

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Infertilitas

Infertilitas adalah ketidakmampuan untuk hamil dalam waktu satu tahun tanpa menggunakan alat kontrasepsi dan melakukan hubungan seksual secara normal minimal 2 – 3 kali seminggu. Infertilitas dibedakan atas infertilitas primer dan infertilitas sekunder. Infertilitas primer yaitu jika pasangan suami istri belum pernah mendapatkan kehamilan. Infertilitas sekunder yaitu jika istri sudah pernah hamil akan tetapi tidak berhasil hamil lagi tanpa menggunakan alat kontrasepsi dan hubungan seksual dilakukan secara normal (Oktarina *at al.* 2014). Faktor risiko terjadinya infertilitas diantaranya adalah usia, penyakit menular seksual, merokok, penggunaan alkohol dan kopi, sosial ekonomi, ketidakseimbangan hormon dan paparan pestisida. Penggunaan pestisida yang tidak selektif dapat mempengaruhi eksposur pada manusia yang berdampak pada infertilitas. (Neghab *at al.*, 2014).

2.1.1 Insiden

Menurut WHO secara global ada sekitar 8 – 10 % pasangan mengalami infertilitas atau 50 – 80 juta pasangan, di Amerika sekitar 5 juta pasangan mengalami ketidaksuburan, sementara di Eropa diperkirakan sekitar 14 % (Roupa *at al.* 2009) Di Indonesia diperkirakan ada 50 juta pasangan atau 15 – 20 %. Infertilitas dapat disebabkan oleh pihak suami maupun istri. Kondisi yang menyebabkan infertilitas dari faktor istri 65%, faktor suami 20%, kondisi lain – lain dan tidak diketahui 15%. Pada wanita dengan infertilitas 30 – 40 % kasus melibatkan disfungsi ovulasi (Broeman dan Fauser, 2016)

2.1.2 Patofisiologi

Penyebab utama infertilitas yang berhubungan dengan ovarium adalah ketidakmampuan ovulasi yang disebabkan karena kelainan pada ovarium, endometriosis, sindroma ovarium polikistik, penurunan fase luteal karena sel telur atresia (Roupa *et al*, 2009). Gangguan ovulasi dapat disebabkan karena kegagalan hipotalamus dan hipofise yaitu ketika produksi gonadotropin rendah dan estradiol rendah (Saraswati, 2015). Disfungsi ovulasi dapat diklasifikasikan dengan melihat uji hormon FSH, Estradiol (E2) dan hormon pada hipotalamus dan kelenjar pituitari. Ovarium tidak berfungsi karena stimulasi yang tidak cukup pada hormon gonadotropin. Sebaliknya kombinasi FSH tinggi dan konsentrasi E2 rendah menunjukkan defek utama pada ovarium (Broeman dan Fauser , 2016)

ROS dapat menyebabkan gangguan pada tahap folikulogenesis, folikel yang matang, ovulasi dan fungsi korpus luteal. Ini bisa dideteksi dengan adanya SOD yang tinggi pada pemeriksaan imunohistokimia. Cairan folikuli penting untuk pematangan folikel dan fungsi sel granulosa. Mengurangi konsentrasi enzim peroksidase glutathione dapat mempengaruhi kemampuan pematangan folikel. Antioksidan enzimatik bertindak sebagai katalis dalam menetralkan ROS. Produksi folikel dimodulasi oleh interaksi faktor endokrin, parakrin dan autokrin, menyebabkan gangguan pematangan folikuler, pematangan sel granulosa, ovulasi dan luteinisasi. Nitrat oksida adalah faktor lokal yang terlibat dalam autokrin (Agarwal *et al*, 2005). .

2.2 Ovarium

Ovarium merupakan organ reproduksi wanita yang berbentuk oval yang terdiri dari dua struktur kecil dengan ukuran 2 x 4 x 1,5 cm berada di dalam pelvis dan di belakang uterus. Pada pemeriksaan bimanual pemeriksa akan merasakan benda

seperti almond yang bergeser di antara jari – jari pemeriksa. Arteri ovarika merupakan pemasok utama darah ke ovarium, arteri ovarika berjalan melalui rongga retroperitoneal abdomen. Darah yang masuk ke ovarium akan keluar melalui vena ovarika. Ovarium berfungsi untuk memproduksi oosit yang matang untuk fertilisasi dan memproduksi hormon estrogen dan progesteron (Heffner dan Schust, 2006). Struktur ovarium dapat dibedakan sebagai berikut :

a. Korteks

Diliputi oleh epitel germinativum berbentuk kubus dan di dalamnya terdapat stroma, jaringan ikat dan folikel primordial

b. Medula

Medula tersusun atas stroma yang longgar, pembuluh darah dan saraf dan otot polos.

Siklus ovarium adalah seperangkat perubahan dalam oosit dan folikel ovarium selama masa reproduksi. Siklus ini mencakup dua proses yang saling terkait yaitu oogenesis dan folikulogenesis.

2.2.1 Oogenesis

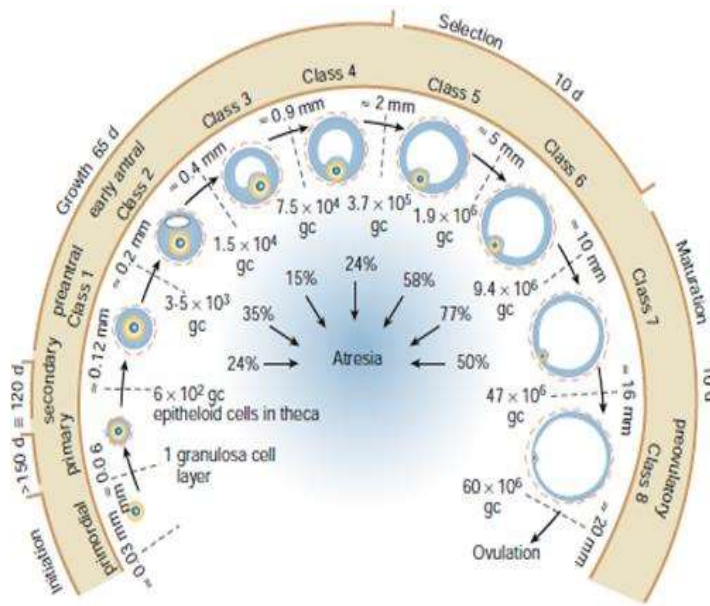
Proses dimulai dari terbentuknya oogonium yaitu selama perkembangan janin dan membagi melalui mitosis. Oogonium membentuk oosit primer dalam janin dilahirkan. Oosit primer kemudian ditangkap ditahap miosis I dan berhenti, berlanjut saat masa pubertas sampai menopause. Jumlah oosit menurun dari satu sampai dua juta pada masa bayi tinggal sekitar 400.000 pada masa pubertas (Hutt,2007)

2.2.2 Folikulogenesis

Folikulogenesis adalah proses di mana folikel primordial direkrut tumbuh dan berkembang menjadi folikel de Graaf yang berpotensi untuk ovulasi pada pertengahan siklus untuk dibuahi atau mati oleh atresia. Pada wanita proses ini

membutuhkan waktu hampir satu tahun untuk folikel primordial tumbuh dan berkembang sampai tahap ovulasi. Selama folikulogenesis pertumbuhan dicapai dengan proliferasi sel dan pembentukan cairan folikel. Hanya beberapa folikel di ovarium manusia bertahan hidup dengan 99,9% atresia oleh mekanisme kematian sel terprogram yang disebut apoptosis (Anwar, 2005)

Mekanisme pengatur pertumbuhan folikel dan pengembangan berada di bawah kendali perubahan konsentrasi ligan (yaitu hormon dan faktor pertumbuhan). Pada tingkat hormon, folikulogenesis diatur oleh sistem saraf pusat, hipofisis anterior, dan mekanisme kaskade ovarium. Gonadotropin Releasing Hormon (Gn Rh), Folikel Stimulating Hormon (FSH), dan Luteining Hormon (LH) mengatur dalam folikulogenesis dengan memainkan peran penting dalam mekanisme kompleks yang mengatur waktu folikulogenesis dan apakah folikel menjadi dominan atau atresia. Proses folikulogenesis terjadi dalam korteks ovarium. Kronologi folikulogenesis diterangkan dalam gambar 2.1. Tujuan folikulogenesis adalah untuk menghasilkan folikel dominan. Proses ini terdiri dari empat tahapan yaitu : 1) perekrutan folikel, 2) perkembangan folikel preantral, 3) penyeleksian dan perkembangan folikel, dan 4) atresia folikel (Anwar, 2005).



Gambar 2.1 Kronologi folikulogenesis di ovarium manusia.

Keterangan: Garis pinggir menunjukkan waktu, periode preantral dibutuhkan waktu 300 hari untuk direkrut dan tumbuh dan berkembang untuk kelas 2/3 (kavitasi). Atresia dapat terjadi pada preantral kelas 1, 2 dan 3. Periode antral kelas 4 (diameter 1-2 mm). Jika terpilih dibutuhkan waktu sekitar 50 hari untuk tumbuh dan berkembang ke tahap preovulasi. Folikel dominan yang terpilih dari kelas 5 membutuhkan waktu sekitar 20 hari untuk berkembang ke tahap ovulasi. (Geugeon A, 1986)

Macam - macam folikel dalam tahapan folikulogenesis :

a. Folikel Primordial

Terdiri dari oosit primer kecil dengan diameter $29 \mu\text{m}$. Satu lapisan squamosa, sel granulosa dan lamina basalis, beberapa sel granulosa berubah dari squamosa menjadi kuboid.

b. Folikel Preantral

Dibagi menjadi 3 kelas berdasarkan jumlah lapisan sel granulosa, pengembangan jaringan teka dan ekspresi rongga kecil, yaitu primer, sekunder dan tersier. Kompleksitas morfologi meningkat dan folikel menjadi kompeten untuk menanggapi gonadotropin.

c. Folikel Primer

Terdiri dari satu atau lebih sel granulosa kuboid yang tersusun dalam satu lapis sel yang mengelilingi oosit, mulai mengekspresikan reseptor FSH. Diameter oosit 120 μm .

d. Folikel Sekunder

Terjadi peningkatan jumlah sel granulosa pada lapisan kedua dan penambahan sel theca., Sel granulosa berubah dari sel kuboid menjadi epitel kolumnar.

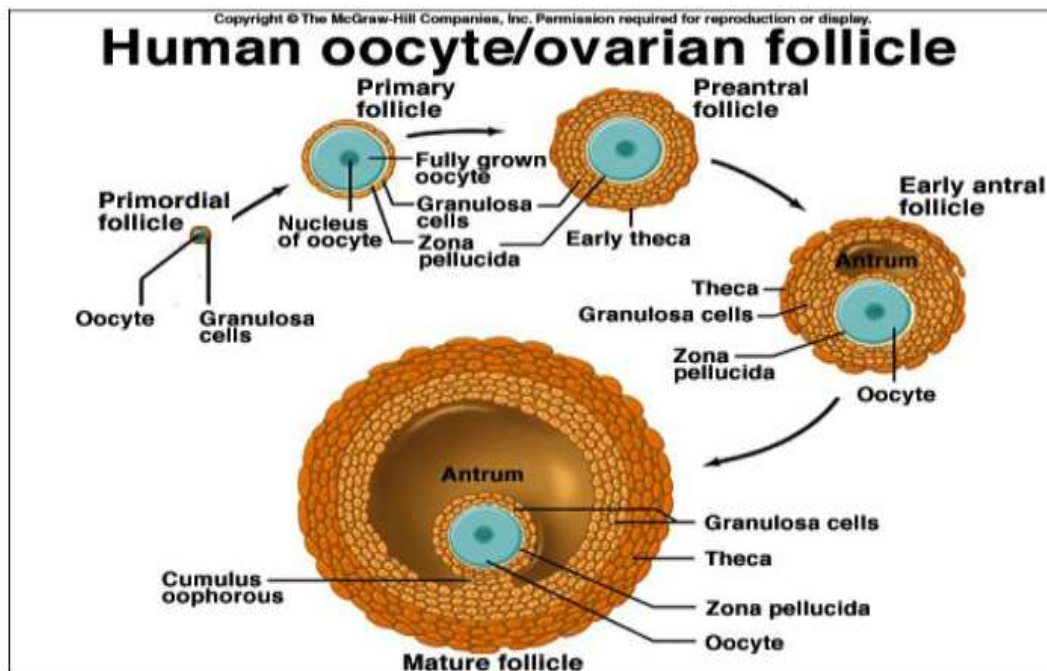
e. Folikel Antral

Oosit dikelilingi zona pelusida, 6 – 9 lapisan sel granulosa, sebuah lamina basalis, teka interna dan eksterna. Terjadinya kavitas yang ditandai dengan akumulasi cairan yang disebut dengan cairan folikuler. Cairan folikuler adalah eksudat dari plasma yang merupakan hasil sekresi dari oosit dan sel granulosa. Ukuran folikel antral stadium kecil 1 – 6 mm, sedang 7-11, dan besar 12 – 17 mm. Banyaknya folikel antral dan ukurannya bervariasi menurut usia dan siklus menstruasi (Anwar, R 2005). Folikel menjadi tergantung pada sekresi hormon FSH dan LH untuk perkembangan folikel. Folikel berproliferasi dari sel granulosa dan diferensiasi menjadi kumulus dan sel granulosa mural untuk pembentukan folikel yang antrum. Folikel antral mensekresi faktor yang mendorong sel kumulus untuk menyerap asam amino yang kemudian diangkut ke folikel melalui gap junction. FSH adalah pengatur interaksi sel folikel dengan kumulus. Folikel mengatur produksi hormon steroid yaitu estrogen dan progesteron. Folikel antral juga menghambat luteinisasi dari sel granulosa mural sampai dilepaskan pada waktu ovulasi dengan menekan progesteron (Hutt, 2007).

f. Folikel de Graaf

Sel granulosa dibagi menjadi empat tipe yaitu membran, area periantral, cumulus oophorus dan sel granulosa corona radiata. Seluruh sel granulosa akan mengekspresikan reseptor FSH, begitu juga dengan kadar LH akan meningkat pesat dan mencapai puncak pada 16 jam sebelum ovulasi. FSH dan LH yang tinggi akan menyebabkan pembengkakan pada folikel. LH juga berfungsi mengubah sel granulosa dan sel teka untuk mensekresi progesteron sehingga sekresi estrogen mulai menurun. Ukuran folikel de Graaf 18 – 23 mm. (Hutt, 2007).

Tahapan perkembangan folikel pada ovarium terdapat dalam gambar : 2.2



Gambar 2.2 : Tahapan Perkembangan Folikel di Ovarium

Keterangan : Primordial folikel, foliilel primer, folikel preantral dan folikel antral (Anwar, 2005)

2.2.3 Jumlah Folikel Antral

Faktor yang mempengaruhi jumlah folikel antral : umur, diet, menstruasi, BMI, kadar estrogen, kadar FSH, fertilisasi in vitro dan pestisida. (Bishop *et.al.* 2015, Anwar, 2005, Adnyana, 2008, Allan *et al.*,2006). Jumlah folikel antral 6 – 12 dan hanya satu yang disiapkan untuk ovulasi sedangkan sisanya menjadi atresia. Jumlah folikel yang atresia ditemukan lebih tinggi pada tikus yang dipapar cypermethrin dengan waktu paparan yang lebih lama (Sangha *et al.*, 2011)

Efek cypermethrin berpengaruh pada penurunan kadar LH, FSH dan estrogen. Hormon LH, FSH dan estrogen diperlukan dalam sistem reproduksi, dengan penurunan yang signifikan menunjukkan bahwa cypermethrin dapat menghambat fungsi ovarium. Salah satu fungsi ovarium adalah menghasilkan folikel (Das, 2016).

Cypermethrin dapat menyebabkan produksi radikal bebas yang tidak normal dan berakibat pada kerusakan sel dan jaringan. Paparan cypermethrin dapat meningkatkan *Reactive Oxygen Species*). ROS dapat mengaktifkan terjadinya apoptosis (Atessahin, 2005)

2.3 Apoptosis

Apoptosis atau kematian sel yang terprogram merupakan mekanisme yang fisiologis pada perkembangan dan pemeliharaan kesehatan pada organisme (Lumongga, 2008). Apoptosis juga sebagai mekanisme homeostasis untuk mempertahankan populasi sel dalam jaringan. Apoptosis merupakan proses yang terkoordinasi dan melibatkan aktivasi protease sistein yang disebut caspase dan kaskade. Pada proses awal apoptosis terjadi penyusutan sel dengan ukuran lebih kecil, sitoplasma dan organel menjadi padat (Elmore, 2007). Apoptosis membutuhkan waktu lebih lama dari nekrosis yaitu beberapa jam sampai beberapa

hari tergantung inisiatornya (Willingham, 1999). Apoptosis merupakan proses aktif yang memerlukan energi karena proses oleh sel sendiri sampai menyebabkan kematian sel (Nagata, 1997).

2.3.1 Fungsi Apoptosis

Menurut Lumongga F, 2008 proses apoptosis secara fisiologis diperlukan untuk :

a. Terminasi sel

Kerusakan DNA yang disebabkan oleh bahan kimia yang toksik dapat mencetuskan terjadinya apoptosis melalui aktivasi tumor supresor gen p53. Keputusan untuk apoptosis dapat berasal dari sel itu sendiri, jaringan di sekitarnya atau dari sel sel termasuk dalam sistem imun.

b. Mempertahankan homeostasis

Pada organisme jumlah sel dalam organ harus dalam keadaan konstan. Proses homeostasis ini dibutuhkan oleh makhluk hidup untuk mempertahankan lingkungan internalnya. Homeostasis dapat tercapai bila kecepatan mitosis pada jaringan juga seimbang dengan kematian sel. Bila keseimbangan terganggu dapat menyebabkan: 1). Bila kecepatan pembelahan sel lebih tinggi daripada kecepatan kematian sel akan menyebabkan tumor, 2). Bila kecepatan pembelahan sel rendah dari kecepatan kematian sel akan menyebabkan jumlah sel berkurang.

c. Perkembangan embrional

Pada masa embrio, perkembangan jaringan atau organ didahului oleh pembelahan sel dan diferensiasi sel yang banyak dan dikoreksi melalui apoptosis.

d. Interaksi limposit

Perkembangan limfosit B dan T pada tubuh manusia akan membuang sel – sel yang berpotensi menjadi rusak. Cytotoksik T dapat secara langsung menginduksi

apoptosis melalui terbukanya celah pada target membran dan pelepasan zat kimia untuk mengawali proses apoptosis.

e. Involusi hormonal pada usia dewasa

Apoptosis dapat terjadi karena pelepasan sel endometrium selama siklus menstruasi, regresi pada payudara setelah masa menyusui dan atresia folikel pada ovarium saat menopause.

2.3.2 Mekanisme Apoptosis

Apoptosis terjadi melalui 2 jalur yang yaitu jalur intrinsik dan ekstrinsik

a. Jalur Intrinsik

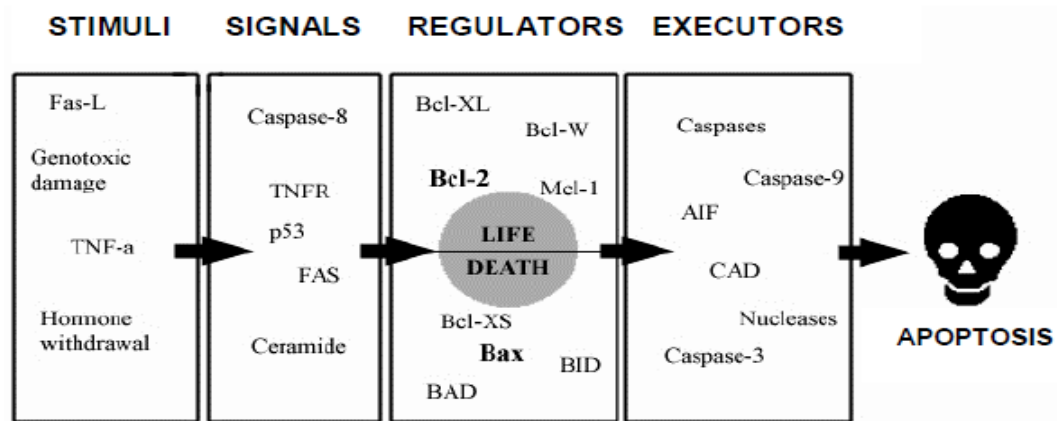
Jalur intrinsik melibatkan beragam rangsangan non reseptor yang menghasilkan sinyal intraseluler yang bertindak langsung pada target dalam sel dan peristiwa di mitokondria. Sinyal intraseluler dapat bertindak baik positif atau negatif. Sinyal negatif akan melibatkan faktor pertumbuhan, hormone dan sitokin yang dapat menyebabkan kegagalan penekanan program kematian sehingga memicu terjadinya apoptosis. Sinyal positif diantaranya radiasi, racun, hipoksia, hipertermia, infeksi virus dan radikal bebas. Semua rangsangan dapat menyebabkan perubahan dalam membran mitokondria. Sitokrom c mengikat dan mengaktifkan Apaf-1 serta procaspase 9 membentuk apoptosome. Smac / DIABLO dan HtrA2 / Omi menghambat aktivitas IAP begitu juga protein mitokondria. AIF endonuklease G dan CAD dilepaskan dari mitokondria. AIF tranlokasi ke nukleus dan menyebabkan fragmentasi DNA dan kondensasi kromatin tahap 1. Endonuklease G juga tranlokasi ke nukleus dan kromatin membelah untuk menghasilkan fragmen oligonukleosomal DNA. AIF dan endonuclease G berfungsi sebagai caspase independen. CAD selanjutnya dibebaskan dari mitokondria dan tranlokasi ke nukleus setelah pembelahan oleh caspase 3 dan mengarah ke oligonukleosomal DNA fragmentasi

dan kromatin kondensasi (tahap 2). Kontrol dan regulasi apoptosis mitokondria melalui anggota dari keluarga protein Bcl-2. Protein penekan tumor p53 memiliki peran dalam regulasi keluarga protein Bcl-2. Keluarga protein Bcl-2 mengatur permeabilitas membran mitokondria dan dapat berupa pro apoptosis dan anti apoptosis. Beberapa protein anti apoptosis termasuk Bcl-2, Bcl-x, Bcl-XL, Bcl-XS, Bcl-w, BAG dan protein pro apoptosis Bcl-10, Bax, Bak, Bid, Bad, Bim, Bik, dan Blk, protein-protein ini memiliki peranan dapat menentukan apakah sel melakukan apoptosis atau tidak. Mekanisme dari keluarga protein Bcl-2 adalah regulasi pelepasan sitokrom C dari mitokondria melalui perubahan permeabilitas membran mitokondria. Kerusakan mitokondria dalam Fas dimediasi oleh caspase 8 (Elmore, 2007).

b. Jalur Ekstrinsik

Jalur ini melibatkan reseptor TNF yang memainkan peran penting dalam transmisi sinyal kematian dari permukaan sel ke jalur intraseluler. Ligan untuk jalur ekstrinsik FasL, FasR, TNF- α , TNFR1, Apo3L, Apo2L, DR4, DR5. FasL / FasR dan TNF α . TNFR1 mengikat ligan trimerik homolog, setelah itu protein adaptor cytoplasmic direkrut dan mengikat reseptor. Pengikatan ligan dan reseptor Fas, TNF dalam pengikatan protein adaptor Tradd dengan merekrut FADD dan RIP. FADD kemudian mengaktifkan caspase 8 dan akan memicu fase eksekusi. Kematian reseptor dapat dihambat oleh protein yang disebut c-FLIP yang akan mengikat FADD dan caspase 8. Granzyme B akan membelah pada residu aspartat dan akan mengaktifkan procaspase 10 dan akan membelah membelah faktor ICAD . Granzym juga dapat langsung mengaktifkan caspase 3. Granzym B sitotoksisitas sangat penting sebagai mekanisme control untuk ekspansi sel Th2 (Elmore, 2007).

Skema terjadinya apoptosis jalur intrinsik dan ekstrinsik terdapat dalam gambar 2,3



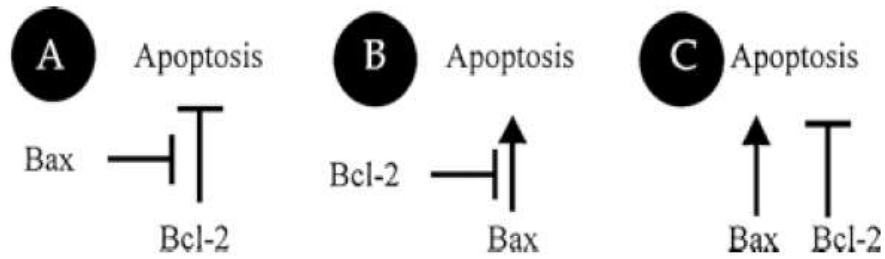
Gambar 2.3 : Skema Terjadinya Apoptosis

Keterangan : 4 tahapan apoptosis. Tahap pertama stimuli yang menginduksi apoptosis. Selanjutnya terjadi aktivasi sinyal. Tahap berikutnya Kekuatan sinyal dievaluasi proapoptosis atau anti apoptosis. Tahap selanjutnya aktivitas eksekutor yang bertanggungjawab terhadap apoptosis (Morita dan Tilly, 1999)

2.3.3 Bcl-2

Bcl-2 merupakan salah satu anggota keluarga protein Bcl-2. Bcl-2 bersifat anti apoptosis dengan cara kerja menghambat kerja Bax / Bak dengan membentuk heterodimer yang menginaktivasi Bax / Bak. Regulasi apoptosis sangat tergantung dari rasio antara Bcl-2 dan Bax untuk menentukan apakah sel akan apoptosis atau tetap bertahan hidup. Ada beberapa model untuk menggambarkan rasio anti apoptosis (Bcl-2) dan pro apoptosis (Bax) dalam menghambat atau menyebabkan apoptosis . Model ratio Bcl-2 dan Bax terdapat dalam gambar 2.4 (Hadi, 2011).

Fungsi Bcl-2 adalah : 1). Modulasi mitokondria dalam pelepasan sitokrom c dan interaksi Apaf-1 dengan caspase, 2), Mengikat Bax, 3), Memblokir apoptosis yang diinduksi oleh c-Myc. Ekspresi protein Bcl-2 ditemukan pada semua komponen di ovarium. Peran Bcl-2 di apoptosis ovarium adalah penurunan jumlah folikel, ekspresi yang berlebihan dari Bcl-2 mengarah ke penurunan apoptosis folikel dan atresia (Hussein, 2005).



Gambar 2.4 Model ratio Bcl-2 dan Bax Dalam Menyebabkan Apoptosis
 Keterangan : (A). Bcl-2 menghambat apoptosis dan Bax menghapus hambatan tersebut sehingga terjadi apoptosis. (B). Bax menginduksi dan Bcl-2 menghambat induksi ini. (C). Bcl-2 menghambat apoptosis dan Bax menginduksinya. Apoptosis merupakan kombinasi ketiga model dan terjadi secara kompleks (Chao dan Korsmeyer, 1998)

Gen Bcl-2 pertama ditemukan karena lokasinya di daerah translokasi antara kromosom 14 dan 18 dan terdapat pada sebagian besar limfoma follikuler. Overekspresi Bcl-2 secara spesifik menghambat sel memulai apoptosis. Protein Bcl-2 bertranslokasi ke membran mitokondria dan memodulasi apoptosis dengan menimbulkan permeabilitas membran sehingga menyebabkan pelepasan sitokrom C. Bcl-2 banyak ditemukan pada membran mitokondria, retikulum endoplasma dan inti membran (Auerkari, 2001).

Pemeriksaan Bcl-2 dapat menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang terdiri dari tahapan : denaturasi template DNA, Amplifikasi PCR target, *Melting Curve* dan pendingin (Amir, 2014). Pemeriksaan ekspresi Bcl-2 juga dapat dengan menggunakan pemeriksaan imunohistokimia. Immunostaining untuk Bcl-2 dilakukan pada jaringan formalin-fixed (Alireza *at al*, 2008)

2.3.4 Apoptosis pada Ovarium

Apoptosis merupakan komponen penting dari fungsi ovarium dan pengembangan. Ini terjadi selama hidup janin apoptosis terutam melibatkan oosit dan dalam kehidupan dewasa melibatkan sel granulosa dari folikel. Apoptosis tertinggi terjadi pada usia kehamilan 14 dan 28 minggu. Selama masa dewasa, jumlah folikel primordial mulai tumbuh selam setiap siklus menstruasi. Hanya satu folikel mengalami ovulasi dan yang lainnya mengalami apoptosis atau hanya 450 folikel akan mengalami ovulasi selama reproduksi wanita. Follikulogenesis merupakan tahap perkembangan folikel mulai dari perekrutan folikel primordial dan berakhir dengan ovulasi. Pada awal siklus menstruasi kadar FSH yang meningkat dan satu folikel menghasilkan estrogen dan di pertengahan siklus menstruasi terjadi mekanisme umpan balik, sekresi FSH menurun dan folikel yang tersisa mengalami apoptosis dan menjadi atresia (Hussein, 2005).

Apoptosis pada ovarium dipicu oleh sinyal internal (jalur intrinsik), apoptosis terjadi pada sel germinal, sel granulosa, teka interna dan di sel luteal. Bcl-2 mempunyai peran yang penting dalam terjadinya apoptosis di ovarium. Dalam keadaan fisiologis Bcl-2 bergabung dengan Apaf-1 sehingga mencegah kebocoran yang melibatkan protein mitokondria di sitoplasma, Munculnya sinyal negatif seperti stimulasi hormonal, ROS dan kerusakan sel menyebabkan pelepasan protein Apaf-1 dan aktivasi protein pro apoptosis akan mengganggu permeabilitas membran mitokondria dan pori sementara yang menyebabkan pelepasan protein mitokondria, sitokrom c dan AIF. Pelepasan sitokrom c akan menginduksi pelepasan caspase 9. Apoptosis di ovarium juga dapat melalui jalur ekstrinsik yang melibatkan TNFR1 dan Fas. (Ciohina *et al*, 2012).

Luteolysis atau regresi korpus luteum merupakan proses fungsional dan morfologi yang ditandai dengan penurunan sekresi progesteron. Luteolysis morfologi memerlukan perubahan dalam struktur seluler dari korpus luteum dan involusi bertahap di ovarium menjadi bekas luka kecil yang terdiri dari jaringan ikat corpus albicans (Hadi, 2011)

2.4 Pestisida

Pestisida adalah bahan kimia yang digunakan untuk membunuh, membasmi atau mengendalikan hama untuk melindungi tanaman sebelum dan sesudah panen; mematikan atau mencegah pertumbuhan gulma dan melindungi produk tanaman (Maden *et al.*, 2015). Jika pestisida digunakan dengan benar maka akan membawa manfaat untuk manusia. Karena dapat meningkatkan produksi panen dan mencegah penyebaran penyakit.(Brundage, 2010). Secara konseptual pestisida digunakan sebagai alternatif terakhir dalam pengendalian organisme pengganggu tanaman (Sulistiyono, 2004). Tapi kenyataannya pestisida sering digunakan secara tidak bertanggung jawab dengan penggunaan yang tidak aman dan tidak tepat dosis hal ini dapat menyebabkan hama menjadi resisten dan ketergantungan pada pestisida dan berdampak pada tingkat paparan dan kesehatan. (Maden, 2015). Menurut Herawaty dan Nadhira (2009) yang dikutip Hudaya, (2012) pada umumnya petani menggunakan lebih dari satu jenis pestisida dalam setiap aplikasi.

Bahan kimia termasuk pestisida mengganggu hormon alami karena potensi yang kuat untuk mengikat estrogen atau endogen reseptor. Secara khusus bahan kimia dapat mengikat dan mengaktifkan reseptor berbagai hormon diantaranya adalah reseptor estrogen dan kemudian meniru hormon alami. Bahan kimia dapat mengganggu sintesis, transportasi, metabolisme dan eliminasi hormon sehingga mengurangi konsentrasi hormon alami (Mnif *et al.*, 2011)

Insektisida merupakan bahan yang mengandung senyawa kimia beracun yang dapat membunuh organisme jenis serangga. efek dari insektisida pada spesies sasaran adalah: neurotoksisitas oleh gangguan saluran natrium atau interaksi dengan reseptor neurotransmitter, kelumpuhan oleh gangguan metabolisme energi, atau hambatan pertumbuhan dengan menghalangi sintesis kitin (Bolognesi dan Marlo, 2011).

2.4.1 Penggolongan Pesticida

Menurut cara kerjanya pestisida digolongkan menjadi :

a. Organoklorin

Merupakan insektisida sintetis yang paling tua yang disebut juga hidrokarbon klor. Organoklorin bersifat stabil di lapangan dan residunya sangat sulit terurai. Toksisitas rendah tapi mampu bertahan lama dalam lingkungan. Racunnya dapat mengganggu susunan syaraf pusat dan larut dalam lemak. Masuk ke dalam tubuh melalui udara, saluran pencernaan dan absorpsi melalui kulit. Salah satu jenis organoklorin yang dikenal adalah *Dikloro Difenil Trichloroethane* (DTT)

b. Organofosfat

Merupakan insektisida yang bekerja dengan menghambat enzim asetilkolinesterase sehingga mengakibatkan terjadinya penumpukan asetilkolin yang berakibat pada terjadinya kekacauan pada system pengantar impuls saraf ke sel – sel. Sifat umum dari organofosfat adalah tidak menimbulkan kontaminasi lingkungan dalam jangka waktu lama, efektif terhadap serangga yang resisten terhadap organoklorin dan lebih toksik. Gejala bila keracunan organofosfat : mual, pusing, muntah, kejang, sesak nafas dan detak jantung menjadi cepat.

c. Karbamat

Merupakan insektisida yang berspektrum luas. Cara kerjanya dengan mematikan serangga sama dengan organofosfat yaitu melalui penghambatan aktivitas enzim asetilkolinesterase pada system saraf. Perbedaannya kalau karbamat penghambatan bersifat reversibel yaitu penghambatan enzim dapat dipulihkan kembali. Golongan karbamat berabsorpsi melalui kulit, udara dan oral. Keracunan senyawa ini berlangsung lebih singkat karena cepat terurai oleh tubuh.

d. Piretroid

Piretroid merupakan insektisida yang bersifat neurotoksik., merupakan analog sintesis dari ester bunga krisan (piretroid I) dan asam piretrik (piretroid II) (Denies, *et al.*, 2007). Piretroid adalah turunan semisintetik dari asam krisan, senyawa ini digunakan secara luas sebagai insektisida. Piretroid merupakan insektisida ampuh yang memiliki toksisitas kecil terhadap organisme nontarget (Brundage *et al*, 2010). Piretroid mempunyai sifat stabil bila terkena sinar matahari dan relatif murah serta efektif untuk pengendalian hama. Piretroid mempunyai efek sebagai racun kontak yang kuat serta mempengaruhi sistem saraf perifer dan sentral pada serangga (Hudaya dan Jayanti, 2012)

Struktur piretroid terdiri dari asam chrysanthemic dan 3 alkohol yaitu pyrethrolone, cinerolone dan jasmolone yang berikatan dengan ester. Piretroid juga banyak digunakan dalam rumah tangga seperti shampo untuk hewan peliharaan, obat kudis, kutu dan pada beberapa jenis kain (Sailenfait *et al*, 2015).

Tanda – tanda keracunan akut peroral oleh senyawa tipe I cenderung hipereksitabilitas dan tremor seluruh tubuh, sementara tipe II menimbulkan choreathetosis dan air liur bersifat reversibel. Gejala umum pada saluran pernafasan adalah batuk dan iritasi pada saluran nafas, pada neurologis sakit kepala,

gastrointestinal mual dan muntah, kulit terjadi paresthesia. Pyrethroid terabsorpsi ke partikel yang umumnya debu dan masuk ke dalam tubuh melalui inhalasi. Pyrethroid juga masuk melalui dermal dan oral. (Saillenfait *et al.*, 2015).

Pyrethroid bersifat hidrofobik target utama adalah saluran sodium neuronal dan meningkatkan natrium masuk ke dalam sel syaraf dan menginduksi depolarisasi membran saraf dan blok konduksi pada konsentrasi tinggi. (Atessahin *et al.*, 2005).

Penggolongan pestisida berdasarkan kegunaan dibagi menjadi akarisida, algisida, avisida, bakterisida, fungisida, herbisida, insektisida, larvisida, moluskisida, ovisida, piscisida dan rotentisida (Hudaya dan Jayanti, 2012).

2.4.2 Cara Paparan Pestisida

Pestisida masuk ke dalam tubuh manusia melalui :

a. Melalui Kulit

Terjadi apabila insektisida mengenai pakaian atau langsung mengenai kulit. Pada saat petani / pengguna insektisida memegang tanaman yang baru disemprot, ketika mencampur insektisida tanpa menggunakan sarung tangan, atau pada saat mencuci pakaian yang sudah terkena insektisida. Melalui kulit inilah keracunan paling sering dialami oleh para petani atau petugas lapangan

b. Melalui pernafasan

Terjadi apabila petani atau pengguna insektisida menyemprot tanaman tanpa alat pelindung diri dan cara penyemprotan yang salah.

c. Melalui mulut

Terjadi apabila seseorang meminum insektisida secara sengaja ataupun tidak, ketika seseorang makan atau minum yang telah tercemar atau ketika akan makan dengan tangan tanpa mencuci tangan setelah memegang insektisida. (Quijano, dan Rengam, 1999).

Mekanisme kerja pestisida adalah dengan cara merusak langsung ke struktur sel, Interferensi dengan proses biokimia dan biotransformasi yang menghasilkan metabolik beracun (Bretveld *et al.*, 2006).

Paparan pestisida dinilai dengan mengukur kadar pestisida dalam sampel manusia seperti ASI, darah, urine dan darah tali pusat (Mnif *et al*, 2011)

2.4.3 Dampak Paparan Pestisida

Menurut Sulistyono (2004) dampak penggunaan pestisida dibedakan menjadi empat :

a. Resurgensi, resistensi dan matinya musuh alami

Ekosistem menjadi tidak seimbang dikarenakan matinya makhluk hidup yang bermanfaat bagi manusia baik yang berada di darat, air maupun udara

b. Pencemaran tanah, air dan udara

Insektisida masuk ke dalam tanah berjalan melalui biotransformasi dan bioakumulasi oleh tanaman, proses reabsorpsi oleh akar serta masuk langsung melalui infiltrasi aliran tanah. Proses ini akan mempengaruhi kandungan bahan pada system air tanah. Pada proses pencucian bahan kimia akan mempengaruhi kualitas air tanah. Penurunan kualitas air tanah memungkinkan terjangkitnya penyakit akibat adanya pencemaran yang merupakan implikasi langsung dari masuknya insektisida, Lingkungan perairan yang tercemar menyebabkan satwa yang hidup di dalam dan sekitar menjadi tercemar. Proses penyebaran insektisida ke udara melalui penyemprotan oleh petani yang terbawa oleh angin. Akumulasi insektisida yang terlalu berat di udara pada akhirnya akan menambah parah pencemaran udara.

c. Residu makanan

Residu terdapat dalam hasil pertanian yang berasal dari penggunaan insektisida yang diaplikasikan langsung pada tanaman, residu juga dapat berasal dari kontaminasi melalui angin atau tanah yang banyak mengandung insektisida.

d. Kesehatan manusia

Paparan insektisida pada manusia sangat kompleks sebagai hasil paparan lingkungan kerja. Dampak penggunaan insektisida bagi manusia dibagi menjadi :

1. Toksisitas akut

Klasifikasi ini didasarkan terutama pada toksisitas oral dan kulit, dengan gejala sesak nafas, batuk, mual, muntah, Kasus keracunan pestisida akut untuk mortalitas dan morbiditas jumlahnya signifikan di seluruh dunia. Yaitu 18,2 per 100.000 pekerja (Bolognesi, 2011, Ujvary, 2010)

2. Efek neurogenik

Temuan dari studi epidemiologi menyatakan bahwa paparan pestisida dapat meningkatkan risiko penyakit Parkinson. Pestisida berkontribusi pada patogenesis penyakit Parkinson melalui penghambatan fungsi mitokondria (Bolognesi, 2011).

3. Karsinogenik

EPA mengklasifikasikan sejumlah bahan aktif dalam pestisida menjadi karsinogen pada manusia. Beberapa pestisida dengan bukti karsinogenitas yang cukup kuat seperti DDT telah dilarang penggunaannya. Senyawa ini menimbulkan polutan pada lingkungan yang sangat luas karena bioakumulasi dan ketahanan dalam ekosistem. Residu dari pestisida ini telah terdeteksi dalam rantai makanan.

4. Sistem Reproduksi

Beberapa penelitian in vivo dan in vitro telah menyebutkan bahwa paparan pestisida dapat menyebabkan gangguan pada endokrin perempuan yaitu

konsentrasi hormon terganggu, siklus ovarium terganggu dan gangguan kesuburan. Dalam studi epidemiologi pestisida dikaitkan dengan gangguan siklus menstruasi, kesuburan berkurang, abortus spontan, lahir mati dan cacat perkembangan (Bolognesi, 2011).

2.4.4 Batas Toleransi Pestisida

Perusahaan pestisida sebelum mengedarkan produknya diharuskan mendaftarkan pada komisi pestisida di bawah Kementerian Pertanian, Di Amerika ditangani oleh EPA (*Environment Protectoin Association*). Keputusan lembaga ini memberikan ijin pemakaian pestisida tergantung dari risiko dan kegunaan. EPA menetapkan batas toleransi terhadap pestisida yang didaftarkan, batas toleransi harus melindungi kesehatan masyarakat dan harus ditetapkan batas dosis yang tidak lebih tinggi dari pengendalian hama. Batas toleransi adalah jumlah maksimal dari residu pestisida dalam part per millon – ppm atau milligram per kilogram (Sulistyono, 2004).

Konsentrasi perkiraan cypermethrin pada air minum yang dapat menyebabkan keracunan akut adalah 1,04 ppb dan dapat menyebabkan keracunan kronis adalah sebesar 0,013 ppb (Rexrode, 2006).

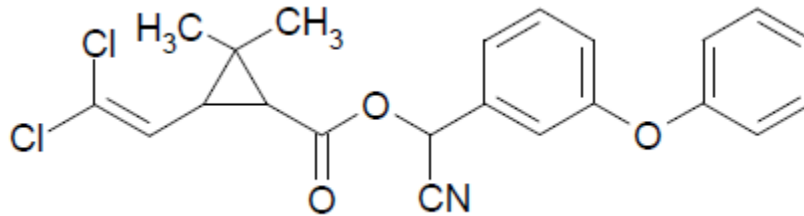
2.4.5 Cypermethrin

Cypermethrin merupakan jenis piretroid type II atau merupakan piretroid sintetik yang telah digunakan secara luas karena toksisitasnya yang tinggi untuk berbagai serangga dan toksisitas yang rendah mamalia dan burung serta biodegradasi cepat (Attesahin *et al.*, 2005). Selain digunakan di bidang pertanian, cypermethrin juga digunakan dalam kesehatan masyarakat, dan digunakan di dalam ruangan untuk mengontrol semut, kecoa dan serangga lainnya. Cypermethrin dianggap aman

dengan dosis berkisar 0,01 mg/kg – 0,2 mg/kg di produk makanan dan sampai 20 mg/kg produk non makanan.

Sifat Kimia :

- a. Rumus Kimia : $C_{22}H_{19}Cl_2 NO_3$
- b. Berat molekul : 416,3
- c. Registrasi no : 52315-07-8
- d. Titik didih : 216 °C
- e. Densitas : 1,204 g/ml pada 25EC
- f. Kelarutan air : 7,6 ppb pada 25°C
- g. Struktur Kimia : terdapat dalam gambar 2.5



Gambar 2.5 : Struktur kimia cypermethrin (Jaensson, A, 2010)

Cypermethrin merupakan kombinasi dari 8 stereoisomer dengan komposisi persentase 11 – 14%. Cypermethrin diformulasikan sebagai konsentrat emulsi (EC), konsentrat larut / liquid, dan bubuk basah (Mnif, 2013)

Gejala keracunan cypermethrin pada manusia adalah wajah seperti terbakar, kesemutan, pusing, sakit kepala, mual, anoreksia dan kelelahan. Cypermethrin dapat diekskresikan : pada binatang tikus dikeluarkan melalui urine 50 – 65% dalam waktu 24 jam dan dikeluarkan melalui faeses 30 % dalam waktu 3 hari, pada manusia yang menelan cypermethrin dosis rendah (0,25, 0,5 atau 1,5 mg/ kg BB diekskresikan 49 – 78% dalam waktu 24 jam dalam penelitian ini menunjukkan bahwa cypermethrin

tidak menumpuk di dalam tubuh. Cypermethrin berpengaruh terhadap kesehatan manusia dan lingkungan tergantung pada dosis, lama dan frekuensi paparan (Npic, 1998).

Model aksi cypermethrin :

- a. Pemblokiran pada fungsi sinaps dari akson saraf.

Cypermethrin melintasi penghalang darah dan otak sehingga menyebabkan neurotoksisitas dalam sistem saraf pusat. Cypermethrin memperpanjang pembukaan saluran natrium yang mengarah ke hipereksitasi sistem saraf pusat. Selain saluran natrium juga memodulasi klorida, kalsium dan kalium, mengubah aktifitas reseptor glutamat dan asetilkolin serta menginduksi kerusakan DNA dan stres oksidatif. Cypermethrin memodulasi tingkat neurotransmitter (Singh *et al.*, 2012). Pada neurotransmitter baik langsung maupun tidak langsung menyebabkan pelepasan gonadotropin releasing hormon. Jika tidak ada kontrol dari sistem saraf pusat akan menyebabkan kegagalan untuk perkembangan seksual. (Lasley, 2014)

- b. Menginduksi stres oksidatif, kerusakan DNA dan apoptosis

Cypermethrin bertanggung jawab untuk induksi stres oksidatif, yang dapat menghasilkan ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan dan dapat mengakibatkan oksidatif kerusakan lipid, protein, karbohidrat dan asam nukleat. Stres oksidatif dapat mengakibatkan kerusakan struktur sel. dan selanjutnya dapat menyebabkan penurunan dalam pertahanan antioksidan atau dapat menyebabkan kerusakan langsung oksidatif organisme. Sehingga stres oksidatif dapat menginduksi kerusakan DNA dan apoptosis pada sel. Kelebihan ROS dalam mitokondria dapat mengganggu sitokrom c dan kemudian menginduksi apoptosis (Jin *et al.*, 2011). Kerusakan DNA yang dipapar cypermethrin bervariasi tergantung dari

dosis yang diberikan, semakin besar dosis yang diberikan semakin besar persentase DNA yang rusak. (Taju, 2014).

c. Menginduksi toksisitas organ reproduksi

Cypermethrin dapat mempengaruhi fungsi banyak organ salah satunya adalah organ reproduksi. Pada ovarium menunjukkan adanya proliferasi jaringan ikat di korteks, terjadi penurunan indeks ovarium yang disebabkan karena berkurangnya peran anabolik estrogen (Das *et al.*, 2016). Pada pemeriksaan histopatologi pada ovarium ikan ditemukan gangguan parsial dari folikel dan rusaknya jaringan ikat interfolikuler. Struktur ovarium menjadi cacat, terdapat nekrosis dan fibrosis pada jaringan ikat. Pada kelompok yang dipapar cypermethrin selama 30 hari menunjukkan pembengkakan dinding folikel dan pecah, oosit menunjukkan fragmentasi sitoplasma dan terjadi penyusutan folikel (Mukadam dan Kulkarmi, 2014).

Cypermethrin dapat melewati sawar plasenta sehingga dapat mempengaruhi fungsi fisiologis yang terkait dengan perkembangan neurologis janin, karena janin sangat sensitif terhadap racun kimia. Embriotoksitas tergantung tidak hanya pada sifat senyawa, jumlah dosis tetapi juga waktu dan durasi paparan terutama selama perkembangan janin (Madu, 2015).

d. Gangguan pada hormonal

Fungsi reproduksi dipengaruhi oleh hormon dari sumbu hipotalamus – hipofisis– ovarium. Hormon steroid dari ovarium dipengaruhi oleh hipotalamus pituitary (HP) axis dan mengirim sinyal umpan balik terhadap sumbu hipotalamus-pituitary cypermethrin mempengaruhi set point yang mengatur sekresi dan fungsi beberapa hormon yang dikeluarkan oleh hipofisis anterior dan ovarium yang mengontrol siklus ovulasi. Terjadi penurunan yang signifikan kadar hormon LH, FSH dan estrogen dan

ini menunjukkan bahwa cypermethrin dapat menghambat fungsi ovarium dan uterus. Penurunan sekresi hormon LH dan FSH dari hipofisis anterior dan estrogen dari ovarium disebabkan karena tindakan langsung dari cypermethrin pada hipofisis anterior (Das *et al*, 2016). Kegagalan hipofisis untuk memproduksi dan melepaskan gonadotropin akan menyebabkan fungsi ovarium terganggu dan menstruasi akan berhenti (Lasley, 2014). Cypermethrin dapat terakumulasi dalam lemak tubuh, kulit, hati, ginjal, kelenjar adrenal, ovarium, paru – paru, darah dan jantung (Chen *et al*, 2015).

2.4.6 Uji Toksikitas

Uji toksisitas adalah uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis respon yang khas dari sediaan uji. Uji toksisitas menggunakan hewan uji sebagai model untuk melihat adanya reaksi biokimia, fisiologi dan patologi pada manusia. Uji toksisitas dibedakan menjadi tiga yaitu 1). Uji toksisitas akut oral, 2). Uji toksisitas subkronis oral, 3). Uji toksisitas kronis oral.

Uji toksisitas subkronis oral adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara peroral pada hewan uji selama sebagian umur hewan coba. Prinsip dari uji toksisitas subkronis oral adalah sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan setiap hari pada beberapa kelompok hewan coba dengan satu dosis per kelompok selama 28 hari atau 90 hari (BPOM, 2014)

2.4.7 Hubungan Paparan Cypermethrin dengan Apoptosis pada Ovarium

Salah satu aksi kerja dari cypermethrin adalah menginduksi terjadinya apoptosis, kerusakan DNA dan stres oksidatif. Salah satu organ yang terpengaruh adalah ovarium. Apoptosis ditemukan dalam folikel ovarium mulai sejak bayi hingga

dewasa. Pada saat janin apoptosis terlokalisasi pada oosit sedangkan dalam kehidupan dewasa terdeteksi di granulosa sel pada folikel sekunder dan antral (Huseein *et al.*, 2005). Pada hewan coba yang diberikan perlakuan dengan pemberian cypermethrin menunjukkan kerusakan yang besar pada ovarium dibandingkan dengan kelompok kontrol. Oosit kehilangan bentuk dan terlepas dari dinding folikel, nukleus menonjol dan buram (Mukadam, 2014)

Pada penelitian Solati *et al* (2010) didapatkan bahwa dosis cypermethrin 10 mg/kg, 15 mg/kg dan 20 mg/kg yang dipaparkan pada mencit selama 30 hari secara signifikan menurunkan perilaku seksual dan kadar hormon FSH dan LH dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada tikus prapubertas dengan usia 25 – 30 hari, diberi paparan cypermethrin dengan dosis 33, 34 mg/kg BB dan 51,5 mg/kg BB diberikan peroral selama 30 hari didapatkan hasil hormon LH, FSH dan estrogen juga menurun pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Efek stres oksidatif meningkat signifikan pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol (Das, 2016)

2.5 *Rattus norvegicus*

Rattus norvegicus termasuk dalam order rodentia, family muridae, genus rattus dan spesies norvegicus. *Rattus norvegicus* memiliki warna yang bervariasi antara coklat, hitam, merah dan kuning, ada juga yang albino dengan warna putih dan warna mata merah muda dan paling sering digunakan sebagai hewan coba di laboratorium. *Rattus norvegicus* hidup dalam liang di permukaan tanah (Koolhas, et al., 2010). Ukuran tubuh tikus lebih besar daripada mencit, lebih mudah untuk dipegang dan memiliki kemampuan reproduksi yang tinggi sehingga lebih disukai sebagai hewan coba dalam penelitian (Kusumati, 2004 dan Koolhas et al, 2010). *Rattus norvegicus* termasuk binatang yang mudah beradaptasi dengan berbagai

lingkungan. Dalam penelitian yang tujuannya untuk mengetahui keamanan obat dan bahan kimia yang mengganggu organ reproduksi dan gangguan itu umumnya dinyatakan dalam perubahan morfologi (Westwood, 2008)

Toksonomi *Rattus norvegicus* :

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Class : Mamalia

Ordo : Rodentia

Sub ordo : Myomorpha

Famili : Muridae

Genus : Rattus

Tabel 2.1 Data Biologi *Rattus norvegicus*

Berat Badan betina	250 – 300 gram
Lama hidup	2,5 – 3 tahun
Suhu tubuh	37,5 ° C
Kebutuhan O ₂	0,84 ml/m ² /gr BB
Kebutuhan air	8 – 11 ml/100 gr BB
Kebutuhan makanan	5 gr /100 gr BB
Volume urine	5,5 ml/100 gr BB
pH Urine	7,3 – 8,5
Defikasi	9 – 13 gr / 24 jam
Berat organ :	
a. Jantung	0,5 % BB
b. Ginjal	0,5 % BB
c. Liver	3 % BB
d. Paru – paru	1 5 BB
e. Ovarium	0,05 % BB
Pubertas	50 – 60 hari
Lama kebuntingan	21 – 23 hari

Sumber : Kusumati, 2004 dan Koolhas 2010

2.4.1 Sistem Organ *Rattus norvegicus*

a. Sistem pencernaan

Tidak mempunyai kantung empedu, lambung terdiri dari dua bagian yaitu nonglandular dan glandular, usus halus terdiri dari duodenum 8 cm, jejunum 80 cm dan ileum 3 cm, usus besar 16 cm, karakteristik hewan pengerat dengan formula gigi insisif 1/1, caninus 0/0, pre molar 0/0, dan molar 0/0 sehingga jumlah gigi 16. Liver mempunyai 4 lobus (Kusumawati, 2004)

b. Sistem pernafasan

Paru – paru dibagi menjadi lobus kiri tunggal dan kanan 4 lobus. Timus ditemukan di mediastinum precardial mencapai ukuran maksimum 90 hari mengecil seiring bertambahnya usia.

c. Sistem reproduksi

Vagina membuka pada umur 34 – 109 hari, uterus bentuknya bikornu, dan duplek yang terdiri dari 2 uterus, dua serviks dan satu vagina. . Mammae membesar saat bunting pertama dan meningkat secara signifikan pada saat sebelum partus. *Rattus* memiliki kemampuan reproduksi yang sangat tinggi, dengan jumlah anak 6 – 9.

d. Sistem urinari

Berat ginjal 2 gram dengan volume 3,7 ml, ginjal unipapilata yang terdiri dari satu papilla dan satu kelep dan langsung memasuki ureter, pada betina lubang uretra di dasar klitoris (Sharp, 1998)

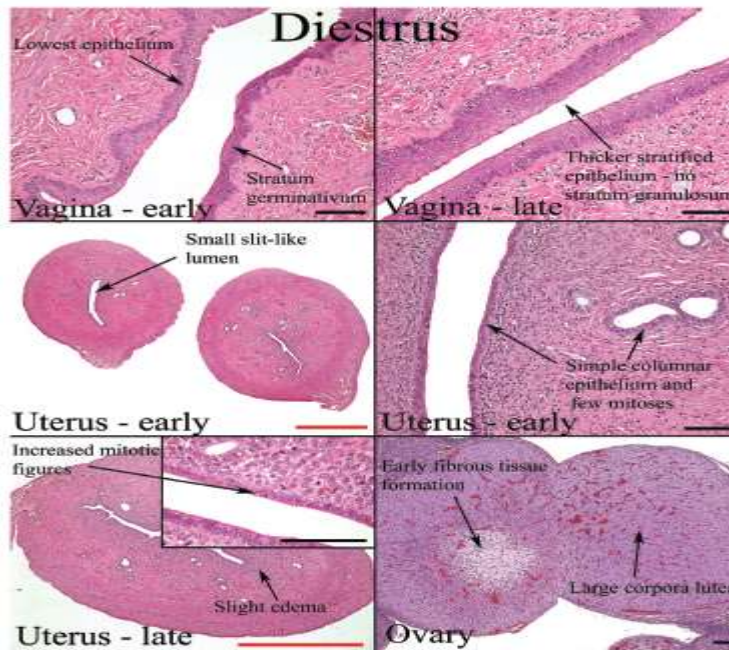
2.4.2 Sistem Reproduksi *Rattus norvegicus* Betina

Siklus reproduksi atau siklus estrus pada *Rattus norvegicus* betina adalah periode hasrat seksual. Siklus estrus dikelompokkan menjadi proestrus, estrus metestrus dan diestrus. Siklus estrus berlangsung 4 – 5 hari dengan rincian proestrus 12 – 14 jam, estrus 25 – 27 jam, metestrus 6 – 8 jam dan diestrus 55 – 57 jam.

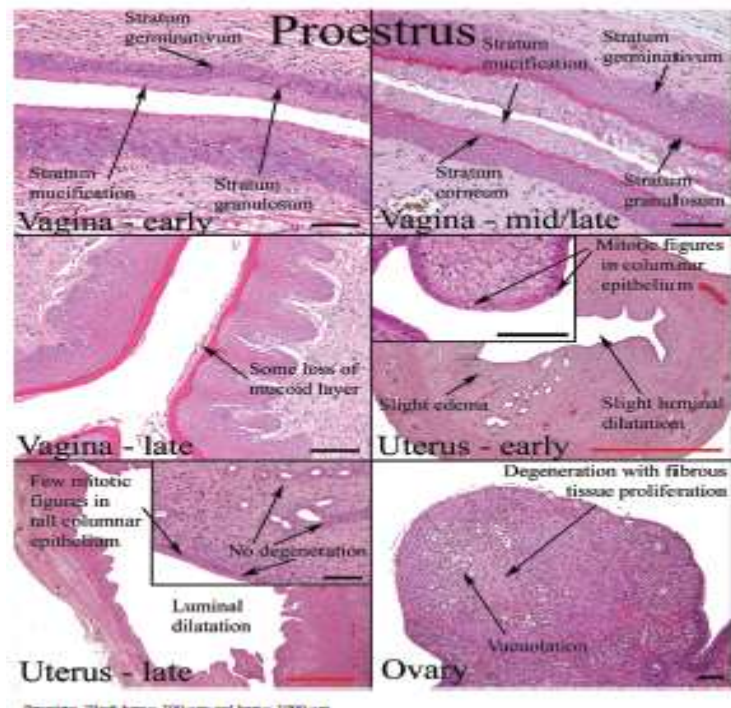
Tabel 2.2 Histologi vagina, uterus, dan ovarium selama siklus estrus

	Vagina	Uterus	Ovarium
Diestrus	Epitel pada tingkat yang terendah, tidak ada proliferasi pada stratum granulosa (Gambar 2.6)	Ukuran kecil dilapisi oleh epitel kolumner	Corpus luteum berukuran besar
Proestrus	Mulai pembentukan stratum granulosa (Gambar 2.7)	Epitel berbentuk kuboid, dilatasi pada akhir fase	Corpus luteum berubah dengan adanya vakuola, terjadi proliferasi
Estrus	Berlendir, epitel menjadi tipis (Gambar 2.8)	Terjadi nekrosis pada sel epitel, dilatasi sampai akhir estrus	Beberapa corpus luteum kecil dengan sitoplasma sel basophil, ada cairan berongga
Metestrus	Squamosa dan hilangnya stratum granulosa (Gambar 2.9)	Degenerasi sel – sel endometrium	Corpus luteum masih berisi cairan ukuran lebih kecil dari diestrus

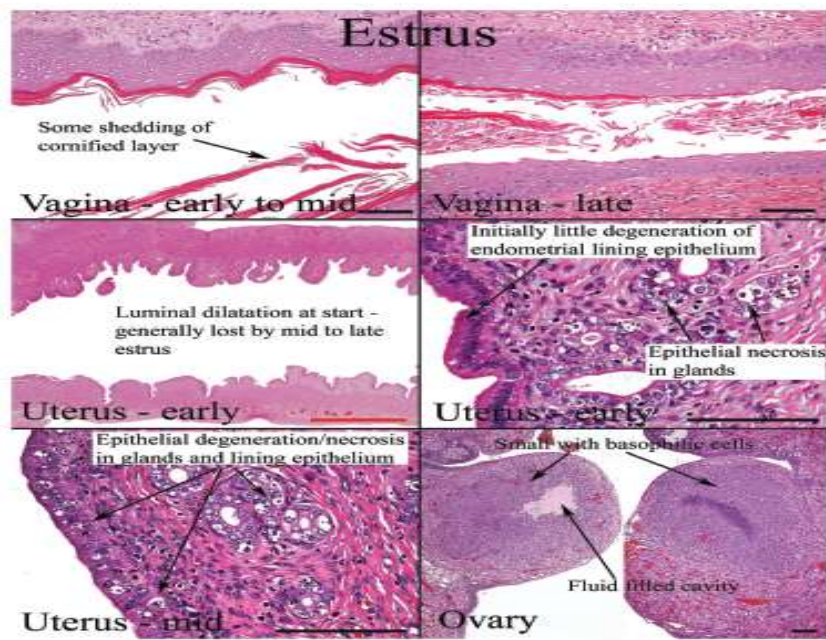
Sumber : Westwood, FR. 2008



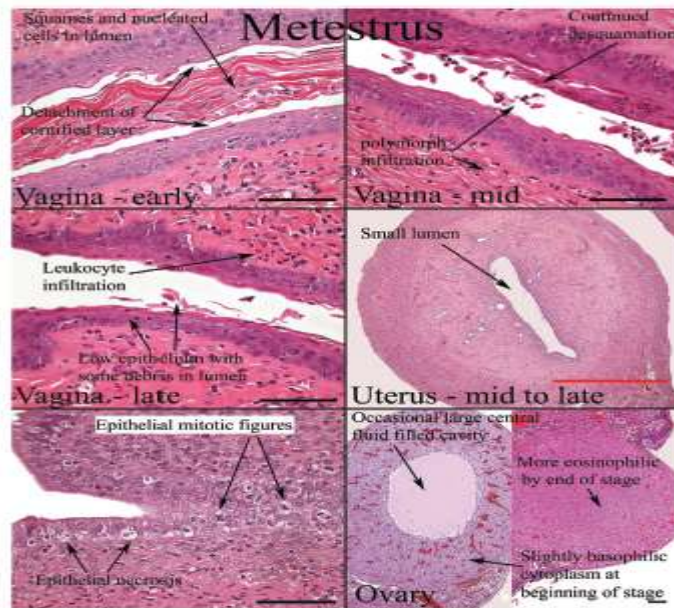
Gambar 2.6 Fase diestrus dan gambaran pada vagina, uterus dan ovarium



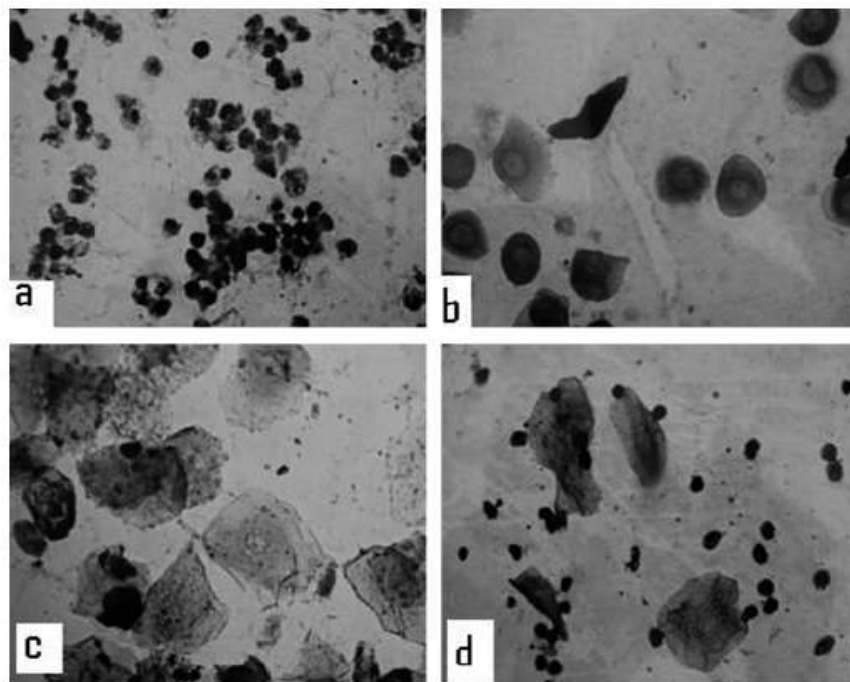
Gambar 2.7: Fase proestrus dan gambaran pada vagina, uterus dan ovarium



Gambar 2.8 : Fase Estrus dan gambaran pada vagina, uterus dan ovarium



Gambar2.9 : Fase Metestrus dan gambaran pada vagina, uterus dan ovarium (Westwood, FR. 2008)



Gambar 2.10. : Sitologi vagina tikus pada siklus estrus a) diestrus : banyak eritrosit b). proestrus : sel berinti c). estrus : sel bertanduk d) metestrus : sel bertanduk dan eritrosit (Shrestha J. 2010)