

Siklus Reproduksi Lutung Jawa (*Trachypithecus uratus*) Betina Berdasarkan Kadar Hormon Estrogen dan *Luteinizing Hormone*

(REPRODUCTIVE CYCLE OF FEMALE JAVAN LANGUR (*TRACHYPITHECUS AURATUS*)
BASED ON ESTROGEN AND LUTEINIZING HORMONE LEVELS)

Nurina Titisari^{1*}, Aulia Firmawati², Ahmad Fauzi³,
Made Ayu⁴, Ida Masnur⁵, Iwan Kurniawan⁵

¹Laboratorium Fisiologi Veteriner, ²Laboratorium Reproduksi Veteriner,

³Laboratorium Patologi Klinik, ⁴Mahasiswa Tingkat Sarjana,
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya.

Jl. Puncak Dieng Eksklusiv, Kunci, Kalisongo, Kecamatan Dau,
Malang, Jawa Timur, Indonesia 65151.

⁵The Aspinali Foundation Indonesia Program,
Coban Talun, Batu, Jawa Timur, Indonesia

*Email: nurina_titisari@ub.ac.id

ABSTRACT

Currently, the information about Javan langurs female reproductive cycle in both cycle length and hormonal patterns is still widely unknown. Meanwhile, this information can be used as a guide in determining the fertile period of Javan langurs to conduct mating with higher pregnancy rate. The purpose of this study was to determine the reproductive cycle of adult female Javan langurs based on estrogen and luteinizing hormone (LH) levels. The experimental animals was originated from Coban Talun forest in Batu, which was undergoing a rehabilitation program. Feces samples of two female Javan langurs were taken for 40 days. Examination of estrogen and LH hormone levels in the feces was carried out by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method and then analyzed descriptively. The results showed that fluctuations in the graphs of the hormones estrogen and LH appeared on days 8 to 16 and days 30 to 40 which showed the existence of two reproductive cycles. Whereas younger langur showed a pattern of hormonal fluctuations that are less regular, making identification of the reproductive cycle difficult. Based from the results, we concluded that the reproductive cycle of female Javan langur was estimated about 24 days with a hormonal pattern consisting of the follicular phase, the ovulation period and the luteal phase.

Keywords: reproductive cycle; female javan langur; *Trachypithecus auratus*; estrogen and luteinizing hormone levels

ABSTRAK

Sejauh ini, informasi mengenai siklus reproduksi lutung jawa betina, baik lama siklus maupun pola hormonalnya masih belum banyak diketahui. Padahal, informasi ini dapat digunakan sebagai pedoman dalam menentukan masa subur bagi lutung Jawa untuk melakukan perkawinan sehingga dapat mengoptimalkan keberhasilan bunting pada lutung betina. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui siklus reproduksi lutung jawa betina dewasa berdasarkan kadar hormon estrogen dan juga kadar *luteinizing hormone* (LH). Hewan coba berasal dari hutan Coban Talun, Batu yang sedang menjalani program rehabilitasi. Sebanyak dua ekor lutung Jawa betina diambil sampel feses selama 40 hari. Ekstraksi feses menggunakan pelarut PBS dengan perbandingan 1:9. Pemeriksaan kadar hormon estrogen dan LH pada feses dilakukan dengan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) yang dianalisa secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fluktuasi grafik hormon estrogen dan LH nampak pada hari ke-8 hingga ke-16 dan hari ke-30 hingga ke-40 yang menunjukkan adanya dua siklus reproduksi yang terjadi. Sedangkan lutung yang berusia lebih muda menunjukkan pola fluktuasi hormonal yang kurang teratur, sehingga sulit dilakukan identifikasi siklus reproduksi. Kesimpulannya bahwa siklus reproduksi lutung Jawa betina diduga berlangsung sekitar 24 hari dengan pola hormonal yang terdiri dari fase folikuler, periode ovulasi dan fase luteal.

Kata-kata kunci: siklus reproduksi; lutung jawa betina; *Trachypithecus auratus*; kadar Hormon estrogen dan *luteinizing*

PENDAHULUAN

Pemerintah menetapkan berbagai cara untuk mencegah ancaman kepunahan biodiversitas hayati yang dimiliki Indonesia. Lutung jawa (*Trachypithecus auratus*) sebagai salah satu satwa endemik telah ditetapkan sebagai satwa dilindungi sejak 1999 (Nijman dan Supriatna, 2008). Berbagai upaya pelestarian satwa tersebut telah dilakukan meliputi rehabilitasi dan penangkaran, perlindungan hukum serta mengedukasi masyarakat. Salah satu pusat rehabilitasi satwa yang berada di Kota Batu, Jawa Timur yaitu *Javan Langur Center* (JLC), fokus merehabilitasi lutung jawa agar siap dilepasliarkan ke hutan lindung. Program rehabilitasi yang JLC lakukan yaitu dengan menempatkan setiap satwa pada tiga jenis kandang yang berbeda (perawatan, karantina dan sosialisasi) pada periode waktu tertentu (Kurniawan 2012). Proses pemeriksaan kesehatan (*medical check up*) pada satwa dilakukan setiap kali satwa berpindah kandang untuk mencegah adanya penularan penyakit (Titisari *et al.*, 2018). Saat satwa lutung jawa berada di dalam kandang karantina dan kandang sosialisasi, hingga saat dilepasliarkan, lutung jawa selalu dikelompokkan antara jantan dan betina. Hal ini dilakukan sebagai upaya memasangkan lutung jantan dengan betina untuk kedepannya dapat melakukan perkawinan dan membentuk kelompok baru. Menurut Hendratmoko (2009), penempatan lutung jawa pada kandang disesuaikan dengan sifat dasar mereka sebagai hewan sosial yang berkelompok dengan satu jantan dewasa sebagai pemimpin atau *alpha male*. *reproductive cycle*; female javan langur; *Trachypithecus auratus*; estrogen and *luteinizing hormone* levels

Lutung jawa yang sedang menjalani proses rehabilitasi di JLC diharapkan melakukan perkawinan secara alami, namun hal ini sulit terjadi. Fase birahi pada betina sebagai salah satu tanda siap kawin, selama ini hanya dimonitor berdasarkan perubahan tingkah laku. Sementara itu menurut Saltzman *et al.* (2011), pendeteksian hormon reproduksi seperti estrogen, progesterone dan *luteinizing hormone* dapat memastikan kondisi kesiapan kawin satwa betina. Perubahan hormon tersebut akan tampak pada pemeriksaan lendir/mukus ulas vagina dan perubahan anus dan alat kelamin (Yusuf, 1998). Adanya peningkatan progresif estradiol di dalam sirkulasi yang kemudian menginduksi lonjakan LH menandakan

dimulainya proses ovulasi. Proses ovulasi berkorelasi dengan gejala estrus dan fase ini merupakan fase yang paling tepat untuk melakukan perkawinan (Norman dan Henry, 2015). Menurut Squires (2003) pendeteksian hormon dapat dilakukan dengan mengambil sampel serum atau plasma (metode *invasive*). Namun, untuk menghindari stress pada satwa liar beberapa peneliti lebih menyarankan metode *invasive* dengan mengambil sampel saliva, sampel rambut (Qin *et al.*, 2013), urin (Fujita *et al.*, 2001) atau feses (Millsbaugh *et al.*, 2002; Mostl dan Palme, 2002; Millsbaugh dan Washburn, 2004)

Sedikitnya sumber informasi mengenai fase reproduksi pada lutung jawa betina menyebabkan kesulitan dalam menentukan waktu penyatuan dan perkawinan lutung jawa jantan dan betina. Hal ini berdampak pada upaya pelestarian lutung jawa di pusat rehabilitasi menjadi tidak optimal dalam menanggulangi ancaman kepunahan pada spesies ini. Oleh sebab itu, penelitian dilakukan bertujuan untuk mengetahui fase reproduksi yang dialami oleh lutung jawa betina dewasa berdasarkan pengukuran kadar hormon estrogen dan hormon *luteinizing*.

METODE PENELITIAN

Hewan Coba

Hewan yang telah digunakan dalam penelitian ini adalah dua ekor lutung jawa betina yang berada pada penangkaran di Balai Konservasi *Javan Langur Center* (JLC) di Coban Talun Batu, Malang, Jawa Timur, Indonesia. Lutung jawa betina yang bernama Ifa berusia empat tahun sedangkan lutung Asti berusia tujuh tahun. Kedua lutung jawa tersebut berada pada kandang yang berbeda, sedangkan perlakuan pakan dan pemeliharaan sesuai dengan *Standard Operational Procedures* yang dilaksanakan di JLC.

Metode Pengambilan Feses

Pengambilan feses dilakukan pagi hari pukul 07.00 WIB sebelum pemberian pakan. Feses yang diambil adalah feses segar dengan konsistensi lunak dan warna coklat kehijauan yang cerah. Feses yang sudah lama dicirikan memiliki konsistensi yang sudah mengeras dan berwarna hitam. Feses disimpan dalam plastik *ziplock* yang telah diberi identitas lutung dan tanggal pengambilan yang kemudian disimpan

dalam *freezer*. Pengambilan feces dilakukan selama 40 hari pada bulan Juli-Agustus 2018.

Metode Ekstraksi Feces

Ekstraksi feces dilakukan sesuai dengan panduan yang tertera pada kit ELISA yaitu menggunakan pelarut PBS dengan perbandingan 1 : 9 (1 g feces beku yang sudah di *thawing* dilarutkan dalam 9 mL PBS). Larutan feces yang sudah tercampur kemudian disentrifus pada kecepatan 2500 rpm selama 20 menit. Cairan supernatan yang terbentuk diambil menggunakan mikropipet dan ditempatkan pada microtube yang telah diberi label identitas lutung jawa dan tanggal pengambilan sampel. Ekstrak feces disimpan dalam *freezer* suhu -20°C hingga siap dilakukan uji ELISA.

Pengukuran Kadar Hormon Estrogen dan LH dengan Metode ELISA

Ekstrak feces beku dari dua individu lutung jawa betina, kit Monkey LH ELISA dan kit Monkey Estrogen ELISA yang sebelumnya disimpan di kulkas didiamkan pada suhu ruang. Sumuran *microplate* ditandai dengan kode yang disesuaikan dengan individu dan hari pengambilan sampel. Larutan standard sebanyak $50\ \mu\text{L}$ ditambahkan pada sumuran standard. Ekstrak sampel sebanyak $40\ \mu\text{L}$ ditambahkan ke sumuran sampel sesuai kode lalu ditambahkan $10\ \mu\text{L}$ antibodi (anti-E2 untuk kit Estrogen dan anti-LH untuk kit LH) ke tiap sumuran sampel. Streptavidin-HRP sebanyak $50\ \mu\text{L}$ ditambahkan ke setiap sumuran kemudian dicampurkan di atas *shacker mixer* lalu tutup *microplate* dengan penyegel dan diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C . Tahap berikutnya setelah inkubasi yaitu pencucian *microplate* menggunakan larutan pencuci sebanyak lima kali dan dikeringkan menggunakan tisu. Setelah itu ditambahkan $50\ \mu\text{L}$ larutan substrat A kemudian ditambahkan $50\ \mu\text{L}$ substrat B pada setiap sumuran dalam kondisi gelap. *Microplate* disegel dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C , kemudian larutan stop sebanyak $50\ \mu\text{L}$ ditambahkan pada setiap sumuran untuk menghentikan reaksi enzimatis. *Microplate* kemudian dimasukkan ke alat ELISA *plate reader* pada panjang gelombang 450 nm untuk mengukur nilai absorbansi atau *optical density* (OD) dalam 10 menit setelah penambahan larutan stop.

Analisis Data

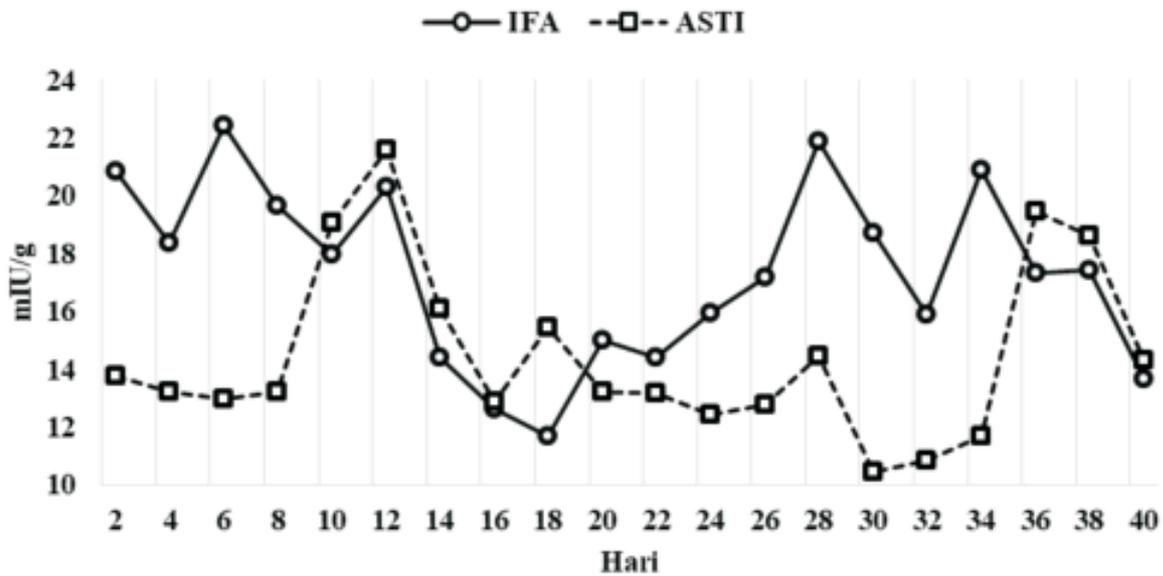
Data disajikan dalam bentuk nilai absorbansi, konsentrasi dan grafik hormonal. Data hasil pengukuran kadar estrogen dan LH dalam bentuk nilai kuantitatif dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

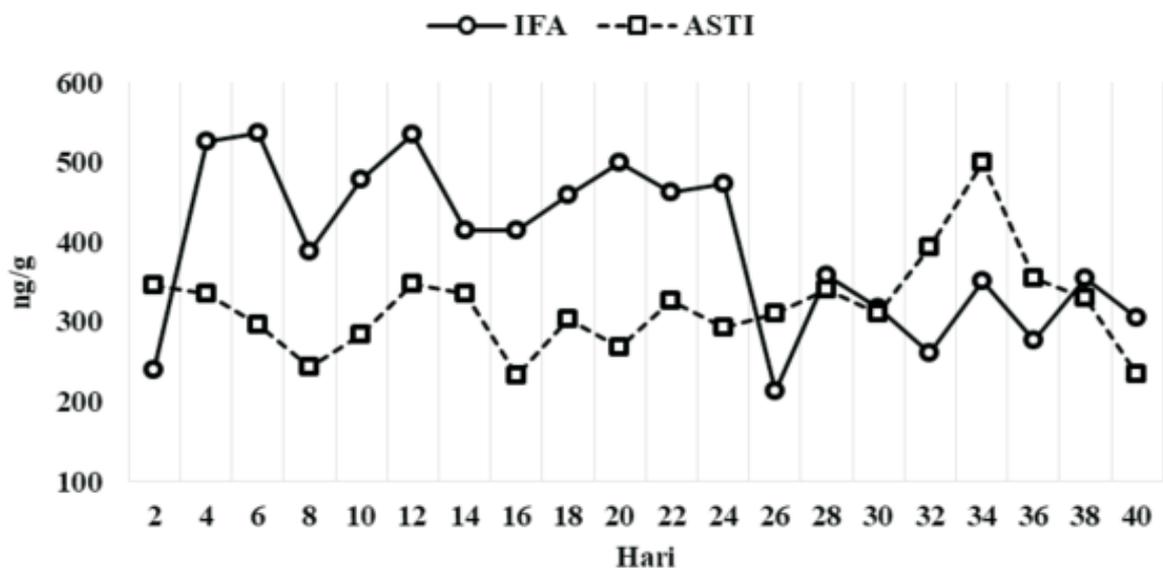
Kadar *Luteinizing Hormone* (LH) pada Feces Lutung Jawa

Profil kadar LH yang diperoleh dari lutung Ifa dan lutung Asti menunjukkan adanya perbedaan frekuensi dan periode fluktuasi. Fluktuasi yang ditunjukkan dalam profil LH Ifa ditandai dengan adanya empat lonjakan selama 40 hari masa observasi dengan masing-masing dua lonjakan yang berdekatan yaitu pada hari ke-6, ke-12, ke-28 dan hari ke-34, sedangkan fluktuasi pada profil LH lutung Asti menunjukkan adanya dua kali lonjakan yang jelas selama periode 40 hari yaitu pada hari ke-12 dan hari ke-36 (Gambar 1). Menurut Zeleznik dan Plant (2015), periode ovulasi ditandai dengan lonjakan tajam pada konsentrasi LH yang akan menginduksi terjadinya ovulasi dan diakhiri dengan penurunan konsentrasi estrogen dan diikuti oleh LH. Fluktuasi pada profil LH lutung Asti menunjukkan adanya dua lonjakan tajam selama periode observasi, sehingga lutung Asti diduga sedang menjalani dua siklus reproduksi dalam periode 40 hari. Profil LH lutung Ifa menunjukkan pola yang kurang teratur karena lonjakan yang ditunjukkan tidak jelas dalam menggambarkan periode ovulasi dalam siklus reproduksi normal. Oleh sebab itu, fluktuasi LH yang ditunjukkan oleh lutung Asti diduga lebih jelas menggambarkan siklus reproduksi normal pada lutung jawa dibandingkan lutung Ifa.

Hasil analisis kadar LH pada kedua lutung jawa betina menunjukkan nilai yang bervariasi pada tiap individu. Lutung Ifa memiliki rata-rata kadar LH sebesar $17,3 \pm 3,1$ mIU/g, sedangkan lutung Asti memiliki nilai rata-rata yang lebih kecil yaitu $14,5 \pm 3,0$ mIU/g. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Fujita *et al.* (2011) pada *Japanese Macaques* (*Macaca fuscata*) menunjukkan adanya variasi nilai LH antar individu. Stephens *et al.* (2012) menyatakan bahwa pada *Vervet Monkeys* (*Chlorocebus aethiops sabaeus*) menunjukkan pulse LH yang serupa dengan pulse LH wanita, dengan rata-rata LH adalah $0,26 \pm 0,05$ ng/mL dalam plasma darah.



Gambar 1. Lonjakan kadar *luteinizing hormone*/LH pada feses lutung jawa betina menunjukkan adanya kemungkinan terjadi ovulasi



Gambar 2. Pola hormon estrogen (E₂) pada feses lutung jawa betina selama 40 hari terlihat berfluktuatif.

Kadar LH yang diperoleh dapat bervariasi dalam satu individu bergantung pada metode dan sampel yang digunakan. Kadar LH yang diukur pada sampel darah menggambarkan konsentrasi LH dalam tubuh pada waktu tersebut, sementara kadar LH yang diukur pada sampel ekskreta seperti urin dan feses menggambarkan nilai ekskresi LH dalam satu periode ekskresi. Namun, profil steroid pada urin diekskresikan lebih cepat dibandingkan pada feses (Fujita *et al.*, 2001).

Kadar Hormon Estrogen pada Feses Lutung Jawa Betina

Kadar hormon estrogen lutung jawa Asti selama 40 hari diduga menunjukkan pola fluktuasi dengan dua lonjakan pada hari ke-12 dan ke-34. Hal ini menunjukkan selama 40 hari masa observasi diperkirakan sedang berlangsung dua siklus reproduksi pada lutung jawa Asti (Gambar 2). Kadar hormon estrogen lutung jawa IFA selama 40 hari diduga menunjukkan pola fluktuasi dengan kadar yang

tinggi selama pertengahan awal, sementara pada pertengahan akhir digambarkan dengan kadar yang rendah (Gambar 2). Pola fluktuasi hormon estrogen yang ditunjukkan oleh lutung Ifa diduga kurang jelas dalam menggambarkan kondisi normal siklus reproduksi lutung betina. Menurut Zelesnik dan Plant (2015), hormon estrogen mengalami peningkatan pada paruh awal fase folikuler kemudian meningkat tajam pada paruh kedua fase folikuler; pada fase ovulasi hormon estrogen mengalami penurunan dan pada fase luteal hormon estrogen mengalami peningkatan secara bertahap. Oleh sebab itu, fluktuasi hormon estrogen yang ditunjukkan oleh lutung jawa Asti lebih mencerminkan fluktuasi hormonal pada siklus reproduksi yang normal dibandingkan fluktuasi yang ditunjukkan oleh lutung jawa Ifa.

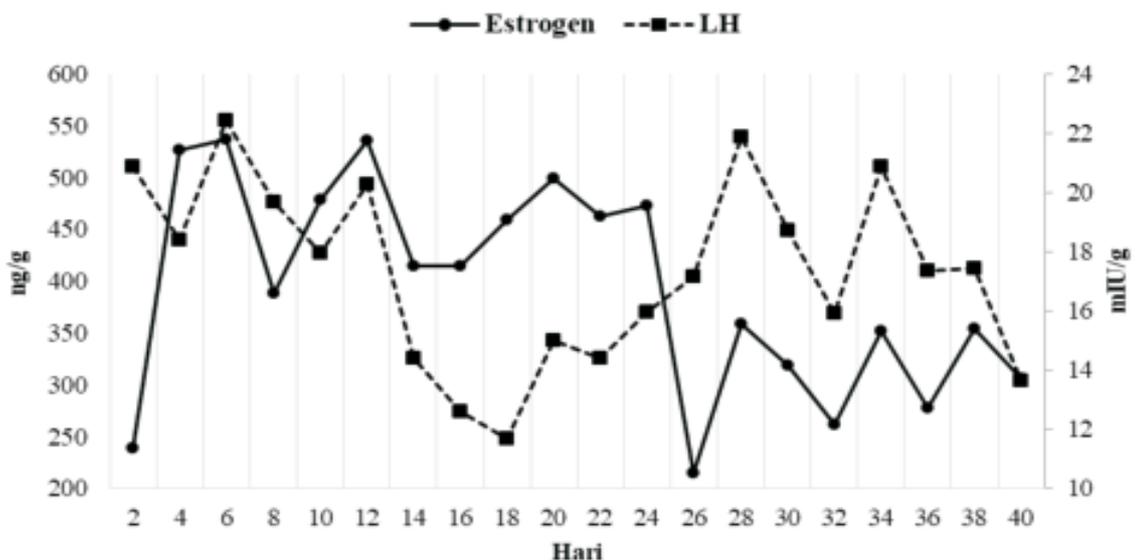
Hasil analisis kadar estrogen dari masing-masing lutung jawa betina menunjukkan nilai yang bervariasi. Nilai rata-rata estrogen lutung jawa Ifa sedikit lebih besar dibandingkan lutung Asti yaitu berturut-turut 393,49±101,90 ng/g dan 319,43±59,81 ng/g. Kadar estrogen tertinggi dan terendah yang dapat dideteksi pada feses lutung jawa betina ditunjukkan oleh lutung Ifa dengan kadar tertingginya sekitar 536,23 ng/g dan kadar terendah 214,26 ng/g. Pengukuran kadar estrogen pada feses owa jawa menunjukkan kadar konjugat estron pada fase ovulasi yang berkisar antara 0,22-0,42 µg/g berat feses kering (Maheswari, 2007). Hasil pengukuran kadar estrogen pada lutung jawa lebih kecil jika dibandingkan dengan kadar estrogen primata

famili Calitrichidae, namun tidak jauh berbeda dengan kisaran kadar estrogen pada owa jawa. Kadar hormon estrogen yang diperoleh dapat bervariasi dalam satu individu bergantung pada bentuk hormon yang diukur, metode dan sampel yang digunakan.

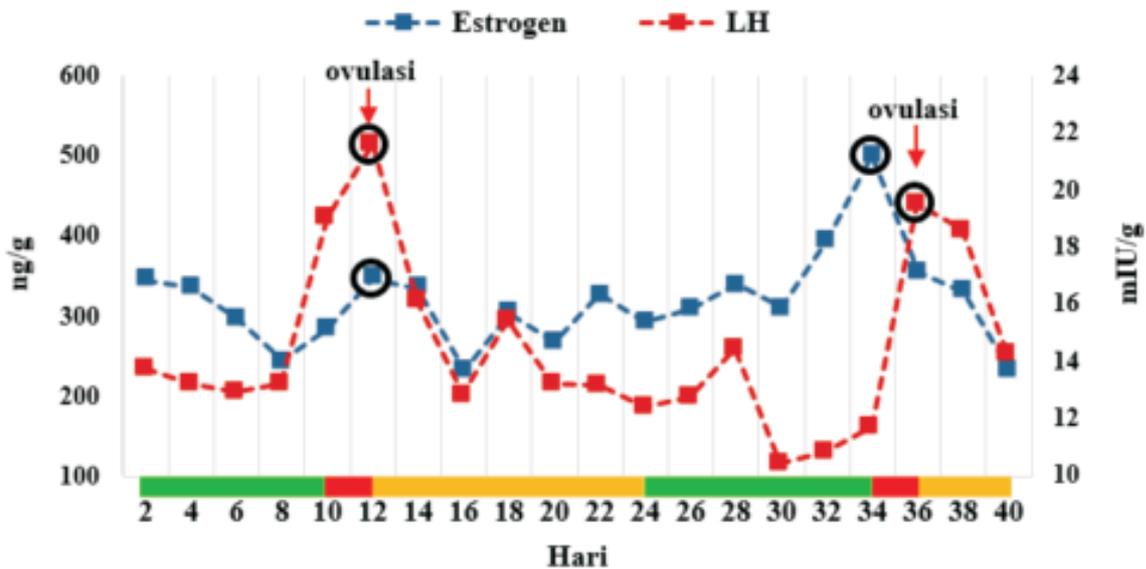
Identifikasi Pola Hormonal Siklus Reproduksi Lutung Jawa

Profil Hormon Estrogen dan LH pada Lutung Jawa Ifa. Fluktuasi LH lutung Ifa terdiri dari empat lonjakan dengan dua lonjakan masing-masing saling berdekatan. Fluktuasi yang terjadi beberapa kali pada paruh awal masa observasi ditunjukkan dalam kisaran konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan fluktuasi pada pertengahan akhir (Gambar 3). Sebagian besar fluktuasi pada hormon estrogen dan LH menggambarkan pola yang selaras, namun fluktuasi tersebut kurang mencerminkan pola hormonal reproduksi yang teratur sehingga tidak dapat dilakukan identifikasi siklus reproduksi.

Menurut Saltzman *et al.* (2011), kondisi ketidakteraturan siklus reproduksi pada primata dan manusia dapat terjadi pada awal dan akhir masa reproduksi (masa pubertas awal dan masa tua). Ketidakteraturan siklus dapat disebabkan oleh beberapa kondisi seperti gagal ovulasi (anovulasi), luteolisis tidak cukup, gangguan gestasional atau gangguan laktasi. Menurut Prior *et al.* (2015), wanita muda lebih sering mengalami kondisi anovulasi, seperti halnya wanita perimenopause. Kondisi anovulasi dapat



Gambar 3. Pola hormonal estrogen (E₂) dan LH pada lutung jawa Ifa selama 40 hari menunjukkan ketidakteraturan



Gambar 4. P reproductive cycle; female javan langur; *Trachypithecus auratus*; estrogen and luteinizing hormone levels erkiraan fase folikuler, periode ovulasi dan fase luteal pada profil hormonal lutung jawa Asti selama 40 hari.

Keterangan: Tanda (■) menunjukkan fase folikuler, tanda (■) menunjukkan periode ovulasi, tanda (■) menunjukkan fase luteal dan lingkaran hitam (●) menunjukkan puncak konsentrasi hormon.

terjadi karena adaptasi hipotalamus terkait gizi, aktivitas, sosial dan stres emosional, meskipun kadar estradiol cukup untuk siklus menstruasi yang teratur. Lutung Ifa diduga mengalami ketidakteraturan siklus reproduksi yang disebabkan oleh kurangnya adaptasi hipotalamus dan kelenjar reproduksi lainnya terhadap respons hormonal pada umur yang baru memasuki fase remaja.

Profil Hormon Estrogen dan LH pada Lutung Jawa Asti. Profil hormon estrogen dan LH lutung Asti menunjukkan pola hormonal yang lebih teratur dan lebih jelas dalam mencerminkan pola hormonal siklus reproduksi betina normal, sehingga dapat digunakan sebagai acuan untuk mengidentifikasi panjang siklus dan fase-fase dalam siklus reproduksi lutung jawa betina. Fluktuasi pada grafik hormon estrogen dan LH lutung Asti tampak jelas pada hari ke-8 hingga ke-16 dan hari ke-30 hingga ke-40 yang menunjukkan adanya dua siklus yang berlangsung selama 40 hari (Gambar 4).

Proses ovulasi pada lutung jawa betina berlangsung secara spontan setelah LH mencapai kadar tertingginya di dalam sirkulasi yang diduga terjadi pada hari ke-12 dan ke-36 (Gambar 4). Fase ovulasi diperkirakan berlangsung selama dua hari dan diakhiri

dengan penurunan konsentrasi hormon estrogen dan LH secara signifikan. Fase luteal ditunjukkan dengan kondisi hormon estrogen dan LH yang menurun setelah fase ovulasi dan diperkirakan berlangsung selama 12 hari yaitu pada hari ke-12 hingga hari ke-24 (Gambar 4). Menurut Engelking (2012), kondisi hormon estrogen dan LH menunjukkan adanya fluktuasi selama fase luteal namun dengan peningkatan yang relatif. Fase luteal berakhir dengan terjadinya regresi korpus luteum dan luruhnya dinding endometrium yang dapat teramati dengan adanya pendarahan dari saluran reproduksi dan kondisi ini digambarkan dengan konsentrasi hormon steroid dan gonadotropin yang rendah dalam sirkulasi.

Fase folikuler pada siklus reproduksi lutung jawa Asti diperkirakan berlangsung selama 10 hari yang dimulai dengan kondisi hormon estrogen dan LH yang rendah pada hari ke-24 kemudian berakhir dengan kondisi hormon estrogen pada konsentrasi tertinggi dan LH yang mulai melonjak pada hari ke-34 (Gambar 4). Fase folikuler awal ditandai dengan konsentrasi hormon estrogen dan LH yang rendah, kemudian pada pertengahan fase folikuler, hormon estrogen mulai mengalami peningkatan sedangkan konsentrasi LH dipertahankan

dalam kondisi rendah. Akhir fase folikuler dan awal fase ovulasi ditandai dengan lonjakan LH yang menyebabkan folikel dominan ruptur dan melepaskan oosit yang disebut dengan ovulasi (Zeleznik dan Plant, 2015).

SIMPULAN

Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa siklus reproduksi lutung jawa berkisar 24 hari dengan pola hormonal yang terdiri dari fase folikuler yang berlangsung sekitar 10 hari, fase ovulasi sekitar 2 hari dan fase luteal sekitar 12 hari.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Universitas Brawijaya melalui skim Hibah Penelitian Pemula (HPP) tahun 2018. Terima kasih juga kami sampaikan kepada segenap pihak pengelola pusat rehabilitasi *Javan Langur Center* Kota Batu atas kesempatannya kepada kami untuk melakukan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Engelking LR. 2012. *Metabolic and Endocrine Physiology Third Edition*. USA: Tenton Media.
- Fujita S, Mitsunaga F, Sugiura H, Shimizu K. 2001. Measurement of urinary and fecal steroid metabolites during the ovarian cycle in captive and wild Japanese macaques, *Macaca fuscata*. *American Journal of Primatology: Official Journal of the American Society of Primatologists* 53(4): 167-176.
- Hendratmoko Y. 2009. *Studi Kohabitasi Monyet Ekor Panjang dengan Lutung di Cagar Alam Pangandaran Jawa Barat*. [Tesis]. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Kurniawan I. 2012. *Profil Progam Rehabilitasi Lutung Jawa*. Malang. JLC Press
- Maheswari H. 2007. Profil Metabolit Steroid sebagai Indikator dalam Penentuan Siklus Ovarium Owa Jawa (*Hylobates moloch*, Audebert, 1797). [Disertasi]. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Millsbaugh JJ, Washburn BE, Milanick MA, Beringer J, Hansen LP, Meyer TM. 2002. Noninvasive techniques for stress assessment in white-tailed deer. *Wildlife Society Bulletin* 30: 899-907.
- Millsbaugh JJ, Washburn BE. 2004. Use of fecal glucocorticoid metabolite measures in conservation biology research: considerations for application and interpretation. *General and Comparative Endocrinology* 138(3): 189-199.
- Mostl E, Palme R. 2002. Hormones as indicators of stress. *Domestic Animal Endocrinology* 23: 67-74 (Special Issue).
- Nijman V, Supriatna J. 2008. *Trachypithecus auratus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T22034A9348260. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T22034A9348260.en>. [Diunduh pada 14 September 2018]. Tersedia di: <https://www.iucnredlist.org/species/22034/9348260>.
- Norman AW, Henry HL. 2015. *Hormones*, Third Edition. China. Elsevier Inc. Hlm. 275-296; 297-318.
- Norris DO, Lopez KH. 2011. The Endocrinology of the Mammalian Ovary. *Hormones and Reproduction of Vertebrates* 5(4): 59-72.
- Prior JC, Naess M, Langhammer A, Forsmo SA. 2015. Ovulation Prevalence in Women with Spontaneous Normal-Length Menstrual Cycles – A Population-Based Cohort from HUNT3, Norway. *PLoS ONE* 10(8): e0134473. DOI: 10.1371/journal.pone.0134473
- Saltzman W, Tardif SD, Rutherford JN. 2011. Hormones and Reproductive Cycles in Primates. *Hormones and Reproduction of Vertebrates* 5(13): 291-327.
- Stephens SM, Pau FK, Yalcinkaya TM, May MC, Berga SL, Post MD, Appt SE, Polotsky AJ. 2013. Assessing the pulsatility of luteinizing hormone in female vervet monkeys (*Chlorocebus aethiops sabaues*). *Comparative Medicine* 63(5): 432-438.
- Squires EJ. 2003. *Applied Animal Endocrinology*. Ontario, Canada. CABI Publishing. Hlm. 204-206.

- Titisari N, Fauzi A, Noviatry A, Vidiastuti D, Masnur I, Kurniawan I. 2018. Oral Presentation: Series of Medical Examination as an Initial Phase of Rehabilitation Program in Lutung Jawa Conservation. Proc. of the 20th FAVA Congress & The 15th Kivnas PDHI, Bali Nov 1-3.
- Qin DD, Rizak JD, Feng XL, Chu XX, Yang SC, Li CL, Lv LB, Ma YY, Hu XT. 2013. Social rank and cortisol among female rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *Zoological Research* 34(E2): E42 - E49. Doi: 10.3724/SP.J.1141.2013.E02E42
- Yusuf TL. 1998. Penentuan Waktu Kawin dan Hubungannya dengan Gejala Estrus pada *Macaca fascicularis*. *Jurnal Primatologi Indonesia* 2(1): 1-4.
- Zelevnik AJ, Plant TM. 2015. *Control of the Menstrual Cycle. Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*. Fourth Edition. Vol. 2. USA. Elsevier Inc.