

Penurunan Kadar Progesteron Setelah Pemberian PGF₂α Yang Diekstrak Dari Sel Monolayer Vesikula Seminalis Sapi Bali Disimpan Pada Suhu Dan Waktu Berbeda

(DECREASE LEVEL OF PROGESTERONE AFTER TREATED WITH PGF₂α EXTRACTED FROM BALI CATTLE VESICULA SEMINALIS MONOLAYER CELL AND STORED AT DIFFERENT TEMPERATURE AND PERIOD).

Tjok Gde Oka Pemayun¹, I Gusti Ngurah Bagus Trilaksana¹, Laba Mahaputra²

¹Laboratorium Reproduksi Veteriner Universitas Udayana

²Laboratorium Reproduksi Veteriner Universitas Airlangga

Jl. PB. Sudirman Denpasar-Bali

Email: tjokormas@yahoo.co.id

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektifitas kerja dari PGF₂α melalui penurunan kadar progesteron setelah pemberian ekstrak produk sel *monolayer* vesikula seminalis sapi bali yang disimpan pada suhu 4 °C dan -4°C selama 0 bulan, dua bulan dan empat bulan. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak produk sel monolayer vesikula seminalis sapi bali dan rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap pola faktorial yang terdiri dari dua faktor yaitu faktor I adalah lama penyimpanan (0 bulan, dua bulan dan empat bulan) dan faktor II adalah suhu penyimpanan (+4°C dan -4°C) dengan masing-masing lima kali ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa PGF₂α yang diekstrak dari sel monolayer vesikula seminalis pada penyimpanan dua bulan, mampu menurunkan kadar progesteron sebesar 49,06% pada suhu – 4°C dan 48,82% pada suhu +4°C. Hal yang sama juga pada penyimpanan selama empat bulan, terjadi penurunan kadar progesteron sebesar 36,33% pada suhu -4°C dan 35,81% pada suhu +4°C. Hal ini dapat disimpulkan bahwa PGF₂α yang diekstrak dari sel monolayer vesikula seminalis yang disimpan selama empat bulan baik pada suhu -4°C dan +4°C masih mampu melisis sel luteal.

kata kunci: PGF₂α , progesteron, daya simpan

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effectiveness of PGF₂α on the decrease level of progesterone after treated with PGF₂α that extracted from bali cattle vesicula seminalis monolayer cell that stored for 0 month, two months and four months at temperature 4°C and -4°C. Sample that used in this study was PGF₂α producted from bali cattle vesicula seminalis monolayer cell. Acomplete random sample with two factorial pattern was used i.e; factor I was the period stored (0 month, two months, and four months) and factor II was the temperature storage (4°C and -4°C). Each treatment was completely with repetitions. Result showed that PGF₂α that resulted from bali cattle monolayer cell vesikula seminalis that stored for two months was able to decrease level of progesterone to 49.06% at -4°C and 48.82% at temperature 4°C. Similarly. The PGF₂α that stored for four months affected on the decrease of progesterone level to 36.33% at temperature -4°C and 35.81% at temperature 4°C. It can be concluded that PGF₂α that resulted in the study that stored for four months at temperature of -4°C and 4°C may have capability to regress luteal cell.

Keywords: PGF₂α, Progesterone, storage viability

PENDAHULUAN

Prostaglandin $F_2 \alpha$ ($PGF_2\alpha$) merupakan agen luteolitik yang menyebabkan regresi korpus luteum dan kontraksi otot polos (Dinka, 2012; Oguike dan Okocha, 2008) dan mempunyai masa paruh yang pendek (Golf, 2004). Secara alami $PGF_2\alpha$ berfungsi mengontrol siklus estrus, transport ovum, transport spermatozoa dan partus pada mamalia serta secara luas telah digunakan untuk sinkronisasi estrus baik pada ternak kecil maupun ternak besar, untuk penanganan beberapa kasus reproduksi khususnya kasus anestrus postpartum yang disebabkan oleh karena tidak beregresinya korpus luteum atau korpus luteum persisten (CLP) (McDonal, 2000; Alejandro *et al.*, 2014)

Keberhasilan penggunaan preparat $PGF_2\alpha$ untuk penanganan beberapa kasus reproduksi atau sinkronisasi baik pada hewan kecil maupun hewan besar telah banyak dilaporkan. Seperti yang dilaporkan oleh Nebel and Jobst (1998) bahwa pemberian $PGF_2\alpha$ yang dikombinasi dengan Gn-RH, dilaporkan dapat memperbaiki performen reproduksi, bahkan Dhaliwal *et al.* (2001) merekomendasikan penggunaan $PGF_2\alpha$ pada beberapa kasus endometritis pada sapi-sapi yang *non cycling* dan *cycling*

Efek kerja prostaglandin telah diamati pada ternak ruminansia baik secara *in vivo* maupun *in vitro* seperti menyebabkan penurunan aliran darah, menurunnya jumlah sel-sel luteal kecil (*small luteal cells*), perubahan aktivitas ensim-ensim steroidogenik, meningkatnya ekspresi gen prostaglandin G/H synthase, menghambat stimulasi lipoprotein sterioigenesis, dan merubah fluiditas membrane (Milvae, 2000)

Beberapa jaringan tubuh dilaporkan dapat mensekresikan $PGF_2\alpha$ seperti endometrium (Thacher *et al.*, 2002; Goff, 2004), kelenjar prostat dan kelenjar vesikula seminalis (Daniel *et*

al., 2004). Prostaglandin yang dilaporkan telah diisolasi berasal dari cairan vesikula seminalis adalah 19-hydroxy-E2 dan 19-hydroxy-E1 (Bylund dan Oliw, 2001) dengan konsentrasi tertinggi pada domba dan manusia yaitu 50 sampai 100 ug/ml. Pemayun (2007) juga melaporkan bahwa kadar prostaglandin pada cairan vesikula seminalis sapi bali yang diekstraksi mencapai 1750,83 pg/ml, dan mempunyai daya luteolitik yang tinggi yang ditandai dengan penurunan kadar hormon progesteron serum mencapai 98% dalam waktu 72 jam pada kuda fase luteal (Pemayun *et al.*, 2008).

Melihat tingginya kadar PGF_2 alfa pada yang diperoleh pada cairan vesikula seminalis, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas kerja dari $PGF_2\alpha$ melalui penurunan kadar progesteron setelah pemberian ekstrak produk sel *monolayer* vesikula seminalis sapi bali yang disimpan pada suhu 4 °C dan -4°C selama 0 bulan, dua bulan dan empat bulan.

METODE PENELITIAN

Materi penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak produk sel monolayer vesikula seminalis sapi bali. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap pola faktorial yang terdiri dari dua faktor yaitu faktor I adalah lama penyimpanan (0 bln, dua bln dan empat bln) dan faktor II adalah suhu penyimpanan (+4⁰ C dan -4⁰ C) dengan masing-masing lima kali ulangan.

Pembuatan sel *monolayer* luteal

Korpus luteum sapi Bali yang diperoleh dari Rumah Potong Hewan dan diambil secara aseptis, kemudian dimasukkan kedalam termos yang berisi es dan selanjutnya dibawa ke laboratorium untuk pembuatan biakan sel. Di laboratorium, korpus luteum di dicuci

dengan *Phosphate Buffer saline* (PBS) steril. Kemudian sel diaspirasi dengan spuit 2,5 CC dan jarum 17 G yang sebelumnya sudah diisi PBS secukupnya. Kemudian cairan yang tertampung disentrifugasi dengan kecepatan 1000 x g selama 10 menit. Lebih lanjut supernatan dibuang dan endapan atau pellet ditambahkan media pencuci oosit (*Oocyte Washing Solution*) dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 1.000 x g selama 10 menit. Supernatan dibuang, dan kemudian pada pellet ditambahkan media TCM 199 dan FCS 10% dan kemudian dihitung konsentrasinya dengan menggunakan hemositometer. Setelah diperoleh konsentrasi rata-rata $1,9 \times 10^6$ sel/ml, suspensi sel dimasukkan kedalam flask biakan, kemudian dibiarkan dalam inkubator pada suhu 38,5 °C di bawah tekanan CO₂ 5% selama 11 hari. Pencucian/produksi sel diambil pada hari ke-3, 6, 9 dan ke-11. Pada hari ke-9, biakan sel ditambahkan masing-masing produk sel monolayer vesikula seminalis 10% Selanjutnya produk sel *monolayer* luteal pada hari ke-9 (sebelum perlakuan) dan hari ke-11 setelah perlakuan, diukur kadar hormon progesteronnya dengan menggunakan teknik *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA).

Analisis Data

Data penelitian terhadap daya simpan (*life span*) diuji dengan ANOVA. Bila ada perbedaan dilanjutkan dengan uji *Least Significance Difference* (LSD) yang penghitungannya dilakukan dengan program *SPSS 15 for Windows*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian diperoleh bahwa rata-rata kadar progesteron yang diperoleh sebelum dan sesudah perlakuan pada produk sel monolayer luteal pada 0 bulan adalah $2,75 \pm 2,36$ ng/ml, rata-rata kadar progesteron pada penyimpanan selama dua bulan adalah $2,00 \pm 0,35$ ng/ml sebelum perlakuan dan $1,0 \pm 0,55$ ng/ml 48 jam sesudah perlakuan pada suhu -4°C, sedangkan rata-rata kadar progesteron pada suhu +4°C adalah $1,70 \pm 0,47$ ng/ml sebelum perlakuan dan $0,90 \pm 0,56$ ng/ml 48 jam sesudah perlakuan. Rataan kadar progesteron selama penyimpanan empat bulan adalah $2,00 \pm 0,35$ ng/ml sebelum perlakuan dan $1,02 \pm 0,53$ ng/ml 48 jam sesudah perlakuan pada suhu -4°C, sedangkan kadar progesteron pada suhu +4°C adalah $1,28 \pm 0,17$ ng/ml sebelum perlakuan dan $0,62 \pm 0,38$ ng/ml 48 jam sesudah perlakuan (Tabel 1)

Tabel 1. Rataan ± SD Kadar Progesteron (ng/ml) pada produk sel monolayer luteal

Kelompok	Kadar progesteron					
	-4°C			+4°C		
	0 jam	48 jam	% Penurunan	0 jam	48 jam	% Penurunan
0 Bulan	2,75±2,36	1,44±1,55	55	2,75±2,36	1,44±1,55	55
2 Bulan	2,00±0,35	1,02±0,55	49,06	1,70±0,47	0,90±0,56	48,82
4 Bulan	2,00±0,35	1,02±0,53	36,33	1,28±0,17	0,62±0,38	35,81

Hasil yang diperoleh dalam penelitian seperti yang dipaparkan pada Tabel 1. adalah pada penyimpanan selama dua bulan, PGF₂α produk penelitian masih mampu menurunkan kadar progesteron sebesar 49,06 % pada

suhu -4°C dan 48,82% pada suhu +4°C. Sedangkan pada penyimpanan selama empat bulan, PGF₂α produk penelitian juga masih mampu menurunkan kadar progesteron sebesar 36,33 % pada suhu -4°C dan 35,81% pada suhu +4°C. Hal ini

mencerminkan bahwa $\text{PGF}_{2\alpha}$ produk vesikula seminalis yang disimpan selama empat bulan pada suhu -4°C dan $+4^{\circ}\text{C}$ masih mampu melisis sel luteal.

Prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ ($\text{PGF}_{2\alpha}$) merupakan agen luteolitik pada hewan mammalia dan telah banyak digunakan untuk meningkatkan efisiensi reproduksi pada ternak. Upaya pengadaan $\text{PGF}_{2\alpha}$ dalam negeri sampai saat ini belum pernah dilaporkan.

$\text{PGF}_{2\alpha}$ sebagai agen luteolisis yang berfungsi mengatur aktivitas ovarium telah banyak diteliti. Korpus luteum merupakan kelenjar endokrin sementara dan sekresi utamanya adalah hormon progesteron yang berfungsi memelihara kebuntingan (Webb *et al.*, 2002; Dupont *et al.*, 2010). Beberapa peneliti melaporkan peranan utama $\text{PGF}_{2\alpha}$ adalah meregresi korpus luteum pada beberapa spesies (Milvae, 2000; Okuda *et al.*, 2002).

Akan tetapi telah dilaporkan pula bahwa $\text{PGF}_{2\alpha}$ hanya mampu meregresi korpus luteum yang berumur diatas 6 hari siklus estrus, sedangkan korpus luteum dibawah 6 hari kurang peka terhadap $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Girsh *et al.*, 1995). Hal yang sama juga dilaporkan oleh Silvia *et al.* (2000) bahwa korpus luteum babi peka terhadap $\text{PGF}_{2\alpha}$ pada hari ke-13 siklus estrus, sedangkan hari ke-4 siklus estrus korpus luteum tidak peka.

Hal ini disebabkan oleh karena rendahnya konsentrasi reseptor $\text{PGF}_{2\alpha}$ pada sel luteal sehingga $\text{PGF}_{2\alpha}$ tidak mampu untuk meregresi korpus luteum yang dicerminkan dari tetap tingginya kadar hormon progesteron setelah pemberian $\text{PGF}_{2\alpha}$ sebelum hari ke-6 siklus estrus (Bearden dan Faquay, 1992).

Hasil yang diperoleh pada uji efektivitas produk $\text{PGF}_{2\alpha}$ hasil penelitian adalah $\text{PGF}_{2\alpha}$ produk penelitian pada penyimpanan selama dua bulan masih mampu menurunkan kadar progesteron sebesar 49,06% pada suhu -4°C dan

48,82% pada suhu $+4^{\circ}\text{C}$. Sedangkan pada penyimpanan selama empat bulan, $\text{PGF}_{2\alpha}$ produk penelitian masih mampu menurunkan kadar progesteron sebesar 36,33% pada suhu -4°C dan 35,81% pada suhu $+4^{\circ}\text{C}$.

Penurunan kadar progesteron adalah sejalan dengan penurunan kadar $\text{PGF}_{2\alpha}$ pada penyimpanan empat bulan.

Penurunan kadar progesteron ini masih tidak jauh berbeda dengan yang dilaporkan oleh Girsh *et al.* (1995) yaitu penurunan kadar hormon progesteron mencapai 40% setelah pemberian $\text{PGF}_{2\alpha}$ pada korpus luteum umur 6-12 hari. Artinya $\text{PGF}_{2\alpha}$ produk sel monolayer vesikula seminalis masih mempunyai daya luteolitik pada sel luteal (Pemayun, 2007; Swiatkiewicz *et al.*, 2010).

SIMPULAN

Simpulan

$\text{PGF}_{2\alpha}$ produk sel monolayer vesikula seminalis yang disimpan selama dua bulan dan empat bulan pada suhu -4°C dan $+4^{\circ}\text{C}$, masih mampu menurunkan kadar hormon progesteron produk sel monolayer luteal.

Saran

Perlu dilakukan uji biologis untuk mengetahui daya kerja $\text{PGF}_{2\alpha}$ produk penelitian secara *in vivo*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dibiayai melalui Penelitian Hibah Bersaing Tahun Anggaran 2009/2010. Untuk itu kami mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian Masyarakat, DirJen Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional.

Terimakasih juga kami ucapkan kepada Laboratorium Fertilisasi *In Vitro* dan Endokrinologi FKH Unair atas segala fasilitas yang diberikan selama penelitian

DAFTAR PUSTAKA

- Alejandro CT, Abel VM, Jaime OP, Pedro SA. 2014, Environmental stress effect on animal reproduction. *J Anim Scis*, 4: 79-84.
- Bearden HJ, Fuquay J. 1992. *Applied Animal Reproduction*. Reston Publishing Company, Inc. A Prentice-Hall Company Reston, Virginia.
- Bylund J, Oliw EH. 2001. Cloning and characterization of CYP4F21: a prostaglandin E2 20-hydroxylase of ram seminal vesicles. *Arch Biochem Biophys*, 389(1): 123-129
- Daniel LS, Regina M, Botting, Timothy H. 2004. Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacol Rev*, 56: 387-437.
- Dhaliwal GS, Murray RD, Woldechiwet Z, 2001. Some aspects of immunology of the bovine uterus related to treatment for endometritis. *Anim Reprod Sci*, 15;67(3-4): 135-152.
- Dinka H. 2012. Reproductive performance of crossbred dairy cows under smallholder condition in Ethiopia, International. *J of Livestock Production* 3(3): 25-28.
- Dupont J, Maillard V, Cotral-Castel S, Rame C, Froment P. 2010, Ghrelin in female and male reproduction, hindawi publishing corporation. *Int J Peptides*, 2010: 1-8.
- Girsh E, Greber Y, Meidan R. 1995. Luteotrophic and luteolytic interactions between bovine small and large luteal-like cells and endothelial cells. *Biology Reprod*, 52: 954-962.
- Goff AK. 2004. Steroid hormone modulation of prostaglandin secretion in the ruminant endometrium during the estrous cycle. *Biology Reprod*, 71: 11-16.
- McDonald LE. 2000. *Veterinary Endocrinology and Reproduction*. 3rd Edition. Bailliere Tindall, London. Pp. 299-315.
- Milvae AR. 2000. Inter-relationships between endothelin and prostaglandin F2 alfa in corpus luteum function. *Rev Reprod*, 5: 1-5.
- Nebel RL, Jobst SM. 1998. Evaluation of systematic breeding program for lactating dairy cows: a Review. *Dairy Sci*, 8(4): 1169-74.
- Oguike MA, Okocha NL. 2008. Reproductive Performance of rabbits re-mated at different intervals post-partum, *African J Agric Res*, 3(6): 412-415.
- Okuda K, Miyamoto Y, Skarzynski DJ. 2002. Regulation of endometrial prostaglandin F (2alfa) synthesis during luteolysis and early pregnancy in cattle. *Domest Anim Endocrinol*, 23(1-2): 255-264.
- Pemayun TGO. 2007. Kadar prostaglandin F2 α pada cairan vesikula seminalis dan produk sel monolayer vesikula seminalis sapi bali. *J Vet*, 8(4): 167-172.
- Pemayun TGO, Mahaputra L, Soetjipto. 2008. Penurunan kadar progesteron kuda fase luteal pemberian prostaglandin F2 alfa hasil ekstraksi vesikula seminalis sapi bali. *J Vet*, 9(4): 163-167.
- Silvia WJ, Lewis GS, McCracken JA, Thatcher WW, Wilson L Jr. 2000. Hormonal regulation of uterine secretion of prostaglandin F2 alpha during luteolysis in ruminants. *Biology Reprod*, 45: 655-663.
- Swiatkiewicz S, Koreleski J, Arczewska A. 2010, Laying performance and

eggshell quality in laying hens fed diets supplemented with prebiotics and organic acids. *Czech J Anim Sci*, 7: 294–306.

Thacher WW, Morcira F, Pancarci SM, Bartolome JA, Santos JE. 2002. Strategies to optimize reproductive

efficiency by regulation of ovarian function. *Domest Anim Endocrinol*, 23(1-2): 243-254.

Webb RKJ, Woard, Armstrong DG. 2002. Corpus Luteum (CL) function: local control mechanisms. *Domest Anim Endocrinol*, 23(1-2): 277-285.