

PENURUNAN KADAR MATRIKS EKSTRASELULER UTERUS TIKUS DENGAN BERTAMBAHNYA UMUR

(The Decrease of Extracellular Matrix of Rats' Uterus at Various Level of Ages)

Safrida

Prodi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Syiah Kuala.
Email: idabiologi@yahoo.co.id

Abstract

This study aims to determine the levels of extracellular matrix (collagen content) at various levels of aged rats and aged rats to acquire suitable for use as an animal model of aging for the reproductive system. Experimental design used was Complete Randomized Design (CRD), which consists of 5 (five) experimental groups, each group consist of three (3) rats, which is the group one used 12 months aged rats (K12), group 2 used 18 months aged rats (K18), group 3 used 24 months aged rats (K24), a group of 4 using 30 months aged rats (K30), groups of 5 using 36 months aged rats (K36). The data obtained were analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) followed by Duncan test. Decreased levels of collagen (extracellular matrix) of the uterus begin to occur in rats aged 24 months. An aged rat suitable for use as animal models of aging for the reproductive system is a 24-36 months aged rats.

Key words: *collagen uterus, age, animal models of aging, female rats.*

PENDAHULUAN

Kolagen merupakan matriks ekstrasel berupa protein struktural, sebagai pengikat antarsel dan sangat berhubungan dengan penuaan karena menyangkut perubahan sintesis protein. Penurunan kelarutan kolagen dengan bertambahnya umur terjadi akibat penurunan enzim kolagenase secara tajam, penurunan ini meningkatkan ikatan silang antara fibril kolagen dan perubahan daya regang kolagen (Kanungo 1994). Fase penuaan menyebabkan penurunan beberapa fungsi tubuh. Penurunan fungsi organ tubuh berbeda bergantung pada waktu. Salah satu penuaan tingkat seluler dapat dilihat dari penurunan protein struktural seperti kolagen (Rastogi 2007).

Pada lapisan endometrium uterus terdapat jaringan ikat kolagen. Kolagen adalah struktur penunjang pada uterus sebagai indikasi kepesatan pertumbuhan kelenjar yang akan berfungsi sebagai wadah bagi nutrisi dari embrio yang disebut dengan susu uterus (Satyaningtjas 2001). Perubahan struktur kolagen uterus dipengaruhi oleh estrogen (Pastore *et al.* 1992). Iwashashi dan Muragaki (2011) menyatakan pada wanita yang menderita *prolapse* uterus terjadi penurunan kolagen uterus.

Dalam mengembangkan riset biomedis peran hewan percobaan dalam penelitian sangat diperlukan. Salah satu hewan percobaan yang banyak digunakan dalam penelitian di bidang kedokteran,

farmasi, gizi dan bidang ilmu lainnya adalah tikus putih. Data mengenai perubahan kadar matriks ekstraseluler pada tikus strain Sprague Dawley, dan umur tikus tua yang cocok digunakan sebagai hewan model penuaan untuk sistem reproduksi belum banyak dilaporkan.

Adapun tujuan penelitian ini untuk mengetahui kadar matriks ekstraseluler (kadar kolagen) pada berbagai tingkatan umur tikus, dan untuk memperoleh umur tikus yang cocok digunakan sebagai hewan model penuaan untuk sistem reproduksi. Manfaat Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai tikus sebagai hewan model penuaan untuk sistem reproduksi. Penelitian ini dapat digunakan untuk penerapan dan pengembangan dalam Ilmu Kedokteran serta Ilmu Pengetahuan dan Teknologi (IPTEK) dan dalam bidang farmasi.

METODE

Penelitian dilakukan di kandang percobaan FKH IPB, dan Laboratorium Fisiologi dan Farmakologi FKH IPB. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah 15 ekor tikus betina strain Sprague Dawley. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), yang terdiri atas 5 (lima) kelompok percobaan, masing-masing terdiri atas tiga (3) ekor, yaitu kelompok 1 menggunakan tikus

umur 12 bulan (K12), kelompok 2 menggunakan tikus umur 18 bulan (K18), kelompok 3 menggunakan tikus umur 24 bulan (K24), kelompok 4 menggunakan tikus umur 30 bulan (K30), kelompok 5 menggunakan tikus umur 36 bulan (K36). Tikus-tikus percobaan tersebut ditempatkan dalam kandang plastik dengan tutup terbuat dari kawat ram dan dialasi sekam, pakan berupa pelet dan air minum diberikan *ad libitum*. Lingkungan kandang dibuat tidak lembab, ventilasi yang cukup serta penyinaran yang cukup dimana lamanya terang 14 jam dan lama gelap 10 jam. Masing-masing tikus ditempatkan dalam kandang individu. Semua tikus diadaptasikan di lingkungan kandang percobaan selama 10 hari, kemudian dilakukan ulas vagina untuk kesamaan fase siklus estrus (pada fase diestrus dibedah). Selanjutnya semua tikus dilakukan penimbangan bobot badan (BB). Sebelum dilakukan pembedahan, tikus terlebih dahulu dibius dengan eter. Uterus dipisahkan dan dibersihkan serta ditimbang bobot basahnya. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan Uji Duncan dengan selang kepercayaan 95% ($\alpha = 0.05$) dengan menggunakan perangkat lunak SAS (Mattjik dan Sumertajaya 2006).

Prosedur Penentuan Kadar Kolagen

Penentuan kadar kolagen dilakukan sesuai dengan yang dilakukan oleh Manalu

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rataan berat badan, berat uterus, kadar kolagen uterus pada berbagai tingkatan usia tikus disajikan pada Tabel 1. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa umur tikus berpengaruh nyata ($P < 0.05$) terhadap berat badan, berat uterus, kadar kolagen uterus. Uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa semakin bertambah umur semakin tinggi berat badannya. Kadar kolagen uterus umur 12

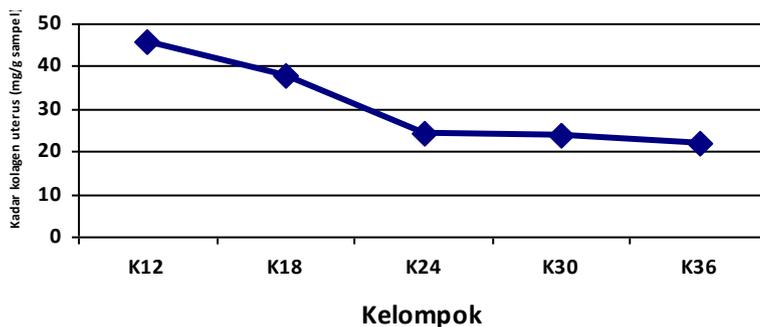
dan Sumaryadi (1998). Pengukuran kadar kolagen dilakukan setelah uterus yang sudah dikeringkan dan dihaluskan diekstraksi dengan cara menimbang seberat 25 mg ke dalam tabung reaksi dan menambahkan sebanyak 5 mL HCl 6 N pada setiap sampel. Semua tabung diletakkan pada penangas air 130°C selama 3 jam (air mendidih ± 5 jam) sampai larutan homogen kuning muda. Jika terjadi penguapan selama pemanasan ditambahkan lagi HCl 6 N sebanyak 5 mL. Isinya dituangkan dan dibaca pada pH 6-7 (seragam) dengan menambahkan NaOH 2 N jika keasaman atau HCl 6 N jika kebasahan, dan tetap menghitung pelarutannya. Selanjutnya tabung reaksi disiapkan kemudian dilabel untuk blanko, standar, dan sampel yang masing-masing dibuat duplo. Masing-masing tabung diisi reagen sehingga akan berwarna kuning, setelah itu pada setiap tabung ditambahkan 1 ml Chloramin-T dan dikocok (vorteks). Larutan dibiarkan selama 20 menit pada suhu kamar. Setiap tabung ditambahkan 1 ml PCA (kocok/vortex) dan dibiarkan selama 5 menit. Kemudian setiap tabung ditambahkan 1 ml p-dimetilaminobenzaldehid dan dikocok kemudian diletakkan pada penangas air 60°C selama 20 menit. Larutan didinginkan pada kran air mengalir (tabung direndam dalam wadah berisi air dingin) selama 5 menit. Absorbans larutan dibaca dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 557 nm

bulan, 18 bulan, 24 bulan, 30 bulan, dan 36 bulan, masing-masing sebesar 45.73, 37.74, 24.49, 23.93, 21.88 mg/g sampel. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar kolagen uterus drastis menurun pada tikus umur 24 bulan. Kadar kolagen uterus tikus umur 24 bulan menurun secara signifikan sama dengan kadar kolagen uterus tikus umur 30 bulan dan tikus umur 36 bulan (Tabel 1, Gambar 1).

Tabel 1. Rataan berat badan, berat uterus, kadar kolagen uterus (rata-rata±SD) pada berbagai tingkatan usia tikus betina.

Kelompok	Berat badan (g)	Berat uterus (g)	Rasio berat uterus per berat badan (%)	Kadar kolagen uterus (mg/g sampel)
K12	230±0.57 ^e	0.85±0.25 ^a	0.37± 0.11 ^a	45.73±2.16 ^a
K18	243±2.64 ^d	0.60±0.16 ^{ab}	0.24±0.07 ^{bc}	37.74±3.65 ^b
K24	256±2.00 ^c	0.59±0.05 ^{ab}	0.22±0.02 ^{bc}	24.49±2.70 ^c
K30	282±2.00 ^b	0.60±0.19 ^{ab}	0.21±0.07 ^c	23.93±3.62 ^c
K36	288±1.52 ^a	0.37±0.02 ^b	0.13±0.05 ^c	21.88±4.38 ^c

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0.05$). K12 = Tikus umur 12 bulan. K18 = Tikus umur 18 bulan. K24 = Tikus umur 24 bulan. K30 = Tikus umur 30 bulan. K36 = Tikus umur 36 bulan.



Gambar 1. Rataan kadar kolagen uterus dan kadar kolagen tikus pada berbagai tingkatan usia

Lebih lanjut, semakin bertambah usia tikus maka semakin menurun kadar kolagen uterus. Kadar kolagen uterus tikus umur 18 bulan menurun sebesar 18,69%, tikus umur 24 bulan menurun sebesar 46,44%, tikus umur 30 bulan menurun sebesar 47,67%, tikus umur 36 bulan menurun sebesar 52,15% dibandingkan dengan tikus umur 12 bulan. Penurunan persentase kadar kolagen uterus secara drastis mulai terjadi pada tikus umur 24 bulan. Berkurangnya kadar kolagen uterus pada tikus umur 24 bulan mengindikasikan bahwa tikus tidak reproduktif lagi. Tikus umur 24 bulan tidak reproduktif, apabila dikawinkan tidak bunting.

Molekul kolagen terdiri atas 5 tipe kolagen yang secara genetik berbeda (Leeson *et al.* 1996) yaitu Tipe I, jenis ini merupakan tipe kolagen yang paling banyak ditemui, yang meliputi kurang lebih 90% kolagen tubuh; Tipe II, kolagen tipe ini dibentuk oleh kondroblast yang terdiri atas tiga rantai alfa-1 dan merupakan unsur utama matriks tulang rawan serta serabut-serabutnya berdiameter kurang dari 80 nm; Tipe III, pada tipe ini terdapat tiga rantai alfa-1 (tipe III). Kolagen tipe ini ditemukan pada awal perkembangan beberapa jenis jaringan pembangun yang kemudian sebagian besar digantikan oleh kolagen tipe I. Pada keadaan dewasa, kolagen ini terdapat dalam jaring-jaring retikular

yang berhubungan dengan kulit, pembuluh darah, uterus, dan saluran cerna. Pada kulit, kolagen ini dibentuk oleh fibroblast; Tipe IV, pada tipe ini terdapat tiga rantai alfa-1, dan ditemukan dalam lamina basal; Tipe V, pada tipe ini susunannya masih menjadi perdebatan, membentuk lamina tipis yang tidak bergurat di bawah membran fetus.

Kolagen merupakan jaringan ikat pada uterus/ struktur penunjang pada uterus sebagai indikasi kepesatan pertumbuhan kelenjar endometrium. Penurunan kadar kolagen uterus tikus seiring dengan bertambahnya usia. Penurunan kolagen mempunyai risiko terjadinya *prolapse* uterus. Hal ini sesuai dengan Price *et al.* (2010) menyatakan *prolapse* uterus terjadi ketika organ-organ panggul wanita jatuh dari posisi normal, ke dalam atau melalui vagina. Terjadi pada wanita dari semua usia, umumnya pada wanita usia tua. Hal-hal yang dapat meningkatkan risiko terjadinya *prolapse* adalah gangguan jaringan ikat, merokok, obesitas, gangguan saluran pernapasan atas, dan berulang cedera regangan. Menurut Iwashashi dan Muragaki (2011) bahwa kelainan kolagen, komponen utama matriks ekstraseluler dapat mempengaruhi wanita untuk terjadinya *prolapse* uterus. Lin *et al.* (2012) menyatakan pemberian kolagen yang berikatan dengan faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF)

pada uterus tikus dapat menyebabkan regenerasi endometrium, sel otot, dan vaskularisasi. Kolagen dapat menjadi solusi pragmatis untuk pengobatan kerusakan uterus.

SIMPULAN

Penurunan kadar kolagen (matriks ekstraseluler) uterus mulai terjadi pada tikus umur 24 bulan. Umur tikus yang cocok digunakan sebagai hewan model penuaan untuk sistem reproduksi adalah tikus umur 24-36 bulan.

DAFTAR PUSTAKA

- Iwahashi M, Yasuteru Muragaki Y. 2011. Decreased type III collagen expression in human uterine cervix of prolapse uteri. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2 (2) : 271-274.
- Kanungo MS. 1997. *Gene and Aging*. Cambridge University Press. USA.
- Lesson CR, Leeson TS, Paparo AA. 1996. *Buku Teks Histologi*. Penerbit EGC. Jakarta.
- Lin N, Li X, Song T, Wang J, Meng K, Yang J, Hou X, Dai J, Hu Y. 2012. The effect of collagen-binding vascular endothelial growth factor on the remodeling of scarred rat uterus following full-thickness injury. *Biomaterials*. 33 (6):1801-7.
- Manalu W, Sumaryadi MY. 1998. Maternal Serum Progesterone Concentration During Gestation and Mammary Gland Growth and Development at Parturition in Javanese Thin-Tail Ewes with Carrying a Single or Multiple Fetuses. *Small. Rum. Res*. 27:131-136.
- Mattjik AA, Sumertajaya IM. 2006. *Perancangan Percobaan Dengan Aplikasi SAS dan MINITAB*. Ed ke-3. Bogor: IPB Press.
- Pastore GN, Dicola LP, Dollahon NR, dan Gardner RM. 1992. Effect of estriol on the structure and organization of collagen in the lamina propria of the immature rat uterus. *Biol. Reprod*. 47: 83-91.
- Price N, Slack A, Jackson S. 2010. Laparoscopic hysteropexy: the initial results of a uterine suspension procedure for uterovaginal prolapse. *BJOG*. 117:62-68. www.bjog.org
- Rastogi, SC. 2007. *Essential of Animal Physiology*, Fourth Edition. New Age International (P) Ltd., Publishers. Published by New Age International (P) Ltd., Publishers. ISBN : 978-81-224-2429-4.
- Satyaningtjas AS. 2001. Efektivitas pemberian estradiol dan progesteron pada kinerja reproduksi tikus bunting. [*Disertasi*]. Program Pascasarjana IPB, Bogor.