

**PENGEMBANGAN TEKNIK PENGUKURAN METABOLIT STEROID
UNTUK MONITORING STATUS REPRODUKSI OWA JAWA
(*Hylobates moloch*) SEBAGAI UPAYA PELESTARIAN SATWA
TERANCAM PUNAH**

Hera Maheshwari¹⁾, Bambang Purwantara, Pudji Astuti, Luthfiralda Sjahfirdi

Penelitian tahun pertama bertujuan untuk menerapkan pengukuran hormon steroid dari contoh urin dan feses untuk monitoring status reproduksi Owa Jawa (*Hylobates moloch*) yang dikandangkan. Enam ekor Owa Jawa betina dewasa usia 6-8 tahun dan tidak bunting digunakan dalam penelitian ini. Tiga ekor diantara Owa Jawa tersebut dikandangkan masing-masing dalam kandang individu sedangkan tiga ekor lainnya dikandangkan secara berpasangan dengan pejantan dewasa. Contoh urin dan feses yang dikoleksi selama 5-7 hari perminggu dalam jangka waktu 3-6 bulan dipergunakan untuk analisis dan pengamatan terhadap adanya perdarahan menstruasi dan pembengkakan genitalia eksterna dilakukan pula pada saat yang bersamaan.

Dari keenam Owa Jawa yang dipergunakan dalam penelitian ini, hanya 1 ekor yang menunjukkan adanya fluktuasi yang jelas mengenai pembengkakan genitalia eksternanya yang menandakan bahwa betina tersebut mempunyai siklus ovarium yang normal, sedangkan owa yang lainnya tidak menunjukkan adanya pembengkakan yang berarti. Estron terkonjugasi (E_1C) dan pregnandiol glukuronat (PdG) terbukti dapat dianalisis dari contoh urin dan feses dengan menggunakan teknik EIA dan menunjukkan hasil yang paralel dengan masing-masing standar uji paralelisme. Profil E_1C dan PdG dari contoh urin apabila dikaitkan dengan pembengkakan genitalia eksterna pada betina yang bersiklus, menunjukkan adanya suatu pola dari fase-fase siklus ovarium yaitu fase folikular dan luteal. Oleh karena tidak lengkapnya contoh urin yang berhasil dikoleksi, maka pengukuran metabolit steroid dari contoh urin hanya dapat dilakukan pada tiga ekor betina, dan oleh karenanya, metabolit steroid yang berasal dari feses harus pula diukur untuk mengkompensasi data yang tidak dapat diperoleh dari contoh urin.

Dari profil yang diperoleh, data ditentukan panjang fase folikular dan luteal yaitu sekitar 11-12 hari, dengan panjang seluruh siklus 21-24 hari, serta lama perdarahan menstruasi yang diperoleh dari hasil pengamatan adalah 3 hari. Adapun hasil yang diperoleh dari penelitian ini merupakan yang pertama kali menyajikan informasi yang detail mengenai endokrinologi reproduksi dari Owa Jawa betina dan menunjukkan bahwa pengukuran metabolit estrogen dan progesteron di urin dan feses merupakan suatu indikator yang dapat dipergunakan dalam menentukan fungsi-fungsi reproduksi spesies ini dan juga memberikan suatu wawasan dalam menjawab permasalahan-permasalahan di bidang biologi reproduksi Owa Jawa, terutama bagi owa-owa yang dikandangkan.

Penelitian tahun kedua bertujuan untuk menggunakan avian antibodi kuning telur (vitelin) untuk memproduksi anti steroid estrogen dimana sampai saat ini penggunaan IgY belum pernah dilakukan untuk mendeteksi estrogen ataupun progesteron. Dengan tujuan khusus memperoleh dosis optimal dari imunogen

¹⁾ Staf Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi LPPM IPB

yang dapat menghasilkan titer antibodi yang tinggi. Adapun tahapan metoda yang dilakukan adalah induksi, persiapan dan karakterisasi IgY terhadap estrogen dan progesteron.

Imunogen yang digunakan untuk induksi adalah β -Estradiol 6-(Ocarboxymethyl) Oxime untuk estrogen dan α -11-Hydroxyprogesteron 11-Hemisuccinate untuk progesteron yang telah dikopel dengan BSA (SIGMA, St. Louis, MO.,USA). Induksi dilakukan dengan tiga macam dosis dimana induksi awal menggunakan *Complete Freund's Adjuvant* (FCA) dan penyuntikan berulang (booster) dilakukan sebanyak 3 kali dengan selang waktu dua minggu dengan campuran *Incomplete Freund's Adjuvant* (FIA). IgY diisolasi dari kuning telur dengan cara sentrifugasi, dimana sebelumnya dilakukan penapisan IgY dilakukan dari serum dengan menggunakan AGPT yang membuktikan bahwa IgY yang terbentuk bereaksi terhadap imunogen yang digunakan untuk menginduksi.

Pada minggu ke-7 dilakukan isolasi dan permurnian IgY dari kuning telur dengan teknik ekstraksi menggunakan HPLC untuk kemudian ditentukan titernya secara EIA. Kondisi yang menghasilkan titer antibodi yang tinggi selanjutnya akan dipakai untuk memproduksi IgY.

Adapun hasil yang diperoleh dari penelitian ini adalah bahwa pada tahap pertama, dengan 3 macam dosis yang diberikan tidak berhasil dibentuk IgY karena tidak bereaksi dengan test AGPT. Oleh karena hasil tahap pertama tidak seperti yang diharapkan, maka pemberian dosis ditingkatkan untuk memperoleh IgY dengan titer yang tinggi.

Penelitian tahun ketiga merupakan lanjutan proses penelitian tahun kedua, dimana oleh karena perolehan dosis imunogen mengalami hambatan, maka pada tahun ketiga imunogen yang digunakan hanya satu macam yaitu β -Estradiol 6-(Ocarboxymethyl) Oxime. Pembelian imunogen komersial menjadi pilihan oleh karena pelabelan imunogen dengan BSA yang dilakukan pada tahun kedua tidak mendapatkan hasil yang baik..

Setelah dilakukan isolasi serum, maka pada saat titer antibodi dalam darah cukup tinggi, telur yang dihasilkan dikoleksi. Dari hasil isolasi dan ekstraksi dan setelah dibandingkan dengan hasil analisis hormon secara EIA menggunakan reagen komersial, maka belum terlihat hasil yang cukup memuaskan. Secara umum, produksi antibodi asal kuning telur dapat dilakukan akan tetapi perolehan titer yang tinggi untuk suatu bahan diagnostik masih memerlukan upaya pencarian dosis dan metode ekstraksi yang lebih baik. Hal ini dapat terjadi mengingat pembuatan antibodi asal kuning telur yang selama ini dilakukan adalah memakai imunogen protein, sedangkan untuk hormon steroid, pembangkitan respon antibodi sangat sulit karena struktur steroid fan juga karena berat molekulnya yang kecil. Namun demikian, kedepannya penggunaan antibodi asal kuning telur untuk steroid optimis dapat dilakukan.