ditentukan kandungan LH-nya. Dari hasil seluruh percobaan dibuat kurva baku antara fraksi terikat dan konsentersasi LH. Kadar sampel yang akan ditentukan dapat diperoleh dari kurva baku.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil penentuan cuplikan kontrol rendah, menengah dan tinggi untuk hormon E<sub>2</sub> dan LH yang ditentukan dengan metode RIA, masih berada pada kisaran simpangan nilai yang terdapat pada produk DPC. Hal ini menunjukkan bahwa penentuan kandungan hormon E<sub>2</sub> dan LH dengan metode RIA telah dilakukan dengan baik.

Kandungan E<sub>2</sub> dan LH yang ditentukan pada fase siklus estrus ditampilkan pada Tabel 1, 2 dan Gambar 1. Secara umum tampak, bahwa perubahan kandungan kedua hormon tersebut berjalan seiring dengan dicapainya perubahan fase dalam siklus estrus. Dari fase diestrus -1 sampai fase estrus terjadi kenaikan, sementara penurunan konsentrasi terjadi dari fase estrus sampai diestrus -2. Kandungan hormon E<sub>2</sub> dan LH yang terendah dicapai saat fase diestrus -2 dan tertinggi dicapai pada fase estrus.

Tabel 1. Kandungan hormon E<sub>2</sub> (pg/mL) *Petaurus breviceps papuanus* betina dewasa selama satu siklus estrus.

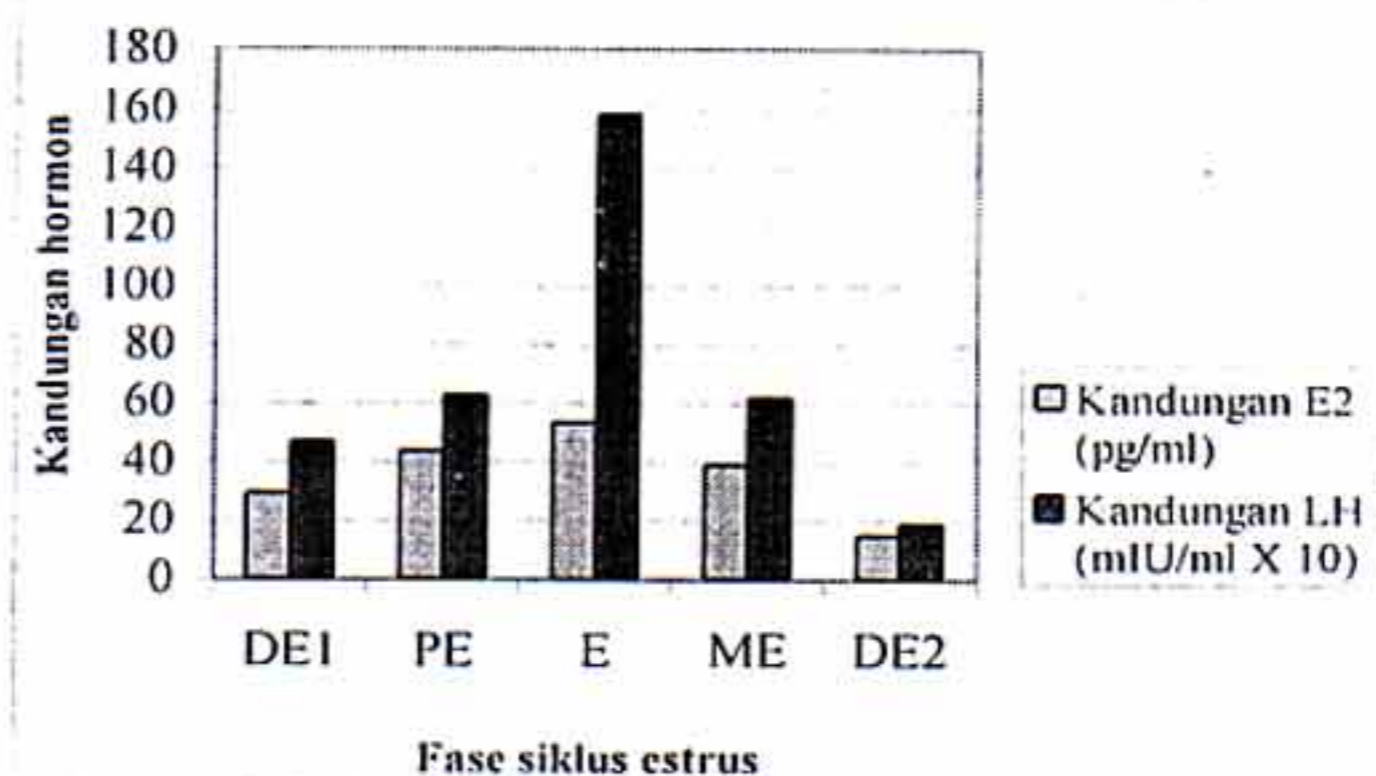
Fase	Hewan			X ± SD
	1	2	3	
DE1	48,2	17,9	21,9	29,3 <sup>d</sup> ± 16,5
PE	49,3	38,88	42,8	43,6 <sup>b</sup> ± 5,9
E	70,9	64,7	54,7	63,4 <sup>a</sup> ± 8,2
ME	48,2	41,2	26,9	38,8 <sup>c</sup> ± 10,8
DE2	17,4	12,6	15,3	15,1 <sup>e</sup> ± 2,4

Keterangan: Uji sidik ragam dilanjutkan dengan uji BNT (p<0,05) superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata.  
 DE1 : fase diestrus-1; PE : fase proestrus; E : fase estrus;  
 ME : fase metestrus; DE2: fase diestrus-2

Tabel 2. Kandungan LH (mIU/mL) *Petaurus breviceps papuanus* betina dewasa selama satu siklus estrus.

Fase \ Hewan	1	2	3	X ± SD
DE1	5,8	4,2	4,2	4,7 <sup>b</sup> ± 0,9
PE	6,9	6,0	6,1	6,3 <sup>b</sup> ± 0,4
E	15,9	15,8	15,6	15,8 <sup>a</sup> ± 0,2
ME	7,3	5,7	5,6	6,2 <sup>b</sup> ± 0,9
DE2	2,1	1,9	1,9	1,9 <sup>c</sup> ± 0,1

Keterangan: Uji sidik ragam dilanjutkan dengan uji BNT ( $p < 0,05$ ), superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata. DE1 : fase diestrus-1; PE : fase proestrus; E : fase estrus; ME : fase metestrus; DE2 : fase diestrus-2.



Gambar 1. Pola kandungan hormon  $E_2$  dan LH *Petaurus breviceps papuanus* betina dewasa selama satu siklus estrus.

DE1: fase diestrus-1; PE: fase proestrus; E: fase estrus; ME: fase metestrus; DE2 : fase diestrus-2.

Perubahan kandungan hormon  $E_2$  sepanjang siklus estrus berjalan dengan pola kenaikan dan penurunan yang terjadi secara gradual (Gambar 1). Kandungan hormon  $E_2$  per individu bervariasi cukup besar, baik antar individu pada fase yang sama maupun antar kelompok hewan pada tiap fase. Variasi kandungan yang besar disebabkan karena pada penelitian ini sampel darah berbagai fase siklus estrus diambil dari hewan yang berbeda. Sampel darah tidak diambil dari satu individu yang sama tetapi dari tiga individu yang mempunyai fase siklus estrus yang sama atas dasar penentuan fase siklus estrus yang biasa dilakukan, sehingga menyebabkan simpangan yang besar pada kandungan rata-rata setiap fase. Pada fase diestrus -1, kandungan hormon  $E_2$  menunjukkan konsentrasi yang lebih tinggi dari fase diestrus -2 (Tabel 1). Sekresi  $E_2$  pada fase diestrus -1 ini juga tampak dengan semakin meningkatnya kandungan hormon  $E_2$  pada fase proestrus dan estrus. Penurunan kandungan  $E_2$  yang terjadi setelah fase estrus, dapat diartikan bahwa  $E_2$  sudah tidak lagi disekresikan, namun pada fase diestrus masih ada  $E_2$  dalam plasma darah. Bila dibandingkan dengan jenis marsupialia lain yaitu *Macropus eugenii* [9], *Sminthopsis crassicaudata* [10] dan *C. philander* [6] maka kandungan  $E_2$  pada semua fase yang diamati pada *Petaurus breviceps papuanus* ini lebih rendah. Hal ini mungkin ada hubungannya dengan besarnya hewan, karena jenis hewan yang digunakan pada penelitian ini termasuk jenis marsupialia kecil.

Pola kandungan LH selama siklus estrus pada hewan ini berbeda dengan pola kandungan hormon  $E_2$  (Gambar 1). Pada Tabel 2 tampak bahwa kandungan LH pada fase diestrus -1, tidak berbeda dengan fase proestrus dan metestrus. Perubahan kandungan LH dari fase proestrus - estrus dan dari fase estrus - metestrus menunjukkan kenaikan dan penurunan yang tajam, mencapai hampir tiga kali lipat, sehingga menunjukkan terjadinya suatu lonjakan kandungan LH pada fase estrus. Pada penelitian ini tampak bahwa kandungan  $E_2$  dan LH tertinggi terjadi pada fase atau



waktu yang sama (karena kedua hormon ini diambil dari kelompok hewan maupun waktu yang sama) yaitu fase estrus (Gambar 1).

Pada hewan mamalia eutheria, aktivitas ovarium menyebabkan perubahan kandungan hormon steroid seks, khususnya hormon  $E_2$  yang dipengaruhi oleh hormon gonadotropin. Pada fase folikular, yang berlangsung dari fase diestrus sampai fase estrus, kandungan  $E_2$  naik, kemudian diikuti dengan lonjakan LH sesaat sebelum ovulasi, kemudian diikuti dengan fase luteal yang ditandai dengan penurunan kandungan  $E_2$ . Pada *Petaurus breviceps papuanus* yang merupakan hewan mamalia marsupialia yang terdapat di Indonesia bagian timur, kandungan hormon  $E_2$  dan LH juga memperlihatkan kenaikan mulai fase diestrus -1 sampai fase estrus dan turun kembali sampai fase diestrus -2. Diduga bahwa selama periode kenaikan kandungan  $E_2$  dan LH, ovarium sedang berada pada fase folikular dan pada periode dimana kandungan  $E_2$  dan LH turun, ovarium berada pada fase luteal, sedang pada fase estrus, dengan kandungan  $E_2$  dan LH tertinggi terjadi ovulasi. Karena pada penelitian ini, fase-fase siklus estrus hanya ditentukan atas dasar gambaran kandungan sel epitel vagina dan dengan interval waktu 3 sampai 4 hari, maka dari kandungan  $E_2$  dan LH yang didapat pada penelitian ini tidak dapat ditentukan kapan masing-masing fase dimulai atau berakhir, sehingga walaupun pada fase estrus kandungan hormon  $E_2$  dan LH adalah tertinggi, tidak dapat ditentukan kapan (pada hari keberapa) ovulasi terjadi. Pada hewan mamalia eutheria pada umumnya lonjakan LH segera diikuti dengan ovulasi dan kandungan  $E_2$  akan segera turun karena folikel ovarium sudah tidak berada pada perioda sintesis  $E_2$  karena telah memasuki fase luteal. Menurut Rodger *et al.* [10] pada marsupialia, gonadotropin juga menginduksi estrus dan ovulasi seperti halnya pada mamalia eutheria. Untuk mengetahui bila tepatnya ovulasi terjadi pada *Petaurus breviceps papuanus* ini maka pengamatan pada periode antara proestrus sampai metestrus harus dilakukan dengan interval waktu yang lebih pendek. Penentuan waktu ovulasi sangat penting, agar kita dapat mengetahui secara pasti (bila dan bagaimana) periode perkembangbiakan hewan

ini. Reproduksi *Petaurus breviceps papuanus* sangat penting untuk diketahui, karena hewan ini hidup dekat dengan pemukiman manusia sehingga bila tidak dikelola dengan baik satwa liar ini dapat mengganggu kehidupan manusia.

## KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa *Petaurus breviceps papuanus*, marsupialia yang hidup di Indonesia timur, mempunyai pola kandungan E<sub>2</sub> dan LH selama satu siklus estrus seperti pada hewan mamalia eutheria. Dari hasil penelitian ini dapat pula dinyatakan bahwa penentuan fase siklus estrus yang telah dilakukan cukup tepat.

## Ucapan terima kasih:

Penelitian ini merupakan sebagian dari topik proyek penelitian yang dibiayai oleh Hibah Tim/URGE No.004/AD-I/HTTP-III/URGE/1997 dengan proyektan LAS.

## DAFTAR PUSTAKA

1. FLANERY, I. "Mammals of the south-west pacific-mollucan islands". Australian Museum/Reed Books, 1995 : 112-118.
2. STODDART, D.M., BRADLEY, A.J. and MALLICK, J., Plasma testosterone concentration, body weight, social dominance and scent-marking in male marsupial sugar gliders (*Petaurus breviceps*; Marsupialia:petauridae). J. Zool., Lond. 232 (1994) 595-601.
3. BRADLEY, A.J. and STODDART, D.M., Plasma androgen, social position, and response to GnRH in the marsupial sugar glider *Petaurus breviceps* (Marsupialia:Petauridae). J. Zool., Lond. 241 (1997) 579-587.