

Perubahan Kadar Estradiol dan Histologi Uterus Mencit (*Mus musculus*) Betina dengan Induksi Progesteron Sintetik

Erlia Narulita¹, Jekti Prihatin¹, Khoirul Anam¹, Fikri Ainur Risma Hardiyanti Oktavia¹
¹Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember
 Email : erlia.fkip@unej.ac.id

Abstract

The purpose of this research was to determine the effect of progesterone to estradiol levels and histology of uterus, to test the effect of estrous cycle to uterus histology of females' mice after treated by progesterone in birth control pills. This research used Completely Randomized Design (CRD). Females *Mus musculus* Balb-C and synthetic progesterone (cyproterone acetate) contained in 'Diane-35' birth control pills were used in this study. The research consisted of two treatment groups, i.e. group K had no treatment and group P treated by a solution of Diane-35 at a dose of 2.6 mg per 5 mL distilled water. Results on the effects of progesterone on endometrial thickness suggested that there were significant differences between treatment groups. Meanwhile, the effect of progesterone on estradiol levels indicated that there were no significant differences among treatment groups. This means that the thickness of the endometrium was strongly influenced by the presence of a synthetic progesterone hormone and induced endometrium growth thicker. The levels of estradiol are not significantly different due to a negative feedback mechanism of Follicle Stimulating Hormone (estrogen effect) and Luteinizing Hormone (progesterone effect). The greatest thickness of endometrium of estrous cycle was treated by progesterone, which was 0.2500 mm².

Key Words : *Progesterone, endometrial thickness, estradiol levels.*

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh hormon progesteron terhadap kadar estradiol dan histologi uterus mencit (*Mus Musculus*) betina dan menguji adanya pengaruh siklus estrus terhadap kondisi histologis uterus mencit (*Mus musculus*) betina setelah pemberian hormon progesteron dalam pil KB. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah Mencit (*Mus musculus*) betina varietas Balb-C sedangkan hormon progesteron yang digunakan hormon progesterin sintetik (*Cyproteron Acetate*) yang terkandung dalam pil KB dengan merk Diane-35. Penelitian ini terdiri atas 2 kelompok perlakuan yaitu kelompok K tanpa pemberian pil dan kelompok P pemberian larutan pil KB merk Diane-35 dengan dosis 2,6 mg per 5 mL aquades. Hasil penelitian tentang pengaruh hormon progesteron terhadap tebal endometrium menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata antara kelompok perlakuan, penelitian tentang pengaruh hormon progesterone terhadap kadar estradiol menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata antar kelompok perlakuan. Hal ini berarti bahwa tebal endometrium sangat dipengaruhi oleh adanya hormone progesterone sintetik yang diinduksikan ke dalam tubuh sehingga memicu endometrium untuk tumbuh semakin tebal. Adapun kadar estradiol yang tidak berbeda nyata disebabkan karena adanya mekanisme umpan balik negatif dari hormon-hormon FSH (pengaruh estrogen) dan LH (pengaruh progesteron). Fase siklus estrus yang paling besar ketebalan endometriunya adalah fase estrus perlakuan progesteron yaitu rerata tebal endometriunya sebesar 0,2500 mm².

Kata kunci : *hormon progesteron, ketebalan endometriosis, kadar estradiol.*

Pendahuluan

Berdasarkan data BKKBN, penggunaan pil KB menduduki posisi kedua setelah metode kontrasepsi suntikan, dengan kata lain metode kontrasepsi oral / pil KB banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia. Pil KB yang digunakan umumnya mengandung kombinasi antara hormon estrogen dan progesteron. Kontrasepsi oral dengan merek dagang Diane-35 merupakan pil kotrasepsi kombinasi yang mengandung *ethinylestradiol* (35 µg) and *cyproterone acetate* (2 mg) (Canadian Medical Association, 2003). Pemberian estrogen saja pada pil KB akan menyebabkan penyakit hiperplasia sehingga untuk mencegah hal itu terjadi maka estrogen

dalam pil KB dikombinasikan dengan progesteron (Herman, 1996).

Pemberian progesteron eksogenous dapat mengganggu kadar puncak *follicle-stimulating hormone* (FSH) dan *Luteinizing hormone* (LH), sehingga meskipun terjadi ovulasi, produksi progesteron yang berkurang dari korpus luteum menyebabkan penghambatan dari implantasi. Pemberian progesteron secara sistemik dan untuk jangka waktu yang lama menyebabkan endometrium mengalami keadaan "istirahat" (Hartanto, 2004).

Progesteron dalam dosis yang besar dapat menghambat sekresi LH, jadi bertanggung jawab pada penghambatan ovulasi serta pada sekresi estrogen (estradiol) (Nalbandov, 1990). Pengaruh hormon progesteron terhadap kondisi uterus

dapat ditunjukkan dengan melakukan pengamatan histologi uterus, yaitu dengan pembuatan preparat awetan uterus. Progesteron yang disuntikkan pada tikus dan mencit yang dikastrasi menimbulkan perubahan endometrium uterus yang spesifik, persis seperti yang terjadi pada mamalia lain. Ukuran maupun histologi uterus tidak pernah statis, perubahan yang sangat nyata terjadi di endometrium dan kelenjarnya. Meski demikian, dengan segala keterbatasannya, histologi uterus dapat dijadikan petunjuk yang baik terhadap aktivitas ovarium sistik atau korpora lutea fungsional (Nalbandov, 1990).

Pemberian hormon eksogenous pada wanita sangat erat kaitannya dengan perubahan fisiologi reproduksinya. Perubahan tersebut dapat dilihat pada pola siklus menstruasi. Pada mamalia selain primata tidak mengalami haid, dan daur seksual mereka disebut siklus *estrosa*. Daur ini diberi nama demikian karena adanya periode "panas" (estrus) yang mencolok pada saat ovulasi, yang biasanya merupakan satu-satunya waktu dimana terjadi peningkatan keinginan seksual pada hewan betina. Pada spesies-spesies yang mengalami ovulasi spontan dengan siklus *estrosa*, misalnya tikus, tidak terdapat perdarahan vagina episodik tetapi proses-proses endokrin yang mendasari pada prinsipnya sama seperti proses pada daur haid (Ganong, 2003).

Periode estrus pada hewan terjadi secara berulang dan membentuk suatu siklus yang disebut siklus estrus. Siklus estrus merupakan salah satu aspek reproduksi yang menggambarkan perubahan kandungan hormon reproduksi yang disebabkan oleh aktivitas ovarium dibawah pengaruh hormon gonadotrophin. Perubahan kandungan hormon reproduksi selanjutnya menyebabkan perubahan struktur pada jaringan penyusun saluran reproduksi. Siklus estrus pada mencit terdiri dari 4 fase utama, yaitu proestrus, estrus, metestrus dan diestrus (Taylor, 1994). Siklus ini dapat dengan mudah diamati dengan melihat perubahan sel-sel penyusun lapisan epitel vagina yang dapat dideteksi dengan metode apus vagina pewarnaan Giemsa (Brancroft and Steven, 1999).

Beberapa penelitian terkait pengaruh pemberian hormon reproduksi eksogeneous telah dilakukan. Sitaswi (2008) membuktikan bahwa hormon Estradiol 17- β menyebabkan proliferasi jaringan penyusun lapisan endometrium uterus. Hasil penelitian Rasad (2008) menunjukkan bahwa pemberian GnRH dan atau PGF2 α dapat memperpendek interval partus-estrus pertama pasca beranak dan meningkatkan ekspresi estrus selama 60 hari awal pasca beranak. Shaw, *et al.* (2010) menyatakan jika umpan balik negatif estrogen terjadi secara langsung pada hipofisis dan berkontribusi pada regulasi diferensial sekresi FSH dan LH. Sedangkan Narulita *et al.* (2016)

membuktikan bahwa induksi hormon estrogen sintetik meningkatkan kadar estradiol dan mempengaruhi penebalan endometrium pada fase diestrus secara signifikan.

Metode

Persiapan hewan percobaan

Hewan percobaan yaitu mencit (*Mus musculus*) betina dipelihara dalam kandang berupa ember plastik (37cm x 30cm) dengan tutup kawat dan alas kandang dilapisi sekam secukupnya, sekam kering diganti setiap 3 hari sekali agar kebersihannya terjaga. Pemberian makan dan minum setiap hari dengan menggunakan pakan pelet merk Turbo dan air minum PAM secara *ad libitum*.

Perhitungan konversi dosis progesteron

Dosis pil KB dengan merk dagang Diane-35 yang biasa digunakan adalah 100mg per hari. Adapun konversi dosis pada manusia dengan berat 70kg ke mencit 20g adalah 0,0026 (Laurence and Bacharach, 1964). Dosis yang diberikan untuk mencit (20g) adalah 0,26mg. Dosis yang diberikan pada kelompok perlakuan akan diencerkan 0,5ml aquades sesuai dengan kapasitas lambung mencit (Narulita, 2016).

Induksi hormon progesteron

Hormon progesteron yang digunakan berasal dari pil KB kombinasi dengan merk dagang Diane-35. Setiap mencit pada kelompok perlakuan akan diinduksi pil KB sebanyak 0,26 mg yang dilarutkan dalam 0,5 ml aquades setiap harinya. Sedangkan setiap mencit pada kelompok kontrol akan diinduksi aquades sebanyak 0,5 ml, agar mengalami *stressing gavage* yang sama.

Uji perlakuan dan konsentrasi estradiol

Mencit yang digunakan sebanyak 32 ekor, terdiri atas kelompok perlakuan dan kontrol masing-masing 16 ekor. Selain itu juga digunakan dua ekor mencit jantan dalam pengamatan tingkah laku. Pada tahap pemeliharaan, untuk memudahkan maka masing-masing kelompok dibagi menjadi dua kelompok terdiri atas 8 ekor, yaitu sebagai berikut :

- K1 : tanpa perlakuan (di *gavage* dengan aquades) unt
- K2 : tanpa perlakuan (di *gavage* dengan aquades)
- P1 : digavage dengan hormon progesteron berupa pil kontrasepsi oral merk dagang Diane-35
- P2 : digavage dengan hormon progesteron berupa pil kontrasepsi oral merk dagang Diane-35

K1 dan P1 untuk kadar estradiol, K2 dan P2 untuk tebal endometrium.

Selama 7 hari masa aklimasi semua mencit diberi makanan berupa pakan tikus sintesis. Selanjutnya diberi induksi pil kontrasepsi kombinasi merk Diane-35 mulai hari ke-8 sampai hari ke-12. Pada hari ke-13 mencit dianestesi dan dilakukan pengambilan uterus untuk mengamati histologi dan mengukur tebal endometriunya. Pengambilan sampel darah di jantung dan dilakukan uji estradiol dengan metode ELISA menggunakan prinsip competitive binding (Kricka, 1999 dan Asihara, 2001).

Konsentrasi hormon estradiol

Mencit dieksekusi saat berada pada masing-masing siklus estrus, yaitu 4 ekor dieksekusi pada fase proestrus, 4 ekor pada fase estrus, 4 ekor pada fase metestrus, dan 4 fase diestrus. Kemudian abdomen dibuka, diambil uterus-nya secara hati-hati dengan cara menggunting tepat pada bagian isthmus tuba fallopi kiri dan kanan (yaitu bagian yang paling dekat dengan uterus), dan pada bagian ekor (batas antara cervix dan uterus). Kemudian uterus dibersihkan dari seluruh ligamen yang melekat padanya. Selanjutnya berat uterus utuh ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik dan dipisahkan antara tanduk uterus kiri dan kanan, segera dimasukkan kedalam botol yang berisi larutan *fixative buffer* formalin 10%, direndam selama 12-24 jam (Cromay, 2012). Botol yang berisi larutan fiksatif sebelumnya sudah diberi label untuk kedua kelompok pada setiap fase nya dan antara uterus kiri dan kanan. Setelah 24 jam dalam larutan *fixative buffer* formalin 10%, uterus memasuki tahapan pembuatan preparat permanen.

Analisis data

Untuk menguji perbedaan rerata tebal endometrium dan rerata kadar estradiol antara kontrol dan perlakuan progesteron, maka digunakan uji *Independent Samples T-Test* untuk Analisis *One Way Anova* digunakan untuk menguji pengaruh fase penyusun siklus estrus terhadap tebal endometrium antara kontrol dan perlakuan progesteron dan apabila terdapat perbedaan maka dilakukan uji Duncan dengan tingkat kepercayaan 95% menggunakan SPSS versi 17.0.

Hasil dan Pembahasan

1. Pengaruh Hormon Progesteron terhadap Kadar Estradiol dan Tebal Endometrium

Pengukuran kadar estradiol pada kelompok perlakuan progesteron menunjukkan nilai yang lebih besar dari pada kadar estradiol perlakuan

kontrol (Tabel 1). Hasil *t-test* menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata kadar estradiol antara perlakuan kontrol dan perlakuan progesteron. Hal ini dapat diasumsikan kemungkinan disebabkan karena hormon estradiol (estrogen) dan progesteron bekerja secara umpan balik negatif untuk menghentikan pelepasan GnRH oleh hipotalamus, serta pelepasan FSH (pengaruh estrogen) dan LH (pengaruh progesteron) oleh pituitari. Dengan kata lain dengan menghambat pelepasan LH, progesteron akan mencegah ovulasi, adanya progesteron sintetik yang diinduksi ke dalam tubuh dapat mengakibatkan konsentrasi progesteron dalam tubuh meningkat, sehingga tingkat estradiol dalam tubuh tidak dapat meningkat secara signifikan. Selama siklus menstruasi yang normal, konsentrasi FSH akan mulai meningkat pada hari-hari pertama. FSH merangsang folikel tersier pada ovarium untuk tumbuh menjadi folikel de Graaf, lapisan sel teka interna dan sel granulosa pada folikel de graaf menghasilkan estrogen. Semakin masak atau semakin besar diameter folikel de graaf semakin tinggi pula produksi estrogen. Estrogen mempunyai daya mencegah produksi FSH dan daya perangsang terhadap produksi LH. Kadar estrogen mencapai derajat ketinggian tertentu maka terjadi pelepasan LH dari hipofisa anterior, kadar LH dalam darah mendadak meningkat hingga terjadilah ovulasi. Setelah ovulasi terjadi, kadar LH menurun dengan cepat namun tidak sampai batas minimum, melainkan cukup untuk merangsang sel teka interna untuk membentuk corpus luteum. Korpus luteum memproduksi hormon progesteron yang meredakan aktivitas estrogen (Shaw, et al., 2010).

Tabel 1. Perbedaan kadar estradiol antara kontrol dan perlakuan progesteron

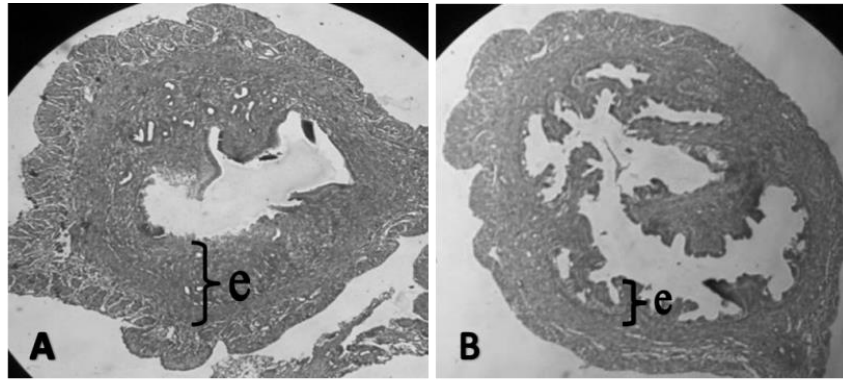
Perlakuan	Kadar Estradiol (pg/mL)
Kontrol	44,59 ± 3,97023
Progesteron	50,38 ± 1,70063

*Signifikansi 0,084 (P>0,05)

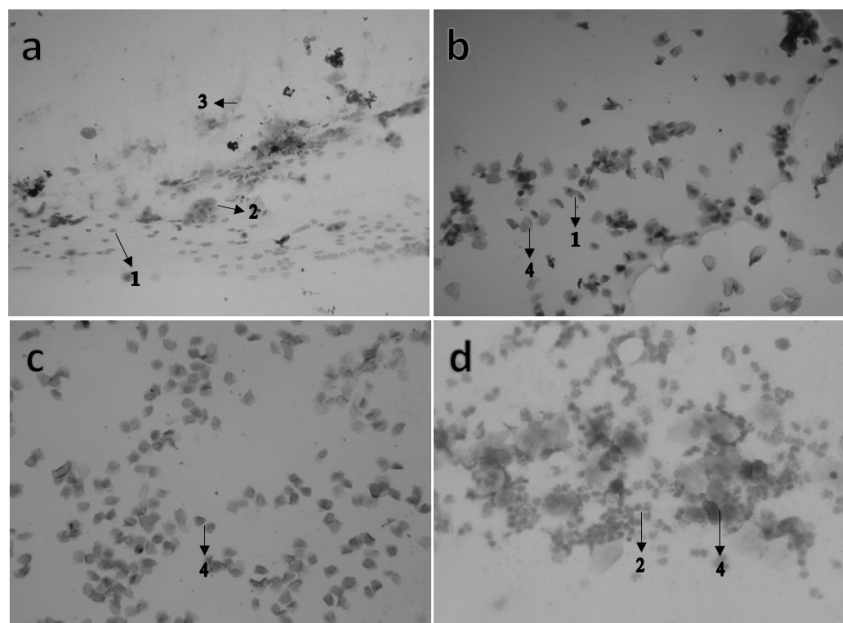
Tabel 2. Perbedaan tebal endometrium antara kontrol dan perlakuan progesteron

Perlakuan	Tebal Endometrium (mm)
Kontrol	0,2032 ± 0,02364
Progesteron	0,2324 ± 0,02141

*Signifikansi 0,004 (P<0,05)



Gambar 1. Penampang membujur uterus mencit (*Mus musculus*). (a) perlakuan progesteron, (b) perlakuan control. e= endometrium. Perbesaran 10x10.



Gambar 2. Preparat apusan vagina siklus estrus mencit (*Mus musculus*). (a) Diestrus; (b) Proestrus; (c) Estrus; (d) Metestrus. 1=sel epitel berinti; 2=leukosit; 3=lendir; 4=sel epitel menanduk. Perbesaran 10x10.

Kadar FSH akan lebih cepat meningkat dibandingkan LH dan akan mencapai puncak pada fase folikular, tetapi akan menurun sampai kadar yang terendah pada fase preovulasi karena pengaruh peningkatan kadar progesteron lalu akan meningkat kembali pada fase ovulasi. Regulasi LH selama siklus menstruasi, kadarnya akan meninggi di fase folikular dengan puncaknya pada pertengahan siklus, bertahan selama 1-3 hari, dan menurun pada fase luteal (Anwar, 2005).

Pemberian progesteron sintetik memberikan pengaruh perbedaan yang sangat nyata terhadap tebal endometrium uterus mencit antara perlakuan kontrol dan perlakuan progesteron. Dari Tabel 2 dapat diketahui bahwa rerata tebal endometrium kelompok perlakuan progesteron lebih besar dari pada tebal endometrium kelompok kontrol ($0,2324 \text{ mm}^2 > 0,2032 \text{ mm}^2$).

Hormon progesteron mengatur pertumbuhan lapisan endometrium pada fase luteum, progesteron yang disekresikan oleh korpus luteum merangsang perkembangan dan pemeliharaan berkelanjutan dari endometrium, yang meliputi perbesaran arteri yang mengalirkan darah ke dinding uterus dan pertumbuhan kelenjar endometrium yang mensekresikan cairan nutrient yang dapat menyokong embrio sebelum embrio terimplantasi dalam dinding rahim. Jadi ketika progesteron diinduksi ke dalam tubuh mencit hal ini akan merangsang penebalan pada bagian endometrium uterus mencit sehingga endometrium menjadi semakin tebal (Gambar 1). Organ target progesteron yang lain adalah uterus, dimana progesteron membantu implantasi ovum (Anwar, 2005). Penebalan endometrium pada uterus terutama pada luteal (estrus) disebabkan

karena adanya pengaruh progesteron terhadap sel-sel epitel endometrium.

2. Pengaruh Fase Siklus Estrus Terhadap Tebal Endometrium

Pengamatan apusan vagina mencit dilakukan untuk memastikan tiap-tiap fase dalam siklus estrus (Gambar 2). Berdasarkan hasil analisis yang telah dilakukan rerata tebal endometrium perlakuan progesteron tiap fase siklusnya lebih besar dari pada rerata tebal endometrium kontrol tiap fase siklus estrusnya. Tebal endometrium terbesar yaitu fase estrus pada perlakuan progesteron, rerata tebal endometriunya sebesar $0,2500 \text{ mm}^2$ ($P = 0,031$). Sedangkan, tebal endometrium terkecil yaitu fase diestrus pada perlakuan kontrol, rerata tebal endometriunya sebesar $0,1733 \text{ mm}^2$ ($P = 0,013$).

Pada fase diestrus endometrium berada pada tahap awal persiapan siklus sehingga kondisi endometriunya masih tipis lebih tipis dari pada fase yang lain. Siklus estrus sebenarnya mirip dengan siklus menstruasi dimana ovulasi terjadi pada suatu waktu dalam siklus itu setelah endometrium mulai menebal dan teraliri banyak darah, karena menyiapkan uterus untuk kemungkinan implantasi embrio. Satu perbedaan antara kedua jenis siklus itu melibatkan nasib lapisan uterus jika kehamilan tidak terjadi. Pada siklus menstruasi, endometrium akan meluruh dari uterus melalui serviks dan vagina dalam pendarahan yang disebut sebagai menstruasi. Pada siklus estrus, endometrium diserap kembali oleh uterus dan tidak terjadi pendarahan yang banyak. Pada masa diestrus terjadi regresi fungsional korpus luteum. Uterus kecil, *anemic* dan hanya agak kontraktif. Mukosa vagina tipis dan leukosit bermigrasi melinasinya, memberikan preparat apusan vagina hamper semata-mata terdiri atas sel-sel ini. Uterus menjadi sangat kecil dan *anemic* selama diestrus, menunjukkan bahwa sementara korpus luteum tetap ada, organ ini mensekresikan progesteron hanya sebentar saja selama siklus reproduksi.

Fase estrus pada perlakuan progesteron memiliki rerata tebal endometrium paling tinggi sedangkan fase diestrus pada perlakuan kontrol memiliki rerata tebal endometrium terendah. Hal ini dapat disebabkan karena pada fase estrus endometrium berada pada kondisi siap implantasi

dengan lapisan endometrium yang paling tebal dan pada fase ini betina siap menerima jantan untuk melakukan perkawinan. Pada saat progesteron beraksi terhadap uterus, endometrium bertambah tebal secara mencolok. Diameter dan panjang kelenjar meningkat secara cepat, menjadi bercabang dan berkelok-kelok sehingga kondisi ini dapat digunakan untuk mempersiapkan implantasi jika terjadi fertilisasi. Maka endometrium memertebal lapisan fungsionalnya mengakibatkan kondisinya menjadi lebih tebal dibandingkan fase yang lain. Tebal endometrium meningkat dari 3-5 mm pada fase proliferasi menjadi 10 mm pada periovulasi dan mencapai 13 mm pada fase sekresi (Fleischer, *et al.*, 2003). Menurut Hartanto (2004) jika pada fase estrus tersebut diinduksi dengan hormon progesteron maka menyebabkan pola endometrium yang abnormal sehingga menjadi tidak baik untuk implantasi. Meskipun terjadi ovulasi, produksi progesteron yang berkurang dari korpus luteum dapat menyebabkan penghambatan dari implantasi. Jadi dari penelitian ini diperoleh kadar estradiol pada perlakuan kontrol tidak signifikan terhadap kadar estradiol pada perlakuan progesteron. Tebal endometrium pada perlakuan kontrol berbeda signifikan terhadap kadar estradiol pada perlakuan progesteron. Rerata tebal endometrium perlakuan progesteron tiap fase siklusnya lebih besar dari pada rerata tebal endometrium perlakuan kontrol tiap fase siklus estrusnya.

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa: (a). Kadar estradiol pada perlakuan kontrol berbeda tidak signifikan ($p=0,084$) terhadap kadar estradiol pada perlakuan progesteron. Tebal endometrium pada perlakuan kontrol berbeda tidak signifikan ($p=0,004$) terhadap kadar estradiol pada perlakuan progesteron, dan (b). Rerata tebal endometrium perlakuan progesteron tiap fase siklus estrus lebih besar dari pada rerata tebal endometrium perlakuan kontrol. Tebal endometrium terbesar yaitu fase estrus pada perlakuan progesteron dengan ukuran $0,2500 \text{ mm}^2$ ($p=0,031$). Sedangkan, tebal endometrium terkecil yaitu fase diestrus pada perlakuan kontrol dengan ukuran $0,1733 \text{ mm}^2$ ($p=0,013$).

Daftar Referensi

Adinegara, R. 2006. *Penambahan Etinil Estradiol pada Induksi Ovulasi Menggunakan Klomifen Sitrat*. Semarang: Universitas Diponegoro.

Anwar, R. 2005. *Sintesis, Fungsi dan Interpretasi Pemeriksaan Hormon Reproduksi*. Bandung: Fakultas Kedokteran UNPAD.

BKKBN. 2012. *Hasil Pelaksanaan Sub Sistem Pencatatan dan Pelaporan Pelayanan Kontrasepsi*. Dalam [www. Bkkbn.go.id](http://www.bkkbn.go.id). Diakses tanggal 9 februari 2016.

- Brancroft, J.D. dan A. Stevens. 1999. *Theory and Practise of Histological Techniques*. Fourth Ed. Edinburg: Churchill Livingstone.
- Cromey, Douglas W. 2012. *Formaldehyde Fixatives*. SWEHSC Cellular Imaging Core Newsletter.
- Dellmann, H.D. dan E.M. Brown, 1992. *Buku Teks Histologi Veteriner II*. Third Edition. Jakarta: Universitas Indonesia Press. Alih bahasa: R. Hartono.
- Departemen Kesehatan RI. *Paduan Pelayanan Keluarga Berencana*. Jakarta: Dep.Kes, 2006.
- Egging, F. D. et al. 2008. Analysis of obstetric complications and uterine connective tissue in tenascin-X-deficient humans and mice. *Cell Tissue Res*, 332:523–532.
- Fleischer, A.C., Vasquez, J.M., Parsons, A.K. 2003. Transvaginal sonography in gynecologic infertility. In: *Fleischer A.C, Manning F.A, Jeanty P, Romero R, editors. Sonography in obstetrics and gynecology. 6th ed*. Norwalk: Appleton & Lange:1047-76.
- Ganong, W. F. 2003. *Review of Medical Physiology*. International Edition. San Fransisco: Mc Graw Hill Book.
- Glasier, A. dan Ailsa, G. 2006. *Keluarga Berencana dan Kesehatan Reproduksi*. Edisi 4. Jakarta: EGC. Alih bahasa: Brahm U.
- Hartanto, H. 2004. *Keluarga Berencana dan Kontrasepsi*. Jakarta: Pustaka Sinar Harapan.
- Heffner, L. J. dan Schust, D. J. 2008. *At a Glance Sistem Reproduksi*. Jakarta: Erlangga. Alih Bahasa: dr. Vidhia Umami.
- Mescher, A. L. 2010. *Junqueira's Basic Histology Twelfth Edition*. United States: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Nalbandov, A. V. 1990. *Fisiologi Reproduksi pada Mammalia dan Unggas*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Narulita, E. Prihatin, J. Dan Dewi, R.S. 2016. Pemanfaatan Hasil Induksi Hormon Estrogen terhadap Kadar Estradiol dan Histologi Uterus Mencit (*Mus musculus*) Sebagai Buku Suplemen Sistem Reproduksi di SMA. *Jurnal Bioedukatika*, 4(2): 1-7.
- Rasad, S.D. 2008. Pengaruh Penyuntikan GnRH dan PGF2 α Terhadap Profil Progesteron Sapi Perah Pasca Beranak. *Animal Production*, 10(1): 16-21.
- Shaw, N. D., Histed, S. N., Srouji, S. S., Yang, J., Lee, H., & Hall, J. E. 2010. Estrogen Negative Feedback on Gonadotropin Secretion: Evidence for a Direct Pituitary Effect in Women. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 95(4), 1955–1961.
- Sitasiwi, J.A. 2008. Hubungan Kadar Hormon Estradiol 17- β dan Tebal Endometrium Uterus Mencit (*Mus musculus* L.) selama Satu Siklus Estrus. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 16(2): 38-45.
- Tagama, T. R. 2008. *Pengaruh Hormon Estrogen, Progesteron dan Prostaglandin F2 alfa terhadap Aktivitas Birahi Sapi PO Dara*. Purwokerto: Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman.
- Taylor, P. 1994. *Practical Teratology*. London: WB Saunders Co.
- Valentina, C. 2009. *Pengaruh Pemajanan Medan Elektromagnetik terhadap Perubahan Siklus Estrus*. Jakarta: Universitas Indonesia.