

**STUDI HUBUNGAN KADAR TESTOSTERON  
DENGAN *LEUTEINIZING HORMONE* (LH)  
PADA SIKLUS REPRODUKSI LUTUNG  
JAWA (*Trachypithecus auratus*) JANTAN  
UMUR DEWASA DI JAVAN  
LANGUR CENTER**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**OLEA RODY SANGEN**  
155130101111071



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2019**

Studi Hubungan Kadar Testosteron dengan *Leuteinizing Hormone* (LH) Pada Siklus Reproduksi Lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) Jantan Umur Dewasa di Javan Langur Center

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:  
**OLEA RODY SANGEN**  
**155130101111071**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN**  
**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**  
**MALANG**  
**2019**

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI****STUDI HUBUNGAN KADAR TESTOSTERON DENGAN *LEUTEINIZING HORMONE* (LH) PADA SIKLUS REPRODUKSI LUTUNG JAWA (*Trachypithecus auratus*) JANTAN UMUR DEWASA DI JAVAN LANGUR CENTER****Oleh:****OLEA RODY SANGEN  
155130101111071**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji  
Pada tanggal 21 Juni 2019  
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh  
gelar Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

**Dr. Agung Pramana Warih M, M.Si**  
NIP. 19650616 199111 1 001

**drh. Nurina Titisari, M.Sc.**  
NIP. 19860122 201504 2 001

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Brawijaya

**Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M. App. Sc**  
NIP. 19631216 198803 1 002

**LEMBAR PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Olea Rody Sangen

NIM : 155130101111071

Program Studi : Kedokteran Hewan

Penulis Skripsi berjudul :

Studi Hubungan Kadar Testosteron dengan *Leuteinizing Hormone* Pada Siklus Reproduksi Lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) Jantan Umur Dewasa di Javan Langur Center.

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termasuk di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ni dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 20 Juni 2019  
Yang menyatakan,

Olea Rody Sangen  
NIM. 155130101111071

**Studi Hubungan Kadar Testosteron Dengan *Leuteinizing Hormone* (LH)  
Pada Siklus Reproduksi Lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) Jantan  
Umur Dewasa di Javan Langur Center**

**ABSTRAK**

Lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) adalah salah satu satwa endemik Indonesia yang termasuk dalam kategori *Vulnerable* (rentan) berdasarkan *Red List* IUCN. Hal yang mempengaruhi status satwa endemik ini hampir punah salah satunya adalah kegagalan bereproduksi. Siklus reproduksi dapat diketahui melalui pemantauan hormon reproduksi seperti testosteron, LH dan FSH. Informasi mengenai siklus reproduksi dapat menentukan masa pubertas dan masa subur bagi lutung Jawa untuk melakukan perkawinan sehingga dapat mengoptimalkan proses spermatogenesis hingga keberhasilan perkawinan. Adanya ikatan spesifik (LH) dan FSH pada reseptor masing-masing dalam jaringan interstitial dan tubulus seminiferus, menunjukkan adanya interaksi testis dengan gonadotropin pada hewan jantan menyebabkan peningkatan kadar testosteron. Peningkatan pada pola hormonal menentukan hewan sedang dalam siklus reproduksi. Deteksi hormon testosteron dan LH dilakukan secara *non-invasive* menggunakan sampel dari feses. Sampel feses yang telah dikoleksi selama 30 hari dilakukan ekstraksi dan pembacaan menggunakan *Monkey Luteinizing Hormone ELISA reader* merk BT Lab dengan Cat.No E0052MK dan Cat No E0008MK. Hasil diperoleh terdapat hubungan yang sejalan antara fluktuasi testosteron dan LH pada siklus reproduksi lutung Jawa jantan. Lama durasi siklus lutung Jawa Luki 14 hari dan lutung Jawa Moses 10 hari setiap satu bulan.

**Kata Kunci :** Lutung Jawa Jantan, Siklus Reproduksi, Testosteron, LH

**Study About Relation of Testosterone Levels with Leuteinizing  
Hormone (LH) in the Reproductive Cycle of Adult  
Male Javan Langur (*Trachypithecus auratus*)  
in Javan Langur Center**

**ABSTRACT**

Javan Langur (*Trachypithecus auratus* E. Geoffrey 1812) is one of Indonesia's endemic animals which include in vulnerable category based on Red List IUCN. Things that affect the status of endemic animals are almost extinct, one of which is the problem of reproducing. Reproductive hormones such as androgens, testosterone, LH and FSH. Information about reproductive cycle can determine puberty and the fertile period for Javan langurs to carry out marriages so that they can optimize the process of spermatogenesis to reach marriage. The presence of specific bonds between (LH) and FSH in the respective receptors in the interstitial tissue and seminiferous tubules, indicates a relationship between testes and gonadotropin in male animals which results in increased testosterone levels. Increases in hormonal patterns determine which animals are in recurrent cycles and spermatogenesis. Detection of testosterone and LH is done in a non-invasive manner using samples from feces. Stool samples collected for 30 days were extracted and read using the Monkey Luteinizing Hormone ELISA reader BT Lab with Cat. No E0052MK and Paint No. E0008MK. The results obtained there is a correlation between the testosterone and LH fluctuations in the reproductive cycle of male Javan langurs. The duration of the cycle of spermatogenesis of Javan langurs in Luki 14 days and Javan langur in Moses 10 days every month.

**Keywords** : Male Javan Langur, Reproductive Cycle, Testosterone, LH

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, atas berkat dan kasih-Nya penulis dapat menyusun dan menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul “**Studi Hubungan Kadar Testosteron dengan *Leuteinizing Hormone* Terhadap Masa Pubertas Lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) Jantan Umur Dewasa di Javan Langur Center**”. Penelitian ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan pada Fakultas Kedokteran Hewan, Program Studi Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya.

Dalam penulisan skripsi ini, penulis banyak mendapat bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Agung Pramana Warih Mahendra, M. Si. selaku dosen pembimbing 1 dan drh. Nurina Titisari, M. Sc. selaku dosen pembimbing 2 yang juga selaku ketua tim penelitian atas bimbingan, kesabaran, dan waktu yang telah diberikan.
2. Drh. Aulia Firmawati, M. Vet. selaku dosen penguji 1 dan drh. Rahadi Swastomo, M. Biomed. selaku penguji 2 yang telah meluangkan waktu serta memberikan kritik dan saran yang membangun.
3. Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M. App. Sc Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya, seluruh jajaran Dekanat, Dosen dan Staf Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya atas bantuan dan fasilitas yang diberikan.
4. Ayahanda Rody Sangen, Ibunda Riwanti dan kedua adik Oliver Rody Sangen dan Ohanes Rody Sangen atas cinta dan kasih sayang serta dukungan,

- perhatian, kepercayaan serta doa yang diberikan selama ini.
5. Tim penelitian “Feses Lutung” yakni Made Ayu Putri Antarayami dan Rahadean Arya atas kerjasama dan dukungan yang diberikan.
  6. Sahabat-sahabat penulis yakni Silvira, Dian, Hardyanti, Desy, Aditya, Asfina, Fadilla, Leona, Agung, Alessia, William, Yosep, Akino, dan Roberto atas bantuan dan dukungan yang diberikan.
  7. Andreas Nonop Hawi Anugrahno Sehol atas kesabaran untuk mendengarkan keluh kesah, serta dukungan dan doanya.
  8. Teman-teman anggota kelas DECODE (2015-D) dan teman seangkatan DNA atas bantuan, dukungan, kerja sama dan doa.
  9. Teman-teman keluarga di PMK Veteriner FKH UB atas suka cinta, kasih dan doa yang telah menjadi keluarga kedua bagi penulis.
  10. Serta kepada semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu telah membantu dalam pembuatan, pelaksanaan dan penyusunan skripsi.

Penulis sadar bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Akhir kata, penulis berharap semoga Tuhan membalas segala kebaikan serta ketulusan yang telah diberikan. Semoga Tugas Akhir ini dapat memberikan manfaat dan menambah ilmu pengetahuan bukan hanya untuk penulis namun untuk pembaca yang lain.

Malang, 20 Juni 2019

Olea Rody Sangen

**DAFTAR ISI**

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN COVER</b> .....	<b>ii</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>LEMBAR PERNYATAAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>v</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xiii</b>
<b>ISTILAH DAN LAMBANG</b> .....	<b>xiv</b>
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Batasan Masalah.....	3
1.4 Tujuan Penelitian.....	4
1.5 Manfaat Penelitian.....	4
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
2.1 Lutung Jawa .....	5
2.1.1 Klasifikasi Lutung Jawa.....	5
2.2 Tingkah Laku Lutung Jawa.....	6
2.2.1 Tingkah Laku Sosial.....	6
2.2.2 Tingkah Laku Seksual.....	8
2.3 Siklus Reproduksi Lutung Jantan.....	9
2.3.1 Hubungan Kadar Testosteron dan LH Pada Masa Pubertas Lutung Jantan .....	10
2.3.2 Hubungan Kadar Testosteron dan LH Pada Proses Spermato-genesis .....	11
2.4 Uji ELISA Terhadap Kadar Testosteron dan LH.....	18
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEP</b> .....	<b>21</b>

<b>3.1 Kerangka Konseptual</b> .....	<b>21</b>
<b>3.2 Hipotesa Penelitian</b> .....	<b>24</b>
<b>BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	<b>25</b>
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	25
4.2 Sampel Penelitian .....	25
4.3 Rancangan Penelitian .....	26
4.4 Tahapan Penelitian .....	26
4.5 Variabel Penelitian .....	26
4.6 Alat dan Bahan Penelitian .....	27
4.7 Mekanisme Penelitian .....	27
4.7.1 Pengambilan Sampel Feses .....	27
4.7.2 Pengolahan Ekstrak Feses .....	27
4.7.3 Pembacaan Kadar LH.....	28
4.7.4 Pembacaan Kadar Hormon Testosteron.....	29
4.7.4 Analisa Data .....	30
<b>BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>31</b>
5.1 Kadar <i>Leuteinizing Hormone</i> (LH) Lutung Jawa Jantan .....	31
5.2 Kadar Testosteron Lutung Jawa Jantan.....	32
5.3 Hubungan Kadar Testosteron dengan Leuteinizing Hormone (LH) .....	34
<b>BAB 6 PENUTUP</b> .....	<b>41</b>
6.1 Kesimpulan.....	41
6.2 Saran.....	41
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>42</b>

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
2.1 Lutung Jawa .....	6
2.2 Cara Makan Lutung .....	7
2.3 Mekanisme Hormonal.....	15
2.4 Distribusi dan Aksi Hormon Testosteron.....	16
5.1 Profil Konsentrasi <i>Leuteinizing Hormone</i> (LH) Luki .....	31
5.2 Profil Konsentrasi <i>Leuteinizing Hormone</i> (LH) Moses .....	32
5.3 Profil Konsentrasi Hormon Testosteron Luki.....	33
5.4 Profil Konsentrasi Hormon Testosteron Moses .....	34
5.5 Hubungan Konsentrasi Kadar Testosteron dan LH Pada Luki .....	38
5.6 Hubungan Konsentrasi Kadar Testosteron dan LH Pada Moses .....	39
5.7 Perbandingan Perkembangan <i>Germ Cell</i> .....	40



**DAFTAR TABEL**

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
4.1 Informasi Lutung Jawa Jantan .....	20
4.2 Rancangan Penelitian .....	21
5.1 Profil Konsentrasi Luteinizing Hormone Lutung Jawa Jantan .....	32
5.2 Profil Konsentrasi Hormon Testosteron Lutung Jawa Jantan.....	35
5.3 Asumsi Lama Periode Panjang Spermatogenesis Lutung Jawa Jantan .....	39
5.4 Durasi Satu Siklus Spermatogenesis Pada Roden, Primata dan Manusia.....	41



## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran .</b>	<b>Halaman</b>
1. Laik Etik.....	49
2. Kerangka Operasional Penelitian .....	50
3. Tahapan Penentuan Standar <i>Monkey</i> Testostern ELISA Kit .....	51
4. Tahapan Penentuan Standar <i>Monkey</i> LH ELISA Kit .....	52
5. Prosedur Pembacaan ELISA .....	53
6. Nilai Absorbansi LH Lutung Jawa .....	54
7. Nilai Absorbansi Testosteron Lutung Jawa .....	55
8. Proses Pengerjaan ELISA kit LH.....	56
9. Proses Pengerjaan ELISA kit Testosteron .....	59
10. Perhitungan Konsentrasi LH.....	62
11. Perhitungan Konsentrasi Testosteron.....	64



## DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

<b>Simbol/Singkatan</b>	<b>Keterangan</b>
±	: Kurang lebih
%	: Persen
µL	: Microliter
°C	: Derajat Celcius
AR	: Androgen reseptor
BB	: Berat Badan
cm	: centimeter
DHT	: Dihidrotestosteron
dkk	: dan kawan-kawan
ELISA	: Enzyme-linked immunosorbent assay
<i>et al</i>	: <i>et alli</i>
FSH	: <i>Follicle Stimulating Hormone</i>
GnRH	: <i>Gonadtropin releasing hormone</i>
JLC	: Javan Langur Center
kg	: kilogram
LH	: <i>Leuteinizing Hormone</i>
mIU/mL	: mIU/milliliter
ml	: milliliter
mm	: millimeter
ng/mL	: nanogram/milliliter
OD	: <i>optical density</i>
PBS	: <i>Phosphate-buffered saline</i>
RIA	: <i>Radioimmunoassay</i>
rpm	: Rotasi per menit atau revolusi per menit
WIB	: Waktu Indonesia bagian barat

## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi. Keanekaragaman hayati ini tersebar di seluruh wilayah Indonesia, dari berbagai sumber daya alam hayati yang beraneka ragam tersebut terdapat berbagai macam hewan atau satwa. Banyak macam satwa baik endemik Indonesia maupun non-endemik Indonesia. Satwa endemik adalah jenis hewan yang unik dan memiliki ciri-ciri yang khas yang disebabkan karena penyesuaian diri terhadap habitatnya. Satwa endemik Indonesia salah satunya adalah Lutung jawa (*Trachypithecus auratus*) (Aristides dkk., 2016). Pemerintah Indonesia telah menetapkan Lutung Jawa sebagai satwa yang dilindungi guna mencegah primata tersebut dari kepunahan. Kepunahan terjadi apabila suatu spesies gagal untuk menggantikan jumlah individu yang mati secara alami dan perlahan-lahan dalam waktu yang lama. Keadaan tersebut dapat dipercepat karena ulah manusia yang telah menyebabkan menurunnya daya dukung lingkungan tempat hidup mereka (Alikodra, 2010).

Lutung Jawa (*Trachypithecus auratus* E. Geoffrey 1812) adalah salah satu satwa endemik yang termasuk dalam kategori *Vulnerable* (Rentan) berdasarkan *Red List International Union for Conservation of Nature and Natural Resources* (IUCN, 2008). Populasi lutung Jawa menurun oleh adanya

aksi perdagangan ilegal dan menyusutnya habitat karena terfragmentasi (Sofial, 2014). Satwa yang terdaftar dalam Appendix II CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) ini marak diperdagangkan secara ilegal di pasar-pasar di daerah Jawa Timur, termasuk Malang (Profauna, 2013). Jawa Timur merupakan salah satu habitat terakhir bagi kehidupan berbagai jenis flora dan fauna endemik sebagai komponen keanekaragaman hayati di Indonesia (Basalamah dkk., 2010). Salah satu lembaga konservasi *ex-situ* fauna endemik di Jawa Timur adalah *Javan Langur Center* (JLC) yang berlokasi di kawasan Coban Talun, Batu, Malang (Alikodra, 2010). *Javan Langur Center* (JLC) juga mengupayakan terjadinya perkawinan antara lutung jawa betina dan jantan guna mencegah primata tersebut dari kepunahan, akan tetapi selalu mengalami kendala karena kurangnya informasi mengenai siklus reproduksinya. Bercovitch (1999) menyatakan bahwa stres mungkin dapat mempengaruhi keberhasilan reproduksi jantan namun bukan dengan menghalangi spermatogenesis tapi dengan menghalangi akses jantan kepada betina dan dengan menghalangi kapasitas ereksi.

Masa hidup lutung di alam bebas rata-rata separuh lebih pendek dari kerabat kera lainnya seperti orangutan yang bisa mencapai 50 tahun. Lutung betina dan jantan melakukan reproduksi di atas pohon dan tidak pernah berada di atas tanah (Nugroho dan Sugiyarto, 2015). Lutung Jawa termasuk *uni-group* (*one male* dan *multi-female*) dalam hal reproduksi, yaitu jumlah jantan hanya ada satu di tiap kelompok (Astriani dkk., 2016). Masa pubertas pada primata dimulai dari dapat terbentuknya spermatogenesis secara sempurna dan mun-

culnya libido. Spermatogenesis tergantung konsentrasi hormon testosteron dan *Leuteinizing Hormone*, dimana hormon ini berfungsi untuk menunjukkan aktivitas reproduksi primata tersebut (Cheng dkk, 1992). Deteksi hormon testosteron dapat dilakukan secara *invasive* maupun *non-invasive* (Astuti dkk., 2006). Studi Informasi perilaku interaksi lutung Jawa baik di habitat asli maupun kawasan konservasi masih sangat terbatas, padahal informasi ini dapat dijadikan sebagai penunjang dalam sistem pemeliharaan yang baik dan keberhasilan dalam hal reproduksi sehingga populasi lutung Jawa di masa depan dapat dipertahankan maupun dikembangkan lagi. Ancaman kepunahan dan keminimalan informasi inilah yang menjadi alasan untuk mengumpulkan data guna mengetahui masa siklus reproduksi lutung Jawa jantan berdasarkan kadar hormon testosteron dan *Leuteinizing Hormone*.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana hubungan antara kadar testosteron dengan *leuteinizing hormone* pada siklus reproduksi lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) jantan dewasa selama satu bulan.
2. Berapa lama durasi siklus reproduksi lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) jantan berdasarkan hubungan kadar hormon testosteron dengan *leuteinizing hormone*

## 1.3 Batasan Masalah

1. Variabel dan sampel yang digunakan berasal dari kandang karantina dan

sosialisasi di *Javan Langur Center* (JLC) dengan umur 3-5 tahun.

2. Kadar testosteron dengan leuteinizing hormone pada masa pubertas dan siklus reproduksi.
3. Ekstrak sampel feses Lutung Jawa untuk pengukuran kadar hormon testosteron dengan *leuteinizing hormone* menggunakan uji ELISA.

#### 1.4 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui bagaimana hubungan kadar hormon testosteron dengan *leuteinizing hormone* pada siklus reproduksi lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) jantan.
2. Untuk mengetahui lama durasi siklus reproduksi lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) jantan berdasarkan hubungan kadar hormon testosteron dengan *leuteinizing hormone*.

#### 1.5 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi secara spesifik tentang hubungan kadar hormon testosteron dengan *leuteinizing hormone* pada masa pubertas dan siklus reproduksi Lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) jantan lainnya.
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi informasi dan masukan bagi penelitian selanjutnya terhadap siklus reproduksi lutung Jawa.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Lutung Jawa

#### 2.1.1 Klasifikasi Lutung Jawa

Lutung (*Presbytis cristata* Raffles 1821) merupakan salah satu primata yang ada di Indonesia dan telah banyak dimanfaatkan untuk pengembangan ilmu pengetahuan, riset dan teknologi dan juga komoditi ekspor. Menurut Bismark dan Wieiosoeparto (1980), lutung (*silvered langur*) hidup secara arboreal, dengan pakan utamanya daun dan sebagai pakan tambahan adalah bunga dan buah, merupakan golongan monyet dari famili Cercopithecidae.

Klasifikasi spesifik dari lutung Jawa menurut Groves (2011) adalah:

Kingdom : Animalia

Phylum : Chordata

Subphylum : Vertebrata

Kelas : Mamalia

Ordo : Primata

Sub ordo : Anthropoidea

Famili : Cercopithecidae

Sub famili : Colobinae

Genus : Trachypithecus

Spesies : *T. Auratus* Geoffroy 1812 Menurut Roos dkk., (2011)

pemisahan antara Cercopithecidae dan Colobidae tampaknya berada disekitar batas oligosen/miosen, jadi mereka harus dipisahkan pada tingkat keluarga.



**Gambar 2.1** Lutung Jawa (*Trachypithecus auratus* E. Geoffrey 1812) (Zainal, 2010).

Lutung Jawa mempunyai panjang tubuh dari ujung kepala sampai tungging (jantan dan betina dewasa) rata-rata 517 mm dan panjang ekornya rata-rata 742 mm. Berat badan tubuhnya rata-rata 6,3 kg. Lutung Jawa saat bayi memiliki warna rambut jingga hingga merah, akan tetapi setelah dewasa kemungkinan terjadi perubahan warna menjadi hitam sedikit kelabu (Gambar 2.1). Lutung jantan memiliki ukuran tubuh lebih besar dibandingkan betina (Santono dkk., 2016). Lutung betina memiliki bulu berwarna perak di sekitar kelaminnya. Untuk subspecies *Trachypithecus auratus* (*Spangled Langur Ebony*) memiliki ras yang mempunyai bulu seperti lutung jawa muda dengan warna bulu jingga gelap dengan ujung kuning (Nugroho dan Sugiyarto, 2015).

## 2.2 Tingkah Laku Lutung Jawa

### 2.2.1 Tingkah Laku Sosial

Lutung merupakan hewan arboreal dan diurnal yang artinya lebih banyak beraktivitas diatas pohon dan aktif pada dua periode waktu yaitu pagi dan sore hari. Persentase aktivitas yang dilakukan lutung dalam satu hari meliputi makan 57,8%, berpindah tempat 10,2%, istirahat 19,4% dan aktivi-

tas lain 12,7 % (Subagyo dkk., 2008). Perilaku kompetisi diawali oleh sikap agresif. Sikap agresif yang ditunjukkan oleh salah seekor lutung jantan. Pejantan yang dominan akan mengganggu dan mengejar lutung jantan yang lain, sambil bersuara. Pejantan yang kalah akan keluar dari kelompok makan atau berpindah lokasi makan. Perilaku agresif menunjukkan adanya dominansi oleh jantan dewasa untuk menguasai sumberdaya yang ada. Lutung betina lebih agresif jika menyangkut hal perkawinan dan anak (Indriyati dkk., 2017).



**Gambar 2.2** Cara makan lutung (a) dipegang, (b) digigit, (c) dikunyah, (d) ditelan (Zainal, 2010)

Cara makan lutung sangat bervariasi (Gambar 2.2), tapi saat pakan dimakan sikap tubuh lutung selalu dalam posisi duduk. Lutung makan dengan cara menarik salah satu ranting yang terletak di dekatnya kemudian meraih pucuk daun menggunakan tangan yang lain, ranting kemudian dilepaskan dan memasukkan daun ke mulut, digigit sebagian lalu dikunyah sedangkan daun sisa dibuang. Anak makan kurang dari lima meter atau berdekatan dengan induknya (Nursal, 2001). Perilaku berikutnya adalah perilaku meniru yang dilakukan oleh individu jantan. Perilaku diawali dengan individu jantan yang melompat dari ranting satu ke ranting yang lainnya untuk mencari daun muda

atau pucuk daun diikuti oleh individu jantan lain yang meniru tingkah laku melompat dibelakang lutung jantan (Indriyati dkk., 2017).

Perilaku aktivitas berpindah tempat dilakukan oleh lutung. Lutung menggunakan waktu pagi atau sore hari untuk berpindah tempat (Subagyo dkk., 2008). Lutung dapat menggunakan satu pohon penghasil pakan sebagai tempat tidur. Menurut Bernstein (1968), karakteristik pohon yang dijadikan tempat tidur lutung umumnya berdaun rimbun, berdada diantara tajuk-tajuk pohon yang sempit dan rimbun di pertengahan sampai puncak pohon, dengan cara terpencar-pencar pada satu pohon. Semua anggota kelompok lutung tidur pada satu pohon pada malam hari.

### **2.2.1 Tingkah Laku Seksual**

Selama masa hidupnya seekor lutung betina bisa hamil 5 sampai 6 kali, dengan masa kehamilan 6-7 bulan (Norris dan Lopez, 2011). Pada monyet ekor panjang dan owa diperlukan waktu 1-2 tahun hingga betina dan jantan merasa cocok untuk berpasangan, sedangkan pada lutung jawa belum diketahui berapa lama waktu yang diperlukan untuk cocok dengan pasangannya hingga akhirnya kawin. Rata-rata di alam bebas mereka bisa mencapai umur 20-25 tahun. Harapan hidup ini separuh lebih pendek dari pada kerabat kera, seperti orangutan, yang bisa mencapai 50 tahun. Lutung melakukan aktivitas reproduksi di atas pohon dan tidak pernah berada di atas tanah. Hal tersebut dikarenakan perilaku lutung yang takut terhadap manusia sehingga jarang berinteraksi ke tanah (Nugroho dan Sugiyarto, 2015). Perilaku agresif sebagai

ciri umum bahwa satu individu sedang mengalami dewasa kelamin sangat sulit dijumpai karena hanya terjadi pada saat-saat tertentu (Indriyati dkk., 2017).

### 2.3 Siklus Reproduksi Lutung Jantan

Satwa primata memiliki struktur anatomi, fisiologi tubuh dan tingkah laku primata yang menyerupai manusia (Pangestiningasih dkk., 2014). Anatomi alat reproduksi jantan primata pada umumnya sama. Pada monyet ekor panjang (*Macaca fascicularis*) alat reproduksi jantan terdiri dari testis, epididimis, ductus deferens, kelenjar prostat, vesikula seminalis, dan penis. Pada *M. fuscata*, *M. mulatta*, *M. cyclopis*, dan *M. Fascicularis* kelenjar penis dapat dikatakan identik berbentuk seperti helm meluas hingga bagian dorsal dan ventral penis. Pada monyet ekor panjang puncak aktif melakukan perkawinan pada bulan Oktober hingga Desember akibat perngaruh suhu (Prakash dkk., 2009). Lutung Jawa betina mengalami matang seksual dan dapat berkembang biak pada umur 3-4 tahun (Cannon dan Vos, 2009). Pada monyet ekor panjang usia 2,5-5 tahun testis telah turun ke skrotum dan konsentrasi serum testosteron meningkat. Usia 5 tahun disebut dewasa muda akan tetapi umumnya keberhasilan dalam perkawinan terjadi pada usia diatas 5,5 tahun (Rao dkk., 1998). Pada owa umur kematangan seksual owa yakni sekitar 6-9 tahun telah melakukan kopulasi (Yohanna, 2014). Menurut Norris dan Lopez (2011), siklus birahi primata mengalami ovulasi pada hari ke 13 hingga 16. Siklus birahi pada primata dapat terjadi 2-3 kali selama 1 bulan tergantung jenis spesiesnya. Siklus reproduksi primata jantan secara umum telah mengalami

pubertas dan dewasa kelamin, siklus dapat diketahui melalui pemantauan hormon reproduksi seperti testosteron, LH dan FSH. Informasi mengenai siklus reproduksi dapat menentukan masa pubertas dan masa subur bagi lutung Jawa untuk melakukan perkawinan sehingga dapat mengoptimalkan keberhasilan perkawinan (Saltzman dkk., 2011)

### **2.3.1 Hubungan Kadar Testosteron dan *Luteinizing Hormone* Pada Masa Pubertas Lutung Jantan**

Masa pubertas pada hewan primata dimulai dari perkembangan organ reproduksi, kemampuan alat reproduksi untuk memproduksi spermatozoa, terbentuknya spermatogenesis secara sempurna dan munculnya libido (Rao dkk., 1998). Spermatogenesis dan libido pada hewan mamalia tergantung konsentrasi hormon testosteron, dimana hormon ini berfungsi untuk menunjukkan aktivitas reproduksi hewan (Cheng dkk., 1992). Pubertas terjadi karena adanya rangsangan pada anterior hipotalamus untuk memproduksi *Gonadotropin-Releasing Hormone* (GnRH). Hormon GnRH akan merangsang adenohipofisa untuk menghasilkan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan pada saat itu diproduksi testosteron oleh sel Leydig di testis. Regulasi hormon-hormon tersebut menyebabkan pubertas (Widyaningrum dkk., 2015).

Pendekatan yang dapat diterapkan untuk mempelajari peran androgen dalam masa pubertas spermatogenesis yaitu dapat dilakukan dengan berbagai cara khususnya untuk mempelajari efek tunggal dari hormon (follicle stimulating hormone/FSH, luteinizing hormone/LH dan testosteron), konsentrasi dan dampaknya. Keberadaan hormon androgen terutama testos-

teron dan  $5\alpha$  dihidrotestosteron sangat mempengaruhi fertilitas pejantan (McLachlan dkk., 2002). Menurut Schanbacher (1979), bahwa terdapat keterkaitan proses masa pubertas dan spermatogenesis pada hewan dengan peningkatan konsentrasi testosteron dalam darah. Adanya ikatan spesifik *Luteinizing Hormone* (LH) dan FSH pada reseptor masing-masing dalam jaringan interstitial dan tubulus seminiferus, menunjukkan adanya interaksi testis dengan gonadotropin pada hewan jantan menyebabkan peningkatan kadar testosteron. Peningkatan kadar testosteron dalam darah merupakan perubahan hormon yang paling nyata selama proses dewasa kelamin pada hewan jantan. Peningkatan kadar testosteron menentukan hewan sedang pada masa pubertas dan spermatogenesis (Rahmanisa, 2014).

### **2.3.2 Hubungan Kadar Testosteron dengan *Leuteinizing Hormone* pada**

#### **Proses Spermatogenesis**

Androgen merupakan hormon-hormon seks jantan yang sangat penting dalam perkembangan dan menjaga sistem reproduksi jantan. Ikatan androgen reseptor dengan ligand-ligand natifnya (DHT dan testosteron) menginisiasi perkembangan dan diferensiasi seksual pria (Akmal, 2017). Androgen disintesis dan disekresikan ke dalam aliran darah dan sebagian besarnya membentuk testosteron. Setelah memasuki sel-sel targetnya, testosteron juga dimetabolisasi oleh aromatase membentuk estradiol di dalam hipotalamus (Matsumoto dkk., 2013). Testosteron merupakan bentuk utama yang disekresikan oleh testis dan merupakan bentuk aktif androgen di dalam

otot, sedangkan dihidrotestosteron (DHT) adalah metabolit dan merupakan bentuk aktif androgen yang lebih aktif dibutuhkan untuk perkembangan traktus reproduksi (Akmal, 2017). Testosteron (C-19 ketosteroid) yang disintesis di sel-sel leydig testis adalah hormon androgen utama pada hewan jantan dan memiliki peran penting dalam proses spermatogenesis (produksi sperma) dan ekspresi perilaku seksual. Oleh karena itu, pengukuran kadar testosteron dapat berfungsi sebagai dasar untuk pemantauan status gonad jantan (Chedrese, 2009). Proses pembentukan dan pemasakan spermatozoa disebut spermatogenesis. Proses spermatogenesis secara sempurna baru dimulai setelah hewan mencapai dewasa kelamin (pubertas) (Rahmanisa, 2014). Proses spermatogenesis pada hewan dibagi menjadi 4 tahap (Ownby, 1999) yaitu :

1. Tahap proliferasi, tahap ini dimulai sejak sebelum lahir sampai beberapa saat setelah lahir. Bakal sel kelamin yang ada pada lapisan basal dari tubuli seminiferi melepaskan diri dan membelah secara mitosis sampai dihasilkan banyak sel spermatogonia.
2. Tahap tumbuh, tahap ini spermatogonia membagi diri secara mitosis sebanyak empat kali sehingga dihasilkan 16 sel spermatogonia
3. Tahap menjadi masak, yaitu sel spermatogonia menjadi sel spermatosit. Pada tahap ini terjadi pembelahan meiosis sehingga sel spermatosit primer berubah menjadi sel spermatosit sekunder.
4. Spermatosit sekunder akan berubah menjadi spermatid samaan dengan pengurangan jumlah kromosom dari diploid ( $2n$ ) menjadi

menjadi haploid ( $n$ ).

5. Tahap transformasi, pada tahap ini terjadi proses metamorfosa seluler dari sel spermatid sehingga terbentuk sel spermatozoa.

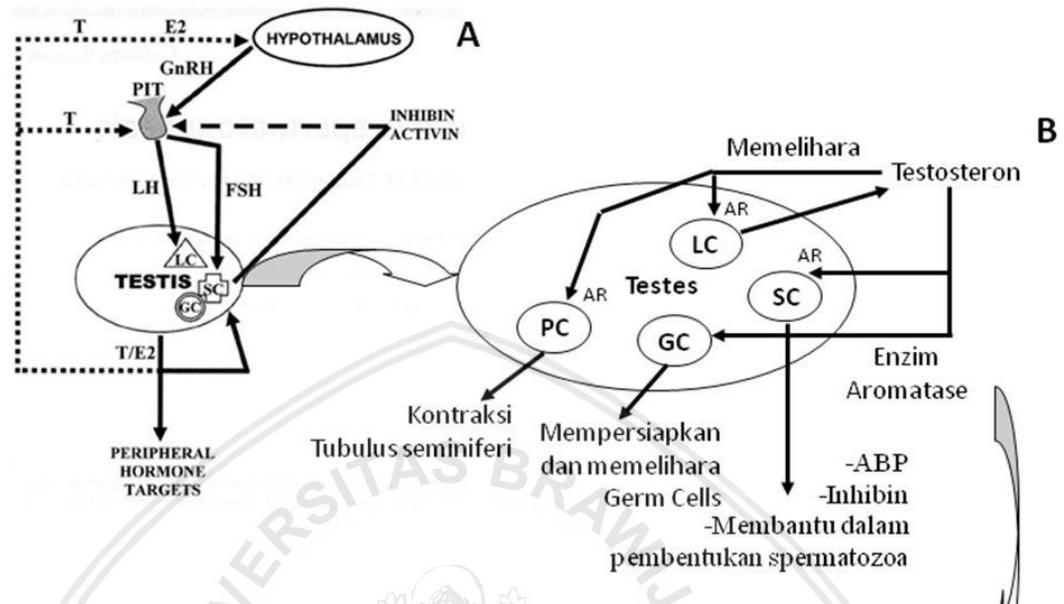
Sedangkan menurut Djuwita dkk., (2000) proses spermatogenesis dibagi menjadi dua tahap yaitu: spermatositogenesis adalah pertumbuhan jaringan spermatogenik dengan pembelahan mitosis yang diikuti dengan pembelahan reduksi (meiosis). Pada pembelahan meiosis jumlah kromosom dibagi dua sama banyak yaitu dari diploid ( $2n$ ) menjadi haploid ( $1n$ ). Sehingga pada saat yang bersamaan sel benih primordial juga berkembang menjadi spermatogonia yang selanjutnya akan berdiferensiasi menjadi spermatosit primer. Spermatosit primer akan berkembang menjadi spermatosit sekunder. Spermatosit sekunder melalui pembelahan meiosis akan menghasilkan spermatid. Tahap berikutnya adalah spermiogenesis. Pada fase ini sel spermatid akan mengalami metamorfosa dan membentuk spermatozoa secara sempurna. Perubahan proses metamorfosa ini meliputi pembentukan akrosom, kepala, badan dan ekor dari spermatozoa. Spermiogenesis dibagi dalam tahap golgi, tahap tudung (cap phase), tahap akrosom, dan tahap pemasakan. Selama fase golgi, butir-butir praakrosom muncul pada gelembung golgi dan akan bergabung membentuk butir akrosom tunggal. Pada fase tudung, butir akrosom bergerak ke kutub anterior inti, difase ini butir-butir akrosom memipih dan intinya memadat. Selama transisi dari fase tudung ke fase akrosom, kepala spermatid menempel pada sel sertoli dan mengarah ke lumen. Pada fase akhir yaitu fase pemasakan

terjadi diferensiasi spermatid, pengeluaran sitoplasma dihentikan. Sitoplasma yang keluar disebut dengan badan residual kemudian difagosit oleh sel Sertoli (Dellman dan Brown 1976).

Produksi androgen di dalam sel-sel leydig diregulasi melalui aksis hipotalamus-pituitari-gonad. Hipotalamus mensekresikan pulsus gonadotropin releasing hormone (GnRH) setiap 90-120 menit yang selanjutnya berikatan dengan gonadotropin didalam pituitari anterior dan menstimulasi pelepasan luteinizing hormone (LH) dan follicle-stimulating hormone (FSH). Hormon LH selanjutnya menstimulasi sel-sel leydig untuk memproduksi androgen, yang kemudian sebaliknya melakukan umpan balik pada pituitari untuk menghambat sekresi GnRH dan LH (Lindzey dkk., 1994).

Pada mulanya sel leydig dewasa pertama kali terlihat sekitar 7-11 hari setelah dilahirkan. Sel leydig berperan untuk memproduksi hormon testosteron yang distimulasi oleh keberadaan LH. Luteinizing hormone meningkatkan aktivitas enzim yang akan merubah kolesterol menjadi hormon testosteron (Brinkmann, 2009). Peningkatan intensitas androgen reseptor immunostaining dari sel sertoli, juga terlihat dalam testis dengan hanya sebagian dari sel sertoli yang menunjukkan immunoreactivity yang lemah pada hewan neonatal, namun dengan pewarnaan yang kuat pada seluruh bagian dari sel sertoli menunjukkan bahwa immunoreactivity semakin meningkat selama periode menjelang prepubertas dan pubertas (Knobil dan Neill's, 2006). Walaupun testis berkembang dan mendapat respon terhadap androgen, tetapi ekspresi androgen reseptor pada umumnya lebih rendah sebelum dewasa kelamin dibandingkan

dengan setelah dewasa kelamin.



**Gambar 2.3** (a) Mekanisme hormonal via hipotalamus-hipofisa-gonad dan (b) Mekanisme testosteron dalam testis (Hasbi dan Gustina, 2018).

Keterangan Gambar:

LC: Leydig cell

SC: Sertoli cell

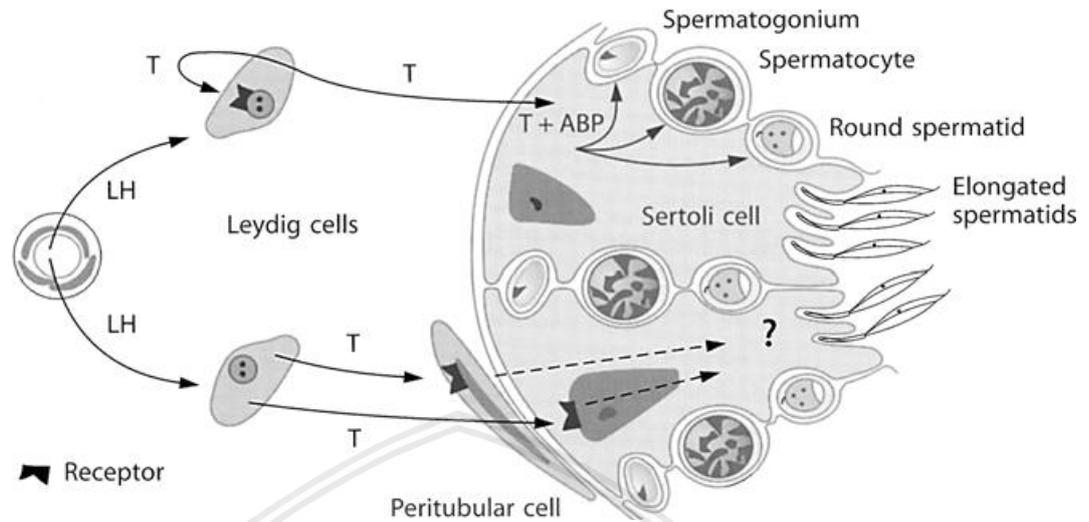
GC: Germ cell

PC: Peritubular cell

ABP: Androgen binding protein

AR: Androgen receptor

Hipotalamus mensekresikan gonadotropin releasing hormone (GnRH) yang akan menstimulasi hipofisa anterior untuk mensekresikan LH dan FSH yang akan menstimulasi sel leydig testis mensekresikan testosteron dan estrogen serta sel Sertoli mensekresikan inhibin dan aktivin. Testosteron dan estrogen yang dihasilkan oleh sel leydig bersifat umpan balik negatif baik terhadap hipotalamus maupun hipofisa anterior yang akan sekresi GnRH dari hipotalamus dan FSH, serta LH dari hipofisa anterior. Demikian inhibin dan aktivin yang dihasilkan oleh sel sertoli bersifat umpan balik negatif spesifik terhadap hipofisa anterior. Alat bantu penjelasan mekanisme hormonal via hipotalamus-hipofisa-gonad (Gambar 2.3 (a)).



**Gambar 2.4** Distribusi dan aksi hormon testosteron (Weinbauer *et al.*, 2004).

Testosteron yang dihasilkan oleh sel leydig akan berikatan dengan androgen reseptor di sel sertoli yang akan mensekresikan *androgen binding protein* (ABP) dan inhibin serta membantu dalam proses transportasi lebih lanjut hingga pembentukan spermatozoa (Gambar 2.4) . Selain itu pada Gambar 2.3 (b) testosteron akan mempersiapkan dan memelihara germ cells yang difasilitasi oleh enzim aromatase dan memelihara sel leydig serta menstimulasi *peritubular cells* (PC) untuk kontraksi tubulus seminiferus (Hasbi dan Gustina, 2018).

Deteksi hormon testosteron maupun LH dapat dilakukan secara invasive (menggunakan serum/plasma), maupun non-invasive (menggunakan urine, urine, saliva, dan feses). Dibandingkan saliva dan urine, pengambilan contoh feses mempunyai beberapa keuntungan antara lain lebih mudah dikoleksi dan lebih stabil terhadap gangguan tingkah laku. Fluktuasi hormon testosteron terjadi karena adanya mekanisme umpan balik hormon LH dari hipofisis serta GnRH dari anterior hipotalamus. Aktivitas testis dianggap

sebagai penanda masa pubertas. Hal ini berarti bahwa adanya ekskresi steroid yang berfluktuasi menunjukkan aktivitas testis, proses spermatogenesis dan masa pubertas yang optimal (Astuti dkk., 2006).

Secara historis, upaya pertama untuk mengukur parameter endokrin dalam sampel *non-invasive* dari primata digunakan untuk mengukur hormon steroid reproduksi betina dalam urin untuk mengkarakterisasi pola siklus pada individu yang hidup di kebun binatang. Beberapa tahun kemudian, pengukuran hormon steroid reproduksi dalam ekstrak feses berhasil dilakukan (Wasser dkk., 1988; Ziegler dkk., 1989). Hormon yang berasal dari sel target yang tersirkulasi kemudian dilakukan pengembangan metode. Pengembangan metode ini difasilitasi oleh fakta bahwa hormon steroid pada umumnya adalah zat kimia yang cenderung stabil dan dikeluarkan dari tubuh melalui ginjal dan usus dengan perubahan metabolik kecil pada struktur kimianya. Setelah metode ini berhasil dari kondisi reproduksi betina di penangkaran, metodologi kemudian diimplementasikan dalam studi lapangan primata baik betina maupun jantan (Behringer dan Deschner., 2017).

Hormon steroid secara umum dengan cepat dikeluarkan dari sirkulasi, dimetabolisme secara luas di hepar yang kemudian diekskresikan melalui ginjal ke dalam urin, atau melalui saluran ductus biliverus ke empedu menuju usus. Penelitian endokrinologis berdasarkan sampel feses hasil sangat baik ketika fokus penelitian adalah pola jangka panjang, tingkat stress, pola tingkah laku musiman, dan status reproduksi (Behringer dan Deschner., 2017). Produk metabolik urin dapat terkonjugasi ke berbagai tingkat menjadi glukoronida dan

sulfat. Oleh karena itu, dalam kedua matriks hormon primer hanya tersedia dalam proporsi yang relatif kecil, dan jalur ekskresi dapat bervariasi tergantung pada spesies dan hormon (Bahr dkk., 2000). Pengukuran hormon pada sampel darah yang dapat menggambarkan kadar hormon pada waktu pengambilan. Metabolit steroid dari feses merupakan hasil akumulasi yang dikeluarkan pada waktu mengeluarkan kotoran. Oleh karena itu, terdapat jeda antara kadar metabolit hormon pada feses dengan kadar hormon yang sebenarnya dalam sirkulasi darah. Jarak waktu antara kadar hormon pada plasma darah dengan kadar pada feses ditentukan oleh *gut passage time* (GPT) yaitu waktu dari dilepaskannya ekskresi metabolisme hormon oleh hati melalui kantung empedu menuju saluran pencernaan hingga keluar bersama feses dan urin, yang juga sangat dipengaruhi oleh kecepatan metabolisme dari spesies satwa tersebut. Pada sampel feses metabolit steroid diekskresikan 30 menit sampai beberapa hari bergantung pada spesies, aktifitas bahkan musim (Nugraha dkk., 2016). Menurut Whitten dkk., (1998), terdapat hubungan yang sangat erat antara pola pakan dengan waktu ekskresi metabolit steroid. Pakan dengan kandungan serat yang rendah menyebabkan transit menuju gastrointestinal membutuhkan waktu yang lebih lama, sehingga waktu ekskresi metabolit hormon dari dalam tubuh juga menjadi lebih lama.

#### **2.4 Uji ELISA Terhadap Kadar Testosteron dan *Luteinizing Hormone***

Uji hormon estrogen, progesteron serta testosteron yang sering digunakan dan mempunyai kepekaan tinggi adalah penggunaan unsur radio-

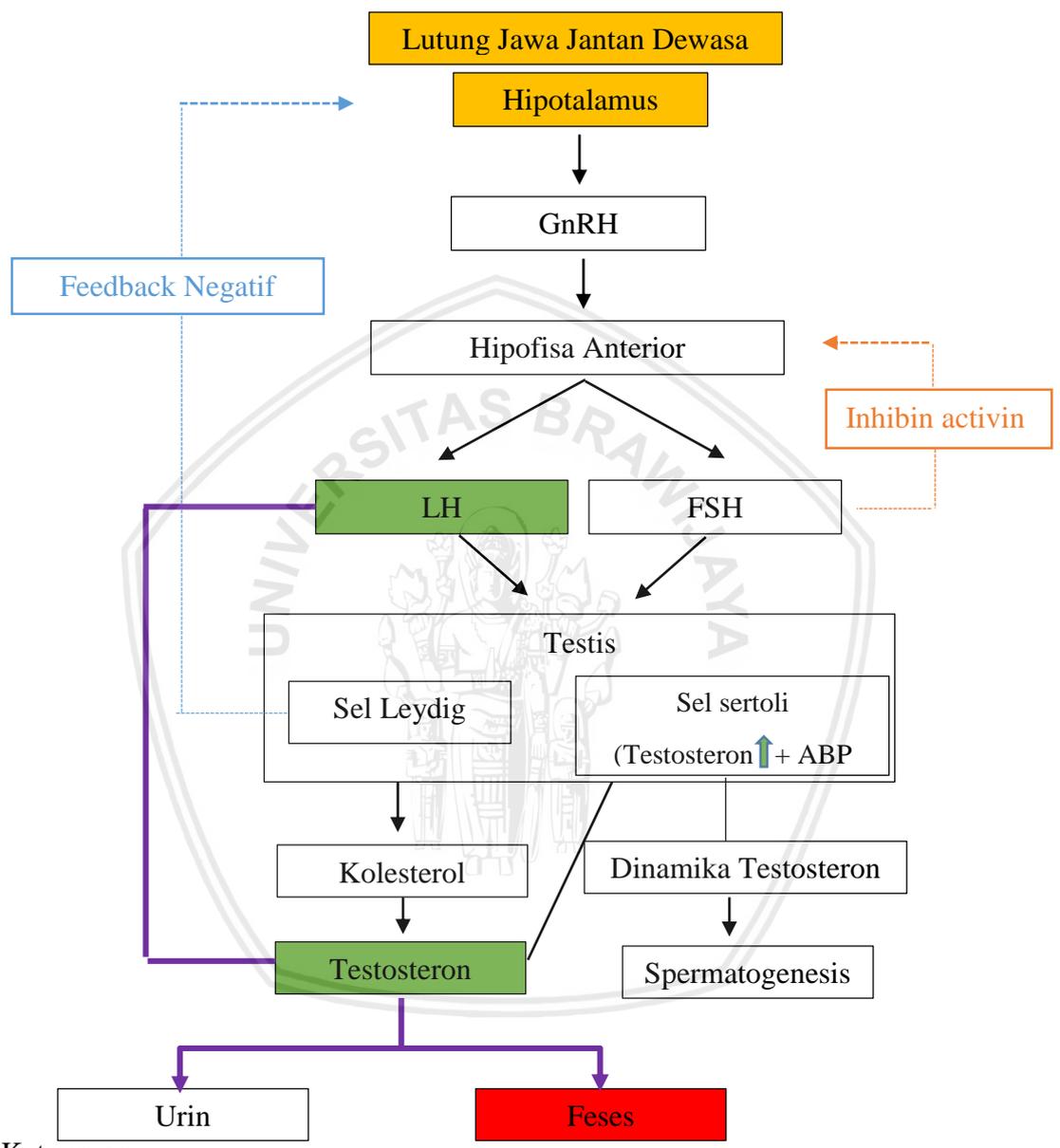
aktif. Metode ini disebut radioimmunoassay (RIA). Teknik RIA merupakan metode deteksi yang paling sensitif berdasarkan interaksi antigen antibodi. Hormon (antigen) yang diberi label radio aktif dapat digunakan untuk mendeteksi hormon dalam sampel, isotop yang digunakan untuk teknik RIA adalah  $I^{125}$ . Kekurangan metode ini adalah karena hormon reproduksi tidak dapat menimbulkan antibodi (Sihombing, 2010). Uji yang masih terus disempurnakan adalah radioreceptorassay (RRA). Metode ini sebagai ganti antibodi digunakan reseptor dari hormon. Teori dibalik metode ini adalah hormon dan reseptornya akan bereaksi secara lebih spesifik. Hormon yang tidak utuh tidak akan diperhatikan oleh reseptornya. Sel Sertoli yang menunjukkan immunoreactivity yang lemah pada hewan neonatal, namun dengan pewarnaan yang kuat pada seluruh bagian dari sel sertoli menunjukkan bahwa immunoreactivity semakin meningkat selama periode menjelang prepubertas dan pubertas (Knobil dan Neill's, 2006). Lain halnya dengan RIA dimana fragmen dari hormon dapat pula menyebabkan hasil positif. Kesulitan dari metode RRA adalah sulitnya mengasingkan dan memurnikan unsur reseptornya (Partodihardjo, 1980). Maka berdasarkan tingkat kesulitan digunakan metode *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay* (ELISA).

Secara umum, teknik ELISA dibedakan menjadi dua jenis, yaitu teknik ELISA kompetitif yang menggunakan konjugat antigen-enzim atau konjugat antibodi-enzim dan teknik ELISA nonkompetitif yang menggunakan dua antibodi (primer dan sekunder). Pada teknik ELISA nonkompetitif, antibodi kedua (sekunder) akan dikonjugasikan dengan enzim yang berfungsi

sebagai sinyal. Teknik ELISA nonkompetitif seringkali disebut sebagai teknik ELISA sandwich. Saat ini, teknik ELISA telah berkembang menjadi berbagai macam jenis teknik. Perkembangan ini didasari pada tujuan dari dilakukannya uji dengan teknik ELISA tersebut sehingga dapat diperoleh hasil yang optimal. Secara singkat dapat dikatakan bahwa teknologi ELISA yang digunakan untuk pengujian hormon dalam cairan tubuh adalah sistem *competitive enzyme immunoassay* yang analog dengan teknik RIA. Antigen yang berlabel dan antigen yang tidak berlabel saling bersaing untuk berikatan dengan permukaan pengikatan antibodi yang terdapat dalam jumlah terbatas. Saturasi antibodi terjadi secara simultan bila semua reaktan diinkubasikan bersama-sama (Hausmann dkk., 2007). Sistem ELISA berikutnya yang paling umum digunakan untuk mengukur kadar hormon adalah metode sandwich. Vaysse dkk., (1998) menggunakan teknik ini untuk menganalisa hormon kelamin atau Sex Hormon Binding Globulin (SHGB). Luteinizing hormone (LH) ELISA Kit ini sesuai untuk pengukuran kuantitatif LH dalam serum. Kit LH ELISA adalah metode *sandwich direct*. Sampel dan konjugat anti-LH-HRP encer ditambahkan ke sumur yang dilapisi dengan Mab ke subunit LH beta. LH dalam serum mengikat anti-LH MAb pada sumur dan antibodi kedua anti-LH kemudian berikatan dengan LH. Protein yang tidak terikat dan konjugat HRP dicuci dengan buffer cuci. Setelah penambahan substrat, intensitas warna sebanding dengan konsentrasi LH dalam sampel. Kurva standar disiapkan yang menghubungkan intensitas warna dengan konsentrasi LH.

**BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN**

**Kerangka Konsep Penelitian**



Keterangan:

- Variabel bebas :  → : Menstimulasi
- Variabel tergantung :  → : Eksresi melalui sirkulasi
- : Inhibin aktivin
- : Feedback negatif

Lutung Jawa jantan yang berada di Javan Langur Center (JLC) berumur kisaran 3-13 dapat dinyatakan telah mengalami pubertas dan dewasa kelamin. Maka terjadi mekanisme regulasi melalui aksis hipotalamus mengeluarkan GnRH dengan proses sekresinya setiap 90-120 menit melalui aliran portal hipotalamohipofisial. Setelah sampai di hipofise anterior, GnRH akan mengikat sel gonadotropin dan merangsang pengeluaran FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) dan LH (*Luteinizing Hormone*).

Mula-mula LH (dari hipofisa anterior) berikatan dengan reseptor LH yang terdapat pada sel Leydig. Hal ini akan menyebabkan aktivasi adenilat siklase dan pembentukan cAMP. Terjadi aktivasi protein kinase sel Leydig dan aktivasi kolesterol esterase akan mengakibatkan kolesterol dikonversi menjadi testosterone. *Luteinizing hormone* meningkatkan aktivitas kerja enzim aromatase yang akan merubah kolesterol menjadi testosterone. Ketika kadar testosterone darah tidak cukup untuk mempertahankan spermatogenesis, maka FSH menginduksi sel sertoli untuk mengeluarkan *Androgen Binding Protein* (ABP) sehingga kadar testosterone akan naik dan inhibin serta membantu dalam proses spermatogenesis. Pengeluaran LH dihambat oleh tingginya kadar testosterone, sedangkan pengeluaran FSH dihambat oleh inhibin. Hal ini menjadi feedback negatif pengeluaran GnRH sehingga menurunkan tingkat spermiogenesis.

Steroid yang merupakan senyawa nonpolar, tidak larut dalam air dan mudah berdifusi atau diangkut melalui membran seluler dan menghilang dengan cepat dari darah sebagai hasil dari aktivitas hati dan ginjal. Hubungan

steroid yang bersirkulasi dengan protein plasma menyebabkan mereka ditahan pada konsentrasi yang lebih tinggi untuk waktu yang lebih lama dalam sirkulasi. Protein pengikat plasma ini mengurangi pengangkatan hormon steroid aktif oleh hati atau ginjal dan ekskresinya melalui urin. Dengan demikian, titer hormon steroid yang relatif tinggi dapat dipertahankan dalam sirkulasi, memberikan titer lokal maksimal steroid bebas terdisosiasi dan meningkatkan kemungkinan memasuki jaringan target yang tepat. Kemudian hormon steroid dipisahkan dari reseptornya dan dimetabolisme oleh sel target atau hati yang memiliki enzim yang mampu mengubah steroid spesifik dan menjadikannya tidak aktif secara biologis. Hati melakukan tugas utama inaktivasi steroid dengan menghilangkan steroid bebas dari sirkulasi. Metabolisme steroid biasanya melibatkan reduksi atau penghilangan rantai samping atau kelompok yang melekat atau keduanya, serta penggabungan dengan molekul lain (konjugasi) seperti glukosa untuk membentuk glukuronida atau konjugasi dengan sulfat. Kemudian konjugat larut dalam air dan ketika dilepaskan ke dalam darah tidak akan lagi secara efektif mengikat protein serum atau memasuki sel dan mengikat reseptor. Akibatnya, mereka disaring dari darah oleh ginjal dan siap muncul dalam urin. Beberapa steroid dimetabolisme, ditambahkan ke empedu, dan diekskresikan melalui rute usus kemudian ditemukan pada feses.

*Luteinizing hormone* (LH) yang merupakan glikoprotein akan dibongkar bioregulator protein dalam sirkulasi yang kemudian akan difiltrasi glomerulus ginjal, dengan banyak hormon berlabel diekskresikan tanpa de-

gradasi yang luas. Proporsi LH yang relatif kecil yang tidak diekskresikan dipertahankan dalam korteks. Testosteron maupun derivatnya juga LH akan ditemukan didalam feses lutung Jawa jantan. Penelitian dengan kerangka konsep diatas ini bertujuan untuk mengetahui pola diurnal ekskresi steroid (testosteron dan LH) feses pada lutung jawa jantan sebagai indikator aktivitas testis. Aktivitas testis dianggap sebagai penanda masa pubertas. Hal ini berarti bahwa adanya ekskresi steroid yang berfluktuasi menunjukkan aktivitas testis, masa pubertas yang optimal dan spermatogenesis.

### **3.2 Hipotesa Penelitian**

Fluktuasi hormonal testosteron dan LH yang dideteksi pada feses akan menggambarkan pola hormonal siklus reproduksi lutung Jawa jantan dan dapat digunakan sebagai acuan untuk menentukan siklus dan panjang siklus reproduksi.

## BAB 4 MATERI DAN METODE PENELITIAN

### 4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Waktu pengumpulan sampel dan penelitian dilaksanakan pada bulan Juli 2018 sampai dengan bulan Desember 2018. Lokasi yang digunakan sebagai tempat penelitian adalah Javan Langur Center (JLC) untuk pengambilan sampel feses, Laboratorium Fisiologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya untuk melakukan proses ekstrak feses, dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk pembacaan uji ELISA.

### 4.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah lutung jawa jantan dewasa dari Javan Langur Center (JLC) di Coban Talun Batu, Malang. Lutung Jawa jantan yang digunakan dalam penelitian ini berada pada usia yang telah dewasa kelamin (Tabel 4.1). Sampel menggunakan feses segar yang diambil setiap pagi pada pukul 07.00 WIB selama 44 hari. Sampel feses kemudian diberikan perlakuan hingga pada akhirnya diperoleh ekstrak masing-masing sebanyak 1  $\mu$ l.

**Tabel 4.1** Informasi lutung Jawa jantan (Javan Langur Center, 2018)

No.	Nama	Jenis Kelamin	Umur
1	Moses	Jantan	5 tahun
2	Luki	Jantan	3 tahun

### 4.3 Rancangan Penelitian

Penelitian siklus reproduksi meliputi masa pubertas, spermatogenesis dan lama durasinya pada lutung Jawa jantan menggunakan kadar testosteron dan *luteinizing hormone* pada individu yang berbeda.

**Tabel 4.2** Rancangan Penelitian

Variabel yang diamati	Ulangan
Kadar testosteron dan <i>luteinizing hormone</i>	(1) (2)

### 4.4 Tahapan Penelitian

Tahapan-tahapan penelitian yang akan dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Pengambilan sampel feses rutin selama 44 hari
2. Ekstraksi sampel feses menggunakan PBS (*phosphat buffer saline*) dan disentrifus selama 20 menit dengan kecepatan 3000 rpm
3. Ekstrak tersebut dimasukkan ke dalam microtube berlabel dan disimpan dalam *freezer* pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$
4. Pengajuan laik etik
5. Pengujian kadar testosteron dan *luteinizing hormone* dengan ELISA
6. Pembacaan kadar hormon testosteron pada ELISA *reader*
7. Analisa data

### 4.5 Variabel Penelitian

Variabel yang akan diamati dalam penelitian ini adalah sebagai berikut;

Variabel bebas : Siklus reproduksi dan usia lutung Jawa jantan

Variabel tergantung : Kadar testosteron dan luteinizing hormone

Variabel kendali : Pakan, jenis kelamin, aktivitas kandang, dan usia

#### 4.6 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini yang bertujuan untuk pengambilan sampel feses, ekstraksi feses dan pembacaan kadar hormon testosteron adalah glove, masker, plastik tip, kertas label, *freezer*, *sentrifus refrigerator*, alkohol 70%, tabung *ependorf*, tabung reaksi, rak tabung, *yellow tip*, ELISA kit, mikropipet, timbangan dan ELISA *reader*.

#### 4.7 Mekanisme Penelitian

##### 4.7.1 Pengambilan Sampel Feses

Sampel feses diperoleh dari koleksi yang dilakukan setiap pagi pukul 07.00 WIB selama 44 hari di Javan Langur Center (JLC) di Coban Talun Batu, Malang. Feses yang diambil dengan keadaan paling segar dengan warna coklat kehijauan. Sampel feses dimasukan kedalam plastik tip kemudian dimasukan kedalam ice box dengan suhu 2°C hingga 8°C. Sampel feses yang telah dikoleksi kemudian dipindahkan ke dalam *freezer* dengan suhu -4°C hingga -20°C .

##### 4.7.2 Pengolahan Ekstrak Feses

Proses ekstraksi feses dilakukan sesuai dengan panduan yang tertera pada kit ELISA yaitu menggunakan pelarut PBS dengan perbandingan 1 : 9

(1 gram feses yang sudah di thawing dilarutkan dalam 9 ml PBS). Larutan feses yang sudah tercampur kemudian disentrifus pada kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Hasil ekstraksi yang terbentuk diambil menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam *microtube* yang telah diberi label. Ekstrak feses disimpan dalam *freezer* dengan suhu  $-4^{\circ}\text{C}$  sampai  $-20^{\circ}\text{C}$  hingga siap dilakukan pembacaan uji ELISA.

#### 4.7.3 Pembacaan Kadar *Luteinizing Hormone*

Sampel feses yang telah dikoleksi dilakukan pembacaan menggunakan Monkey Luteinizing Hormone ELISA produk merk BT Lab dengan Cat.No E052MK. Prosedur kerja asai hormon dilakukan dengan tata cara sebagai berikut: sumuran microplate ditandai dengan label sesuai dengan yang dikehendaki pada tiap sumuran; selanjutnya ditambahkan 50  $\mu\text{L}$  larutan standard ke masing-masing sumuran standard sesuai kode; selanjutnya ditambahkan 40  $\mu\text{L}$  sampel ke sumuran sampel sesuai kode lalu ditambahkan 10  $\mu\text{L}$  antibodi anti-LH ke sumuran sampel; selanjutnya ditambahkan 50  $\mu\text{L}$  streptavidin-HRP ke sumuran sampel dan sumuran standard; dicampurkan semua larutan dengan baik lalu tutup *plate* dengan penyegel dan diinkubasi selama 60 menit pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ ; tahap selanjutnya yaitu penyegel dilepas dan *plate* dicuci menggunakan larutan pencuci sebanyak 5 kali dengan cara merendam sumuran paling tidak dalam 0,35  $\mu\text{L}$  larutan pencuci selama 30 detik – 1 menit setiap kali pencucian; selanjutnya *plate* dikeringkan menggunakan tisu atau material penyerap; selanjutnya ditambahkan 50  $\mu\text{L}$  larutan substrat A

pada setiap sumuran; kemudian ditambahkan 50  $\mu$ L substrat B pada setiap sumuran; selanjutnya plate disegel dengan penutup baru dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C dalam gelap; ; proses selanjutnya yaitu penambahan 50  $\mu$ L larutan stop pada setiap sumuran untuk menghentikan reaksi enzimatik kemudian baca hasilnya menggunakan ELISA *reader* pada *optical density* (OD) 450 nm dalam 10 menit setelah penambahan larutan stop.

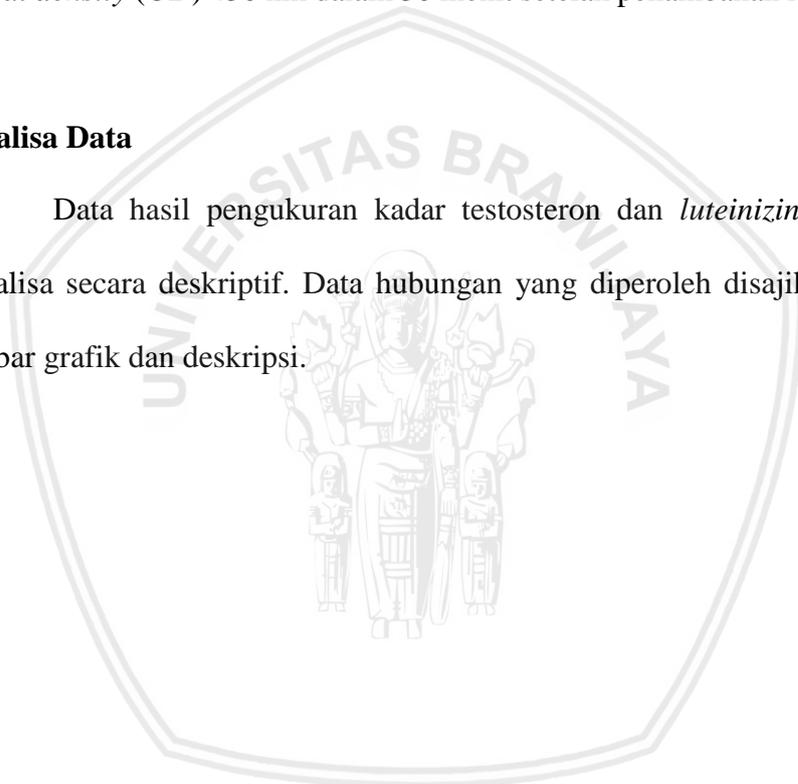
#### 4.7.4 Pembacaan Kadar Hormon Testosteron

Perhitungan kadar testosterone pada lutung Jawa jantan menggunakan ELISA Kit testosteron merk BT Lab dengan Cat.No 0008MK. Prosedur kerja asai hormon dilakukan dengan tata cara sebagai berikut: sumuran mikroplate ditandai dengan memberikan kode sesuai yang dikehendaki pada tiap sumuran; selanjutnya ditambahkan 50  $\mu$ L larutan standard ke masing-masing sumuran standard sesuai kode; selanjutnya ditambahkan 40  $\mu$ L sampel ke sumuran sampel sesuai kode lalu ditambahkan 10  $\mu$ L pre-coated antibodi anti-testosteron ke sumuran sampel; selanjutnya ditambahkan 50  $\mu$ L conjugate-HRP ke sumuran sampel dan sumuran standard; dicampurkan semua larutan dengan baik lalu tutup *plate* dengan penyegel dan diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C; tahap selanjutnya yaitu penyegel dilepas dan *plate* dicuci menggunakan larutan pencuci sebanyak 5 kali dengan cara merendam sumuran paling tidak dalam 0,35  $\mu$ L larutan pencuci selama 30 detik – 1 menit setiap kali pencucian; selanjutnya *plate* dikeringkan menggunakan tisu atau material penyerap; selanjutnya ditambahkan 50  $\mu$ L

larutan substrat A pada setiap sumuran; kemudian ditambahkan 50  $\mu$ L substrat B pada setiap sumuran; selanjutnya plate disegel dengan penutup baru dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C dalam gelap; proses selanjutnya yaitu penambahan 50  $\mu$ L larutan stop pada setiap sumuran untuk menghentikan reaksi enzimatik kemudian baca hasilnya menggunakan ELISA *reader* pada *optical density* (OD) 450 nm dalam 30 menit setelah penambahan larutan stop.

#### 4.7.5 Analisa Data

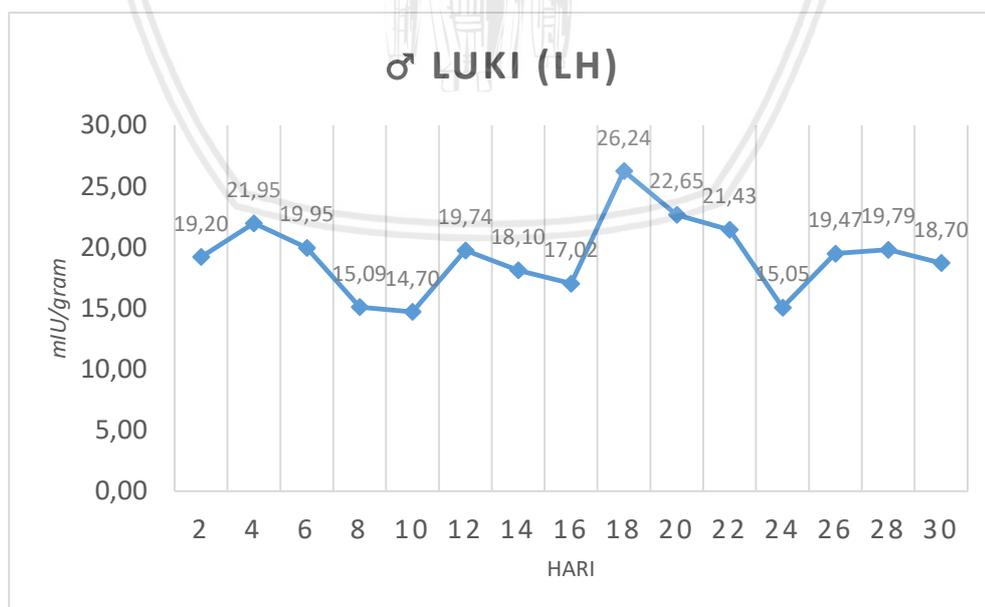
Data hasil pengukuran kadar testosteron dan *luteinizing hormone* dianalisa secara deskriptif. Data hubungan yang diperoleh disajikan dengan gambar grafik dan deskripsi.



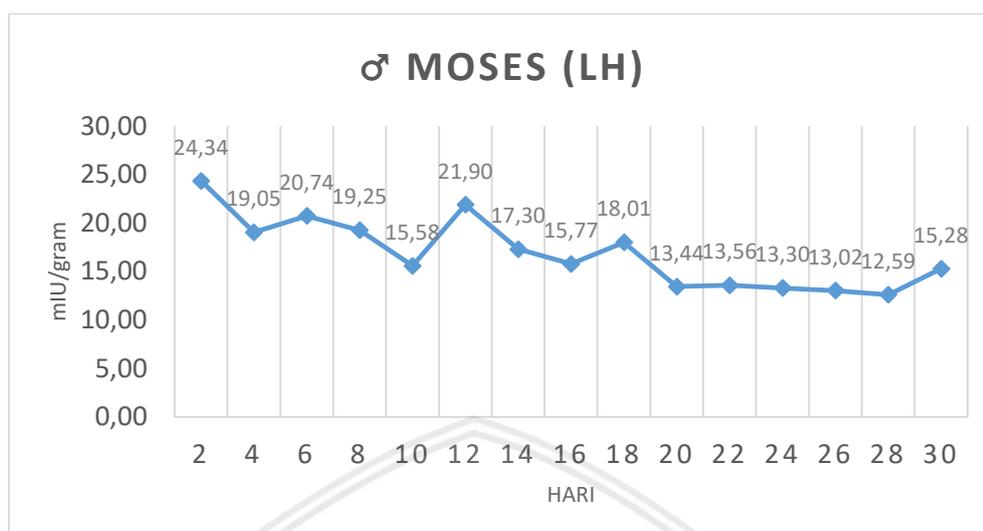
## BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Kadar *Luteinizing Hormone* (LH) Lutung Jawa Jantan

*Luteinizing Hormone* (LH) merupakan hormon yang merangsang sel leydig untuk menghasilkan hormon testosteron. Saat ini dijelaskan bahwa aksi LH pada sel leydig bertanggung jawab pada konsentrasi testosteron dan menjaga agar spermatogenesis dapat berlangsung dengan normal (Verhoeven dkk., 2010). Sekresi LH bersifat pulsatil tetapi tidak menunjukkan variasi siklus seperti yang dapat diamati pada betina (Choi dan Smitz, 2014). Penelitian mengenai konsentrasi LH pada primata sejauh ini baru dilakukan oleh Rao dkk., (1998) yaitu pada *Macaca radiata* yang diketahui memiliki konsentrasi  $\pm$  40-50 mIU/mL dari sampel darah.



Gambar 5.1 Profil Konsentrasi *Luteinizing Hormone* Luki



**Gambar 5.2 Profil Konsentrasi Luteinizing Hormone Moses**

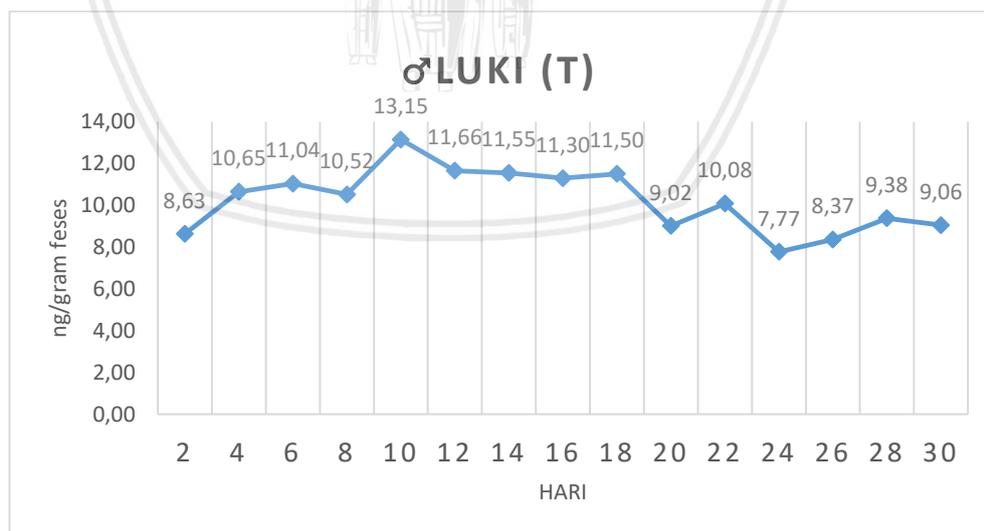
Fluktuasi kadar konsentrasi LH pada lutung Jawa *T. auratus* baik Luki maupun Moses menunjukkan pola berfluktuasi yang berbeda selama 30 hari (Tabel 5.1). Pada hasil penelitian ini diketahui konsentrasi LH tertinggi Luki yaitu 26,24 mIU/gram dan konsentrasi terendah 14,70 mIU/gram dengan jumlah rata-rata konsentrasi LH yaitu 19,27 mIU/gram (Gambar 5.1). Pada hasil yang kedua diketahui konsentrasi LH tertinggi Moses yaitu 24,34 mIU/gram dan konsentrasi terendah 12,59 mIU/gram sedangkan untuk jumlah rata-rata konsentrasi LH yaitu 16,88 mIU/gram (Gambar 5.2). Konsentrasi LH tertinggi pada Luki dan Moses dapat diduga dalam keadaan optimal untuk merangsang sel leydig untuk menghasilkan hormon testosteron.

**Tabel 5.1 Profil Konsentrasi Luteinizing Hormone Lutung Jawa Jantan**

No	Nama	Fluktuasi Tertinggi	Fluktuasi Terendah	Rata-Rata
1	Luki	26,24 mIU/gram (18)	14,70 mIU/gram (10)	19,27 mIU/gram
2	Moses	24,34 mIU/gram (2)	12,59 mIU/gram (28)	16,88 mIU/gram

## 5.2 Kadar Testosteron Lutung Jawa Jantan

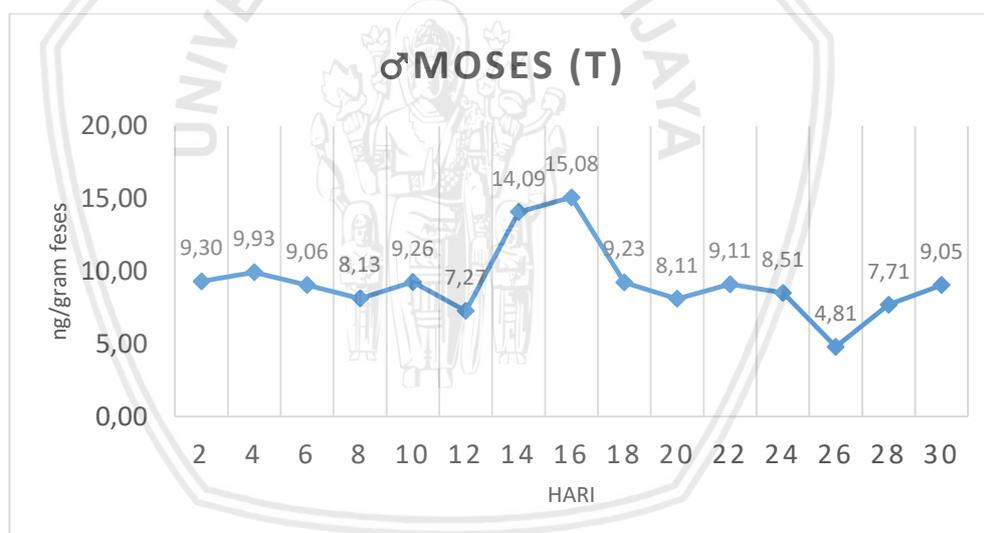
Peran utama androgen adalah dalam meiosis dan spermiogenesis, karena itu hormon androgen terutama testosteron dibutuhkan sangat tinggi agar dapat memediasi, inisiasi, pemeliharaan dan restorasi spermatogenesis (Hasbi dan Gustina, 2018). Meiosis selama awal spermatogenesis sangat sensitif terhadap testosteron, kurangnya androgen reseptor dalam sel sertoli dapat menunjukkan penurunan fungsi testis yang normal. Sel sertoli berperan dalam regulasi spermatogenesis dan perubahan produksi spermatozoa (Astuti dkk., 2006). Oleh karena itu, androgen reseptor pada sel sertoli merupakan syarat mutlak untuk keberlangsungan pembelahan meiosis dan spermiogenesis (Chang dkk., 2004). Pada hormon testosteron, adanya rangsangan LH maupun GnRH secara fluktuatif terjadi 12 sampai 24 kali dalam waktu 24 jam (Astuti dkk., 2006).



**Gambar 5.3 Profil Konsentrasi Hormon Testosteron Luki**

Profil hormonal untuk hormon testosteron pada lutung Jawa *T. auratus* baik Luki maupun Moses menunjukkan pola berfluktuasi yang berbeda

selama 30 hari. Pola yang terjadi tersebut dapat menunjukkan bahwa hormon testosteron pada lutung diekskresikan melalui feses. Hasil penelitian ini diperoleh konsentrasi tertinggi kadar testosteron Luki yaitu 13,15 ng/gram feses yang dapat diduga sedang terjadinya spermatogenesis dimana awal terjadinya dan regulasi spermatogenesis memerlukan kadar testosteron yang tinggi (Hasbi dan Gustina, 2018). Konsentrasi terendah 7,77 ng/gram feses. Jumlah rata-rata konsentrasi kadar testosteron Luki selama 30 hari yaitu 10,25 ng/gram feses (Gambar 5.3).



**Gambar 5.4 Profil Konsentrasi Hormon Testosteron Moses**

Pada individu kedua data konsentrasi tertinggi kadar testosteron Moses yaitu 15,08 ng/gram feses dimana diduga juga sedang terjadi spermatogenesis, sedangkan jumlah konsentrasi terendah 4,81 ng/gram feses (Gambar 5.4). Jumlah rata-rata konsentrasi kadar testosteron Moses selama 30 hari yaitu 9,50 ng/gram feses (Tabel 5.2). Penelitian mengenai sekresi testos-

teron primata di dalam feses belum diketahui pasti kadar tertinggi maupun kadar terendah. Menurut Astuti dkk., (2006), kadar tetosteron di dalam feses owa Jawa (*H. moloch*) berkisar 2,617-3,421 ng/mL. Pada feses *Macaca radiata* kadar testosteron berkisar 4-20 ng/mL (Rao dkk., 1998).

**Tabel 5.2** Profil Konsentrasi Hormon Testosteron Lutung Jawa Jantan

No	Nama	Fluktuasi Tertinggi	Fluktuasi Terendah	Rata-rata
1.	Luki	13,15 ng/gram feses (10)	7,77 ng/gram feses (24)	10,25 ng/gram feses
2.	Moses	15, 08 ng/gram feses (16)	4,81 ng/gram feses (26)	9,50 ng/gram feses

### 5.3 Hubungan Kadar Testosteron dengan Leuteinizing Hormone (LH)

Permulaan dan kelangsungan spermatogenesis dipengaruhi oleh tiga hormon yaitu FSH, LH, dan testosteron (Susetyarini, 2009). Hormon androgen terutama testosteron yang dihasilkan oleh sel-sel leydig testis berperan sangat penting untuk memelihara spermatogenesis (Rachmadi, 2008). Fluktuasi hormon testosteron terjadi karena adanya mekanisme umpan balik hormon LH dari hipofisis serta GnRH dari hipotalamus. Testosteron berperan dalam spermatogenesis dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah keberadaan androgen reseptor (AR), *luteinizing hormone* (LH) dan *follicle stimulating hormone* (FSH). Konsentrasi AR yang tinggi mengindikasikan bahwa AR tersebut dapat memediasi hormon androgen dalam epitel seminiferus untuk memelihara keberlangsungan spermatogenesis. Lebih lanjut dijelaskan bahwa LH yang disekresikan oleh hipofisa anterior berperan untuk mengontrol perkembangan *germ cell* dan menstimulasi sel leydig untuk memproduksi testosteron (Hasbi dan Gustina, 2018). Fungsi FSH merangsang

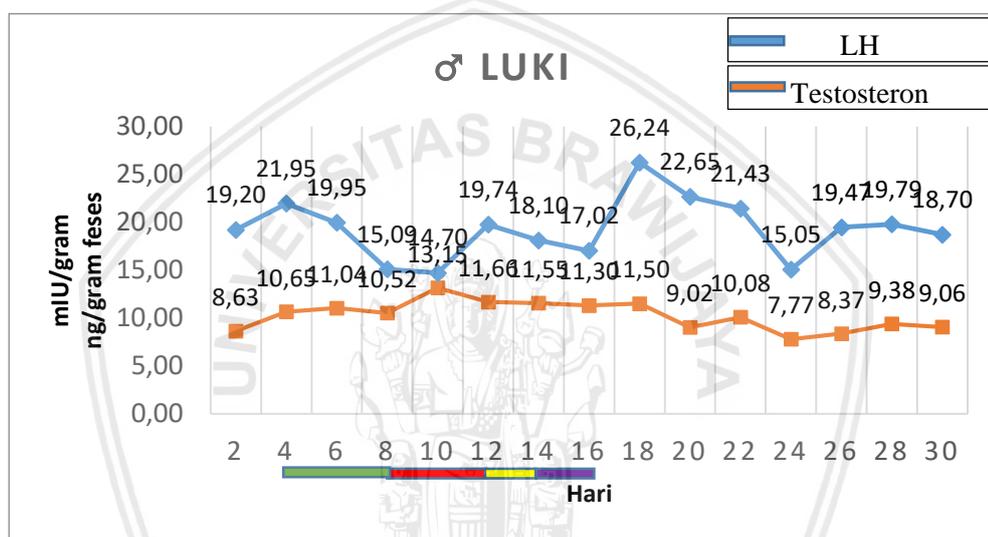
pertumbuhan testis dan mempertinggi produksi protein pengikat androgen (ABP) oleh sel sertoli. Peningkatan ABP ini menyebabkan tingginya konsentrasi testosteron yang penting bagi pembentukan dan pematangan spermatozoa pada proses spermatogenesis. Dengan demikian FSH bekerja menyiapkan kadar androgen yang cukup untuk sel germinal dan memacu pendewasaan spermatozoa di dalam epididimis (Junqueira, 2007). Penjelasan diatas menunjukkan bahwa keberadaan AR, LH dan FSH sangat mempengaruhi fungsi testosteron yang berdampak pada fertilitas. Namun, kuantitatif spermatogenesis normal saat dewasa pada manusia dan monyet tergantung pada FSH. Sekresi FSH diatur oleh umpan balik negatif dari hormon testis, inhibin, dan melalui testosteron (McLachlan dkk., 2002).

Pada primata jenis tertentu, tingginya kadar testosteron tidak berkaitan langsung dengan tingkah laku seksual. Kadar tertinggi testosteron dalam plasma maupun feses terjadi pada malam hari pukul 21.00-24.00 WIB dan antara pukul 02.00-06.00 WIB, namun aktifitas seksual serta kopulasi dilakukan pada siang hari. Fluktuasi hormon timbul sebagai akibat adanya stimulasi yang terjadi secara berulang sehingga akan membentuk pola tertentu (Astuti dkk., 2006). Dimana menurut Rao dkk., (1998), presentase ekskresi testosteron pada berbagai hewan berbeda-beda.

Hasil hubungan kadar hormon testosteron dan LH pada siklus reproduksi lutung Jawa Luki dan Moses selama satu bulan diketahui dari nilai konsentrasi yang diperoleh dari pembacaan ELISA kit. Penentuan pola hormonal berdasarkan dari kadar testosteron, LH dan FSH yang sejalan. Pola

hormonal Luki diperoleh dari perbandingan testosteron dan LH dalam waktu 30 hari yang mana memiliki dua puncak fluktuasi konsentrasi tertinggi yang terjadi pada hari ke-4 dan hari ke-18. Puncak fluktuasi yang pertama diawali dengan konsentrasi testosteron dan LH pada hari ke-4. Puncak fluktuasi tersebut dapat diduga awal berlangsungnya spermatogenesis dimana awal terbentuknya spermatogonia. Awal spermatogenesis memerlukan iniasi testosteron dan FSH yang tinggi, dimana kemudian akan menstimulasi hipofisa anterior menghasilkan feedback negatif dan mensekresikan inhibin dan aktivin (Hasbi dan Gustina, 2018). Fase terbentuknya spermatogonia berlangsung hingga hari ke-8, kemudian pada hari ke-8 berlanjut ke fase spermatosit hingga hari ke-12. Pada fase ini testosteron memegang peranan penting pada satu tahap penting proses pembelahan sel-sel germinal untuk pembentukan spermatozoa, terutama pembelahan meiosis untuk membentuk spermatosit sekunder, terlihat terdapat konsentrasi testosteron yang tinggi pada hari ke-10. Fase dilanjutkan menuju fase pembentukan spermatid yang mana dapat diduga dari peningkatan fluktuasi pada hari ke-12 tetapi tidak sebanyak diawal fase spermatogenesis. Pada fase ini fluktuasi testosteron dan LH yang cukup tinggi diperlukan untuk perubahan bentuk dari *round spermatids* menjadi *elongated spermatids* (McLachlan dkk., 2002), kemudian fluktuasi akan berkurang. Fase terakhir yaitu terbentuknya spermatozoa terjadi pada hari ke-16 dimana diakhiri dengan penurunan konsentrasi testosteron dan LH (Gambar 5.5). Hal ini sesuai dengan pernyataan dari Zhang dkk., (2003) dimana pada pertengahan spermiogenesis

hanya membutuhkan konsentrasi testosteron yang sangat rendah. Puncak fluktuasi konsentrasi testosteron dan LH pada hari ke-18 dimulai dari awal kembali, namun tidak dapat teramati dengan pasti karena keterbatasan hasil. Dari perkiraan fluktuasi antara perbandingan konsentrasi testosteron dan LH Luki, dapat disimpulkan panjang siklus reproduksi Luki adalah selama 14 hari.



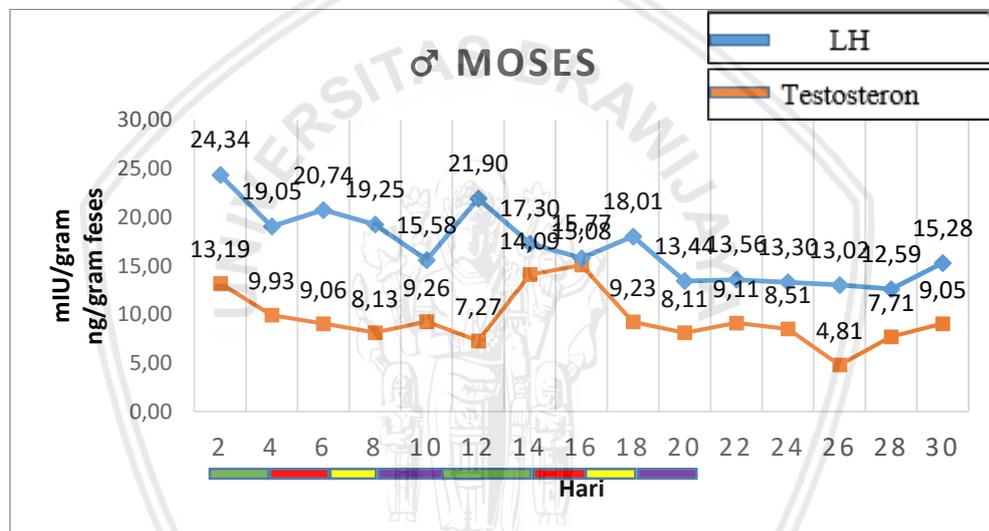
**5.5 Konsentrasi Kadar Testosteron dan LH pada Luki**

Keterangan:

- : terbentuknya spermatogonia
- : terbentuknya spermatozoa
- : terbentuknya spermatid
- : terbentuknya spermatozoa

Hasil yang berbeda terjadi pada fluktuasi konsentrasi testosteron dan LH pada profil hormonal Moses. Fluktuasi terjadi berulang dengan konsentrasi tertinggi terjadi pada hari ke-2 dan ke-12. Puncak fluktuasi yang pertama terjadi pada hari ke-2 yang menandakan sebagai fase spermatogonia. Pada hari ke-4 masuk dalam fase terbentuknya spermatozoa yang kemudian dilanjutkan pada fase pembentukan spermatid pada hari ke-6 hingga hari ke-8. Pada fase terakhir yaitu terbentuknya spermatozoa terjadi pada hari ke-10 dimana tahap

ini diakhiri dengan penurunan konsentrasi testosteron dan LH. Panjang periode spermatogenesis Moses berlangsung selama 10 hari, dimana panjang siklus ini lebih singkat dibandingkan dengan siklus yang terjadi pada Luki. Hasil berdasarkan identifikasi fase-fase siklus reproduksi dari Luki dan Moses maka dapat diasumsikan panjang siklus lutung Jawa jantan diperkirakan berkisar 10-14 hari berdasarkan pola fluktuasi hormonal yang diperoleh (Tabel 5.3).



5.6 Konsentrasi Kadar Testosteron dan LH pada Moses

Keterangan:

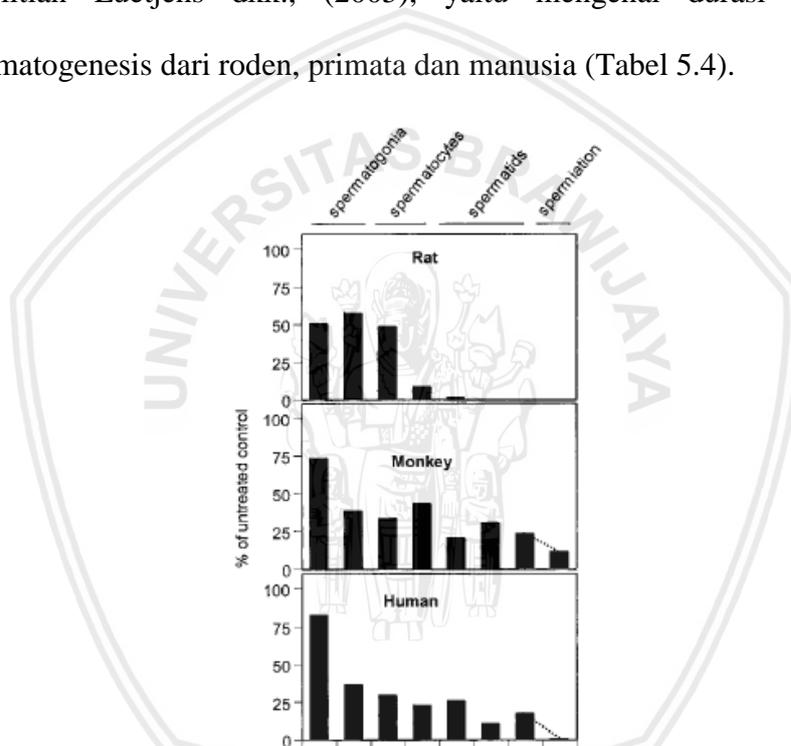
- : terbentuknya spermatogonia
- : terbentuknya spermatosit
- : terbentuknya spermatid
- : terbentuknya spermatozoa

**Tabel 5.3** Asumsi lama periode panjang spermatogenesis lutung Jawa jantan

No.	Nama	Spermatogonia	Spermatosit	Spermatid	Spermatozoa	Total
1	Luki	4,5 hari	4,5 hari	2,5 hari	3,5 hari	14 hari
2	Moses	2,5 hari	2,5 hari	2,5 hari	2,5 hari	10 hari

Penentuan fase-fase dan hasil dari penelitian ini diperoleh dari perbandingan dengan hasil penelitian dari McLachlan dkk., (2002) mengenai

perbandingan perkembangan germ cell melalui spermatogenesis pada tikus, monyet dan manusia (Gambar 5.7). Hasil ini juga sejalan dengan pernyataan menurut Norris dan Lopez (2011), yang mana siklus birahi pada primata dapat terjadi 1-3 kali selama satu bulan tergantung pada jenis spesiesnya. Pernyataan hasil penelitian ini mengenai lama durasi spermatogenesis juga sesuai dengan penelitian Luetjens dkk., (2005), yaitu mengenai durasi satu siklus spermatogenesis dari rodent, primata dan manusia (Tabel 5.4).



**Gambar 5.7** Perbandingan perkembangan *germ cell* melalui spermatogenesis pada tikus (atas), monyet (tengah), dan manusia bawah)

Regulasi spermiogenesis yang mencakup perkembangan *germ cell* jantan pasca-meiotik telah dikaitkan dengan kadar androgen dan kadar FSH sedangkan sperma tampaknya tergantung pada kadar testosteron dan FSH. Terlepas dari menstimulasi jumlah sel melalui multiplikasi sel, testosteron dan FSH juga meningkatkan kelangsungan hidup sel germinal. Kehilangan *germ cell* pada testis yang kekurangan hormon juga melibatkan apoptosis, maka itu

dapat berspekulasi bahwa kedua hormon mengganggu jalur apoptosis. Hingga terbentuknya spermatozoa yang kemudian akan disalurkan menuju epididimis dan hipotalamus akan kembali memproduksi GnRH guna menstimulasi hipofisa anterior untuk memproduksi LH dan FSH didalam tubuh (McLachlan dkk., 2002).

**Tabel 5.4** Durasi satu siklus spermatogenesis pada rodent, primata dan manusia (Luetjens dkk., 2005).

Species	Group	Duration of spermatogenic cycle (days)	Efficiency index/duration (days <sup>-1</sup> )	Reference
<i>Rattus norvegicus</i>		12.5	0.029	Rosiepen <i>et al.</i> (1994)
<i>Saimiri sciureus</i>	NWM	10.2	0.019	Barr (1973)
<i>Callithrix jacchus</i>	NWM	10	0.023	Millar <i>et al.</i> (2000)
<i>Macaca mulatta</i>	OWM	10.5		Clermont (1972)
		10.5		de Rooij <i>et al.</i> (1986)
		9.5		Barr (1973)
		10.4		Rosiepen <i>et al.</i> (1997)
<i>Macaca fascicularis</i>	OWM	9.4	0.021	Dang (1971)
		10.5		Fouquet & Dadoune (1986)
		9.8		Weinbauer <i>et al.</i> (1998)
		10.1		Aslam <i>et al.</i> (1999)
<i>Macaca arctoides</i>	OWM	11.6		Clermont (1972)
<i>Cercopithecus aethiops</i>	OWM	10.2		Barr (1973)
<i>Papio cynocephalus</i>	OWM	10.2		Barr (1973)
<i>Pan troglodytes</i>	GA	14.4		Smithwick <i>et al.</i> (1996)
<i>Homo sapiens</i>		16	0.014	Heller & Clermont (1964)

NWM = New World Monkeys, OWM = Old World Monkeys, GA = Great Apes.

Kadar hormon di dalam urin maupun feses merupakan refleksi status endokrin beberapa jam sebelum pengambilan sampel. Saat ini penelitian mengenai ekskresi testosteron dan LH primata di dalam feses belum diketahui pasti kadar tertinggi maupun kadar terendah. Penelitian ini bersifat eksploratif sehingga hasil dari penelitian ini belum mampu dijadikan acuan konsentrasi kadar hormon testosteron dan LH pada lutung Jawa jantan. Namun, berdasarkan pola LH dan testosteron diketahui adanya fluktuasi hormonal pada lutung Jawa jantan.

## BAB 6 PENUTUP

### 6.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini dapat dapat disimpulkan bahwa:

1. Terdapat hubungan antara fluktuasi testosteron dan leuteinizing hormone (LH) yang sejalan pada siklus reproduksi lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) jantan umur dewasa antar individu.
2. Lama durasi spermatogenesis pada lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) jantan umur dewasa di Javan Langur Center setiap 10-14 hari selama satu bulan.

### 6.2 Saran

Adapun saran untuk penelitian ini yaitu:

1. Perlu dilakukan adanya penelitian lebih lanjut dengan jumlah individu yang lebih banyak dan beragam.
2. Perlu dilakukan adanya penelitian lebih lanjut dengan disertai pengamatan dan dokumentasi tingkah laku setiap hari.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akmal, M. 2017. Androgen Dihydrotestosterone dan Perannya pada Sistem Reproduksi Pria. *J Veterina Medika*. 10 (1).
- Alikodra, H.S. 2010. *Teknik Pengelolaan Satwa Liar*. IPB Press. Bogor.
- Aristides, Y., A. Purnomo, dan A. Samekto. 2016. Perlindungan Satwa Langka Di Indonesia Dari Perspektif *Convention On International Trade In Endangered Species Of Flora And Fauna (CITES)*. *Dipnegoro Law Journal*. 5 (4) : 1-3.
- Astriani, W. I., H. Arief dan L. B. Prasetyo. 2016. Populasi dan Habitat Lutung Jawa (*Trcyphitecus auratus* E. Geoffrey 1812) Di Resort Balanan, Taman Nasional Baluran. *Jurnal Media Konservasi*. 20 (3) : 1-2.
- Astuti, P., Yusuf, T. L., Hayes, E. Maheswari, H., Sjahfirdi, L., dan Sajuthi, D. 2006. Pola Diurnal Metabolit Testosteron dan Kortisol di Dalam Feses Owa Jawa (*Hylobates moloch*) di Penangkaran. *Jurnal Hayati*. 1 (1) : 69-72
- Bahr, N. I., R. Palme, U. Mohle, J. K. Hodges, and M. Heistermann. 2008. Comaparative Aspect of The Metabolism and Excretion of Cortisol in Three Individual Nonhuman Primates. *Gen Com Endocrinol*. 117: 427-438
- Basalamah, F., A. Zulfa, D. Suprobowati, D. Asriana, Susilowati., A. Anggraeni dan R. Nurul. Status Populasi Satwa Primata di Taman Nasional Gunung Gede Pangrango dan Taman Nasional Halimun Salak, Jawa Barat. *Jurnal Primatologi Indonesia*. Pusat Studi Satwa Primata. IPB. Bogor. 7 (2) : 1
- Behringer, V. and T. Deschner. 2017. Non-invasive Monitoring of Physiological Markers in Primates. *Artc in Press*. Elsevier Inc. Germany.
- Berstein, L.S. 1968. The Lutong of Kuala Selangor. *Journal Behavior*. 32 : 1 - 16
- Bismark, M dan A.S. Wiriosoepartho. 1980. Beberapa Aspek Ekologi Lutung (*Presbytis cristata* Raffles, 1821) di Suaka Margasatwa Meru Betiri Jawa Timur. *Laporan Penelitian*. Lembaga Penelitian Hutan, Bogor.
- Brinkmann, A. O. 2009. *Androgen Physiology: Receptor and Metabolic Disorders*. University Medical Center Rotterdam. Rotterdam. Netherlands.
- Cannon, W. and A. Vos. 2009. "*Trachypithecus Auratus*" (On-line), Animal Diversity Web. Accessed January 14, 2019 at <https://animaldiversity.org>.
- Chang, C. Chen Y. T., Yeh S.D., Xu Q., Wang R.S., Guillou F. Lardy H, dan Yeh S. 2004. Infertility With Defective Spermatogenesis and Hypotestosteronemia in Male Mice Lacking The Androgen Receptor in Sertoli Cells. *Proc Natl Acad Sci*.

- Chedrese and P. Jorge. 2009. *Reproductive Endocrinology*. Springer-Verlag. US
- Cheng, Y. C., Kru, K. S. Kum, C. K Lee J. H. Kwon, C. J. Han K. Y. And Joon, J. T. 1992. *Effect Of Serum Testosterone In Male Korean Native Goat*. Proc. Indonesia. 199-200.
- Choi, J. And J. Smitz. 2014. Luteinizing Hormone and Human Chorionic Gonadotropin: Distinguishing Unique Physiologic Roles. *Gynecological Endocrinology*. 30 (3): 174-181.
- Dellman, H.D. and E. M. Brown. 1976. *Textbok of Veterinary Histology*. Lea and Fibiger. Philadelphia.
- Djuwita, I., Boediono A, Mohamad K. 2000. *Bahan Kuliah Embriologi. Laboratorium Embriologi. Bagian Anatomi. Fakultas kedokteran Hewan. Institut pertanian Bogor. Bogor.*
- Groves, C. P. 2011. *Primate Taxonomy*. Washington DC (US): Smithsonian Institute Press.
- Hasbi, H dan S. Gustina. 2018. Regulasi Androgen dalam Spermatogenesis untuk Meningkatkan Fertilitas Ternak Jantan. *Jurnal WARTAZOA*. 28 (1) : 1-10.
- Hausmann, M. F., C. M. Vleck, dan E. S. Farrar. 2007. A Laboratory Exercise Toillustrate Increased Salivary Cortisol in Response To Three Stressful Conditions Using Competitive ELISA. *Adv Physiol Educ*. 31: 110–115.
- Indriyati, E., A. S. Nugroho, dan F. Kaswinarni. 2017. Bentuk Interaksi Intraspesifik Lutung Budeng (*Trachypithecus auratus*) di Kawasan Hutan Adinuso Kecamatan Subah Kabupaten Batang. *Jurnal Bioma*. 6 (1).
- Indrayanto, Y. 2011. *Andropause*. Tesis. Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- IUCN, 2008. *Red List of Threatened Species*. The IUCN Species Survival Commision. United Kingdom.
- Junqueira, L. C., J. Carneiro and O. K. 2007. *Histologi Dasar Organ Reproduksi edisi ke-8*. Jakarta: EGC. Hal 419-432
- Knobil, Neill's. 2006. *Physiology of Reproduction*. California. Elsevier Academic Press. US.
- Lindzey, J., M.V. Kumar., M. Grossmann., C. Young. and D.J. Tindall. 1994. Molecular Mechanisms of Androgen Action. *Vitam Horm*. 49: 383-432.
- Luetjens, C. M., G. F. Weinbauer and J. Wistuba. 2005. Primate Spermatogenesis: New Insight Into Comparative Testicular Organisation, Spermatogenic Efficiency and Endocrine Control. *Biol. Rev*. 80 (1) : 475–488

- Matsumoto, T., M. Sakari., M. Okada., A. Yokoyama., S. Takahashi., A. Kouzmenko. and S. Kato. 2013. The Androgen Receptor in Health and Disease. *Annual Review of Physiology.*, 75: 201-224.
- McLachlan R. I., O'Donnell L, Meachem S. J, Stanton P.G, de Kretser D. M, Pratis K, Robertson DM. 2002. Identification of Specific Sites of Hormonal Regulation in Spermatogenesis in Rats, Monkeys, And Man. *Recent Prog Horm Res.* 57:149-179.
- Norris, D. O dan K. H. Lopez. 2011. The Endocrinology of The Mammalian Ovary. *Hormones and Reproductin of Vertebrates.* 5 (4) : 59-72.
- Nugraha, R. T. P., B. Purwantara., I. Supriatna., M. Agil, dan G. Semiadi. 2016. Gambaran Umum Kajian Profil Hormon Steroid Menggunakan Metode Non-Invasif Dari Sampel Feses. *J Zoo Indonesia.* 25 (1):33-50
- Nugroho, A. A. dan Sugiyarto. 2015. Kajian Perilaku Kera Ekor Panjang (*Macaca fascicularis*) dan Lutung (*Trachypithecus auratus*) di Coban Rondo, Kabupaten Malang. *Jurnal Ilmiah Biologi.* 3 (1) : 33-38.
- Nursal, W. I. 2001. *Aktivitas Harian Lutung Jawa (Trachypithecus auratus Geoffroy 1812) di Pos Selabintana Taman Nasional Gunung Gede Pangrango Jawa Barat.* [Skripsi]. Jurusan Konservasi Sumberdaya Hutan Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor.
- Ownby, C. 1999. Spermatogenesis [media online]. [http://www.cvm.okstate.edu/intruccion/mm\\_curr/histology/mR/HimRP4.htm](http://www.cvm.okstate.edu/intruccion/mm_curr/histology/mR/HimRP4.htm). [diakses pada 12 Januari 2019].
- Pangestiningih, T.W., Saputra dan A. S. Suminar. 2004. Anatomi Perkembangan Serebelum Monyet Ekor Panjang (*Macaca fascicularis*) pada Trimester Awal Kebuntingan. *JSV.* 32 (1).
- Partodihardjo, S. 1980. Ilmu Reproduksi Hewan. Mutiara. Jakarta
- Profauna Indonesia. 2013. Lutung Jawa. <http://www.google.com/Lutung-Jawa-di-Pasar-Jawa-Timur/> (diunduh pada 13 Januari 2019).
- Rao, A. J., V. Ramesh, S. G. Ramachandra, and H. N. Krishnamurthy. 1998. Growth and Reproductive Parameters of Bonnet Monkey (*Macaca radiata*). *J Primates.* 39(1) : 97-107.
- Rachmadi, A. 2008. Kadar Gula Darah dan Kadar Hormon Testosteron Pada Pria Penderita Diabetes Melitus. [Tesis] Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Roos, C.,T. Nadler. And L. Walter. 2011. *Mitochondrial Phylogeny, Taxonomy and Biogeography Of The Silvered Langur Species Group (Trachypithecus cristatus).* *Molecular Phylogenetics and Evolution* 47: 629-636.

- Saltzman, W., Digby, L. J., & Abbott, D. H. 2009. *Reproductive Skew in Female Common Marmosets: What Can Proximate Mechanisms Tell Us About Ultimate Causes?*. Proc. Biol. Sci., 276.
- Santono, D., Ana W., Sakarwati S. 2016. *Aktivitas Harian Lutung Jawa (Trachypithecus auratus sondaciud) di Kawasan Taman Buru Masigit Kareumbi Jawa Barat*. [Skripsi]. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Gunung Djati Bandung. Bandung
- Schanbacher, B. D. 1979. Relationship Of In-vitro Gonadotropin Binding To Bovine Testes and The Onset Of Spermatogenesis. *J. Anim Sci.* 47 : 514-520
- Sihombing, J. M. 2010. *Pola Perkawinan Rusa Sambar (Cervus unicolor) Dengan Berbagai Ratio Betina*. [Skripsi]. Fakultas Pertanian. Universitas Sumatera Utara.
- Sofial, M. 2014. Perburuan Liar, Populasi Lutung Jawa Tinggal 30%. *Bisnis Indonesia*. Rubrik Lintas Jagat: 4 (kol 3-7).
- Subagyo, A., E. Arfan dan J. Siburian. 2008. Pola Aktivitas Harian Lutung (*Presbytis cristata*, Raffles 1821) di Hutan Sekitar Kampus Pinang Masak, Universitas Jambi. *Jurnal Veteriner*. 1 (1) : 6-10.
- Susetsyarini, R. K. 2009. Efek Senyawa Aktif Daun Beluntas Terhadap Kadar Testosteron Tikus Putih (*Ratus norwegicus*) Jantan. *J GAMMA*. 5(1):21-27.
- Syachruddin, A. R. 2014. Luteinizing Hormone (LH) pada Kerang Mutiara Jenis *Pinctada maxima*. *Jurnal Biologi Tropis*. 14 (2) : 1-10
- Verhoeven, G., Willems A, Denolet E, Swinnen J.V., De Gendt K. 2010. *Androgens and Spermatogenesis: Lessons From Transgenic Mouse Models*. *Philos Trans R Soc*. 365:1537-1556.
- Vaysse, J., M. Beaugrand, and M. Pontet. 1998. Measurements of Total and Desialylated Sex Hormone Binding Globulin in Serum by ELISA. *Journal Clinical Chemistry*. 44 (4): 882 – 884.
- Wasser, S. K., L. Risler, and R. A. Steiner,. 1988. Excreted Steroids in Primate Feces Over Themenstrual Cycle and Pregnancy. *Biol. Reprod Press*. 39:862–872.
- Weinbauer, G. F., M. Niehaus and E. Nieschlag. 2004. *The Role of Testosterone in Spermatogenesis*. Springer. Germany.
- Whitten, P. L., R. Stavisky, F. Aurelli, and F. Russel. 1998. Response of Fecal Cortisol to Stress in Captive Simpanses (*Pan troglodytes*). *Am J Primatol*. 44(1) : 57-69.
- Wulandari, E. dan A. F. Hapsari. 2010. *Peran Hormon Sebagai Regulator Fungsi Organ*. UIN Jakarta Press. Indonesia

- Widyaningrum, Y. M. Luthfi dan L. Affamdhy. 2015. Konsentrasi Testosteron dan Luteinizing Hormone Sapi PO Jantan Muda pada Model Kandang yang Berbeda Terhadap Percepatan Pubertas. Proc. Sem. Indonesia.
- Yohanna. 2014. Tingkat Kesejahteraan dan Status Kesiapan Owa Jawa di Pusat Penyelamatan dan Rehabilitasi Satwa Untuk Dilepasliarkan. *Jurnal Media Konservasi*. 19(3): 183– 197.
- Zainal, F. 2010. Perbandingan Aktifitas Harian Lutung Jawa (*Tracypithecus auratus*) di Pusat Penyelamatan Satwa (PPS) Petung Sewu dan Dataran Tinggi Hyang. [Skripsi]. Malang: Jurusan Biologi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Malang.
- Zhang, F.P., Pakarainen T, Poutanen M, Toppari J, and Huhtaniemi I. 2003. The Low Gonadotropin-independent Constitutive Production of Testicular Testosterone is Sufficient to Maintain Spermatogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 100:13692-13697.
- Ziegler, T. E., Sholl, S. A., Scheffler, G., Haggerty, M. A., and Lasley, B. L. 1989. Excretion of Estrone, Sstradiol, and Progesterone In The Urine And Feces of The Female Cotton-Top Tamarin (*Saguinus oedipus oedipus*). *Am. J. Primatol.* 17:185–195.

# LAMPIRAN



## Lampiran 1. Laik Etik



**KOMISI ETIK PENELITIAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
"ETHICAL CLEARANCE"**

No: 1016-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG  
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:**

PENELITIAN BERJUDUL : EKSPLOKORASI DAN OBSERVASI SIKLUS  
REPRODUKSI LUTUNG JAWA (*Trachypithecus auratus*)  
GUNA MELESTARIKAN BIODEVERSIKAS INDONESIA

PENELITI : MADE AYU PUTRI ANTARAYAMI

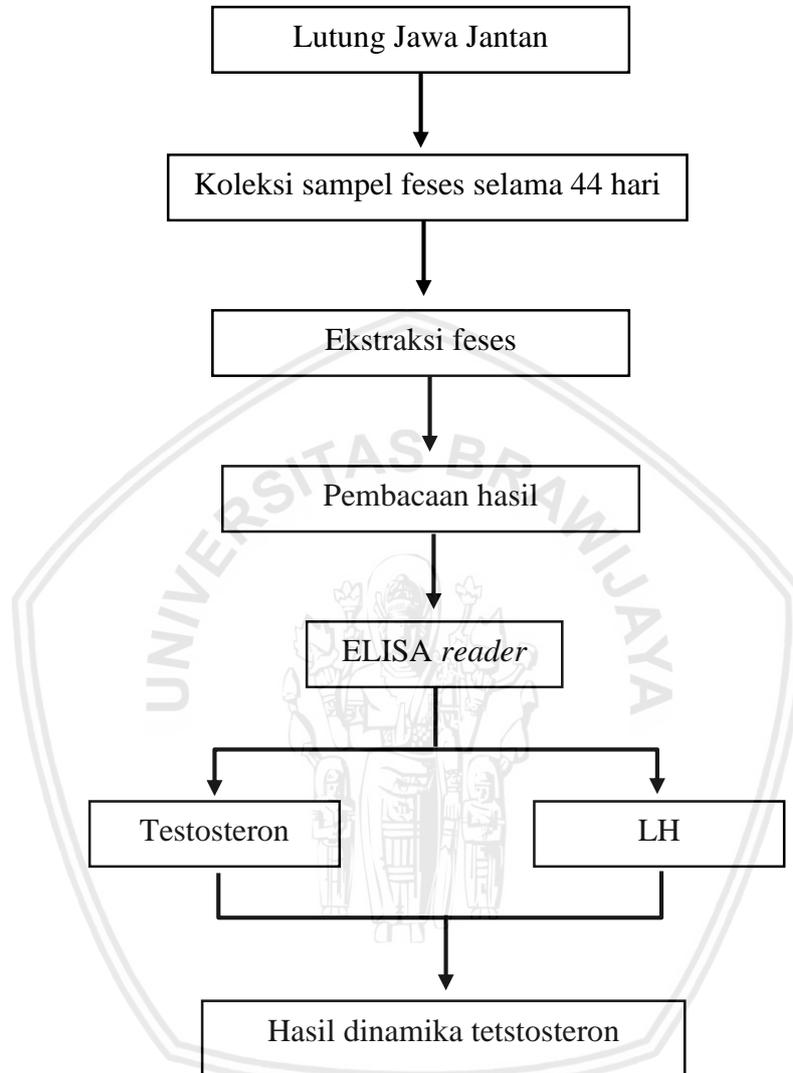
UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DINYATAKAN : LAIK ETIK

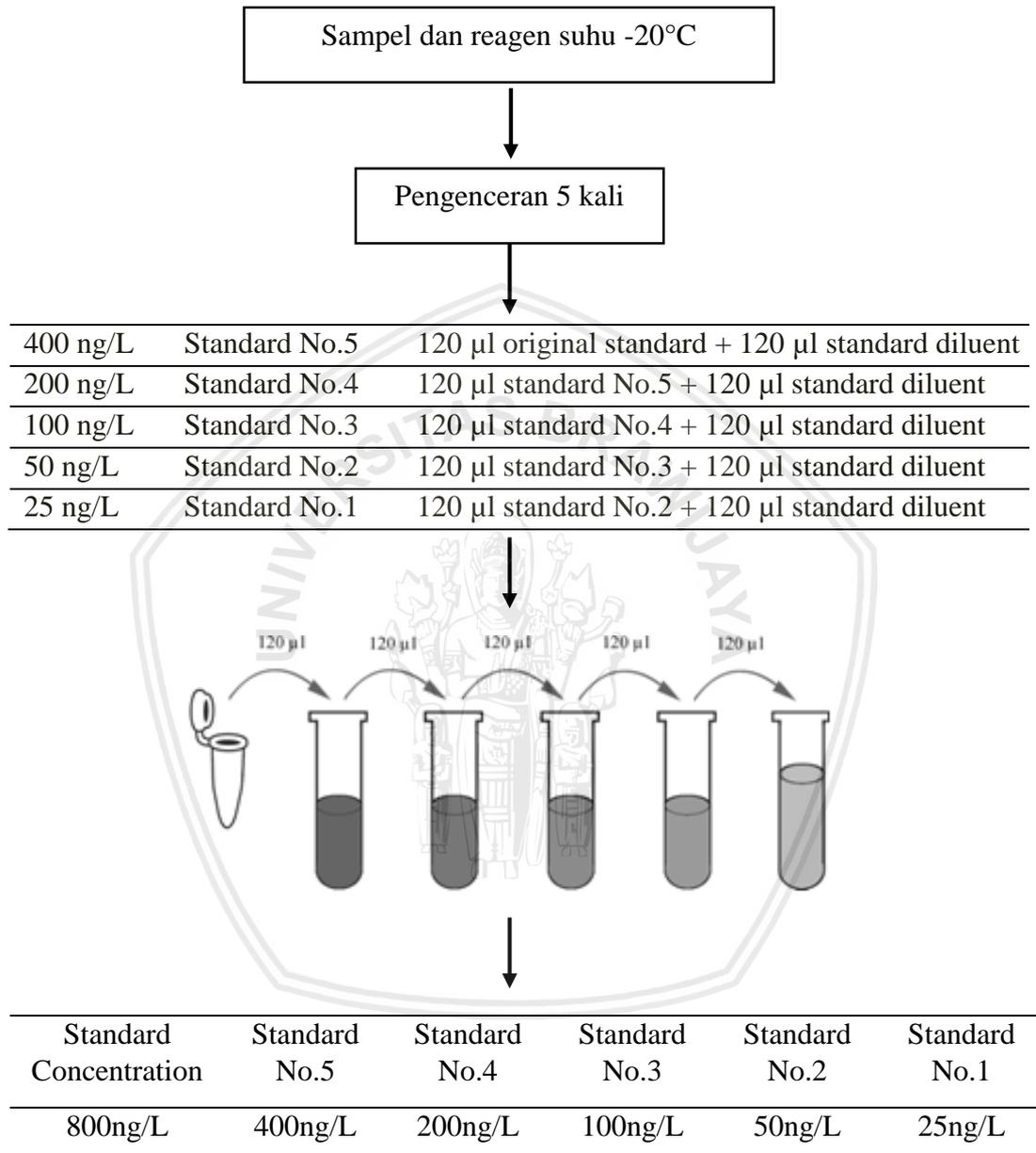
Malang, 2 Oktober 2018  
Ketua Komisi Etik Penelitian  
Universitas Brawijaya



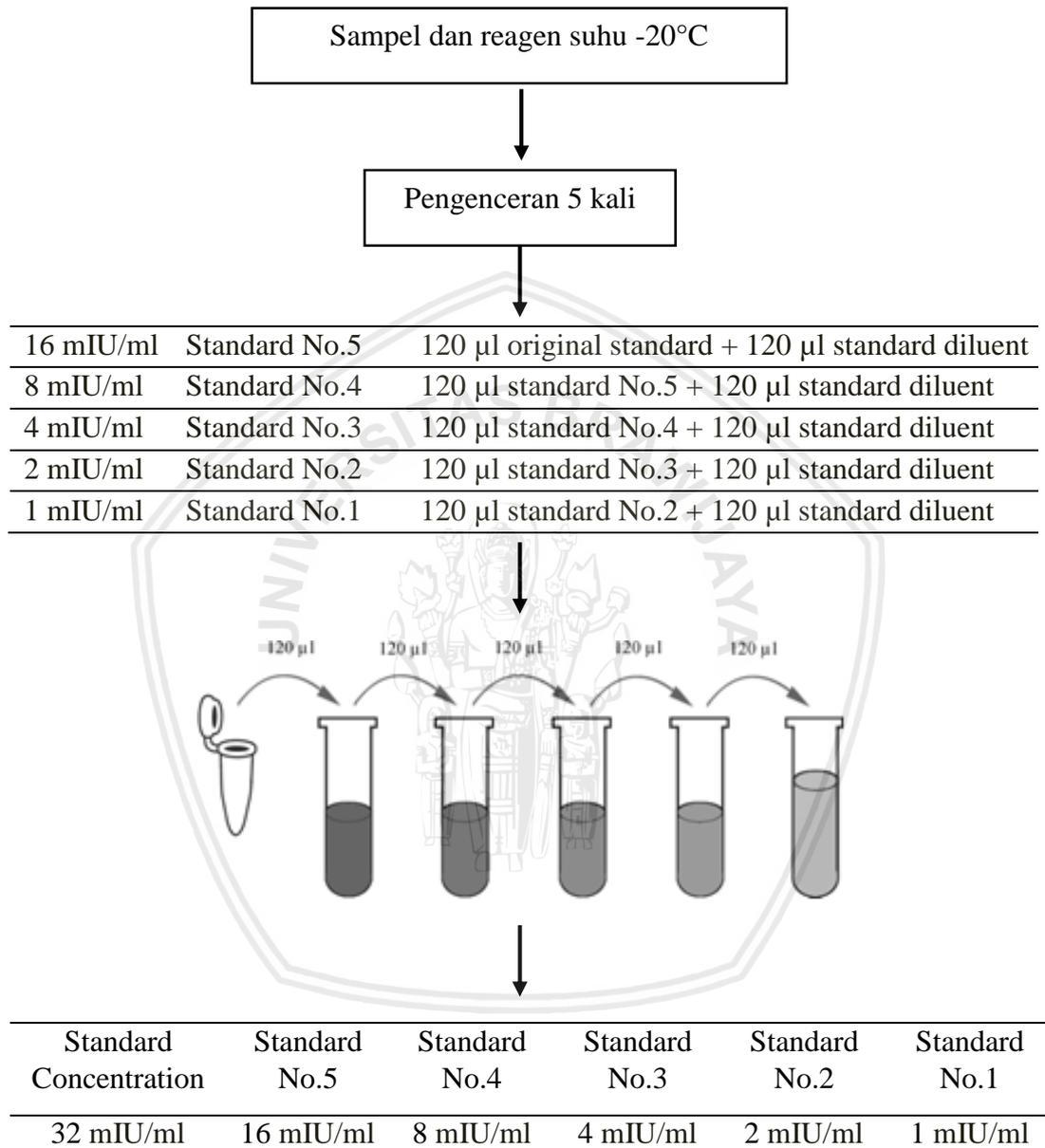
Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES.  
NIP. 19600903 198802 2 001

**Lampiran 2. Kerangka Operasional Penelitian**

### Lampiran 3. Tahapan Penentuan Standar *Monkey* ELISA Testostern ELISA Kit



#### Lampiran 4. Tahapan Penentuan Standar *Monkey* LH ELISA Kit



## Lampiran 5. Prosedur Pembacaan ELISA

### Sumuran microplate ELISA

- Diberikan tanda dengan label dengan memberikan nomor
- Ditambahkan 50  $\mu\text{L}$  dari masing-masing sumuran standart sesuai penomoran
- Ditambahkan 40  $\mu\text{L}$  ekstrak sampel feses ke dalam sumuran sesuai penomoran
- Ditambahkan 10  $\mu\text{L}$  antibodi monoklonal ke masing-masing sumuran sampel
- Ditambahkan 50  $\mu\text{L}$  konjugat enzim kedalam masing-masing sumuran kemudian ditutup/disegel
- Diinkubasi selama 60 menit pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$
- Dibuang isi sumuran lalu dibilas sebanyak 5 kali lalu dikeringkan dengan tisu
- Ditambahkan 50  $\mu\text{L}$  larutan substrat A ke setiap sumuran kemudian ditambahkan 50  $\mu\text{L}$  larutan substrat B ke setiap sumuran
- Ditutup/disegel sumuran lalu diinkubasi lagi selama 10 menit pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  dalam gelap
- Ditambahkan segera 50  $\mu\text{L}$  *stop solution* ke setiap sumuran
- Dibaca hasil menggunakan ELISA *reader* pada OD 450 dalam 10 menit setelah penambahan *stop solution*

Hasil

## Lampiran 6. Nilai Absorbansi LH Lutung Jawa Jantan

Biozatrix Indonesia

Plate No.: Mon LH bt-Elisa      CutOff: 0      Test Mode: Plate Test  
 WL1: 450      LP Range 0      Test Doctor:  
 WL2: None      Determine Symbol: >      Test Date: 2011-01-01

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	0.0255	0.1858	0.2983	0.5195	0.9698	1.0358	0.1756	0.2944	0.5229	0.9726	0.9935	0.8540	Sample OD Result S/CO
B	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	Sample OD Result S/CO
C	0.8106	0.8794	0.8341	0.8026	0.8446	0.7264	0.6806	0.6536	0.7402	0.7264	0.7615	0.7869	Sample OD Result S/CO
D	0.8705	0.8169	0.7607	0.8544	0.7906	0.7922	0.7076	0.7106	0.6970	0.6897	0.6970	0.8231	Sample OD Result S/CO
E	0.8663	0.7646	0.6869	0.7506	0.6970	0.6952	0.6754	0.6843	0.7274	0.6150	0.6284	0.6544	Sample OD Result S/CO
F	0.8306	0.8149	0.7235	0.8256	0.8719	0.8388	0.7424	0.7335	0.8352	0.8053	0.7840	0.9334	Sample OD Result S/CO
G	0.8827	0.8635	0.7415	0.8305	0.8360	0.8166	0.9075	0.8229	0.8523	0.8265	0.7536	0.8710	Sample OD Result S/CO
H	0.7896	0.7578	0.8035	0.6334	0.7025	0.7057	0.6988	0.6916	0.6801	0.7469	0.6180	0.6639	Sample OD Result S/CO

Review Doctor: Jack

Review:

Report Time: 2011-01-01 12:26:55 AM

### Penomoran *Microplate* Kit ELISA LH:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Blanko	Standar 1	Standar 2	Standar 3	Standar 4	Standar 5	Standar 1	Standar 2	Standar 3	Standar 4	Standar 5	I.1
B												
C	I.2	I.3	I.4	I.5	I.6	I.7	I.8	I.9	I.10	I.11	I.12	I.13
D	I.14	I.15	I.16	I.17	I.18	I.19	I.20	At.1	At.2	At.3	At.4	At.5
E	At.6	At.7	At.8	At.9	At.10	At.11	At.12	At.13	At.14	At.15	At.16	At.17
F	At.18	At.19	At.20	L.1	L.2	L.3	L.4	L.5	L.6	L.7	L.8	L.9
G	L.10	L.11	L.12	L.13	L.14	L.15	Mo.1	Mo.2	Mo.3	Mo.4	Mo.5	Mo.6
H	Mo.7	Mo.8	Mo.9	Mo.9	Mo.10	Mo.11	Mo.12	Mo.13	Mo.14	Mo.15	darah I	darah K

## Lampiran 7. Nilai Absorbansi Testosteron Lutung Jawa Jantan

### Biozatic Indonesia

Plate No.: Mon Testo bt-Elisa      CutOff: 0      Test Mode: Plate Test  
 WL1: 450      LP Range 0      Test Doctor:  
 WL2: None      Determine Symbol: >      Test Date: 2011-01-01

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	0.0235	0.2623	0.4418	0.7572	1.3944	2.0677	0.1265	0.2343	0.3917	0.6980	0.8784	0.8809	Sample OD Result S/CO
B	0.0200	0.0161	0.9326	0.9105	0.9626	0.9575	0.9533	0.9433	0.9514	0.8399	0.8910	0.7721	Sample OD Result S/CO
C	0.8056	0.8581	0.8419	0.8543	0.8840	0.8419	0.7927	0.8522	0.7415	1.0442	1.0753	0.8508	Sample OD Result S/CO
D	0.7913	0.8448	0.8136	0.5520	0.7681	0.8416	0.8282	0.8510	0.9808	1.1205	1.1034	1.1100	Sample OD Result S/CO
E	0.7832	0.8386	0.8592	0.8528	0.8472	0.8760	0.8360	1.0627	1.0661	1.1671	1.1365	1.1054	Sample OD Result S/CO
F	0.7629	0.8355	0.8355	0.8233	0.8388	0.7955	0.8315	0.8514	1.2679	1.0514	1.1377	0.8076	Sample OD Result S/CO
G	0.7454	0.8447	0.8654	0.8573	0.8719	0.8229	0.8489	1.2478	1.2315	1.0915	1.3447	1.1615	Sample OD Result S/CO
H	0.8152	0.8463	0.9080	1.0375	0.8668	0.9594	1.0952	1.1698	1.1954	1.0796	1.0388	0.9805	Sample OD Result S/CO

Review Doctor: Jack

Review:

Report Time: 2011-01-01 12:25:18 AM

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Blanko	Standar 1	Standar 2	Standar 3	Standar 4	Standar 5	Standar 1	Standar 2	Standar 3	Standar 4	Standar 5	L.1
B	L.2	L.3	L.4	L.5	L.6	L.7	L.8	L.9	L.10	L.11	L.12	L.13
C	L.14	L.15	M.1	M.2	M.3	M.4	M.5	M.6	M.7	M.8	M.9	M.10
D	M.11	A.1	A.2	A.3	A.4	A.5	A.6	A.7	A.8	A.9	A.10	A.11
E	A.12	A.13	C.1	C.2	C.3	C.4	C.5	C.6	C.7	C.8	C.9	C.10
F	C.11	C.12	C.13	I.1	I.2	I.3	I.4	I.5	I.6	I.7	I.8	I.9
G	I.10	IL.11	I.12	I.13	I.14	I.15	Mo.1	K.1	K.2	K.3	K.4	K.5
H	K.6	K.5	K.6	K.7	K.8	K.9	K.10	K.11	K.12	K.13	K.14	K.15

## Lampiran 8. Proses Pengerjaan ELISA kit LH



1. Persiapan bahan



4. Larutan standrad ditmabhakan ke dalam well



2. Persiapan sampel LH



5. Antibodi anti-T ditambahkan ke dalam well



3. Sampel dimasukan ke dalam well



6. Kit disentifugasi pelan selama 5 menit



7. Streptavidin ditambahkan ke dalam well sebanyak  $50\mu\text{l}$



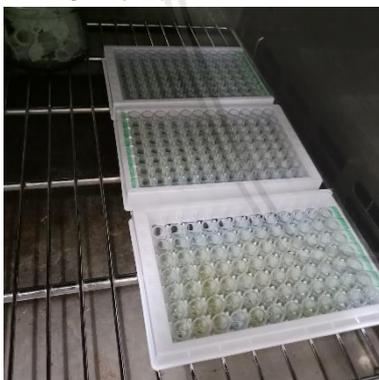
10. Well dibilas dengan wash buffer sebanyak 3x



8. Kit disentrifugasi kembali selama 1-3 menit



11. Substrat A dan substrat B ditambahkan ke dalam well



9. Kit diinkubasi selama 60 menit dengan suhu  $37^{\circ}\text{C}$



12. Kit disentrifugasi agar kedua substrat tercampur sebelum diinkubasi kembali selama 10 menit dengan suhu  $37^{\circ}\text{C}$



13. Kit dikeluarkan dari inkubator kemudian ditambahkan *stop solution*



14. Kit dibaca dengan mesin ELISA reader



### Lampiran 9. Proses Pengerjaan ELISA kit Testosteron



1. Persiapan bahan



4. Larutan standard ditambahkan ke dalam well



2. Persiapan sampel LH



5. Antibodi anti-T ditambahkan ke dalam well



3. Sampel dimasukkan ke dalam well



6. Kit disentrifugasi pelan selama 5 menit



7. Streptavidin ditambahkan ke dalam well sebanyak  $50\mu\text{l}$



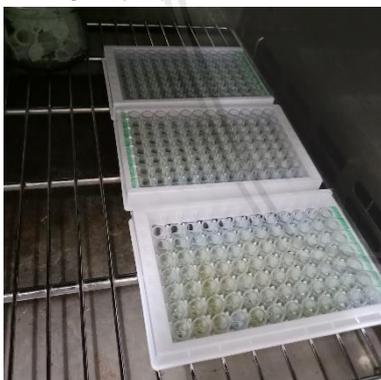
10. Well dibilas dengan wash buffer sebanyak 3x



8. Kit disentrifugasi kembali selama 1-3 menit



11. Substrat A dan substrat B ditambahkan ke dalam well



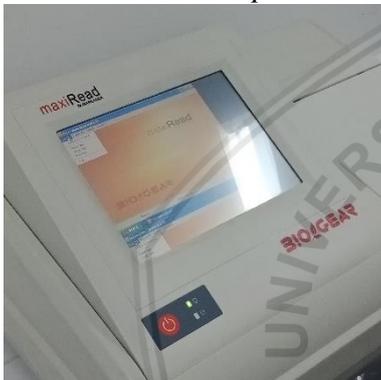
9. Kit diinkubasi selama 60 menit dengan suhu  $37^{\circ}\text{C}$



12. Kit disentrifugasi agar kedua substrat tercampur sebelum diinkubasi kembali selama 10 menit dengan suhu  $37^{\circ}\text{C}$



13. Kit dikeluarkan dari inkubator kemudian ditambahkan *stop solution*



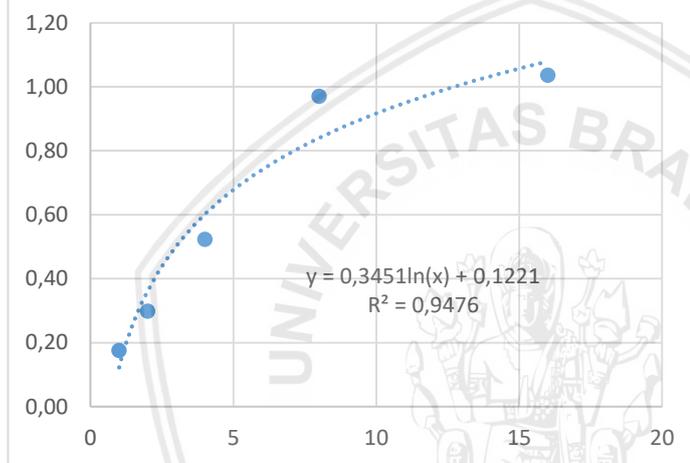
14. Kit dibaca dengan mesin ELISA reader



## 10. Perhitungan Konsentrasi LH

### STANDARD

Konsentrasi (mIU/gram)	OD1	OD2	Rerata
1	0,1858	0,1756	0,18
2	0,2983	0,2944	0,30
4	0,5195	0,5229	0,52
8	0,9698	0,9726	0,97
16	1,0358	0,9935	1,04



### Konsentrasi LH Luki

Data Luki				
Hari Ke-	OD	ln(x)	x	Konsentrasi (ng/L)
2	0,8256	2,0385	7,6794	19,20
4	0,8719	2,1727	8,7820	21,95
6	0,8388	2,0768	7,9788	19,95
8	0,7424	1,7975	6,0342	15,09
10	0,7335	1,7717	5,8806	14,70
12	0,8352	2,0664	7,8960	19,74
14	0,8053	1,9797	7,2407	18,10
16	0,7840	1,9180	6,8073	17,02
18	0,9334	2,3509	10,4951	26,24
20	0,8827	2,2040	9,0612	22,65
22	0,8635	2,1484	8,5708	21,43
24	0,7415	1,7948	6,0185	15,05
26	0,8305	2,0527	7,7892	19,47
28	0,8360	2,0687	7,9143	19,79
30	0,8166	2,0125	7,4817	18,70

rata-  
rata

19,27

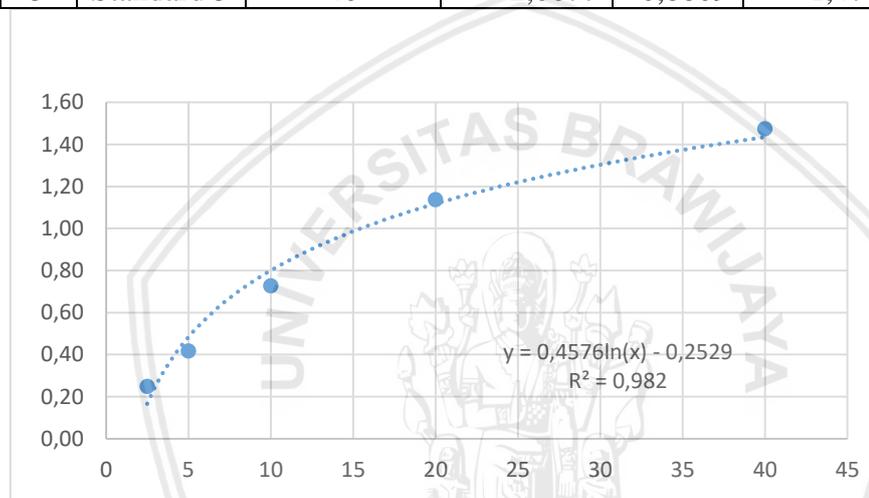
**Konsentrasi LH Moses**

2	0,9075	2,2759	9,7363	24,34
4	0,8229	2,0307	7,6195	19,05
6	0,8523	2,1159	8,2971	20,74
8	0,8265	2,0411	7,6994	19,25
10	0,7536	1,8299	6,2333	15,58
12	0,8710	2,1701	8,7591	21,90
14	0,7896	1,9342	6,9187	17,30
16	0,7578	1,8421	6,3096	15,77
18	0,8035	1,9745	7,2030	18,01
20	0,7025	1,6818	5,3754	13,44
22	0,7057	1,6911	5,4255	13,56
24	0,6988	1,6711	5,3181	13,30
26	0,6916	1,6502	5,2083	13,02
28	0,6801	1,6169	5,0376	12,59
30	0,7469	1,8105	6,1134	15,28
			rata-rata	16,88

## 11. Perhitungan Konsentrasi Testosteron

### STANDARD

No.	Standard	Konsentrasi (ng/L)	OD1	OD2	RATA2
1	Standard 1	2,5	0,2623	0,2343	0,25
2	Standard 2	5	0,4418	0,3917	0,42
3	Standard 3	10	0,7572	0,698	0,73
4	Standard 4	20	1,3944	0,8784	1,14
5	Standard 5	40	2,0677	0,8809	1,47



### Data Luki

No.	Kode Sampel	Hari Ke-	OD	ln(x)	x	Konsentrasi (ng/L)
1	L-1	2	0,8200	1,2393	3,4532	8,63
2	L-2	4	0,9161	1,4493	4,2601	10,65
3	L-3	6	0,9325	1,4851	4,4156	11,04
4	L-4	8	0,9105	1,4371	4,2083	10,52
5	L-5	10	1,0126	1,6602	5,2603	13,15
6	L-6	12	0,9575	1,5398	4,6635	11,66
7	L-7	14	0,9533	1,5306	4,6209	11,55
8	L-8	16	0,9433	1,5087	4,5210	11,30
9	L-9	18	0,9514	1,5264	4,6018	11,50
10	L-10	20	0,8399	1,2828	3,6067	9,02
11	L-11	22	0,8910	1,3944	4,0328	10,08
12	L-12	24	0,7721	1,1346	3,1100	7,77
13	L-13	26	0,8056	1,2078	3,3462	8,37
14	L-14	28	0,8581	1,3226	3,7530	9,38
15	L-15	30	0,8419	1,2872	3,6224	9,06

					Rata-rata	10,25
--	--	--	--	--	-----------	-------

### Data Moses

16	Mo-1	2	1,0140	1,6632	5,2764	13,19
17	Mo-2	4	0,8840	1,3792	3,9715	9,93
18	Mo-3	6	0,8419	1,2872	3,6224	9,06
19	Mo-4	8	0,7927	1,1796	3,2532	8,13
20	Mo-5	10	0,8522	1,3097	3,7049	9,26
21	Mo-6	12	0,7415	1,0677	2,9088	7,27
22	Mo-7	14	1,0442	1,7292	5,6364	14,09
23	Mo-8	16	1,0753	1,7972	6,0327	15,08
24	Mo-9	18	0,8508	1,3066	3,6936	9,23
25	Mo-10	20	0,7913	1,1766	3,2432	8,11
26	Mo-11	22	0,8448	1,2935	3,6455	9,11
27	Mo-12	24	0,8136	1,2253	3,4052	8,51
28	Mo-13	26	0,5520	0,6536	1,9225	4,81
29	Mo-14	28	0,7681	1,1259	3,0829	7,71
30	Mo-15	30	0,8416	1,2865	3,6201	9,05
					Rata-rata	9,50