

**STUDI SIKLUS REPRODUKSI LUTUNG JAWA (*Trachypithecus
auratus*) BETINA DI JAVAN LANGUR CENTER
BERDASARKAN KADAR ESTROGEN DAN
*LUTEINIZING HORMONE (LH)***

SKRIPSI

Oleh:

MADE AYU PUTRI ANTARAYAMI

155130101111073



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

**STUDI SIKLUS REPRODUKSI LUTUNG JAWA (*Trachypithecus
auratus*) BETINA DI JAVAN LANGUR CENTER
BERDASARKAN KADAR ESTROGEN DAN
*LUTEINIZING HORMONE (LH)***

SKRIPSI

*Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan*

Oleh:

MADE AYU PUTRI ANTARAYAMI

155130101111073



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

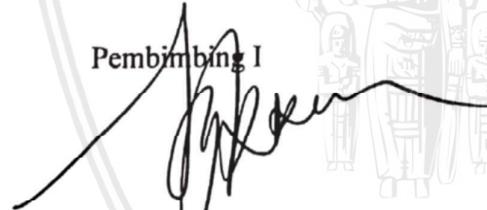
LEMBAR PENGESAHAN

**Studi Siklus Reproduksi Lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) Betina di
Javan Langur Center Berdasarkan Kadar Estrogen dan *Luteinizing*
Hormone (LH)**

Oleh:
MADE AYU PUTRI ANTARAYAMI
155130101111073

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
Pada tanggal 28 Mei 2019
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I


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

Pembimbing II


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 : Made Ayu Putri Antarayami
NIM : 155130101111073
Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan
Penulis Skripsi berjudul :

Studi Siklus Reproduksi Lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) Betina di Javan Langur Center Berdasarkan Kadar Estrogen dan *Luteinizing Hormone (LH)*

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 termaktub 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 ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 28 Mei 2019

yang menyatakan



Made Ayu Putri Antarayami)

NIM. 155130101111073

Studi Siklus Reproduksi Lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) Betina di Javan Langur Center Berdasarkan Kadar Estrogen dan *Luteinizing Hormone* (LH)

ABSTRAK

Lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) merupakan salah satu satwa endemik Indonesia yang kini berstatus *vulnerable* (rentan) berdasarkan *Red List of Threatened Species* oleh *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) dan sudah ditetapkan sebagai satwa dilindungi sejak 1999 berdasarkan Surat Keputusan Menteri Kehutanan dan Perkebunan No. 733/Kpts-II/1999. Upaya pelestarian yang dapat dilakukan untuk mencegah kepunahan lutung Jawa adalah dengan mengoptimalkan perkembangbiakannya. Lutung Jawa yang berada dalam lingkungan konservasi memiliki tingkat keberhasilan reproduksi yang rendah karena perkiraan waktu ovulasi dalam siklus reproduksi lutung Jawa betina yang kurang tepat. Informasi mengenai siklus reproduksi lutung Jawa diperoleh melalui pengukuran kadar hormon estrogen dan LH selama siklus reproduksi secara non-invasif dengan metode ELISA. Sampel yang digunakan adalah feses dari 2 ekor lutung Jawa betina berumur 4 tahun (Ifa) dan 7 tahun (Asti) yang berada di Javan Langur Center. Sampel feses dikoleksi setiap hari selama 40 hari kemudian diekstrak menggunakan PBS dan selanjutnya dilakukan pengukuran kadar hormon estrogen dan LH menggunakan kit ELISA komersial. Hasil penelitian menunjukkan bahwa siklus reproduksi lutung Jawa betina diduga berlangsung sekitar 24 hari yang terdiri dari fase folikuler yang berlangsung sekitar 10 hari, periode ovulasi sekitar 2 hari dan fase luteal sekitar 12 hari.

Kata kunci: Lutung Jawa betina, siklus reproduksi, estrogen, LH

**Reproductive Cycle Study of Female Javan Langur (*Trachypithecus auratus*)
in Javan Langur Center Based on Estrogen and Luteinizing Hormone
(LH) Levels**

ABSTRACT

Javan langur (*Trachypithecus auratus*) is one of Indonesia's endemic animals that is now vulnerable based on the Red List of Threatened Species by International Union for Conservation of Nature's (IUCN) and has been designated as protected animals since 1999 based on Surat Keputusan Menteri Kehutanan dan Perkebunan No. 733/Kpts-II/1999. Preservation efforts to prevent the extinction of Javan langurs are done by optimizing their breeding. Javan langur in a conservation has a low reproductive success rate because of the less precise approximate time of ovulation in the reproductive cycle of female Javan langurs. Information about the reproductive cycle of Javan langurs are obtained through measurements of estrogen and LH levels during the reproductive cycle in a non-invasive manner using the ELISA method. The sample used was faeces from 2 Javan langurs which are 4 years old (Ifa) and 7 years old (Asti) from Javan Langur Center. Faeces samples were collected every day for 40 days then extracted using PBS. Estrogen and LH levels were measured from the extract using a commercial ELISA kit. The results showed that the reproductive cycle of female Javan langurs estimated around 24 days which consists of a follicular phase lasting around 10 days, an ovulation phase of approximately 2 days and a luteal phase of around 12 days.

Keywords: Female Javan langur, reproductive cycle, estrogen, LH

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan yang Maha Esa atas segala karunia-Nya sehingga penulis dapat menyusun dan menyelesaikan skripsi dengan judul “Studi Siklus Reproduksi Lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) Betina di Javan Langur Center Berdasarkan Kadar Estrogen dan *Luteinizing Hormone* (LH)” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan.

Tersusunnya skripsi ini tak lepas dari bantuan berbagai pihak, baik secara materiil maupun dukungan moral. Pada kesempatan kali ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya, seluruh jajaran Dekanat, Dosen dan Staf Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya atas bantuan dan fasilitas yang diberikan.
2. Dr. Agung Pramana Warih M, M.Si selaku dosen pembimbing I dan drh. Nurina Titisari, M.Sc. selaku pembimbing II yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing, mengarahkan dan memberikan masukan dalam penyusunan skripsi ini.
3. drh. Yudit Oktanella, M.Si selaku dosen penguji I dan drh. Aulia Firmawati, M.Vet selaku dosen penguji II yang telah meluangkan waktu dan memberikan saran yang membangun.

4. Keluarga tercinta, ayahanda I Made Sungarti, ibu Gusti Ketut Santika, kakak Luh Ayu Cahya Susanti Dewi, adik Komang Ayu Sri Dewi dan Ketut Agus Cahyadi Nanda yang selalu memberi kasih sayang, dorongan dan dukungan untuk menyelesaikan skripsi serta perhatiannya akan kebutuhan penulis baik secara moral maupun materiil.
5. Partner penelitian "Feses Lutung" yakni Olea Rody Sangen dan Rahadean Arya S. yang selalu bersama dalam mengerjakan skripsi.
6. Partner seperjuangan yakni Silvira Tri Purnama Sari, Aditya Fernando, Hardyanti Tampubolon, Dian Agatha Napitupulu, Desy Rose, Akhmad Rifky Tribagus Rifandi, Fidia Hestikasari dan Putri Dwiarisa yang dengan senang hati membantu dan menyemangati penulis untuk terus belajar.
7. Keluarga DECODE 2015 atas persahabatan, semangat, inspirasi, keceriaan dan mimpi-mimpi yang luar biasa.
8. Teman-teman seperjuangan DNA, mahasiswa FKH UB angkatan 2015 dan seluruh kolega yang telah memberikan semangat dan berbagai informasi yang sangat bermanfaat untuk kelancaran perkuliahan.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh sebab itu, kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan untuk penulisan kedepannya. Akhir kata penulis ucapkan terima kasih dan mohon maaf apabila terdapat kekurangan dalam penulisan skripsi ini.

Malang, 28 Mei 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERNYATAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Batasan Masalah.....	4
1.4 Tujuan Penelitian.....	4
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Klasifikasi Lutung Jawa (<i>Trachypithecus auratus</i>).....	6
2.2 Morfologi Lutung Jawa	7
2.3 Aktivitas Lutung Jawa	8
2.4 Sistem Kelompok pada Lutung Jawa	9
2.5 Reproduksi Lutung Jawa Betina.....	10
2.6 Organ Reroduksi Primata Betina.....	12
2.7 Siklus Reproduksi.....	15
2.8 Regulasi Hormon dalam Siklus Reproduksi	20
2.9 <i>Luteinizing Hormone</i> (LH).....	23
2.10 Estrogen	24
2.11 Uji ELISA terhadap Kadar Estrogen dan LH	26
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	28
3.2 Hipotesis Penelitian	32
BAB 4 METODE PENELITIAN	
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	33
4.2 Sampel Penelitian	33
4.3 Rancangan Penelitian.....	34
4.4 Tahapan Penelitian	34

4.5	Variabel Penelitian	34
4.6	Alat dan Bahan Penelitian.....	35
4.7	Mekanisme Penelitian.....	35
BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN		
5.1	Kadar <i>Luteinizing Hormone</i> pada Feses Lutung Jawa Betina	39
5.2	Kadar Estrogen pada Feses Lutung Jawa Betina.....	42
5.3	Identifikasi Pola Hormonal Siklus Reproduksi Lutung Jawa Betina berdasarkan Kadar Estrogen dan LH.....	45
BAB 6 PENUTUP		
6.1	Kesimpulan	49
6.2	Saran	49
DAFTAR PUSTAKA		50
LAMPIRAN		56



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Panjang siklus reproduksi pada beberapa spesies primata	12
2.2 Produk sekresi dari ovarium dan fungsinya	16
4.1 Informasi lutung Jawa.	33
5.1 Hasil analisis deskriptif perkiraan kadar LH pada feses lutung Jawa betina.	41
5.2 Hasil analisa deskriptif perkiraan kadar hormon estrogen pada feses lutung Jawa Betina.	44



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Lutung Jawa (<i>Trachypithecus auratus</i>).....	8
2.2 Aktivitas lutung Jawa di dahan pohon	9
2.3 Tipe uterus pada primata	13
2.4 Anatomi organ reproduksi betina pada beberapa primata.....	14
2.5 Skema morfologi mikroskopi ovarium dan perkembangan folikel	15
2.6 Grafik hormonal serta perubahan pada folikel dan uterus pada siklus reproduksi wanita.....	22
2.7 Struktur kimia estrogen	25
2.8 Biosintesis progesteron dan estrogen (E ₁ dan E ₂).....	26
5.1 Grafik perkiraan kadar LH pada feses lutung Jawa betina selama 40 hari. ..	40
5.2 Grafik perkiraan kadar hormon estrogen (E ₂) pada feses lutung Jawa Betina selama 40 hari.	43
5.3 Perkiraan profil hormon estrogen (E ₂) dan LH pada lutung Jawa Ifa selama 40 hari.....	45
5.4 Perkiraan fase folikuler, ovulasi dan luteal pada profil hormonal lutung Jawa Asti.	48

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Laik Etik.....	57
2. Biodata Sampel Lutung Jawa Betina	58
3. Kerangka Operasional.....	60
4. Prosedur Ekstraksi Feses Lutung Jawa	61
5. Tahapan Penentuan Standar Monkey Estrogen ELISA Kit	62
6. Tahapan Penentuan Standar Monkey LH ELISA Kit.....	63
7. Prosedur ELISA.....	64
8. Nilai Absorbansi Estrogen dan LH Lutung Jawa Betina	65
9. Perhitungan Konsentrasi Estrogen Lutung Jawa	68
10. Perhitungan Konsentrasi LH Lutung Jawa.....	70
11. Dokumentasi Penelitian.....	72

DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

Simbol/Singkatan	Keterangan
%	: Persen
°C	: Derajat Celcius
±	: Kurang lebih
μL	: Mikroliter
PGF-2α	: Prostaglandin fosfat 2-alfa
β	: <i>beta</i>
cm	: centimeter
DHEA	: <i>Dehydroepiandrosterone</i>
E ₁	: Estron
E ₁ C	: Estron terkonjugasi
E ₂	: Estradiol
E ₃	: Estriol
ELISA	: <i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
dkk	: dan kawan kawan
FSH	: <i>Follicle Stimulating Hormone</i>
GnRH	: <i>Gonadotropin releasing hormone</i>
HRP	: <i>Horse Radish Peroxidase</i>
JLC	: Javan Langur Center
kg	: kilogram
LH	: <i>Leuteinizing Hormone</i>
ml	: milliliter
mm	: millimeter
OD	: <i>optical density</i>
P ₄	: Progesteron
PBS	: <i>Phosphate-buffered saline</i>
PdG	: Pregnenediol-3-glukoronat
rpm	: Rotasi per menit atau revolusi per menit
SD	: Standard deviasi
SEM	: <i>Standard Error of the Mean</i>

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang dikaruniai kekayaan dan kekhasan keanekaragaman hayati yang tersebar di seluruh wilayah Indonesia. Berbagai tindakan pelestarian keanekaragaman hayati telah dilakukan oleh pemerintah untuk mempertahankan keberadaan biodiversitas dari ancaman kepunahan, yang meliputi strategi dan rencana aksi pengelolaan biodiversitas Indonesia, penetapan peraturan dan kebijakan nasional mengenai konservasi sumber daya alam hayati dan ekosistemnya, penetapan berbagai satwa endemik dilindungi undang-undang serta mendirikan kawasan konservasi *in-situ* dan/atau *eks-situ* terhadap flora dan fauna endemik Indonesia (Darajati dkk., 2016).

Lutung Jawa (*Trachypitecus auratus*) merupakan salah satu satwa endemik Indonesia yang kini berstatus *vulnerable* (rentan) berdasarkan *Red List of Threatened Species* oleh *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) dan sudah ditetapkan sebagai satwa dilindungi sejak 1999 berdasarkan Surat Keputusan Menteri Kehutanan dan Perkebunan No. 733/Kpts-II/1999 (Nijman dan Supriatna, 2008). Penurunan populasi lutung Jawa disebabkan oleh hilangnya habitat akibat perluasan lahan pertanian dan pemukiman manusia maupun perdagangan hewan secara ilegal. Perdagangan lutung Jawa masih sering dilakukan oleh oknum tidak bertanggung jawab melalui media sosial meskipun status lutung Jawa sudah dilindungi oleh lembaga pemerintah yang menyebabkan populasi lutung Jawa terus menurun (Fitriana, 2018).

Upaya pelestarian lutung Jawa yang telah dilakukan meliputi rehabilitasi dan penangkaran lutung Jawa, perlindungan hukum, serta edukasi terhadap masyarakat terkait upaya pencegahan perburuan satwa liar di wilayah konservasi. Menurut Ramdani (2017), keberhasilan rehabilitasi dari suatu spesies sangat didukung oleh informasi mengenai perilaku satwa tersebut di habitat aslinya, misalnya perilaku makan dan kawin pada satwa primata mempengaruhi perkembangbiakan dari satwa tersebut (Alikodra, 1990).

Pengetahuan mengenai perilaku maupun sistem perkawinan serta siklus reproduksi dari lutung Jawa sangat penting dalam upaya perkembangbiakan lutung Jawa. Siklus reproduksi betina dapat diketahui melalui pemantauan hormon reproduksi seperti estrogen, progesteron, LH dan FSH (Saltzman dkk., 2011) serta gejala estrus yang tampak pada mukus vagina dan perubahan kulit disekitar anus dan alat kelamin (Yusuf, 1998). Sejauh ini, informasi mengenai siklus reproduksi betina, baik lama siklus maupun pola hormonalnya masih belum banyak diketahui. Padahal, informasi ini dapat digunakan sebagai pedoman dalam menentukan masa subur bagi lutung Jawa untuk melakukan perkawinan sehingga dapat mengoptimalkan keberhasilan bunting pada lutung betina.

Estrogen (C-18 ketosteroid) merupakan hormon steroid yang disintesis terutama oleh ovarium, di samping juga oleh kelenjar adrenal, plasenta dan testis (Wulandari dan Hapsari, 2013). Estrogen memiliki efek terhadap pertumbuhan, perkembangan, pematangan dan fungsi saluran reproduksi serta diferensiasi seksual dan perilaku (Ciftci, 2013). Pada satu siklus reproduksi hewan betina, kenaikan tertinggi konsentrasi hormon estrogen (dalam bentuk estradiol) di dalam serum

tercapai pada akhir fase folikuler atau saat terjadi ovulasi. Menurut Dukelow (1978) (dalam Yusuf, 1998), perkiraan waktu ovulasi disertai pengamatan gejala estrus dapat digunakan sebagai waktu perkawinan pada hewan betina untuk dapat menghasilkan kebuntingan.

Luteinizing hormone (LH) merupakan hormon glikoprotein yang dihasilkan oleh pituitari anterior di bawah pengaruh GnRH. *Luteinizing hormone* memiliki peran utama dalam induksi ovulasi, regulasi hormon steroid dan pembentukan korpus luteum pada mamalia betina. Estrogen (E_1 dan E_2) yang disintesis oleh folikel ovarium merupakan hasil dari konversi androgen oleh enzim aromatase ($P450_{aro}$) pada sel granulosa di bawah pengaruh FSH, sementara sel theca folikel antral mensintesis androgen di bawah pengaruh LH. Konsentrasi LH tertinggi dijumpai pada periode ovulasi atau fase folikuler akhir sebagai akibat dari umpan balik positif estrogen terhadap hipotalamus dan pituitari untuk menginduksi terjadinya ovulasi (Norris dan Lopez, 2011).

Sedikitnya sumber informasi mengenai siklus reproduksi pada lutung Jawa betina menyebabkan kesulitan dalam menentukan waktu penyatuan dan perkawinan lutung Jawa jantan dan betina. Hal ini berdampak pada upaya pelestarian lutung Jawa di pusat rehabilitasi menjadi tidak optimal dalam menanggulangi ancaman kepunahan pada spesies ini. Oleh sebab itu, perlu dilakukan penelitian untuk dapat menentukan lama siklus dan pola hormonal dari siklus reproduksi lutung Jawa betina melalui pengukuran kadar estrogen dan LH yang diharapkan dapat memberikan informasi dalam upaya pelestarian dan peningkatan populasi lutung Jawa kedepannya.

1.2 Rumusan Masalah

1. Berapa lamakah siklus reproduksi lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) betina di Javan Langur Center ditinjau dari kadar estrogen dan LH?
2. Bagaimanakah pola hormonal dari siklus reproduksi lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) betina di Javan Langur Center ditinjau dari kadar estrogen dan LH?

1.3 Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan adalah feses lutung Jawa dengan jenis kelamin betina, berumur 4 tahun dan 7 tahun di Javan Langur Center, Kota Batu, Jawa Timur.
2. Sampel feses lutung Jawa diambil satu kali sehari pada pukul 07.00 WIB dalam kurun waktu 40 hari.
3. Ekstrak feses lutung Jawa digunakan untuk pengukuran kadar estrogen dan LH dengan menggunakan metode *Indirect Sandwich* ELISA.

1.4 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui lama siklus reproduksi lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) betina di Javan Langur Center ditinjau dari kadar estrogen dan LH.
2. Untuk mengetahui pola hormonal dari siklus reproduksi lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) betina di Javan Langur Center ditinjau dari kadar estrogen dan LH.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang siklus reproduksi pada lutung Jawa betina melalui pengukuran kadar estrogen dan LH dari sampel feses lutung Jawa betina untuk pelestarian populasinya. Hasil penelitian ini juga diharapkan dapat menjadi masukan bagi penelitian berikutnya mengenai reproduksi pada lutung Jawa.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Klasifikasi Lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*)

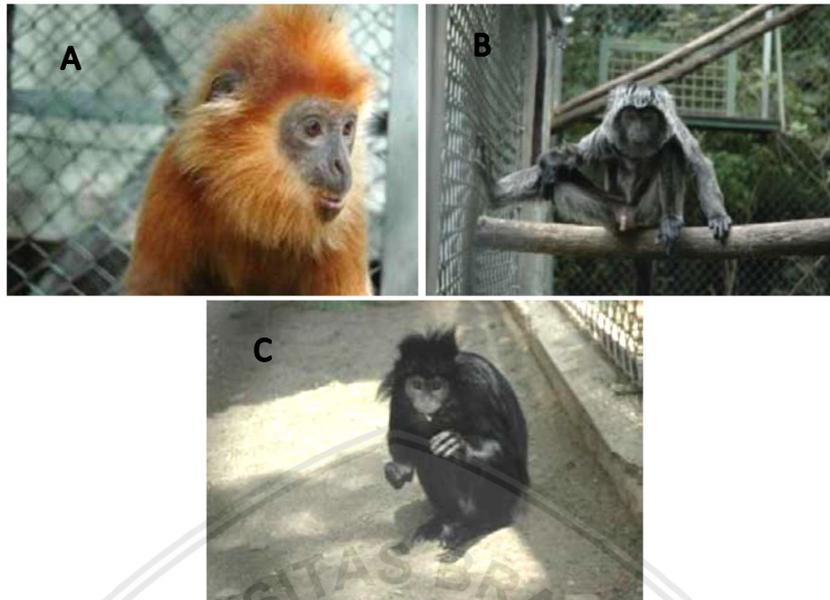
Lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) merupakan salah satu satwa endemik Indonesia. Pemerintah Indonesia telah menetapkan lutung Jawa sebagai satwa dilindungi sejak tahun 1999. Lutung Jawa memiliki nama lain dalam Bahasa Inggris yaitu “Javan Lutung” atau “Ebony Leaf Monkey”, serta dalam bahasa lokal yaitu “Lutung” dan “Budeng” (Wedana dkk., 2013). Lutung Jawa saat ini diketahui memiliki dua subspecies berdasarkan studi genetik, perbedaan morfologi dan sumber biogeografi oleh Roos dkk. (2008) yaitu *Trachypithecus auratus auratus* di Jawa Timur dan *Trachypithecus auratus mauritus* di Jawa Barat.

Klasifikasi lutung Jawa menurut Groves (2017) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Class	: Mamalia
Ordo	: Primata
Subordo	: Haplorrhini
Infraordo	: Simiiformes atau Anthropoidea
Superfamili	: Cercopithecoidea
Famili	: Cercopithecidae (Monyet Dunia Lama)
Sub Famili	: Colobidae
Genus	: <i>Trachypithecus</i>
Spesies	: <i>T. auratus</i> Geoffroy 1812

2.2 Morfologi Lutung Jawa

Menurut Supriatna dan Wahyono (2000), lutung jawa dewasa baik jantan dan betina memiliki panjang tubuh (dari ujung kepala hingga tungging) rata-rata 517 mm, dan panjang ekornya rata-rata 742 mm., berat badan rata-rata lutung Jawa sekitar 6,3 kg, sedangkan menurut Rowe (1996) di dalam Sulistyadi (2013) berat badan rata-rata sekitar 7 kg dengan panjang tubuh berkisar 44-65 cm dan panjang ekor 61-87 cm. Rambut lutung Jawa berwarna hitam sedikit keabu-abuan, namun ada yang berwarna kuning kemerah-merahan pada lutung di Jawa Timur (**Gambar 2.1**). Bagian ventral berwarna kelabu pucat dan memiliki jambul di kepalanya. Bayi lutung yang baru dilahirkan memiliki warna tubuh kuning jingga dan tidak berjambul. Warna tersebut akan berangsur-angsur menjadi hitam kelabu dengan semakin bertambah umurnya (Supriatna dan Wahyono, 2000). Lutung Jawa melakukan aktivitas bergerak menggunakan keempat tungkainya (*quadrupedal*) dan memiliki bentuk ibu jari yang besar dengan telapak tangan berupa segitiga dan datar untuk dapat bergerak dan berpindah di pepohonan (Sulistyadi, 2013). Ciri-ciri untuk membedakan lutung jantan dan betina adalah lutung jantan memiliki testis dan beberapa mengeluarkan suara berupa teriakan yang khas sebagai tanda, sedangkan lutung betina memiliki vulva dan vagina, memiliki puting susu, pada bagian panggul terdapat bidang putih kekuningan tidak beraturan, warna rambut yang pucat pada bagian pantat serta punggung yang lebih hitam dari punggung lutung jantan (Astriani, 2015).



Gambar 2.1 Lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*). *T. auratus auratus* dengan rambut merah (A) dan hitam (B) serta *T. auratus mauritus* berambut hitam (C) (Mushlih dkk., 2011).

2.3 Aktivitas Lutung Jawa

Lutung Jawa merupakan satwa diurnal, yaitu aktif pada pagi hingga sore hari. Aktivitas lutung Jawa meliputi istirahat, makan, aktivitas sosial dan bergerak dari satu dahan ke dahan yang lain. Menurut Jannah (2017), aktivitas lutung Jawa betina yang paling tinggi adalah istirahat, kemudian diikuti aktivitas makan, aktivitas sosial dan aktivitas bergerak. Istirahat adalah keadaan lutung Jawa tidak melakukan kegiatan, biasanya dalam posisi duduk, menelungkup dan terlentang. Aktivitas istirahat biasanya dilakukan untuk mencerna pakan yang telah dikonsumsi atau untuk menghemat energi karena peningkatan suhu lingkungan di siang hari. Lutung dikenal sebagai monyet pemakan daun (*Ebony leaf monkey*) dengan daun sebagai pakan utama dan buah atau biji-bijian sebagai pakan tambahan (Astriani, 2015). Aktivitas sosial lutung Jawa diantaranya bermain, *grooming*, bersuara dan

seksual (Jannah, 2017). Aktivitas *grooming* dibedakan menjadi *auto-grooming* atau merawat diri sendiri dan *allo-grooming* atau merawat diri bersama individu lain (Ramdani, 2017). Anak lutung (lutung dengan rambut kuning kemerahan di sebelah kiri) bersama lutung dewasa (lutung dengan rambut hitam) biasanya melakukan aktivitas istirahat dan *allo-grooming* bersama-sama (**Gambar 2.2**).



Gambar 2.2 Aktivitas lutung Jawa di dahan pohon (Rahmawati, 2017).

2.4 Sistem Kelompok pada Lutung Jawa

Lutung Jawa hidup berkelompok dengan satu jantan dewasa sebagai pemimpin atau *alpha male* (Hendratmoko, 2009). Ukuran kelompok biasanya dipengaruhi oleh ketersediaan sumber makanan, tingkat reproduksi, penggunaan energi dan keberadaan predator (Atmoko, 2011). Menurut Cannon dan Vos (2009), ukuran kelompok lutung Jawa biasanya sekitar 7 ekor dengan 1-2 jantan dan 5-6 betina, namun dapat berkembang menjadi 21 ekor dengan jumlah jantan tetap 1-2 ekor dalam 1 kelompok. Selain itu, menurut Astriani (2015) kelompok lutung Jawa terdiri dari 6-20 ekor dan menurut Supriatna dan Wahyono (2000) dalam satu kelompok lutung Jawa terdiri dari 6-23 ekor. Ukuran kelompok dapat

mempengaruhi perkembangan bayi dan tingkat reproduksi betina. Menurut Borries dkk. (2008) di dalam Atmoko (2011), pada jenis *Trachypithecus phayrie*, perkembangan bayi pada kelompok besar lebih lambat, waktu penyapihan lebih lama dan reproduksi betina lebih lambat.

Struktur kelompok lutung Jawa biasanya terdiri dari satu jantan dewasa sebagai pemimpin, beberapa betina dewasa yang aktif secara reproduksi dan beberapa anakan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Giovana (2015), kelompok lutung Jawa merupakan tipe *alpha-male group* yaitu dalam satu kelompok terdapat satu ekor lutung jantan dewasa yang aktif secara reproduksi dan bertindak sebagai pemimpin. Apabila dalam satu kelompok memiliki beberapa jantan dewasa yang aktif secara reproduksi, maka hanya satu jantan dewasa yang bertindak sebagai pemimpin.

2.5 Reproduksi Lutung Jawa Betina

Menurut Pekerti (2007) dalam Astriani (2015), lutung Jawa dibagi menjadi 3 kategori berdasarkan umurnya, yaitu anakan dengan umur 0-4 tahun, remaja dengan umur 4-8 tahun dan dewasa dengan umur 8-20 tahun. Menurut Astriani (2015), lutung Jawa remaja memiliki warna rambut menyerupai individu dewasa namun ciri seksual belum terlalu terlihat. Lutung Jawa dewasa memiliki perilaku dominan mengawasi, fisik yang sudah berkembang sempurna terutama kelamin dan umumnya memiliki ukuran tubuh paling besar dibandingkan lutung yang lebih muda. Jumlah betina dalam satu kelompok biasanya lebih dominan dibandingkan jumlah jantan (Giovana, 2015).

Menurut Cannon dan Vos (2009), lutung Jawa betina mulai berkembang biak pada umur 3-4 tahun dan hanya melahirkan satu anak pada satu kali masa kehamilan. Reproduksi dan kelahiran pada lutung Jawa dapat terjadi sepanjang tahun. Menurut Nugroho dan Sugiyarto (2015), seekor lutung betina dapat hamil 5-6 kali sepanjang hidupnya dengan masa kehamilan 6-7 bulan. Lutung Jawa dapat hidup sampai umur 20-25 tahun di habitatnya.

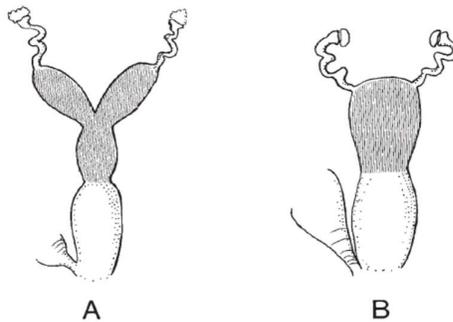
Lutung Jawa yang berada di JLC selalu dipasangkan antara jantan dan betina mulai dari saat mereka berada di kandang karantina, dilanjutkan ke kandang sosialisasi, hingga saat dilepas-liarkan. Hal ini dilakukan sebagai upaya pemasangan lutung jantan dengan betina untuk kedepannya dapat melakukan perkawinan dan membentuk kelompok baru. Ramdani (2017) menyebutkan interaksi lutung Jawa betina terhadap pasangannya ditunjukkan dengan perilaku berlari-larian di pohon, makan bersama, *allo-grooming* dan perilaku ingin dikawini dengan cara mendekatkan bokongnya ke wajah jantan untuk menarik jantan melakukan perkawinan. Perkawinan akan terjadi apabila lawan jenisnya tertarik untuk kawin terhadap lutung betina, meskipun jantan tidak selalu mengawini betina yang menunjukkan perilaku ingin dikawini (Bernstein (1968) dalam Jannah, 2017). Siklus reproduksi pada masing-masing spesies primata memiliki variasi pada panjang siklusnya. Panjang rata-rata siklus reproduksi primata yang tergolong dalam infraordo yang sama dengan lutung Jawa (Simiiformes atau Anthroipoidea) **(Tabel 2.1)**.

Tabel 2.1 Panjang siklus reproduksi pada beberapa spesies primata (Saltzman dkk., 2011; Shimizu, 2008; Maheswari, 2017).

Superfamili	Spesies	Panjang Siklus (hari)
Cercopithecoidea		
Cercopithecinae	<i>Macaca mulatta</i>	25,5 - 29,5
	<i>Macaca fascicularis</i>	28 – 32
	<i>Macaca fuscata</i>	26 – 31
	<i>Macaca arctoides</i>	29
	<i>Papio anubis</i>	33,2
	<i>Papio hamadryas</i>	30
	<i>Theropithecus gelada</i>	35,5
Colobidae	<i>Semnopithecus entellus</i>	26,8
Hominoidea		
	<i>Hylobates lar</i>	20,2
	<i>Hylobates moloch</i>	21-25
Ponginae	<i>Pongo pygmaeus</i>	29,6
Homininae	<i>Gorilla gorilla</i>	31,1
	<i>Pan paniscus</i>	42
	<i>Pan troglodytes</i>	37,3
	<i>Homo sapiens</i>	29,1

2.6 Organ Reproduksi Primata Betina

Secara umum, organ reproduksi primata betina terdiri dari organ reproduksi primer (ovarium), saluran reproduksi (oviduct, uterus, serviks dan vagina) dan organ reproduksi luar (vulva dan klitoris). Beberapa primata betina dari prosimian (subordo Strepsirrhini) dan monyet dunia baru (superfamili Ceboidea) memiliki struktur tulang pada bagian klitoris yang berukuran lebih kecil dibandingkan dengan tulang penis pada primata jantan. Primata betina memiliki vulva yang terdiri dari labia mayor dan labia minor. Klitoris biasanya berukuran kecil dan tersembunyi dibalik labia mayor. Labia mayor hanya ditemukan pada prosimian, keluarga Cebidae dan manusia, sedangkan pada lutung Jawa yang termasuk keluarga Cercopithecidae tidak memiliki labia mayor (Ankel-Simons, 2007).

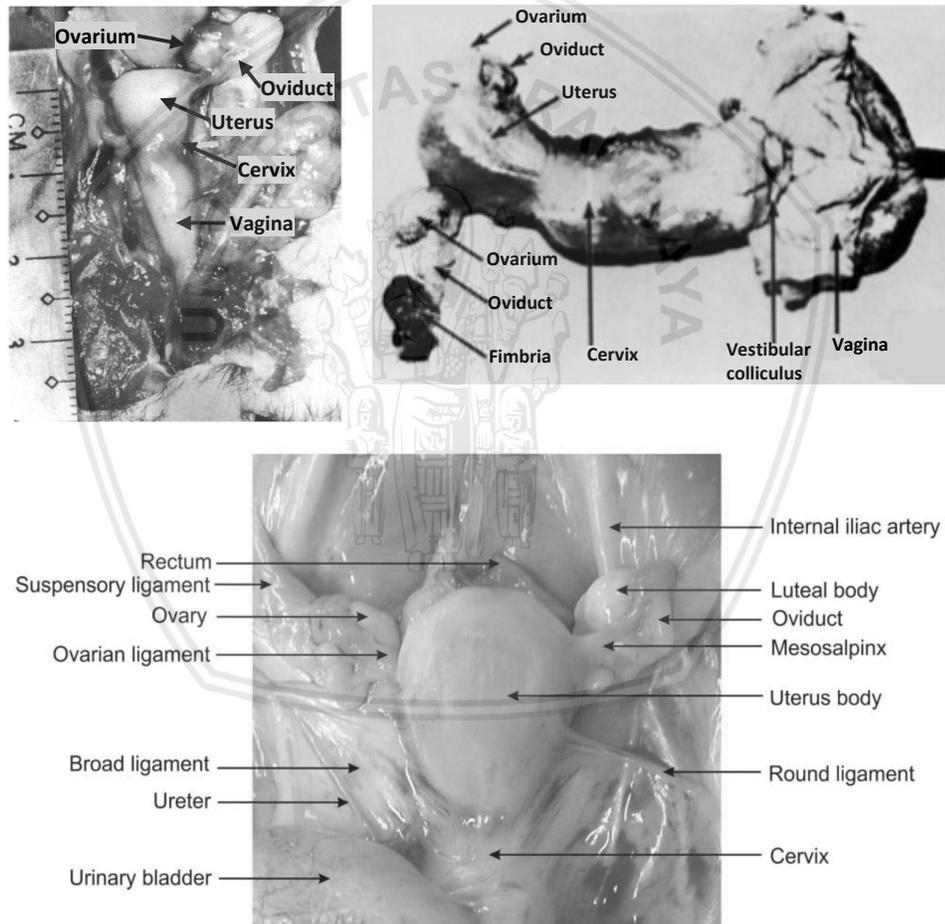


Gambar 2.3 Tipe uterus pada primata. (A) Uterus tipe bikornua pada primata prosimian dan (B) tipe simpleks pada primata anthropoidea (Ankel-Simons, 2007).

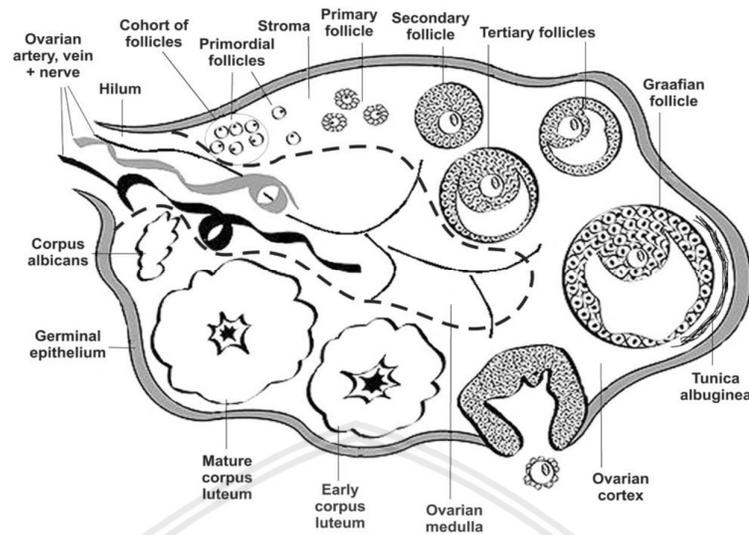
Bagian uterus berkembang dari sepasang *tubulus* atau *ductus*. *Ductus* berfusi pada bagian distal membentuk silindris yang besar sebagai badan uterus dan pemanjangan fusi ductus bervariasi pada tiap primata. Apabila perkembangan kedua ductus secara terpisah maka disebut sebagai “tanduk” atau *cornua* dan uterus yang memiliki dua *cornua* terpisah disebut uterus *bicornua*. Apabila kedua *ductus* tetap berfusi dan hanya membentuk satu badan uterus sederhana maka disebut uterus simpleks. Semua primata dari infraordo anthropoidea memiliki uterus jenis simpleks (Ankel-Simons, 2007). Van Esch dkk. (2008) menyatakan ovarium pada monyet Ekor Panjang (*Macaca fascicularis*) berjumlah sepasang dengan ukuran dan berat yang sama, yaitu berukuran 1,0 x 0,8 x 0,8 cm dan berat 0,21 gram.

Anatomi organ reproduksi betina pada beberapa primata seperti pada monyet Marmoset (*Callithrix jacchus*) dari famili Callitrichidae, terdiri dari vagina, uterus, ovarium dan panjang oviduct rata-rata 10,5 mm dengan ketebalan 1,5 mm (**Gambar 2.4A**) (Cui dan Matthews, 1994). Organ reproduksi betina dari monyet Ekor Buncis (*Macaca arctoides*) terdiri dari ovarium, oviduct, uterus, serviks, *vestibular colliculus* dan vagina (**Gambar 2.4B**) (Kanagawa dan Hafez, 1973).

Organ reproduksi betina pada monyet Ekor Panjang (*Macaca fascicularis*) betina secara anatomi topografi berada diantara kandung kemih dan rektum. Ovarium terletak di retroperitoneal dan diikat oleh kompleks ligamen pada dinding abdomen (ligamen suspensorius), sementara uterus diikat oleh ligamen besar dan ligamen utero-ovarium, serta oviduct diikat oleh *mesosalpinx* (**Gambar 2.4C**) (Buse dkk., 2008).



Gambar 2.4 Anatomi organ reproduksi betina pada beberapa primata. A. *Callithrix jacchus* (Cui dan Matthews, 1994); B. *Macaca arctoides* (Kanagawa dan Hafez, 1973); dan C. *Macaca fascicularis* (Buse dkk., 2008).



Gambar 2.5 Skema morfologi mikroskopi ovarium dan perkembangan folikel (Buse dkk., 2008)

Ovarium merupakan organ reproduksi yang berfungsi untuk menghasilkan gamet dan mengendalikan banyak aspek perkembangan dan fisiologi betina (Edson dkk., 2009). Ovarium dibagi menjadi 2 bagian, yaitu medula atau bagian pusat dan korteks perifer yang mengandung oosit. Bagian medula yang disebut hilum mengandung pembuluh darah dan saraf yang masuk ke ovarium. Bagian perifer korteks ditutupi oleh selapis epitelium peritoneal atau germinal epitelium dan tunika albugenia (**Gambar 2.5**) (Buse dkk., 2008). Ovarium sebagai kelenjar reproduksi memiliki fungsi untuk mensekresikan hormon dan faktor pertumbuhan yang diperlukan dalam proses reproduksi (**Tabel 2.2**).

2.7 Siklus Reproduksi

Siklus reproduksi betina dapat diamati melalui aktivitas ovarium, perkembangan pada dinding uterus dan mukosa vagina, warna kulit di sekitar alat kelamin serta perubahan perilaku seksual yang ditunjukkan oleh hewan. Siklus

reproduksi dapat dibagi menjadi 3 fase ditinjau dari aktivitas ovarium, diantaranya fase folikuler (preovulasi), ovulasi, dan luteal (postovulasi). Fase folikuler dicirikan dengan proses pematangan folikel (folikulogenesis), peningkatan sekresi hormon estrogen dan pada umumnya kadar hormon gonadotropin yang rendah dalam sirkulasi. Periode ovulasi dimulai dari timbulnya lonjakan sekresi hormon estrogen dan gonadotropin hingga terjadinya ovulasi. Fase luteal didominasi oleh pembentukan korpus luteum dari folikel yang mengalami ovulasi, luteal P4 (progesteron) dan estrogen yang mulai diproduksi oleh korpus luteum serta hormon gonadotropin yang rendah (Saltzman dkk., 2011).

Tabel 2.2 Produk sekresi dari ovarium dan fungsinya (Pineda dan Dooley, 2003).

Produk	Sel sekretori	Fungsi
Androgen	Sel teka	Berperan sebagai bahan sintesis estrogen dan progesteron. Berperan dalam kontrol umpan balik LH.
Estrogen (Estradiol-17 β)	Sel granulosa	Memelihara morfologi normal dan status fungsional organ reproduksi betina
Gonadokrinin (GnRH-like decapeptide)	Sel granulosa	Meregulasi jumlah reseptor LH pada sel teka
Inhibin	Sel granulosa	Berperan dalam regulasi folikulogenesis dengan mengontrol sekresi FSH
Insulin-like Growth Factor 1	Sel granulosa	Berperan dalam amplifikasi aktivitas gonadotropin steroigenik oleh sel granulosa dan sel teka
Oocyte Maturation Inhibitor (OMI)	Sel granulosa folikel primordial dan preantral	Menjaga tahapan pembelahan oosit berhenti pada meiosis I
Oxytocin	Sel granulosa dan luteal	Sebagai kontrol parakrin pada steroidogenesis
Relaxin	Sel granulosa	Peran dalam siklus reproduksi belum ditetapkan

2.7.1 Fase Folikuler

Folikulogenesis, ovulasi dan pembentukan korpus luteum pada primata terjadi secara spontan atau tidak distimulasi oleh perkawinan (Saltzman dkk., 2011). Folikulogenesis mencakup proses perkembangan dari folikel primordial hingga menjadi folikel de Graaf yang siap mengalami ovulasi. Tahapan-tahapan perkembangan folikel diantaranya sebagai berikut:

A. Folikel Primordial

Setiap folikel primordial mengandung oosit yang tertahan pada pembelahan meiosis I. Folikel ini tetap berada di tahap primordial hingga hewan mengalami pubertas dan selanjutnya mengalami transisi menjadi folikel primer (Noakes dkk., 2019). Karakteristik dari folikel primordial adalah oosit yang dikelilingi oleh sel epitel granulosa pipih selapis (Buse dkk., 2008).

B. Folikel Primer

Folikel primer merupakan tahap awal perkembangan folikel, ditandai dengan oosit yang mulai dikelilingi oleh selapis sel epitel granulosa kuboid (Buse dkk., 2008). Oosit akan mengalami pertambahan ukuran dan mulai membentuk lapisan pelindung glikoprotein yang disebut zona pelusida (Noakes dkk., 2019).

C. Folikel Sekunder (Folikel Antral Muda)

Folikel pada tahap ini ditandai dengan oosit yang dikelilingi oleh beberapa lapisan sel granulosa dan mulai terbentuk lapisan sel teka interna yang terovaskularisasi. Folikel sekunder mulai membentuk antrum yang berisikan cairan folikel (Noakes dkk., 2019). Sel teka interna berasal dari sel matriks dan dipisahkan dari sel granulosa oleh membran basal. Reseptor progesteron diekspresikan oleh

hampir semua sel granulosa dan sel teka, sementara reseptor estrogen diekspresikan oleh beberapa sel granulosa dan meningkat secara perlahan sejalan dengan bertambahnya ukuran folikel. Reseptor androgen tidak diekspresikan pada folikel ini (Buse dkk., 2008).

D. Folikel Tersier (Folikel Antral)

Folikel tersier tampak memiliki antrum yang sudah membesar dan dilapisi sel granulosa. Antrum berisi cairan folikel yang sebagian besar disintesis oleh sel-sel granulosa dan komposisinya dimodifikasi selama pematangan folikel di bawah pengaruh hormon dan banyak faktor. Pertumbuhan folikel ditandai dengan proliferasi sel granulosa, ekspansi rongga antral dan perluasan ruang interseluler dari sel granulosa. Teka interna dan eksterna sudah terbentuk optimal. Reseptor progesteron diekspresikan oleh 50% sel granulosa dan bertahan selama fase luteal dan akan diekspresikan oleh sel teka interna dan eksterna dengan jumlah yang relatif tinggi. Ekspresi reseptor estrogen meningkat pada folikel tersier oleh hampir 100% sel granulosa (Buse dkk., 2008).

E. Folikel de Graaf (Folikel Dominan)

Folikel-folikel tersier mengalami proses seleksi yang akan menghasilkan satu folikel dominan (folikel yang akan berovulasi) sementara folikel lainnya akan mengalami atresia. Folikel dominan membentuk *cumulus oophorus* yang merupakan lapisan sel granulosa dan mengelilingi oosit. *Cumulus oophorus* akan menjadi *corona radiata* yang bertahan pada ovum setelah ovulasi (Buse dkk., 2008).

2.7.2 Periode Ovulasi

Ovulasi menandakan berakhirnya fase folikuler dan dimulainya fase luteal yang berkorelasi dengan gejala estrus. Proses ovulasi dimulai dengan peningkatan progresif estradiol di dalam sirkulasi yang akan menginduksi lonjakan LH. Meiosis pada oosit berlanjut hingga tahap metafase II di bawah pengaruh LH (Norman dan Henry, 2015). Prostaglandin lokal (PGF-2 α) akan menginduksi pembentukan enzim proteolisis (kolagenase) oleh sel teka. Kolagenase akan mencerna kolagen intraseluler yang akan menyebabkan rusaknya dinding folikel pada saat ovulasi (Norris dan Lopez, 2011).

2.7.3 Fase Luteal

Sel granulosa pada folikel yang sudah pecah mengalami proses diferensiasi menjadi sel lutein dan membentuk korpus luteum di bawah pengaruh LH. Pembentukan korpus luteum diawali dengan invasi pembuluh darah ke dalam lapisan granulosa dan diikuti dengan angiogenesis. Korpus luteum mulai mensekresikan progesteron dalam jumlah besar dan estrogen dalam jumlah sedikit (Norris dan Lopez, 2011). Keberadaan korpus luteum akan dipertahankan apabila terjadi kebuntingan. Apabila tidak terjadi kebuntingan, endometrium akan mensekresikan PGF-2 α menuju ovarium untuk meregresi korpus luteum. Regresi korpus luteum atau luteolisis melibatkan runtuhnya sel lutein, iskemia dan kematian sel progresif yang menyebabkan penurunan sekresi progesteron. Penurunan kadar progesteron akan memberikan umpan balik positif ke hipotalamus untuk menghasilkan GnRH dan menstimulasi sekresi gonadotropin (Johnson, 2013).

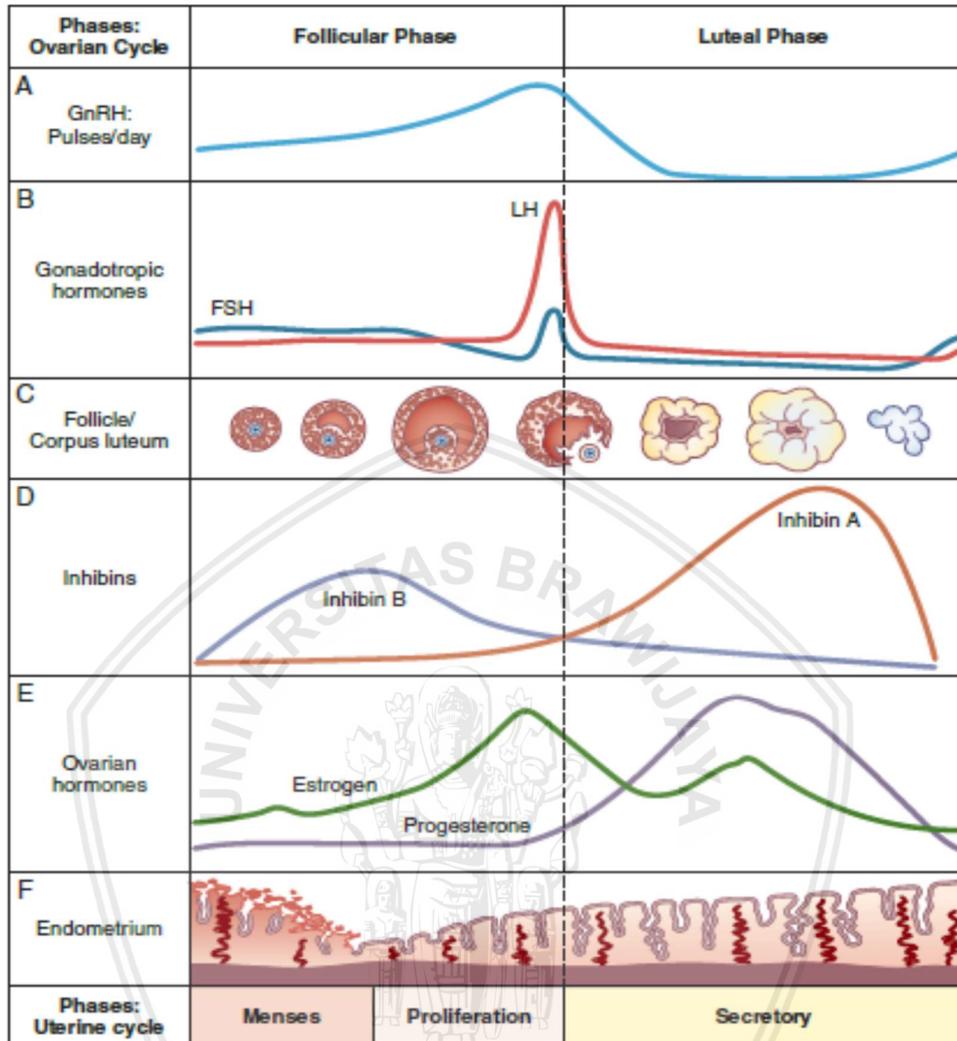
2.8 Regulasi Hormon dalam Siklus Reproduksi

Hipotalamus bertanggung jawab untuk mengontrol pelepasan hormon gonadotropin (FSH dan LH) dari hipofisis anterior. *Gonadotropin-releasing hormone* (GnRH) disekresikan oleh neuron hipotalamus dan dibawa dari median eminensia hipotalamus melalui sistem portal hipotalamus-hipofisis. Stimulasi oleh GnRH pada sel gonadotrop di hipofisa anterior menginduksi sekresi hormon gonadotropin (FSH dan LH) yang akan disirkulasikan menuju ovarium (Noakes dkk., 2019). Hormon gonadotropin pada fase folikuler akan berikatan pada reseptor pada sel teka dan sel granulosa, sedangkan saat fase luteal FSH dan LH akan berikatan dengan reseptor pada sel lutein untuk dapat mensintesis hormon estrogen (E_1 dan E_2). Estrogen terbentuk dari biosintesis kolesterol menjadi androgen di dalam sel teka yang melibatkan enzim steroidogenik dan protein lainnya yang distimulasi oleh LH (Plant dan Zeleznik, 2015). Androgen kemudian berdifusi menuju sel granulosa dan mengalami proses aromatisasi menjadi estrogen dengan bantuan enzim aromatase yang distimulasi oleh FSH. Sebagian kecil estrogen terakumulasi di dalam antrum, sedangkan sebagian besar akan berdifusi ke dalam kapiler pada lapisan sel teka untuk disirkulasi secara sistemik (Astuti, 2018).

Siklus reproduksi diawali oleh fase folikuler. Sekresi FSH dan LH oleh hipofisa anterior akan memicu proses steroidogenesis pada folikel sehingga pada fase ini digambarkan dengan peningkatan hormon estrogen secara bertahap. Produksi estrogen pada awal hingga pertengahan fase folikuler memberikan umpan balik negatif terhadap hipotalamus yang akan berakibat pada penurunan sekresi FSH dan LH hingga pada ambang basal (Astuti, 2018). Penurunan kadar FSH

diikuti proses seleksi folikel dominan yaitu folikel antral yang telah mengalami peningkatan jumlah reseptor LH pada sel granulosanya akan bertahan sementara folikel antral lain yang masih bergantung pada FSH akan mengalami atresia (Noakes dkk., 2019). Konsentrasi estrogen meningkat seiring dengan pertumbuhan dan pematangan folikel dominan. Ketika estrogen yang disekresikan mencapai batas optimal, maka estrogen akan memberikan umpan balik positif terhadap GnRH untuk menstimulasi lonjakan LH. Lonjakan LH (biasanya diikuti dengan lonjakan FSH) terjadi pada akhir fase folikuler dan akan menginduksi terjadinya ovulasi dan diferensiasi sel granulosa dan sel teka folikel menjadi korpus luteum (Norman dan Henry, 2015).

Steroid utama yang diproduksi oleh sel lutein dari korpus luteum adalah progesteron dan estrogen. Steroidogenesis di dalam korpus luteum tergantung pada stimulasi biosintesis kolesterol menjadi progesteron oleh LH. Progesteron (P_4) dan estradiol (E_2) dalam sirkulasi berperan dalam stimulasi aktivitas endometrium dan mempertahankan vaskularisasi di uterus. Progesteron akan mengirimkan umpan balik negatif terhadap hipotalamus dan hipofisa anterior untuk menurunkan sekresi FSH, di samping sekresi LH terus berlanjut. Penurunan sekresi FSH ditujukan untuk menghentikan perkembangan folikel mencegah ovulasi selama korpus luteum belum diregresi oleh $PGF-2\alpha$. Pada akhir fase luteal, regresi korpus luteum berakibat pada penurunan kadar progesteron dan estrogen di dalam darah, sehingga akan menimbulkan umpan balik positif terhadap hipotalamus dan hipofisa anterior untuk mensekresikan GnRH dan hormon gonadotropin untuk memulai kembali fase folikuler yang baru (Norman dan Henry, 2015).



Gambar 2.6 Grafik hormonal serta perubahan pada folikel dan uterus pada siklus reproduksi wanita (Norman dan Henry, 2015).

Fluktuasi tiap hormon memiliki karakteristik tersendiri pada tiap fase dalam siklus reproduksi. Fase folikuler diawali dengan kadar hormon gonadotropin dan steroid pada level basal. Peningkatan sekresi hormon diawali oleh FSH yang menstimulasi peningkatan estrogen dan diikuti LH yang hanya mengalami sedikit peningkatan pada paruh awal fase folikuler. Pada paruh kedua, FSH mengalami penurunan sedangkan LH mengalami kenaikan dan kadar estrogen meningkat tajam

secara bersamaan. Periode ovulasi ditandai dengan lonjakan tajam pada konsentrasi hormon gonadotropin (terutama pada LH) yang akan menginduksi terjadinya ovulasi dan diakhiri dengan penurunan konsentrasi estrogen diikuti penurunan hormon gonadotropin. Fase luteal mencerminkan aktivitas korpus luteum yang ditandai dengan peningkatan secara bertahap pada hormon steroid yaitu estrogen dan progesteron pada pertengahan fase (**Gambar 2.6**) (Zelesnik dan Plant, 2015).

2.9 *Luteinizing Hormone* (LH)

Luteinizing hormone merupakan hormon glikoprotein yang dihasilkan oleh hipofisa anterior di bawah pengaruh GnRH. Menurut Astuti (2015), sekresi FSH dan LH terjadi secara bergantian sesuai dengan proporsi masing-masing fase dalam siklus reproduksi. Terdapat 3 macam sekresi hormon gonadotropin, yaitu level basal, pulsus dan lonjakan. Level basal menunjukkan kadar hormon dalam darah relatif rendah. Konsentrasi basal LH bersama dengan FSH menginduksi sekresi estrogen dari folikel de Graaf (Ismudiono dkk., 2010). Pulsus menunjukkan adanya peningkatan kadar hormon dalam rentang waktu yang pendek (kurang dari 1 jam), sedangkan lonjakan menunjukkan peningkatan kadar hormon yang signifikan jika dibandingkan dengan level basal dengan periode waktu lebih dari 1 jam (Astuti, 2015).

Hormon ini melakukan regulasi fungsi sel melalui engkatan pada reseptor spesifik yang berada di membran sel yang kemudian mengontrol aktivitas enzim *adenylate cyclase* yang bertanggung jawab terhadap katalisasi konversi ATP (*Adenosine Triphosphat*) menjadi cAMP (*cyclic Adenosine Monophosphat*) dan

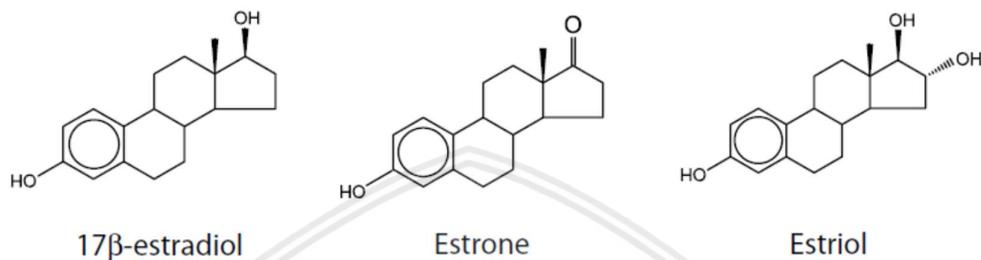
pyrophosphat. *Luteinizing hormone* pada betina berfungsi dalam induksi ovulasi, luteinisasi atau pembentukan korpus luteum dan menstimulasi sintesis hormon steroid (steroidogenesis) oleh sel teka folikel dan sel lutein, sedangkan pada jantan berperan dalam sintesis testosteron oleh sel Leydig (Marks dkk., 2000).

Menurut Ascoli dkk. (1975), sebagian besar LH diekskresikan pada urin baik dalam bentuk aktif secara biologis maupun berbentuk fraksi hormon yang relatif berbeda dengan LH. Terbentuknya fraksi LH kemungkinan disebabkan oleh proses degradasi yang tidak ekstensif selama ekskresi. Mekanisme utama dalam ekskresi LH dari sirkulasi darah adalah melalui filtrasi ginjal. Sebagian kecil LH yang tidak diekskresikan tertahan di korteks ginjal dan hepatosit, tempat hormon terdegradasi dan diekskresikan pada feses melalui usus (Ascoli dkk., 1975).

2.10 Estrogen

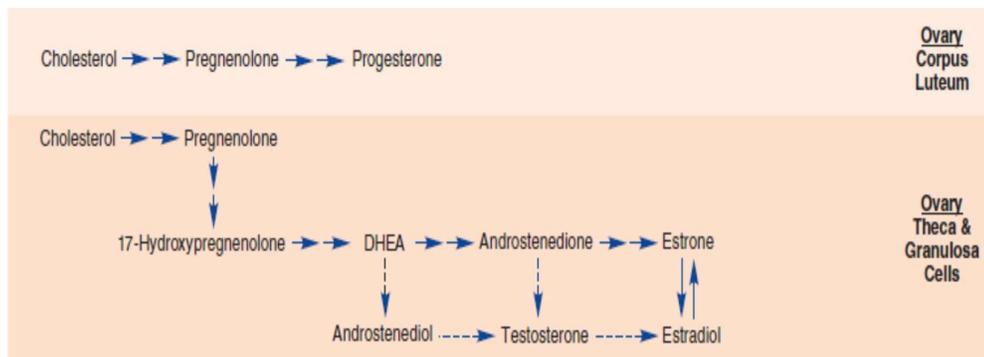
Estrogen merupakan hormon steroid yang terdiri dari 18 atom karbon dan sebuah cincin fenolat A, cincin aromatik dengan sebuah gugus hidroksil pada karbon 3 (Marks dkk., 2000). Gugus fenolat A yang dimiliki oleh estrogen merupakan bagian yang akan berikatan dengan reseptornya (Duax dkk., 1985). Estrogen diproduksi oleh sel endokrin pada ovarium, kelenjar adrenal dan plasenta (Astuti, 2018). Estrogen memiliki 3 bentuk utama yaitu estron (E_1), estradiol (E_2) dan estriol (E_3) (**Gambar 2.7**) yang berfungsi dalam perkembangan dan pemeliharaan organ reproduksi, kelenjar susu, kulit dan otak serta perkembangan ciri kelamin sekunder pada betina (Cha dkk., 2010). Estrogen berperan pada sistem saraf pusat dalam menginduksi tingkah laku birahi pada betina, meskipun untuk itu diperlukan sedikit konsentrasi progesteron dengan estrogen pada beberapa spesies

hewan seperti domba dan sapi untuk menginduksi birahi. Estrogen memiliki fungsi terhadap uterus untuk meningkatkan massa endometrium dan myometrium dalam bentuk hiperplasia dan hipertrofia (Ismudiono dkk., 2010).



Gambar 2.7 Struktur kimia estrogen (Plant dan Zeleznik, 2015).

Estrogen terutama disintesis sebagai estradiol-17β pada spesies mamalia, dan diproduksi ketika FSH merangsang produksi enzim dalam sel granulosa yang disebut P450 aromatase, yang menyebabkan konversi androgen (DHEA, androstenedion, androstenediol, testosteron) menjadi bentuk estradiol (**Gambar 2.8**) (Chedrese, 2009). Hormon steroid seperti estrogen dimetabolisme oleh sel hati yang memiliki enzim yang mampu mengubah steroid spesifik dan menjadikannya tidak aktif secara biologis dan bersifat hidrofilik. Metabolisme steroid biasanya melibatkan reduksi rantai samping atau menggabungkan dengan molekul lain (konjugasi) seperti glukoronida dan sulfat. Metabolit estrogen yang sudah terkonjugasi menjadi hidrofilik dan tidak efektif dalam mengikat protein serum atau memasuki sel dan mengikat reseptor. Metabolit estrogen difiltrasi dari darah oleh ginjal dan diekskresikan bersama urin. Selain itu, metabolit estrogen dari sel hati ditambahkan ke empedu, dan diekskresikan melalui rute usus (Norris, 2007).



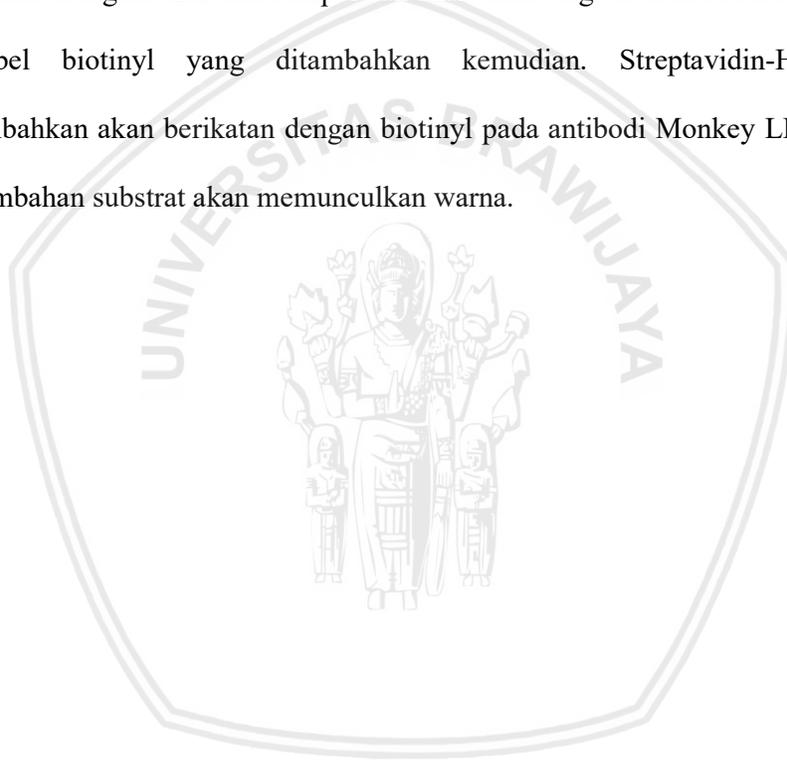
Gambar 2.8 Biosintesis progesteron dan estrogen (E_1 dan E_2) (Norman dan Henry, 2015)

2.11 Uji ELISA terhadap Kadar Estrogen dan LH

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) adalah teknik peujian berbasis plat yang dirancang untuk mendeteksi dan mengukur peptida, protein, antibodi dan hormon. Prinsip kerja ELISA yaitu antigen harus diimobilisasi pada permukaan padat dan kemudian dikomplekskan dengan antibodi berlabel enzim. Deteksi dilakukan dengan menilai aktivitas enzim terkonjugasi melalui inkubasi dengan substrat untuk menghasilkan produk yang terukur. Elemen paling penting dari strategi deteksi adalah interaksi antibodi-antigen yang sangat spesifik (Crowther, 2009).

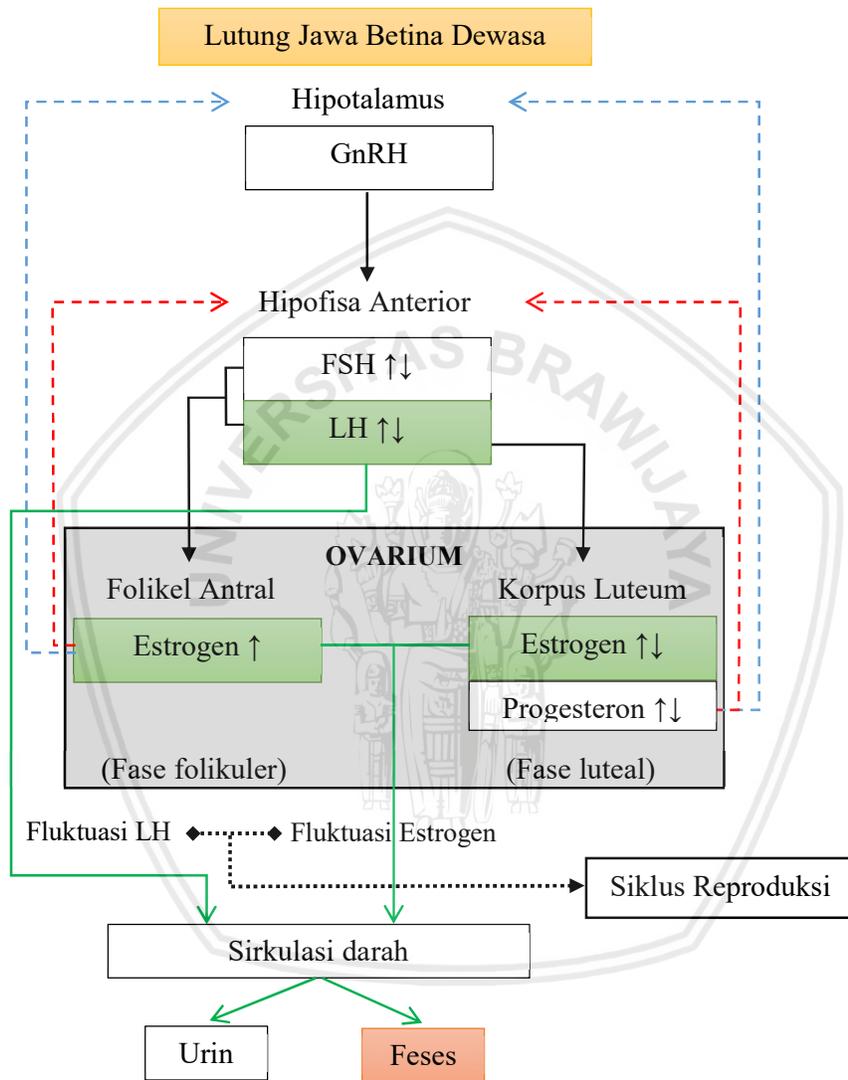
Pengukuran kadar hormon estrogen dan LH dapat menggunakan *indirect sandwich* ELISA kit dengan keuntungan berupa spesifitas yang tinggi terhadap antigen atau zat analit dan sesuai untuk sampel yang kompleks. Antibodi monoklonal yang digunakan pada *sandwich* ELISA merupakan antibodi yang bersifat monospesifik sehingga memiliki afinitas tunggal untuk epitop yang ditentukan (Crowther, 2009). Monkey Estrogen ELISA kit yang digunakan untuk uji kadar estrogen lutung Jawa sudah terlapisi oleh antibodi monoklonal estradiol

(E₂). Antibodi monoklonal estradiol akan menangkap estradiol dari sampel lutung Jawa pada plat. Antibodi anti-Monkey estradiol berlabel biotin akan berikatan dengan estradiol. Streptavidin-HRP yang ditambahkan akan berikatan dengan biotin pada antibodi anti-Monkey estradiol dan pada penambahan substrat akan menimbulkan warna pada sumuran uji yang akan diukur menggunakan ELISA *reader*. Begitu pula pada Monkey LH ELISA kit, antibodi Monkey LH melapisi plat akan mengikat LH dari sampel dan akan diikat lagi oleh antibodi Monkey LH berlabel biotinyl yang ditambahkan kemudian. Streptavidin-HRP yang ditambahkan akan berikatan dengan biotinyl pada antibodi Monkey LH dan pada penambahan substrat akan memunculkan warna.



BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan:

- : Variabel bebas
- : Variabel terikat
- : Sampel yang digunakan
- : Menstimulasi sintesis
- \rightarrow : Umpan balik positif
- \rightarrow : Umpan balik negatif
- \rightarrow : Menggambarkan
- \rightarrow : Jalur ekskresi

Lutung Jawa yang telah mengalami dewasa kelamin, siklus reproduksinya mulai berlanjut ke tahap pematangan folikel primordial hingga menjadi folikel antral (de Graaf). Hipotalamus mensekresi GnRH secara pulsatil menuju pembuluh darah portal hipotalamik-hipofisial untuk dapat disirkulasikan menuju hipofisa anterior. Hormon GnRH akan berikatan dengan sel gonadotrop pada hipofisa anterior dan menstimulasi sintesis FSH dan LH. Sekresi FSH dan LH kemudian dialirkan ke dalam sistem sirkulasi darah menuju ke ovarium untuk berikatan dengan reseptor masing-masing pada sel teka (LH) dan sel granulosa (FSH) untuk menstimulasi sintesis estrogen. Fungsi lain dari FSH dan LH selain untuk menstimulasi sintesis estrogen, juga untuk mengontrol pematangan folikel ke tahap preovulasi dan menyebabkan pembesaran ruang antrum, peningkatan sekresi cairan folikuler ke antrum, ekspresi reseptor LH oleh sel granulosa dan peningkatan sekresi estrogen oleh folikel. Sel teka dan sel granulosa mensekresi estrogen dalam jumlah yang cukup pada fase folikuler awal. Estrogen yang dihasilkan oleh folikel kemudian menuju ke sirkulasi untuk diedarkan ke seluruh tubuh dan akan berikatan dengan reseptor estrogen yang terdapat pada beberapa organ seperti kelenjar susu, saluran reproduksi, jaringan adiposa dan tulang, untuk memberikan efek biologis.

Kadar estrogen yang cukup stabil dalam periode yang lama di dalam sirkulasi menimbulkan umpan balik (*feedback*) negatif terhadap hipotalamus untuk menurunkan sekresi GnRH. Sekresi GnRH yang menurun menyebabkan penurunan produksi FSH pada pertengahan siklus. Kadar FSH yang menurun menyebabkan atresia pada beberapa folikel antral dalam proses seleksi folikel dominan di ovarium. Folikel antral yang bertahan memiliki reseptor LH yang lebih banyak,

baik pada sel teka maupun pada sel granulosa sehingga akan menjadi folikel dominan (de Graaf). Seiring pertumbuhan folikel dominan yang semakin besar, produksi estrogen semakin meningkat dan konsentrasi estrogen di dalam sirkulasi semakin tinggi. Tingginya konsentrasi estrogen menimbulkan umpan balik positif terhadap hipotalamus untuk meningkatkan frekuensi sekresi GnRH yang menyebabkan lonjakan produksi gonadotropin, terutama LH. Lonjakan LH menstimulasi proses ovulasi pada folikel dominan dan akibat dari proses ovulasi terjadi penurunan sekresi estrogen akibat pecahnya folikel de Graaf.

Sel teka dan sel granulosa pada folikel yang telah mengalami ovulasi memasuki proses luteinisasi dan membentuk corpus luteum di bawah pengaruh LH. Korpus luteum akan memproduksi hormon estrogen dan progesteron selama fase luteal di bawah pengaruh LH. Tingginya kadar progesteron selama fase luteal menimbulkan umpan balik negatif terhadap hipofisa anterior untuk menurunkan sekresi FSH sehingga perkembangan folikel tidak berlangsung selama fase luteal. Korpus luteum akan bertahan selama beberapa hari dan apabila tidak terjadi fertilisasi selama periode tersebut, maka korpus luteum akan diregresi oleh PGF-2 α yang dihasilkan oleh endometrium. Regresi korpus luteum diikuti oleh penurunan kadar hormon progesteron di dalam sirkulasi darah dan akan menimbulkan umpan balik positif terhadap hipofisa anterior untuk mensekresikan FSH untuk memulai proses folikulogenesis yang baru.

Fluktuasi sekresi hormon GnRH, FSH, LH, estrogen dan progesteron menuju sel target melalui sistem sirkulasi menggambarkan situasi hormonal pada tiap-tiap fase dalam siklus reproduksi. Fase folikuler berlangsung rata-rata selama

15 hari namun bisa bervariasi pada tiap individu. Awal fase folikuler ditandai dengan konsentrasi hormon gonadotropin yang paling rendah di dalam sirkulasi. Peningkatan konsentrasi FSH mulai terjadi pada pertengahan awal fase folikuler dan diikuti sedikit peningkatan LH. Konsentrasi estrogen meningkat secara bertahap yang distimulasi oleh FSH. Periode ovulasi berlangsung sekitar 1-3 hari dan ditandai dengan adanya lonjakan LH. Fase luteal rata-rata berlangsung selama 14 hari dan ditandai dengan penurunan konsentrasi LH dan estrogen di awal fase, peningkatan bertahap estrogen selama pertengahan fase dan kemudian turun kembali pada akhir fase.

Hormon-hormon yang dihasilkan oleh sistem endokrin reproduksi betina akan memasuki sistem sirkulasi untuk dapat menuju ke organ target. Hormon steroid (estrogen dan progesteron) bersifat hidrofobik, sehingga untuk melalui proses ekskresinya, hormon ini harus dimetabolisme atau dikonjugasi dengan senyawa polar lainnya seperti glukosa dan sulfat. Proses ini biasanya terjadi di sel hepar. Beberapa steroid yang sudah terkonjugasi akan ditambahkan ke empedu dan diekskresikan melalui usus bersama dengan feses, sedangkan yang lainnya akan menuju ke ginjal untuk diekskresikan bersama urin. Hormon glikoprotein seperti LH dan FSH akan diekskresikan terutama melalui urin, baik yang masih dalam bentuk aktif maupun yang sudah terdegradasi. Selain itu, sebagian kecil LH dan FSH yang terdegradasi di hepar akan ditambahkan ke empedu untuk diekskresikan melalui usus bersama dengan feses. Hormon yang terdapat pada ekskreta (urin maupun feses) merupakan hasil sekresi dan metabolisme hormon yang berlangsung

dalam tubuh hewan tersebut dalam 1 hari, sehingga dapat digunakan sebagai indikator yang menggambarkan siklus reproduksi hewan tersebut.

3.2 Hipotesis Penelitian

Fluktuasi hormon estrogen dan LH yang dideteksi pada sampel feses akan menggambarkan pola hormonal siklus reproduksi lutung Jawa betina dan dapat digunakan sebagai acuan untuk menentukan panjang siklus reproduksi pada lutung Jawa betina.



BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli 2018 sampai dengan Maret 2019. Tempat penelitian yang digunakan adalah Javan Langur Center (JLC) untuk pengambilan feses, Laboratorium Fisiologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya untuk melakukan ekstraksi feses dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk uji ELISA.

4.2 Sampel Penelitian

Hewan penelitian yang digunakan adalah lutung Jawa betina di Javan Langur Center yang merupakan tempat rehabilitasi lutung yang diperoleh dari hasil sitaan BKSDA maupun dari pusat rehabilitasi primata Aspinnall Foundation Bandung. Lutung Jawa yang digunakan dalam penelitian ini adalah lutung Jawa betina umur remaja yang sudah mengalami dewasa kelamin dengan umur yang berkisar antara 4-8 tahun (**Tabel 4.1**). Sampel menggunakan feses dari masing-masing lutung Jawa yang diambil setiap hari pada pukul 07.00 WIB selama 40 hari.

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

No.	Nama	Jenis Kelamin	Umur	Kandang
1	Ifa	Betina	4 tahun	Karantina
2	Asti	Betina	7 tahun	Karantina

4.3 Rancangan Penelitian

Penelitian siklus reproduksi lutung Jawa betina yang berlangsung dalam 40 hari meliputi fase folikuler, periode ovulasi dan fase luteal menggunakan kadar estrogen dan *luteinizing hormone* (LH) pada dua ekor lutung Jawa betina.

4.4 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Pengambilan sampel feses lutung Jawa.
2. Feses yang diambil disimpan dalam plastik *ziplock* dan dimasukkan ke dalam *freezer*.
3. Ekstraksi feses menggunakan pelarut PBS (*phosphat buffer saline*) dengan perbandingan 1:9 (1 gram feses basah dilarutkan dalam 9 mL PBS) dan disentrifus selama 20 menit dengan kecepatan 2500 rpm.
4. Cairan supernatan hasil sentrifus dimasukkan ke dalam *microtube* dan disimpan dalam *freezer*.
5. Pengukuran kadar hormon estrogen dan LH dengan ELISA.
6. Analisa data secara deskriptif.

4.5 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Variabel bebas : Lutung Jawa betina dewasa
- Variabel terikat : Kadar estrogen dan kadar LH
- Variabel kontrol : pakan, aktivitas kandang, dewasa kelamin dan lingkungan

4.6 Alat dan Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah feses lutung Jawa di Javan Langur Center, PBS, *deionized water*, kit Monkey Estrogen ELISA yang terdiri dari *microplates* 96 sumuran yang sudah dilapisi dengan antibodi estradiol/E₂ (monoklonal), larutan standard 1 ampul (0,5 mL), larutan substrat A 1 vial (6 mL), larutan substrat B 1 vial (6 mL), streptavidin-HRP 1 ampul (6 mL), larutan stop 1 vial (6 mL), larutan pencuci dengan konsentrasi 30 kali, 1 vial (20 mL), kit Monkey LH ELISA yang terdiri dari *microplates* 96 sumuran yang sudah dilapisi dengan antibodi monkey LH, larutan standard 1 ampul (0,5 mL), larutan substrat A 1 vial (6 mL), larutan substrat B 1 vial (6 mL), streptavidin-HRP 1 ampul (6 mL), larutan stop 1 vial (6 mL), dan larutan pencuci dengan konsentrasi 30 kali, 1 vial (20 mL).

Alat yang digunakan untuk pengambilan feses lutung Jawa adalah glove, plastik *ziplock* dan *icebox*; alat untuk ekstraksi feses adalah gelas beker, *microtube*, spatula, tabung reaksi, rak tabung reaksi, sentrifus, *micropipet* dan *freezer*; alat yang digunakan untuk uji ELISA adalah ELISA kit, *microtube*, kertas tisu, pipet *multichannel*, erlenmeyer, cawan petri, *shacker mixer*, inkubator dan ELISA *plate reader*.

4.7 Mekanisme Penelitian

4.7.1 Pengambilan Feses

Pengambilan feses dilakukan di pagi hari pukul 07.00 WIB sebelum pemberian pakan pada lutung Jawa. Feses yang diambil adalah feses segar dengan konsistensi lunak dan warna coklat kehijauan yang cerah. Feses yang sudah lama

dicirikan memiliki konsistensi yang sudah mengeras dan berwarna hitam. Feses disimpan dalam plastik *ziplock* yang telah diberi identitas lutung dan tanggal pengambilan yang kemudian disimpan dalam *freezer*. Pengambilan feses dilakukan selama 40 hari dengan pertimbangan panjang siklus reproduksi yaitu 24-35 hari pada primata keluarga Cercopithecidae. Pada hari ke-38 terdapat kegiatan pemeriksaan umum pada lutung Jawa dan dilakukan pengambilan ulas vagina pada lutung Jawa betina untuk mengetahui aktivitas reproduksi melalui jaringan epitel vagina dan didapatkan hasil yang menunjukkan semua lutung Jawa betina yang diperiksa dalam fase estrus. Pengambilan feses dilanjutkan sampai 5 hari setelah dilakukan pengambilan ulas vagina.

4.7.2 Ekstraksi Feses

Ekstraksi feses dilakukan sesuai dengan panduan yang tertera pada kit ELISA yaitu menggunakan pelarut PBS dengan perbandingan 1:9 (1 gram feses beku yang sudah di *thawing* dilarutkan dalam 9 mL PBS). Larutan feses yang sudah tercampur kemudian disentrifus pada kecepatan 2500 rpm selama 20 menit. Cairan supernatan yang terbentuk diambil menggunakan mikropipet dan ditempatkan pada *microtube* yang telah diberi label identitas lutung Jawa dan tanggal pengambilan sampel. Ekstrak feses disimpan dalam *freezer* suhu -20°C hingga siap dilakukan uji ELISA.

4.7.3 Perhitungan Kadar Estrogen

Perhitungan kadar estrogen pada lutung Jawa menggunakan Monkey Estrogen ELISA Kit dengan katalog No. E0089Mk. 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 μL larutan standard ke masing-masing sumuran standard sesuai kode; selanjutnya ditambahkan 40 μL sampel ke sumuran sampel sesuai kode lalu ditambahkan 10 μL antibodi anti-E₂ ke sumuran sampel; selanjutnya ditambahkan 50 μL 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°C; tahap selanjutnya yaitu penyegel dilepas dan *plate* dicuci menggunakan larutan pencuci sebanyak 5 kali dengan cara merendam sumuran paling tidak dalam 0,35 μL larutan pencuci selama 30 detik – 1 menit setiap kali pencucian; selanjutnya *plate* dikeringkan menggunakan tisu atau material penyerap; selanjutnya ditambahkan 50 μL larutan substrat A pada setiap sumuran; kemudian ditambahkan 50 μL 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 μL larutan stop pada setiap sumuran untuk menghentikan reaksi enzimatik kemudian baca hasilnya menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang 450 nm dalam 30 menit setelah penambahan larutan stop.

4.7.4 Perhitungan Kadar LH

Perhitungan kadar LH pada lutung Jawa menggunakan *Monkey Luteinizing Hormone* ELISA dengan katalog No E0052MK. Prosedur kerja asai hormon dilakukan dengan tata cara sebagai berikut: sumuran *microplate* ditandai dengan memberikan kode sesuai yang dikehendaki pada tiap sumuran; selanjutnya ditambahkan 50 μL larutan standard ke masing-masing sumuran standard sesuai

kode; selanjutnya ditambahkan 40 μL sampel ke sumuran sampel sesuai kode lalu ditambahkan 10 μL antibodi anti-LH ke sumuran sampel; selanjutnya ditambahkan 50 μL 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°C; tahap selanjutnya yaitu penyegel dilepas dan *plate* dicuci menggunakan larutan pencuci sebanyak 5 kali dengan cara merendam sumuran paling tidak dalam 0,35 μL larutan pencuci selama 30 detik – 1 menit setiap kali pencucian; selanjutnya *plate* dikeringkan menggunakan tisu atau material penyerap; selanjutnya ditambahkan 50 μL larutan substrat A pada setiap sumuran; kemudian ditambahkan 50 μL 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 μL larutan stop pada setiap sumuran untuk menghentikan reaksi enzimatik kemudian baca hasilnya menggunakan ELISA *plate reader* pada panjang gelombang 450 nm dalam 10 menit setelah penambahan larutan stop.

4.7.5 Analisa Data

Data hasil pengukuran kadar estrogen dan LH dalam bentuk nilai kuantitatif dianalisa secara deskriptif. Data disajikan dalam bentuk nilai absorbansi, konsentrasi dan grafik hormonal.

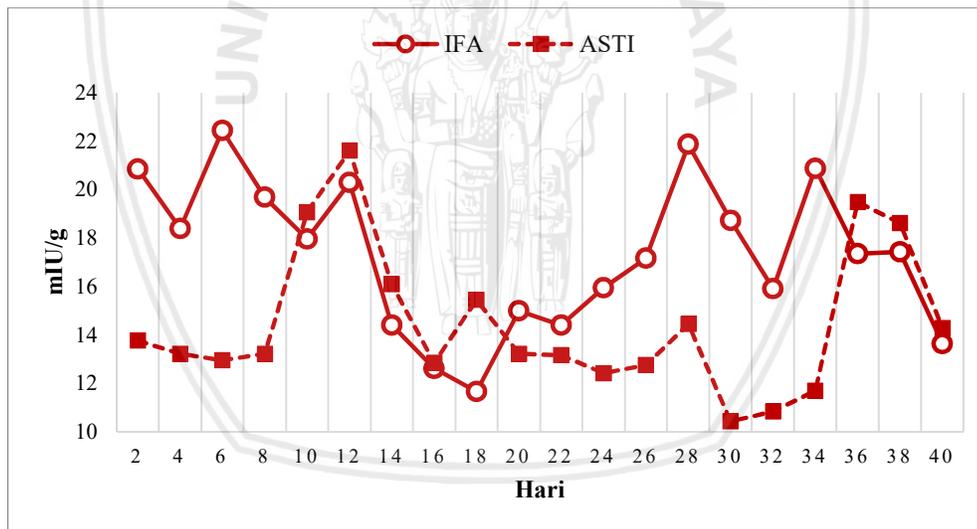
BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Kadar *Luteinizing Hormone* pada Feses Lutung Jawa Betina

Luteinizing hormone merupakan hormon glikoprotein yang berfungsi dalam induksi ovulasi, pembentukan korpus luteum dan stimulasi steroidogenesis pada betina (Marks dkk., 2000). Sekresi LH oleh sel gonadotrop di hipofisa anterior dipengaruhi oleh GnRH yang menyebabkan perbedaan konsentrasi pada setiap fase dalam siklus reproduksi. Hormon ini dimetabolisme secara luas oleh hati dan kemudian diekskresikan dalam bentuk aktif secara biologis atau berbentuk fraksi hormon melalui ginjal ke dalam urin, atau melalui saluran empedu ke usus (Ascoli dkk., 1975). Matriks hormon primer hanya tersedia dalam proporsi yang relatif kecil pada ekskreta dan jalur ekskresi dapat bervariasi tergantung pada spesies dan hormon (Behringer dan Deschner, 2017). Pada penelitian ini, kadar LH digunakan sebagai indikator periode ovulasi pada lutung Jawa betina.

Hasil pengukuran LH yang diperoleh pada penelitian ini berupa nilai absorbansi atau *optical density* (**Lampiran 8.b**) kemudian dikonversi menjadi nilai konsentrasi hormon per berat feses (**Lampiran 10**) dan disajikan dalam bentuk grafik (**Gambar 5.1**). Profil kadar LH yang diperoleh dari lutung Jawa Ifa dan lutung Jawa Asti menunjukkan adanya perbedaan frekuensi dan periode fluktuasi. Fluktuasi yang ditunjukkan dalam profil LH Ifa ditandai dengan adanya 4 lonjakan selama 40 hari masa observasi dengan masing-masing 2 lonjakan yang berdekatan yaitu pada hari ke-6, ke-12, ke-28 dan hari ke-34, sedangkan fluktuasi pada profil LH Asti menunjukkan adanya 2 kali lonjakan yang jelas selama periode 40 hari

yaitu pada hari ke-12 dan hari ke-36 (**Gambar 5.1**). Menurut Zelesnik dan Plant (2015), periode ovulasi ditandai dengan lonjakan tajam pada konsentrasi LH yang akan menginduksi terjadinya ovulasi dan diakhiri dengan penurunan konsentrasi estrogen dan diikuti oleh LH. Fluktuasi pada profil LH Asti menunjukkan adanya 2 lonjakan tajam selama periode observasi, sehingga lutung Jawa Asti diduga sedang menjalani 2 siklus reproduksi dalam periode 40 hari. Profil LH Ifa menunjukkan pola yang kurang teratur karena lonjakan yang ditunjukkan tidak jelas dalam menggambarkan periode ovulasi dalam siklus reproduksi normal. Oleh sebab itu, fluktuasi LH yang ditunjukkan oleh Asti diduga lebih jelas menggambarkan siklus reproduksi normal pada lutung Jawa dibandingkan Ifa.



Gambar 5.1 Grafik perkiraan kadar LH pada feses lutung Jawa betina selama 40 hari.

Hasil analisis kadar LH pada kedua lutung Jawa betina menunjukkan nilai yang bervariasi pada tiap individu. Lutung Jawa Ifa memiliki rata-rata kadar LH sebesar $17,3 \pm 3,1$ mIU/g dengan nilai tengah 17,4 mIU/g, sedangkan lutung Jawa

Asti memiliki nilai rata-rata yang lebih kecil yaitu $14,5 \pm 3,0$ mIU/g dengan nilai tengah 13,2 mIU/g (**Tabel 5.1**). Kadar LH tertinggi yang dapat dideteksi dari feses lutung Jawa betina ditunjukkan oleh Ifa yaitu 22,4 mIU/g, sedangkan kadar terendah ditunjukkan oleh Asti yaitu 10,4 mIU/g (**Tabel 5.1**). Penelitian terkait pengukuran kadar LH pada primata sejauh ini baru dilakukan menggunakan sampel urin dan diukur dengan metode *radioimmunoassay* (RIA), diantaranya pada Tamarin (*Saguinus oedipus oedipus*) dengan rata-rata kadar LH sekitar $16 \text{ ng/mgCr} \pm 0,75 \text{ SEM}$ (Ziegler dkk., 1987); primata dari famili Callitrichidae dengan kadar rata-rata LH sekitar $38,51 \text{ mIU/mL} \pm 0,15 \text{ SEM}$ (Ziegler dkk., 1993); Owa (*Hylobates lar*) dengan rata-rata konsentrasi LH sekitar 97,2 IU/L (Nadler dkk., 1993). Pengukuran kadar LH menggunakan metode ELISA pada satwa liar sejauh ini baru dilakukan pada spesies Panda dengan sampel urin dan diperoleh rata-rata konsentrasi LH sebesar $1,056 \pm 0,132 \text{ ng/mL}$ (Cai dkk., 2017). Kadar LH yang diperoleh dapat bervariasi dalam satu individu bergantung pada metode dan sampel yang digunakan. Kadar LH yang diukur pada sampel darah menggambarkan konsentrasi LH dalam tubuh pada waktu tersebut, sementara kadar LH yang diukur pada sampel ekskreta seperti urin dan feses menggambarkan nilai ekskresi LH dalam satu periode ekskresi (Midgley, 1966).

Tabel 5.1 Hasil analisis deskriptif perkiraan kadar LH pada feses lutung Jawa betina.

Lutung Jawa	Rata-rata	Median	Tertinggi	Terendah	Standar deviasi (SD)
IFA	17.3	17.4	22.4	11.7	± 3.1
ASTI	14.5	13.2	21.6	10.4	± 3.0

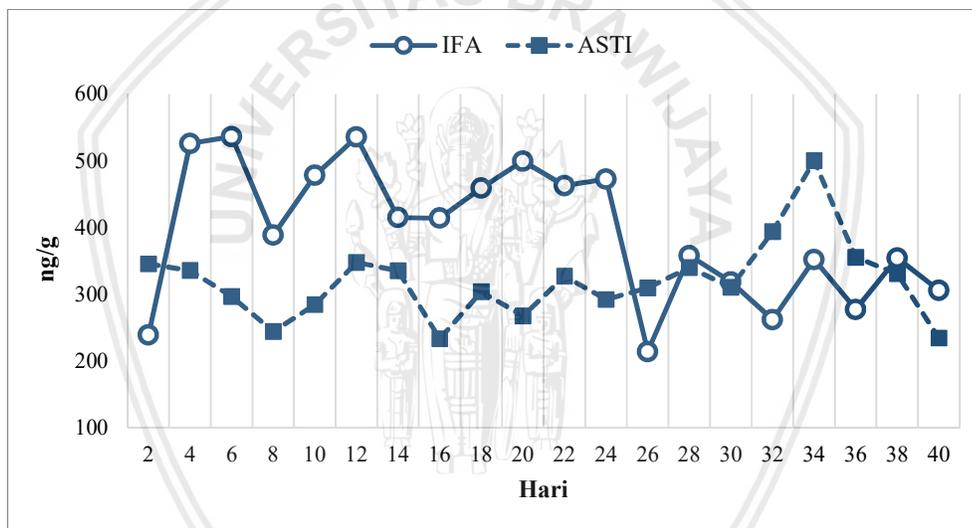
Keterangan: nilai disajikan dalam satuan mIU/g berat feses.

5.2 Kadar Estrogen pada Feses Lutung Jawa Betina

Estrogen merupakan hormon steroid utama pada betina yang sebagian besar diproduksi oleh ovarium, di samping juga kelenjar adrenal dan plasenta (Astuti 2018). Estrogen berfungsi dalam merangsang pengembangan dan pemeliharaan jaringan reproduksi, kelenjar susu, kulit dan otak melalui stimulasi sintesis protein (Engelking, 2012). Kadar hormon estrogen yang diekskresi bervariasi pada tiap fase dalam siklus reproduksi. Kadar hormon estrogen tertinggi biasanya terjadi pada akhir fase folikuler yang menggambarkan aktivitas folikel dominan (Norman dan Henry, 2015). Metabolisme estrogen sebagian besar berlangsung di hati dan metabolit yang terbentuk diekskresikan bersama feses melalui empedu, sehingga estrogen dapat dideteksi melalui urin maupun feses (Norris, 2007).

Pada penelitian ini, pengukuran kadar estrogen dilakukan dengan sampel feses menggunakan metode ELISA. Hasil yang diperoleh berupa nilai absorbansi (**Lampiran 8a**) kemudian dikonversi menjadi nilai konsentrasi hormon per berat feses (**Lampiran 9**). Kadar hormon estrogen lutung Jawa Asti selama 40 hari diduga menunjukkan pola fluktuasi dengan 2 lonjakan pada hari ke-12 dan ke-34. Hal ini menunjukkan selama 40 hari masa observasi diperkirakan sedang berlangsung 2 siklus reproduksi pada lutung Jawa Asti (**Gambar 5.2**). Kadar hormon estrogen lutung Jawa Ifa selama 40 hari diduga menunjukkan pola fluktuasi dengan kadar yang tinggi selama pertengahan awal, sementara pada pertengahan akhir digambarkan dengan kadar yang rendah (**Gambar 5.2**). Pola fluktuasi hormon estrogen yang ditunjukkan oleh Ifa diduga kurang jelas dalam

menggambarkan kondisi normal siklus reproduksi betina. Menurut Zelesnik dan Henry (2015), hormon estrogen mengalami peningkatan pada paruh awal fase folikuler kemudian meningkat tajam pada paruh kedua fase folikuler; pada fase ovulasi hormon estrogen mengalami penurunan; dan pada fase luteal hormon estrogen mengalami peningkatan secara bertahap. Oleh sebab itu, fluktuasi hormon estrogen yang ditunjukkan oleh lutung jawa Asti lebih mencerminkan fluktuasi hormonal pada siklus reproduksi yang normal dibandingkan fluktuasi yang ditunjukkan oleh lutung Jawa Ifa.



Gambar 5.2 Grafik perkiraan kadar hormon estrogen (E_2) pada feses lutung Jawa Betina selama 40 hari.

Hasil analisis kadar estrogen dari masing-masing lutung Jawa betina menunjukkan nilai yang bervariasi. Nilai rata-rata estrogen lutung Jawa Ifa sedikit lebih besar dibandingkan Asti yaitu berturut-turut $393,49 \pm 101,90$ ng/g dan $319,43 \pm 59,81$ ng/g (**Tabel 5.2**). Kadar estrogen tertinggi dan terendah yang dapat dideteksi pada feses lutung Jawa betina ditunjukkan oleh Ifa dengan kadar tertingginya sekitar 536,23 ng/g dan kadar terendah 214,26 ng/g (**Tabel 5.2**).

Tabel 5.2 Hasil analisa deskriptif perkiraan kadar hormon estrogen pada feses lutung Jawa Betina.

Lutung Jawa	Rata-rata	Median	Tertinggi	Terendah	Standar deviasi (SD)
IFA	393.49	401.41	536.23	214.26	± 101.90
ASTI	319.43	318.83	500.04	233.50	± 59.81

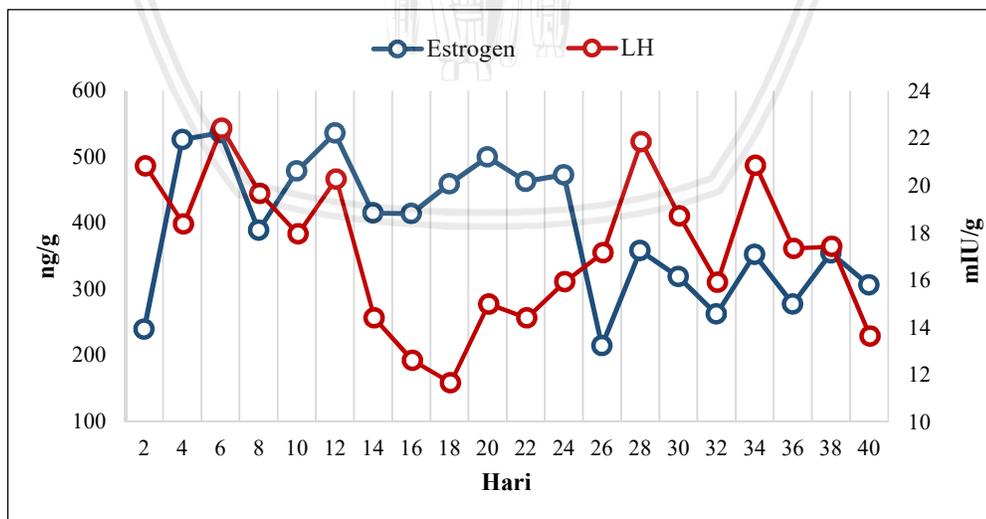
Keterangan: nilai disajikan dalam satuan ng/g berat feses.

Penelitian terkait pengukuran kadar estrogen pada primata dengan feses sebagai sampel, sejauh ini telah dilakukan pada Owa Jawa, primata dari famili Callitrichidae, monyet Ekor Panjang (Shideler dkk., 1993), Babun (Gesquiere dkk., 2005), lutung Hanuman (Heistermann dkk., 1995; Ziegler dkk., 2000), dan monyet Jepang (Fujita dkk., 2001; Shimizu, 2005). Hasil pengukuran kadar estrogen pada primata famili Callitrichidae diantaranya *Callithrix jaccus* dengan rata-rata kadar estrogen pada fase folikuler sebesar $32,9 \mu\text{g/g} \pm 3,2 \text{ SEM}$ dan fase luteal $22,6 \mu\text{g/g} \pm 1,3 \text{ SEM}$; pada *Saguinus fuscicollis* fase folikuler sebesar $14,3 \mu\text{g/g} \pm 4,2 \text{ SEM}$ dan fase luteal $18,8 \mu\text{g/g} \pm 4,4 \text{ SEM}$; pada *Saguinus oedipus* fase folikuler sebesar $25,7 \mu\text{g/g} \pm 3,0 \text{ SEM}$ dan fase luteal sebesar $19,2 \mu\text{g/g} \pm 2,2 \text{ SEM}$ (Heistermann dkk., 1993). Pengukuran kadar estrogen pada feses owa Jawa menunjukkan kadar konjugat estron pada periode ovulasi yang berkisar antara $0,22 - 0,42 \mu\text{g/g}$ berat feses kering. Hasil pengukuran kadar estrogen pada lutung Jawa lebih kecil jika dibandingkan dengan kadar estrogen primata famili Calitrichidae, namun tidak jauh berbeda dengan kisaran kadar estrogen pada owa Jawa. Kadar hormon estrogen yang diperoleh dapat bervariasi dalam satu individu bergantung pada bentuk hormon yang diukur, metode dan sampel yang digunakan.

5.3 Identifikasi Pola Hormonal Siklus Reproduksi Lutung Jawa Betina berdasarkan Kadar Estrogen dan LH

5.3.1 Profil Hormon Estrogen dan LH pada Lutung Jawa Ifa

Profil hormon estrogen dan LH yang diperoleh dari pengukuran kadar hormon pada feses dua individu lutung Jawa betina menunjukkan pola fluktuasi yang berbeda selama masa observasi. Fluktuasi LH lutung Jawa Ifa terdiri dari 4 lonjakan dengan 2 lonjakan pada pertengahan awal dan akhir yang saling berdekatan. Fluktuasi hormon estrogen terdiri dari beberapa lonjakan dalam konsentrasi yang tinggi di paruh awal sedangkan pada paruh akhir lonjakan terjadi dalam konsentrasi yang rendah (**Gambar 5.3**). Sebagian besar fluktuasi pada hormon estrogen dan LH menggambarkan pola yang selaras, namun fluktuasi tersebut kurang mencerminkan pola hormonal yang teratur pada siklus reproduksi normal sehingga tidak dapat digunakan sebagai acuan untuk menentukan panjang siklus dan identifikasi fase-fase dalam siklus reproduksi lutung Jawa betina.



Gambar 5.3 Perkiraan profil hormon estrogen (E_2) dan LH pada lutung Jawa Ifa selama 40 hari.

Menurut Saltzman dkk. (2011), kondisi ketidakteraturan siklus reproduksi pada primata dan manusia dapat terjadi pada awal dan akhir masa reproduksi (masa pubertas awal dan masa tua). Ketidakteraturan siklus dapat disebabkan oleh beberapa kondisi seperti gagal ovulasi (anovulasi), luteolisis tidak cukup, gangguan gestasional atau gangguan laktasi. Menurut Prior dkk. (2015), wanita muda lebih sering mengalami kondisi anovulasi, seperti halnya wanita perimenopause. Kondisi anovulasi dapat terjadi karena adaptasi hipotalamus terkait gizi, aktivitas, sosial dan stres emosional, meskipun kadar estradiol cukup untuk siklus menstruasi yang teratur. Lutung Jawa Ifa diduga mengalami ketidakteraturan siklus reproduksi yang disebabkan oleh kurangnya adaptasi hipotalamus dan kelenjar reproduksi lainnya terhadap respon hormonal pada umur yang baru memasuki fase remaja.

5.3.2 Profil Hormon Estrogen dan LH pada lutung Jawa Asti

Profil hormon estrogen dan LH lutung Jawa Asti menunjukkan pola hormonal yang lebih teratur dan lebih jelas dalam mencerminkan pola hormonal siklus reproduksi betina normal, sehingga dapat digunakan sebagai acuan untuk mengidentifikasi panjang siklus dan fase-fase dalam siklus reproduksi lutung Jawa betina. Fluktuasi pada grafik hormon estrogen dan LH Asti tampak jelas pada hari ke-8 hingga ke-16 dan hari ke-30 hingga ke-40 yang menunjukkan adanya 2 siklus yang berlangsung selama 40 hari (**Gambar 5.4**).

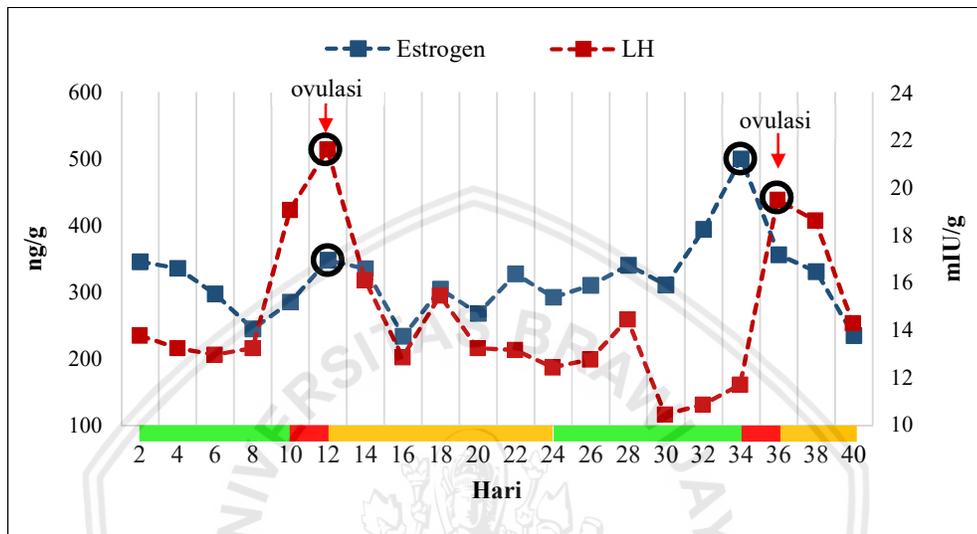
Proses ovulasi pada lutung Jawa betina berlangsung secara spontan setelah LH mencapai kadar tertingginya di dalam sirkulasi yang diduga terjadi pada hari ke-12 dan ke-36 (**Gambar 5.4**). Periode ovulasi diperkirakan berlangsung selama 2 hari dan diakhiri dengan penurunan konsentrasi hormon estrogen dan LH secara

signifikan. Fase luteal ditunjukkan dengan kondisi hormon estrogen dan LH yang menurun setelah periode ovulasi dan diperkirakan berlangsung selama 12 hari yaitu pada hari ke-12 hingga hari ke-24 (**Gambar 5.4**). Menurut Engelking (2012), kondisi hormon estrogen dan LH menunjukkan adanya fluktuasi selama fase luteal namun dengan peningkatan yang relatif. Fase luteal berakhir dengan terjadinya regresi korpus luteum dan luruhnya dinding endometrium yang dapat teramati dengan adanya pendarahan dari saluran reproduksi dan kondisi ini digambarkan dengan konsentrasi hormon steroid dan gonadotropin yang rendah dalam sirkulasi.

Fase folikuler pada siklus reproduksi Asti diperkirakan berlangsung selama 10 hari yang dimulai dengan kondisi hormon estrogen dan LH yang rendah pada hari ke-24 kemudian berakhir dengan kondisi hormon estrogen pada konsentrasi tertinggi dan LH yang mulai melonjak pada hari ke-34 (**Gambar 5.4**). Fase folikuler awal ditandai dengan konsentrasi hormon estrogen dan LH yang rendah, kemudian pada pertengahan fase folikuler, hormon estrogen mulai mengalami peningkatan sedangkan konsentrasi LH dipertahankan dalam kondisi rendah. Akhir fase folikuler dan awal periode ovulasi ditandai dengan lonjakan LH yang menyebabkan folikel dominan ruptur dan melepaskan oosit yang disebut dengan ovulasi (Zelesnik dan Plant, 2015).

Panjang siklus reproduksi lutung Jawa Asti ditentukan dengan mengukur periode antara dua puncak LH. Periode diantara 2 puncak lonjakan LH diduga merupakan periode yang diperlukan dari terjadinya ovulasi pada siklus reproduksi pertama menuju ovulasi pada siklus berikutnya. Berdasarkan pengukuran periode antara dua titik puncak LH dalam profil hormonal lutung Jawa Asti diperoleh

panjang siklus reproduksi sekitar 24 hari. Siklus reproduksi yang berlangsung selama 24 hari tersebut terdiri dari fase folikuler yang berlangsung sekitar 10 hari, periode ovulasi selama 2 hari dan fase luteal selama 12 hari (**Gambar 5.4**).



Gambar 5.4 Perkiraan fase folikuler, ovulasi dan luteal pada profil hormonal lutung Jawa Asti. **Keterangan:** tanda (■) menunjukkan fase folikuler, tanda (■) menunjukkan periode ovulasi, tanda (■) menunjukkan fase luteal dan lingkaran hitam (●) menunjukkan puncak konsentrasi hormon.

Penelitian terkait penentuan siklus reproduksi pada primata melalui pengukuran kadar metabolit hormon telah dilakukan pada spesies Owa Jawa (*Hylobates moloch*). Panjang siklus reproduksi dan masing-masing fasenya ditentukan melalui analisis profil metabolit steroid dengan mengukur jarak antara dua puncak E₁C (konjugat estron) atau dengan peningkatan PdG (Pregnanediol-3-glukoronat) dan diperoleh panjang siklus reproduksi Owa Jawa berkisar antara 21-25 hari dengan rata-rata 23±0,6 hari. Lama fase folikuler sekitar 11-18 hari dan fase luteal 8-12 hari. Fase periovulasi diperkirakan 1-4 hari sebelum kenaikan kadar PdG pada feses (Maheswari, 2017).

BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa:

1. Panjang siklus reproduksi lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) betina ditinjau dari kadar hormon estrogen dan LH adalah sekitar 24 hari.
2. Pola hormonal siklus reproduksi lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) betina ditinjau dari kadar hormon estrogen dan LH terdiri dari fase folikuler, periode ovulasi dan fase luteal.

6.2 Saran

Adapun saran untuk penelitian ini yaitu:

1. Perlu dilakukan adanya penelitian lebih lanjut dengan menggunakan lebih banyak individu dan sampel yang dapat mewakili paling sedikit 2 siklus reproduksi lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) betina yang lengkap.
2. Perlu dilakukan pengamatan yang disertai dokumentasi terkait gejala estrus dan tanda menstruasi pada lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) betina setiap hari selama masa observasi.
3. Untuk melengkapi data siklus reproduksi pada lutung Jawa dapat ditambahkan variabel hormon yang lain seperti FSH, progesteron dan yang lainnya.
4. Perlu dilakukan uji coba kit yang akan digunakan guna memastikan kondisi kit dalam keadaan baik sehingga mendapatkan hasil yang optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Alikodra, H.S. 1990. *Pengelolaan Satwa Liar jilid I*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Pusat Antar Universitas Ilmu Hayati, IPB : Bogor.
- Ankel-Simons, Friderun. 2007. *Primate Anatomy, An Introduction*, 3rd Edition. USA: Elsevier Inc.
- Ascoli, M., R.A. Liddle dan D. Puett. 1975. The Metabolism of Luteinizing Hormone, Plasma Clearance, urinary Excretion and Tissue Uptake. *Molecular and Cellular Endocrinology*. Vol. 3, pp. 21-36.
- Astriani, W.I., H. Arief dan L.B. Prasetyo. 2015. *Populasi dan Habitat Lutung Jawa (Trachypithecus auratus E. Geoffroy, 1812) di Resort Balanan Taman Nasional Baluran*. [Skripsi]. Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor.
- Astuti, Pudji. 2018. *Endokrinologi Veteriner*. Yogyakarta: UGM Press.
- Atmoko, Tri. 2011. Pengenalan Sistem Kelompok Sosial pada Primata sebagai Salah Satu Dasar Informasi Upaya Konservasi. *Prosiding Seminar Hasil-hasil Penelitian BPTKSDA Samboja*, p. 167-176.
- Behringer, V. dan T. Deschner. 2017. Non-invasive Monitoring of Physiological Markers in Primates. *Hormones and Behavior* YHBEH-04172; 16; 4C. DOI: dx.doi.org/10.1016/j.yhbeh.2017.02.001
- Buse, E., M. Zoller dan E. Van Esch. 2008. The Macaque Ovary, with Special Reference to the Cynomolgus Macaque (*Macaca fascicularis*). *Toxicologic Pathology*. 36:24S-66S.
- Cai, K., S. Yie, Z. Zhang, J. Wang, Z. Cai, L.Luo, Y., Liu, H. Wang, C. Wang, X. Huang, J. Lan dan R. Hou. 2017. *Urinary Profiles of Luteinizing Hormone, Estrogen and Progesterone During the Estrous and Gestational Periods in Giant Pandas (Ailuropda melanoleuca)*. Scientific Reports 7:40749. DOI: 10.1038/srep40749.
- Cannon, W. dan A. Vos. 2009. "*Trachypithecus auratus*" (On-line), Animal Diversity Web. Accessed January 14, 2019 at <https://animaldiversity.org>.
- Cha, M.J, E.T. Sohn, E.S. Jung, C.K. Kang, H.K. Lee, S.H. Jeong, J.S. Kim, dan E.K. Kim. 2010. Development of Novel IC-ELISA as a Primary High Throughput Screening for Various Estrogen Molecules. *Toxicol. Environ. Health. Sci. Vol. 2(1)*, 50-59, 2010.
- Chedrese, P.J. 2009. *Reproductive Endocrinology: A Molecular Approach*. Springer Science+Business Media.

- Ciftci, Huseyin B. 2013. Estrogen and Growth Hormone and their Roles in Reproductive Function. *International Journal of Animal ad Veterinary Asvances* 5(1): 21-28.
- Crowther, J.R. 2009. *The ELISA Guidebook* 2nd Edition. Austria: Humana Press.
- Cui, K.-H. dan C.D. Matthews. 1994. Anatomy of Adult Female Common Marmoset (*Callithrix jacchus*) Reproductive System. *Journal Anatomy* 185, pp. 481-486.
- Darajati, W., S. Pratiwi, E. Herwinda, A.D. Radiansyah, V.S. Nalang, B. Nooryanto, J.S. Rahajoe, R. Ubaidillah, I. Maryanto, R. Kurniawan, T.A. Prasetyo, A. Rahim, J. Jefferson dan F. Hakim. 2016. *Indonesian Biodiversity Strategy and Action Plan 2015-2020*. Kementrian Perencanaan Pembangunan Nasional/BAPPENAS.
- Duax, W.L., J.F. Griffin, C.M. Weeks dan K.S. Korach. 1985. Molecular Conformation, Receptor Binding and Hormone Action of Natural and Synthetic Estrogens and Antiestrogens. *Environmental Health Perspectives*. Vol. 61, pp. 111-121.
- Edson, M.A., A.K. Nagaraja dan M.M. Matzuk. 2009. The Mammalian Ovary from Genesis to Revelation. *Endocrine Reviews*. 30(6):624-712.
- Engelking, Larry R. 2012. *Metabolic and Endocrine Physiology Third Edition*. USA: Tenton Media.
- Ernawati, E.P. Azrai dan S.S. Wibowo. 2016. Hubungan Persepsi Kearifan Lokal dengan Sikap Konservasi Masyarakat Desa Lencoh Kecamatan Selo di Taman Nasional gunung Merapi. *Biosfer: Jurnal Pendidikan Biologi*, 9(1): 65-69.
- Fatmasari, D., A.S. Nugroho dan F. Kaswinarni. 2017. Struktur Umur dan Rasio Jenis Kelamin Lutung Budeng (*Trachypithecus auratus*) di Hutan Lindung Sokokembang Petungkriyono Pekalongan Jawa Tengah. *Prosiding Semnas Sains & Enterpreneurship IV*. Semarang: Universitas PGRI.
- Fitriana, Ika. 2018. *Populasinya Menurun, Lutung Jawa Masih Diperjualbelikan di Medsos*. [internet]. <https://regional.kompas.com/read/2018/03/01/19510901/populasinya-menurun-lutung-jawa-masih-diperjualbelikan-di-medsos>. Diakses pada 16 November 2018, 06:36
- Fujita, S., F. Mitsunaga, H. Sigiura dan K. Shimizu. 2001. Measurement of urinary and Fecal Steroid Metabolites During the Ovarian Cycle in Captive and Wild Japanese Macaques, *Macaca fuscata*. *American Journal of Primatology*. 53:167-176.
- Gesquiere, L.R., J.Altmann, M.Z.Khan, J.Couret, J.C.Yu, C.S. Endres, J.W.Lynch, P. Ogola, E.A. Fox, S.C. Alberts dan E.O. Wango. 2005. Coming of Age: Steroid Hormones of Wild Immature Baboons (*Papio cynocephalus*). *American Journal of Primatology*. 97:83-100. DOI: 10.1002/ajp.20171.

- Giovana, Dendi. 2015. *Aktivitas Harian dan Wilayah Jelajah Lutung Jawa (Trachypithecus auratus Raffles 1821) di Resort Bama Taman Nasional Baluran* [Skripsi]. Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor.
- Groves, Colin. 2017. Primates (Taxonomy). *The International Encyclopedia of Primatology*. [Online]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/9781119179313.wbprim0045>. Diakses pada 4 November 2018.
- Heistermann, M., M. Finke dan J.K. Hodges. 1995. Assesment of Female Reproductive Status in Captive-Housed Hanuman Langurs (*Presbytis entellus*) by Measurement of Urinary and Fecal Steroid Excretion Pattern. *American Journal of Promatology*. 37: 275-284.
- Heistermann, M., S. Tari dan J.K. Hodges. 1993. Measurement of Faecal Steroids for Monitoring Ovarian Function in New World Primates, Callitrichidae. *Journal of Reproduction and Fertility*. 99, 243-251.
- Hendratmoko, Yohan. 2009. *Studi Kohabitasi Monyet Ekor Panjang dengan Lutung di Cagar Alam Pangandaran Jawa Barat*. [Tesis]. Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.
- Ismudiono, P. Srianto, H. Anwar, S.P. Madyawati, A. Samik dan E. Safitri. 2010. *Buku Ajar Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Jannah, A. N. 2017. *Tingkat Dominansi Lutung Jawa Betina (Trachypithecus auratus E. Geoffroy, 1812) dalam Kelompok pada Kandang Habitasi di Cagar Alam Gunung Tilu, Jawa Barat*. [Skripsi]. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Gunung Djati Bandung.
- Johnson, M.H. 2013. *Essential Reproduction*, 7th Edition. United Kingdom: John Wiley & Sons, Ltd.
- Kanagawa, H. dan E.S.E. Hafez. 1973. Copulatory Behavior in Relation to Anatomical Characteristics of Three Macaques. *Journal Physiology Anthropoid*, 38: pp. 233-240.
- Maheswari, Hera. 2007. *Profil Metabolit Steroid sebagai Indikator dalam Penentuan Siklus Ovarium Owa Jawa (Hylobates moloch AUDEBERT, 1797)*. [Disertasi]. Bogor: IPB Press.
- Marks, D.B., A.D. Marks, dan C.M. Smith. 2000. *Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah Pendekatan Klinis*. Jakarta: EGC.
- Midgley, A.R. 1966. Radioimmunoassay: A Method for Human Chorionic Gonadotropin and Human Luteinizing Hormone. *Endocrinology* 79:10-18.
- Mushlih, M., D. Listyorini dan A. Gofur. 2011. The Identification of Species and Relationship of Javan Langur (*Trachypithecus auratus*) in Javan Langur Rehabilitation Center (JLC) Based on Cytochrome b Gene Sequence.

International Conference on Biological Science, Faculty of Biology Universitas Gadjah Mada.

- Nadler, R.D., J.F. Dahl dan D.C. Collins. 1993. Serum and Urinary Concentration of Sex Hormones and Genital Swelling During the Menstrual Cycle of the Gibbon. *Journal of Endocrinology* 136, 447-455.
- Nijman, V. dan J. Supriatna. 2008. *Trachypithecus auratus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T22034A9348260. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T22034A9348260.en>. [Diunduh pada 14 September 2018]. Tersedia di: <https://www.iucnredlist.org/species/22034/9348260>.
- Noakes, D.E., T.J. Parkinson dan G.C. England. 2019. *Veterinary Reproduction and Obstetrics*, 10th Edition. China: Elsevier Inc.
- Norman, A.W. dan H.L.Henry. 2015. *Hormones*, Third Edition. Elsevier Inc., China. 275-296, 297-318.
- Norris, D.O. 2007. *Vertebrate Endocrinology*. Fourth Edition. USA: Elsevier Inc.
- Norris, D.O. dan K.H. Lopez. 2011. The Endocrinology of the Mammalian Ovary. *Hormones and Reproduction of Vertebrates*, 5(4): 59-72.
- 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 (Biogenesis)* Vol. 3, No. 1, p.33-38.
- Pineda, M.H. dan M.P. Dooley. 2003. *McDonald's Veterinary Endocrinology and Reproduction*, 5th Edition. USA: Iowa State Press.
- Plant, T.M. dan A.J. Zeleznik. 2015. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*. Fourth Edition. Vol.1. USA: Elsevier Inc.
- Prior, J.C., M. Naess, A. Langhammer dan S. Forsmo. 2015. *Ovulation Prevalence in Women with Spontaneous Normal-Length Menstrual Cycles – A Population-Based Cohort from HUNT3, Norway*. PLoS ONE 10(8): e0134473. doi:10.1371/journal.pone.0134473
- Rahmawati, Ervina. 2017. *Strategi Peletarian Lutung Jawa (Trachypithecus auratus) di Cagar Alam Kecubung Ulolanang Kabupaten Batang*. [Tesis]. Semarang: Program Magister Ilmu Lingkungan Sekolah Pasca Sarjana Universitas Diponegoro.
- Ramdani, Dani. 2017. *Interaksi Individu Lutung Jawa (Trachypithecus auratus) Jantan terhadap Betina dalam Proses Pembentukan Pasangan di Pusat Rehabilitasi Primata Jawa The Aspinall Foundation Kabupaten Bandung* [Skripsi]. UIN Sunan Gunung Djati: Bandung.
- Roos, C., T. Nadler, dan L. Walter. 2008. Mitochondrial Phylogeny, Taxonomy and Biogeography of the Silvered Langur Species Group (*Trachypithecus*

cristatus and *Trachypithecus auratus*). *International Journal of Primatology* 18(6): 1005-1028.

- Saltzman, W., S.D. Tardif dan J.N. Rutherford. 2011. Hormones and Reproductive Cycles in Primates. *Hormones and Reproduction of Vertebrates*, 5(13): 291-327.
- Shideler, S.E., A.M. Ortuno, F.M. Moran, E.A. Moorman dan B.L. Lasley. 1993. Simple Extraction and Enzyme immunoassays for Estrogen and Progesterone Metabolites in the Feces of *Macaca fascicularis* during Non-Conceptive and Conceptive Ovarian Cycle. *Biology of reproduction*. 48: 1290-1298.
- Shimizu, Keiko. 2005. Studies on Reproductive Endocrinology in Non-human Primates: Application of Non-invasive Methods. *Journal of Reproduction and Development*. Vol. 51, No. 1: 1-13.
- Shimizu, Keiko. 2008. Reproductive Hormones and the Ovarian Cycle in Macaques. *J. Mamm. Ova Res.* Vol. 25, 122-126.
- Sulistiyadi, Eko. 2013. *Perilaku Lutung Jawa Trachypithecus auratus (E. Geoffroy, 1812) pada Fragmen Habitat Terisolasi di TWA Gunung Pancar*. [Disertasi]. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Supriatna, J. dan F.H. Wahyono. 2000. *Panduan Lapangan Primata Indonesia*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia. 187-194.
- Terasawa, E., K.A. Guerriero dan T.M. Plant. 2013. Kisspeptin and Puberty in Mammals. *Adv Exp Med Biol*; 784: pp. 253-273. DOI: 10.1007/978-1-4614-6199-9_12.
- Van Esch, E., J.M. Cline, E. Buse, C.E. Wood, E.P.C.T. de Rijk dan G.F. Weinbauer. 2008. Summary Comparison of Female Reproductive System in Human and the Cynomolgus Monkey (*Macaca fascicularis*). *Toxicology Pathology* 36:171S-172S. DOI: 10.1177/0192623308327415.
- Wedana, M., I. Kurniawan, Z. Arsan, N.B. Wawandono, A. Courage dan T. King. 2013. Reinforcing the Isolated Javan Langur Population in the Coban Talun Protected Forest, East Java, Indonesia. *Wild Conservation*. Vol 1, pp 31-39.
- Wulandari, E. dan R.A.F. Hapsari. 2013. *Peran Hormon sebagai Regulator Fungsi Organ*. Ciputat: UIN Jakarta Press.
- Yusuf, Tuty L. 1998. Penentuan Waktu Kawin dan Hubungannya dengan Gejala Estrus pada *Macaca fascicularis*. *Jurnal Primatologi Indonesia*, Vol.2, No.1, p.1-4.
- Zeleznik, A.J. dan T.M. Plant. 2015. Control of the Menstrual Cycle. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*. Fourth Edition. Vol.2. USA: Elsevier Inc.

- Ziegler, T.E., K. Hodges, P. Winkler dan M. Heistermann. 2000. Hormonal Correlates of Reproductive Seasonality in Wild Female Hanuman Langurs (*Presbytis entellus*). *American journal of Primatology*. 51:119-134.
- Ziegler, T.E., R.L. Matteri, F.H. Wegner. 1993. Detection of Urinary Gonadotropins in Callitrichid Monkeys with a Sensitive Immunoassay Based Upon a Unique Monoclonal Antibody.
- Ziegler, T.E., W.E. Bridson, C.T. Snowdon dan S. Eman. 1987. Urinary Gonadotropin and Estrogen Excretion During Postpartum Estrus, Conception, and Pregnancy in the Cotton-Top Tamarin (*Saguinus oedipus oedipus*). *American Journal of Primatology* 12:127-140.

