

Perkembangan Histologis Ovarium Bayi dan Anak Owa Jawa (*Hylobates moloch*)

(HISTOLOGICAL DEVELOPMENT OF NEONATE AND JUVENILE JAVAN GIBBON (*HYLOBATES MOLOCH*) OVARIES)

Pristiani Nurantika Notoesoediro^{1,2}, Adi Winarto³,
Ligia Innocentia Theresia Antoinetta Tumbelaka⁴

¹Program Studi Primatologi, Sekolah Pascasarjana
Institut Pertanian Bogor.

Jl. Lodaya II No. 5, Bogor 16151.

²Javan Gibbon Center, Yayasan Owa Jawa.

Kompleks Taman Rekreasi Lido.

Jl. HR Edi Sukma km 21, Cigombong, Bogor 16740.

Email: nurantika@yahoo.com

³Departemen Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi,

⁴Departemen Klinik, Patologi dan Reproduksi,

Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.

Jl. Agatis, Kampus IPB, Dramaga, Bogor

Jawa Barat, Indonesia 16680

ABSTRAK

Keberhasilan reproduksi merupakan tantangan terbesar untuk mempertahankan keberadaan owa jawa (*Hylobates moloch*) di masa yang akan datang. Informasi biologi yang mendasar perihwal organ kelamin betina owa jawa belum banyak diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk menyediakan informasi mengenai perkembangan ovarium owa jawa berdasarkan pemeriksaan histologi. Sebanyak dua pasang ovarium yang dikoleksi dari *kadaver* owa jawa *neonatus* dan dari owa jawa yang berumur tiga tahun di Pusat Penyelamatan dan Rehabilitasi Owa Jawa (*Javan Gibbon Centre*). Teknik histologi (iris melintang dan memanjang) diterapkan pada sampel yang dikoleksi menggunakan metode paraffin dengan pewarnaan *haematoxylin eosin* (HE) dan *Masson's trichrome* (MT). Folikel-folikel dibentangkan secara perlahan ke sisi kiri dan kanan korteks ovarium. Jumlah folikel primordial dalam ovarium owa jawa *neonatus* dan *infant* secara berurutan adalah 80.815 dan 34.622. Pada ovarium owa jawa umur tiga tahun dilakukan pengamatan terhadap perkembangan folikel primordial hingga folikel primer, folikel pre-antral dan folikel antral. Rataan garis tengah folikel dan oosit secara berurutan adalah 25,0±8,9 μ m dan 20,0±13,1 μ m untuk folikel primordial, 48,4±22,5 μ m dan 20,5±10,0 μ m untuk folikel primer, 79,0±49,0 μ m dan 25,4±17,4 μ m untuk folikel pre-antral, 315,5±36,1 μ m dan 32,0±17,0 μ m untuk folikel antral. Ukuran folikel primordial, folikel primer dan oosit owa jawa memiliki ukuran yang lebih kecil dibandingkan dengan monyet ekor anjing (*Macaca fascicularis*) pada umur yang sama. Jaringan ikat ovarium pada owa jawa *neonatus* pada saat pengamatan sedang mengalami perkembangan, sedangkan pada owa jawa umur tiga tahun sudah berkembang dengan baik dan sangat jelas teramati pada ovarium bagian kapsula, korteks, dan medulla. Perkembangan folikel owa jawa sangat dipengaruhi oleh umur hewan tersebut.

Kata-kata kunci: folikel ovarium; metode histologi; owa jawa; ovarium

ABSTRACT

Reproductive success is one of the biggest challenges for the existence of javan gibbon (*Hylobates moloch*) in the future. Basic biology information of main reproduction female organ of the species is yet unknown. The research aimed to provide information of female ovary development through histological examination. Two pairs of ovaries were collected from a neonate and a three years old female cadaver at Javan Gibbon Centre. Histological techniques (cross and longitudinal sections) were applied to the collected samples using paraffin method with haematoxylin eosin (HE) and Masson's trichrome (MT) dyes. The follicles are spread evenly in the left and right cortex ovary. The number of primordial follicles within the neonate and infant ovary was 80 815 and 34 622, respectively. In a three years old javan gibbon ovaries, the development of primordial into primary, pre-antral and antral follicles were observed. The average diameter

of the follicles and oocytes were, respectively; $25.0 \pm 8.9 \mu\text{m}$ and $20.0 \pm 13.1 \mu\text{m}$ for primordial follicle, $48.4 \pm 22.5 \mu\text{m}$ and $20.5 \pm 10.0 \mu\text{m}$ for primary follicle, $79.0 \pm 49.0 \mu\text{m}$ and $25.4 \pm 17.4 \mu\text{m}$ for pre-antral follicle, $315.5 \pm 36.1 \mu\text{m}$ and $32.0 \pm 17.0 \mu\text{m}$ for antral follicle. The size of primordial and primary oocyte and follicle of javan gibbon is smaller than those of *Macaca fascicularis* at the same age. The connective tissue of neonate ovary was being developed while in the 3 years old female ovary, it was well-developed and clearly seen in the capsula, cortex, and medulla. Javan gibbon follicle development is strongly influenced by age.

Keywords: follicles; histological method; javan gibbon; ovary

PENDAHULUAN

Berdasarkan peta distribusi satwa primata Asia, Roos *et al.*, 2014 menyatakan bahwa Indonesia merupakan negara kepulauan yang memiliki 58-59 spesies primata, jumlah keragaman satwa primata tertinggi di dunia, yang diikuti negara Cina, Malaysia dan Vietnam. Indonesia memiliki 8 dari 20 spesies owa yang ada di dunia yang semuanya berstatus terancam punah (*The IUCN Red List of Threatened Species 2008*; Roos *et al.*, 2014; Fan *et al.*, 2017). Salah satu di antaranya owa jawa (*Hylobates moloch*) yang merupakan satwa primata endemik di Pulau Jawa.

Owa jawa merupakan kera kecil yang mendiami hutan-hutan di bagian barat Pulau Jawa (Banten dan Jawa Barat), serta sebagian kecil hutan di Jawa Tengah (hingga Pegunungan Dieng). Nijman (2013) menyatakan bahwa hutan yang tersisa di Pulau Jawa merupakan hutan-hutan yang terfragmentasi satu sama lain dan hanya menutupi kurang dari 10% luasan pulau. Satwa primata *arboreal* hutan tropis sejati seperti owa jawa merupakan spesies pertama yang hilang akibat habitat yang terisolasi.

Nijman (2004) memperkirakan populasi owa jawa liar berjumlah antara 4.000–4.500 individu dengan pola hidup berkeluarga, terdiri dari sepasang owa dewasa tanpa atau dengan maksimal empat anak, sedangkan Djanubudiman *et al.* (2004) memperkirakan populasi owa jawa liar berkisar antara 2 600 hingga 5 304 individu. Populasi owa jawa liar di Jawa Tengah diperkirakan sebesar 1 034 individu yang terbagi menjadi dua sub-populasi utama yaitu di Pegunungan Dieng dan Gunung Slamet (Setiawan *et al.*, 2012).

Survei kepadatan populasi owa jawa yang dilakukan Iskandar *et al.* (2018) menunjukkan habitat owa jawa terpadat berada di Taman Nasional Gunung Gede Pangrango yaitu 2,5 kelompok/km² dengan 5,7 individu/km². Habitat dengan kepadatan terendah di Cagar Alam Leuweung Sancang yaitu 1,1 kelompok/km² dengan 2,4 individu/km².

Populasi owa jawa di alam cenderung menurun. Penyebab utamanya tidak hanya akibat gangguan terhadap habitat (deforestasi, fragmentasi, dan alih fungsi lahan) namun juga akibat masih maraknya perburuan yang mengincar spesies ini untuk dijadikan satwa peliharaan. Hal ini dipengaruhi sebaran owa jawa di alam tidak hanya terbatas pada kawasan-kawasan yang dilindungi saja. Hasil survei Nijman *et al.* (2009) menyatakan bahwa owa yang berada di kebun binatang serta pusat penyelamatan dan rehabilitasi satwa di Indonesia merupakan hasil tangkapan liar yang disita pihak berwenang (Kepolisian Republik Indonesia dan Balai Besar Konservasi Sumber Daya Alam dan Ekosistem) atau serahan sukarela dari masyarakat yang memelihara owa.

Peran owa jawa yang penting untuk ekosistem hutan yaitu sebagai salah satu satwa indikator kualitas hutan yang baik dan berperan dalam menjaga vegetasi hutan melalui penyebaran biji pohon pakan yang dikenal dengan istilah *seed dispersal* (McConkey 2018). Hal tersebut berdampak pada kegiatan pelestariannya yang dilakukan baik secara *in situ* (habitat asli) maupun *ex situ* (di luar habitat asli).

Pemanfaatan ovarium kadaver owa jawa betina dapat memperkaya informasi dasar dalam pengembangan metode konservasi owa jawa. Sampel ovarium bersumber dari kadaver owa jawa yang sedang menjalani tahapan rehabilitasi di Pusat Penyelamatan dan Rehabilitasi *Javan Gibbon Center* (JGC). Variasi umur sampel ovarium yang digunakan dapat membantu menerangkan proses perkembangan (kematangan) seksual owa jawa betina. Penelitian ini merupakan bagian dari program riset Javan Gibbon Center, Yayasan Owa Jawa dengan tujuan mengkaji struktur ovarium serta perkembangan folikel ovarium bayi dan anak owa jawa sehingga hasilnya dapat dijadikan sebagai sumbang saran dalam upaya konservasi owa jawa.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini memanfaatkan dua pasang ovarium dari kadaver owa jawa yaitu sepasang ovarium bayi yang mati setelah operasi *caesar* (bayi 0 hari) dan sepasang ovarium anak berusia lebih kurang tiga tahun. Penelitian dilakukan menggunakan teknik histologi (histo-teknik) dengan parafin. Potongan serial ovarium secara memanjang dan melintang dilakukan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-5 μ m. Hasil potongan tersebut kemudian diwarnai dengan Hematoksilin-Eosin (HE) dan *Masson's Trichrome* (MT).

Pengamatan morfometrik dilakukan baik secara anatomis maupun mikroskopis. Pengamatan anatomis dilakukan terhadap bentuk, ukuran dan bobot. Pengukuran dilakukan pada bagian terpanjang dan bobot ovarium ditimbang menggunakan alat timbang digital (Teraoka Seiko DS-425P, Japan). Pemeriksaan mikroskopis dilakukan dengan mikroskop (Nikon Eclipse i80e, Japan) untuk struktur mikroskopis ovarium dan folikel. *Software PTGui Pro 10.0.11 Portable* digunakan untuk menampilkan gambar keseluruhan potongan ovarium sedangkan *software MacBiophotonics ImageJ* digunakan untuk menghitung jumlah dan mengukur diameter folikel dan sel telur (oosit).

Pengamatan sediaan histologis dilakukan mengikuti metode yang telah dilakukan Candy *et al.* (1997) dalam hal pengelompokkan folikel dan Buse *et al.* (2008) dalam hal acuan ukuran folikel. Hasil penelitian disajikan secara naratif deskriptif dan hasil pengukuran diameter folikel dan oosit disajikan berupa rata-rata dari data pengukuran yang diperoleh.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ovarium merupakan organ reproduksi utama hewan betina, terletak retroperitoneal pada rongga perut bagian bawah. Secara makroskopis, ovarium owa jawa berbentuk kacang polong seperti ovarium satwa primata lain pada umumnya, namun dapat memiliki perbedaan bentuk antara ovarium kiri dan kanan (Gambar 1). Perbedaannya terletak pada ukuran dan jumlah folikel di dalamnya (Buse *et al.*, 2008). Permukaan ovarium bayi dan anak owa jawa dijumpai dalam keadaan yang halus.

Perkembangan ovarium pra-kelahiran dapat dipengaruhi beberapa faktor, di antaranya

nutrisi, eksposur terhadap cemaran, atau penyakit yang diderita induk. Beberapa faktor tersebut dapat berpengaruh terhadap keterlambatan proses perkembangan ovarium semasa bayi dan berpengaruh besar terhadap fertilitas (Smith *et al.*, 2014).

Pengukuran yang dilakukan terhadap ovarium bayi dan anak owa jawa memperlihatkan peningkatan pada semua parameter yang diamati, baik pada ovarium kanan maupun kiri (Tabel 1). Hal ini sejalan dengan aktivitas perkembangan folikel yang terjadi pada ovarium anak. Pertambahan panjang terjadi hampir dua kali lipat, pertambahan bobot terjadi sebesar lebih dari sepuluh kali lipat, sementara diameter ovarium tidak mengalami peningkatan yang jelas.

Secara mikroskopis, struktur ovarium satwa primata sama dengan struktur pada hewan mamalia lainnya yaitu terdiri dari dua bagian yang sangat mudah dikenali (Gambar 2). Bagian tepi dinamakan korteks (K), berisi folikel-folikel yang mengandung oosit. Korteks mengelilingi bagian tengah yang berisi jaringan ikat kolagen dan miofibrosit, serta pembuluh darah dan syaraf, yang dinamakan medula (M).

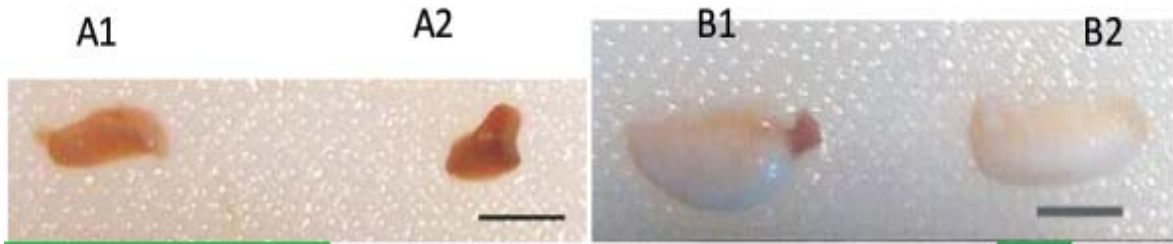
Korteks ovarium bayi yang diamati memperlihatkan hanya terdapat folikel primordial yang berjumlah 80.815, seperti yang diharapkan. Jumlah tersebut hanya sekitar 12% dari jumlah rata-rata folikel primordial bayi manusia yang baru dilahirkan yaitu 650.000 (Forabosco *et al.*, 2007). Buse *et al.* (2008) menyatakan jumlah folikel primordial akan semakin berkurang seiring dengan dinamika aktivitas ovarium dengan pertambahan usia, seperti yang diamati pada ovarium bayi dan anak owa jawa dalam penelitian ini (Tabel 2). Pada saat kelahiran, aktivitas proliferasi oosit pada mamalia menurun dengan nyata.

Tidak semua folikel pada bayi akan berkembang lebih lanjut sejalan dengan bertambahnya usia. Folikel primordial pada anak owa jawa berkurang 57% dari jumlahnya saat dilahirkan, sedangkan sisanya mengalami perkembangan menjadi folikel primer, pre-antral dan folikel antral. Namun, tidak menutup kemungkinan terjadinya atresia pada saat proses perkembangan folikel. Ovarium bayi 0 hari *Macaca fascicularis* telah memiliki beberapa folikel primer dan folikel primer tidak lagi dapat dilihat pada betina yang berusia lebih dari 15 tahun (Buse *et al.*, 2008).

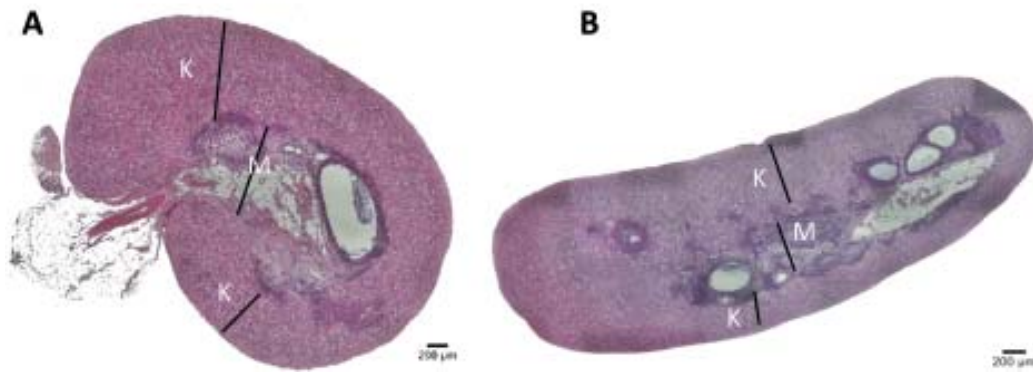
Kelsey *et al.* (2012) menyatakan bahwa usia merupakan faktor terpenting terhadap variasi

Tabel 1. Ukuran ovarium pada bayi dan anak owa jawa

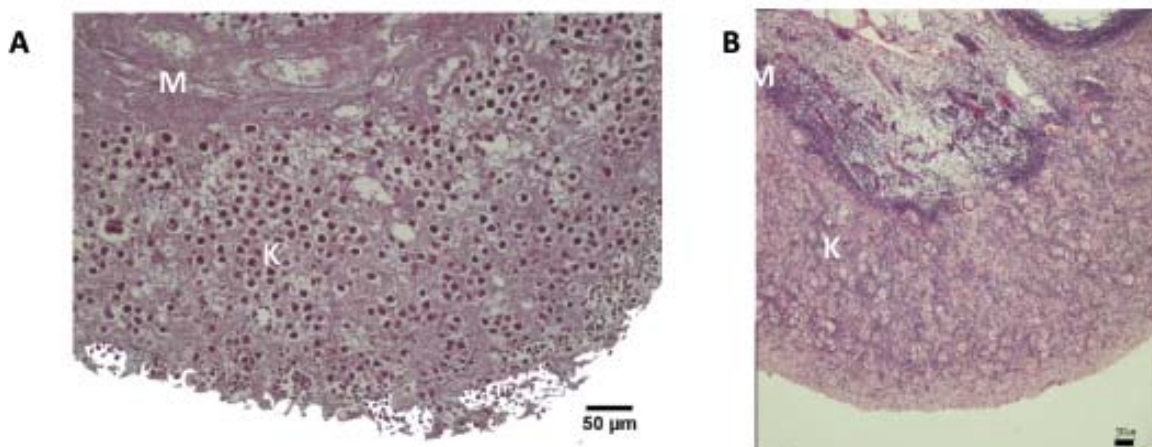
Parameter	Bayi		Anak	
	Kanan	Kiri	Kanan	Kiri
Panjang (cm)	0,50	0,60	1,00	1,00
Diameter (cm)	0,15	0,21	0,33	0,23
Bobot (g)	0,01	0,01	0,13	0,11



Gambar 1. Gambaran anatomi ovarium owa jawa: (A1) ovarium kiri bayi, (A2) ovarium kanan bayi, (B1) ovarium kiri anak dan (B2) ovarium kanan anak. (Skala = 5 mm).



Gambar 2 Gambaran histologis ovarium owa jawa: (A) potongan melintang dan (B) potongan memanjang. (Skala = 200 µm, pewarnaan HE).



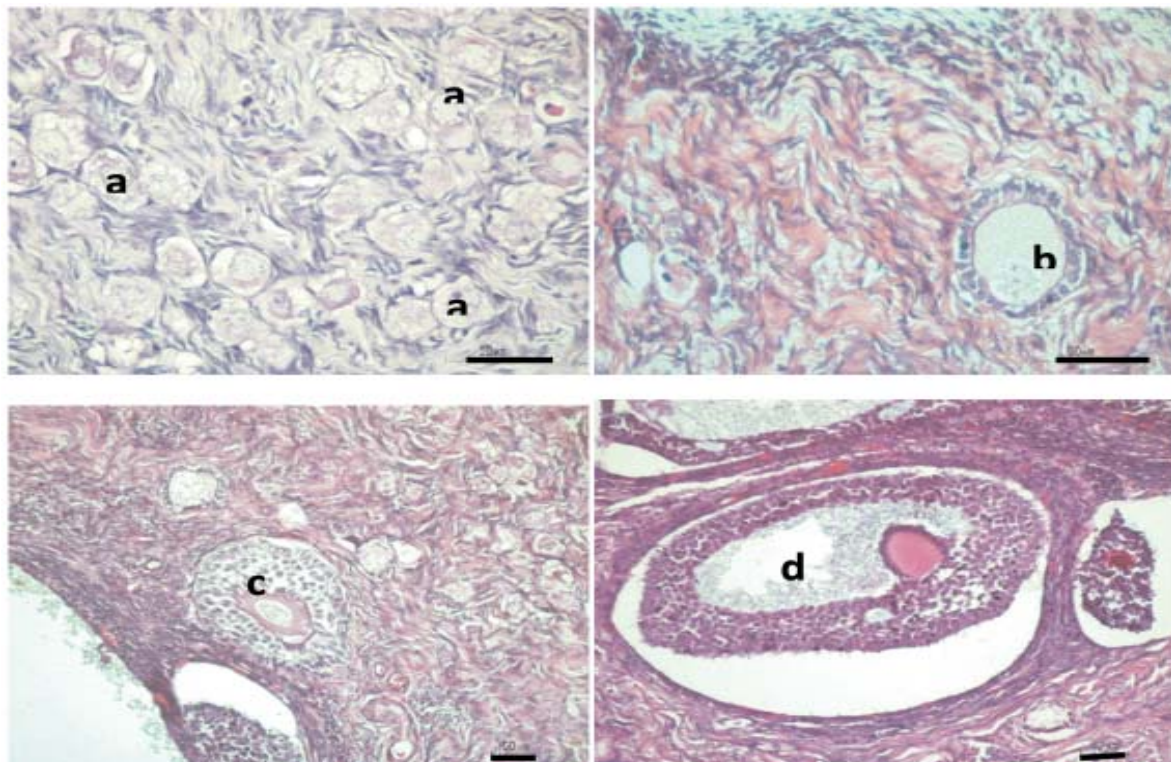
Gambar 3. Sebaran folikel yang merata pada bagian korteks ovarium owa jawa. A. bayi dan B. anak: C = kapsula, K = korteks, M = medula. (Skala = 50 µm, pewarnaan HE).

Tabel 2. Jumlah folikel ovarium pada bayi dan anak owa jawa

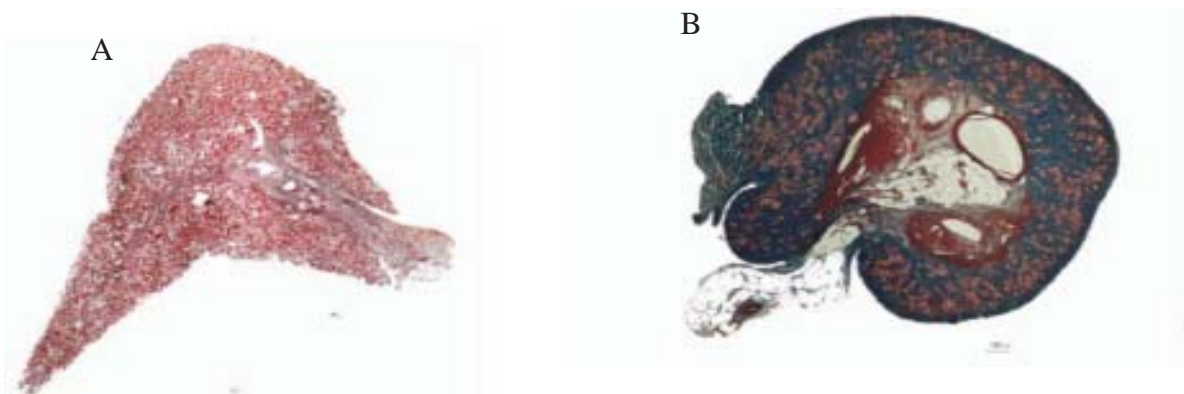
Tahapan perkembangan folikel	Bayi	Anak
Primordial	80 815	34 622
Primer	0	500
Pre-antral	0	240
Antral	0	2
Jumlah	80 815	35 405

jumlah *non-growing follicle* (NGF) setiap individu wanita. Wanita memiliki jutaan NGF pada usia janin 5 bulan yang diikuti dengan penurunan jumlah hingga usia menopause yaitu pada 50-51 tahun (Wallace *et al.*, 2010).

Pengamatan terhadap dua pasang ovarium owa jawa memperlihatkan pola sebaran folikel yang merata (Gambar 3) dengan gambaran histologis folikel seperti pada Gambar 4. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Oerke *et al.* (1996) pada marmoset (*Callithrix jacchus*) bahwa pola sebaran folikel merata baik pada ovarium



Gambar 4 Gambaran histologis folikel owa jawa (a) folikel primordial, (b) folikel primer, (c) folikel pre-antral dan (d) folikel antral. (Skala = 50 µm, pewarnaan HE).



Gambar 5 Struktur jaringan ikat pada ovarium owa jawa: (A) Bayi dan (B) Anak. (Skala= (A) 50 µm dan (B) 200 µm, pewarnaan: MT).

Tabel 3. Ukuran oosit dan folikel *Hylobates moloch* dan *Macaca fascicularis*

Spesies	Tahapan Folikel	Diameter oosit (µm)	Diameter folikel (µm)	Referensi
<i>Hylobates moloch</i>	Primordial (n=5030)	20,0±13,1	25,0±8,9	
	Primer (n=167)	20,5±10,0	48,4±22,5	
	Pre-antral (n=116)	25,4±17,4	79,0±49,0	
	Antral (n= 2)	32,0±17,0	315,5±36,1	
<i>Macaca fascicularis</i>	Mitotik	<15,0	-	
	Primordial	- 30,0-40,0	30,0-40,0	Buse <i>et al.</i> , 2008
	Primer	-30,0-40,0	70,0-100,0	

kanan maupun kiri. Perkembangan folikel terjadi pada area korteks yang dekat dengan bagian medula dan bergerak semakin menepi ke arah permukaan ovarium.

Owa jawa memiliki struktur folikel yang sama dengan mamalia pada umumnya (Gambar 4). Folikel primordial (a) dicirikan dengan oosit yang dikelilingi selapis sel granulosa berbentuk pipih. Folikel primer (b) memiliki oosit yang dikelilingi oleh satu hingga dua lapis sel granulosa berbentuk kuboid. Folikel pre-antral (c) memiliki tiga atau lebih lapis sel granulosa tanpa adanya antrum folikel. Folikel antral (d) merupakan folikel yang telah memiliki antrum folikel.

Ovarium bayi owa jawa memperlihatkan serabut kolagen sebagai komponen ja-ringan ikat belum banyak ditemukan. Serabut kolagen (biru) terlihat sangat sedikit di daerah medula, namun belum dapat dilihat di bagian kapsula. Selain itu, jaringan otot dari pembuluh darah belum dapat dilihat jelas. Berbeda halnya dengan jaringan ikat pada ovarium anak, serabut kolagen dapat dilihat jelas pada bagian kapsula, korteks, medula dan di sekitar jaringan lemak. Jaringan otot pada pembuluh darah ovarium anak owa jawa juga sudah terbentuk sempurna (merah). Selain itu, pada area jaringan ikat dapat ditemukan pula jaringan lemak.

Penelitian histomorfologi ovarium satwa primata telah dilakukan sebelumnya pada monyet ekor panjang (*M. fascicularis*) oleh Buse *et al.* (2008), marmoset (*C. jacchus*) oleh Oerke *et al.* (1996) dan Nayudu *et al.* (2003) serta monyet kapucin (*Cebus apella*) oleh Domingues *et al.* (2004). Pada famili *Hylobatidae*, ini merupakan kali pertama dilakukan histomorfologi ovarium, khususnya *Hylobates moloch*. Pada Tabel 3 diperlihatkan ukuran oosit dan folikel ovarium bayi dan anak owa jawa dan monyet ekor panjang pada tahapan perkembangannya.

Owa jawa memiliki ukuran oosit dan folikel primordial dan primer yang lebih kecil dibandingkan dengan *M. fascicularis* (Buse *et al.*, 2008), namun kedua spesies tersebut menunjukkan kesamaan pada proses perkembangan ukuran folikel selama proses folikulogenesis. Meningkatnya proses folikulogenesis dapat dipengaruhi androgen seperti testosteron (Vendola *et al.*, 1998), *follicle stimulating hormone* (FSH) dan estrogen (Buse *et al.*, 2008) dan berpengaruh langsung terhadap ukuran ovarium.

Jumlah folikel yang dimiliki dan folikulogenesis yang terjadi pada ovarium kiri dan kanan bayi maupun anak owa jawa memiliki potensi yang baik untuk bereproduksi. Hal ini memperlihatkan bahwa ovarium sebagai organ reproduksi utama bukanlah faktor yang menjadi hambatan dalam bereproduksi. Faktor internal lain dapat membatasi proses bereproduksi pada owa jawa berupa sifat owa jawa yang monogami (Burrows *et al.*, 2011) atau berkeluarga (Bartlett dan Light, 2017) dengan rata-rata umur betina pertama kali melahirkan 8,8 tahun dan jarak antar kelahiran 2,3 tahun (Hodgkiss *et al.*, 2010).

Beberapa faktor eksternal berakibat terhambatnya proses bereproduksi pada owa jawa. Salah satunya adalah gangguan terhadap habitat. Luasan habitat yang semakin sempit dan terfragmentasi menyebabkan terhambat atau gagalnya proses pencarian pasangan pada owa jawa yang sudah siap untuk berpisah dari keluarganya untuk membentuk keluarga baru.

Kondisi pemeliharaan tunggal umum dijumpai pada owa jawa yang dipelihara oleh masyarakat, sehingga tidak memungkinkan terjadinya aktivitas untuk bereproduksi. Sama halnya dengan fasilitas pemeliharaan owa jawa *ex-situ*, seringkali dihadapkan pada kondisi jumlah individu jantan dan betina yang tidak seimbang pada kelompok usia produktif.

SIMPULAN

Ovarium bayi dan anak owa jawa berbentuk seperti kacang polong dan memiliki permukaan yang halus. Secara histologis, ovarium memiliki dua bagian yang mudah dibedakan yaitu korteks dan medula. Folikel terdapat pada bagian korteks, tersebar merata dan mengalami perkembangan yang semakin mendorong folikel ke permukaan ovarium. Bayi 0 hari owa jawa hanya memiliki folikel primordial dan proses folikulogenesis akan terjadi pada usia anak (lebih kurang 3 tahun). Ukuran oosit dan folikel (primordial dan primer) bayi dan anak owa jawa lebih kecil dibandingkan dengan *M. fascicularis*. Jaringan ikat kolagen dan jaringan otot dari pembuluh darah pada ovarium bayi masih mengalami perkembangan namun pada usia anak, jaringan ikat dan jaringan otot dari pembuluh darah sudah terbentuk sempurna.

SARAN

Melakukan analisis pada keseluruhan bagian ovarium owa jawa (*H. moloch*) dari kadaver dengan variasi umur yang lebih beragam, sehingga menambah informasi dasar estimasi jumlah folikel yang terdapat pada ovarium. Hal tersebut dapat menjelaskan proses perkembangan dan pematangan folikel pada ovarium yang menggambarkan tingkat kematangan seksual owa jawa betina. Perlu melakukan teknik pewarnaan histokimia untuk memperoleh informasi kondisi hormonal ovarium.

Konservasi owa jawa lebih ditekankan pada tindakan menjaga populasinya di alam dengan meningkatkan pengelolaan hutan yang merupakan kantong sebaran populasi owa jawa, menindak tegas kegiatan perburuan, perdagangan dan pemeliharaan owa jawa oleh masyarakat, serta edukasi kepada masyarakat terhadap pentingnya menjaga populasi satwa liar dan habitatnya. Perlu dilakukan restorasi habitat yang terfragmentasi (membuat koridor) serta perluasan habitat yang sesuai untuk owa jawa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih Penulis ucapkan kepada Yayasan Owa Jawa dan Laboratorium Patologi, Pusat Studi Satwa Primata IPB yang telah

membantu Penulis sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Bartlett TQ, Lydia EOL. 2017. Gibbon (Hylobatidae) In: A Fuentes (ed) *The International Encyclopedia of Primatology*. San Antonio, United States. John Wiley & sons Inc. Hlm. 1-2. doi: 10.1002/9781119179313.wbprim0273.
- Burrows AM, Diogo R, Waller BM, Bonar CJ, Liebal K. 2011. Evolution of the muscles of facial expression in a monogamous ape: evaluating the relative influences of ecological and phylogenetic factors in hylobatids. *An Record* 294: 645-663. doi 10.1002/ar21355.
- Buse E, Zoller M, Van Esch E. 2008. The macaque ovary, with special reference to the cynomolgus macaque (*Macaca fascicularis*). *Toxic Pathol* 36: 24-66.
- Candy CJ, Wood MJ, Whittingham DG. 1997. Effect of cryoprotectants on the survival of follicles in frozen mouse ovaries. *J Reprod and Fertil* 110: 11-19.
- Djanubudiman G, Arisona J, Setiadi MI, Wibisono F, Mulcahy G, Indrawan M, Hidayat RM. 2004. *Current Population and Conservation Priorities for the Javan Gibbon (Hylobates moloch)*. US fish and Wildlife Services Great Ape Conservation Fund. Ind Found for the Adv of Biol Sci. Depok, Indonesia. Hlm. 25.
- Domingues SFS, Diniz LV, Furtado SHC, Ohashi OM, Rondina D, Silva LDM. 2004. Histological study of capuchin monkey (*Cebus apella*) ovarian follicles. *Acta Amazonica* 34(3): 495-501.
- Fan PF, Kai H, Xing C, Alejandra O, Bin Z, Chao Z, Yun-Qiao L, Hai-Bo Z, Clare K, Wen-zhi W, Colin G, Samuel TT, Christian R, Kristofer MH, Xue-Long J. 2017. Description of a new species of Hoolock gibbon (Primates: Hylobatidae) based on integrative taxonomy. *Am J Primatol* 9999: 22631.
- Forabosco A, Chiarella S. 2007. Establishment of ovarian reserve: a quantitative morphometric study of the developing human ovary. *Fertil and Steril* 88(3): 675-683.

- Hodgkiss S, Thetford E, Waite CD, Nijman V. 2010. Female reproductive parameters in the javan gibbon (*Hylobates moloch*). *Zoo Biol* 29: 449-456.
- Iskandar E, Walberto S, Septiantina R, Rahmuddin, Kuswandono T, Randall CK. 2018. Survey of the javan gibbons (*Hylobates moloch*) in west and central Java, Indonesia: trends in population density. *Biol Syst Open Access* 7(1): 1-9.
- IUCN. 2008. The IUCN red list of threatened species. <http://www.iucnredlist.org/details/10550/0>. [20 Maret 2018].
- Kelsey TW, Anderson RA, Wright P, Nelson SM, Wallace WH. 2012. Data-driven assessment of the human ovarian reserve. *Mol Hum Reprod* 18(2): 79-87.
- Kiernan JA. 1990. *Histological & Histochemical Methods: Theory & Practice*. 2nd Edition. Oxford UK. Pergamon Press. Hlm. 122-123.
- McConkey KR. 2018. Seed dispersal by primates in Asian habitats: from species, to communities, to conservation. *Int J Primatol* 39: 466-492.
- Nayudu PL, Wu J, Michelmann HW. 2003. In vitro development of marmoset monkey oocytes by pre-antral follicle culture. *Reprod Dom Anim* 38: 90-96.
- Nijman V. 2004. Conservation of the javan gibbon *Hylobates moloch*: population estimates, local extinctions, and conservation priorities. *The Raffles Bulletin of Zoology*. 52(1): 271-280.
- Nijman V, Cho-fui YM, Chris RS. 2009. Saved from trade: donated and confiscated gibbons in zoos and rescue centres in Indonesia. *Endang Species Res* 9: 151-157.
- Nijman V. 2013. One hundred years of solitude: Effects of long-term forest fragmentation on the primate community of Java, Indonesia. In: LK Marsh, CA Chapman (eds) *Primates in fragments: Complexity and resilience*. New York. Springer. Hlm. 33-45.
- Oerke AK, Einspanier A, Hodges JK. 1996. Noninvasive monitoring of follicle development, ovulation, and corpus luteum formation in the marmoset monkey (*Callithrix jacchus*) by ultrasonography. *Am J Primatol* 39: 99-113.
- Roos C, Boonratana R, Supriatna J, Fellowes JR, Groves CP, Nash SD, Rylands AB, Mittermeier RA. 2014. An updated taxonomy and conservation status review of Asian primates. *As Prim J* 4(1): 2-38.
- Setiawan A, Tejo SN, Yohannes W, Vera I, Jito S. 2012. *Population density and distribution of javan gibbon (Hylobates moloch) in Central Java, Indonesia*. *Proc Soc Indon Biodiv Intl Conf* (1): 204-208.
- Smith P, Dagmar W, Raymond JR. 2014. Development of mammalian ovary. *J Endocrin*. 221: R145-R161.
- Vendola KA, Zhou J, Adesanya OO, Well SJ, Bondy CA. 1998. Androgens stimulate early stages of follicular growth in the primate ovary. *J Clin Inv* 101(12): 2662-2629.
- Wallace WHB, Kelsey TW. 2010. Human ovarian reserve from conception to the menopause. *PloS ONE* 5: e8772.