

SIKLUS ESTRUS DAN STRUKTUR HISTOLOGIS OVARIUM

TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)

SETELAH PEMBERIAN ALPRAZOLAM

Skripsi

Untuk memenuhi sebagian persyaratan

guna memperoleh derajat Sarjana Sains

Jurusan Biologi



Oleh

Yeni Karlina

NIM.M0498017

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS SEBELAS MARET

SURAKARTA

2003

PERSETUJUAN

Skripsi

SIKLUS ESTRUS DAN STRUKTUR HISTOLOGIS OVARIUM

TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)

SETELAH PEMBERIAN ALPRAZOLAM

Oleh

Yeni Karlina

M0498017

Telah disetujui untuk diujikan

Surakarta,

Mengetahui

Pembimbing I

Pembimbing II

Drs. Sutarno, M.Sc.,Ph.D
NIP. 131 649 948

Shanty Listyawati, M.Si
NIP. 132 169 256

Mengesahkan

Ketua Jurusan Biologi

Drs. Wiryanto, M.Si
NIP. 131 124 613

PENGESAHAN
Skripsi
**SIKLUS ESTRUS DAN STRUKTUR HISTOLOGIS OVARIUM
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
SETELAH PEMBERIAN ALPRAZOLAM**

Oleh
Yeni Karlina
M0498017

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal.....
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Surakarta,

Penguji III

Penguji I

Drs. Sutarno, M.Sc., Ph.D
NIP. 131 649 948

Dra. Noor Soesanti H.
NIP. 140 113 519

Penguji IV

Penguji II

Shanty Listyawati, M.Si
NIP. 132 169 256

Dra. Marti Harini
NIP. 131 472 293

Mengesahkan

Dekan FMIPA UNS

Ketua Jurusan Biologi

Drs. Marsusi, M.S
NIP. 130 906 776

Drs. Wiryanto, M.Si
NIP. 131 124 613

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan tertentu di suatu Perguruan Tinggi, serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surakarta,

Yeni Karlina
M0498017

MOTTO

Jika kamu sanggup menembus (melintasi) penjuru langit dan bumi, maka lintasilah. Kamu tidak dapat menembusnya melainkan dengan kekuatan

(Ar-Rahman: 33)

Semua penemuan besar selalu berasal dari orang-orang yang perasaannya berlari mendahului pemikirannya.

C. H. Oarkhust

PERSEMBAHAN

Karya kecilku ini kupersembahkan teruntuk:

Ayah dan Ibu tercinta

Doa dan dukunganmu selalu menjadi nafas hidupku

Iyut dan Agung

Rasa cinta antara kita membuatku merasa istimewa

Kakek (alm)

Ketulusan dan pemberian tanpa pamrih selalu kulihat darimu

KATA PENGANTAR

Rasa syukur kepada Allah SWT dan perasaan lega yang mengiringi penulis setelah dapat menyelesaikan karya berjudul “Siklus Estrus dan Struktur Histologis Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) setelah Pemberian Alprazolam” ini. Penyusunan naskah laporan penelitian skripsi ini tidak akan dapat terlaksana ataupun terselesaikan tanpa bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu tidak lupa penulis ucapkan terima kasih kepada :

1. Drs. Marsusi, MS selaku Dekan FMIPA dan Pembimbing Akademik atas tersedianya sarana dan prasarana pendidikan serta semua nasehat yang telah diberikan kepada penulis selama menjalani kuliah di Jurusan Biologi FMIPA UNS
2. Drs. Wiryanto, MSi selaku Ketua Jurusan Biologi atas pemberian ijin penelitian
3. Drs. Sutarno, M.Sc. Ph.D sebagai Pembimbing I untuk semua bimbingan, pengarahan dan motivasi
4. Shanti Listyawati, M.Si sebagai Pembimbing II atas bimbingan dan pengarahan
5. Dian Megawati untuk semua perjuangan yang kita lakukan bersama
6. A. Sudiaryadi untuk semua bantuan, motivasi dan rasa saling berbagi
7. Ketua Sub lab Biologi Laboratorium Pusat MIPA UNS beserta seluruh staf atas semua fasilitas dan kerjasama

8. Ketua Unit Pengembangan Hewan Penelitian (UPHP) UGM Yogyakarta beserta seluruh staf untuk semua fasilitas, bantuan serta kerjasama
9. Ketua Laboratorium Histopatologi Balai Penyelidikan Penyakit Hewan (BPPH) Yogyakarta beserta seluruh staf untuk pengarahannya, fasilitas dan bantuan
10. Teman-teman Biologi angkatan 98 yang telah memberi komunitas indah yang takkan terlupa
11. Kos Annisa yang selalu menjadi keluargaku selama di kota Bengawan ini

Penulis berharap penelitian ini dapat memberikan manfaat walaupun tidak seberapa terhadap pengembangan ilmu pengetahuan maupun manfaat kepada masyarakat.

Surakarta, 9 November 2003

Penulis

ABSTRAK

Yeni Karlina. 2003. SIKLUS ESTRUS DAN STRUKTUR HISTOLOGIS OVARIUM TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) SETELAH PEMBERIAN ALPRAZOLAM. FMIPA. UNS

Alprazolam yang merupakan derivat benzodiazepin dapat digunakan sebagai obat penenang maupun obat tidur. Berdasarkan penelitian Judd *et al.* (1995) alprazolam mampu menurunkan frekwensi pelepasan LH pulsatif pada wanita normal. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian alprazolam terhadap siklus estrus dan struktur histologis ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Tikus putih betina yang rata-rata berusia 2 bulan dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok diberi perlakuan alprazolam dengan dosis 0 mg/200 gr BB; 0,018 mg/200 gr BB; 0,036/200 mg BB; 0,054 mg/200 gr BB dan 0,072 mg/200 gr BB selama 30 hari. Pembuatan preparat *vaginal smear* dilakukan pada 20 hari pertama perlakuan untuk mendapatkan data siklus estrus. Tikus putih yang telah mendapatkan perlakuan alprazolam selama 30 hari kemudian dikawinkan dan dibunuh pada hari kedua setelah ditemukan *vaginal plug*. Pada pengamatan histologis ovarium selanjutnya dilakukan penghitungan folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier, korpus luteum dan folikel atresia. Pengamatan kualitatif dilakukan dengan cara mengamati struktur ovarium. Data kuantitatif yang diperoleh diuji dengan analisis Anova dan apabila diperoleh hasil yang berbeda nyata dilanjutkan dengan uji lanjut DMRT 5%.

Perlakuan pemberian alprazolam pada dosis 0,054 dan 0,072 mg/200 gr BB memperpanjang fase diestrus. Fase estrus dan proestrus diperpendek hanya pada perlakuan 0,072 mg alprazolam/200 gr BB. Pemberian alprazolam pada dosis 0,018mg; 0,036 mg; 0,054 mg; dan 0,072 mg/200 gr BB tidak mempengaruhi secara nyata jumlah folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier, korpus luteum dan folikel atresia jika dibandingkan dengan kontrol. Secara kualitatif terjadi kerusakan yang menuju atresia folikel pada semua kelompok hewan uji baik kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol.

Kata kunci : alprazolam, estrus, ovarium, folikel

ABSTRACT

Yeni Karlina. 2003. ESTROUS CYCLE AND HISTOLOGIC STRUCTURE OF RAT (*Rattus norvegicus*) OVARIAN BY AFTER ADMINISTRATION OF ALPRAZOLAM. Faculty of Mathematics and natural Sciences, Sebelas Maret University. Surakarta.

Alprazolam is a derivative of benzodiazepin that able to be used as sedative medicine or sleeping medicine. The main objective of this experiment was to know the effect of alprazolam on estrus cycle and ovarium histologic structure of white rat (*Rattus norvegicus*).

Female rats of two months old were divided into five treatment groups, each group treated with alprazolam of 0 mg/200-gr BW; 0,018 mg/ 200-gr BW; 0,036/ 200gr BW; 0,054 mg/ 200gr BW; and 0,072/ 200gr BW for 30 days. Vaginal smear was completely done in the first 20 days of the treatment to collect estrous cycle data. After the treatment (30 days) they were mated, and killed by cervical dislocation a day after vaginal plug was found. Primary follicles, secondary follicles, tertiary follicles, corpus luteum and atresian follicles were counted based on the histology data shown under microscope, while qualitative data were collected by observing ovarian structures. Quantitative Data were analyzed statistically using Anova analysis, and continued with DMRT for 5% test level when the result of the analysis was significantly different.

Alprazolam treatment of 0,054 and 0,072 mg/ 200gr BW have resulted in extended diestrous phase, while estrous and pro-estrous phases were shortened by the treatment of 0,072mg/ 200gr BW. Other treatments dosages of alprazolam were not significantly affected to the amount of primary-, secondary- and tertiary follicles, as well as number of corpus lutetium and artesian follicles.

Key words: Alprazolam, estrous, ovarian, follicle

BAB I

PENDAHULUAN

Latar Belakang Masalah

Pada masa sekarang ini ketika globalisasi sudah melanda dunia, timbulnya peningkatan angka persaingan di hampir semua bidang kehidupan manusia tidak bisa dihindari lagi. Mereka tidak hanya harus menghadapi pesaing lokal tetapi juga dituntut untuk berani menghadapi pesaing dari luar negara mereka. Akibatnya setiap orang diharuskan untuk bekerja dan berusaha lebih keras agar bisa menjadi pemenang dalam persaingan tersebut. Hal ini tidak jarang menimbulkan kecemasan dan ketegangan mental pada diri sebagian anggota masyarakat, yang kadang kala keadaan tersebut dapat menimbulkan gangguan tidur yang disebut insomnia. Banyak cara yang telah dilakukan untuk meredakan perasaan cemas dan ketegangan mental tersebut. Salah satu jalan pintas yang sering dilakukan adalah dengan mengkonsumsi berbagai obat penenang atau sedatifa dan obat tidur (hipnotika) bagi yang menderita insomnia.

Salah satu obat penenang yang sering digunakan ialah obat penenang yang di dalamnya terkandung zat aktif alprazolam, salah satu derivat benzodiazepin. Alprazolam mempunyai daya kerja yakni khasiat *anxiolytik* (menghalau rasa takut dan kegelisahan), *anticonvulsive*, *sedative-hipnotive*, dan relaksasi otot (Gavish *et al.*, 1999). Jadi selain mempunyai efek sedatif yaitu menenangkan dan

mengurangi ketegangan senyawa alprazolam juga mempunyai khasiat *hipnotive* atau sebagai obat tidur yang dapat menimbulkan rasa kantuk, mempercepat tidur dan memperpanjang keadaan tidur alamiah, sehingga alprazolam dapat digunakan sebagai obat penenang maupun obat tidur.

Benzodiazepin dan turunannya, termasuk alprazolam paling banyak digunakan dan paling sering direkomendasikan oleh para dokter, karena efek samping yang ditimbulkannya paling kecil dibanding dengan obat yang mengandung zat aktif lain misalnya barbiturat, disamping dosis letalnya yang tinggi sehingga sangat jarang disalahgunakan untuk bunuh diri (Tjai dan Rahardja, 2002).

Walaupun demikian bukan berarti penggunaan benzodiazepin dan turunannya sama sekali tidak merugikan atau menimbulkan efek negatif apapun. Pada penggunaan yang terus menerus selama lebih dari 2 sampai 4 minggu zat ini bisa menimbulkan efek ketergantungan (Tjai dan Rahardja, 2002). Sehingga cukup banyak juga laporan mengenai kasus ketergantungan benzodiazepin dan turunannya terutama di negara-negara Eropa dan Amerika. Seperti yang telah dituliskan oleh Mantooth pada situs www.emedicine.com tanggal 11 September 2001, Pusat Pengendalian Keracunan Amerika Serikat melaporkan bahwa pada tahun 1998 telah terjadi 40.004 kasus ketergantungan benzodiazepin di Amerika Serikat. Dari jumlah tersebut, 1177 kasus atau sekitar 2,9% menimbulkan keracunan berat dan 53 kasus atau 0,1% menyebabkan kematian.

Selain efek ketergantungan, masih banyak keluhan yang disampaikan oleh para pengguna obat ini. Keluhan tersebut antara lain *hangover* yaitu efek sisa

benzodiazepin di dalam plasma darah seperti kurang konsentrasi, daya reaksi dan sebagainya; *amnesia anterogade* atau kehilangan ingatan untuk sementara; gangguan pernafasan; dan masih banyak lagi (Tjai dan Rahardja, 2002; Mantooth, 2001). Pada tulisan Crenshaw dan Goldberg (1996) yang berjudul *Sexual Pharmacology* dilaporkan dampak dari benzodiazepin, termasuk alprazolam yang berhubungan dengan fungsi seksual seperti hiposeksualitas, ejakulasi dini dan sebagainya.

Atas banyaknya kasus-kasus yang dilaporkan berkaitan dengan dampak negatif alprazolam yang merupakan turunan dari benzodiazepin tersebut, maka banyak para peneliti yang tertarik dengan senyawa ini dan berusaha menelitinya dari berbagai aspek. Seperti yang telah dilakukan oleh Judd *et al.* pada tahun 1995 yang menemukan bahwa efek alprazolam dapat menurunkan frekwensi pelepasan LH (*Luteinizing Hormon*) pada wanita normal. Disamping itu hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Owens *et al.* pada tahun 1991 menunjukkan adanya penurunan aktivitas HPA (Hipotalamus-Pituitari-Adrenokortikal) oleh alprazolam pada dosis *anxiolytic*. Pada penelitian tersebut juga ditemukan adanya penurunan CRF (*Corticotropin Releasing Factor*) setelah pemberian alprazolam.

Atas dasar alasan-alasan itulah maka akan dilakukan penelitian mengenai efek dari alprazolam terhadap sistem reproduksi betina dengan judul “ Siklus Estrus dan Struktur Histologis Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) setelah Pemberian Alprazolam ”.

B. Rumusan Masalah

Dengan mengacu pada latar belakang masalah, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Bagaimana efek pemberian alprazolam terhadap siklus estrus tikus putih (*Rattus norvegicus*)?
2. Bagaimana efek pemberian alprazolam terhadap struktur histologis ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*)?

C. Tujuan

Penelitian tentang Siklus Estrus dan Struktur Histologis Ovarium (*Rattus norvegicus*) setelah Pemberian Alprazolam ini bertujuan:

1. Mengetahui pengaruh pemberian alprazolam terhadap siklus estrus tikus putih (*Rattus norvegicus*).
2. Mengetahui pengaruh pemberian alprazolam terhadap struktur histologis ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*).

D. Manfaat

Manfaat yang dapat diambil dari penelitian Siklus Estrus dan Struktur Histologis Ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*) setelah Pemberian Alprazolam dapat dipandang dari dua sisi yaitu:

1. Dari sisi teoritis dapat dijadikan acuan bagi penelitian selanjutnya.
2. Dari sisi praktis dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai efek penggunaan obat penenang alprazolam terhadap sistem reproduksi wanita.

BAB II

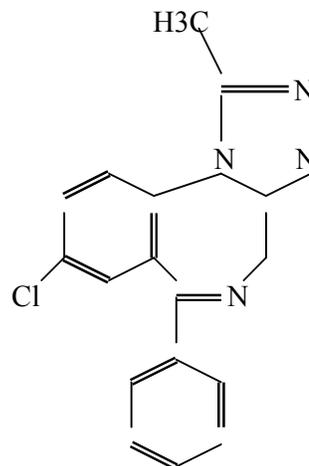
LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Alprazolam

a. Profil dan Rumus Bangun

Alprazolam adalah nama suatu senyawa yang merupakan turunan dari benzodiazepin dan merupakan salah satu turunan yang terbaru (Fawzet dan Kravitz, 1982). Bersama dengan triazolam, alprazolam sering disebut sebagai triazolobenzodiazepin karena mempunyai cincin triazol pada posisi 1,2. Adapun rumus bangun dari alprazolam dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Rumus bangun alprazolam

(Katzung, 1998)

Seperti halnya senyawa benzodiazepin yang lain, alprazolam juga mempunyai efek *sedative-hipnotive*, *anticonvulsan* dan relaksasi otot. Mekanisme kerja dari berbagai benzodiazepin untuk menghasilkan efek-efek tersebut adalah dengan jalan pengikatan pada reseptor benzodiazepin yang terdapat pada permukaan membran neuron, terutama di kulit otak dan lebih sedikit pada otak kecil selain juga ditemukan pada organ lain misalnya ovarium dan uterus (Verma dan Snyder, 1989; Toranzo *et al.*, 1994; Tjai dan Raharja, 2002). Efek dari pengikatan tersebut terutama pada neuron adalah penghambatan neurotransmitter oleh GABA (*gamma-aminobutyric acid*) yang merupakan penghambat utama neurotransmitter pada sistem saraf pusat. Dengan adanya penghambatan neurotransmitter tersebut, menyebabkan penurunan kecepatan bereaksi neuron (Katzung, 1998)

Alprazolam sering digunakan dalam pengobatan jangka pendek *anxiety* dan *anxiety* yang diikuti dengan depresi (Hopkins, 1995). Hal ini sesuai dengan sifat dari alprazolam yang telah dikemukakan oleh Greenblatt *et al.* (1987) yaitu mempunyai waktu paruh selama 6 sampai 16 jam di dalam plasma darah manusia.

b. Reseptor Benzodiazepin

Terdapat dua macam reseptor benzodiazepin menurut letaknya yaitu reseptor yang terletak pada susunan sistem saraf pusat, disebut CBR (*Central benzodiazepin Reseptor*). CBR telah ditemukan pada permukaan membran neuron, terutama pada kulit otak. Reseptor benzodiazepin tersebut terikat pada suatu kompleks makromolekul GABA-Reseptor Benzodiazepin-saluran ion

klorida.(Braestrup dan Squires, 1977; Möhler dan Okada, 1977; Tallman *et al.*, 1980)

Selain ditemukan pada sistem saraf pusat, reseptor benzodiazepin juga ditemukan pada berbagai jaringan tubuh dan sel-sel glia otak (Verma dan Snyder, 1989; Gavish *et al.*, 1992,). Reseptor ini dikenal dengan nama PBR (*Peripheral Benzodiazepin Reseptor*). Garnier *et al.* (1993) menemukan bahwa lokasi PBR adalah pada mitokondria, akan tetapi O'Beirne *et al.*(1990) menyatakan bahwa dalam penemuan mereka PBR juga terdapat pada aparatus golgi, nukleus, lisosom, peroksisom dan membran sel.

Sel-sel yang mengandung PBR ditemukan dalam berbagai jaringan. Gavish *et al.*(1999) telah mempelajari berbagai aspek tentang PBR seperti lokasi, karakteristik molekuler, fungsi dan implikasi klinisnya pada berbagai organ seksual wanita dan pria. Selain itu PBR juga diketahui terdapat melimpah pada jaringan-jaringan endokrin steroid (De Souza *et al.*,1985).

PBR mempunyai peranan yang penting pada pengaturan steroidogenesis. PBR yang telah mengikat DBI (*Diazepam Binding Inhibitor*), suatu ligan endogenous, mengatur pengangkutan kolesterol ke dalam mitokondria. Sesampainya di dalam matrik mitokondria kolesterol diubah menjadi pregnenolon. Pregnenolon ini merupakan bahan utama bagi pembentukan berbagai hormon steroid yang berperan dalam proses-proses reproduksi (Gavish *et al.* 1999).

c. Pengaruh Alprazolam terhadap Hipotalamus-Pituitari-Adrenokortikal

Sampai saat ini sudah banyak peneliti yang menemukan pengaruh alprazolam terhadap aktivitas HPA (Hipotalamus-Pituitari-Adrenokortikal). Misalnya saja penelitian yang telah dilakukan oleh Owens *et al.* (1991) menemukan bahwa alprazolam menurunkan aktivitas HPA dengan cara mengurangi konsentrasi CRF (*Corticotripic Releasing Factor*) pada neuron tikus. Demikian juga dalam penelitian Kalogeras *et al.* (1990) dapat disimpulkan bahwa alprazolam mampu menekan aktivitas Pituitari-Adrenal primata, yang disebabkan oleh tekanan pada sekresi CRH (*Corticotropic Releasing Hormon*). Alprazolam pada dosis 0,01-0,3 mg/kg berat badan kera mampu menekan sekresi serotonin yang menyebabkan turunnya konsentrasi ACTH plasma.

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian yang dilakukan oleh Judd *et al.* (1995) bahwa alprazolam telah menurunkan frekwensi sekresi LH pulsatif (berdasarkan grafik naik turun) dan menaikkan amplitudonya pada wanita normal yang berada dalam fase folikuler awal, sedangkan pada wanita anovulasi pemberian alprazolam meningkatkan frekwensi dan amplitudo sekresi LH.

2. Ovarium

Pada sistem reproduksi betina organ yang berfungsi untuk menghasilkan telur atau ovum adalah ovarium. Pada semua mamalia betina terdapat sepasang ovarium. Masing-masing terletak di dekat ginjal yaitu tempat pertama kali ovarium mengalami diferensiasi (Nalbandov, 1990).

Ovarium dikenal sebagai kelenjar ganda sebab mampu bertindak sebagai kelenjar eksokrin (sitogenik) dan endokrin. Setiap ovarium menempel pada sisinya yang disebut hilus atau mesovarium yang merupakan lipatan peritonium, ke ligamentum latum (Leeson *et al.*, 1996).

Menurut Mahoney (1983) dan Junqueira *et al.* (1998) serta Leeson *et al.* (1996) ovarium dapat dibedakan menjadi dua daerah yang berbeda komposisi dasarnya. Bagian dalam disebut medula terdiri atas jaringan ikat fibrosa longgar yang mengandung pembuluh darah, pembuluh limfe dan saraf. Stroma pada bagian ini mengandung berkas serat otot polos. Korteks merupakan nama untuk bagian luar ovarium. Pada daerah yang merupakan tempat dijumpainya folikel dalam berbagai tingkat perkembangan, terdiri dari stroma padat. Stroma terbentuk atas jalinan serat retikulin dan sel berbentuk gelendong yang tersusun berpusar tidak teratur yang disebut fibroblas.

Ukuran ovarium sangat tergantung umur dan status reproduksi. Demikian pula dengan penampakan folikel-folikel korteks ovarium. Sebelum pubertas hanya akan terlihat folikel primer. Kematangan seks ditandai oleh adanya folikel berkembang (folikel sekunder dan De Graaf) serta hasil akhirnya (korpus luteum dan folikel atresia). Pada manusia khususnya, setelah menopause folikel-folikel menghilang dan korteks seluruhnya menjadi daerah tipis terdiri atas jaringan ikat fibrosa. Pertumbuhan dan perkembangan komponen-komponen histologisnya diatur oleh hormon-hormon yang berasal dari pituitari. Oleh karena itu banyak hal yang dapat dipelajari berkaitan dengan kualitas dan kuantitas hormon-hormon

tersebut dengan jalan memperhatikan ukuran serta gambaran histologis ovarium (Nalbandov, 1990).

Toranzo *et al.* pada tahun 1994 melakukan pengamatan pada ovarium dan menemukan adanya PBR dan DBI pada semua sel pelepas steroid ovarium. Banyaknya PBR pada ovarium yang belum dewasa meningkat sejalan dengan bertambahnya usia.

3. Siklus Reproduksi Mamalia Betina

a. Siklus Estrus

Terdapat pembagian siklus estrus berdasarkan banyak sedikitnya siklus yang terjadi selama satu tahun. Hewan yang hanya memiliki satu siklus estrus dalam satu tahun misalnya srigala, rusa dan rubah disebut monoestrus. Apabila terjadi lebih dari satu siklus estrus setiap tahunnya disebut sebagai poliestrus. Hewan-hewan yang mengalami poliestrus misalnya kuda, kambing dan kera rhesus (Austin dan Short, 1984). Pada tikus dan mencit, siklus estrusnya termasuk poliestrus hanya saja ketika hewan tersebut menyusui maka aktivitas seksual seolah-olah juga terhenti dan pada waktu itu disebut *lactational diestrus* (Sagi, 1994).

Perubahan-perubahan yang terjadi dalam ovarium dan vagina yang ditunjukkan oleh preparat *vaginal smear* menurut Partodihardjo (1980), Austin dan Short (1984) serta Bowen (1998) adalah sebagai berikut:

1. Proestrus

Proestrus adalah fase persiapan dan biasanya berlangsung dalam waktu yang relatif pendek. Pada fase ini juga mulai terlihat perubahan pada alat kelamin betina. Pada ovarium terlihat pertumbuhan folikel sampai pada ukuran maksimum. Pada fase ini juga terjadi LH *surge* yang dibutuhkan untuk mengimbas ovulasi. Pada preparat *vaginal smear* ditemukan sel-sel peralihan, yaitu peralihan dari sel-sel parabasal dan sel-sel intermediet menuju sel superfisial

2. Estrus

Estrus merupakan fase yang terpenting dalam siklus estrus, karena dalam fase ini hewan betina menunjukkan perilaku mau menerima hewan jantan untuk melakukan kopulasi. Perubahan yang terjadi pada ovarium yaitu dimulainya pemasakan bagi folikel yang telah dimulai pertumbuhannya pada fase proestrus. Dengan demikian folikel pada fase estrus adalah folikel yang telah siap untuk diovulasikan. Pada tikus ovulasi terjadi pada pertengahan fase estrus.

Gambaran preparat *vaginal smear* pada fase ini ditandai dengan ditemukannya banyak sel-sel superfisial. Sel superfisial adalah sel terbesar yang dapat dilihat dalam *vaginal smear*, berbentuk poligonal dan terlihat sangat pipih. Nukleus terkadang tidak ditemukan atau ditemukan tetapi sangat kecil dan gelap (piknotik). Sel-sel superfisial yang tanpa inti tersebut seringkali mengalami kornifikasi. Pada fase ini terkadang juga ditemukan leukosit dalam jumlah yang sangat sedikit.

Fase estrus merupakan periode birahi dan kopulasi hanya dimungkinkan pada saat ini. Keadaan ini pada tikus berakhir 9 sampai 15 jam dan ditandai dengan aktifitas berlari-lari yang sangat tinggi (Turner dan Bagnara, 1988). Austin dan Short (1984) menjelaskan bahwa pada fase ini hewan-hewan menunjukkan perubahan perilaku. Saat ini betina-betina tersebut menjadi sangat menarik bagi pejantan. Hewan yang sedang berada dalam fase estrus tersebut juga mau menerima rangsangan dari hewan jantan, bahkan kadang-kadang merekah yang mencari pejantan-pejantan tersebut.

3. Metestrus

Metestrus adalah fase dalam siklus estrus yang terjadi segera setelah estrus berakhir. Dalam ovarium terjadi pembentukan korpus hemoragikum pada tempat folikel de Graaf yang baru saja melepaskan ovum. Banyak leukosit muncul dalam lumen vagina dengan sedikit sel-sel superfisial

4. Diestrus

Diestrus adalah fase dalam siklus estrus yang ditandai tidak adanya kebuntingan, tidak adanya aktivitas kelamin dan hewan menjadi tenang. Dalam permulaan fase diestrus korpus hemoragikum mengkerut karena di bawah lapisan hemoragik ini tumbuh sel-sel kuning yang disebut luteum. Diestrus adalah fase yang terlama diantara fase-fase lain dalam siklus estrus.

Pada fase ini terjadi penurunan jumlah sel-sel superfisial pada preparat *vaginal smear* dan mulai munculnya sel-sel parabasal yaitu sel epitel terkecil yang dapat ditemukan pada *vaginal smear* dengan bentuk bulat atau agak bulat. Sel-sel parabasal mempunyai inti yang besar. Selain itu juga dapat ditemukan adanya sel-

sel intermediet yang mempunyai bentuk beragam dan ukurannya biasanya dua sampai tiga kali lebih besar dari sel parabasal.

b. Siklus Ovarium

Selama berlangsungnya siklus ovarium terjadi perubahan-perubahan terutama pada folikel ovarium, yaitu perubahan pada folikel primordia menjadi folikel sekunder kemudian berubah menjadi folikel tersier dan terakhir menjadi folikel De Graaf. Setelah terjadi ovulasi folikel De Graaf akan berubah menjadi korpus luteum. Semua proses-proses tersebut di atas dikenal dengan nama folikulogenesis (Williams, 2000).

Siklus ovarium dapat dibedakan menjadi dua tingkatan yaitu fase folikuler atau pembentukan folikel sampai masak dan fase luteal yaitu fase setelah ovulasi kemudian terbentuk korpus luteum sampai siklus berikutnya dimulai (Sagi, 1994). Siklus ovarium dan folikulogenesis adalah proses yang berlangsung terus-menerus sampai persediaan folikel primer habis. Tidak semua folikel primer akan mengalami pendewasaan secara lengkap, hanya sebagian kecil saja yang akan sampai pada stadium yang siap untuk diovasikan. Sebagian besar dari folikel-folikel tersebut akan mengalami atresia sebelum benar-benar menjadi folikel yang matang (Austin dan Short, 1984).

Setiap spesies mempunyai ciri tersendiri dalam rata-rata jumlah ovum yang diovasikan yang juga disebabkan oleh faktor-faktor genetik, musim, nutrisi dan faktor lingkungan lain. Pada manusia dan beberapa spesies yang biasanya terjadi ovulasi tunggal, maka hanya satu folikel yang lulus seleksi. Pada primata tingkat

tinggi seleksi folikel ini terjadi selama beberapa hari pertama setelah menstruasi. Folikel yang telah terseleksi untuk menjadi dominan, tumbuh dan berkembang secara cepat. Sedangkan folikel yang lain mengalami atresi (Austin dan Short, 1984).

Sejak mamalia betina lahir, terdapat banyak folikel primer di dalam korteks ovarium. Masing-masing terdiri dari sebuah oosit primer yang dibungkus oleh selapis sel folikel. Sebuah lamina basal terdapat di bawah sel folikel dan merupakan pembatas antara folikel avaskular dengan stroma ovarium (Junqueira *et al.*, 1998).

Perkembangan selanjutnya dari folikel primer adalah membentuk folikel sekunder. Pada fase ini untuk pertama kalinya folikel mengalami perbanyakan sel dan terdapat lapisan kedua di sekitar oosit. Folikel sekunder mengalami pertambahan ukuran dan jumlah yang cukup besar. Selanjutnya sel-sel folikel tersebut bersatu membentuk lapisan granulosa. Oosit primer mulai tumbuh dan memperbesar ukurannya. Pada perkembangan akhir, folikel sekunder terlihat dikelilingi oleh ruangan yang tidak teratur dan merupakan hasil diferensiasi sel-sel epitel dari stroma ovarium. Sel-sel epitel tersebut kemudian secara bersama-sama membentuk teka folikuli. Folikel sekunder dengan teka folikuli ini disebut juga sebagai folikel preantral. Pada perkembangan akhir folikel sekunder terjadi pemisahan teka folikuli menjadi teka interna dan teka eksterna (Guerin, 2002).

Folikel tersier disebut juga folikel caviti atau folikel antral, dicirikan dengan adanya caviti (antrum) dan diferensiasi teka folikuli menjadi teka interna dan teka

eksterna. Pertumbuhan folikel tersier terutama disebabkan pembelahan yang sangat cepat dari sel-sel folikel (Guerin, 2002).

Folikel matang (De Graaf) tampak sebagai vesikel transparan yang menonjolkan permukaan ovarium. Sebagai akibat penimbunan cairan, rongga folikel makin membesar, dan oosit melekat pada dinding folikel yang dibentuk oleh sel-sel granulosa. Pada stadium ini lapisan granulosa tampak menipis karena penambahan cairan folikel (*liquor folliculi*) tidak seimbang dengan pembelahan sel-sel granulosa. Sel granulosa yang menyusun lapisan pertama sekitar ovum akan memanjang dan membentuk korona radiata yang menyertai ovum bila meninggalkan ovarium (Junqueira *et al.*, 1998). Ketika folikel telah benar-benar matang dan membesar, maka folikel akan pecah dan ovum dilepaskan ke dalam rongga abdomen. Peristiwa ini disebut sebagai ovulasi. Ovum yang telah berada dalam abdomen diambil oleh ujung-ujung oviduk. Ovum disalurkan ke dalam uterus dan bila tidak terjadi pembuahan dikeluarkan lewat vagina (Ganong, 1997).

Semua folikel yang tidak lulus seleksi gagal berkembang dan mengalami atresia. Atresia ini dapat terjadi pada folikel primer atau pada semua tingkatan di atasnya. Tampaknya peristiwa atresia ini dimulai dari ovum dan diikuti oleh kematian sel-sel folikel (Leeson *et al.*, 1996). Pada tahap atresia lebih lanjut, maka tanda-tanda histologis yang menunjukkan disintegrasi akan tampak yaitu berupa butir-butir lemak dan granula kasar di dalam ovum, pengkerutan ovum, lepasnya ovum dari sel-sel granulosa disekitarnya dan akhirnya sel-sel granulosa mengalami disintegrasi (Nalbandov, 1990).

Pada teka folikel yang pecah terjadi pendarahan akibat pecahnya pembuluh kapiler, dan ruang folikel segera diisi oleh pembuluh darah baru. Dengan demikian siklus ovarium memasuki fase baru yaitu fase luteal. Sel-sel granulosa dan teka yang melapisi folikel mulai berproliferasi, dan bekuan darah dengan cepat digantikan oleh sel-sel luteal yang kaya lemak dan berwarna kekuningan (Ganong, 1997). Peristiwa *luteinizing* sel-sel granulosa penting dalam pembentukan korpus luteum normal yang menyediakan lingkungan yang memadai bagi pemeliharaan dan implantasi zigot (Austin dan Short, 1984).

c. Siklus Menstruasi

Selain ovarium, salah satu organ yang mengalami siklus sejalan dengan siklus reproduksi adalah uterus khususnya pada bagian endometrium. Siklus endometrium ini kemudian dikenal sebagai siklus menstruasi. Ketika memulai proses perkembangan, folikel dalam ovarium melepaskan hormon estrogen. Estrogen tersebut menyebabkan endometrium menebal sebagai awal persiapan kedatangan ovum (Mahoney, 1983). Seiring dengan peningkatan ketebalan, kelenjar-kelenjar uterus tertarik keluar sehingga memanjang. Tetapi kelenjar-kelenjar tersebut belum mengeluarkan sekresi. Perubahan endometrium ini disebut proliferasi dan bagian dari siklus menstruasi ini disebut fase proliferasi (Ganong, 1997).

Setelah ovulasi, kelenjar-kelenjar pada endometrium mulai mengumpat dan mulai mensekresikan cairan jernih. Cairan ini disekresikan sebagai persiapan terjadinya implantasi embrio. Untuk selanjutnya fase ini disebut sebagai fase

sekretorik. Pada akhir fase sekretorik endometrium menghasilkan prolaktin yang belum diketahui fungsinya (Ganong, 1997).

Ketika ovum yang dilepaskan saat ovulasi tidak mengalami pembuahan, korpus luteum mulai degenerasi dan menyebabkan turunnya produksi estrogen dan progesteron. Hal ini berakibat turunnya pasokan hormon bagi endometrium. Penurunan ini pada akhirnya menyebabkan pecahnya pembuluh darah endometrium dan endometrium terkelupas sehingga tipis kembali. Jaringan endometrium yang terkelupas bersama dengan darah dari kapiler meninggalkan uterus menuju serviks dan keluar dari tubuh melalui vagina sebagai cairan menstruasi atau secara umum dikenal sebagai darah haid. Fase terjadinya pendarahan ini dikenal sebagai fase menstruasi. Ketika pendarahan terhenti, maka dinding endometrium mengalami perbaikan kembali, sehingga siklus menstruasi kembali memasuki fase proliferasi dan perputaran fase kembali terjadi (Ganong, 1997; Mahoney, 1983).

4. Ovulasi

Ovulasi adalah peristiwa pelepasan ovum oleh folikel De Graaf yang pecah menuju rongga tubuh. Ovum yang dikeluarkan masih berbentuk oosit sekunder. Oosit sekunder tersebut masih dikelilingi oleh zona pelusida dan korona radiata (Williams, 2000). Ovulasi pada mamalia tampaknya tergantung kepada rangsang saraf yang menyebabkan kenaikan singkat kadar gonadotropin pituitari. Hormon-

hormon LH dan FSH diduga merupakan penginduksi utama (OIH, *Ovulation Inducing Hormon*) bagi timbulnya ovulasi (Turner dan Bagnara, 1988).

Sebagian besar mamalia seperti primata, hamster, mencit dan tikus, mengalami ovulasi pada akhir fase folikuler dan kemudian memulai pembentukan korpus luteum. Pada binatang-binatang tersebut tidak memerlukan koitus untuk merangsang ovulasi. Mekanisme ovulasi yang demikian disebut ovulasi spontan (Hadley, 2000).

Kebalikan dari ovulasi spontan adalah ovulasi imbas. Sesuai dengan namanya ovulasi ini memerlukan rangsangan dari luar. Ovulasi imbas biasanya terjadi setelah kopulasi. Hewan-hewan yang tergolong ovulasi imbas misalnya kucing rumah dan kelinci (Hadley, 2000). Mengacu pada pendapat Johnson dan Everitt (1988), ovulasi spontan bergantung pada perkembangan ovarium, puncak pelepasan estrogen yang menyebabkan lepasnya LH besar-besaran, sedangkan pada ovulasi imbas hewan-hewan tersebut akan tetap pada perilaku estrus dalam jangka waktu lama tanpa terjadinya ovulasi sampai terjadi kopulasi oleh pejantan. Stimulasi dari serviks selama koitus membangkitkan refleksi pelepasan LH yang mengimbas ovulasi.

Foikel De Graaf pada beberapa spesies mudah dikenali karena ukurannya yang besar dan terlihat vaskuler. *LH surge* menyebabkan perubahan biokimia dan struktur yang mengakibatkan pecahnya dinding folikel. Dengan demikian ovum yang masih tetap terbungkus korona radiata keluar dari folikel. Menipisnya dinding folikel merupakan penyebab pecahnya folikel. Walaupun terdapat

kenaikan yang signifikan pada *liquor folliculi* tetapi tidak menaikkan tegangan intrafolikuler yang bisa menyebabkan pecahnya folikel (Austin dan Short, 1984).

Menurut Austin and Short (1984) robeknya dinding folikel dan perubahan-perubahan pada dinding folikel disebabkan oleh pelepasan enzim kolagenase. Pelepasan LH menstimuli produksi $\text{PGF}_{2\alpha}$ dan PGE_2 pada cairan folikel De Graaf. $\text{PGF}_{2\alpha}$ menstimulasi pengeluaran enzim kolagenase oleh sel-sel yang melapisi folikel.

5. Pengendalian Hormon pada Sistem Reproduksi Betina

c. Hipotalamus-Pituitari

Salah satu hormon yang disekresikan oleh hipotalamus dan sangat berpengaruh dalam sistem reproduksi adalah *Gonadotrophin Releasing Hormon* (GnRH). Dengan menggunakan metode RIA (*Radioimmuno Assay*) diketahui bahwa GnRH ditemukan di daerah basal hipotalamus dan lebih banyak ditemukan pada daerah anterior. GnRH yang diproduksi oleh neuron hipotalamus tersebut dibawa menuju anterior pituitari oleh pembuluh darah portal. Hormon ini dianggap sebagai perantara akhir utama bagi semua pengaruh reproduksi untuk disampaikan pada sistem saraf pusat, sehingga gangguan sekresi GnRH menyebabkan penghambatan fungsi gonadotropin yang akhirnya menyebabkan atresi organ kelamin (Johnson dan Everitt, 1988).

Sintesis dan sekresi LH dan FSH dipengaruhi oleh GnRH. Sekresi GnRH dan LH ditunjukkan oleh suatu grafik yang naik turun (pulsatif). Grafik GnRH

dalam darah portal menunjukkan suatu kesetaraan dengan *LH surge*. GnRH yang dilepaskan dalam darah secara teratur menurut suatu grafik pulsatif menuju dan terikat pada reseptornya pada pituitari. Hal ini menyebabkan sekresi LH dan FSH oleh anterior pituitari secara pulsatif juga. Perubahan sekresi GnRH, LH dan FSH mungkin dicapai oleh kenaikan atau penurunan frekwensi atau amplitudo grafik GnRH atau oleh pengaturan respon gonadotrofi terhadap grafik GnRH (Johnson dan Everitt, 1988).

Beberapa penelitian telah dilakukan oleh para ahli untuk mengetahui pengaruh hormon-hormon gonadotrofin terhadap FSH dan LH. Dengan menggunakan metode RIA diketahui bahwa kandungan LH dan FSH dalam darah meningkat sangat tajam sesaat sebelum ovulasi dalam waktu yang bersamaan. Perbedaan antara saat sebelum kenaikan dan setelah kenaikan yang ditunjukkan dalam grafik terlihat sangat tajam, demikian pula setelah mencapai puncak, terjadi penurunan yang signifikan setara dengan kenaikannya (Nalbandov, 1990).

Folikel-folikel dalam ovarium akan tercegah dari atresia hanya jika terdapat cukup kandungan FSH dalam dosis perawatan (dosis yang tidak mengimbas ovulasi) dan sedikit LH di dalam sirkulasi. Kerja gonadotrofin adalah memicu folikel primer menjadi folikel perkembangan. Pada proses ini granulosa dan sel-sel teka berproliferasi sehingga mengakibatkan ukuran folikel bertambah. Fase kedua dari pertumbuhan folikel mulai menunjukkan peningkatan sintesa estrogen dan androgen. Produksi steroid dikontrol oleh gonadotrofin. Setelah mencapai ovarium gonadotrofin tersebar menuju reseptornya masing-masing yang terletak di tempat yang berbeda. Sel-sel granulosa hanya mengikat FSH sedangkan LH

hanya terikat pada teka interna. Pemisahan kedua populasi sel ini secara *in vitro* menunjukkan bahwa sel-sel teka interna mensintesa androgen dan estrogen dari asetat dan kolesterol. Konversi ini dikontrol oleh LH. Kebalikannya pada sel-sel granulosa tidak dapat membentuk androgen dan kebutuhannya dipenuhi dari pasokan androgen sel-sel teka interna. Di dalam sel-sel granulosa androgen mengalami aromatisasi menjadi estrogen. Proses ini distimuli oleh FSH. Estrogen dalam kerjasamanya dengan FSH mempunyai peranan penting bagi proses akhir perkembangan folikel sekunder dan tersier, yaitu menstimuli kemunculan *LH binding site* dalam lapisan luar sel-sel granulosa. *LH binding site* diperlukan dalam pengubahan folikel perkembangan menjadi folikel De Graaf. Efek dari pengeluaran LH pada folikel De Graaf ada dua macam yaitu menyebabkan perubahan pada folikel dan oosit yang mengakibatkan terlepasnya oosit dari folikel saat ovulasi dan merubah keseluruhan mekanisme endokrin dalam folikel yang menjadikannya korpus luteum. Pada lapisan luar sel-sel granulosa folikel De Graaf beberapa jam setelah *LH surge* menunjukkan perubahan yang berbeda dari folikel perkembangan. Sel-sel granulosa tersebut tidak lagi terus-menerus mengubah androgen menjadi estrogen, tetapi mulai mensintesis progesteron. Perubahan kedua pada sel-sel granulosa folikel De Graaf mulai kehilangan kemampuan untuk mengikat estrogen dan FSH (Johnson dan Everitt, 1988).

Setelah didapatkan suatu cara untuk memisahkan kompleks gonadotropin menjadi dua komponen yaitu LH dan FSH, maka diketahui bahwa LH adalah pengimbas ovulasi. Meskipun LH masih dianggap sebagai hormon ovulasi utama, namun telah ditemukan bahwa pada tikus yang dihipofisektomi ovulasi dapat

ditimbulkan dengan pemberian FSH. Hal ini membuktikan bahwa terlepasnya FSH dan LH secara simultan menjadi penyebab terjadinya ovulasi (Nalbandov, 1990).

d. Estrogen

Sekresi estrogen merupakan umpan balik negatif bagi terlepasnya gonadotropin pituitari. Pemberian estrogen pada dosis rendah terhadap tikus lewat suntikan telah menyebabkan pelepasan LH, sebaliknya jika estrogen disuntikkan dalam dosis tinggi maka sekresi gonadotropin tercegah sempurna (Nalbandov, 1990).

Disamping pengaruh sistemik lewat pituitari, terdapat gejala bahwa estrogen dapat memberikan pengaruh langsung dan lokal terhadap ovarium. Apabila tikus imatur dan hipofisektomi (diambil hipofisis atau pituitarinya) diberi suntikan tunggal dosis tinggi estrogen, berat ovarium meningkat pada hari ketiga dan banyak folikel berkembang ke stadium sekunder atau tersier. Selain pada ovarium, estrogen juga mengatur perkembangan uterus (Turner dan Bagnara, 1988).

e. Progesteron

Progesteron memiliki aksi yang bervariasi terhadap organ reproduksi betina, dan di bawah kondisi fisiologik sering bekerja secara sinergik dengan estrogen. Senyawa ini adalah hormon yang penting untuk perkembangan blastosit mamalia di dalam oviduk dan untuk produksi endometrium pra kebuntingan tempat blastosit berimplantasi. Selain itu progesteron juga berperan penting dalam

memelihara kebuntingan dan mengatur organ-organ pelengkap selama kebuntingan (Turner dan Bagnara, 1988).

6. Toksisitas pada Sistem Reproduksi Betina

Tirri (2001) mengartikan toksisitas reproduksi sebagai efek merugikan pada sistem reproduksi jantan dan betina yang diakibatkan oleh pemberian substansi kimia. Toksisitas reproduksi bisa ditunjukkan sebagai perubahan dalam perilaku seksual, penurunan tingkat kesuburan, atau kehilangan janin selama kehamilan.

Pengertian yang hampir sama juga diusulkan oleh Perry dan Lund (2002) yang menyebutkan bahwa toksisitas reproduksi betina adalah efek yang merugikan dari zat kimia beracun pada sistem reproduksi betina secara umum termasuk efek pada ovum atau pada siklus hormonal. Perwujudan dari efek tersebut adalah ketidakaturan siklus menstruasi, berkurangnya kemungkinan implantasi dan ketidaknormalan perkembangan dan fungsi plasenta.

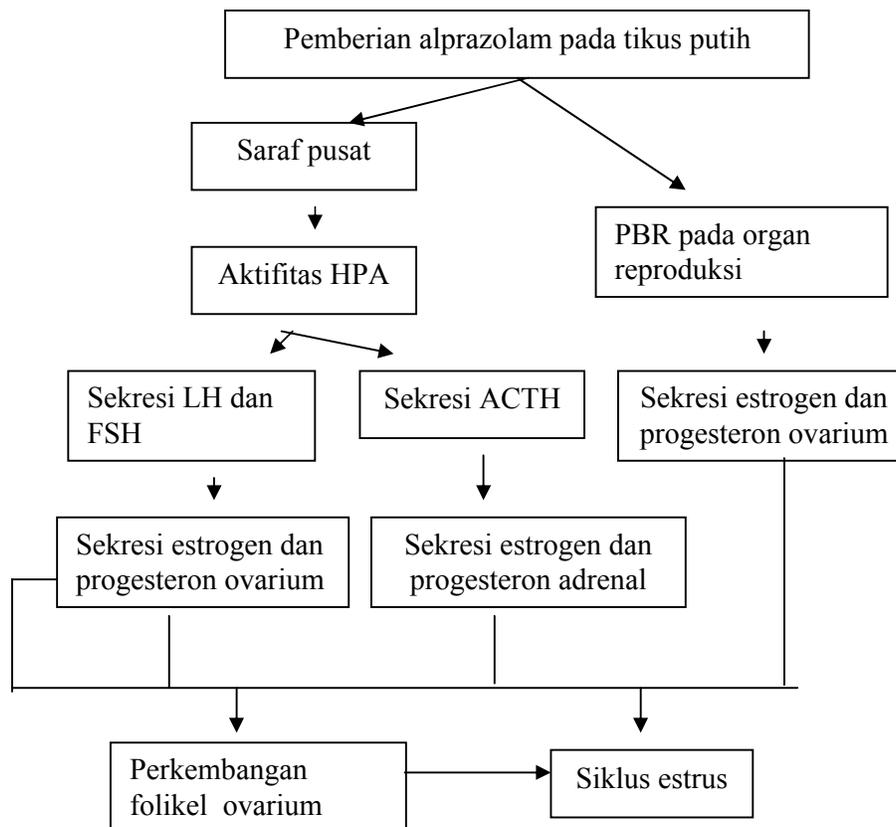
Mekanisme toksisitas dapat disingkat sebagai beberapa efek yang mengganggu fungsi sebuah sel, organ atau organisme. Toksikan bekerja sebagai penghambat aliran materi, energi atau informasi yang diperlukan untuk fungsi normal suatu sel, organ atau organisme. Di dalam organ target, toksikan akan berinteraksi dengan sel atau komponen subseluler sehingga mengganggu fungsi normal reproduksi. Jika efek toksis ini tidak diperbaiki, sistem reproduksi akan berubah. Efek toksis tersebut bisa bersifat sangat spesifik, bekerja hanya pada

fungsi tunggal atau sel tunggal atau meluas dan tidak spesifik, dengan banyak efek toksis pada organisme (Mattison dan Thomford, 1988).

Toksikan reproduksi mungkin bekerja secara langsung dengan cara membentuk struktur yang sangat mirip dengan komponen endogen (misalnya hormon atau vitamin) atau karena terjadinya reaksi kimia (misalnya denaturasi). Beberapa toksikan reproduksi juga bisa bekerja secara tidak langsung dengan cara mengikuti alur metabolisme sebelum pada akhirnya menghasilkan efek toksis. Pada kerja yang tidak langsung tersebut toksikan bisa bertindak sebagai penginduksi atau penghambat enzim yang dapat merubah mekanisme kontrol fisiologi. Suatu jenis zat kimia dimungkinkan untuk bekerja melalui dua mekanisme tersebut sekaligus. Sebagai contoh polikrilik hidrokarbon, selain bisa bekerja secara langsung dengan cara mengikat reseptor hormon steroid atau bekerja secara tidak langsung dengan menginduksi enzim mikrosomal monooksigenase atau transferase (Mattison dan Thomford, 1988).

B. Kerangka Pemikiran

Pemberian alprazolam pada tikus putih dapat mempengaruhi kerja saraf pusat sehingga mempengaruhi pula aktivitas HPA. Pengaruh tersebut dapat memberikan perubahan pada sekresi LH dan FSH serta ACTH, yang pada akhirnya juga mempengaruhi sekresi estrogen dan progesteron yang dihasilkan baik oleh ovarium maupun adrenal. Pemberian alprazolam pada tikus juga mempengaruhi aktivitas PBR di dalam organ reproduksi yang pada akhirnya merubah juga merubah sekresi estrogen dan progesteron ovarium. Perubahan sekresi estrogen dan progesteron ovarium dan adrenal tersebut dapat mempengaruhi perkembangan folikel ovarium maupun siklus estrus tikus putih.



Gambar 2. Kerangka Pemikiran

C. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah

1. Alprazolam berpengaruh terhadap siklus estrus tikus putih (*Rattus norvegicus*) yaitu mengubah panjang waktu berlangsungnya masing-masing fase.
2. Alprazolam berpengaruh terhadap struktur histologis ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*) yaitu mengubah jumlah masing-masing folikel pada ovarium pada berbagai tingkat perkembangan dan merusak struktur jaringan ovarium yang lain.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Perlakuan hewan uji dan pengamatan siklus estrus dilaksanakan di Unit Pengembangan Hewan Penelitian (UPHP) UGM Yogyakarta pada bulan Februari 2003 selama satu bulan, sedangkan untuk pembuatan preparat histologi ovarium dilaksanakan di Laboratorium Balai Penyelidikan Penyakit Hewan (BPPH) Wates Yogyakarta pada bulan Maret 2003. Dilanjutkan dengan pengamatan preparat histologis ovarium yang dilakukan di Laboratoium Pusat MIPA UNS pada bulan Maret 2003.

B. Alat dan Bahan

1. Alat Penelitian

- a. Alat yang digunakan untuk perlakuan berupa kandang untuk pemeliharaan tikus putih beserta tempat pakan dan minum, timbangan analitik dan *disposable syringe* ukuran 1,0 ml yang telah diberi kanul pada bagian ujungnya.
- b. Alat untuk pengamatan siklus estrus adalah: *cotton bud*, gelas benda, gelas penutup, pipet tetes, dan mikroskop cahaya.
- c. Alat yang digunakan untuk pembedahan meliputi bak parafin, gunting, scalpel, pinset, kapas dan cawan petri.

- d. Alat yang digunakan dalam pembuatan dan pengamatan preparat histologi ovarium yaitu cawan petri, botol preparat, pipet tetes, gelas ukur, pisau, timer, gelas piala, oven parafin, holder, mesin *prossesing*, *rotary microtome* beserta pisaunya, gelas benda dan gelas penutup, *staining jar*, *hot plate*, *water bath*, kertas isap dan kotak preparat.
- e. Alat untuk pengambilan data adalah mikroskop cahaya dan buku kerja.
- f. Alat untuk pembuatan foto adalah seperangkat alat fotomikroskopi dan rol film serta seperangkat kamera digital.

2. Bahan Penelitian

- a. Bahan yang digunakan untuk perlakuan adalah tikus putih betina berumur dua bulan dengan berat rata-rata 200 gram, Br II pellet sebagai pakan sehari-hari, air ledeng, alprazolam, dan minyak wijen.
- b. Bahan untuk pengamatan siklus estrus yakni aquades dan zat warna *methylen blue* 0,1%.
- c. Bahan yang digunakan dalam pembuatan preparat histologis ovarium yakni ovarium mencit, formalin 10%, alkohol 70%, 80%, 90% dan 96%, xilol, parafin dengan titik cair 55-60⁰C, aquades, pewarna *Hematoxylin Eosin* (HE), meyers albumin dan entelan.

C. Cara Kerja

1. Rancangan Percobaan

Percobaan mengenai efek pemberian alprazolam terhadap reproduksi betina ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (*Completely Randomized Design*) dengan satu faktor yaitu dosis alprazolam.

2. Persiapan

Tikus putih betina berumur 2 bulan dengan berat badan rata-rata 200 gram dipelihara di dalam kandang. Masing-masing kandang berisi lima tikus putih dengan kelompok perlakuan yang sama. Total jumlah tikus putih yang digunakan adalah 25 tikus dibagi dalam 5 kelompok perlakuan.

Sebelum digunakan tikus putih betina tersebut diaklimatisasi terlebih dahulu di dalam kandang selama satu minggu.

3. Perlakuan

Tikus putih yang telah dikelompokkan dan diaklimatisasi tersebut diberi makan dan diberi larutan alprazolam secara oral dengan dosis perhari menurut kelompok perlakuan sebagai berikut:

Kelompok 1 : 1 ml minyak wijen sebagai kontrol

Kelompok 2 : 0,018 mg alprazolam dilarutkan dalam minyak wijen sampai volume larutan 1 ml

Kelompok 3 : 0,036 mg alprazolam dilarutkan dalam minyak wijen sampai

- volume larutan 1 ml
- Kelompok 4 : 0,054 mg alprazolam dilarutkan dalam minyak wijen sampai volume larutan 1 ml
- Kelompok 5 : 0,072 mg alprazolam dilarutkan dalam minyak wijen sampai volume larutan 1 ml

(Owen *et al*, 1991)

4. Pembuatan Preparat Vaginal Smear

Pembuatan preparat *vaginal smear* ini menggunakan alat yang berupa *cotton bud*. Alat ini berfungsi untuk mengambil sel-sel epitel vagina sehingga dapat diamati bentuknya. Sel-sel epitel vagina yang telah terambil selanjutnya diletakkan dalam gelas benda untuk diberi pewarna. Sel-sel epitel vagina tersebut untuk selanjutnya diamati di bawah mikroskop cahaya.

5. Pembuatan Preparat Histologi Ovarium

Metode yang digunakan dalam pembuatan preparat histologi ovarium adalah metode parafin. Ovarium diambil dari tikus putih baik kontrol maupun yang diberi perlakuan yang telah dibunuh. Di dalam metode parafin terdapat tahap-tahap kerja dengan urutan sebagai berikut:

- a. *Fixasi*
- b. *Dehidrasi*
- c. *Clearing*
- d. *Infiltration*
- e. *Embedding*

f. Sectioning

g. Affixing

h. Mounting

D. Teknik Pengambilan Data

Metode *vaginal smear* adalah metode yang paling umum digunakan untuk mengetahui siklus estrus hewan percobaan yang dalam hal ini adalah tikus putih. Pengambilan data siklus estrus menggunakan *vaginal smear* ini dilakukan setiap hari selama 20 hari pertama perlakuan. Kemudian dilakukan pengamatan waktu terjadinya fase estrus, diestrus dan proestrus serta lamanya siklus tersebut berlangsung pada masing-masing individu tikus putih. Hasil yang diperoleh kemudian dibandingkan antar kelompok perlakuan.

Setelah perlakuan selama 30 hari, tikus putih kemudian dikawinkan dengan pejantan. Dua hari setelah ditemukannya *vaginal plug*, tikus putih dibunuh dengan cara *cervical dislocation*.

Setelah didapatkan preparat histologis ovarium, selanjutnya dilakukan pengamatan kuantitatif ovarium dengan cara menghitung komponen-komponen penting ovarium yang meliputi folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier, folikel atresia dan korpus luteum. Sedangkan pengamatan kualitatif dilakukan dengan cara mengamati struktur ovarium.

E. Analisis Data

Data kuantitatif yang diperoleh yaitu data jumlah folikel-folikel ovarium diuji dengan analisis sidik ragam (ANOVA). Selanjutnya dilakukan pengujian lebih lanjut menggunakan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) dengan taraf uji 5%. Data kualitatif yaitu siklus estrus dan struktur histologi ovarium dianalisa dengan cara membandingkan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol serta membandingkan antar kelompok perlakuan berdasarkan perbedaan dosis alprazolam yang diberikan.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Struktur histologis ovarium dianalisis menggunakan dua jenis parameter yaitu parameter kuantitatif dan parameter kualitatif. Parameter kuantitatif berupa penghitungan folikel-folikel yang terdapat dalam ovarium dianalisis menggunakan uji *one way* anova dilanjutkan dengan uji DMRT dengan taraf uji 5%, sedangkan parameter kualitatif meliputi perbandingan struktur histologis ovarium pada berbagai kelompok perlakuan.

A. Siklus Estrus

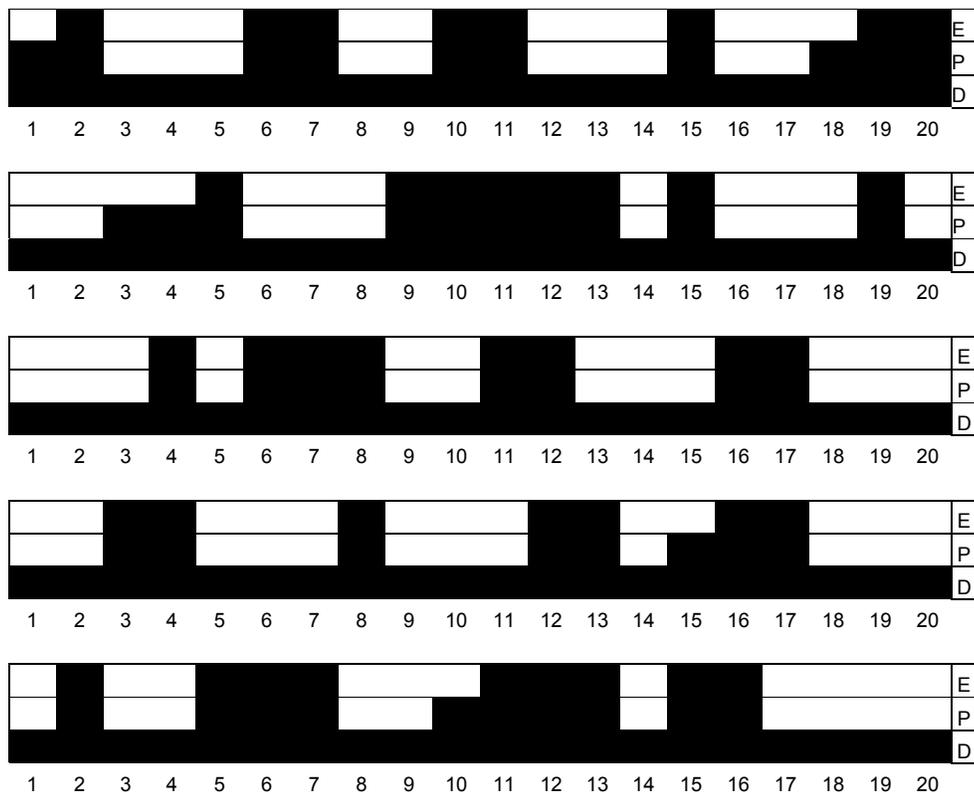
Siklus estrus merupakan siklus seksual yang terjadi pada hewan betina. Menurut Turner dan Bagnara (1988) siklus estrus tersebut terbagi dalam beberapa fase yang berurutan yaitu fase estrus, fase metestrus, fase diestrus dan fase proestrus. Adanya perubahan dari satu fase ke fase berikutnya sangat dipengaruhi oleh kondisi hormonal dari individu tersebut. Kondisi hormonal tersebut bisa menyangkut hormon-hormon gonadotropin (LH, FSH dan prolaktin) maupun hormon-hormon steroid gonad (estrogen dan progesteron).

Untuk mendapatkan data mengenai siklus estrus maka dilakukan pengamatan *vaginal smear*. Hasil yang diperoleh kemudian ditampilkan dalam suatu gambar. Perubahan lama tiap fase siklus estrus pada tikus putih dapat terlihat dari perubahan pola gambar tersebut. Metode ini mengacu pada metode

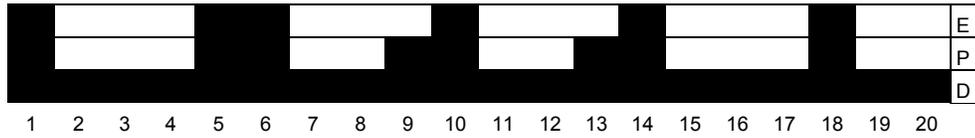
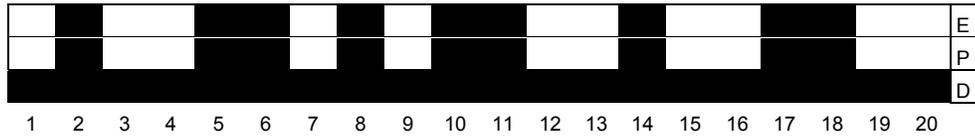
yang digunakan oleh Nagasawa *et al.* (1974) dalam penelitiannya yang berjudul “*Irreversible Inhibition of Pituitary Prolactin and Growth Hormone Secretion and of Mammary Gland Development in Mice by Monosodium Glutamat Administrated Neonataly*”.

Gambar 3 menunjukkan perubahan fase-fase siklus estrus yang terjadi pada setiap hewan uji selama 20 hari setelah pemberian alprazolam.

Kelompok 1

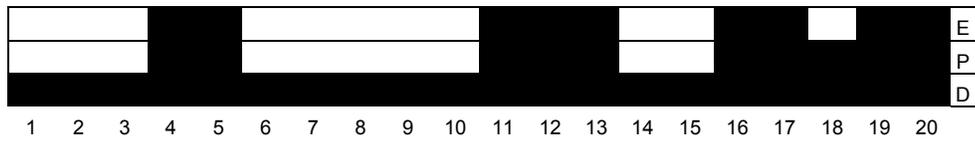
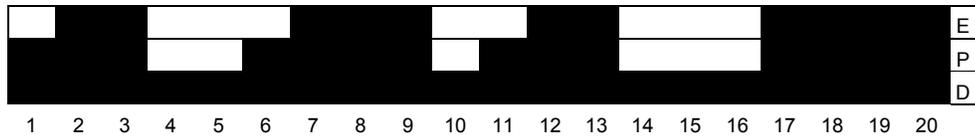
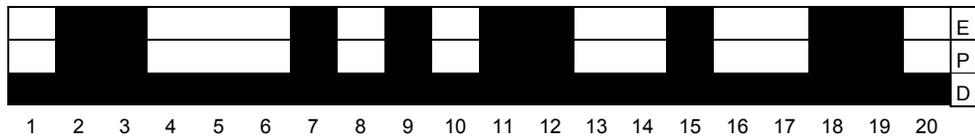


Keterangan: - Angka menunjukkan urutan hari
 -E = fase estrus
 -P = fase proestrus
 -D = fase diestrus



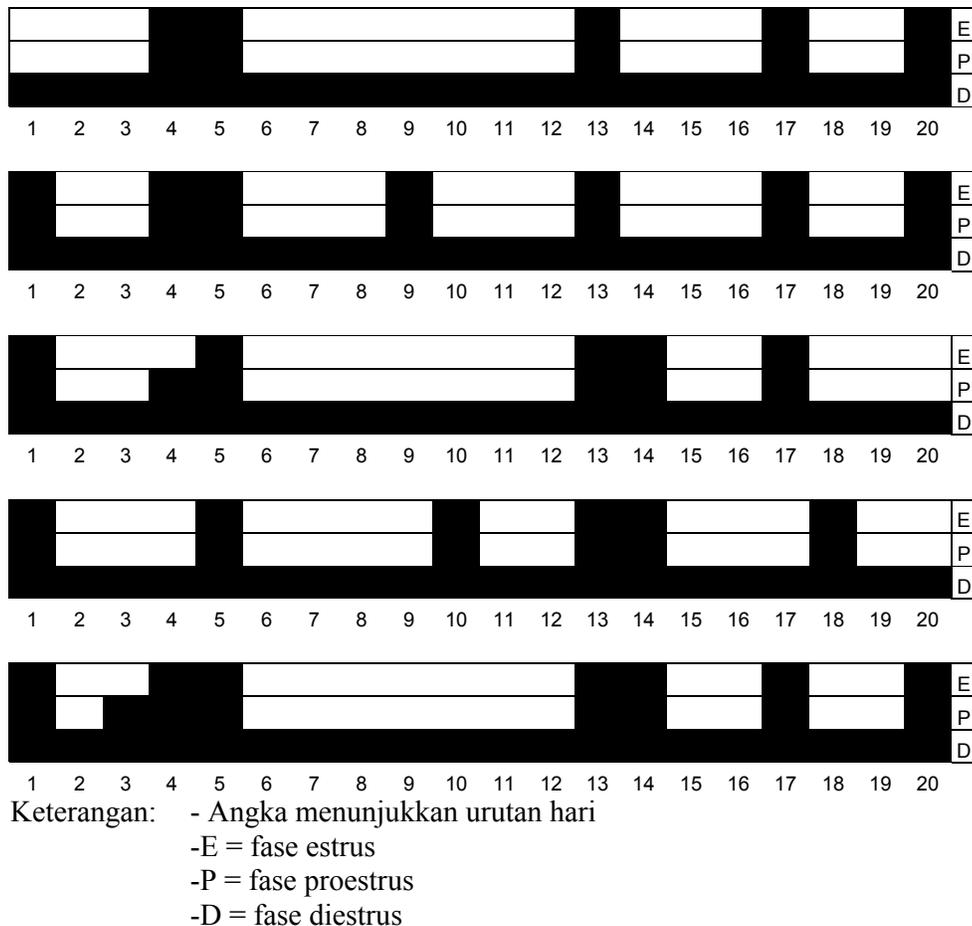
Keterangan: - Angka menunjukkan urutan hari
 -E = fase estrus
 -P = fase proestrus
 -D = fase diestrus

Kelompok 4



Keterangan: - Angka menunjukkan urutan hari
 -E = fase estrus
 -P = fase proestrus
 -D = fase diestrus

Kelompok 5



Gambar 3. Pola perubahan panjang fase-fase dalam siklus estrus tikus putih (*Rattus norvegicus*)

Dari pola yang ditunjukkan pada gambar 3, mulai dari kelompok 1 sampai kelompok 4 tidak terdapat perubahan panjang fase estrus yang berarti. Walaupun terdapat beberapa individu yang mengalami perbedaan panjang fase estrus yang berarti, akan tetapi secara umum kelompok tersebut tidak mengalami perubahan panjang fase yang berarti. Perubahan panjang fase estrus secara umum hanya terlihat pada kelompok 5, yaitu fase estrus mengalami pemendekan. Perubahan

fase diestrus telah mulai terlihat pada kelompok 4. Pada kelompok tersebut fase diestrus mengalami pemanjangan dan semakin diperpanjang pada kelompok 5. Fase proestrus juga terlihat mengalami pemendekan pada kelompok 5, sedangkan untuk kelompok 2, 3, dan 4 panjang fase proestrus relatif sama jika dibandingkan dengan kontrol.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Judd *et al.*(1995) dapat diketahui bahwa pemberian alprazolam dapat menurunkan frekwensi pelepasan LH pulsatif dan menaikkan amplitudonya pada wanita yang berada pada fase folikuler awal. Fase folikuler adalah fase ketika terjadi pertumbuhan folikel di dalam ovarium. Pada hewan yang pembagian siklus ovariumnya berbeda dengan manusia, waktu terjadinya pertumbuhan folikel sampai pertumbuhan maksimum disebut sebagai fase proestrus. Di dalam fase ini pulalah terjadi LH *surge* dan diikuti oleh ovulasi (Austin dan Short,1984).

Ketika tikus putih yang menjadi hewan uji mendapatkan perlakuan pemberian alprazolam, maka berdasarkan penelitian Judd *et al.*(1995) pada saat fase proestrus akan terjadi penurunan frekwensi LH pulsatif dan kenaikan amplitudonya. Hal ini berarti sekresi LH langsung berada pada dosis yang tinggi dalam kurun waktu yang relatif singkat, dengan demikian akan mempercepat terjadinya LH *surge* yang menandai berakhirnya fase proestrus. Hal tersebut akan memperpendek waktu terjadinya fase proestrus seperti yang terlihat pada hasil penelitian (Gambar 3).

Setelah terjadi LH *surge* maka tikus putih segera memasuki fase estrus. Di dalam fase inilah terjadi peristiwa ovulasi yang menyebabkan lepasnya ovum ke

dalam oviduk. Pada fase ini juga terjadi sekresi estrogen yang relatif tinggi. Estrogen yang tinggi ini menyebabkan munculnya tanda-tanda adanya fase estrus yang terdiri dari perubahan tingkah laku dan psikologis (Bearden dan Fuquay, 1980).

Efek alprazolam diketahui dapat menyebabkan turunnya keinginan seksual dan kemampuan untuk mencapai orgasme (Crenshaw dan Goldberg, 1996). Pada hewan, keinginan seksual ini dikenal sebagai reseptivitas seksual atau penerimaan hewan betina terhadap hewan jantan. Reseptivitas seksual ini hanya terjadi pada saat fase estrus saja dan dikontrol oleh hormon estrogen. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa pada hewan uji, alprazolam juga menurunkan reseptivitas seksual. Dikarenakan reseptivitas seksual ini dikontrol oleh hormon estrogen, maka kemungkinan pemberian alprazolam ini juga menurunkan sekresi estrogen.

Sebelum terjadi ovulasi dan sebelum terbentuk korpus luteum, di dalam ovarium sebenarnya telah terbentuk progesteron. Progesteron ini dalam jumlah yang sangat kecil bersama-sama estrogen menyebabkan reseptivitas seksual. Ketika sekresi estrogen menurun, maka progesteron menjadi dominan. Ketika sekresi progesteron melimpah, maka hewan mulai memasuki fase diestrus. Penurunan sekresi estrogen dan dominasi sekresi progesteron itulah yang menyebabkan pemendekan fase estrus dan pemanjangan fase diestrus pada hewan uji terutama pada kelompok 5.

B. Struktur Histologis Ovarium

Ovarium merupakan organ seksual betina yang penting sebab ovum yang merupakan bahan utama bagi pembentukan individu baru, terbentuk pada organ tersebut. Sebagaimana halnya dengan organ yang lain, ovarium juga dapat mengalami kerusakan akibat paparan zat-zat asing. Peristiwa ini dikenal sebagai toksisitas (Perry dan Lund, 2002). Kerusakan ovarium dapat mempengaruhi sistem reproduksi suatu individu. Bahkan menurut Nalbandov (1990) kondisi atau gambaran keadaan ovarium bisa digunakan sebagai indikasi keseimbangan hormon-hormon reproduksi.

Pada penelitian ini pengamatan ovarium dilakukan melalui dua cara yaitu secara kuantitatif dan secara kualitatif. Pengamatan kuantitatif dilakukan dengan cara menghitung folikel-folikel yang ada di dalam ovarium meliputi folikel primer, sekunder, tersier, korpus dan atresia, sedangkan pengamatan kualitatif dilakukan dengan mengamati kerusakan yang terjadi pada bagian-bagian ovarium terutama folikel ovarium.

1. Pengamatan Kuantitatif Folikel Ovarium

Seperti halnya pada organ seksual yang lain seperti uterus yang mengalami siklus menstruasi dan vagina yang mengalami perubahan sel-sel epitel sejalan dengan perubahan siklus estrus, maka ovarium juga mengalami siklus dalam kehidupan seksual hewan betina. Siklus yang terjadi dalam ovarium menyangkut perubahan-perubahan yang dialami oleh folikel-folikelnnya.

Tabel 1. Rata-rata Prosentasi Setiap Folikel Ovarium setelah Pemberian Alprazolam Selama 30 Hari

Kelompok	Rata-rata prosentase folikel primer \pm SD	Rata-rata prosentase folikel sekunder \pm SD	Rata-rata prosentase folikel tersier \pm SD	Rata-rata prosentase korpus \pm SD	Rata-rata prosentase folikel atresi \pm SD
1	26.51 \pm 10.42	14.70 \pm 5.53	25.42 \pm 8.83	14.62 \pm 5.27	18.74 \pm 7.21
2	23.59 \pm 6.38	12.49 \pm 3.71	23.66 \pm 1.85	13.25 \pm 2.82	26.99 \pm 8.98
3	23.55 \pm 10.48	11.65 \pm 4.33	23.36 \pm 3.01	13.23 \pm 8.37	28.21 \pm 4.21
4	21.20 \pm 2.65	14.37 \pm 4.60	20.56 \pm 2.94	14.31 \pm 4.72	27.56 \pm 7.58
5	24.17 \pm 9.12	14.59 \pm 3.62	22.25 \pm 12.41	14.62 \pm 7.58	24.40 \pm 8.27

Kelompok 1: Kontrol (1ml minyak wijen)

Kelompok 2: 0,018 mg alprazolam/200 gr BB dilarutkan dalam minyak wijen sampai volume 1 ml

Kelompok 3: 0,036 mg alprazolam/200 gr BB dilarutkan dalam minyak wijen sampai volume 1 ml

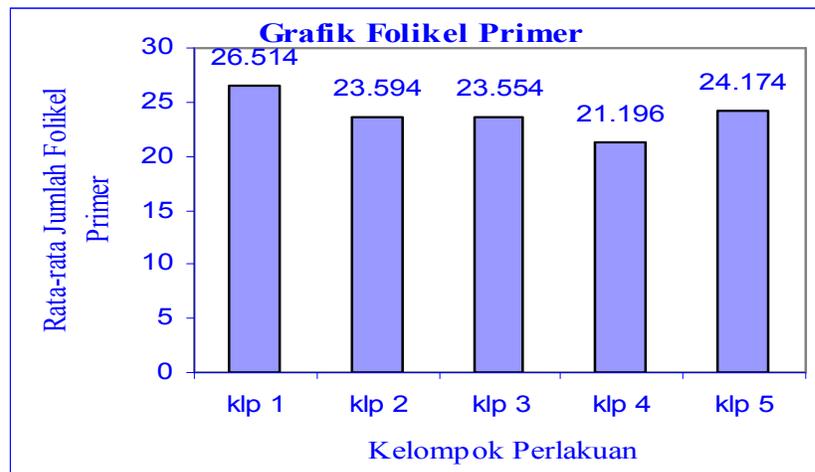
Kelompok 4: 0,054 mg alprazolam/200 gr BB dilarutkan dalam minyak wijen sampai volume 1 ml

Kelompok 5: 0,072 mg alprazolam/200 gr BB dilarutkan dalam minyak wijen sampai volume 1 ml

Tabel 1 menunjukkan hasil analisis prosentase setiap tahapan perkembangan folikel ovarium pada tikus putih yang telah diberi perlakuan alprazolam selama 30 hari. Analisis dilakukan menggunakan metode *one way* anova yang apabila menunjukkan hasil yang berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji DMRT dengan taraf uji 5 %.

Setelah dilakukan analisis *one way* anova (Lampiran 1) diketahui bahwa prosentase folikel primer pada tiap kelompok setelah diberi perlakuan tidak berbeda nyata. Sejak saat mamalia betina lahir, terdapat banyak folikel primordial di dalam korteks ovarium. Masing-masing terdiri dari sebuah oosit primer yang dibungkus oleh selapis folikel. Sebuah lamina basal terdapat di bawah sel folikel dan merupakan pembatas antara folikel avaskular dengan stroma ovarium (Junqueira *et al.*, 1998).

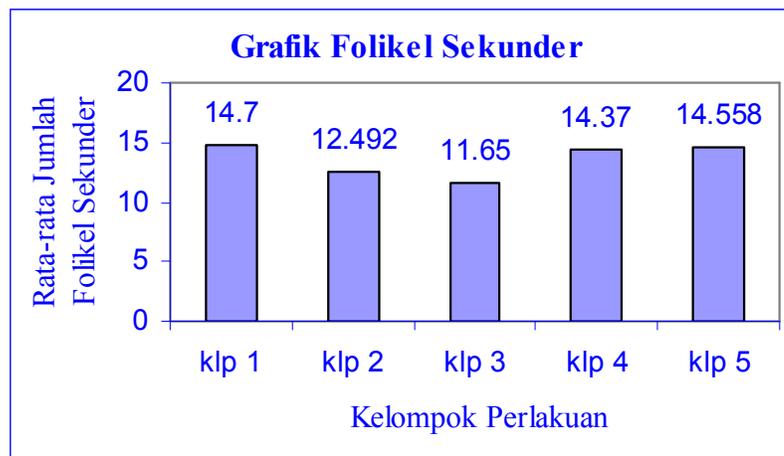
Paparan FSH menjadikan folikel primordial mulai mengalami perkembangan. Sel-sel folikel yang semula berbentuk pipih mulai berbentuk kuboid (Guerin, 2002).



Gambar 4. Grafik prosentase jumlah folikel primer

Pemberian alprazolam dapat mengganggu sekresi beberapa hormon yang berpengaruh terhadap perkembangan folikel-folikel ovarium yang dapat menurunkan prosentase jumlah folikel pada setiap tahap perkembangan. Tetapi pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa analisis statistik untuk prosentase jumlah folikel primer tidak berbeda nyata. Ini berarti bahwa pemberian alprazolam tidak memberikan efek pengurangan yang berarti terhadap prosentase jumlah folikel primer pada semua kelompok perlakuan. Hal ini disebabkan folikel primer adalah folikel yang telah terdapat sejak hewan betina lahir atau sejak sebelum hewan betina memasuki pubertas. Perlakuan pemberian alprazolam pada penelitian ini diberikan setelah hewan betina memasuki masa pubertas sehingga walaupun terdapat kerusakan pada folikel primer, jumlahnya tidak terlalu berpengaruh terhadap prosentase jumlah folikel primer secara umum.

Perkembangan selanjutnya dari folikel primer adalah membentuk folikel sekunder. Pada fase ini untuk pertama kalinya folikel mengalami perbanyakan sel dan terdapat lapisan kedua di sekitar oosit. Pada perkembangan selanjutnya folikel sekunder terlihat dikelilingi oleh ruangan yang tidak teratur yang merupakan hasil diferensiasi sel-sel stroma dari ovarium. Sel-sel epitel tersebut kemudian membentuk teka folikuli. Pada perkembangan akhir folikel sekunder akan terjadi pemisahan teka folikuli menjadi teka interna dan teka eksterna.



Gambar 5. Grafik prosentase jumlah folikel sekunder

Setelah terjadi pemisahan antara teka interna dan teka eksterna, selanjutnya muncul rongga-rongga (antrum) di dalam lapisan sel-sel granulosa. Rongga tersebut terbentuk karena pertumbuhan yang cepat dari sel-sel granulosa yang berada di sebelah luar tetapi tidak diikuti oleh pertumbuhan yang cepat juga dari sel-sel granulosa yang berada di lapisan dalam. Dengan bertambahnya jumlah antrum sesuai dengan pertumbuhan folikel, maka semakin lama pembatas antara antrum menjadi semakin menghilang dan hanya tersisa satu antrum tetapi dengan

ukuran yang sangat besar. Folikel yang demikian dikenal sebagai folikel tersier (Partodihardjo, 1980).



Gambar 6. Grafik prosentase jumlah folikel tersier

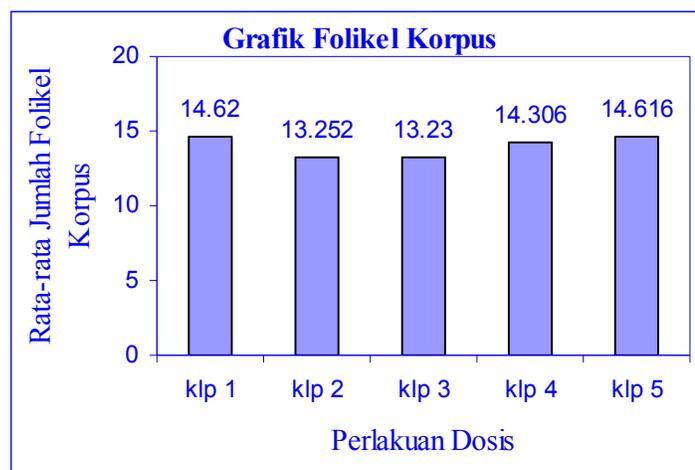
Tahap selanjutnya dari perkembangan folikel adalah pematangan folikel tersier menjadi folikel De Graaf yang siap diovulasikan. Walaupun demikian beberapa pendapat cenderung untuk tidak memisahkan tahap perkembangan tersebut. Hal ini disebabkan perbedaan folikel tersier dan folikel De Graaf hanya terletak pada besarnya saja (Partodihardjo, 1980).

Seperti halnya pada folikel primer, maka hasil analisis untuk prosentase jumlah folikel sekunder (Tabel 1, Lampiran 2) dan folikel tersier (Tabel 1, Lampiran 3) juga menunjukkan tidak berbeda nyata. Pertumbuhan folikel dari folikel primer menjadi folikel sekunder maupun folikel sekunder menjadi folikel tersier dipengaruhi oleh hormon FSH yang mempunyai reseptor pada sel-sel granulosa. Selain itu, juga dipengaruhi oleh sekresi estrogen yang diproduksi baik oleh sel-sel granulosa maupun sel-sel teka interna. Walaupun berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Owen *et al.* (1991) alprazolam menurunkan jumlah CRH otak dan juga diketahui bahwa pemberian alprazolam memperpendek fase estrus yang mungkin mengindikasikan penurunan sekresi estrogen, tetapi hal itu

tenyata belum mampu menurunkan prosentase folikel tersier secara signifikan bila dibandingkan dengan kontrol.

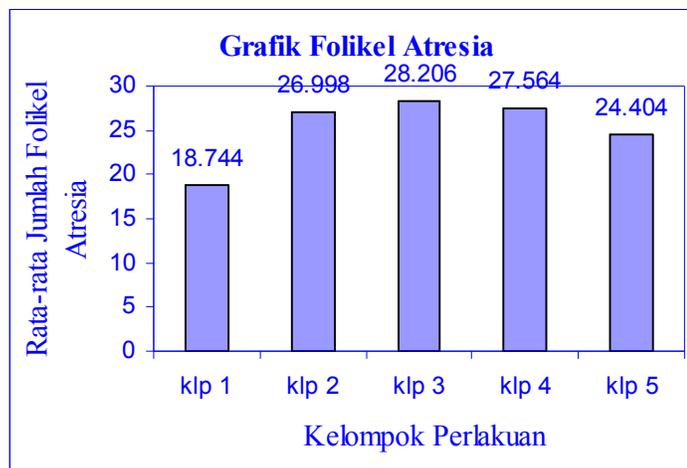
Setelah terjadi ovulasi maka folikel yang ditinggalkan oleh ovum akan mengalami perubahan. Folikel tersebut kemudian akan mengalami pendarahan. Folikel ini dikenal sebagai korpus hemoragikum, selanjutnya darah yang terdapat dalam korpus diresorpsi dan segera terbentuk korpus luteum. Peristiwa ini dikenal sebagai luteinisasi.

Peristiwa luteinisasi dikontrol oleh sekresi LH pituitari. Alprazolam diketahui menurunkan frekwensi sekresi LH pulsatif dan menaikkan amplitudonya pada fase folikuler awal tetapi tidak menyebabkan perubahan pada fase luteal (Judd *et al.*, 1995), karena itulah maka hasil analisis yang dilakukan pada prosentase korpus luteum tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata (Tabel 1, Lampiran 4). Selain itu perubahan frekwensi LH pulsatif dan amplitudonya tidak mengurangi jumlah sekresi LH sehingga tidak menghambat pematangan folikel tersier dan ovulasi.



Gambar 7. Grafik prosentase jumlah korpus luteum

Ketika berada pada masa pertumbuhan atau berada pada fase folikuler banyak folikel yang ikut dalam pertumbuhan tersebut. Tetapi sebagian besar folikel tidak menjadi dewasa dan tidak mengalami ovulasi. Folikel-folikel yang tidak mencapai ovulasi tersebut mengalami kerusakan dan selanjutnya disebut sebagai folikel atresia. Atresia folikel ini bisa terjadi pada berbagai stadium perkembangan folikel.



Gambar 8. Grafik prosentase jumlah folikel atresia

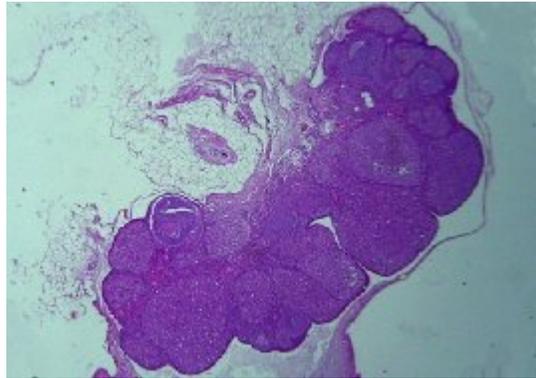
Seperti halnya pada analisis untuk prosentase jumlah folikel-folikel yang lain, maka pada folikel atresia pun menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata. Sekresi estrogen diketahui dapat mencegah terjadinya atresia yang berlebihan dari folikel ovarium. Namun berdasarkan hasil penelitian pemberian alprazolam yang diduga bisa menurunkan sekresi estrogen belum memberikan perubahan yang berarti pada prosentase jumlah folikel atresia. Hal ini mungkin disebabkan sekresi estrogen yang mengalami penurunan adalah sekresi estrogen yang beredar di dalam sirkulasi darah yang diproduksi oleh sel-sel teka interna, sedangkan estrogen yang berada dalam cairan folikel yang bekerja secara lokal pada folikel

dan disekresi oleh sel-sel granulosa tidak mengalami penurunan yang berarti yang bisa memperbesar jumlah folikel yang atresi.

Seperti halnya organ-organ yang lain maka ovarium juga memiliki ambang toleransi tertentu bagi gangguan, baik gangguan yang bersifat kimiawi maupun mekanis yang dapat memberikan kerusakan yang berarti. Hal ini berarti hanya gangguan dalam besaran tertentu yang telah melewati batas kemampuanantisipasi dari ovarium saja yang dapat memberikan kerusakan yang berarti. Jadi walaupun pemberian alprazolam terutama pada dosis tinggi bisa menyebabkan perubahan panjang fase-fase dalam siklus estrus dan kemungkinan juga menyebabkan perubahan sekresi pada hormon-hormon seksual, tetapi ternyata pengaruh tersebut belum bisa memberikan kerusakan yang berarti pada folikel-folikel ovarium. Walaupun demikian tidak berarti pemberian alprazolam ini tidak memberikan efek negatif sama sekali terhadap ovarium. Jika dicermati lebih lanjut rata-rata prosentase jumlah folikel primer (Gambar 4), folikel sekunder (Gambar 5), folikel tersier (Gambar 6) maupun korpus luteum (Gambar 7) yang mendapatkan perlakuan alprazolam selalu lebih kecil jika dibandingkan dengan kontrol. Demikian juga dengan folikel atresia (Gambar 8) yang selalu lebih besar jika dibandingkan kontrol. Namun demikian kecenderungan ini secara statistik tidak menunjukkan adanya perubahan yang signifikan.

2. Pengamatan Kualitatif Ovarium

Pengamatan secara kualitatif dilakukan dengan cara mengamati struktur ovarium tikus putih yang mendapatkan perlakuan alprazolam dibandingkan dengan kontrol.



Gambar 9. Struktur Histologis Ovarium (HE, 40x)

Keterangan : EG = epitelium germinativum

K = korteks

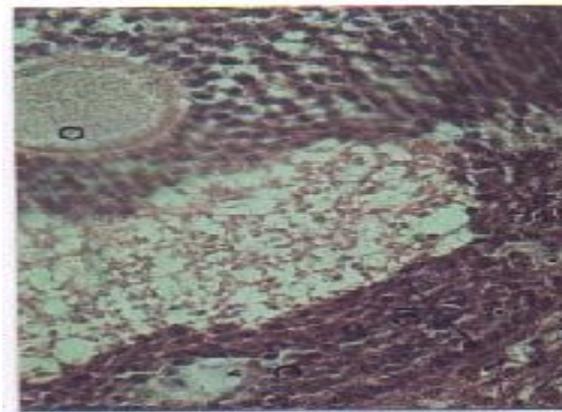
M = medula

F = folikel

KL = korpus luteum

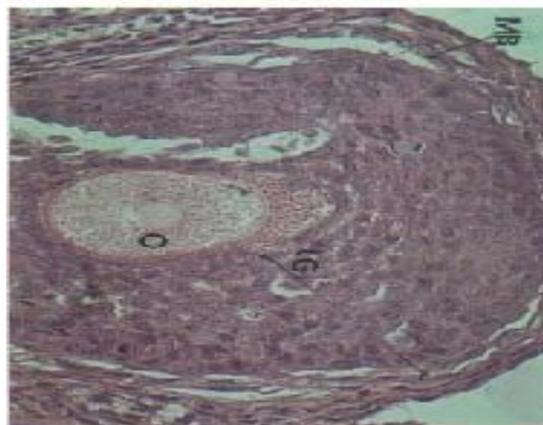
Gambar 9 di atas memperlihatkan struktur histologis ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*). Secara umum ovarium dibagi menjadi dua daerah yaitu medula yang berada di bagian dalam dan korteks yang berada di bagian luar. Medula terdiri atas jaringan ikat fibrosa longgar yang mengandung pembuluh darah, limfe dan saraf. Korteks terbentuk dari jalinan serat retikulin. Pada stroma ini ditemukan folikel-folikel ovarium pada berbagai tingkat perkembangan termasuk korpus luteum dan folikel atresia (Mahoney., 1983; Leeson *et al.*, 1996; Junqueira *et al.*, 1998).

Setelah dilakukan pengamatan terhadap struktur histologis ovarium terdapat beberapa kerusakan yang terjadi. Kerusakan-kerusakan tersebut yaitu banyaknya celah diantara sel-sel penyusun lapisan granulosa (gambar 10), terlepasnya sel-sel granulosa dari membrana basalis (gambar 11) dan terlepasnya sel-sel granulosa memasuki antrum folikuli (gambar 12). Serta pada semua folikel atresia inti sel ovum tidak ditemukan.



Gambar 10. Celah-celah diantara sel-sel penyusun lapisan granulosa (HE, 400x)

Keterangan: O = oosit
LG = lapisan granulosa
C = celah diantara sel-sel granulosa



Gambar 11. Sel-sel granulosa terlepas dari membrana basalis (HE, 400x)

Keterangan: O = oosit
LG = lapisan granulosa
MB = membrana basalis

Gambar 12. Sel-sel granulosa masuk ke dalam antrum folikuli (HE, 100x)

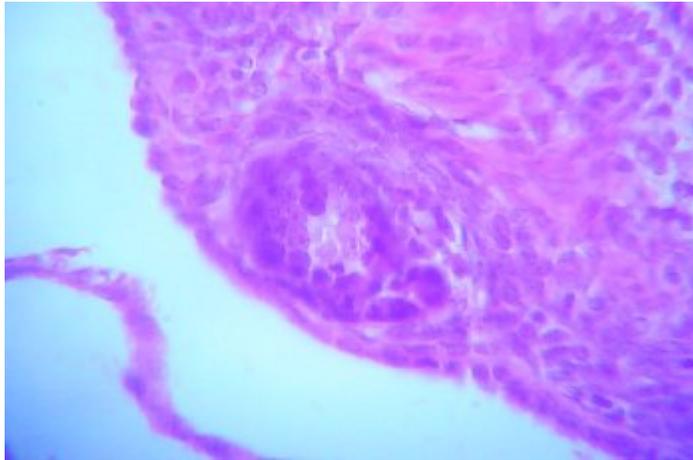
Keterangan : AF = antrum folikuli

LG = lapisan granulosa

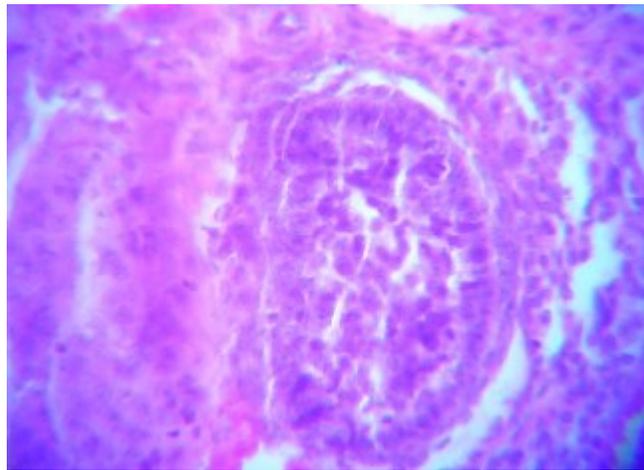
SG = sel-sel granulosa

Menurut Junqueira dan Carneiro (1992) kerusakan-kerusakan di atas merupakan tanda-tanda dari proses atresia. Tanda-tanda kerusakan tersebut tidak hanya dialami oleh folikel yang telah berada pada fase perkembangan yang tinggi tetapi juga ditemukan pada folikel primer maupun sekunder.

Gambar 13 adalah gambar yang menunjukkan contoh folikel primer normal sedangkan gambar 14 adalah contoh gambar folikel primer yang mengalami atresia. Dari kedua gambar tersebut dapat terlihat bahwa sel-sel granulosa pada folikel primer atresia terlihat lebih renggang sehingga terlihat adanya celah-celah atau ruang-ruang di antara sel-sel granulosa tersebut. Menurut Junqueira dan Carneiro (1992) hal ini disebabkan mengecilnya ukuran sel-sel granulosa pada folikel primer atresia tersebut.

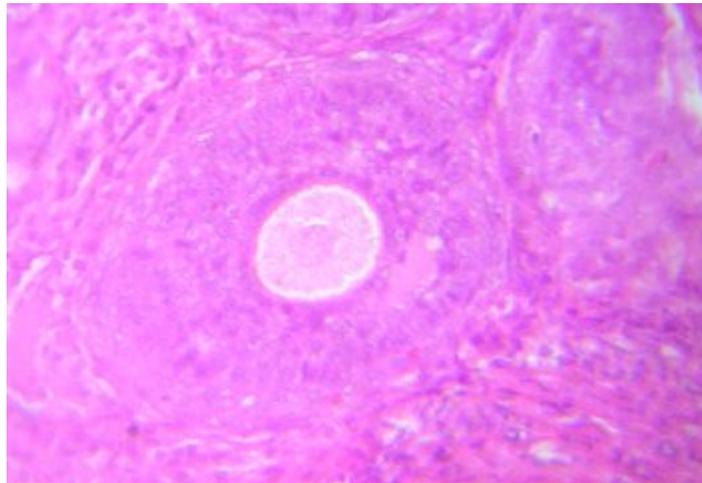


Gambar 13. Folikel primer normal (HE, 400x)
Keterangan : SG = sel-sel granulosa



Gambar 14. Folikel primer yang mengalami atresia (HE, 400x)
Keterangan : SG = sel-sel granulosa
C = celah diantara sel-sel granulosa

Proses atresia juga terjadi pada folikel sekunder. Kerusakan yang terjadi pada folikel sekunder yang mengalami atresia (Gambar 16) hampir sama dengan kerusakan yang terjadi pada folikel primer atresia. Sel-sel granulosa pada folikel sekunder atresia terlihat lebih renggang dan terpulas lebih gelap jika dibandingkan dengan sel-sel granulosa pada folikel sekunder normal (Gambar 15).

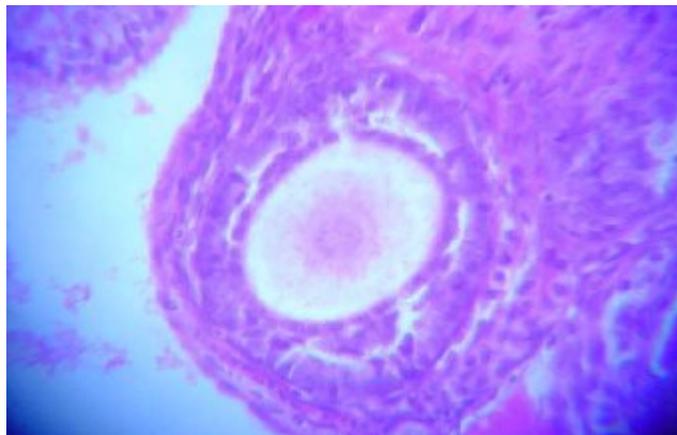


Gambar 15. Folikel sekunder normal (HE, 400x)

Keterangan : O = oosit

LG = lapisan granulosa

AF = antrum folikuli

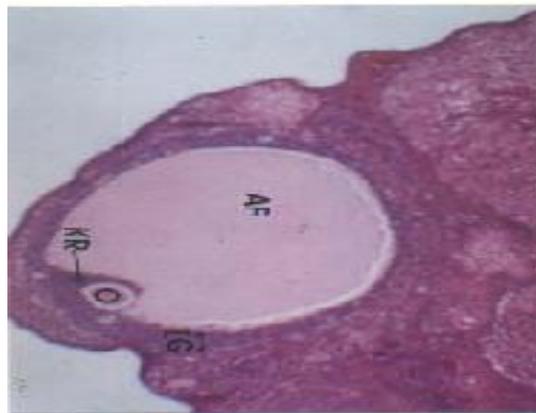


Gambar 16. Folikel sekunder yang mengalami atresia (HE, 400x)

Keterangan : LG = lapisan granulosa

C = celah di antara sel-sel granulosa

Contoh folikel tersier normal ditunjukkan pada gambar 17 sedangkan contoh folikel tersier yang mengalami atresia terlihat pada gambar 10 dan gambar 12. Seperti yang telah disebutkan, atresia folikel pada tikus yang mendapat perlakuan alprazolam meliputi banyaknya celah diantara sel-sel granulosa dan masuknya sel-sel granulosa ke dalam antrum folikuli. Menurut Junqueira dan Carneiro (1992) pada folikel tersier yang mengalami atresia ditemukan sejumlah besar zat degeneratif yang menimbulkan pembentukan makrofag.



Gambar 17. Folikel tersier normal (HE, 100x)

Keterangan : O = oosit
KR = korona radiata
LG = lapisan granulosa
AF = antrum folikuli

Tanda-tanda kerusakan atau atresia folikel primer, folikel sekunder, maupun folikel tersier tersebut terlihat pada semua kelompok baik kelompok kontrol maupun kelompok yang mendapat perlakuan alprazolam. Perbedaan antar kelompok hanyalah pada jumlah folikel yang mengalami kerusakan. Walaupun secara statistik banyaknya folikel yang mengalami atresia tidak berbeda nyata

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Pemberian 0,018 mg alprazolam/200 gr BB pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) selama 30 hari tidak memberikan perubahan nyata pada lama waktu setiap fase pada siklus estrus. Dosis 0,054 mg alprazolam/ 200 gr BB dan 0,072 mg alprazolam/200 gr BB memperpanjang berlangsungnya fase diestrus. Fase estrus dan proestrus diperpendek pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi perlakuan 0,072 mg alprazolam/200 gr BB.
2. Pemberian alprazolam pada dosis 0,018 mg/200 gr BB; 0,036 mg/200 gr BB; 0,054 mg/200 gr BB dan 0,072 mg/200 gr BB selama 30 hari tidak mempengaruhi secara nyata prosentase jumlah folikel primer, sekunder, tersier, korpus luteum dan atresia jika dibandingkan dengan control. Secara kualitatif terjadi kerusakan pada semua folikel hewan uji baik kontrol maupun yang mengalami perlakuan. Kerusakan tersebut adalah kerusakan yang menuju kepada atresi folikel.

B. Saran

Untuk mendapatkan gambaran yang lebih jelas mengenai perubahan hormonal maka untuk penelitian lebih lanjut perlu dilakukan pengujian hormon terutama untuk hormon FSH, estrogen dan progesteron. Selain itu perlu juga

dilakukan penelitian serupa tetapi dengan jangka waktu yang lebih lama untuk mengetahui pengaruh pemberian alprazolam terhadap prosentase jumlah folikel-folikel ovarium apabila diberikan dalam jangka waktu yang lebih lama.

DAFTAR PUSTAKA.

- Austin, C.R. and Short, R.V. 1984. *Hormonal Control Of Reproduction*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Bearden, H.J. and Fuquay, J.W. 1980. *Applied animal Reproduction*. Virginia. Reston Publishing Company, Inc.
- Bowen, R.A. 1998. "Vaginal Cytology: Introduction and Index". www.colostate.edu
<http://arbl.cvmbs.colostate.edu/hbooks/pathphys/reprod/vc/index.html> [24 Maret 2002]
- Braestrup, C. and Squires, R.F. .1977. Specific Benzodiazepine Receptors in Rat Brain Characterized by High-Affinity [³H]Diazepam Binding. in Gavish, M., Bachman, I., Shoukrun, R., Katz, Y., Veenman, L., Weisinger, G., and Weizman, A. "Enigma of The peripheral Benzodiazepine Reseptor". *J Pharmaco Rev.* 51 (4): 629-650.
- Crenshaw, T.L. and Golberg, J.P. 1996. *Sexual Pharmacology Drugs that Affect Sexual Functioning*. New York: W.W. Norton and Company.
- De Souza, E.B., Anholt, R.R.H., Murphy, K.M.M., Snyder, S.H. and Kuhar, M.J. .1985. Peripheral-Type Benzodiazepine Receptors in Endocrine Organs: Autoradiographic Localization in Rat Pituitary, Adrenal, and Testis. *Endocrinology* 116: 567-573
- Fawcett, J. A. and Kravitz, H.M. 1982. "Alprazolam: Pharmacocinetics, Clinical Efficacy and Mechanisme of action". *Pharmacotherapy.* 2 (5): 243-254.
- Ganong, W.F. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran* (diterjemahkan oleh Djauhari Widjajakusumah, Dewi Irawati, Minarma Siagian, Dangsina Moeloek, dan Brahma U. Pedit). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Garnier, M., Boujrad, N., Oke, B.O., Brown, A.S., Riond, J., Ferrara, P., Shoyab, M., Suarez-Quian, C.A., and Papadopoulos, V. .1993. Diazepam Binding Inhibitor is a Paracrine/Autocrine Aegulator of Leydig cell Proliferation and Steroidogenesis: Action Via Peripheral-Type Benzodiazepine Receptor and Independent Mechanisms. *Endocrinology* 132: 444-458
- Gasperst, V. 1991. *Metode Perancangan Percobaan Untuk Ilmu-Ilmu Pertanian, Ilmu Teknik dan Biologi*. Bandung: Armico.

- Gavish, M., Bachman, I., Shoukrun, R., Katz, Y., Veenman, L., Weisinger, G., and Weizman, A. 1999. "Enigma of The peripheral Benzodiazepine Reseptor". *J Pharmacol Rev.* 51 (4): 629-650.
- Gavish, M., Katz, Y., Bar-Ami, S., and Weizman, R. 1992. Biochemical, Physiological, and Pathological Aspects of The Peripheral Benzodiazepine Receptor. *J Neurochem* 58: 1589-1601.
- Greenblatt, D. J., Divoll, M., Abernethy, D. R., Ochs, H. R. and Shader, R. I. 1987. Clinical Pharmacokinetics of The Newer Benzodiazepines. In Lau, C.E., and Heatherington, A.C., Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Modeling of Stimulatory and Sedative Effect of Alprazolam: Timing Percormance Deficit. *J Pharmacol Exper Ther.* 283 (3): 1119-1129.
- Guerin, J.F. 2002. *Folliculogenesis and Ovulation*. www.matweb.hcuge.ch.
http://matweb.hcuge.ch/endo/reproductive_health/folliculogenesis_and_ovulation.html. [19 April 2002]
- Hadley, M.E. 2000. *Endocrinology Fifth Edition*. New York: Prentice Hall International Inc.
- Hopkins, S.J. 1995. *Drugs and Pharmacology for Nurses Twelfth Edition*. New York: Churchill Livingstone.
- Johnson, M.H., and Everitt, B.J. 1988. *Essensial Reproduction Third Edition*. Oxford: Blackwell Scientific Publication.
- Judd, S.J., Wong, J. Salonikis, S. Maiden, M., Yeap, B., Filmer, S., and Michailov, L. 1995. "Article The Effect of Alprazolam on Serum Cortisol and Luteinizing Hormone Pulsatility in Normal Women and in Women with Stress-Relation Anovulation". *J Clin. Endo. Metab.* 80: 818-823
- Junquiera, L.C. dan Carneiro, J . 1992. *Histologi Dasar* (alih bahasa Adji Dharma). Jakarta. Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Junquiera, L.C., Carniero, J dan Kelley, R.G. 1998. *Histologi Dasar Edisi 8* (alih bahasa Jan Tambayong). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kalogeras, K.T., Calogero, A.E., Kuribayashi, T., Khan, I., Kling, M.A. Chrousos, G.P., and Gold, P.W. 1990. "Article In Vitro and In Vivo Effect of The Triazolobenzodiaepine Alprazolam on Hipothalamic-Pituitary-Adrenal Function". *J Clin. Endo. Metab.* 70: 1462-1471.
- Katzung, B.G. 1998. *Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi VI* (alih bahasa staf Dosen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

- Leeson, C.R., Leeson, T.S. dan Paporo, A.A. 1996. *Buku Ajar Histologi Edisi V* (penerjemah S. Koesparto Siswoyo, Jan Tambayong, Sugito Wonodirekso, Isnani A. Sunaryo, R. Tanzil, R. Soeharto, Soenanto Roewijoko, Isworo Guritno dan Moch. Martoprawiro). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Mahoney, E.R. 1983. *Human Sexuality*. New York: Mack Grow Hill Book Company.
- Mantooth, R. 2001. *Toxicity, Benzodiazepine*. www.emedicine.com.
<http://www.emedicine.com/emerg/topic58.htm>.
- Mattison, D.R. and Thomford, P.J. 1988. *The Mechanisme of Action of Reproductive Toxicants*. in Chulaborn Research Institute and Mahidol University. *Training Course Materials International Toxicology Seminar Environmental Toxicology*. Bangkok
- Möhler, H., and Okada, T. 1977. Benzodiazepine Receptor: Demonstration in The Central nervous System. in Gavish, M., Bachman, I., Shoukrun, R., Katz, Y., Veenman, L., Weisinger, G., and Weizman, A. "Enigma of The peripheral Benzodiazepine Reseptor". *J Pharmacol Rev.* 51 (4): 629-650.
- Nagasawa, H. Yanai, R. and Kikuyama, S. 1974. "Irreversible of Pituitary Prolactin and Growth Hormon Secretion and of Mammary Gland Development in Mice by Monosodium Glutamate admistrated Neonataly". *Acta Endo.* Vol :75: 249-259
- Nalbandov, R. *Fisiologi Reproduksi pada Mamalia dan Unggas. Fisiologi Komparatif pada Hewan Domestifikasi dan Laboratorium serta Manusia* (diterjemahkan oleh Sunaryo). Jakarta: UI Press.
- O'Beirne, G.B., Woods, M.J., and Williams, D.C .1990. Two Subcellular Locations for Peripheral-Type Benzodiazepine Acceptors in Rat Liver. *Eur J Biochem* 188: 131-138
- Owens, M.J. , Vargas, M.A., Knigth, D.L., and Nemeroff, C.B. 1991. "The Effect of Alprazolam on Corticotropin Releasing Factor Neurons in The Rat Brain: Acute Time Course, Chronic Treatment and Abrupt Withdrawal". *J Pharmacol.Exper.Ther.* 258(1): 349-356.
- Partodihardjo, S. 1980. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Jakarta. Mutiara Jakarta
- Perry, P. and Lund, B. 2002. *Detoxification from Benzodiazepines: Schedules and Strategies*. www.vh.org

<http://www.vh.org/Providers/Conferences/CPS/33.html> [1 April 2002]

- Sagi, M. 1994. Embriologi Perbandingan pada Vertebrata. Yogyakarta: UGM Press
- Speroff, L., Glass, R.H. and Kase, G.N. 1994. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility Fifth Edition*. Baltimore: William and Wilkins.
- Suntoro, S.H., Sudarwati, S., dan Prawirosoehardjo. 1983. *Metode Pewarnaan (Histologi dan Histokimia)*. Jakarta: Bhratara Karya Aksara.
- Tallman, J.F., Paul, S.M., Skolnick, P. and Gallager, D.W. 1980. Receptors for The Age of Anxiety: Pharmacology of The Benzodiazepines. in Gavish, M., Bachman, I., Shoukrun, R., Katz, Y., Veenman, L., Weisinger, G., and Weizman, A. "Enigma of The peripheral Benzodiazepine Reseptor". *J Pharmacol Rev.* 51 (4): 629-650.
- Tirri, L. 1997. "Chemical Hygiene Plan". www.dominio3.nevada.edu.
<http://domino3.nevada.edu/ehshp.nsf/2153270f7845beb688256327004682ae/b804dcce40bc9edb88256414006a944a?OpenDocument> [26 September 2002]
- Tjai, T.H. dan Rahardja, K. 2002. *Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek Sampingnya Edisi V*. Jakarta: Elex Media Komputindo.
- Turner, C.D. dan Bagnara, J.T. 1988. *Endokrinologi Umum Edisi Keenam* (penerjemah Harsojo). Surabaya: Airlangga University Press.
- Toranzo, D., Tong, Y., Tonon, M.C., Vaudry, H., and Pelletier, G. 1994. Localization of Diazepam-Binding Inhibitor and Peripheral Type Benzodiazepine Binding Sites in The Rat Ovary. in Gavish, M., Bachman, I., Shoukrun, R., Katz, Y., Veenman, L., Weisinger, G., and Weizman, A. "Enigma of The peripheral Benzodiazepine Reseptor". *J Pharmacol Rev.* 51 (4): 629-650.
- Verma, A and Snyder, S.H. 1989. Peripheral Type Benzodiazepine Receptors. in Gavish, M., Bachman, I., Shoukrun, R., Katz, Y., Veenman, L., Weisinger, G., and Weizman, A. "Enigma of The peripheral Benzodiazepine Reseptor". *J Pharmacol Rev.* 51 (4): 629-650.
- Williams. 2002. "Hormonal Control of Folliculogenesis".
<http://www.courses.psu.edu/>
[http://www.courses.psu.edu/Materials/biol572_paf4/572FALL00iii.doc-size32.0K - Penn State](http://www.courses.psu.edu/Materials/biol572_paf4/572FALL00iii.doc-size32.0K-PennState) [19 September 2002]

LAMPIRAN

Lampiran 1

Analisis Anova Jumlah Folikel Primer

Descriptives

jumlah folikel primer

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kelompok 1	5	26.5140	10.42531	4.66234	13.5693	39.4587	13.73	41.45
kelompok 2	5	23.5940	6.37978	2.85312	15.6725	31.5155	15.64	31.78
kelompok 3	5	23.5540	10.48123	4.68735	10.5398	36.5682	9.71	33.05
kelompok 4	5	21.1960	2.64819	1.18431	17.9078	24.4842	18.42	25.47
kelompok 5	5	24.1740	9.12419	4.08046	12.8448	35.5032	11.35	34.50
Total	25	23.8064	7.82619	1.56524	20.5759	27.0369	9.71	41.45

Test of Homogeneity of Variances

jumlah folikel primer

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.602	4	20	.067

ANOVA

jumlah folikel primer

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	71.946	4	17.987	.257	.902
Within Groups	1398.034	20	69.902		
Total	1469.981	24			

Lampiran 2

Analisis Anova Jumlah Folikel Sekunder

Descriptives

jumlah folikel sekunder

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kelompok 1	5	14.7000	5.53771	2.47654	7.8240	21.5760	8.08	21.05
kelompok 2	5	12.4920	3.70824	1.65838	7.8876	17.0964	7.75	16.30
kelompok 3	5	11.6500	4.33264	1.93761	6.2703	17.0297	4.43	15.94
kelompok 4	5	14.3700	4.59765	2.05613	8.6613	20.0787	8.95	20.36
kelompok 5	5	14.5580	3.62184	1.61974	10.0609	19.0551	9.37	19.54
Total	25	13.5540	4.22533	.84507	11.8099	15.2981	4.43	21.05

Test of Homogeneity of Variances

jumlah folikel sekunder

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.648	4	20	.635

ANOVA

jumlah folikel sekunder

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	38.701	4	9.675	.496	.739
Within Groups	389.780	20	19.489		
Total	428.482	24			

Lampiran 3

Analisis Anova Jumlah Folikel Tersier

Descriptives

jumlah folikel tersier

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kelompok 1	5	25.4220	8.83349	3.95046	14.4538	36.3902	13.16	34.11
kelompok 2	5	23.6640	1.85128	.82792	21.3653	25.9627	21.23	26.36
kelompok 3	5	23.3600	3.01290	1.34741	19.6190	27.1010	18.58	26.09
kelompok 4	5	20.5640	2.94082	1.31518	16.9125	24.2155	17.50	25.30
kelompok 5	5	22.2480	12.41871	5.55381	6.8281	37.6679	9.20	41.67
Total	25	23.0516	6.70276	1.34055	20.2848	25.8184	9.20	41.67

Test of Homogeneity of Variances

jumlah folikel tersier

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.378	4	20	.011

ANOVA

jumlah folikel tersier

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	64.614	4	16.154	.319	.862
Within Groups	1013.632	20	50.682		
Total	1078.247	24			

Lampiran 4

Analisis Anova Jumlah Korpus Luteum

Descriptives

jumlah korpus

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kelompok 1	5	14.6200	5.26766	2.35577	8.0793	21.1607	8.08	22.79
kelompok 2	5	13.2520	2.82210	1.26208	9.7479	16.7561	10.05	16.86
kelompok 3	5	13.2300	8.37083	3.74355	2.8362	23.6238	6.31	27.18
kelompok 4	5	14.3060	4.71558	2.10887	8.4508	20.1612	6.88	19.81
kelompok 5	5	14.6160	7.58140	3.39050	5.2025	24.0295	6.67	24.32
Total	25	14.0048	5.59777	1.11955	11.6942	16.3154	6.31	27.18

Test of Homogeneity of Variances

jumlah korpus

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.232	4	20	.329

ANOVA

jumlah korpus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10.049	4	2.512	.068	.991
Within Groups	741.991	20	37.100		
Total	752.040	24			

Lampiran 5

Analisis Anova Jumlah Folikel Atresia

Descriptives

jumlah folikel atresia

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kelompok 1	5	18.7440	7.20500	3.22217	9.7978	27.6902	10.53	28.28
kelompok 2	5	26.9980	8.97748	4.01485	15.8510	38.1450	18.61	40.78
kelompok 3	5	28.2060	4.20576	1.88087	22.9839	33.4281	21.19	31.88
kelompok 4	5	27.5640	7.58086	3.39026	18.1511	36.9769	21.69	40.62
kelompok 5	5	24.4040	8.26884	3.69794	14.1369	34.6711	16.67	35.63
Total	25	25.1832	7.65126	1.53025	22.0249	28.3415	10.53	40.78

Test of Homogeneity of Variances

jumlah folikel atresia

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.031	4	20	.416

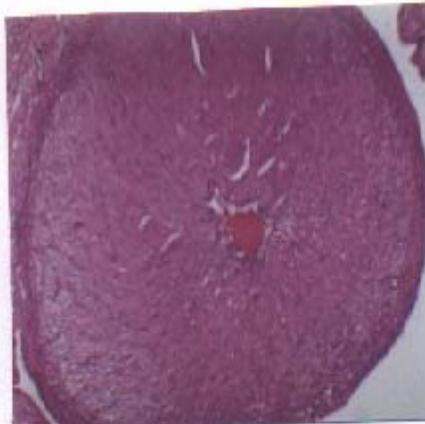
ANOVA

jumlah folikel atresia

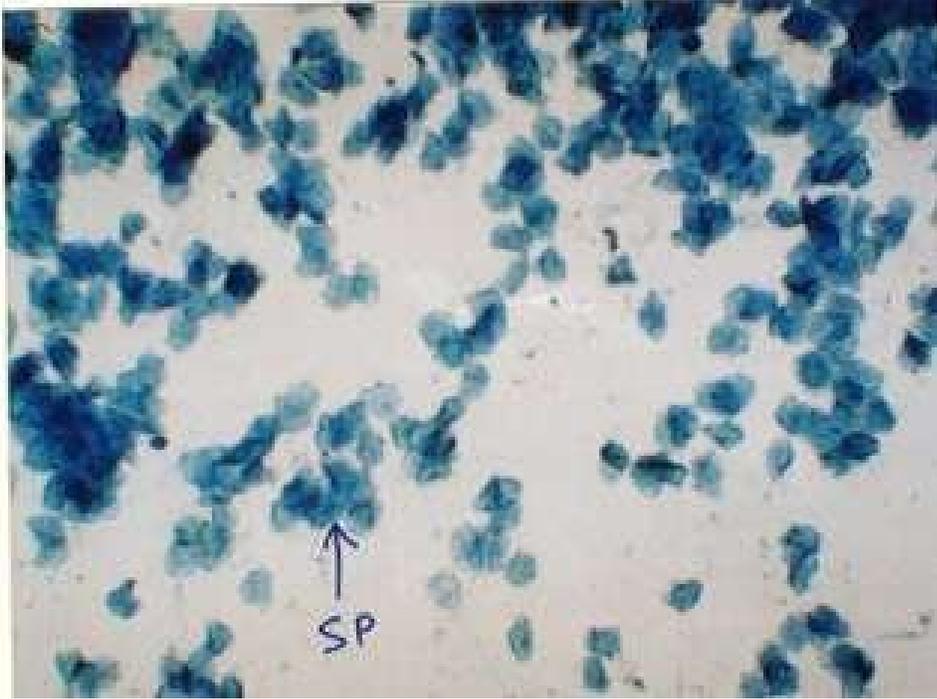
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	300.847	4	75.212	1.362	.282
Within Groups	1104.155	20	55.208		
Total	1405.002	24			

Lampiran 6

Gambar Korpus Luteum



Gambar Korpus Luteum (HE, 100x)



Fa

Lampiran 8

Data prosentase tiap-tiap folikel

DATA PROSENTASE SETIAP FOLIKEL MASING-MASING INDIVIDU

Kelompok	Ulangan	Primer (%)	Sekunder (%)	Tersier (%)	Korpus (%)	Atresia (%)
1	1	41.45	21.05	13.16	13.81	10.53
	2	22.79	11.03	19.86	22.79	23.53
	3	23.23	8.08	32.33	8.08	26.28
	4	31.37	13.73	27.45	13.72	13.73
	5	13.73	19.61	34.31	14.70	17.65
2	1	15.64	12.30	21.23	10.05	40.78
	2	31.78	17.75	26.36	15.50	18.61
	3	24.45	16.30	23.70	11.85	23.70
	4	27.00	16.00	24.00	12.00	21.00
	5	19.10	10.11	23.03	16.86	30.90
3	1	31.86	4.43	18.58	14.16	30.97
	2	33.05	13.55	24.58	7.63	21.19
	3	15.22	15.94	26.09	10.87	31.88
	4	27.93	11.71	25.22	6.31	28.83
	5	9.71	12.62	22.33	27.18	28.16
4	1	19.76	20.36	19.16	16.17	24.55
	2	18.42	8.95	21.05	14.21	27.37
	3	21.25	13.75	17.50	6.88	40.62
	4	21.08	17.47	25.30	14.46	21.69
	5	25.47	11.32	19.81	10.81	23.59
5	1	19.54	19.54	9.20	16.09	35.63
	2	30.48	15.24	25.71	6.67	21.90
	3	11.35	14.60	19.46	24.32	30.27
	4	34.50	14.04	15.20	18.71	17.55
	5	25.00	9.37	41.67	7.29	16.67

Keterangan:

Kelompok 1 : Kontrol

Kelompok 2 : 0,018 mg alprazolam/200 gr BB

Kelompok 3 : 0,036 mg alprazolam/200 gr BB

Kelompok 4 : 0,054 mg alprazolam/200 gr BB

Kelompok 5 : 0,072 mg alprazolam/200 gr BB

