

Profil Siklus Estrus dan Folikulogenesis pada Tikus Model Hipotiroidism Hasil Induksi *Caprine Thyroglobulin* (cTg)

Estrus Cycle Profile and Folliculogenesis in Rat with Hypothyroidism Model Induced by Caprine Thyroglobulin (cTg)

Noer Muhammad DH¹, Aulanni'am², Agung Pramana WM³

¹Program Studi Magister Biologi Molekuler Reproduksi Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang

²Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang

³Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang

ABSTRAK

Autoimmune thyroiditis (AITD) merupakan penyakit autoimun pada kelenjar tiroid. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui profil regulasi hormon tiroid, profil siklus estrus dan folikulogenesis pada tikus model *hypothyroidism* hasil induksi *capra thyroglobulin* (cTg). Pembuatan tikus model hipotiroid dilakukan dengan injeksi dengan protein cTg yang sudah diemulsi *complete freund's adjuvant* (CFA) dengan dosis 200µg/µL melalui subkutan, selanjutnya dilakukan *booster* injeksi protein cTg yang sudah diemulsi *incomplete freund's adjuvant* (IFA) dengan dosis 200µg/µL melalui subkutan sebanyak dua kali setiap 12 hari. Serum tikus diambil untuk mengetahui tikus sudah mengalami kondisi hipotiroiditis. Tikus yang sudah mengalami hipotiroid, diamati siklus estrusnya sebanyak tiga kali siklus estrus dan setiap satu kali pengulangan siklus estrus diambil serum darah untuk diukur kadar hormon tiroksin (T4) dan *thyroid stimulating hormone* (TSH). Pada akhir tahapan penelitian, tikus dibedah dan dikoleksi organ ovarium untuk pembuatan preparat histologi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa induksi cTg pada tikus menyebabkan tiroiditis dan selanjutnya mengakibatkan kondisi hipotiroid yang ditandai dengan penurunan kadar hormon tiroksin dan peningkatan *thyroid stimulating hormone* (TSH) selama tiga kali siklus estrus. Tikus hipotiroid mengalami periode siklus estrus yang lebih panjang dan penurunan jumlah folikel *de graff* dibandingkan dengan tikus normal.

Kata kunci: Estrus, folikel, hipotiroid

ABSTRACT

Autoimmune thyroiditis (AITD) is autoimmune disease in thyroid glands. This research aims to show thyroids hormone regulation profile, estrous cycle profile, and folliculogenesis in rat with hypothyroidism model induced by capra thyroglobulin (cTG). Animal models of AITD in this research were prepared by injecting cTg protein emulsified with Complete Freud 's Adjuvant (CFA) as much as 200µg/µL subcutaneously, and applying booster by injecting cTg emulsified with Incomplete Freud 's Adjuvant (IFA) as much as 200µg/µL subcutaneously twice every twelve days. Rat serum was taken to make sure the rats were already on hypothyroidism condition. Estrous cycles were observed and measured every three estrous cycles, and every estrous cycle blood serum was taken to measure the Thyroid Stimulating Hormone (TSH) and tyroxin hormone (T4). Finally, rats were dissected and ovaries were collected to make histology preparation. The result of this research showed that cTg induction on rats causes thyroiditis and leads to hypothyroidism condition marked with the decreased of T4 levels and increased the levels of TSH for three estrous cycles. Hypothyroidism rats experience longer estrous cycle periods and lower total number of follicle *de graff* compared to normal rats.

Keywords: Estrous, follicle, hypothyroidism

Jurnal Kedokteran Brawijaya, Vol. 29, No. 1, Februari 2016; Korespondensi: Noer Muhammad DH. Program Studi Magister Biologi Molekuler Reproduksi Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang, Jl. Veteran Malang Tel. (0341) 554403 Email: elhaq.kebo@gmail.com

PENDAHULUAN

Autoimmune thyroiditis (AITD) merupakan penyakit autoimun pada kelenjar tiroid. Penyakit AITD memiliki prevalensi mencapai 5-10% pada populasi di dunia dan lebih banyak menyerang wanita dibandingkan laki-laki. Hal tersebut disebabkan karena wanita memiliki hormon progesteron yang dapat berpengaruh terhadap peningkatan produksi antibodi, sehingga dapat lebih mudah mengalami kondisi autoimun dibandingkan dengan laki-laki yang memiliki hormon testosteron yang dapat menginisiasi produksi sitokin proinflamasi (1).

Penyakit AITD dapat menyebabkan kerusakan pada kelenjar tiroid, yang ditandai dengan adanya hipertropi tiroid dan diikuti dengan stimulasi peningkatan metabolisme tiroid (2). Saat ini, peneliti banyak membuat penelitian untuk mengetahui pengaruh penyakit AITD terhadap metabolisme menggunakan hewan model AITD. Pembuatan hewan model AITD dapat dilakukan dengan induksi *bovine thyroglobulin* (bTg), *murine thyroglobulin* (mTg) dan *pig thyroglobulin* (pTg) dikarenakan adanya kesamaan struktur biokimia tiroglobulin pada mamalia. Penyakit autoimun tiroiditis dapat diketahui dengan terbentuknya autoantibodi *thyroid peroxidase* (TPO), *thyroid stimulating hormone receptor* (TSHR) dan tiroglobulin (3).

Gangguan fungsi pada kelenjar tiroid memiliki dampak terhadap tingkat kesuburan pada makhluk hidup. *Hipertiroidism* dan *hipotiroidism* dapat menyebabkan perubahan pada kadar *Sex Hormone-Binding Globulin* (SHBG), prolaktin, *Gonadotropin-Releasing Hormone* (GnRH) dan kadar steroid dalam serum. Kondisi Hipotiroid mengakibatkan penundaaan pematangan seksual yang ditandai dengan folikel yang kecil dan atrofi ovarium, serta kurang berkembangnya rahim (4). Penelitian lain menyebutkan bahwa kondisi *hipotiroidism* pada tikus dewasa tidak mengakibatkan sterilitas tetapi dapat mengganggu kehamilan terutama pada tahapan pertama yang ditandai dengan resorpsi embrio dan selanjutnya terjadi pengurangan dalam ukuran embrio (5). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kondisi hipotiroid terhadap regulasi hormon tiroid dan sistem reproduksi, salah satunya adalah periode siklus estrus dan jumlah folikel *de graff* menggunakan tikus model hipotiroid hasil induksi cTg

METODE

Perlakuan Hewan Coba

Aklimatisasi tikus dilakukan selama 10 minggu di laboratorium Biosains, Universitas Brawijaya, Malang. Penggunaan hewan coba pada penelitian ini sudah mendapat sertifikat laik etik No: 263-KEP-UB dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya.

Tikus (*Rattus norvegicus*) umur 2 bulan dengan berat rata-rata 200 gram dibagi menjadi dua kelompok, yaitu: (A) kelompok kontrol (normal), yaitu kelompok tikus yang tidak diinjeksi dengan cTg, (B) kelompok perlakuan, yaitu kelompok tikus yang diinjeksi dengan cTg yang diemulsi dengan *adjuvant* (1:1) dosis 200µg/µL. Injeksi cTg yang diemulsi dengan CFA dilakukan secara *subcutan* dan dilakukan *booster* menggunakan cTg yang diemulsi dengan IFA (1:1) dosis 200µg/µL sebanyak dua kali. Selanjutnya serum tikus diambil untuk mengetahui tikus yang sudah mengalami kondisi hipotiroid. Injeksi cTg yang diemulsi dengan *adjuvant* menyebabkan tiroiditis pada

hewan model selanjutnya mengakibatkan kondisi hipotiroid.

Tikus hipotiroid diamati siklus estrusnya selama tiga kali siklus estrus. Siklus estrus ini dapat diamati dengan melakukan pengamatan terhadap perubahan sel-sel penyusun lapisan sel epitel vagina. Satu kali siklus estrus dimulai dari fase estrus, metestrus, diestrus, proestrus dan kembali lagi ke fase estrus (6). Setiap satu kali siklus estrus, tikus model hipotiroid diambil serumnya untuk diukur kadar *thyroid stimulating hormone* (TSH) dan hormon tiroksin (T4). Pada tahapan akhir penelitian, tikus dibedah untuk dilakukan pengambilan organ ovarium dan darah. Darah tikus diambil melalui bagian apex jantung, kemudian darah didiamkan selama 4 jam dengan kemiringan 45°. Selanjutnya darah disentrifus dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Organ ovarium difiksasi dalam larutan paraformaldehid (PFA) 10% untuk pembuatan preparat histologi ovarium.

Pemeriksaan Siklus Estrus (SE) Hewan Coba

Tikus yang sudah dalam kondisi hipotiroid diamati siklus estrusnya dengan metode apusan vagina. Tahapan yang pertama dilakukan adalah *cotton bud* dibilas dengan akuades selanjutnya dimasukkan ke dalam vagina tikus betina dengan sudut 145°, diusap sebanyak 2-3 kali putaran dan dibuat preparat apusan, dandifikasi dengan larutan alkohol fiksatif 70% selama 10 menit. Preparat apusan tersebut diangkat dan dikeringanginkan. Selanjutnya preparat apusan dimasukkan ke dalam larutan PBS selama 5 menit dan diwarnai giemsa selama 5 menit. Residu giemsa dihilangkan dengan dibilas air mengalir dan dikeringanginkan. Morfologi sel-sel epitel diamati pada preparat di bawah mikroskop untuk menentukan siklus estrusnya dan dilakukan selama tiga kali siklus estrus.

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

Serum yang sudah dikoleksi dari hewan coba digunakan untuk mengukur kadar hormon tiroksin (T4). Pengukuran kadar *thyroid stimulating hormone* (TSH) dan hormon tiroksin (T4) dilakukan menggunakan metode ELISA dengan kit *Rodent TSH dan T4 ELISA kit test (lot.no. 030413)* dan dilakukan pembacaan menggunakan ELISA *reader* dengan panjang gelombang 450 nm.

Pengamatan Preparat Histologi Ovarium

Preparat histologi ovarium diwarnai dengan metode pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (H&E) dan diamati menggunakan mikroskop Olympus CX-31 untuk mengetahui perkembangan folikel, khususnya jumlah folikel *de graff*. Folikel *de graff* dapat ditandai dengan sudah terbentuknya antrum pada folikel (7).

Analisis Data

Data kadar *thyroid stimulating hormone* (TSH) dan hormon tiroksin (T4) dianalisa statistik menggunakan uji *oneway ANOVA* yang dilanjutkan dengan uji beda nyata dengan signifikansi ($p < 0,05$). Pemeriksaan siklus estrus dan perkembangan folikel ovarium pada tikus model hipotiroiditis dilakukan secara deskriptif dan analisa statistik menggunakan uji t berpasangan yang dilanjutkan dengan uji beda nyata dengan signifikansi ($p < 0,05$).

HASIL

Hasil pengukuran kadar *thyroid stimulating hormone* (TSH) selama tiga kali siklus estrus pada tikus model hipotiroid

menunjukkan adanya peningkatan yang signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan tikus normal. Kadar hormon TSH pada tikus normal adalah $0,139 \pm 0,011 \mu\text{g/dL}$, sedangkan kadar TSH pada serum tikus model hipotiroid pada siklus estrus pertama, kedua dan ketiga secara berurutan adalah $0,2922 \pm 0,011 \mu\text{g/dL}$, $0,3142 \pm 0,025 \mu\text{g/dL}$, dan $0,3121 \pm 0,022 \mu\text{g/dL}$. Sebaliknya, hasil pengukuran kadar hormon tiroksin (T4) menunjukkan adanya penurunan yang signifikan ($p < 0,05$) pada tikus model hipotiroid dibandingkan dengan tikus normal (Tabel 1). Kadar hormon T4 pada tikus normal adalah $2,90 \pm 0,057 \mu\text{g/dL}$, sedangkan kadar T4 pada serum tikus model hipotiroid siklus estrus pertama, kedua dan ketiga secara berurutan adalah $1,18 \pm 0,162 \mu\text{g/dL}$, $0,77 \pm 0,158 \mu\text{g/dL}$, dan $0,96 \pm 0,148 \mu\text{g/dL}$. Hasil tersebut menunjukkan adanya penurunan kadar hormon tiroksin dibandingkan dengan kadar normal hormon tiroid dalam darah $1,6-3,2 \mu\text{g/dL}$.

Penurunan kadar hormon tiroksin (T4) dalam darah selama tiga kali siklus estrus pada tikus model menunjukkan adanya gangguan fungsi pada kelenjar tiroid, sehingga menyebabkan produksi hormon tiroksin di kelenjar tiroid tersebut menurun. Selain itu, peningkatan hormon TSH diakibatkan karena tidak ada mekanisme *negative feedback* dari hormon tiroksin (T4), sehingga kelenjar pituitari tetap memproduksi hormon TSH. Penurunan kadar hormon tiroksin (T4) menunjukkan bahwa tikus sudah mengalami kondisi hipotiroid.

Tabel 1. Perbandingan antara kadar *Thyroid Stimulating Hormone* (TSH) dengan hormon tiroksin (T4) selama tiga kali siklus estrus (ng/dL)

	<i>Thyroid Stimulating Hormone</i> (TSH)	Hormon Tiroksin (T4)
Normal	$0,139 \pm 0,011$	$2,90 \pm 0,057$
Hipotiroid (SE ke-1)	$0,2922 \pm 0,011^*$	$1,18 \pm 0,162^*$
Hipotiroid (SE ke-2)	$0,3142 \pm 0,025^*$	$0,77 \pm 0,158^*$
Hipotiroid (SE ke-3)	$0,3121 \pm 0,022^*$	$0,96 \pm 0,148^*$

Keterangan: *menunjukkan terdapat perbedaan signifikan dibandingkan kelompok normal ($p < 0,05$)

Tikus yang mengalami kondisi hipotiroid mengalami gangguan terhadap sistem reproduksi yang dapat dilihat dari hasil pengamatan siklus estrus pada tikus model hipotiroid menggambarkan adanya ketidakteraturan siklus estrus yang ditandai dengan adanya pemanjangan periode siklus estrus yang signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan tikus normal (Tabel 2). Rata-rata lama waktu yang dibutuhkan tikus model hipotiroid dalam satu siklus estrus adalah 10-12 hari, sedangkan waktu yang dibutuhkan tikus normal dalam satu siklus estrus adalah 4-5 hari.

Selain itu, tikus yang mengalami kondisi hipotiroid mengalami penurunan jumlah folikel *de graff* yang signifikan ($p < 0,05$) pada tikus model tikus model hipotiroid dibandingkan dengan tikus normal (Gambar 4). Hasil pengamatan gambaran histologi ovarium menunjukkan adanya penurunan jumlah folikel *de graff* yang signifikan ($p < 0,05$) pada tikus model hipotiroid dibandingkan dengan tikus normal. Jumlah rata-rata folikel *de graff* pada tikus model hipotiroid adalah $1,11 \pm 0,19$, sedangkan jumlah rata-rata folikel *de graff*

pada tikus normal adalah $2,66 \pm 0,57$. Variasi pemanjangan periode siklus estrus dan penurunan jumlah folikel *de graff* pada tikus hipotiroid hasil induksi cTg menjawab hipotesis penelitian bahwa kondisi hipotiroid berpengaruh terhadap sistem reproduksi.

Tabel 2. Perbandingan periode siklus estrus (hari) dan jumlah folikel *de graff* pada tikus normal dan tikus model hipotiroid

	Periode siklus estrus (hari)	Jumlah folikel <i>de graff</i>
Tikus normal	$4,667 \pm 0,33$ (4-5 hari)	$2,66 \pm 0,57$
Tikus model hipotiroid	$10,22 \pm 1,35$ (10-12 hari)*	$1,11 \pm 0,19^*$

Keterangan: * menunjukkan terdapat perbedaan signifikan dibandingkan kelompok normal ($p < 0,05$)

DISKUSI

Induksi *caprine thyroglobulin* (cTg) yang diemulsi dengan *adjuvant* pada hewan model akan menyebabkan reaksi pada sistem imun dengan menganggap cTg sebagai antigen oleh sistem imun tikus yang selanjutnya akan terbentuk antibodi spesifik terhadap tiroglobulin. Pada tahapan *booster* injeksi cTg, produksi antibodi spesifik tiroglobulin akan meningkat dan menyebabkan terjadinya reaksi autoimun dengan mekanisme pengenalan tiroglobulin yang ada pada kelenjar tiroid hewan model sebagai antigen. Hal tersebut terjadi karena adanya kesamaan fisik, biokimia dan *conserve gene* pada tiroglobulin kambing dan tiroglobulin tikus (8).

Thyroid stimulating hormone (TSH) merupakan hormon yang diproduksi oleh pituitari anterior dan berfungsi untuk menstimulasi produksi hormon tiroid di kelenjar tiroid untuk proses metabolisme dalam tubuh. Pada kondisi normal, produksi hormon TSH dihambat oleh hormon tiroksin (T4) melalui mekanisme *feedback* negatif ketika kadar hormon tiroid yang diproduksi sudah mencukupi (9). Penurunan kadar hormon tiroksin (T4) pada penelitian ini menunjukkan bahwa tikus mengalami kondisi hipotiroid dan berpengaruh terhadap tidak adanya mekanisme *negative feedback* terhadap produksi TSH, sehingga kadar TSH pada serum tikus hipotiroid meningkat.

Reaksi autoimun yang terjadi akibat induksi *capra thyroglobulin* (cTg) pada tikus akan menyebabkan kerusakan dan gangguan fungsi pada kelenjar tiroid. Hasil penelitian sebelumnya menjelaskan bahwa induksi tiroglobulin kambing yang diemulsi dengan *adjuvant* menyebabkan adanya kerusakan pada gambaran histologi kelenjar tiroid hewan model (8). Kerusakan yang terjadi pada kelenjar tiroid menyebabkan terjadinya penurunan fungsi kelenjar tiroid, salah satunya adalah penurunan produksi hormon tiroid pada kelenjar tiroid.

Kadar hormon tiroksin (T4) dalam darah dapat digunakan sebagai penanda awal terjadinya kerusakan kelenjar tiroid dan adanya reaksi *autoimmune thyroid disease* (AITD) (10). Kadar normal hormon tiroid dalam darah adalah $1,6-3,2 \mu\text{g/dL}$. Penurunan kadar hormon tiroksin (T4) dalam darah menunjukkan adanya kondisi hipotiroid, sedangkan peningkatan kadar hormon tiroksin (T4) menunjukkan adanya kondisi hipertiroid. Kondisi tersebut dapat menyebabkan gangguan regulasi hormonal jalur hipotalamus-pituitari-tiroid. Kadar hormon tiroid dalam darah memiliki hubungan negatif dengan kadar *thyroid stimulating hormone* (TSH), karena salah satu fungsi dari hormon tiroid adalah sebagai sinyal *negative feedback*

produksi hormon TSH (11).

Pada sistem reproduksi, hormon tiroid akan berikatan dengan reseptor hormone tiroid (TR) di inti sel granulosa folikel di ovarium. Hormon tiroid berfungsi sebagai faktor transkripsi dan berpengaruh terhadap ekspresi mRNA-FSHr, sehingga FSHr dapat terbentuk dan folikel dapat berkembang karena adanya stimulasi dari hormon FSH (12).

Kondisi hipotiroid pada hewan model hasil induksi *caprine thyroglobulin* (cTg) mengakibatkan terjadinya variasi pemanjangan periode pada siklus estrus (SE), dikarenakan adanya gangguan fungsi pada kelenjar tiroid yang selanjutnya berdampak pada penurunan produksi hormon tiroid. Kondisi tersebut menyebabkan pengikatan hormon tiroid dengan reseptornya menurun, sehingga terjadinya penurunan ekspresi mRNA FSHr pada folikel preantral di ovarium hewan model. Kondisi tersebut mengakibatkan folikel preantral pada ovarium hewan model mengalami kondisi resisten terhadap stimulasi hormon FSH, sehingga terjadi penundaan perkembangan folikel dan terganggunya produksi hormon estrogen.

Siklus estrus merupakan salah satu aspek reproduksi yang menggambarkan fungsi ovarium. Siklus estrus dipengaruhi oleh regulasi hormon estrogen yang diproduksi di ovarium (9). Penelitian lain menjelaskan bahwa kondisi hipotiroid menyebabkan terjadinya sekresi hormon prolaktin yang berlebihan (hiperprolaktin) (13). Kondisi tersebut menyebabkan produksi hormon FSH oleh kelenjar pituitari terhambat. Hiperprolaktin pada tikus hipotiroid menyebabkan terjadinya variasi pemanjangan periode dalam satu siklus estrus. Siklus estrus dipengaruhi oleh kadar hormon estrogen dalam darah. Kadar estradiol pada hewan hipotiroid juga cenderung menurun dibandingkan dengan kelompok tikus normal. Penurunan kadar estrogen disebabkan karena adanya penurunan respon dari sel granulosa terhadap stimulasi hormon FSH atau terjadi hambatan terhadap sekresi FSH akibat adanya peningkatan hormon progesteron (14).

Pada kondisi normal, hormon estrogen diproduksi oleh ovarium karena adanya stimulasi hormon *follicle stimulating hormone* (FSH). Hormon progesteron diproduksi oleh korpus luteum karena adanya stimulasi hormon *luteinizing hormone* (LH). Hormon FSH dan LH diproduksi oleh kelenjar pituitari karena adanya stimulasi *gonadotrophin releasing hormone* (GnRH) yang diproduksi oleh hipotalamus (9). Regulasi hormonal jalur hipotalamus-pituitari-gonad (HPG) tersebut berpengaruh terhadap perkembangan folikel dan fungsi dari ovarium.

Perkembangan folikel ovarium dibagi menjadi dua tahapan yaitu fase preantral dan antral. Fase preantral meliputi folikel primordial, folikel primer dan folikel sekunder. Fase antral meliputi folikel *de graff*. Perkembangan folikel ovarium pada fase preantral lebih dipengaruhi oleh *growth factor* yang diproduksi sendiri oleh folikel ovarium, seperti *transforming growth factor β* (TGF-β) *superfamily* dan *insulin like growth factor 1* (IGF-1). Perkembangan folikel pada fase antral lebih dipengaruhi oleh hormon gonadotrophin, seperti hormon FSH dan LH (15).

Penelitian lain menjelaskan bahwa mekanisme folikulogenesis berhubungan dengan perubahan ekspresi mRNA yang mengkode reseptor gonadotrophin, enzim steroidogenesis dan seleksi folikel (16). Hormon tiroid berpengaruh terhadap peningkatan ekspresi dan aktivitas dari *growth differentiation factor 9* (GDF-9) pada tahapan

pertumbuhan preantral folikel melalui mekanisme *paracrine* di ovarium (17). GDF 9 merupakan regulator dari proliferasi dan diferensiasi sel granulosa. Selain itu, GDF 9 juga menjaga sel granulosa dari mekanisme apoptosis dan dibutuhkan untuk ekspresi mRNA FSHr (FSH reseptor) pada folikel preantral (18).

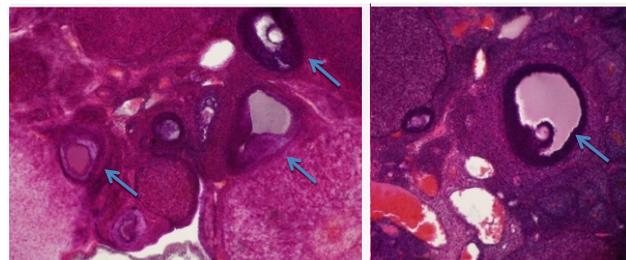
Ekspresi mRNA FSHr dapat ditemukan pada sel granulosa, sedangkan ekspresi LHR (LH reseptor) pertama kali ditemukan pada sel theca internal disekitar sel granulosa (19). Pertumbuhan folikel primordial dan tahapan awal pada proses folikulogenesis dapat terjadi tanpa pengaruh dari hormon gonadotrophin, tetapi stimulasi dari FSH dapat berpengaruh terhadap peningkatan jumlah folikel preantral yang tumbuh (15).

Reseptor spesifik untuk hormon tiroid yang ditemukan di ovarium tikus. Kondisi hipotiroid menyebabkan adanya penurunan ekspresi mRNA reseptor FSH, sehingga folikel ovarium pada hewan model resisten terhadap stimulasi hormon FSH. Selain itu, kondisi hiperprolaktin dialami oleh tikus model dengan kondisi hipotiroid menyebabkan penundaan terhadap produksi hormon *gonadotrophin* di pituitari (20).

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya penurunan jumlah folikel *de graff* pada hewan model hasil induksi cTg dibandingkan tikus normal. Penurunan jumlah folikel *de graff* terjadi karena adanya penurunan sekresi hormon reproduksi pada tikus model hipotiroid, sehingga stimulasi hormon FSH terhadap folikel yang tumbuh menurun. Interaksi hormon tiroid dan FSH dapat meningkatkan pertumbuhan folikel, khususnya transisi fase preantral menjadi fase antral (12).

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya penurunan jumlah folikel *de graff* pada hewan model hasil induksi cTg dibandingkan tikus normal. Penurunan jumlah folikel *de graff* terjadi karena adanya penurunan sekresi hormon reproduksi pada tikus model hipotiroid, sehingga stimulasi hormon FSH terhadap folikel yang tumbuh menurun. Interaksi hormon tiroid dan FSH dapat meningkatkan pertumbuhan folikel, khususnya transisi fase preantral menjadi fase antral (12).

Induksi *caprine thyroglobulin* (cTg) yang diemulsi dengan *adjuvant* pada tikus menyebabkan tiroiditis yang selanjutnya mengakibatkan kondisi hipotiroid yang ditandai dengan penurunan kadar hormon tiroksin dan peningkatan *thyroid stimulating hormone* (TSH) selama tiga kali siklus estrus. Tikus yang mengalami kondisi hipotiroid menunjukkan adanya variasi pemanjangan periode pada setiap siklus estrus dan penurunan folikel *de graff*.



Gambar 5. Gambaran histologi ovarium (100x)

Keterangan: (A) tikus normal dan (B) tikus model hipotiroid. Folikel *de graff* ditandai (---->)

DAFTAR PUSTAKA

1. Akin F. *Basic and Clinical Endocrinology Up-to-Date*. Rijeka, Croatia: InTech; 2011.
2. Weetman AP. *Determinants of Autoimmune Thyroid Disease*. *Nature Immunology*. 2001; 2(9): 769–770.
3. Song XH, Zan RZ, Yu CH, and Wang F. *Effects of Modified Haizao Yuhu Decoction in Experimental Autoimmune Thyroiditis Rats*. *Journal of Ethnopharmacology*. 2011; 135(2): 321-324.
4. Krassas GE, Poppe K, and Glinoeer D. *Thyroid Function and Human Reproductive Health*. *Endocrine Review*. 2010; 31(5): 702-755.
5. Lee YL, Ng HP, Lau KS, et al. *Increased Fetal Abortion Rate in Autoimmunity Thyroid Disease is Related to Circulating TPO Autoantibodies in an Autoimmune Thyroiditis Animals Models*. *Fertility and Sterility*. 2009; 91(5): 2104-2109.
6. Spornitz UM, Socin CD, and Draavid AA. *Estrous Stage Determination in Rats by Mean of Scanning Electron Microscopic Images of Uterine Surface Epithelium*. *The Anatomical Record*. 1999; 254(1): 116-126.
7. Junqueira LC and Carneiro J. *Junqueira's Basic Histology Text & Atlas*. 11 edition. New York: The McGraw-Hill, Inc.; 2005.
8. Wuragil DK, Oktaviane DA, Untari H, Marhendra APW, and Aulanni'am. *Immunodot Based Detection for Autoimmune Thyroiditis with Anti-Thyroglobulin Antibody on Experimental Animal Models Induced with Caprine Thyroglobulin*. *Book of Proceeding the 2nd Regional Symposium on Biosensors Biodiagnostics & Biodip*. Thailand, 2013; p. 34-37.
9. Hiller-Sturmhofel S and Bartke A. *The Endocrine System: An Overview*. *Alcohol Research: Current Reviews Archives*. 1998; 22(3): 153-164.
10. Johnson MH and Everitt BJ. *Essential Reproduction*. 3rd Edition. London: Blackwell Scientific; 1998.
11. Piechotta M, Arndt M, and Hoppen HO. *Autoantibodies Against Thyroid Hormones and Their Influence on Thyroxine Determination with Chemiluminescence Immunoassay in Dogs*. *Journal Veterinary Science*. 2010; 11(3): 191-196.
12. Kobayashi N, Orisaka M, and Cao M. *Growth Differentiation Factor-9 Mediates Follicle-Stimulating Hormone-Thyroid Hormone Interacion in the Regulation of Rat Preantral Follicular Development*. *Journal of Endocrinology*. 2009; 150(12): 5566-5574.
13. Verma I, Sood R, Juneja S, and Kaur S. *Prevalence of Hypothyroidism in Fertile Women and Evaluation of Response of Treatment for Hypothyroidism on Infertility*. *International Journal of Applied and Basic Medical Research*. 2012; 2(1); 17-19.
14. Hatsuta M, Abe K, and Tamura K. *Effect of Hypothyroidism on the Estrous Cycle and Reproductive Hormone in Mature Female Rat*. *European Journal of Pharmacology*. 2004; 486(3): 343-348.
15. Webb R, Garnsworthy PC, Gong JG, and Armstrong DG. *Control of Follicular Growth: Local Interaction and Nutritional Influence*. *Journal of Animal Science*. 2004; 82: E63-E74.
16. Zhou JS and Gill HS. *Immunostimulatory Probiotic Lactobacillus rhamnosus HN001 and Bifidobacterium lactis HN019 do not Induce Pathological Inflammation in Mouse Model of Experimental Autoimmune Thyroiditis*. *International Journal of Food Microbiology*. 2005; 103(1): 97–104.
17. Dittrich R, Matthias WB, Opelt PG, et al. *Thyroid Hormone Receptors and Reproduction*. *Journal of Reproduction Immunology*. 2011; 90(1): 58-66
18. Bao B and Garverick HA. *Expression of Steroidogenic Enzyme and Gonadotropin Receptor Gene in Bovine Follicles During Ovarian Follicular Waves: A Review*. *Journal Animal Science*. 1998; 76(7): 1903-1921.
19. Fedail JS, Zheng K, Wei Q, Kong L, and Shi F. *Roles of Thyroid Hormones in Follicular Development in the Ovary of Neonatal and Immature Rats*. *Endocrine*. 2014; 46(3): 594-604.