

Sitologi Vagina dan Kadar Estradiol pada Hewan Model Hipoestrogenik Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*)

(*Vaginal Cytology and Estradiol Levels on Hypoestrogenic Animal Models of Rabbit (*Oryctolagus cuniculus*)*)

Tri Isyani Tungga Dewi^{1*}, Deni Noviana², Bambang Pontjo Priosoeryanto³, Gunanti²

¹Ilmu Biomedis Hewan, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University, Indonesia

²Divisi Bedah dan Radiologi, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University, Indonesia

³Divisi Patologi, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University, Indonesia

*Penulis untuk korespondensi: isyanitri@apps.ipb.ac.id

Diterima 17 September 2023, Disetujui 10 Februari 2024

ABSTRAK

Pembuatan hewan model hipoestrogenik dapat dilakukan melalui tindakan ovariektomi bilateral. Penentuan hipoestrogenik hewan dapat dilihat melalui sitologi vagina dan kadar estradiol dalam darah. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui gambaran sitologi vagina dan kadar estradiol pada pembuatan hewan model hipoestrogenik kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). Penelitian ini menggunakan 8 ekor kelinci betina (*Oryctolagus cuniculus*) breed *New Zealand White*, berumur 1 tahun dengan berat badan 3,0 – 3,5 kg. Semua kelinci diberi tindakan ovariektomi bilateral. Parameter pengamatan dilakukan sebanyak enam kali melalui pengambilan sitologi vagina dan pengambilan darah yaitu pada hari ke-0 (sebelum operasi ovariektomi), serta hari ke-7, ke-14, ke-30, ke-60, ke-90 setelah ovariektomi. Pengamatan sitologi vagina untuk melihat jenis sel epitel vagina meliputi sel epitel kecil berinti, sel epitel besar berinti dan sel epitel kornifikasi. Pemeriksaan darah untuk mengukur kadar hormon estradiol dalam darah. Data dianalisis dengan menggunakan ANOVA dan dilanjutkan dengan uji *Duncan* (software R-Studio). Hasil penelitian menunjukkan hewan model kelinci mengalami kondisi hipoestrogenik mulai hari ke-30 setelah ovariektomi ditandai penurunan kadar estradiol lebih dari 50% dari kadar estradiol sebelum ovariektomi. Gambaran sitologi vagina pada hari ke-30 menunjukkan peningkatan sel epitel berinti berukuran kecil, dan tidak ditemukan sel kornifikasi yang menunjukkan tidak terjadi siklus estrus. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan ovariektomi bilateral menghasilkan hewan model hipoestrogenik ditandai dengan penurunan kadar estradiol lebih dari 50% dan tidak ditemukan sel epitel kornifikasi pada gambaran sitologi vagina.

Kata kunci: kelinci, hipoestrogenik, sitologi vagina, estradiol

ABSTRACT

Hypoestrogenic animal model can be create through bilateral ovariectomy. The hypoestrogenic condition of animals can be determine through vaginal cytology and blood estradiol levels. The aim of this study was to determine the cytological features of vaginal smears and the value of estradiol on the ovariectomy rabbit animal model. As much as 8 female rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) *New Zealand White* breed, 1 year old with a body weight of 3.0 – 3.5 kg were used in this experiment. All rabbits were under went bilateral ovariectomy. Vaginal cytology and blood sampling were conducted in six times, namely on day 0 (before ovariectomy surgery), as well as days 7, 14, 30, 60, 90 after ovariectomy to observe small nucleated epithelium cells, large nucleated epithelial cells and cornificate cells and measuring blood estradiol levels. The collected data were analyzed using ANOVA and continued with the *Duncan* test (R-Studio software). The results showed that the rabbit animal model develop to be hypoestrogenic condition starting on the 30th day after ovariectomy, marked by a decrease in estradiol levels above 50% of the estradiol levels before ovariectomy. Vaginal cytology on day 30 showed an increase in small nucleated epithelial cells, and no cornified cells were found, indicating that the estrous cycle was not occurring. Based on the research results, it shows that bilateral ovariectomy produces a hypostrogenic animal model characterized by a decrease in estradiol levels of more than 50% and no cornified epithelial cells were found in vaginal cytology.

Keywords: rabbit, hypoestrogenic, vaginal cytology, estradiol

PENDAHULUAN

Hewan model merupakan hewan yang diperlakukan atau dibuat dengan tujuan agar menyerupai dengan objek pengamatan sesungguhnya sesuai yang dikehendaki. Umumnya hewan model ditujukan untuk keperluan penelitian kajian fenomena biologis atau medis. Hewan model biasanya digunakan untuk menjelaskan atau menggambarkan fenomena biologi dari hewan model tersebut yang meliputi patofisiologi, mekanisme, pengobatan, dan efek samping obat dari suatu penyakit. Hewan model suatu penyakit memainkan peran penting dalam eksplorasi dan karakterisasi patofisiologi penyakit, identifikasi target pengobatan, evaluasi agen terapi dan perawatan baru secara *in vivo*. Penggunaan model hewan suatu penyakit yang ideal dapat dimanfaatkan untuk penilaian praklinis dan menemukan obat bahan baru dan agen terapeutik untuk dikembangkan dan diaplikasikan pada objek yang akan dikaji (Handajani, 2021).

Semua makhluk hidup termasuk hewan dan manusia secara alami akan mengalami proses penuaan yang akan mempengaruhi proses fisiologis dalam tubuh termasuk organ reproduksi, seperti kehilangan fungsi folikuler ovarium dan penurunan kadar estrogen. Kondisi hipoestrogenik menyebabkan ovarium tidak dapat menstimulasi folikel, memelihara, dan melepaskan ovum dari ovarium ke tuba fallopi setelah pembuahan, sehingga menyebabkan anovulasi. Anovulasi adalah kondisi dimana tidak terjadi kematangan pada sel telur (ovulasi) akibat dari gangguan perkembangan folikel (Sugiharto *et al.*, 2020). Dalam rangka meningkatkan kualitas hidup dan menurunkan risiko penyakit diperlukan penelitian yang membutuhkan hewan model yang mendekati kondisi hipoestrogenik pada hewan maupun manusia.

Suatu teknik untuk mendapatkan hewan model hipoestrogenik dengan melakukan ovariectomi. Ovariectomi bilateral adalah tindakan mengangkat atau mengeluarkan kedua ovarium dari rongga abdomen. Organ ovarium selain sebagai penghasil sel telur juga menghasilkan hormon estrogen. Tindakan ovariectomi bilateral diharapkan dapat menyebabkan terjadinya penurunan kadar hormon estrogen pada hewan model tersebut. Selama ini indikator penentuan kondisi hipoestrogenik pada hewan model kelinci adalah pemeriksaan kadar estradiol dalam darah. Selain estrogen, gambaran siklus estrus dapat dilakukan dengan pemeriksaan sitologi vagina seperti yang dilakukan pada tikus dan mencit (Cora *et al.*, 2015; Ajayi *et al.*, 2020). Sitologi vagina merupakan metode sederhana yang dapat digunakan untuk menentukan siklus estrus rodensia (Effendi *et al.*, 2022). Pada setiap fase dalam estrus terjadi perubahan struktur

penyusun epitel vagina yang dapat terlihat dalam apus vagina menggunakan pewarnaan sederhana (Simatauw & Unitly, 2019). Kondisi hipoestrogenik dapat diketahui dengan mengukur kadar hormon estrogen dalam darah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran sitologi vagina dan penurunan kadar estradiol pada pembuatan hewan model kelinci hipoestrogenik.

MATERI DAN METODE

Seluruh prosedur dalam penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Hewan Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis Institut Pertanian Bogor dengan nomor persetujuan etik: 002/KEH/SKE/VI/2022. Penelitian ini dilaksanakan di Rumah Sakit Hewan Pendidikan Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis Institut Pertanian Bogor (RSHP SKHB IPB). Waktu penelitian pada bulan Juli sampai dengan Desember 2022.

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan 8 ekor kelinci. Hewan model diaklimatisasi kemudian dilakukan ovariectomi bilateral. Sampel untuk pemeriksaan sitologi dan darah diambil enam kali yaitu sebelum operasi ovariectomi (hari ke-0), serta hari ke-7, ke-14, ke-30, ke-60, dan ke-90 setelah ovariectomi. Pengamatan preparat sitologi vagina dilakukan untuk melihat jenis sel epitel vagina meliputi sel epitel berinti berukuran kecil, sel epitel berinti berukuran besar, dan sel epitel kornifikasi. Pengukuran kadar hormon estradiol dilakukan dengan menggunakan metode *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA). Data kadar estradiol dan sel epitel vagina dianalisis untuk mengetahui perbedaan antar waktu pengamatan sebagai indikasi terjadinya kondisi hipoestrogenik.

Prosedur Penyiapan Hewan Coba

Sebanyak 8 ekor kelinci spesies *Oryctolagus cuniculus, breed New Zealand White*, umur 1 tahun, jenis kelamin betina dengan kisaran berat badan 3,0 – 3,5 kg digunakan untuk penelitian ini. Masa aklimatisasi berlangsung selama 14 hari di instalasi hewan laboratorium RSHP SKHB IPB. Kelinci ditempatkan pada kandang individu dan dipelihara dalam siklus terang gelap 12 jam. Kelinci diberi multivitamin selama 3 hari pertama. Selanjutnya dilakukan pemberian antihelmintik *Mebendazole* (20 mg/kg BB peroral, dosis tunggal), antibiotik dan antiprotozoa *Cotrimoxazole* (20 mg/kg BB peroral, dua kali sehari) selama lima hari (Plumb, 2018). Sebelum dilakukan *treatment*,

dilakukan pemeriksaan fisik lengkap dan pemeriksaan hematologi. Kelinci yang sehat berdasarkan hasil pemeriksaan digunakan sebagai hewan coba.

Pemeriksaan Sitologi Vagina

Pengambilan sitologi vagina dilakukan sebanyak enam kali yaitu sebelum operasi ovariektomi (hari ke-0), serta hari ke-7, ke-14, ke-30, ke-60, dan ke-90 setelah ovariektomi. Kelinci direstrain menggunakan kain lembut untuk mencegah pergerakan kaki depan dan belakang. Bagian caudal kelinci dibiarkan tidak terbalut kain restrain. Kapas swab dibasahi secukupnya dengan NaCl fisiologis dan dimasukkan perlahan melalui lumen vagina hingga menyentuh lembut dinding vagina. Selanjutnya ujung kapas dioleskan secara menggulung di atas permukaan kaca objek. Sampel dibiarkan kering dalam suhu dan udara ruang kemudian difiksasi dengan methanol. Sampel diwarnai menggunakan pewarna Giemsa 10% selama 30 menit.

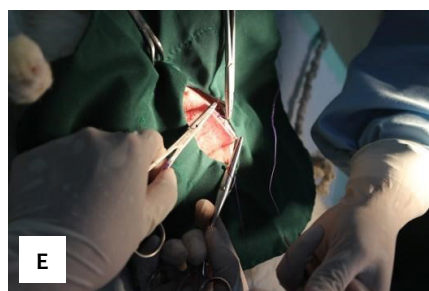
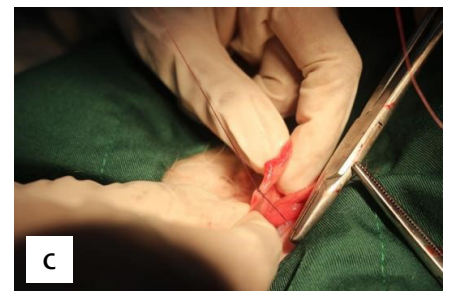
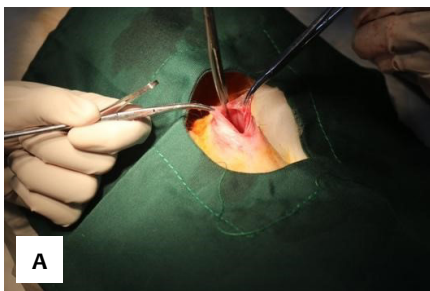
Pengamatan sitologi vagina dilakukan sebelum operasi (Hari ke-0) dan hari ke-7, ke-14, ke-30, ke-60, dan ke-90 setelah operasi ovariektomi. Pengamatan preparat sitologi vagina dilakukan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 200 kali untuk melihat jenis sel epitel vagina meliputi sel epitel kecil berinti, sel epitel besar berinti dan sel epitel kornifikasi. Perhitungan jumlah sel menggunakan aplikasi *Image-J* dengan pembesaran yang lebih kecil yaitu 100 kali, untuk menghitung rerata jumlah sel dari 5 lapang pandang.

Prosedur Operasi Ovariektomi

Proses operasi diawali dengan preparasi hewan dan persiapan operator sesuai dengan prosedur. Kelinci dianestesi menggunakan kombinasi *ketamine-xylazine* secara *intramuscular* dengan dosis *ketamin* 10 mg/kg BB dan *xylazine* 3 mg/kg BB (Plumb, 2018). Mata diberi salep mata berbasis minyak untuk mencegah kornea mata menjadi kering. Setelah teranestesi, rambut bagian abdominal kelinci dicukur dan dibersihkan lalu dioleskan *povidone iodine*.

Kulit daerah abdominal tepat di *linea alba* diinsisi sampai ke peritoneum sepanjang 5 cm dan dipreparir dari jaringan sekitarnya hingga terlihat jelas ovarium. Dilakukan pengikatan pada pembuluh darah pada bagian cranial ovarium dan pada bagian caudal tuba falopi. Kemudian dilakukan pengangkatan ovarium dan tuba falopi, selanjutnya dibilas dengan NaCl fisiologis 0.9%, dan diteteskan antibiotik *gentamicin*. Peritoneum ditutup dengan jahitan sederhana menggunakan benang ukuran 3.0 yang dapat diserap oleh tubuh.

Lapisan subkutan dijahit menggunakan jahitan kontinyu. Sayatan kulit dijahit menggunakan jahitan sederhana menggunakan benang yang tidak dapat diserap oleh tubuh dengan ukuran 3.0. Luka dioleskan dengan *povidone iodine* dan salep *gentamicin*, lalu ditutup dengan kasa dan *micropore*. Setelah operasi kelinci diberikan antibiotik dan analgesik secara *intramuscular*. Pemberian antibiotik dan multivitamin peroral dilakukan selama lima hari.



Keterangan: A. Sayatan pada abdomen, B. Preparir ovarium dan tuba falopi, C. Pengikatan pembuluh darah bagian cranial ovarium dan pada bagian caudal tuba falopi, D. Pemotongan ovarium dan tuba falopi, E. Penjahitan peritoneum, F. Penjahitan kulit

Prosedur Pemeriksaan Hormon Estrogen

Pemeriksaan hormon estrogen dilakukan dengan mengukur kadar estradiol di dalam darah. Pemeriksaan dilakukan sebanyak enam kali yaitu hari ke-0 (sebelum operasi ovariektomi), serta hari ke-7, ke-14, ke-30, ke-60, ke-90 setelah ovariektomi. Darah diambil dari vena auricularis menggunakan *vacutainer*, kemudian dimasukkan ke dalam tabung *plain* untuk mendapatkan serum. Darah didiamkan selama 30 menit kemudian disentrifus dengan kecepatan 2500 rpm selama 15 menit. Serum diambil dari tabung dengan menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf. Analisis hormonal dilakukan dengan menggunakan metode *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA). Ke dalam plat ELISA dimasukkan 25 μ L larutan standar, sampel, dan kontrol, kemudian masing-masing dicampur dengan 200 μ L reagen konjugat estradiol pada masing-masing *well*, selanjutnya diinkubasi selama 120 menit pada suhu ruangan. Larutan dikocok dengan shaker untuk mengeluarkan isi *well*, lalu *well* dibilas 3 kali dengan menambahkan larutan pencuci sebanyak 400 μ L pada setiap *well*. Selanjutnya pada masing-masing *well* dimasukkan 100 μ L larutan substrat solution dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruangan. Reaksi enzimatik dihentikan dengan menambahkan 50 μ L stop solution ke masing-masing *well*. Nilai absorbansi dibaca pada ELISA reader setelah 10 menit dengan absorbansi 450 ± 10 nm.

Analisis Statistik

Data kadar estradiol dan jumlah setiap jenis sel epitel vagina antar waktu penelitian dianalisis dengan ANOVA dan dilanjutkan dengan uji *Duncan*. Analisis data dilakukan menggunakan software R-Studio

HASIL

Pemeriksaan Estradiol

Hasil Pemeriksaan estradiol pada hari ke-0 (sebelum ovariektomi) serta hari ke-7, ke-14, ke-30, ke-60, ke-90 setelah ovariektomi disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 1. Hasil pemeriksaan kadar estradiol pada hari ke-7 sampai hari ke-14 setelah ovariektomi menunjukkan penurunan kadar estradiol yang masih rendah dibandingkan dengan kadar estradiol sebelum ovariektomi (H-0), dan tidak menunjukkan penurunan yang signifikan. Penurunan kadar estradiol yang cukup signifikan baru terlihat pada pemeriksaan hari ke-30 setelah ovariektomi dan memiliki kadar estradiol yang berbeda nyata dibandingkan kadar estradiol pada hari ke-0 sampai hari ke-14 ($P < 0,05$). Semua kelinci mengalami penurunan kadar estradiol pada hari ke-30 di atas 50%. Penurunan kadar estrogen sebesar 50% dari kadar awal menunjukkan menunjukkan kelinci sudah memasuki fase hipoestrogenik (Xu *et al.*, 2020). Pemeriksaan estradiol pada H-60 memperlihatkan kadar estradiol semua kelinci berada dibawah 10 pg/ml. Penurunan kadar estradiol H-60 berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan H-30. Hasil pemeriksaan estradiol pada H-90 memperlihatkan kadar estradiol tetap berada dibawah 10 pg/mL pada semua kelinci. Estradiol dibawah 10 pg/mL menunjukkan kelinci sudah berada pada fase menopause (Barakat *et al.*, 2015)

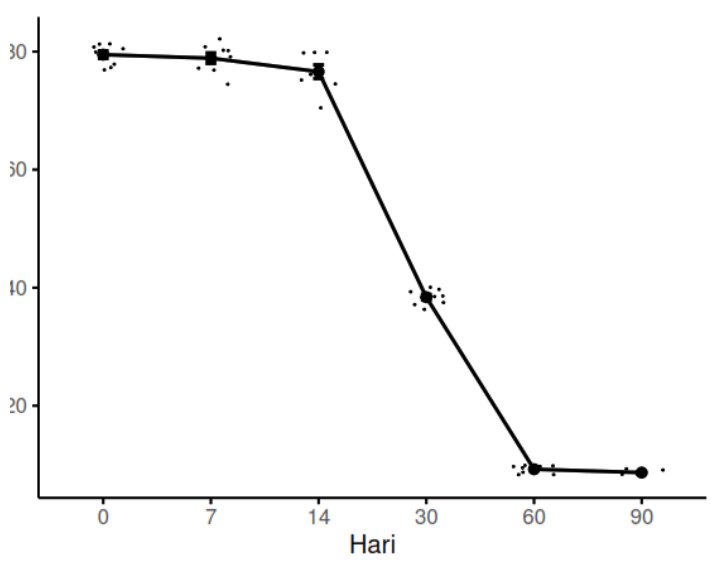
Sitologi Vagina

Hasil pengamatan sitologi vagina yang dilakukan hari ke-0 (sebelum ovariektomi), serta hari ke-7, ke-14, ke-30, ke-60, ke-90 setelah ovariektomi disajikan pada Gambar 2 dan Tabel 2. Pemeriksaan sitologi vagina secara umum ditemukan sel epitel vagina berinti

Tabel 1. Kadar estradiol hewan model kelinci hipoestrogenik pada hari ke-0, ke-7, ke-14, ke-30, ke-60, dan ke-90

Kode Sampel	Pre-operasi (pg/mL)		Post operasi Ovariektomi (pg/mL)			
	H-0	H-7	H-14	H-30	H-60	H-90
K1	80,8	80,2	79,9	38,6	9,8	8,4
K2	76,9	74,5	70,5	36,3	8,3	8,1
K3	77,3	76,9	75,2	37,5	8,7	8,7
K4	79,9	79,1	74,5	38,5	9,7	9,1
K5	81,3	82,2	76,9	40,1	9,9	9,3
K6	80,5	80,2	79,9	39,7	9,7	8,8
K7	77,9	77,2	76,1	37,1	8,3	8,3
K8	81,3	80,8	79,8	39,3	9,5	8,7
Rerata ($\bar{x} \pm SD$)	$79,5 \pm 1,8^a$	$78,9 \pm 2,5^a$	$76,6 \pm 3,4^a$	$38,4 \pm 1,3^b$	$9,2 \pm 0,6^c$	$8,6 \pm 0,4^c$

Keterangan: huruf *superscript* yang berbeda pada angka rerata dalam baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0.05$)

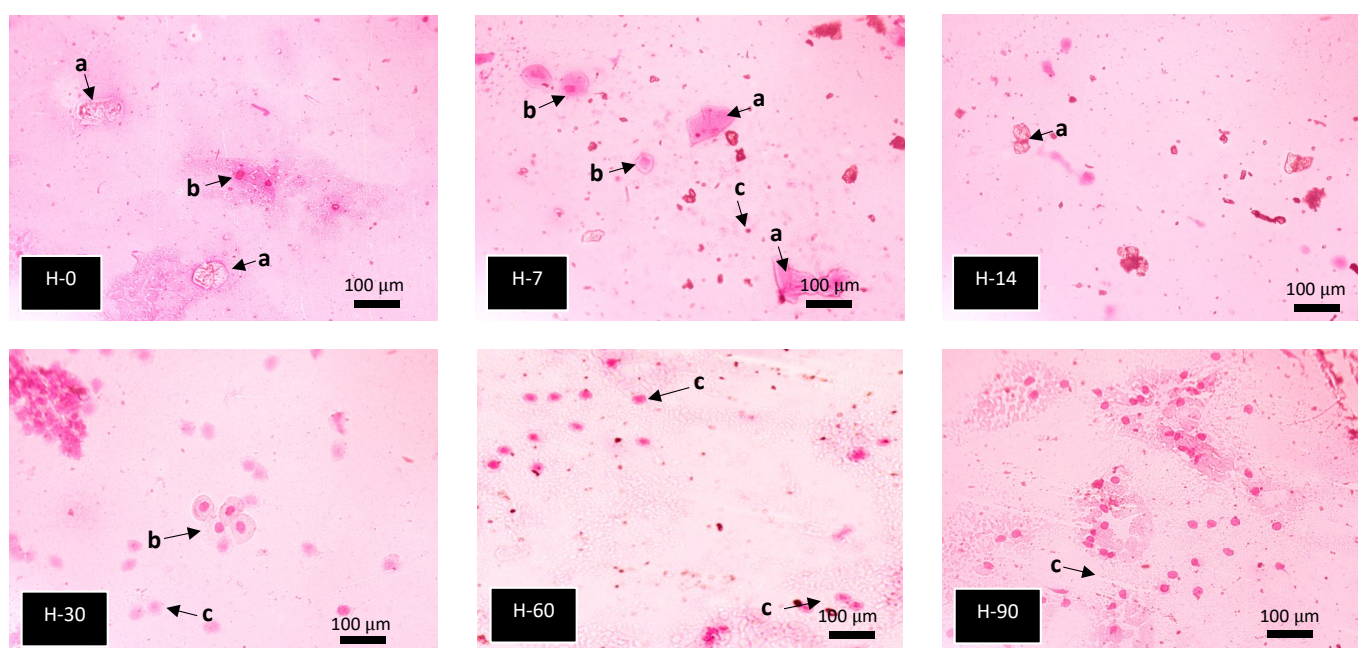


Gambar 1 Kadar estradiol pada pengamatan hari ke-0 sampai hari ke-90 pada hewan model kelinci hipoestrogenik

Tabel 2. Rerata jumlah sel yang ditemukan pada sitologi vagina hewan model kelinci hipoestrogenik pada hari ke-0, ke-7, ke-14, ke-30, ke-60, dan ke-90

Jenis sel	Hari Pre Operasi		Post Operasi			
	H0	H7	H14	H30	H60	H90
Sel epitel kecil berinti	20 ± 1,8 ^a	22 ± 2,1 ^a	21 ± 1,4 ^a	53 ± 12 ^b	54 ± 11,31 ^b	55 ± 12,08 ^b
Sel epitel besar berinti	3 ± 1,2 ^a	3 ± 0,9 ^a	3 ± 0,8 ^a	3 ± 0,8 ^a	0 ^b	0 ^b
Sel epitel kornifikasi	4 ± 0,8 ^a	4 ± 0,8 ^a	4 ± 0,8 ^a	0 ^b	0 ^b	0 ^b

Keterangan: huruf superscript yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata (p < 0.05)



Gambar 2. Sitologi vagina hewan model kelinci hipoestrogenik pada hari ke-0, ke-7, ke-14, ke-30, ke-60, ke-90. sel epitel kornifikasi (a), sel epitel berinti berukuran besar (b), dan sel epitel berinti berukuran kecil (c).

dengan *nucleus* yang jelas, ada berukuran besar dan berukuran kecil. Ditemukan juga sel berbentuk *polygonal* dengan inti sangat kecil atau tanpa inti dan telah terjadi keratinisasi yang disebut sel epitel kornifikasi.

Hasil pengamatan sitologi vagina pada hari ke-0, ke-7, dan ke-14 ditemukan sel epitel berinti berukuran kecil, sel epitel berinti berukuran besar, dan sel epitel kornifikasi. Pada hari ke-30 ditemukan sel epitel berinti berukuran kecil dan berukuran besar, sel epitel kornifikasi sudah tidak ditemukan. Pada hari ke-60 dan ke-90 hanya ditemukan sel epitel berinti berukuran kecil. Adapun sel epitel berinti berukuran besar dan sel epitel kornifikasi sudah tidak ditemukan. Rerata jumlah sel epitel yang ditemukan pada pengamatan sitologi vagina hari ke-0, ke-7, ke-14, ke-30, ke-60, ke-90 disajikan dalam Tabel 2.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pemeriksaan estradiol, kadar estradiol mengalami penurunan yang signifikan pada hari ke-30 setelah ovariektomi. Semua kelinci mengalami penurunan kadar estradiol di atas 50% dari kadar estradiol sebelum ovariektomi. Ini menunjukkan kelinci sudah memasuki fase hipoestrogenik. Kondisi hipoestrogenik dipastikan setelah didapatkan penurunan kadar estrogen sebesar 50% dari kadar awal (Xu *et al.*, 2020). Keadaan hipoestrogenik akibat ovariektomi menyebabkan defisiensi hormon estrogen (estradiol) sehingga folikel ovarium menurun dan siklus estrus memendek. Sitologi vagina pada hari ke-30 menunjukkan peningkatan sel epitel berinti berukuran kecil, serta sudah tidak ditemukan lagi sel kornifikasi yang menunjukkan tidak adanya persiapan perubahan menuju estrus. Estrus tidak terjadi karena terjadi penurunan kadar estrogen, fase proestrus berubah menjadi fase metestrus. Fase proestrus ditandai dengan sel epitel berbentuk oval, berwarna biru dan inti sel berwarna merah muda pada hasil apusan vagina, sedangkan fase metestrus ditandai dengan adanya sel epitel kecil berinti yang secara kualitatif mendominasi (Simatauw & Unitly, 2019).

Pengamatan pada hari ke-60 menunjukkan kadar estradiol mengalami penurunan yang sangat signifikan, semua kelinci memperlihatkan kadar estradiol berada dibawah 10 pg/mL, kadar rerata 9.2 pg/mL. Kadar estradiol pada hari ke-90 terlihat semakin menurun menjadi 8.6 pg/mL. Kadar estradiol dibawah 10 pg/mL menunjukkan kelinci berada pada fase menopause (Barakat *et al.*, 2015). Sitologi vagina pada hari ke-60 dan ke-90 hanya ditemukan sel epitel berinti berukuran kecil, sel epitel besar dan sel kornifikasi sudah tidak ditemukan,

menunjukkan kelinci memasuki pada fase diestrus/anestrus. Simatauw & Unitly (2019) menyampaikan fase diestrus/anestrus pada apusan vagina ditandai dengan adanya sel epitel berinti kecil, dan tidak ada sel epitel kornifikasi. Berdasarkan kadar estradiol dan gambaran sitologi vagina memperlihatkan pada hari ke-60 dan ke-90 kelinci berada pada fase anestrus atau menopause. Menopause adalah suatu keadaan hipoestrogenik akibat penurunan fungsi dari ovarium, yang dapat menyebabkan perubahan pada sistem tubuh seperti urogenital dan reproduksi (Ariyanti dan Apriliana 2016).

Pertumbuhan dan diferensiasi sel epitel vagina diatur oleh hormon seks steroid estrogen (E₂) dan progesteron (P₄) (Li *et al.*, 2018). Sekresi vagina pada kelinci terdiri dari tiga jenis sel. Sel-sel tersebut terdiri atas sel epitel berinti berukuran kecil, sel epitel berinti berukuran besar, dan sel epitel kornifikasi. Perkiraan fase siklus estrus banyak menggunakan proporsi temuan sel-sel ini dalam sekresi vagina. Temuan sitologi vagina pada kelinci dan rodensia mencerminkan gambaran siklus estrus yang terjadi (Ola & Oyegbade, 2012; Ajayi & Akhigbe, 2020). Sitologi vagina sebelum ovariektomi ditemukan sel epitel berinti berukuran kecil dan besar, serta sel epitel kornifikasi yang mencirikan fase proestrus. Sitologi vagina pada hari ke-7 dan ke-14 pasca operasi masih memperlihatkan bentuk sel yang sama dengan sebelum ovariektomi. Estradiol pada fase awal pasca operasi tidak berbeda nyata dengan kadar estradiol sebelum ovariektomi. Dalam penggunaan kelinci sebagai hewan model hipoestrogenik dengan metode ovariektomi fase awal postoperasi, sel berinti bulat seragam dalam berbagai ukuran mencirikan fase proestrus yang masih terjadi (Ajayi & Akhigbe, 2020). Sel-sel tersebut muncul dalam kelompok atau individu. Ada juga beberapa sel epitel kornifikasi yang tidak berinti. Fase estrus menunjukkan banyak sel epitel kornifikasi anukleasi. Kondisi tersebut merupakan reaksi tubuh dalam mempersiapkan fase perkawinan, sehingga struktur sel-sel vagina mengalami perubahan. Sitoplasma granular, dan sel-selnya berbentuk tidak beraturan (Simatauw & Unitly, 2019).

Siklus estrus dipengaruhi oleh hormon reproduksi yaitu hormon estrogen. Hormon estrogen adalah hormon steroid yang dihasilkan oleh folikel ovarium yang berkembang. Pada fase folikuler hormon estrogen akan meningkat sehingga memicu proliferasi kelenjar endometrium dan meningkatkan proliferasi sel epitel mukosa vagina. Pada fase luteal hormon estrogen mengalami penurunan dan korpus luteum yang terbentuk akan menghasilkan hormon progesterone (Sherwood 2018). Bentuk hormon estrogen dalam tubuh hewan betina berupa estradiol

17- β , estron, dan estriol, namun yang paling poten dan dijumpai dengan jumlah yang cukup tinggi dalam tubuh adalah estradiol 17- β . Aksi estrogen dalam jaringan atau sel target, membutuhkan reseptor estrogen yang dikendalikan oleh gen pada kromosom. Aktivitas estrogen di dalam sel dimulai setelah terjadi ikatan estrogen dengan reseptor di dalam sitosol. Kompleks estrogen dan reseptor selanjutnya berdifusi ke dalam inti sel dan melekat pada DNA. Ikatan kompleks estrogen-reseptor dengan DNA menginduksi sintesis dan ekspresi mRNA berupa sintesis protein sehingga meningkatkan aktivitas sel target, yang ditunjukkan dengan terjadinya proliferasi sel (Zhao et al., 2011). Kondisi defisiensi hormon estrogen menyebabkan proliferasi sel sel uterus akan menurun dan lapisan dinding myometrium mengalami atrofi. Vaskularisasi mukosa vagina terganggu sehingga proliferasi dan kornifikasi pada sel-sel epitel vagina menurun.

Penelitian ini menyimpulkan bahwa hewan model hipoestrogenik dapat dibuat dengan ovariectomi bilateral. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan kondisi hipoestrogenik dimulai pada hari ke-30 setelah ovariectomi ditandai penurunan kadar estradiol lebih dari 50% dari kadar estradiol sebelum ovariectomi. Gambaran sitologi vagina memperlihatkan peningkatan sel epitel berinti berukuran kecil, dan tidak ditemukan sel kornifikasi yang menunjukkan tidak terjadi siklus estrus.

“Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak yang terkait dalam penelitian ini”

DAFTAR PUSTAKA

- Ajayi AF, Akhigbe, RE. 2020. Staging of the estrous cycle and induction of estrus in experimental rodents: an update. *Fertility Research and Paractic*, 6(5): 1-15.
- Ariyanti H, Apriliana E. 2016. Pengaruh fitoestrogen terhadap gejala menopause. *Jurnal Majority*, 5(5):1-5
- Barakat R, Khalil WKB, El Wakeel MA. 2015. Hormonal and Histological Characteristics of Menopause Induced by Ovariectomy in New Zealand White Female Rabbits. *Folia Morphologica*, 74(3): 357 - 363
- Cora MC, Kooistra L, Travlos G. 2015. Vaginal cytology of the laboratory rat and mouse: review and criteria for the staging of the estrous cycle using stained vaginal smears. *Toxicologic Pathology Journal*, 43:776-793.
- Effendi M, Yulianita, Herlina N, Nurhikmah W. 2022. Efek estrogenik rumput kebar (*Biopyhtum petersianum*) dalam ekstrak etanol 96% dan berbagai fraksi pelarut. *Jurnal Jamu Indonesia*, 7(2): 80-85.
- Handajani F. 2021. *Metode Pemilihan dan Pembuatan Hewan Model Beberapa Penyakit Pada Penelitian Eksperimental*. Zifatama Jawara, Surabaya.
- Li S, Herrera GG, Tam KK, Lizarraga JS, Beedle MT, Winuthayanon W. 2018. Estrogen Action in the Epithelial Cells of the Mouse Vagina Regulates Neutrophil Infiltration and Vaginal Tissue Integrity. *Scientific Report*, 8(1): 11247.
- Ola SI & Oyegbade MO. 2012. Buck efferct on rabbit oestrus: vulva colour, vaginal lumen cells, and ovarian follicle populations. *World rabbit sci*. 20. 71-79.
- Plumb DC. 2018. *Veterinary Drug Handbook 9th Ed*. US: Willey Blackweel
- Sherwood, L. 2018. *Fisiologi Manusia: Dari Sel ke Sistem Edisi 6*. EGC, Jakarta.
- Simatauw AZ, Unitly AJA. 2019. Gambaran siklus estrus tikus *Rattus novergicus* terpapar asap rokok setelah diterapi ekstrak etanol rumput kebar (*Biophytum petersianum klotzsch*). *Rumphius Pattimura Biological Journal*, 1(1): 001-009.
- Sugiharto, Nugroho AS, Purwanto B, Herawati L. 2020. Analisis gangguan menstruasi pada atlet putri selama pelatihan yang intensif. *Jurnal Sportif*, 6(3): 612-623.
- Xu P, Wu Y, Zhou L, Yang Z, Zhang X, Hu X et al. 2020. Platelet-rich plasma accelerates skin wound healing by promoting re-epithelialization. *Burns Trauma*.
- Zhao L, Mao Z, Schneider LS, Brinton RD. 2011. Estrogen receptor beta-selective phytoestrogenic formulation prevents physical and neurological changes in a preclinical model of human menopause. *Menopause*. 18:1131-1142