

Studi Pengaruh Hipertiroidisme Terhadap Siklus Estrus Dan Gambaran Histologi Ovarium Pada Tikus Betina (*Rattus Norvegicus*)

Shinta Dwi Riestanti¹⁾, Agung Pramana Warih Marhendra²⁾, Aris Soewondo³⁾

^{1), 2), 3)} Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.

Email : ¹⁾ shintadr92@gmail.com, ²⁾ junstone21@yahoo.com & ³⁾ soewondo@ub.ac.id

ABSTRAK

Hipertiroidisme merupakan salah satu penyakit yang disebabkan oleh jumlah hormon tiroid yang disekresikan oleh kelenjar tiroid terlalu tinggi. Hipertiroidisme banyak terjadi pada wanita sebab selama proses kehamilan, janin yang sedang berkembang membutuhkan asupan yodium (iodin) yang lebih. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh induksi Natrium iodin sebagai penyebab Hipertiroidisme pada siklus estrus tikus betina (*Rattus norvegicus*) beserta gambaran histologi ovarium tikus betina (*Rattus norvegicus*). Metode yang dilakukan yaitu dengan melakukan induksi secara berlebih Natrium Iodin (NaI) yang menyebabkan Hipertiroidisme kemudian dilakukan pengamatan siklus estrus dan pengamatan secara histologis melalui gambaran histologi ovarium. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengaruh Hipertiroidisme pada tikus betina menyebabkan siklus estrus tikus betina menjadi tidak normal dan berpengaruh terhadap fase estrus sedangkan gambaran histologis ovarium pewarnaan *Hematoxylin-eosin* menunjukkan tidak ada perbedaan antara tikus kontrol dengan tikus hipertiroid.

Kata kunci : Hipertiroidisme, siklus estrus, ovarium.

ABSTRACT

Hyperthyroidism is a disease caused by the amount of thyroid hormone secreted by the thyroid gland is too high. Hyperthyroidism more common in women because during pregnancy, the developing fetus requires the intake of iodine more. The purpose of this study was to determine the effect of induction sodium iodine as a cause of hyperthyroidism on the estrous cycle and histological structure of ovary of female rats (*Rattus norvegicus*). Hyperthyroid of female rats induced by excessive sodium iodine which causes Hipertiroidisme. Parameter observed estrus cycle and histological structure of ovary of female rats (*Rattus norvegicus*). Section of ovary was staining by Hematoxylin-eosin. The results showed that the effect of hyperthyroidism in female rats cause estrous cycle of female rats become abnormal and influence the length in estrous phase. Histological structure of ovary of female rats (*Rattus norvegicus*) showed no difference between the control and hyperthyroid rats.

Keywords: Hyperthyroidism, estrous cycle, the ovary

PENDAHULUAN

Hipertiroidisme merupakan penyakit yang terjadi akibat adanya gangguan sistem endokrin karena peningkatan produksi hormon tiroid yang berlebihan. Penyakit hipertiroidisme banyak ditemukan pada seluruh populasi sebanyak 2% pada wanita dan 0,2% pada pria melalui munculnya kasus pertahun dengan jumlah sebanyak dua puluh orang penderita pada tiap satu juta populasi [1]. Sistem endokrin di dalam tubuh memiliki fungsi mengatur aktivitas kimia yang terjadi didalam tubuh. Aktivitas kimia di dalam tubuh terjadi pada berbagai organ endokrin sebagai respon cepat hubungan antara kelenjar hipofisis dengan hipotalamus yang

memiliki respon dalam penyesuaian kondisi eksternal tubuh. Gangguan sistem endokrin dapat disebabkan oleh defisiensi salah satu hormon akibat kurangnya zat perangsang (*release substance*), proses jaringan kelenjar atau organ sasaran dalam sistem endokrin tidak memberi respon. Sistem endokrin dalam tubuh manusia diantaranya yaitu kelenjar tiroid, paratiroid, kelenjar adrenal, pankreas dan kelenjar gonad Delf dan Manning, 1996[2].

Kelenjar tiroid mengeluarkan hormon Triiodotironin (T3) dan Tiroksin (T4) yang memiliki fungsi dalam mengatur metabolisme tubuh, mengatur sensitifitas tubuh terhadap hormon lain, memiliki peran penting dalam

mengontrol perkembangan embrio/fetus, otak, jantung, dan paru-paru. Hormon-hormon tersebut juga memiliki peran aktif yang sangat penting dalam mekanisme pencernaan, termoregulasi, pertumbuhan, fungsi otot dan daya tahan tubuh [3]. Peningkatan kadar hormon tiroid dapat menyebabkan paparan berlebihan pada berbagai jaringan tubuh yang berkaitan dengan fungsi hormon tiroid dalam proses metabolisme tubuh salah satunya terhadap reproduksi [4][5]. Penderita hipertiroid banyak ditemukan pada wanita[1]. Oleh sebab itu pada penelitian ini digunakan tikus betina (*Rattus novergicus*) dengan model hipertiroid

METODE PENELITIAN

Pemberian Larutan Natrium Iodin pada Botol Minum

Larutan Natrium iodin dengan konsentrasi 0,05% [6][7][8] dilarutkan dalam botol minum 250 ml secara *ad libitum* yang kemudian diberikan pada tikus setiap hari. Pengurangan dari air minum larutan Natrium iodin kemudian akan diakumulasikan sebagai dosis induksi terhadap hewan coba. Selanjutnya dilakukan pembedahan terhadap hewan perlakuan pada minggu ke 2,4,6 dan 8 untuk diambil organ ovarium dan dilakukan pengamatan secara histologis.

Pengukuran Kadar *Thyroid Stimulating Hormone* (TSH) dan Hormon Tiroksin (T4) menggunakan Metode ELISA

Pengukuran kadar *Thyroid Stimulating Hormone* (TSH) dilakukan menggunakan metode ELISA (*Enzyme linked immunoabsorbant*) dengan *Rodent TSH ELISA kit test* (lot.no. 030413) dan *Rodent T4 ELISA kit test* (lot.no. 030413). Tahapan ini dilakukan untuk mengetahui kondisi Hipertiroid pada hewan coba.

Pengamatan Siklus Estrus

Pengamatan siklus estrus dilakukan setiap hari dengan menggunakan *cotton bud* yang dibasahi dengan air kemudian diulaskan pada sel epitel vagina untuk membuat preparat apusan. Pengamatan siklus estrus bertujuan untuk mengetahui panjang siklus estrus terhadap hewan perlakuan hipertiroidisme.

Pembuatan Preparat Histologi Ovarium

Pembuatan preparat diawali dengan melakukan fiksasi organ dengan menggunakan

formaldehyde 10% selama 24 jam kemudian dipindahkan pada etanol 70% selama 24 jam, setelah itu pada etanol 80% selama 2 jam, etanol 90% selama 20 menit, etanol 95% selama 20 menit, dan ethanol absolut selama 20 menit. Selanjutnya dimasukkan dalam xilol dengan suhu 60-63°C selama 30 menit. Selanjutnya dilakukan embedding dengan menggunakan paraffin cair sehingga didapatkan blok paraffin berisi organ ovarium. Blok paraffin kemudian dipotong dengan menggunakan mikrotom dengan tebal 5µm. Setelah itu pita irisan diambil dengan kuas dan dimasukkan dalam air hangat dengan suhu sekitar 38-40 °C agar irisan mengembang. Selanjutnya irisan yang terentang sempurna diletakkan dalam objek glass kemudian dikeringkan diatas *hot plate* pada suhu 38-40 °C dan disimpan dalam incubator selama 24 jam.

Pewarnaan Preparat dengan Metode *Hematoxylin-eosin*

Proses pewarnaan dilakukan dengan memasukkan preparat dalam proses deparafinasi yaitu menggunakan xilol bertahap 1-3 masing masing selama 5 menit. Selanjutnya dilakukan rehidrasi dengan menggunakan alkohol bertingkat menurun yaitu ethanol absolut, etanol 95%, 80%, dan 70% masing-masing selama 5 menit. Preparat direndam dalam akuades 5 menit selanjutnya dilakukan pewarnaan dengan menggunakan *Hematoxylin* dengan dilakukan perendaman selama 10 menit setelah itu dicuci dengan tap water. Preparat dimasukkan dalam pewarna eosin selama 5 menit. Selanjutnya untuk menghilangkan pewarna *eosin* dilakukan dengan perendaman apada akuades selama 2 menit selanjutnya dilakukan tahapan dehidrasi dengan menggunakan alkohol seri bertingkat yaitu dari 60%, 70%, 80%, 90% dan ethanol absolut tahap 1-3 masing masing selama 1 menit. Tahapan berikutnya dilakukan tahap *clearing* dengan menggunakan xilol:ethanol absolut, dan xilol tahap 1-2 masing-masing selama 5 menit. Selanjutnya dilakukan *mounting* dengan menggunakan entellan.

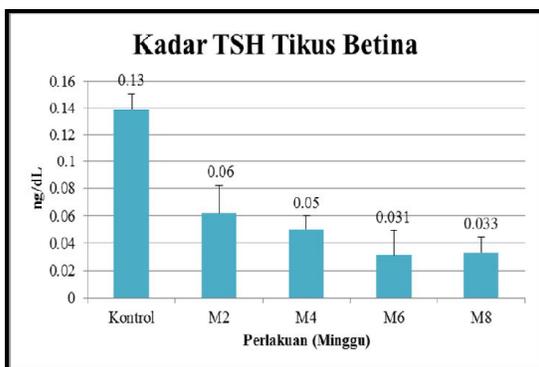
Analisa Data Menggunakan Software SPSS

Data yang diperoleh berupa data kuantitatif panjang fase estrus diuji dengan Uji *Kruskal-Wallis* dan *Mann-Whitney* dengan menggunakan *software SPSS 16.0 for Windows*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan Hormonal melalui Kadar TSH dan Tiroksin

Perhitungan kadar TSH dan tiroksin dengan menggunakan ELISA bertujuan untuk mengetahui perkembangan hormonal tikus betina sehingga berdasarkan metode ini dapat diketahui bahwa tikus perlakuan hipertiroid mengalami penurunan kadar TSH sedangkan pada kadar tiroksin mengalami peningkatan. Perubahan pada setiap minggu yang berbeda ditunjukkan oleh masing-masing label perlakuan yaitu M2, M4, M6, M8. Label perlakuan tersebut menunjukkan minggu terhadap kadar TSH dan Tiroksin. M2 menunjukkan Kadar TSH dan tiroksin pada perlakuan minggu ke 2, M4 menunjukkan Kadar TSH dan tiroksin pada perlakuan minggu ke 4, M6 menunjukkan Kadar TSH dan Tiroksin pada perlakuan minggu ke 6, M8 menunjukkan Kadar TSH dan Tiroksin pada perlakuan minggu ke 8.

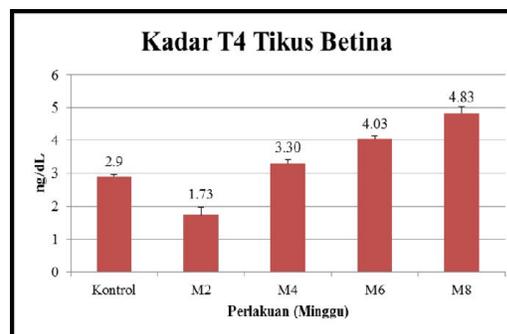


Gambar 1. Kadar TSH tikus betina mengalami penurunan bila dibandingkan dengan kadar awal tikus kontrol

Perlakuan yang dilakukan menunjukkan kadar TSH pada tikus kontrol sebesar 0,139 ng/dL, tikus M2 sebesar 0,062 ng/dL sedangkan pada tikus M4 mengalami penurunan hingga 0,05ng/dL, pada tikus M6 mengalami penurunan kembali menjadi 0,031 ng/dL dan pada M8 menjadi 0,033 ng/dL. Kadar tiroksin pada tikus kontrol sebesar 2,9 ng/dL, pada tikus M2 sebesar 1,7 ng/dL sedangkan pada tikus M4 mengalami peningkatan menjadi 3,3 ng/dL, pada tikus M6 meningkat menjadi 4,0 ng/dL dan meningkat kembali pada tikus M8 menjadi 4,8 ng/dL.

Hasil penelitian menunjukkan pengukuran kadar TSH dan tiroksin (T4) pada minggu ke 6 kadar TSH menurun dibandingkan minggu ke 4 sedangkan kadar tiroksin (T4) mengalami peningkatan dibandingkan dengan minggu ke 4 dan peningkatan yang terlihat melebihi kadar

tiroksin (T4) tikus perlakuan kontrol. Peningkatan kadar hormon T3 dan T4 di dalam aliran darah mampu mempengaruhi metabolisme tubuh [4].



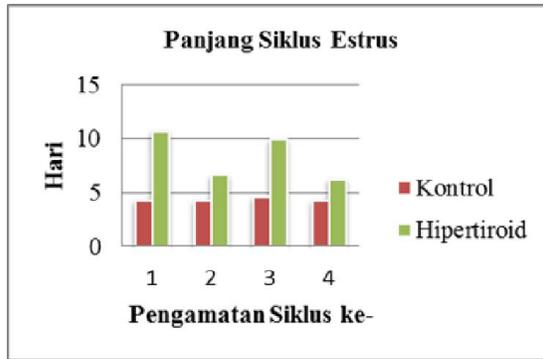
Gambar 2 Kadar T4 tikus betina mengalami peningkatan bila dibandingkan dengan kadar awal tikus kontrol.

Perhitungan Total Kadar Natrium Iodin

Hasil induksi Natrium Iodin (NaI) yang telah dilakukan selama 8 minggu pada tikus perlakuan hipertiroid dilakukan perhitungan total kadar iodin yang masuk kedalam tubuh tikus maka diketahui kadar iodin yang dikonsumsi oleh tikus perlakuan rata-rata pada 15,8 mg/l atau 15800 µg/l hingga 17,1 mg/l atau 17100 µg/l. Jumlah asupan iodin dalam tubuh manusia normal hanya 0,1-1,5 mg (100-150 mikrogram) perhari [9]. Penelitian yang dilakukan menunjukkan pada M4 tikus perlakuan minggu ke 4 memiliki kadar tiroksin (T4) yang melebihi normal, tikus minggu ke 6 memiliki kadar tiroksin yang lebih tinggi sehingga hal ini menunjukkan tikus telah mengkonsumsi iodin berlebih dan semakin meningkat setiap minggu kemudian diamati pengaruh iodin sebagai penyebab hipertiroidisme tersebut terhadap siklus estrus dan gambaran histologis ovarium tikus betina.

Perbandingan Panjang Siklus Estrus antara Kontrol dengan Hipertiroid

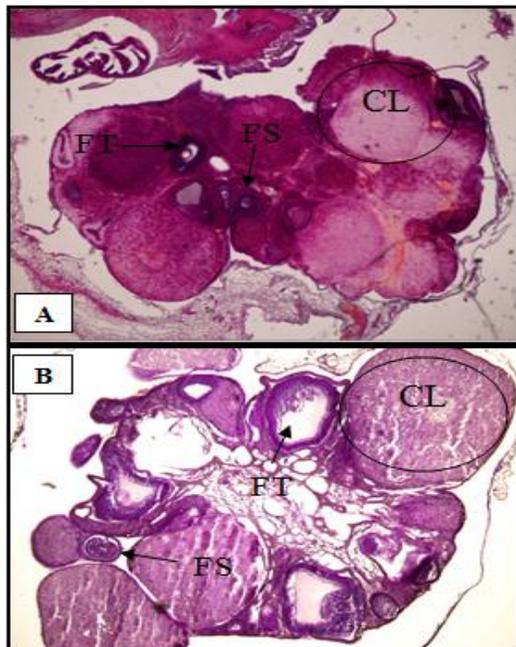
Penelitian yang dilakukan berdasarkan siklus estrus normal dengan hipertiroid menunjukkan tidak terdapat beda nyata namun pada siklus estrus hipertiroid lebih panjang dari siklus estrus normal karena panjang fase tertentu antar siklus berbeda. Berdasarkan uji statistika fase yang berbeda nyata dengan kontrol yaitu fase proestrus dan estrus. Tikus normal memiliki siklus estrus yang berlangsung selama 4-5 hari yang dipengaruhi oleh hormon-hormon reproduksi [10].



Gambar 3 Perbandingan rata-rata panjang siklus estrus antara tikus kontrol dengan tikus hipertiroid

Gambaran Histologi Ovarium

Tikus betina yang dipelihara dibedah pada minggu ke 2,4,6 dan 8 untuk mengetahui perbandingan folikel ovarium pada tikus kontrol dan tikus perlakuan. Gambaran histologi pada fase luteal (estrus dan metestrus) menunjukkan tidak terdapat beda nyata pada pertumbuhan folikel pada tikus kontrol dikarenakan tahapan adanya folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier, dan korpus luteum berkembang secara normal.



Gambar 4 Histologi Ovarium. Kontrol Estrus (A) dan Hipertiroid Estrus (B). Perbesaran 200x (30µm). Pewarnaan Hematoxilin-Eosin. FS (Folikel Sekunder, FT (Folikel Tersier), CA (Corpus Luteum).

Berdasarkan gambaran histologi yang telah diamati tidak terdapat perbedaan struktur antara kontrol dengan hipertiroid. Gambaran histologis tikus betina fase estrus pada kontrol dan hipertiroid menunjukkan adanya folikel sekunder, folikel tersier dan *corpus luteum*. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi perkembangan folikel secara normal pada tikus perlakuan hipertiroid.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Dr. Agung Pramana W.M., M.Si atas bantuan dari payung penelitiannya, Drs. Aris Soewondo, M.Si atas bimbingannya selama ini, teman-teman Biologi 2011 dan rekan-rekan yang belum saya sebutkan terima kasih atas dorongan semangatnya selama ini hingga skripsi dan jurnal ini dapat selesai.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa kondisi hipertiroid berpengaruh terhadap panjang fase estrus. Gambaran histologi ovarium menunjukkan tidak ada perbedaan antara tikus kontrol dengan tikus hipertiroid.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Fumarola, A., A. Di Fiore, M. Dainelli, G. Grani., & A. Calvanese. 2010. Medical Treatment of Hyperthyroidism: State of Art. *Exp Clinical Endocrinol Diabetes*
- [2] Delf, M.H & Manning, R.T. 1996. *Major's Physical Diagnosis 9th ed.* EGC. Jakarta
- [3] Underwood, E.J. 1999. *The Mineral Nutrition of Livestock.* CABI Publishing. New York
- [4] Bartalena, L. 2011. Antithyroid Drugs. *Thyroid International.*, 2:3-15
- [5] Norris, D.O. 2007. *Vertebrate Endocrinology 4th ed.* Elsevier Academic Press. Burlington
- [6] Yu, Shiguang., M. Brad, Y. Hideo & B.M. Helen. 2001. Characteristic of Inflammatory Cells in Spontaneous Autoimmune Thyroiditis of NOD.H-2h4 Mice. *Autoimmunity.*, 16: 37-46

- [7] Nagayama, Y., H. Ichiro, S. Ohki, N. Mami, & A. Norio. 2007. CD4+ CD25+ Naturally Occuring Regulatory T Cells and Lymphopenia Play Role in the Pathogenesis of Iodin e-Induced Autoimmune Thyroiditis in NOD.H2h4 mice. *Autoimmunity.*, **29**, 195-202.
- [8] Morohoshi, K., Y. Katsumi, N. Yoshinori, H. Saeko, O. Hiroshi, T. Yurie, I. Sadayoshi, dan M. Kouki. 2011. Effect of Synthetic Retinoid Am80 on Iodine Induced Autoimmune thyroiditis in Nonobese Diabetic Mice. *Cellular Immunology.*, **2710**, 1-4
- [9] Permaesih, D., Latinulu,S., Kartono, D., Susanto, D.The Profile of Iodized Salt Use in The District Level in Indonesia.*Gizi Indon* 2000.,**14**, 25-31
- [10]Malole M.B.M dan Pramono C.S.U.1989. Penggunaan Hewan-Hewan Percobaan di Laboratorium Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB.Bogor.