



UNIVERSITAS INDONESIA

**PROFIL HORMON OVARI SEPANJANG SIKLUS ESTRUS
TIKUS (*Rattus norvegicus*) BETINA MENGGUNAKAN
*FOURIER TRANSFORM INFRARED (FTIR)***

SKRIPSI

PUTRI KRIDA GITA PRAYOGHA

0806321096

**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS INDONESIA
DEPOK
2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PROFIL HORMON OVARI SEPANJANG SIKLUS ESTRUS
TIKUS (*Rattus norvegicus*) BETINA MENGGUNAKAN
*FOURIER TRANSFORM INFRARED (FTIR)***

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains

PUTRI KRIDA GITA PRAYOGHA

0806321096

**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS INDONESIA
DEPOK
2012**

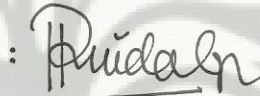
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar

Nama : Putri Krida Gita Prayogha

NPM : 0806321096

Tanda Tangan



Tanggal : 20 Juni 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Putri Krida Gita Prayogha
NPM : 0806321096
Program studi : S1 Biologi
Judul Skripsi : Profil Hormon Ovari Sepanjang Siklus Estrus
Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina Menggunakan
Fourrier Transform Infrared (FTIR)

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi S1 Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Luthfiralda Sjahfirdi, M. Biomed (.....)
Pembimbing II : Dr. Dadang Kusmana, M. S (.....)
Penguji I : Dr. Anom Bowolaksono, M. Sc (.....)
Penguji II : Dr.rer.nat Mufti Petala Patria, M. Sc (.....)

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 20 Juni 2012

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur Penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan segala nikmat-Nya bagi Penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini. Shalawat dan salam selalu tercurah kepada Rasulullah sholallahu ‘alaihi wasalam, sang rahmat bagi seluruh alam. Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Luthfiralda Sjahfirdi, M. Biomed selaku Pembimbing I dan Dr. Dadang Kusmana, M.S selaku pembimbing II atas semua bimbingan, ilmu, kesabaran, dukungan, doa, serta pengorbanan waktu dan pikiran selama penulis menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi;
2. Dr. Anom Bowolaksono, M. Sc selaku penguji I dan Dr.rer.nat Mufti Petala Patria, M.Sc selaku penguji II atas saran masukan, kritik, dan bantuan yang diberikan selama penulisan skripsi;
3. Drs. Wisnu Wardhana, M. Si selaku Penasehat Akademik atas kasih sayang, perhatian, nasehat, dan doa selama penulis menimba ilmu di Departememn Biologi FMIPA UI;
4. Dr.rer.nat Mufti Petala Patria, M.Sc, selaku Departemen Biologi FMIPA UI, Dra. Nining Betawati Prihantini, M. Sc selaku sekretaris Departemen, Dra. Titi Soedjiarti, S.U selaku Koordinator Pendidikan, beserta segenap staf pengajar atas semua ilmu pengetahuan yang diberikan selama perkuliahan. Tak lupa Penulis ucapkan terima kasih untuk Mba Asri, Ibu Ida, Ibu Ros, dan seluruh karyawan Departemen Biologi FMIPA UI atas segala bantuan yang diberikan kepada penulis;
5. Keluarga tercinta: ibu (Rita Purwanti), ayah (Bakat Tya Maya Yogha, S.H), dan adik tercinta (Dwitika Diah Pangestuti), serta seluruh keluarga besar penulis yang senantiasa mencurahkan cinta, kasih sayang, perhatian, pengertian, kesabaran, bimbingan, nasehat, dukungan, doa, dan segala hal terbaik, yang diberikan demi keberhasilan penulis;
6. Pak Surya, Kak Alvin, Kak Ade, Kak Shafar, dan teman-teman KP (Furkan dan Samuel) yang telah banyak membantu saya dalam usaha memperoleh data yang saya perlukan;

7. Rithami Arita, Mien Savira, Maya, Rininta, Nur El, Annisa, Seyla, Bahagia, Dessy, Sintia, dan semua anggota keluarga besar BIOSENTRIS 08 atas segala dukungan, persahabatan, keceriaan, bantuan, dan semangat yang diberikan kepada penulis;

Akhir kata, penulis memohon maaf yang apabila terdapat hal yang kurang berkenan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Penulis

2012



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS
AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Putri Krida Gita Prayogha
NPM : 0806321096
Program Studi : S1 Reguler
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

“Profil Hormon Ovari Sepanjang Siklus Estrus Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina Menggunakan *Fourrier Transform Infrared (FTIR)*” beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak bebas Royalti noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, megalimedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan dua (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya tanpa meminta izin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : 20 Juni 2012

Yang menyatakan



Putri Krida Gita Prayogha

ABSTRAK

Nama : Putri Krida Gita Prayogha
Program Studi : Biologi S1 Reguler
Judul : Profil Hormon Ovari Sepanjang Siklus Estrus Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina Menggunakan *Fourrier Transform Infrared* (FTIR).

Telah dilakukan pemeriksaan profil hormon ovari pada tikus betina (*Rattus norvegicus*) menggunakan FTIR. Penelitian bertujuan memperoleh gambaran atau profil fluktuasi kadar hormon ovari sepanjang siklus estrus. Sampel darah dari sepuluh ekor tikus pada sepanjang siklus estrus yang ditentukan melalui ulas vagina dianalisis melalui FTIR. Diperoleh hasil 3 gugus fungsi spesifik dari progesteron pada masing-masing bilangan gelombangnya berturut-turut sebagai berikut keton (CO) pada 1726 cm^{-1} , metil (CH_3) 1375 cm^{-1} , dan metil keton (COCH_3) 1350 cm^{-1} . Nilai absorbansi gugus fungsi spesifik progesteron diperoleh dan dikonversi dengan nilai absorbansi asam karboksilat (COOH), gugus fungsi spesifik dari hemoglobin pada bilangan gelombang 1425 cm^{-1} yaitu 0,258 %. Selanjutnya, nilai absorbansinya dikonversi ke dalam konsentrasi (ng/ml) sehingga menghasilkan kadar yang berfluktuasi sepanjang siklus estrus berkisar antara berkisar antara 12,135—39,387 ng/ ml untuk keton; 7,995—35,702 ng/ml untuk metil; dan 7,542—39,249 ng/ml untuk metil keton.

Kata kunci : *Fourrier Transform Infrared* (FTIR), Progesteron, *Rattus norvegicus*, Siklus estrus.
xiii + 41 halaman : 16 gambar; 6 tabel
Daftar referensi : 49 (1973—2012)

ABSTRACT

Name : Putri Krida Gita Prayogha
Study Program : Biologi S1 Reguler
Title : Ovarian Hormone Profile Of Female Rat (*Rattus norvegicus*)
Through Estrous Cycle of Using *Fourrier Transform Infrared*
(FTIR).

Research in determining progesterone concentration on female rat (*Rattus norvegicus*) using FTIR has been conducted. The aim of this research was to describe ovarian hormone profile is through rat's estrous cycle. Blood samples from ten females which were taken as long as estrus cycle determined by vaginal smear, analyzed by FTIR . The results indicated three specific functional groups of progesterone in each successive wave numbers as follows: ketone (CO) at 1726 cm^{-1} , methyl (CH_3) at 1375 cm^{-1} , dan methyl ketone (COCH_3) at 1350 cm^{-1} . Absorbance value of specific functional groups of progesterone are obtained and compared with absorbance values of carboksilate acid group (COOH), specific functional groups of hemoglobin in the wave number 1425 cm^{-1} which is 0.258%. Furthermore, converted into concentration (ng/ml) to generated levels of fluctuating group specifically ketones throughout the cycle ranged from 12,135 to 39,387 ng/ ml, whereas methyl ranged from 7,995 to 35,702 ng/ml and methyl ketones ranged from 7,542 to 39,249 ng/ml.

Key words : Estrogen, *Fourrier Transform Infrared* (FTIR), Progesteron,
Rattus novergicus, Siklus estrus.
xiii + 41 pages : 16 pictures; 6 table
Bibliography : 49 (1973—2012)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISNALITAS	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
HALAMAN PERNYATAAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
1. PENDAHULUAN	1
2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 <i>Fourrier Transform Infrared</i> (FTIR)	3
2.1.1 Pengenalan dan prinsip kerja <i>Fourrier Transform Infrared</i> (FTIR)	3
2.1.2 Komponen <i>Fourrier Transform Infrared</i> (FTIR)	4
2.2 Hewan uji	5
2.3 Darah	6
2.3.1 Hemoglobin	8
2.4 Siklus estrus pada tikus	9
2.4.1 Pengertian siklus estrus	9
2.4.2 Proses siklus estrus	9
2.5 Hormon pengendali siklus estrus	11
2.6 Metode pengumpulan darah	13
3. METODE PENELITIAN	14
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	14
3.2 Alat	14
3.3 Bahan	14
3.4 Cara Kerja	15
3.4.1 Hewan uji	15
3.4.2 Pemeliharaan tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) betina virgin galur Sprague-Dawley	15
3.4.3 Pemberian tanda pada tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) betina virgin galur Sprague-Dawley	16
3.4.4 Penimbangan tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) betina virgin galur Sprague-Dawley	16
3.4.5 Pengambilan sampel sitologi dan pewarnaan preparat ulas vagina	17
3.4.6 Pengambilan sampel darah	18
3.4.7 Analisis hormon estrogen dan hormon progesteron	19

4. HASIL DAN PEMBAHASAN	21
4.1 Penentuan fase dalam siklus estrus	21
4.2 Analisis hormon estrogen dan progesteron dari sampel darah melalui spektrum <i>Fourrier Transform Infrared</i> (FTIR)	22
4.2.1 Penentuan gugus fungsi estrogen	23
4.2.2 Penentuan gugus fungsi progesteron	23
4.2.3 Penentuan gugus fungsi hemoglobin	26
5. KESIMPULAN DAN SARAN	30
DAFTAR ACUAN	31



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 (1).	Fourier Transform Infrared (FTIR)	3
Gambar 2.1 (2).	Proses perubahan sinyal pada sistem peralatan FTIR ...	5
Gambar 2.3 (1)	Mekanisme umpan balik hormon reproduksi pada tikus betina	7
Gambar 2.3 (2)	Profil hormon pituitari dan hormon ovarium dalam plasma darah tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) sepanjang siklus estrusnya	7
Gambar 2.3 (3)	Molekul hemoglobin	8
Gambar 2.4	Vaginal smear	10
Gambar 2.5 (1)	Struktur kimia jenis-jenis estrogen	12
Gambar 2.5 (2)	Struktur kimia progesteron	14
Gambar 3.4 (1)	Kandang tikus	16
Gambar 3.4 (2)	Proses pengambilan sampel sitologi dan pewarnaan preparat	17
Gambar 3.4 (3)	Proses pengambilan sampel darah	18
Gambar 3.4 (4)	Proses analisis hormon estrogen dan progesteron menggunakan Fourier Transform Infrared (FTIR)	20
Gambar 4.1	Hasil pengamatan vaginal smear sepanjang siklus estrus pada tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) betina Galur Sprague-Dawley	22
Gambar 4.2.1	Gugus fungsi spesifik estrogen	23
Gambar 4.2.3 (1)	Gugus spesifik hemoglobin	26
Gambar 4.2.3 (2)	Grafik konsentrasi gugus fungsi spesifik progesteron ...	29

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Frekuensi dari beberapa gugus fungsi	4
Tabel 2.4.2	Kriteria penentuan siklus estrus berdasarkan perubahan bentuk sel epitel	10
Tabel 4.2.2	Nilai absorbansi gugus fungsi spesifik progesteron sepanjang tiga siklus estrus pada enam ekor tikus	25
Tabel 4.2.3.1	Nilai absorbansi hemoglobin	27
Tabel 4.2.3.2	Nilai absorbansi dalam % Hb	28
Tabel 4.2.3.3	Nilai gugus fungsi spesifik progesteron dalam konsentrasi (ng/ml)	28

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Hasil penimbangan berat badan tikus selama masa adaptasi	36
Lampiran 2	Contoh spektrum hasil analisis sampel menggunakan <i>Fourrier Transform Infrared</i> (FTIR)	37
Lampiran 3	Bentuk kumpulan data numerik yang diolah menggunakan program Microsoft Exel 2007 diubah dari bentuk spektrum hasil analisis FTIR	38
Lampiran 4	Nilai absorbansi gugus asam karboksilat pada bilangan gelombang 1425 cm^{-1} dari enam ekor tikus ...	39



BAB 1 PENDAHULUAN

Perkembangan populasi suatu hewan dapat mengalami penurunan yang disebabkan oleh gangguan pada proses reproduksinya, terutama pada hewan betina (Dewi 2010: 1). Proses reproduksi yang normal pada hewan betina bergantung pada fisiologis tubuh, seperti organ reproduksi dan mekanisme kerja hormon reproduksi. Mekanisme hormon pada hewan betina akan memengaruhi berbagai proses metabolisme dalam tubuh, khususnya siklus estrus. Penentuan masa estrus berperan penting dalam meningkatkan keberhasilan fertilisasi dan reproduksi hewan sehingga mampu membantu meningkatkan jumlah populasi hewan (Nalley dkk. 2011: 98—99).

Penentuan masa estrus dilakukan melalui pemantauan siklus estrus yang dapat dilakukan dengan pembuatan ulas vagina. Ulas vagina tersebut merupakan cara kualitatif yang dapat memantau siklus estrus melalui sel epitelium skuamosa yang diambil dari vagina hewan (Nadjamudin dkk. 2010: 83).

Pemantauan masa estrus secara kuantitatif dilakukan melalui pengukuran kadar hormon. Kadar hormon dapat diamati melalui beberapa metode. Metode pengukuran kadar hormon yang biasa dilakukan menggunakan *radioimmunoassay* (RIA) dan *enzymeimmunoassay* (EIA). Kedua metode tersebut memiliki tingkat sensitivitas dan keakuratan yang tinggi, namun keduanya memiliki kelemahan pula. Metode RIA membutuhkan waktu yang lama dalam pengerjaannya dan menggunakan reagen berlabel radioaktif sehingga memerlukan ekstra kehati-hatian dalam penanganannya. Selain itu, biaya yang dikeluarkan untuk mengolah bahan mengandung radioaktif cukup besar (Sacher & Richard 2002: 453; Robertson & Williams 2009: 69—72). Metode EIA membutuhkan waktu yang cukup lama untuk mendapatkan hasil analisisnya dan jenis reagen yang digunakan bervariasi. Semakin besar jumlah protein yang diukur maka membutuhkan reagen imunokimia yang kompleks pula, sehingga biaya yang dikeluarkan juga besar (Setiawan 2007: 2). Kelemahan metode-metode tersebut dapat diatasi dengan suatu metode alternatif yang lebih praktis, ekonomis, lebih cepat dalam menganalisis, dan tidak bersifat destruktif, serta tetap

memiliki tingkat sensitivitas yang cukup baik. Metode alternatif tersebut adalah metode *Fourier Transform Infrared* (FTIR) (Thermo Nicolet 2001:1).

Metode penelitian yang menggunakan *Fourier Transform Infrared* (FTIR) telah banyak dilakukan, di antaranya Salman dkk. (2001) telah menggunakan FTIR untuk menentukan karakteristik normal dan *malignant* dari jaringan kolon manusia. Wood dkk. (2004) memetakan spektrum FTIR dari zona transformasi serviks dan epitelium skuamosa displastik. Selain itu, Devi dkk. (2009) menganalisis sampel darah pasien gagal ginjal dengan menggunakan FTIR.

Penelitian terbaru terkait penggunaan FTIR, yaitu Sjahfirdi dkk. (2011a) menggunakan FTIR untuk mendeteksi gugus fungsi spesifik hormon progesteron yang berasal dari sampel darah tikus. Selain itu, Sjahfirdi dkk. (2011b) juga melakukan penelitian menggunakan FTIR untuk menentukan masa estrus pada tikus melalui identifikasi hormon metabolit dalam sampel urin dengan menggunakan metode invasif. Penelitian tersebut telah dilakukan pada masa estrus dan nonestrus, meski belum dilakukan pemantauan fluktuasi kadar hormon sepanjang siklus kesuburannya. Pemantauan fluktuasi kadar hormon sepanjang siklus kesuburan diperlukan, untuk memantau kesuburan dan memperoleh profil hormon sepanjang siklus, sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan.

Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh gambaran atau profil fluktuasi kadar hormon ovarium sepanjang siklus estrus. Sampel yang diambil berupa darah tikus (*Rattus norvegicus*) betina virgin galur Sprague-Dawley. Diharapkan penelitian ini memperoleh profil fluktuasi kadar hormon sepanjang siklus yang sesuai dengan penelitian yang telah ada.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *FOURIER TRANSFORM INFRARED (FTIR)*

2.1.1 Pengenalan dan Prinsip Kerja *Fourier Transform Infrared (FTIR)*

Fourier Transformed Infrared (FTIR) (Gambar 2.1 (1)) merupakan metode spektroskopi *infrared* modern yang dilengkapi dengan teknik transformasi *fourier*, untuk mendeteksi dan menganalisis hasil spektrumnya. Spektrum *infrared* yang dihasilkan dari suatu senyawa adalah khas untuk masing-masing senyawa, seperti sebuah *fingerprint* untuk senyawa tersebut. Metode spektroskopi yang digunakan adalah metode spektroskopi absorpsi, yaitu metode spektroskopi yang didasarkan atas perbedaan penyerapan radiasi *infrared* oleh molekul dari suatu senyawa (Cholifah 2009: 2). Prinsip kerja dari FTIR menggunakan prinsip interferometer, yang berarti sampel dilewati radiasi *infrared*, kemudian radiasi *infrared* diabsorpsi oleh sampel dan sebagian dilewatkan atau ditransmisikan (Thermo Nicolet 2001:1).



Gambar 2.1 (1) *Fourier Transform Infrared (FTIR)*

[Sumber: Fisher Scientific 2006: 1].

Berdasarkan daerah bilangan gelombang, sinar *infrared* terbagi menjadi tiga daerah, yaitu daerah *infrared* dekat ($4.000\text{—}14.000\text{ cm}^{-1}$), daerah *infrared* pertengahan ($400\text{—}4000\text{ cm}^{-1}$), dan daerah *infrared* jauh ($10\text{—}400\text{ cm}^{-1}$). Daerah yang paling banyak digunakan untuk berbagai analisis molekul adalah daerah

infrared pertengahan ($400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$), karena daerah tersebut cocok untuk mempelajari energi vibrasi dalam molekul. Identifikasi suatu senyawa organik atau anorganik, baik dalam bentuk padat, cair, maupun gas dapat dideteksi melalui metode FTIR (Davis & Mauer 2010: 1582).

Sampel yang dianalisis menggunakan FTIR akan menghasilkan sebuah spektrum. Spektrum tersebut terdiri dari berbagai puncak yang menunjukkan suatu gugus spesifik tertentu dari suatu senyawa pada frekuensi tertentu. Suatu senyawa yang memiliki struktur kimia yang berbeda, akan memiliki jenis ikatan dan frekuensi gugus fungsi yang berbeda (Nurkomarasari & Fauzi 2010: 5).

Tabel 2.1 Frekuensi dari Beberapa Gugus Fungsi

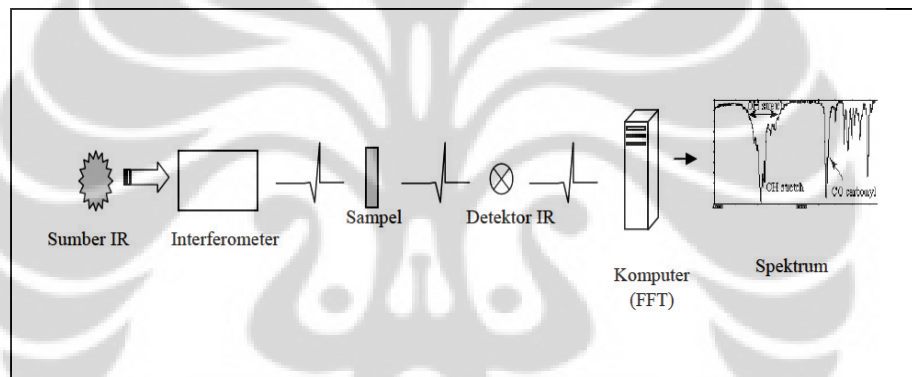
Gugus fungsi	Jenis senyawa	Frekuensi (cm^{-1})
C-H	Alkana	2850-2960; 1350-1470
C-H	Alkena	3020-3080; 675-870
C-H	Aromatik	3000-3100; 675-870
C-H	Alkuna	3300
C=C	Alkena	1640-1680
C=C	Aromatik (cincin)	1500-1600
C-O	Alkohol, eter, asam karboksilat, ester	1080-1300
C=O	Aldehida, keton, asam karboksilat, ester	1690-1760
O-H	Alkohol, fenol (monomer)	3610-3640
O-H	Alkohol, fenol (ikatan H)	2000-3600
O-H	Asam karboksilat	3000-3600
N-H	Amina	3310-3500
C-N	Amina	1180-1360
NO ₂	Nitro	1515-1260; 1345-1385

(Sumber: Nurkomarasari & Fauzi 2010: 5).

2.1.2 Komponen *Fourier Transformed Infrared* (FTIR)

Bagian utama dari FTIR adalah bagian peralatan optik dan rangkaian elektronika. Perangkat alat optik spektrofotometri FTIR terdiri dari beberapa

bagian yaitu sumber cahaya *infrared*, *laser*, *beam splitter*, dan cermin datar berjumlah 2 buah (*fixed mirror* dan *movable mirror*). Rangkaian elektronik terdiri dari beberapa bagian utama, yaitu *power supply*, penguat tegangan pada detektor *infrared*, dan *Analog to Digital Converter* (ADC). Jalur keluaran tiap bagian sistem peralatan yaitu sumber cahaya *infrared* menghasilkan cahaya polikromatik daerah *infrared*. Setelah melewati interferometer, cahaya diubah menjadi sinyal interferogram. Sinyal tersebut diserap sampel, yang diteruskan mengenai sensor dan diubah dalam bentuk tegangan yang sebanding dengan pola interferogram. Setelah dilakukan proses pada komputer, akan diperoleh grafik spektrum yang menggambarkan hubungan antara intensitas serapan sampel atau absorbansi (%) pada bilangan gelombang (cm^{-1}) (gambar 2.1(2)) (Suseno & Firdausi 2008: 3—4)



Gambar 2.1(2) Proses perubahan sinyal pada sistem peralatan FTIR
[Sumber: Suseno & Firdausi 2008: 26].

2.2 HEWAN UJI

Rattus norvegicus merupakan tikus albino dengan mata berwarna merah dan rambut berwarna putih yang menutupi seluruh tubuhnya. Masa hidup tikus adalah 2—3 tahun dan masa produktif untuk berbiak sampai satu tahun. Tikus mencapai dewasa saat berusia dua bulan. Berat badan tikus betina dewasa berkisar antara 150—300 gram, sedangkan tikus jantan dewasa antara 120—400 gram. Tikus tersebut dihasilkan dari perkawinan sedarah *brown rat* (Sophia 2003: 10—11).

Tikus albino betina galur Sprague-Dawley merupakan salah satu hewan pengerat memiliki ukuran tubuh yang paling besar dibandingkan galur lainnya sehingga lebih mudah dalam pengambilan suatu sampel atau pemberian perlakuan. Selain itu, mudah dipelihara dalam jumlah yang banyak, memiliki siklus estrus yang pendek, lebih tenang saat diberi perlakuan sehingga mempermudah penanganannya. Oleh karena itu, tikus tersebut sering digunakan untuk penelitian ilmiah di berbagai bidang, misalnya bidang kedokteran, psikologi, dan bidang lainnya (Rat Systematics 2004: 1).

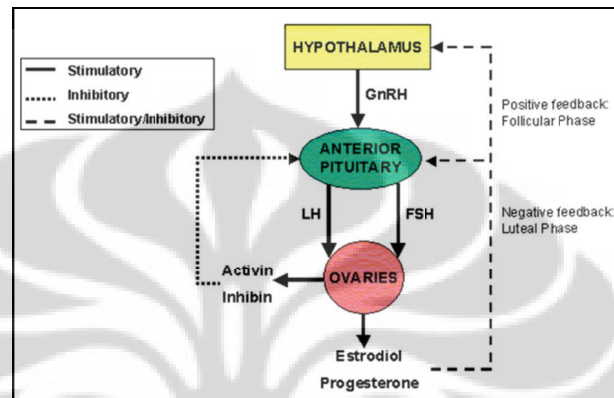
2.3 DARAH

Darah adalah cairan tubuh yang dipompa oleh jantung ke seluruh tubuh, setelah itu di kembalikan kembali ke jantung untuk memberikan zat-zat yang diperlukan, seperti nutrisi dan oksigen ke sel-sel, serta mengangkut sisa metabolisme produk dari sel yang lama (Rogers 2007: 19). Cairan tubuh tersebut terdiri atas dua bagian, yaitu bagian intraseluler berupa cairan yang disebut dengan plasma dan bagian interseleuler terdapat unsur-unsur padat, yaitu sel darah (Pearce 2002: 133). Darah dapat diartikan pula sebagai jaringan hidup yang kompleks yang sangat terdiferensiasi, yang mengalir dari jantung melalui arteri ke seluruh tubuh, berinteraksi dengan sel-sel melalui jaringan kapiler dan kembali ke jantung (Rhoades & Tanner 1995: 210).

Karakteristik yang dimiliki darah berupa plasma terdiri atas air, protein, dan mineral, dengan komposisi berturut-turut adalah 91%, 8%, dan 0,9%. Sisanya diisi oleh sejumlah bahan organik yaitu glukosa, lemak, urea, asam urat, kreatin, kolesterol, dan asam amino. Plasma darah juga berisi gas, hormon, enzim dan antigen. Selain plasma, darah terdiri dari sel darah. Sel darah terdiri atas tiga jenis, yaitu eritrosit atau sel darah merah, leukosit atau sel darah putih, dan trombosit atau keping darah (Pearce 2002: 133).

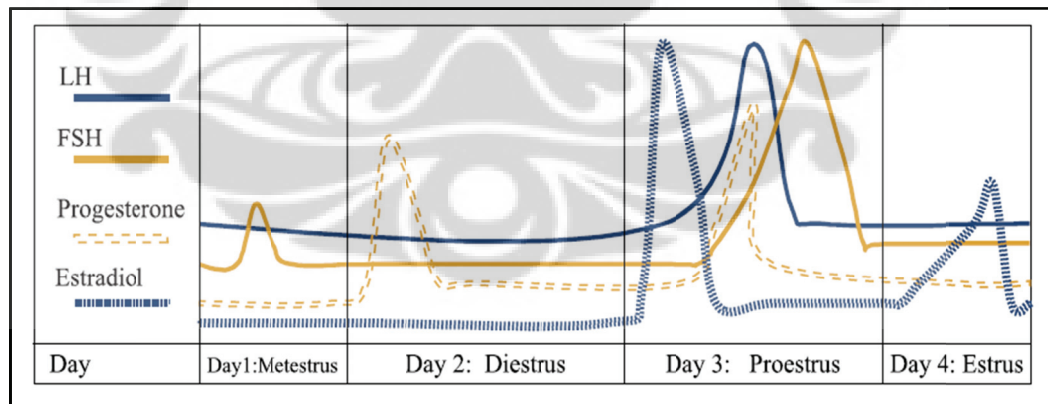
Darah memiliki fungsi penting bagi tubuh. Salah satunya alat transportasi, misalnya transportasi hormon saat siklus estrus pada tikus. Dalam kondisi siklus estrus, terjadi mekanisme umpan balik negatif maupun positif. Mekanisme tersebut melibatkan lima macam hormon, yaitu hormon pelepas gonadotropin

(GnRH) yang disekresikan oleh hipotalamus, hormon perangsang folikel (FSH) dan hormon luteinisasi (LH) yang dihasilkan pituitari anterior, serta hormon estrogen dan hormon progesteron disekresikan oleh ovarium (Gambar 2.3 (1)) (Chambel dkk. 2004: 163). Mekanisme tersebut memengaruhi kadar hormon pituitari dan hormon ovarium dalam plasma darah pada tikus sepanjang siklus estrus yang dapat dilihat pada Gambar 2.3 (2) (Emanuele dkk. 2002: 277).



Gambar 2.3 (1) Mekanisme umpan balik hormon reproduksi pada tikus betina

[Sumber: Chambel dkk. 2004: 163].



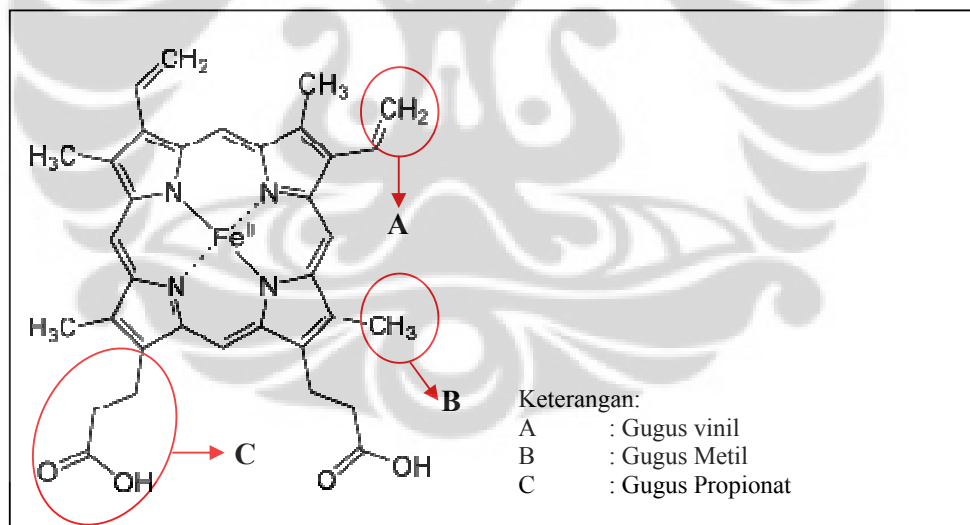
Gambar 2.3 (2) Profil hormon pituitari dan hormon ovarium dalam plasma darah tikus (*Rattus norvegicus*) sepanjang siklus estrusnya

[Sumber: Emanuele dkk. 2002: 277].

2.3.1 Hemoglobin

Hemoglobin merupakan suatu protein dalam sel darah merah yang membawa oksigen dari organ-organ pernapasan ke seluruh tubuh. Hemoglobin melepaskan oksigen untuk memetabolisme nutrisi sehingga menghasilkan energi (ADAM 2012: 1). Hemoglobin memiliki struktur molekul bulat dengan diameter 5,5 nm dan mampu mengikat 1,34 ml O₂ per gram hemoglobin (Fatoni 2007: 4).

Kapasitas hemoglobin untuk mengikat oksigen bergantung pada keberadaan gugus prostetik yang disebut heme. Gugus heme menyebabkan darah berwarna merah. Gugus heme terdiri dari komponen anorganik dan pusat atom besi. Selain itu, komponen organik dari hemoglobin disebut protoporfirin terbentuk dari empat cincin pirol yang dihubungkan oleh jembatan metena membentuk cincin tetrapirrol. Empat gugus metil, dua gugus vinil, dan dua sisi rantai propionat terpasang pada cincin tersebut (Gambar 2.3) (Fatoni 2007: 6).



Gambar 2.3 (3) Molekul hemoglobin

[Sumber: Basford 2001: 1].

2.4 SIKLUS ESTRUS PADA TIKUS

2.4.1 Pengertian Siklus Estrus

Siklus reproduksi adalah proses berulang yang terjadi pada sistem reproduksi hewan betina dewasa yang memperlihatkan perubahan organ-organ reproduksi tertentu. Organ-organ tersebut adalah organ-organ reproduksi, seperti ovarium, oviduk, uterus, dan vagina. Siklus reproduksi pada mamalia (primata) disebut dengan siklus menstruasi, sedangkan siklus reproduksi pada non-primata (tikus) disebut siklus estrus (Chambell dkk. 2004: 163).

Siklus estrus adalah proses berulang yang menggambarkan perubahan kadar hormon reproduksi yang disebabkan oleh aktivitas ovarium di bawah pengaruh hormon pituitari. Perubahan kadar hormon reproduksi selanjutnya menyebabkan perubahan struktur pada jaringan penyusun saluran reproduksi. Siklus estrus ditandai dengan adanya birahi pada hewan betina, sehingga akan bersifat reseptif terhadap hewan jantan pada saat estrus. Hal tersebut dikarenakan, di dalam ovarium terjadi pematangan sel telur dan uterus berada pada fase yang tepat untuk implantasi. Panjang siklus estrus pada tikus adalah 4—5 hari (Marcondes dkk. 2002: 602).

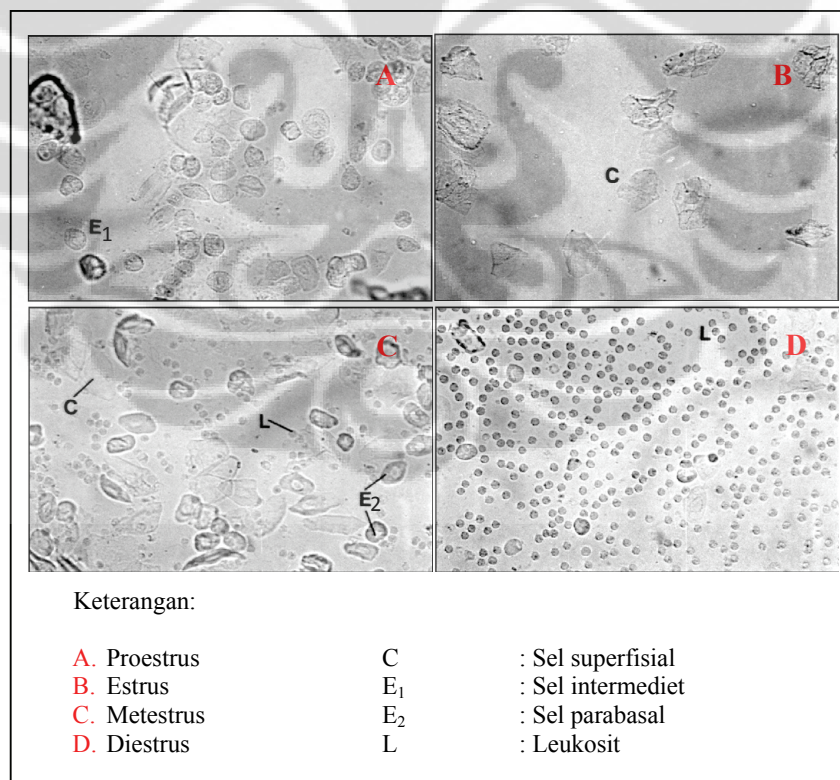
2.4.2 Proses Siklus Estrus

Siklus estrus dibedakan dalam 2 fase, yaitu fase folikular dan fase luteal. Fase folikular adalah pembentukan folikel sampai masak, sedangkan fase luteal adalah fase setelah ovulasi, kemudian terbentuknya korpus luteum dan sampai mulainya siklus. Siklus estrus terdiri dari 4 fase, yaitu proestrus, estrus, metestrus dan diestrus. Setiap fase dalam siklus ditentukan berdasarkan bentuk sel epitel (Gambar 2.4) pada pengamatan sitologi vagina. Hal tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.4 (Spornitz dkk. 1999: 117).

Tabel 2.4 Kriteria penentuan siklus estrus berdasarkan perubahan bentuk sel epitel

No.	Fase	Sel Epitel	Bentuk Sel	Leukosit
1.	Proestrus	Sel intermediet	Bulat, terdapat inti dan berbentuk oval dan berada di tengah sel.	Ada
2.	Estrus	Sel superfisial	Poligonal, pipih, sitoplasma luas, tidak berinti, pinggiran sel melipat.	Tidak ada
3.	Metestrus	Sel parabasal	Bulat, inti relatif besar dibandingkan sitoplasma	Ada
4.	Diestrus	Sel parabasal		Ada

(Bowen 1998: 1; Nadjamudin dkk. 2010: 82; Nalley dkk. 2011: 101).

Gambar 2.4 *Vaginal smear*

[Sumber: Marcondes dkk. 2002: 613].

2.5 HORMON PENGENDALI SIKLUS ESTRUS

Hormon adalah zat organik yang dihasilkan oleh kelenjar endokrin yang langsung dialirkan ke dalam peredaran darah dan memengaruhi organ target. Regulasi pada siklus estrus melibatkan interaksi resiprokal antara hormon reproduksi dari hipotalamus, hipofisis anterior, dan ovarium (Spornitz dkk. 1999: 117).

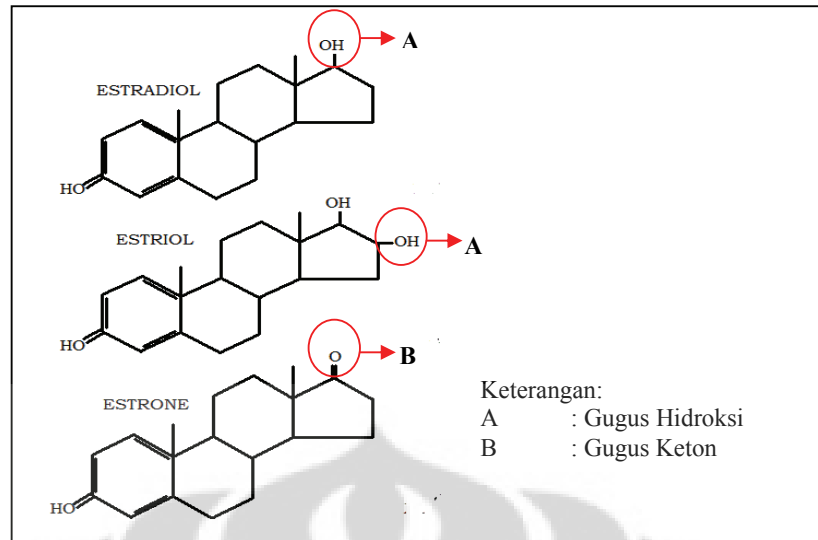
Hormon reproduksi yang berasal dari ovarium adalah hormon steroid. Hormon steroid sangat berperan penting dalam pengendalian siklus estrus. Hormon steroid merupakan lipid, turunan dari kolesterol, dan disekresikan oleh gonad, korteks adrenal, dan plasenta. Secara umum, fungsi hormon adalah mempertahankan keseimbangan atau homeostasis tubuh, membantu tubuh bereaksi secara tepat terhadap stres (bekerja sama dengan sistem saraf), mengatur pertumbuhan dan perkembangan tubuh, dan mengontrol perkembangan seksual dan reproduksi.

Hormon steroid yang terlibat dalam siklus estrus yang dihasilkan oleh ovarium, yaitu:

a. Estrogen

Estrogen adalah senyawa steroid yang berfungsi sebagai hormon reproduksi pada betina. Hormon tersebut bertanggung jawab untuk pertumbuhan dan perkembangan vagina, uterus, dan organ penting untuk transportasi ovum, pematangan zigot, dan konsepsi implantasi zigot. Selain itu, hormon tersebut menyebabkan perkembangan dan mempertahankan tanda-tanda kelamin sekunder pada tikus betina, seperti kelenjar mammae, dan juga terlibat dalam penebalan endometrium maupun dalam pengaturan siklus estrus. Estrogen memengaruhi distribusi pengendapan lemak pada tikus betina yang telah melewati masa pubertas (*postadolescent*). Oleh karena itu, kandungan estrogen jauh lebih tinggi dalam tubuh tikus betina yang berada pada usia subur (Hadley 2000: 454).

Tiga jenis estrogen utama yang terdapat secara alami dalam tubuh betina adalah estron (E_1), estradiol (E_2), dan estriol (E_3). Ketiga jenis estrogen tersebut dibuat dari androgen dengan bantuan enzim aromatase dalam tubuh. Estradiol dibuat dari testosteron, sedangkan estron dibuat dari androstenedion. Estron tersebut bersifat lebih lemah daripada estradiol (Hadley 2000: 454).



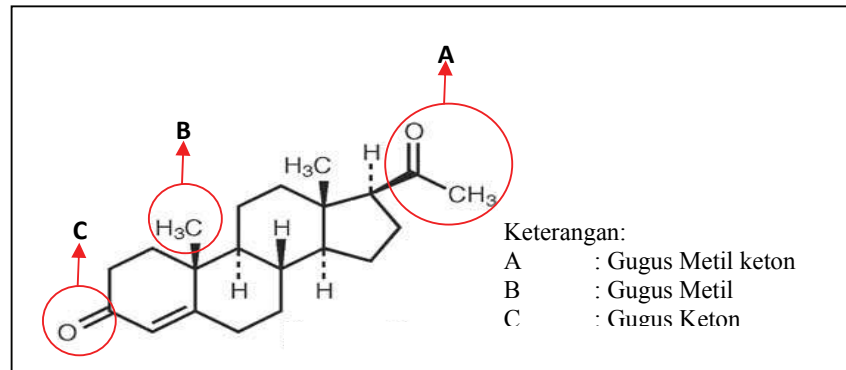
Gambar 2.5 (1) Struktur kimia jenis-jenis estrogen

[Sumber: Brock 2012:1].

b. Progesteron

Progesteron adalah hormon steroid yang terlibat dalam siklus estrus dan kehamilan. Progesteron termasuk kelas hormon progestagen. Progesteron diproduksi oleh korpus luteum dalam ovarium setelah ovulasi dan dalam kelenjar adrenal yang terletak di dekat ginjal, serta di dalam plasenta selama kehamilan (Hadley 2000: 454).

Progesteron bertanggung jawab mempersiapkan sistem reproduksi untuk implantasi zigot. Hal tersebut menunjukkan bahwa progesteron yang berada pada plasma preovulatori dapat memicu perilaku seksual pada beberapa spesies. Progesteron memiliki peranan dominan dalam mengatur siklus estrus (Hadley 2000: 454). Kadar progesteron dalam darah tikus pada awal siklus estrus kurang dari 5 ng/ml, setelah ovulasi kadarnya lebih dari 5 ng/ml (Cameron & Scarisbrick 1973: 1403).



Gambar 2.5 (2) Struktur kimia progesteron

[Sumber: Hill 2010: 1].

2.6 METODE PENGUMPULAN DARAH

Metode pengumpulan darah dari tikus (*Rattus norvegicus*) betina virgin galur Sprague-Dawley sangat beragam. Berikut adalah beberapa contoh yang umum digunakan:

1. *Orbital puncture*

Metode pengumpulan darah dari pleksus orbital tikus dengan menggunakan tabung hematokrit. Metode tersebut mampu mengumpulkan darah sebanyak 1—2 mL. Namun, kurangnya pengalaman dan keterampilan dapat menyebabkan pendarahan dari pleksus orbital, bahkan dapat mengalami kebutaan pada tikus (Joslin 2009:126).

2. *Saphenous vein*

Metode pengumpulan darah dari *saphenous vein* bagian ektriminitas belakang tikus menggunakan jarum suntik berukuran 22—23 Gauge. Darah yang dapat dikumpulkan dari metode tersebut sebanyak 1 ml. Metode tersebut harus memiliki keterampilan dalam pemangkasan rambut pada bagian yang akan diambil darahnya (Joslin 2009: 128).

3. *Tail Clipping*

Metode pengumpulan darah dengan cara pemotongan ekor tikus sepanjang 1 mm sampai 2 mm. Darah yang terkumpul dari metode tersebut sebanyak 1ml. Kekurangan dari metode tersebut adalah hanya bagian yang berdaging dari ujung ekor saja yang dapat dipotong dan tidak ada struktur rangka (Joslin 2009: 127).

Universitas Indonesia

BAB 3 METODOLOGI

3.1 LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN

Lokasi penelitian dilakukan di Rumah Rodensia dan Laboratorium Biologi Perkembangan Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia, serta Laboratorium Kimia Afiliasi Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia (FMIPA UI) untuk analisis FTIR. Penelitian ini membutuhkan waktu selama 6 bulan (Juli—Desember 2011)

3.2 ALAT

Alat yang digunakan dalam pembuatan preparat olesan adalah gelas objek [SAIL BRAND] dan mikroskop elektron [Nikon SE]. Alat yang digunakan untuk pengambilan sampel darah adalah gunting, baki parafin, *microtube* [Axygen], dan lemari pendingin [Toshiba]. Alat yang digunakan untuk analisis masa estrus adalah *Fourier Transform Infrared* (FTIR) IR Prestige-21 [Shimadzu], *assembly cell (cell frame, window ZnSe, rubber backing dan screw)*, mikropipet [Bio-Rad], tips, dan kamera digital Casio Computer Co.,Ltd model EX-Z90.

3.3 BAHAN

Bahan penelitian yang diambil untuk pengamatan sitologi tikus adalah sampel jaringan epitel vagina tikus. Bahan yang digunakan dalam pemeriksaan sampel sitologi tikus di laboratorium adalah *cutton bud*, giemsa [MERCK], dan alkohol absolut [MERCK]. Bahan yang digunakan untuk pengambilan sampel darah adalah sarung tangan [REMEDI], masker [FACE MASK], aquades, kapas, alkohol 70% [IKA], dan EDTA.

3.4 CARA KERJA

3.4.1 Hewan Uji

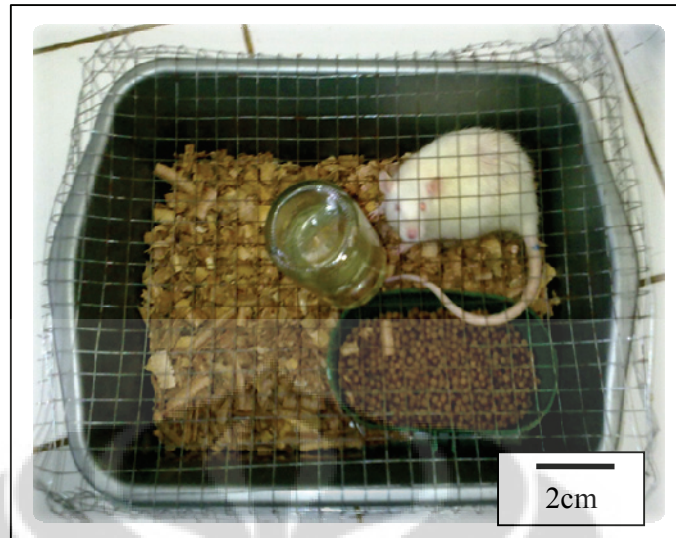
Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina virgin galur Sprague-Dawley sebanyak 10 ekor, berumur 2—3 bulan dengan berat badan 150—200 gram. Pengamatan berat badan dilakukan selama sepuluh hari atau sekitar dua minggu atau sampai dengan berat badan stabil.

3.4.2 Pemeliharaan tikus (*Rattus norvegicus*) betina virgin galur Sprague-Dawley

Tikus (*Rattus norvegicus*) betina virgin galur Sprague-Dawley sebagai hewan uji dipelihara sesuai dengan syarat pemeliharaan hewan penelitian, agar kondisinya tetap sehat. Selama penelitian hal-hal yang harus diperhatikan dalam pemeliharaan tikus yaitu kandang, pemberian makanan, dan minuman.

Kandang tikus disusun di atas rak yang terdapat di dalam rumah rodensia. Kandang tikus terbuat dari bak plastik berukuran 45 x 28 x 13 cm. Bak tersebut di tutup dengan kawat dengan jarak kawat kandang 1 cm x 1 cm. Bak plastik yang digunakan berjumlah sepuluh buah. Setiap bak berisi satu ekor tikus. Selain berisi tikus, bak tersebut diisi dengan serabut gergaji sebagai alas tidur bagi tikus, makanan dan minuman (Gambar 3.4 (1)). Bak tersebut dibersihkan setiap dua hari sekali. Kandang tikus mendapatkan sumber cahaya dari lampu yang ada di rumah rodensia selama 12 jam. Sirkulasi udara pada ruangan tersebut diatur dengan *exhaust fan*.

Tikus diberi makanan berupa pelet yang berasal dari BONSAI PS di Jl. Arief Rahman Hakim No. 1, Depok. Makanan diberikan setiap dua hari sekali. Air yang diberikan adalah air keran yang telah matang dimasukkan dalam botol kaca berukuran 140 ml, yang bagian penutupnya telah dilubangi sehingga memudahkan tikus untuk minum dan kandang pun tidak cepat kotor, karena tumpahnya air.



Gambar 3.4 (1) Kandang tikus

[Sumber: Dokumentasi pribadi 2011].

3.4.3 Pemberian Tanda pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina virgin galur Sprague-Dawley

Tikus yang akan digunakan untuk penelitian diberi tanda untuk membedakan satu sama lain. Masing-masing tikus diberi kode T_1 — T_{10} . Penanda tersebut bertujuan untuk mencegah tertukarnya tikus satu dengan yang untuk penanda pengambilan sampel darah tidak tertukar.

3.4.4 Penimbangan tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina virgin galur Sprague-Dawley

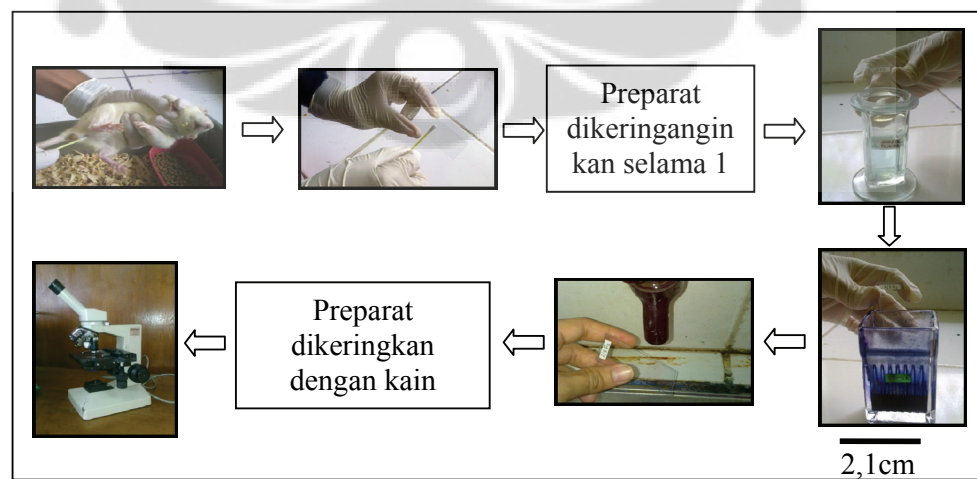
Penimbangan bobot tikus dilakukan setiap tiga hari sekali dengan alat timbang digital [AND SA 516] yang dilakukan dari pukul 09.00—11.00 WIB selama lebih kurang sepuluh hari. Penimbangan tersebut berfungsi untuk memantau tikus telah atau belum teradaptasi pada habitat baru. Berat badan tikus T_1 — T_{10} berkisar antara 150,8 g —238,0 g menunjukkan bahwa berat badan tikus telah stabil dan dinyatakan telah teradaptasi dengan baik pada habitat baru, serta sesuai dengan berat badan tikus betina normal (Sophia 2003: 10—11; Sihombing

2010: 34). Hasil penimbangan berat badan selama masa adaptasi dapat dilihat pada Lampiran I.

3.4.5 Pengambilan Sampel Sitologi dan Pewarnaan Preparat Ulas Vagina

Sampel sitologi mulai diambil setiap hari pada pukul 09.00—11.00 WIB selama tiga siklus estrus. Sampel diperoleh dengan mengambil jaringan epitel vagina tikus. Pertama, alat dan bahan disiapkan. Sebuah *cotton bud* yang telah dibasahi dengan larutan NaCl (Nalley dkk. 2011: 99) diambil dan dimasukkan ke dalam vagina tikus betina dengan sudut $\pm 45^\circ$ dan diusap sebanyak 1-2 kali putaran. Hasil ulasan dari *cotton bud* dioleskan pada gelas objek dan dikeringanginkan, selanjutnya dilakukan pewarnaan pada preparat ulasan. Setiap hari pengambilan sampel ulas vagina dibuat sebanyak 20 preparat ulasan (Nadjamudin dkk. 2010: 82).

Preparat ulasan yang telah kering dimasukkan ke dalam larutan alkohol absolut untuk difiksasi selama 3 menit, kemudian diangkat, dicuci dengan air mengalir, dan dikeringkan. Selanjutnya, preparat tersebut dimasukkan ke dalam larutan Giemsa selama 15 menit, kemudian diangkat dan dibilas dengan air yang mengalir, lalu dikeringanginkan. Diamati morfologi sel epitel di bawah mikroskop dengan perbesaran 100 kali dan 400 kali dan dicatat (Gambar 3.4 (2)) (Nadjamudin dkk. 2010: 82).

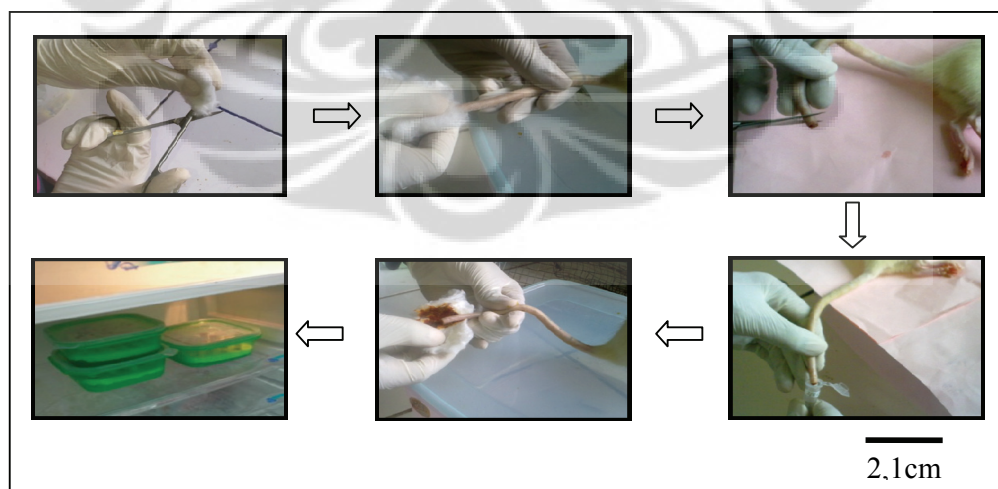


Gambar 3.4 (2) Proses pengambilan sampel sitologi dan pewarnaan preparat [Sumber: Dokumentasi pribadi 2011].

3.4.6 Pengambilan Sampel Darah

Sampel darah tikus diambil setelah pengamatan sitologi vagina tikus yang memperlihatkan tanda-tanda estrus. Pengambilan sampel darah dilakukan sepanjang siklus estrus dengan menggunakan metode *tail clipping*.

Langkah-langkah metode *tail clipping*, yaitu diawali dengan menempatkan tikus pada kotak plastik berisi kapas yang telah diberi eter, sebagai alat pembius. Gunting yang akan digunakan dibersihkan terlebih dahulu dengan menggunakan alkohol 70%. Setelah tikus tidak sadar, tikus dikeluarkan dari kotak plastik, lalu ekor yang akan dipotong dibersihkan terlebih dahulu dengan alkohol 70%, kemudian dipotong sepanjang 1 sampai 2 mm dari ujung ekor dengan menggunakan gunting yang telah steril. Darah yang keluar ditampung ke *microtube* yang telah diberi EDTA sebanyak 1ml. Kemudian, dilakukan *recovery* dengan pemberian kasa kering, lalu ditahan dalam beberapa menit untuk menghentikan pendarahan. Bagian yang terluka ditutup dengan kapas kering, agar mencegah terjadinya infeksi. Selanjutnya, sampel dalam *microtubes* dimasukkan ke dalam lemari pendingin bersuhu 8°C (Gambar 3.4 (3)) (Smith 2008: 6; Joslin 2009: 127).



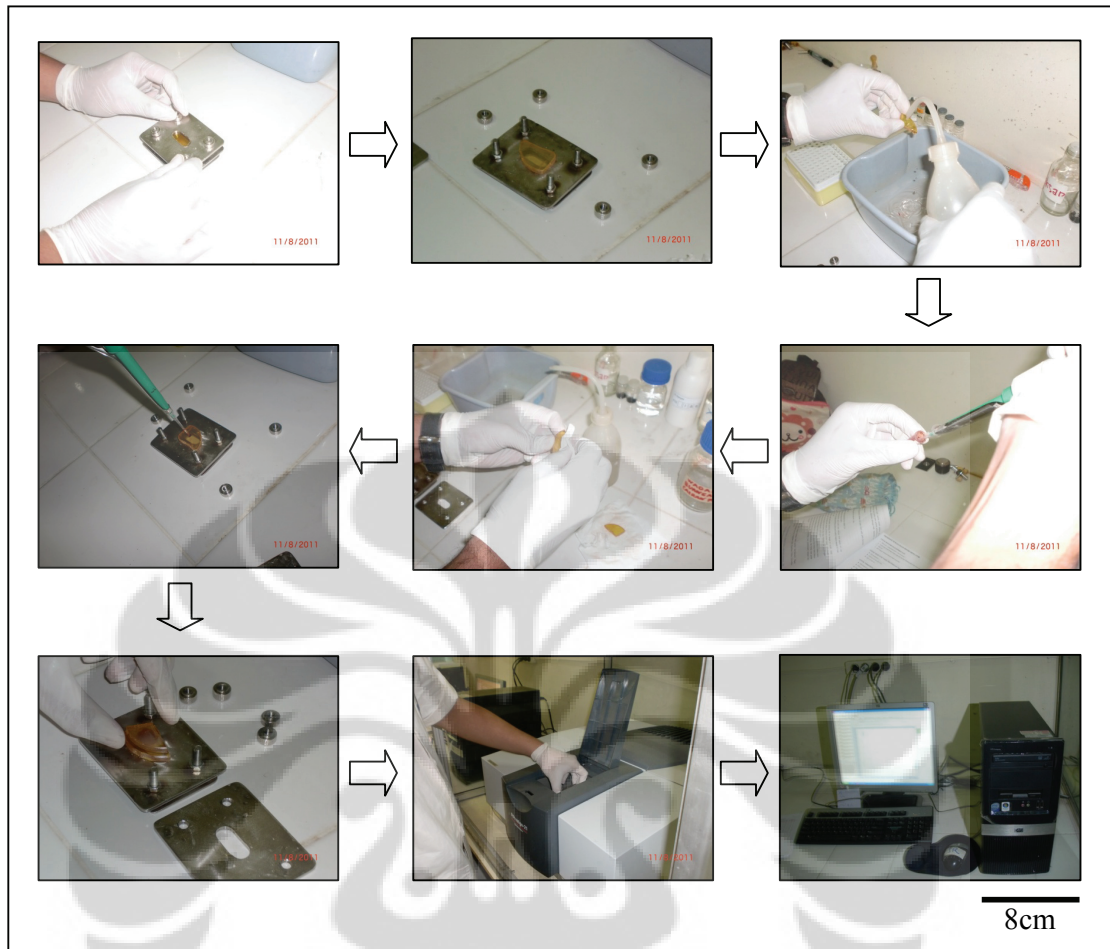
Gambar 3.4 (3) Proses pengambilan sampel darah

[Sumber: Dokumentasi pribadi 2011].

3.4.7 Analisis Hormon Estrogen dan Hormon Progesteron

Analisa kadar hormon estrogen dan hormon progesteron dilakukan dengan menggunakan *Fourier Transform Infrared* (FTIR). Langkah awal dalam analisis hormon estrogen dan hormon progesteron adalah menyiapkan semua peralatan dan bahan, lalu disimpan di atas meja kerja. Selanjutnya, FTIR dinyalakan, ketika kompartemen sampel dalam keadaan kosong. Kemudian, komputer dan program *IR solution* dijalankan. Blanko kemudian dibuat dengan menempatkan *assembly cell* tanpa sampel pada kompartemen sampel FTIR. Analisis sampel kemudian dilakukan setelah spektrum FTIR dari blanko tertampil.

Assembly cell tersusun atas *cell frame*, *window ZnSe*, *rubber backing*, dan *screw*. Komponen-komponen tersebut digunakan untuk analisis sampel berwujud cair. *Assembly cell* dirakit dengan prosedur. Prosedur dari Komponen *Assembly cell* dibuka dengan memutar sekrup. Setelah semua sekrup terbuka, maka akan salah satu *cell frame* dibuka, lalu akan terlihat *window ZnSe* berwarna kuning bening. *Window znSe* dicuci dengan aquades, lalu diletakkan di atas *cell frame* kembali. Sampel darah sebanyak 0,5 μ l diambil menggunakan pipet mikro, kemudian diteteskan pada bagian tengah *window ZnSe*. *Window ZnSe* kemudian ditumpuk dengan *window ZnSe* yang lainnya sehingga darah menyebar dan membentuk lapisan tipis. *Rubber backing* kemudian diletakkan diatas tumpukkan *window ZnSe*, kemudian ditutup dengan *cell frame* dan *screw*. *Assembly cell* kemudian ditempatkan pada kompartemen sampel FTIR dan selanjutnya dipindai pada bilangan gelombang 400—4000 cm^{-1} . Hasil pemindaian berupa spektrum FTIR, kemudian digunakan untuk interpretasi data yang akan terlihat pada monitor komputer (Gambar 3.4 (4)).



Gambar 3.4 (4) Proses analisis hormon estrogen dan progesterone menggunakan *Fourrier Transform Infrared* (FTIR)

[Sumber: Dokumentasi pribadi 2011].

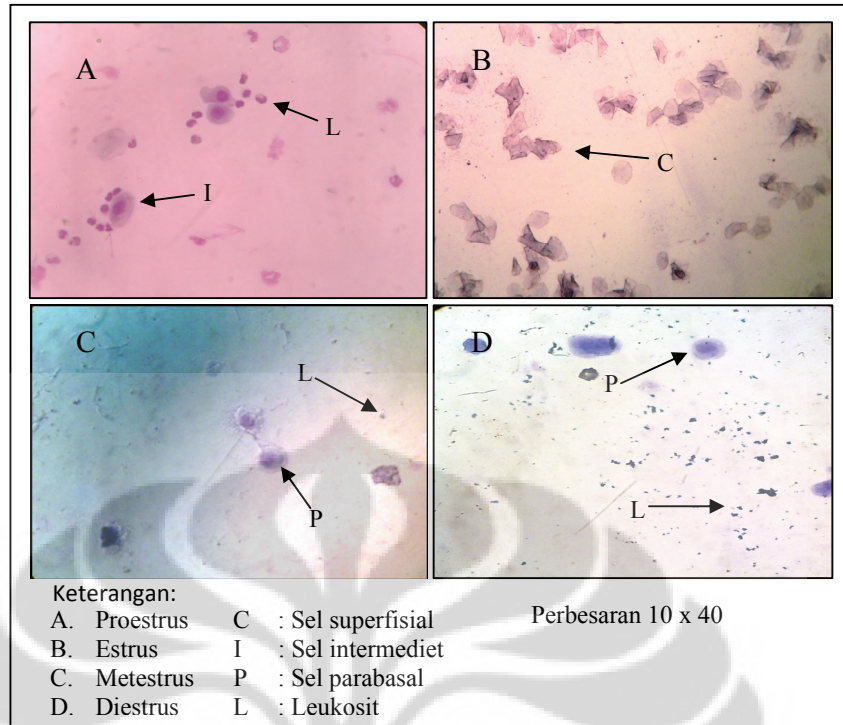
BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penentuan fase dalam siklus estrus

Hasil pengamatan preparat ulas vagina memperlihatkan bahwa kumpulan sel epitel saat fase proestrus terdapat sel intermediet dan leukosit di sekeliling sel. Sel intermediet dan sel parabasal telah menjadi sel superfisial, tidak berinti, dan sudah tidak terdapat leukosit di sekitar sel saat fase estrus. Fase metestrus memperlihatkan adanya sel parabasal dan leukosit. Fase diestrus memperlihatkan terdapat sel parabasal dan leukosit yang jumlah lebih banyak dibandingkan fase proestrus dan metestrus. Rangkaian fase tersebut berlangsung selama 4—5 hari (Marcondes dkk. 2002: 610; Westwood 2002: 360—380). Hasil pengamatan dapat dilihat pada Gambar 4.1.

Hanya enam ekor tikus memperlihatkan tahapan fase siklus estrus yang sesuai dengan hasil pengamatan. Empat tikus lainnya tidak memperlihatkan siklus estrus yang fluktuatif. Hal tersebut disebabkan, sel tidak mengalami perubahan bentuk sesuai dengan siklus estrus, contoh tikus T₇ mengalami fase nonestrus yang berkepanjangan, yaitu selama 192 jam atau sekitar 8 hari berturut-turut. Begitu pula yang terjadi pada T₈, T₉, dan T₁₀. Hal tersebut tidak sesuai dengan pernyataan Champlin dkk. (1973:492—494) bahwa fase estrus normal terjadi selama 24—30 jam atau sekitar 1 hari dan fase nonestrus selama 90 jam atau sekitar 4 hari dalam satu siklusnya. Hal tersebut terjadi, karena tikus mengalami stres sehingga memengaruhi respon fisiologis tikus betina, terutama siklus estrus. Penyebab stres pada tikus disebabkan kondisi kandang yang kurang baik saat pemeliharaan tikus (Gordon 1993: 2; Wulandari 2008: 12). Oleh karena itu, hanya sampel darah dari enam ekor saja (T₁—T₆) yang dilakukan analisis hormon ovarinya dengan menggunakan FTIR.



Gambar 4.1 Hasil pengamatan *vaginal smear* sepanjang siklus estrus pada tikus (*Rattus norvegicus*) betina Galur Sprague-Dawley

[Sumber Dokumentasi pribadi 2011].

4.2 Analisis hormon estrogen dan progesteron dari sampel darah melalui spektrum *Fourier Transform Infrared* (FTIR)

Fourier Transform Infrared dalam penelitian ini digunakan untuk menganalisis kadar hormon ovarium dalam sampel darah yang diambil sepanjang tiga siklus estrus dari enam ekor tikus. Sampel darah yang dianalisis seluruhnya berjumlah 60 sampel, berasal dari 6 sampel T₁, 13 sampel T₂, 13 sampel T₃, 10 sampel T₄, 7 sampel T₅, dan 11 sampel T₆. Hasil analisis berupa spektrum FTIR yang berkisar pada bilangan gelombang 400—4000 cm⁻¹. Spektrum tersebut terdiri dari puncak-puncak. Contoh spektrum FTIR hasil dari sekali analisis sampel darah tikus (*Rattus norvegicus*) betina dapat dilihat pada Lampiran 2.

4.2.1 Penentuan gugus fungsi spesifik estrogen

Berdasarkan spektrum hasil analisis FTIR dapat ditentukan gugus fungsi spesifik estrogen. Jenis estrogen yang dideteksi dalam penelitian ini adalah estradiol. Estradiol memiliki gugus fungsi spesifik, yaitu gugus metil (CH_3), gugus hidroksi (OH), dan gugus aromatik (C_6H_6) (Gambar 4.3.1) (Smith 1979: 281—282). Namun, estradiol tidak dapat diidentifikasi. Kemungkinan karena kadar estradiol terlalu rendah dalam darah berkisar antara 100—800 pg/ml (Tepperman 1973: 89) dan kemungkinan sensitivitas FTIR tidak mampu mendeteksi keberadaan estradiol. FTIR hanya memiliki kemampuan mendeteksi suatu gugus fungsi spesifik dari suatu senyawa dari bilangan gelombang 10—13.000 cm^{-1} . Bilangan gelombang tersebut setara dengan 2,5—1.000 μm (Geballe dkk. 1996: 102). Oleh karena itu, perlu dilakukannya metode lanjutan untuk memekatkan sampel hingga dapat diidentifikasi dengan FTIR.



Gambar 4.2.1 Gugus fungsi spesifik estrogen

[Sumber: Andrews 2009:1].

4.2.2 Penentuan gugus fungsi spesifik progesteron

Identifikasi progesteron ditentukan berdasarkan gugus fungsi spesifiknya melalui spektrum hasil analisis FTIR. Gugus fungsi yang menandakan progesteron yaitu gugus keton (CO), gugus metil (CH_3), dan gugus metil keton (COCH_3) (Gambar 2.5.2). Ketiga gugus fungsi tersebut dapat diidentifikasi pada bilangan gelombang tertentu pada spektrum hasil analisis FTIR. Gugus keton berada pada bilangan gelombang 1707—1726 cm^{-1} , gugus metil terdapat di

1375—1383 cm^{-1} , dan gugus metil keton di 1350—1369 cm^{-1} (Smith 1979: 281—282).

Kisaran bilangan gelombang dari masing-masing gugus fungsi spesifik progesteron telah ditentukan, selanjutnya penentuan bilangan gelombang spesifiknya dengan cara mengubah hasil spektrum FTIR ke dalam bentuk kumpulan data numerik yang akan diolah dengan menggunakan program Microsoft Office Excel 2007. Salah satu contoh bentuk kumpulan data numerik dapat dilihat pada Lampiran 3.

Kumpulan data numerik terdiri dari bilangan gelombang, nilai absorbansi, dan keterangan gugus fungsi spesifik progesteron. Nilai absorbansi yang berada pada kisaran bilangan gelombang gugus fungsi spesifik progesteron direrata dan ditentukan standar deviasinya. Bilangan gelombang yang memiliki standar deviasi terkecil dijadikan bilangan gelombang spesifik dari gugus fungsi spesifik progesteron. Bilangan gelombang spesifik tersebut, yaitu 1726 cm^{-1} (keton), 1375 cm^{-1} (metil), dan 1350 cm^{-1} (metil keton) (Sjahfirdi dkk. 2011a: 543).

Berdasarkan bilangan gelombang spesifik gugus fungsi spesifik keton, metil, dan metil keton dari setiap tikus ditentukan nilai absorbansi minimal dan maksimal sepanjang tiga siklus estrus, lalu direrata. Nilai minimal menunjukkan nilai absorbansi saat estrus dan nilai maksimal menunjukkan nilai absorbansi saat nonestrus, sehingga didapat nilai absorbansi saat estrus dan nonestrus ketiga gugus fungsi spesifik progesteron sepanjang tiga siklus estrus.

Berdasarkan Tabel 4.2.2 menunjukkan bahwa pada siklus estrus ke I diperoleh nilai absorbansi saat estrus dan nonestrus untuk gugus keton, metil, dan metil keton berturut-turut adalah 0,123% dan 0,436%; 0,086% dan 0,401%; 0,097% dan 0,394%. Siklus estrus ke II diperoleh nilai absorbansi saat estrus dan nonestrus untuk gugus keton, metil, dan metil keton berturut-turut adalah 0,113% dan 0,446%; 0,076% dan 0,385%; dan 0,067% dan 0,444%. Siklus estrus ke III diperoleh nilai absorbansi saat estrus dan nonestrus pada gugus keton, metil, dan metil keton berturut-turut adalah 0,162% dan 0,653%; 0,138 % dan 0,554%; 0,119% dan 0,635%.

Tabel. 4.2.2 Nilai absorbansi gugus fungsi spesifik progesteron sepanjang tiga siklus estrus pada enam ekor tikus

Tikus	Siklus Estrus ke I						Siklus Estrus ke II						Siklus Estrus ke III					
	Keton		Metil		Metil keton		Keton		Metil		Metil keton		Keton		Metil		Metil keton	
	Min.	Maks.	Min.	Maks.	Min.	Maks.	Min.	Maks.	Min.	Maks.	Min.	Maks.	Min.	Maks.	Min.	Maks.	Min.	Maks.
1	0,107	0,513	0,103	0,515	0,084	0,491	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	0,24	0,416	0,223	0,457	0,202	0,421	0,120	0,374	0,109	0,413	0,098	0,328	0,142	0,629	0,104	0,415	0,084	0,604
3	0,16	0,588	0,011	0,651	0,138	0,603	0,152	0,653	0,140	0,680	0,125	0,653	0,182	0,676	0,171	0,693	0,154	0,665
4	0,131	-	0,065	0,070	0,061	0,153	0,142	0,370	0,006	0,008	0,003	0,383	-	-	-	-	-	-
5	0,025	0,334	0,018	0,035	0,006	0,341	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	0,076	0,327	0,095	0,361	0,088	0,354	0,036	0,385	0,050	0,438	0,043	0,411	-	-	-	-	-	-
Rerata	0,123	0,436	0,086	0,401	0,097	0,394	0,113	0,446	0,076	0,385	0,067	0,444	0,162	0,653	0,138	0,554	0,119	0,635
SD	0,074	0,114	0,077	0,196	0,067	0,153	0,053	0,138	0,060	0,279	0,055	0,144	0,028	0,033	0,047	0,197	0,049	0,043

Keterangan:

Min : Nilai absorbansi saat estrus

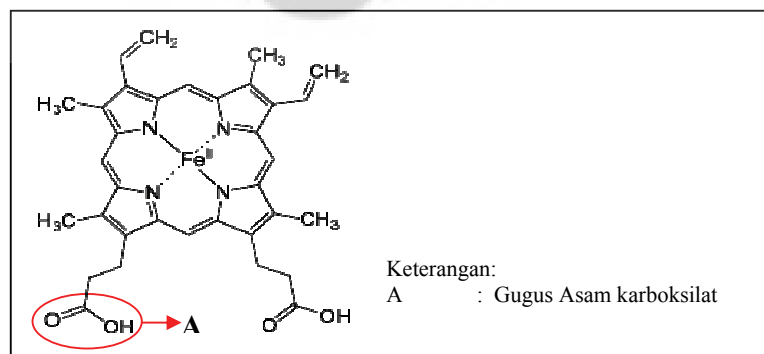
Maks : Nilai absorbansi saat nonestrus

4.2.3 Penentuan gugus fungsi spesifik hemoglobin

Sampel darah yang berasal dari enam ekor tikus memiliki variasi dalam populasi. Oleh karena itu, perlu dicari suatu faktor koreksi yang tidak dipengaruhi oleh fluktuasi kadar hormon sepanjang siklus estrus. Umumnya dalam darah menggunakan hemoglobin, sehingga perlu dicari gugus fungsi spesifik dari hemoglobin.

Penanda utama untuk mengidentifikasi hemoglobin dari spektrum FTIR adalah gugus fungsi asam karboksilat (COOH). Gugus asam karboksilat tersebut tidak terdapat pada spektrum FTIR dari gugus fungsi senyawa estrogen dan progesteron sehingga menjadi gugus spesifik dari hemoglobin. Gugus asam karboksilat dapat diidentifikasi pada kisaran bilangan gelombang 1396—1440 cm^{-1} melalui hasil spektrum FTIR (Smith 1979: 281—282). Setelah diketahui kisaran bilangan gelombang gugus asam karboksilat, selanjutnya penentuan bilangan gelombang spesifik dari gugus asam karboksilat. Penentuan bilangan gelombang spesifik gugus asam karboksilat dilakukan dengan cara yang sama dalam penentuan bilangan gelombang spesifik pada ketiga gugus fungsi spesifik progesteron.

Berdasarkan hasil dari perhitungan rerata dan standar deviasi pada kisaran bilangan gelombang gugus asam karboksilat, bahwa bilangan gelombang 1425 cm^{-1} dipilih sebagai gugus fungsi spesifik dari asam karboksilat, karena memiliki rerata nilai absorbansi kecil sepanjang siklus estrus dengan standar deviasi terkecil (Smith 1979: 281—282).



Gambar 4.2.3 (1) Gugus spesifik hemoglobin

[Sumber: Basford 2001: 1].

Nilai absorbansi gugus asam karboksilat pada bilangan gelombang 1425 cm^{-1} dari setiap ekor tikus di rerata, sehingga mendapatkan nilai absorbansi 0,234 % (tikus T₁); 0,337 % (tikus T₂); 0,361 % (tikus T₃); 0,115 % (tikus T₄); 0,152 % (tikus T₅); dan 0,347 % (tikus T₆) (Lampiran 4). Nilai-nilai absorbansi tersebut direrata kembali untuk diperoleh nilai absorbansi hemoglobin. Nilai hemoglobin absorbansi tersebut yang dijadikan faktor koreksi intrapopulasi. Berdasarkan hasil perhitungan, didapat nilai absorbansi hemoglobin sebesar 0,258 %.

Tabel 4.2.3.1 Nilai absorbansi hemoglobin

Tikus	Nilai absorbansi (%)
1	0,234
2	0,337
3	0,361
4	0,115
5	0,152
6	0,347
Rerata	0,258
SD	0,107

Nilai absorbansi gugus spesifik progesteron di setiap siklus estrus (Tabel 4.2.2) direlatifkan terhadap nilai absorbansi hemoglobin, sehingga didapat nilai absorbansi dalam satuan %Hb (Tabel 4.2.3.2). Nilai minimal menunjukkan nilai absorbansi saat estrus dan nilai maksimal menunjukkan nilai absorbansi saat nonestrus.

Perolehan nilai absorbansi yang telah direlatifkan terhadap nilai absorbansi hemoglobin (Tabel 4.2.3.2), sebagai berikut: nilai absorbansi gugus keton, metil, dan metil keton berturut-turut sepanjang siklus estrus ke I pada saat estrus dan nonestrus adalah 0,477% Hb dan 1,690% Hb; 0,333% Hb dan 1,554% Hb; 0,376% Hb dan 1,527% Hb. Sepanjang siklus ke II nilai absorbansi saat estrus dan nonestrus untuk gugus keton, metil, dan metil keton berturut-turut adalah 0,438% Hb dan 1,729% Hb; 0,295% Hb dan 1,492% Hb; 0,260% Hb dan 1,721% Hb. Selanjutnya, nilai absorbansi gugus keton, metil, dan metil keton berturut-turut sepanjang siklus estrus ke III pada saat estrus dan nonestrus adalah 0,628% Hb dan 2,531% Hb; 0,535% Hb dan 2,147% Hb; 0,461% Hb dan 2,461% Hb.

Tabel. 4.2.3.2 Nilai absorbansi dalam % Hb

Siklus	Nilai Absorbansi (% Hb)					
	Keton		Metil		Metil keton	
	Min.	Maks.	Min.	Maks.	Min.	Maks.
I	0,477	1,690	0,333	1,554	0,376	1,527
II	0,438	1,729	0,295	1,492	0,260	1,721
III	0,628	2,531	0,535	2,147	0,461	2,461

Nilai absorbansi dalam %Hb dapat dikonversi ke dalam konsentrasi (ng/ml). Satu persen relatif progesteron melalui FTIR ekuivalen dengan konsentrasi progesteron 20, 625 ng/ml (Sjahfirdi dkk. 2011a: 544).

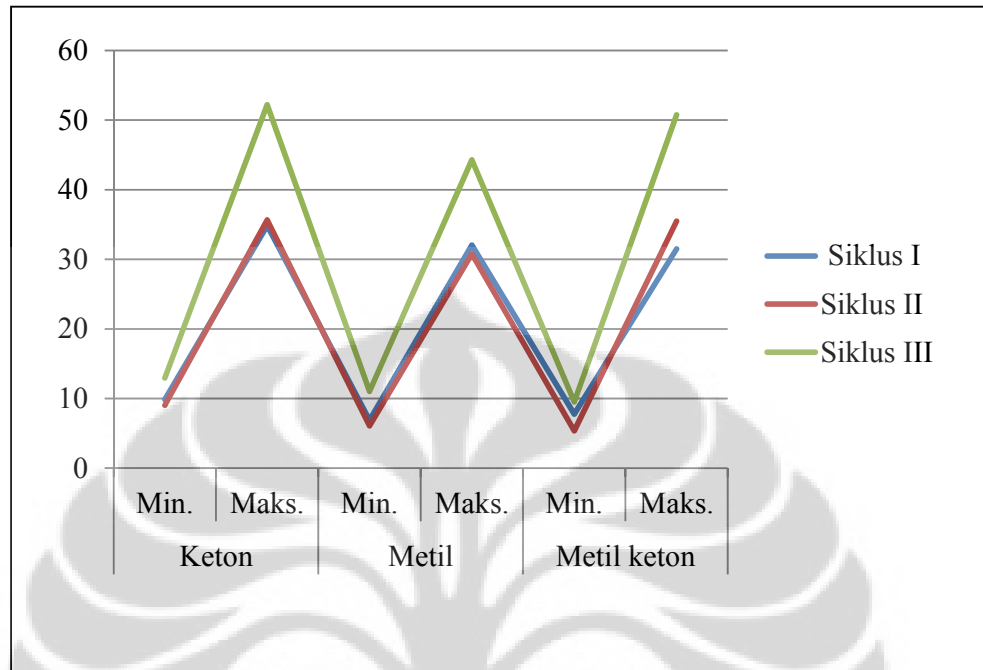
Tabel. 4.2.3.3 Nilai gugus fungsi spesifik progesteron dalam konsentrasi (ng/ml)

Siklus	Konsentrasi (ng/ml)					
	Keton		Metil		Metil keton	
	Min.	Maks.	Min.	Maks.	Min.	Maks.
I	9,859	34,856	6,868	32,051	7,755	31,494
II	9,034	35,661	6,084	30,773	5,363	35,496
III	12,953	52,202	11,034	44,282	9,508	50,758

Berdasarkan Tabel 4.3.3.3 memberikan hasil nilai absorbansi yang telah dikonversi dalam konsentrasi (ng/ml), yaitu konsentrasi gugus keton, metil, dan metil keton berturut-turut sepanjang siklus estrus ke I berkisar antara 9,859—34,856 ng/ml; 6,868—32,051 ng/ml; 7,755—31,494 ng/ml. Konsentrasi gugus keton, metil, dan metil keton berturut-turut sepanjang siklus estrus ke II berkisar antara 9,034—35,661 ng/ml; 6,084—30,773 ng/ml; 5,363—36,35,496 ng/ml. Konsentrasi gugus keton, metil, dan metil keton berturut-turut sepanjang siklus estrus ke III berkisar antara 12,953—52,202 ng/ml; 11,034—44,282 ng/ml; 9,508—50,758 ng/ml.

Nilai absorbansi pada Tabel. 4.2.3.3 dapat diubah dalam bentuk grafik (Gambar 4.3.3 (2)). Berdasarkan grafik tersebut menunjukkan kadar keton, metil, dan metil keton sepanjang tiga siklus estrus sesuai dengan teori bahwa kadar progesteron bahwa konsentrasi progesteron selama estrus rendah, sedangkan saat nonestrus meningkat. Perbandingan konsentrasi progesteron saat estrus dan nonestrus pada berkisar empat kalinya (Fried & Hademenos 1999: 146). Dengan

demikian, metode FTIR mampu mengukur kadar hormon reproduksi sepanjang siklus estrus tikus.



Gambar 4.2.3 (2) Grafik konsentrasi gugus fungsi spesifik progesteron

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. *Fourrier Transform Infrared* (FTIR) dapat mendeteksi kadar gugus-gugus spesifik progesteron sepanjang siklus. Kadar yang berfluktuasi sepanjang siklus estrus berkisar antara berkisar antara 12,135—39,387 ng/ ml untuk keton; 10,615—40,906 ng/ml untuk metil; dan 7,542—39,249 ng/ml untuk metil keton.
2. Estrogen tidak dapat terdeteksi karena sensitivitas FTIR belum dapat mendeteksi hingga pg/ml.

5.2 Saran

1. Untuk mendeteksi kadar estradiol (E_2) (pg/ml), dibutuhkan metode lanjut untuk memekatkan kadar E_2 sampai dengan tingkat yang dapat dideteksi oleh FTIR (ng/ml).

DAFTAR ACUAN

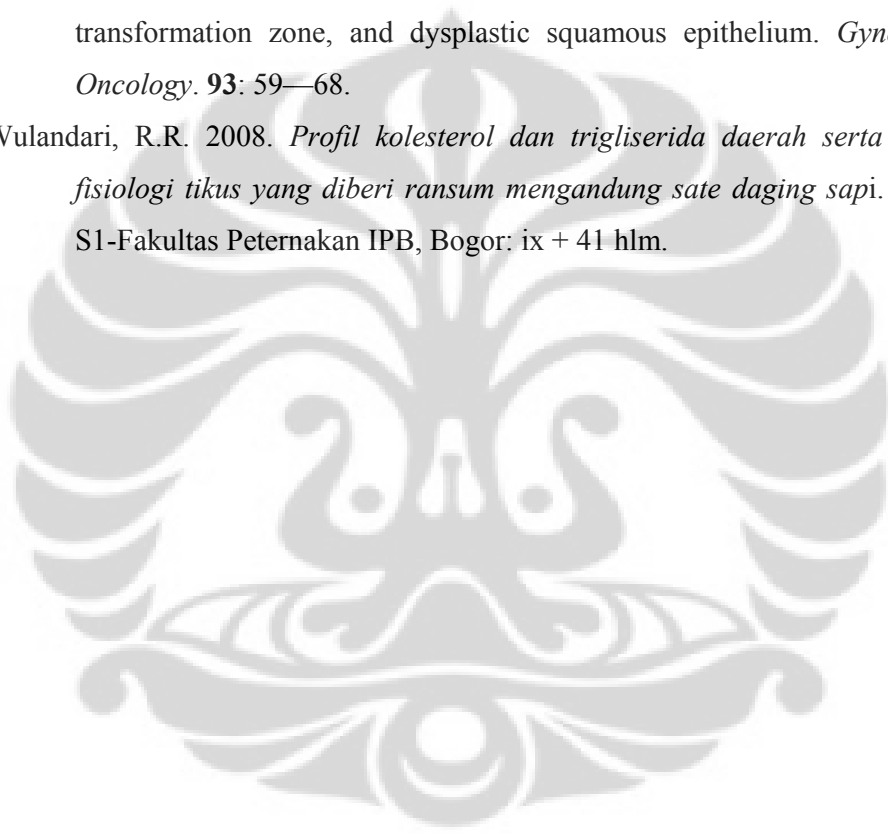
- ADAM (American Accreditation Health Care Commission). 2012. Hemoglobin. 7 Februari 2012: 1 hlm. www.nlm.nih.gov/medline/ency/article/003645.htm. 19 Februari 2012, pk. 7.42 WIB.
- Andrews, R. 2009. All about estrogens. 8 Juni: 1 hlm. <http://www.precisionnutrition.com/all-about-estrogens>. 12 Maret 2012, pkl. 21.46 WIB.
- Basford, J.M. 2001. Haemoglobin structure and function. 28 maret: 1hlm. http://diatronic.co.uk/nds/webpub/haemoglobin_structure.htm. 15 Februari 2012, pkl. 17.11 WIB
- Bowen, R. 1998. Cytologic changes through the canine estrous cycle. 11 April: 1 hlm. <http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/pathphys/reprod/vc/cycle.html>. 17 Oktober 2011, pk. 10.27 WIB.
- Brock, T. 2012. Estrogen receptor: model nuclear. 17 Februari: 1 hlm. <http://www.caymanchem.com/app/template/Article.vm/article/2111>. 17 Februari 2012, pkl. 7.47 WIB.
- Cameron, E.H.D. & J.J. Scarisbrick. 1973. Radioimmunoassay of plasma progesterone. *Clinical Chemistry* **19** (12): 1403—1408.
- Champbell, A.N., J.B. Reece, & L.G. Mitchell. 2004. Biologi edisi ke-5. Jilid 3. Terj. dari *Biology* 5th ed., oleh Manalu, W. Erlangga, Jakarta: xxii + 476 hlm.
- Champlin, A. K., D. L. Door, & A.H. Gates. 1973. Determining the stage of the estrous cycle in the mouse by appearance of the vagina. *Biology of Reproduction*. **8**: 491—494.
- Cholifah, S. 2009. *Penggunaan metode fourier transform infrared untuk studi analisis gugus fungsi sampel minyak goreng dengan perlakuan variasi pemanasan*. FMIPA. UNDIP, Semarang: 5 hlm.
- Davis, R. & L.J. Mauer. 2010. Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy: A rapid tool for detection and analysis of foodborne pathogenic bacteria. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology A Mendez-Vilas*: 1582—1594.

- Devi, R.T.S., S. Gunasekaran, J. Wesley Hudson, dan I. Sarone Angelah Joybell. 2009. Analysis on renal failure patients blood samples: characterization and efficacy study. *Indian Journal of Science and Technology*. **2(2)**: 46—50.
- Dewi, D.S.K. 2010. *Identifikasi protein early pregnancy factor (EPF) dari kotiledon sapi bunting*. Skripsi S1-Kedokteran Hewan FKH UNAIR, Surabaya: xiii + 39.
- Emanuele, M.A., F. Wazemen, & N.V. Emanuele. 2002. Alcohol's effect on female reproductive function. National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism **26(4)**: 271—281.
- Fatoni, A. 2007. *Hemoglobin dan mioglobin*. Bichemistry, MIPA FST UNSOED, Semarang: 20 hlm.
- Fisher Scientific. 2006. *IR-prestige 21 superior FTIR with built in auto-dryer*. 1 hlm. http://www.fishersei.com.my/product_details.asp?nid=900. 21 September 2011, pk. 22.30 WIB.
- Fried, G.H. & G.J. Hademenos. 1999. Schaum's outline biologi edisi ke-2. Terj. dari *Schaum's outlines of theory and problems of biology* 2nd ed. oleh Tyas, D. Erlangga, Jakarta: x + 386 hlm.
- Geballe, T.R, S.R. Kulkarni, C.E. Woodward, & G.C. Sloan. 1996. The near-infrared spectrum of the brown dwarf gliese 229B. *The Astrophysical Journal*. **467**: 101—104.
- Gordon, C. J. 1993. *Temperature regulation in laboratory rodents*. Cambridge University Press, New York: xiii + 276 hlm.
- Hadley, M.E. 2000. *Endocrinology*. Ed. Ke-5. Prentice-Hall, Inc., New Jersey: xxii + 585 hlm.
- Hill, M. 2010. Human menstrual cycle. 1 hlm. <http://embryology.med.unsw.edu.au/wwwhuman/MCycle/RU486.htm>. 18 Februari 2012, pk. 15.21 WIB.
- Joslin, J.O. 2009. Topic in medicine and surgery blood collection techniques in exotic small mammals. *Journal of Exotic Pet Medicine*. **18**: 117—139.

- Marcondes, F.K., F.J. Bianchi, & A.P. Tanno. 2002. Determination of the estrous cyclephase of rats: some helpful considerations. *Journal Brazilian Archives of Biology and Technology*. **4A**: 600—614.
- Nadjamudin, Rusdin, Sriyanto, Amrozi, S. Agungpriyono, & T. L. Yusuf. 2010. Penentuan siklus estrus pada kancil (*Tragulus javanicus*) berdasarkan perubahan sitologi vagina. *Jurnal Veteriner*. **11**: 81—86.
- Najamudin. 2010. *Kajian pola pada kancil (Tragulus javanicus) dalam mendukung pelestariannya*. IPB, Bogor: 131 hlm.
- Nalley, W.M.M., R. Handarini, M. Rizal, R.I. Arifiantini, T.L. Yusuf, & B. Purwantara. 2011. Determination of the estrous cycle based on vaginal cytology and hormone profile in timor hind. *Jurnal Veteriner*. **12**(2): 98—106.
- Nurkomarasari, R.E.Y. & R.A. Fauzi. 2010. *Penentuan keberadaan zar aditif pada plastik kemasan melalui perlakuan pemanasan pada spektrofotometer infrared*. Jurusan Pendidikan Kimia FMIPA UPI, Bandung: 24 hlm.
- Pearce, E.C. 2002. Anatomi dan fisiologi untuk paramedis. Terj. dari *Anatomy and physiology for nurse*, oleh Handoyo, S.Y. PT. Gramedia, Jakarta: vii + 344 hlm.
- Rat Systematics. 2004. History of norway rat (*Rattus norvegicus*). 1hlm. <http://www.ratbehavior.org/history.htm>. 15 Oktober 2011, pkl. 21.49 WIB.
- Rhoades, A.R.A. & G.A. Tanner. 1995. *Medical physiology*. Little Brown and Company, Boston: x + 839 hlm.
- Robertson, D. & G.H. Williams. 2009. *Clinical and translational science principles of human research*. Elsevier Inc., New York: xvii + 579 hlm.
- Rogers, K. 2011. *Blood: physiology and circulation*. Britannica Educational Publishing, New York: 234 hlm.
- Sacher, R.A. & R.A. Mc Person. 2002. *Tinjauan klinis hasil pemeriksaan laboratorium*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta: iv + 709 hlm.
- Salman, A., S. Argov, J. Ramesh, J. Goldstein, I. Sinelnikov, H. Guterman, & S. Mordechai. 2001. Fourier transform infrared microscopic characterization

- of normal and malignant colonic tissues. *Cellular and Molecular Biology*. **47**: 159—166.
- Setiawan, I.M. 2007. Pemeriksaan enzyme-linked immunosorbent assay untuk diagnosis leptospirosis. *Ebers Papyrus*. **13**: 125—136.
- Sihombing, R.M. 2010. Status gizi dan fungsi hati mencit (galur CBS-SWISS) dan tikus putih (galur Wistar) di laboratorium hewan percobaan puslitbang biomedis dan farmasi. *Media Litbang Kesehatan*. **20**(1): 33—40.
- Sjahfirdi, L., A. Septian, H. Maheshwari, P. Astuti, F. D. Suyatna, & M. Nasikin. 2011a. Determination of estrous period in female rats (*Rattus norvegicus*) by fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy through identification of reproductive hormone in blood samples. *World Applied Sciences Journal*. **14** (4): 539—545.
- Sjahfirdi, L., S. N. Azis, H. Maheshwari, P. Astuti, F. D. Suyatna, & M. Nasikin. 2011b. Estrus period determination of female rats (*Rattus norvegicus*) by fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy through identification of reproductive hormone metabolites in urine samples. *International Journal of Basic & Applied Sciences*. **11**(3): 158—163.
- Smith, A.L. 1979. *Applied infrared spectroscopy: Fundamentals, techniques, and analytical problem-solving*. John Wiley & Sons, Inc., Canada: v + 322 hlm.
- Smith, A. 2008. *Toe clipping in mice: an evaluation of the method and alternatives*. National Veterinary Institute, Oslo: 18 hlm.
- Sophia, R.A. 2003. *Uji efek diuretic suspensi simplisia daun sambiloto (Andrographis paniculata Ness) terhadap tikus putih (Rattus norvegicus L.) betina galur Sprague-Dawley*. Skripsi S1-Biologi FMIPA UI, Depok: ix + 77 hlm.
- Spornitz, U.M., C.D. Socin, & A.A. Dravid. 1999. Estrous Stage Determination in Rats by Means of Scanning Electron Microscopic Images of Uterine Surface Epithelium. *The Anatomical Record*. **254**: 116—126.
- Suseno, F.K. & K.S. Firdausi. 2008. Rancang bangun spektroskopi *fourier transform infrared* untuk penentuan kualitas susu sapi. *Berkala Fisika*. **11** (1): 23—28.

- Tapperman, J. 1973. *Metabolic and endrocrinology*. Year Book Medical Publisher.Inc, Chicago: xii + 335 hlm.
- Thermo Nicolet. 2001. *Introduction to Fourier Transform Infra Red*. Thermo Nicolet corp: 7 hlm.
- Westwood, F.R. 2008. The female rat reproduction cycle: a practical histological guide to staging. *Toxicology Pathology*. **36**: 375—384.
- Wood, B.R., L. Chiriboga, H. Yee, M.A. Quinn, D. McNaughton, & M. Diem. 2004. Fourier transform infrared (FTIR) spectral mapping of the cervical transformation zone, and dysplastic squamous epithelium. *Gynecology Oncology*. **93**: 59—68.
- Wulandari, R.R. 2008. *Profil kolesterol dan trigliserida daerah serta respon fisiologi tikus yang diberi ransum mengandung sate daging sapi*. Skripsi S1-Fakultas Peternakan IPB, Bogor: ix + 41 hlm.



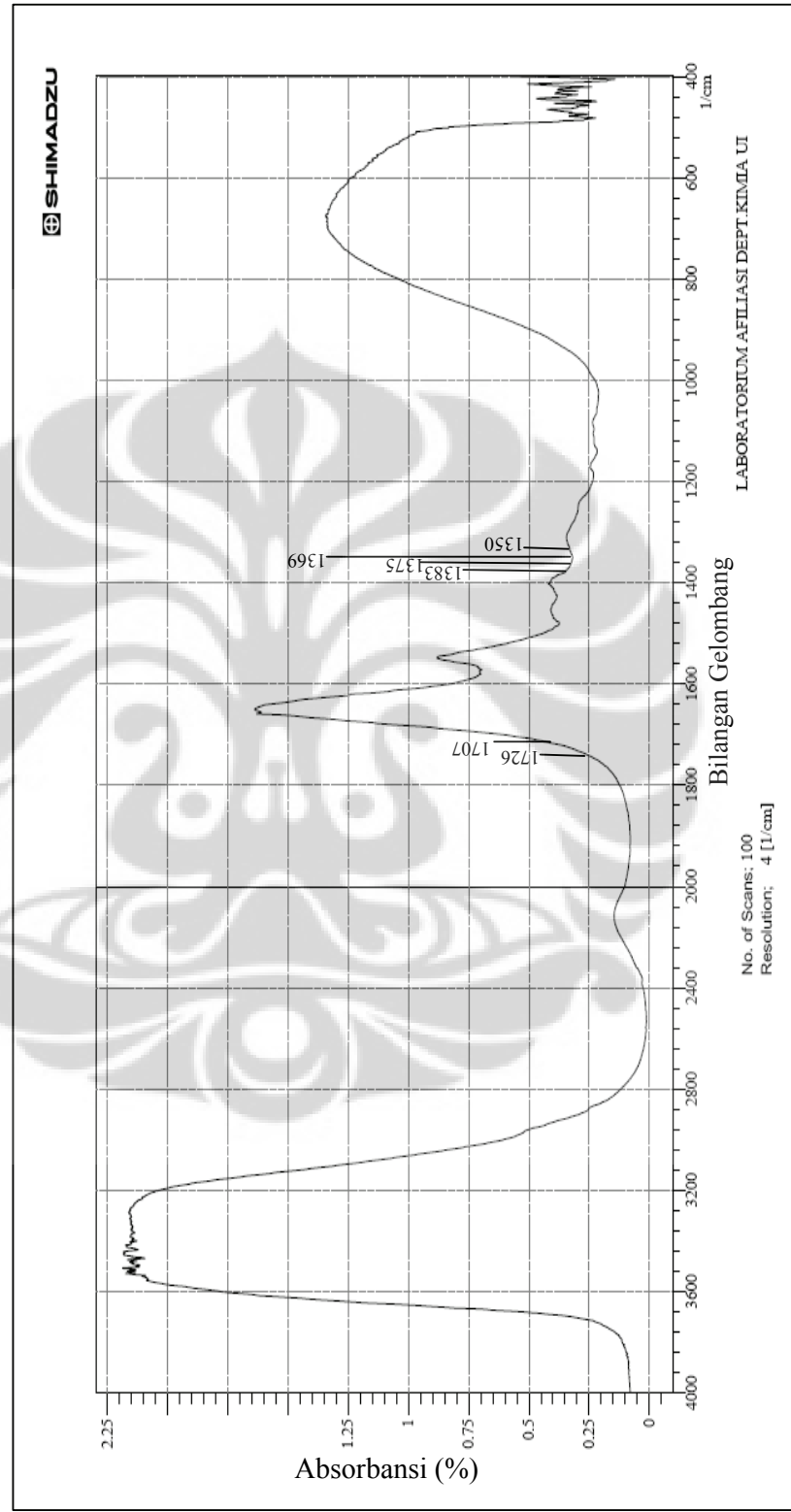
Lampiran I

Hasil penimbangan berat badan tikus selama masa adaptasi

Keterangan	Berat badan tikus (g)				
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅
7 Juni 2011	193,3	180,5	163,3	194,6	163,3
10 Juni 2011	182,5	152,5	144,4	185,7	142,5
13 Juni 2011	177,7	162,2	146,6	195,6	135,7
15 Juni 2011	185,3	167,7	152,2	195,2	145,8
17 Juni 2011	185,0	168,5	155,3	199,2	148,5
20 Juni 2011	187,6	172,9	159,4	190,8	154,5
22 Juni 2011	189,8	170,9	160,9	207,0	154,8
24 Juni 2011	193,9	175,2	165,7	204,0	160,9
27 Juni 2011	194,8	177,8	170,0	209,0	162,9
30 Juni 2011	201,0	180,2	173,3	200,5	168,8
	T ₆	T ₇	T ₈	T ₉	T ₁₀
30 Juni 2011	174,7	146,2	155,2	219,5	174,0
1 Juli 2011	186,7	151,1	171,9	213,9	175,1
4 Juli 2011	170,8	147,9	161,6	219,6	172,6
6 Juli 2011	181,4	154,1	165,0	220,7	177,3
8 Juli 2011	180,4	154,6	166,1	233,5	180,0
11 Juli 2011	171,1	147,9	157,6	225,9	174,4
13 Juli 2011	165,8	146,0	157,5	232,0	178,8
15 Juli 2011	173,0	150,8	164,3	238,0	179,8

Lampiran 2

Contoh spektrum hasil analisis sampel menggunakan *Fourrier Transform Infrared (FTIR)*



Lampiran 3

Bentuk kumpulan data numerik yang diolah menggunakan program Microsoft Excel 2007 diubah dari bentuk spektrum hasil analisis FTIR

Bil Gelombang	Siklus I	Siklus II	Siklus III	Rerata	SD
1350.1712	0.221	0.421	0.202	0.39	0.266
1352.10002	0.317	0.221	0.422	0.202	0.391
1354.02883	0.32	0.223	0.425	0.204	0.392
1355.95765	0.32	0.223	0.426	0.205	0.393
1357.88646	0.322	0.224	0.429	0.206	0.394
1359.81528	0.323	0.226	0.431	0.207	0.396
1361.7441	0.325	0.227	0.433	0.209	0.397
1363.67291	0.326	0.228	0.434	0.21	0.398
1365.60173	0.328	0.23	0.437	0.211	0.4
1367.53054	0.33	0.231	0.44	0.213	0.402
1369.45936	0.332	0.233	0.442	0.215	0.404
1371.38818	0.336	0.235	0.448	0.217	0.407
1373.31699	0.341	0.238	0.453	0.222	0.41
1375.24581	0.344	0.241	0.457	0.223	0.413
1377.17462	0.346	0.243	0.46	0.225	0.416
1379.10344	0.35	0.245	0.464	0.227	0.419
1381.03226	0.359	0.248	0.475	0.229	0.422
1382.96107	0.369	0.253	0.489	0.234	0.429
1384.88989	0.382	0.259	0.506	0.241	0.437
1386.8187	0.385	0.264	0.51	0.245	0.441

Nilai absorptansi gugus metil keton (1350—1369 cm-1) dan gugus metil (1375—1383 cm-1)

Keterangan:
 Kolom A : Bilangan gelombang
 Kolom B—E : Siklus estrus I
 Kolom F—J : Siklus estrus II
 Kolom K—N : Siklus estrus III
 Kolom O : Nilai rerata
 Kolom P : Nilai sudut deviasi
 Baris 501—511 : Gugus Metil keton
 Baris 514—518 : Gugus Metil

Lampiran 4

Nilai absorpsi gugus asam karboksilat pada bilangan gelombang 1425 cm⁻¹ dari enam ekor tikus

T ₁		T ₂		T ₃		T ₄		T ₅		T ₆	
F	NA (%)	F	NA (%)	F	NA (%)	F	NA (%)	F	NA (%)	F	NA (%)
E	0,24	E	0,382	E	0,34	E	0,174	E	0,365	E	0,335
E	0,122	E	0,272	NE	0,702	NE	0,002	E	0,359	E	0,999
NE	0,543	NE	0,487	NE	0,205	NE	0,063	NE	0,095	NE	0,371
NE	0,204	NE	0,248	NE	0,174	NE	0,063	NE	0,057	NE	0,227
NE	0,178	E	0,445	E	0,71	E	0,013	NE	0,028	NE	0,294
E	0,117	E	0,321	NE	0,267	NE	0,417	E	0,109	E	0,055
		NE	0,381	NE	0,181	NE	0,01	E	0,048	E	0,055
		NE	0,233	NE	0,158			NE		NE	0,305
		NE	0,128	E	0,256			NE		NE	0,4
		E	0,447	NE	0,316			NE		NE	0,257
		NE	0,130	NE	0,19			E		E	0,352
		NE	0,253	NE	0,729			E		E	0,209
		E	0,657	E	0,463						
Rerata	0,234		0,337		0,361		0,115		0,152		0,347
SD	0,159		0,149		0,218		0,141		0,146		0,237

Keterangan:

F : Fase E : Estrus NA : Nilai absorpsi NE : Nonestrus T₁--T₆ : Tikus