

Kadar dan Daya Luteolitik PGF₂α Produksi Sel Monolayer Vesikula Seminalis dan Endometrium Sapi Bali

(PROSTAGLANDIN F₂α CONCENTRATIONS OF BALI CATTLE ENDOMETRIAL AND SEMINAL VESICLE MONOLAYER CELLS CULTURE PRODUCTS AND ITS IN VITRO TEST ON LUTEAL MONOLAYER CELLS CULTURE)

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

¹Laboratorium Reproduksi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan,
Universitas Udayana Jalan Sudirman Denpasar, Bali
Telp.(0361) 8423062 Email: tjokrmass@yahoo.co.id

²Lab Fertilisasi in Vitro dan Endokrinologi,
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengukur kadar prostaglandin F₂α (PGF₂α) produk biakan sel *monolayer* endometrium dan vesikula seminalis sapi bali serta daya luteolitik *in vitro* pada biakan sel *monolayer* luteal. Sel epitel endometrium dan sel epitel vesikula seminalis dibiakan dalam *tissue culture medium* (TCM)199 + *fetal calf serum* (FCS) 10% dan *Estrus Mare Serum* (EMS)10%. Konsentrasi sel kultur adalah 1,9 x 10⁶, kemudian diinkubasikan pada temperatur 38,5^o C di bawah tekanan CO₂ 5% dengan masa inkubasi 12 hari. Kadar PGF₂α pada sel biakan, diukur dengan teknik *radioimmuassay* (RIA). Uji *in vitro* dilakukan pada sel *monolayer* luteal yang dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok I ditambahkan 10% produk sel *monolayer/flask* dan kelompok II ditambahkan 1,25 mg Dinoprost/ml *media/flask* masing-masing pada hari ke-9 masa inkubasi. Kadar progesteron diukur pada produk sel biakan luteal hari ke-9 dan ke-11. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar PGF₂α produk sel *monolayer* vesikula seminalis lebih tinggi (P < 0,05) daripada produk sel *monolayer* endometrium. Daya luteolitik tidak menunjukkan perbedaan yang nyata (P > 0,05) antara PGF₂α produk sel *monolayer* dengan Dinoprost®. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa PGF₂α dapat diproduksi melalui biakan sel *monolayer* endometrium dan vesikula seminalis sapi bali, dan PGF₂α produk *monolayer* memiliki daya luteolitik yang sama dengan Dinoprost®.

Kata Kunci; PGF₂α, vesikula seminalis, Endometrium, progesteron

ABSTRACT

The aims of this research were to determine PGF₂α concentration the produced by bali cattles endometrial and seminal vesicle *monolayer* cell culture and *in vitro* luteolytic ability on luteal *monolayer* cell culture. The endometrial and seminal vesicle epithelial cell of bali cattle were cultured in *tissue culture medium* (TCM) 199 growth medium supplemented with 10% fetal calf serum and 10% Estrus Mare Serum. The cells were cultured at 1.9 x 10⁶ density per ml medium. Then Followed by incubation at 38.5^o C in 5% CO₂ atmosphere for 12 days. The level of PGF₂α in the cell culture medium were assayed by Radioimmnuassay (RIA) technique. The luteal cells were cultured in 9 days incubation and divided into 2 groups. Group I were added with 10% of cell culture product and group II were added with 1,25 mg dinoprost/ml. The level of progesterone produced by luteal cell culture was measured at day 9th and 11th incubation. The result showed concentration of PGF₂α cell product of seminal vesicle cell culture was significantly higher (P < 0.05) compared to endometrial cell culture. There was no significant difference (P>0.05) in luteolytic ability between PGF₂α cell culture product and dinoprost. In conclusion, the PGF₂α could be produced by *monolayer* cell culture of bali cattle is endometrial and seminal vesicle epithelial cells more over they have similar ability with dinoprost in luteolytic ability.

Keywords: PGF₂α, Seminal Vesicle, Endometrial cell, Progesterone

PENDAHULUAN

Prostaglandin merupakan hormon lokal atau secara umum bukan merupakan hormon sistemik oleh karena mempunyai masa paruh yang pendek (Mayes, 1993). Pada awalnya, prostaglandin diperkirakan diproduksi dari kelenjar prostat. Namun sekarang diketahui bahwa bagian terbesar prostaglandin dalam cairan seminal disekresikan oleh kelenjar vesikula seminalis (Margolius *et al.*, 1987 ; Fallon dan Mary, 1999 ; Daniel *et al.*, 2004). Senyawa prostaglandin bersifat asam, larut dalam lemak dan merupakan turunan dari asam lemak tidak jenuh yang mengandung 20 atom C yang dihasilkan dari membran fosfolipid oleh aktivitas *phospholipase A₂ cyclooxygenase* dan prostaglandin *synthase* spesifik lainnya (Goff, 2004).

Endometrium dan kelenjar vesikula seminalis merupakan sumber PGF₂α, dan keduanya dilaporkan dapat dikembangkan melalui sel *monolayer*. Pada biakan sel endometrium sapi dilaporkan bahwa sel epitel dan sel stroma yang sangat besar peranannya dalam memproduksi prostaglandin baik PGE₂ maupun PGF₂α (Woclawek-Potocka *et al.*, 2005). Produksi PGF₂α pada endometrium sangat tergantung kepada spesies, hal ini berkaitan dengan panjang pendeknya siklus estrus. Dilaporkan pada sel endometrium babi yang dikultur pada hari X-XII dan hari XIV-XVI dari siklus estrusnya, sekresi PGF₂α tertinggi diperoleh pada hari 0-12 siklus estrus. Pada kultur jaringan endometrium monyet rhesus, produksi PGF₂α paling tinggi diperoleh pada hari ke-14 siklus estrus, dan mengalami penurunan pada hari ke-23 siklus estrus (Eldering *et al.*, 1993). Tingginya kadar PGF₂α pada pertengahan siklus estrus, berkaitan dengan regresi korpus luteum yang pada sapi terjadi pada hari XVI-XVII (Bearden dan Fuquay, 1992; Hafez, 2000 ; Leung *et al.*, 2001).

Beberapa peneliti telah mencoba mengkultur jaringan endometrium dengan menambahkan berbagai faktor penumbuh antara lain faktor protein dari *fetal calf serum* dan dilaporkan telah berhasil membentuk struktur multiseluler pada hari ke 4-5 (Fleming, 1995). Penambahan hormon pada kultur jaringan endometrium manusia seperti *dehydroepian-drosterone* sulfat, dilaporkan dapat meningkatkan sekresi PGF₂α dalam media Hams F-10 yang mengandung 10% *fetal*

calf serum (Markiewicz and Gurpide, 1998).

Vesikula seminalis adalah salah satu kelenjar asesoris pada saluran alat kelamin jantan. Pada berbagai spesies terdapat variasi yang sangat berbeda, baik mengenai ukuran maupun bentuk anatominya (Hafez, 2000). Beberapa peneliti telah melaporkan bahwa kelenjar vesikula seminalis mensekresikan PGF₂α. Semen manusia mengandung sejumlah besar prostaglandin yang diproduksi dari kelenjar vesikula seminalis dan telah dibuktikan dengan tinggi konsentrasinya pada kondisi vasektomi (Gonzales, 2001). Kadar PGF₂α pada cairan vesikula seminalis sapi bali yang diekstraksi rata-rata 1750,83 pg/ml (Pemayun, 2007). *Cell line* dari kelenjar vesikula seminalis tikus dilaporkan merupakan sumber prostaglandin E₂ (PGE₂) dan PGF₂α (Freyberger *et al.*, 1987). Selain prostaglandin, pada sekresi kelenjar vesikula seminalis juga telah diidentifikasi adanya *growth hormone* (Dyck *et al.*, 1999), dan beberapa enzim yang berperan dalam biosintesis PGF₂α seperti enzim prostaglandin endoperoxidase dan reduktase yang berfungsi mereduksi 2 elektron prostaglandin H₂ menjadi PGF₂α (Burgess dan Reddy, 1997).

Penelitian ini bertujuan untuk mengukur kadar PGF₂α produk sel *monolayer* vesikula seminalis dan endometrium sapi bali secara *in vitro* serta untuk mengetahui daya luteolitik PGF₂α produk penelitian pada sel monolayer luteal.

METODE PENELITIAN

Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah endometrium pada fase luteal dan korpus luteum sapi bali betina berumur 3 sampai 4 tahun, sudah pernah melahirkan 2 sampai 3 kali. Sampel berikutnya yaitu; kelenjar vesikula seminalis sapi bali jantan yang berumur 3 sampai 4 tahun dengan kisaran berat badan 300-350 kg. Sampel diambil dari Rumah Potong Hewan Pesanggaran Kodya Denpasar.

Kultur Sel Endometrium dan Sel Vesikula Seminalis

Endometrium dan kelenjar vesikula seminalis dididuci dengan *Phosphate Buffered Solution* (Sigma) steril, kemudian dengan bantuan spuit 2,5 ml, tripsin 0,125%

dimasukkan ke lumen uterus dan lumen kelenjar vesikula seminalis untuk melepaskan sel epitelnya. Ujung uterus dan ujung kelenjar vesikula seminalis diikat, kemudian diikubasikan pada suhu 32°C selama 10 menit. Sel epitel yang diperoleh dibiakkan pada *tissue culture medium* 199 (TCM 199) (Sigma) + *fetal calf serum* (FCM) (Sigma) 10% dan *Estrus Mare Serum* (EMS) 10%. Konsentrasi sel kultur yang dipakai adalah 1,9 x 10⁶/ml, kemudian suspensi sel dimasukkan kedalam *flask* biakan sel, selanjutnya dibiarkan di dalam inkubator pada suhu 38,5°C di bawah tekanan CO₂ 5% selama 12 hari. Pencucian / produksi sel diambil pada hari ke -3, -6, -9 dan ke -12.

Uji In Vitro

Uji in vitro daya luteolitik PGF₂α produk sel momolayer vesikula seminalis dan endometrium, menggunakan korpus luteum sapi bali. Sel korpus luteum diaspirasi menggunakan spoit 2,5 ml dan jarum 17 G yang sebelumnya sudah diisi PBS secukupnya. Cairan yang tertampung disentrifugasi dengan kecepatan 1000 g selama 10 menit, supernatan dibuang dan endapan atau *pellet* ditambahkan media pencuci oosit (*Oocyte Washing Solution*) dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 1000 g selama 10 menit. Supernatannya dibuang, sementara *pellet* yang diambil ditambah media TCM 199 dan FCS 10%. Konsentrasi sel kultur yang dipakai adalah 1,9 x 10⁶/ml, kemudian suspensi sel dimasukkan kedalam *flask* biakan sel, dan dibiarkan didalam 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. Selanjutnya biakan sel luteal dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok I ditambahkan 10% produk sel monolayer/*flask* dan kelompok II ditambahkan 1,25 mg PGF₂α (Dinoprost®, Lutalyse; Pharmacia & Upjohn Animal Health) /ml media/*flask*.

Pengukuran Kadar PGF₂α dan Hormon Progesteron

Untuk mengukur kadar PGF₂α dan hormon progesteron, digunakan teknik *radioimmunoassay* (RIA). PGF₂α produk sel *monolayer* endometrium dan vesikula seminalis yang diperoleh pada hari ke -6, dan hari ke -12, diukur menggunakan kit RIA *I-125* PGF₂α (Institute of Isotopes Co., LTD) dengan kepekaan uji 0,2 pg/ml, sementara itu kadar progesteron produk sel *monolayer* luteal pada hari ke -9

(sebelum perlakuan) dan hari ke -11 setelah perlakuan, diukur menggunakan kit RIA *I-125* progesteron (Institute of Isotopes Co., LTD) dengan kepekaan uji 0,1 ng/ml (Technical Reports Series, 1984).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar PGF₂α pada Produk Sel Monolayer Vesikula Seminalis dan Endometrium

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata kadar PGF₂α yang diperoleh pada produk sel *monolayer* vesikula seminalis adalah 1287,57±3,10; 135,29±1,70 pg/ml masing-masing untuk masa inkubasi 6 hari dan 12 hari, sedangkan rata-rata kadar PGF₂α pada produk sel *monolayer* endometrium adalah 40,00±0,82 ; 10,71±1,11 pg/ml masing-masing untuk masa inkubasi 6 hari dan 12 hari (Tabel 1.)

Rataan kadar PGF₂α yang diperoleh pada produk sel *monolayer* vesikula seminalis lebih tinggi daripada kadar PGF₂α pada produk sel *monolayer* endometrium dan secara statistika menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (P < 0,05). Rataan kadar PGF₂α pada masa inkubasi 6 hari lebih tinggi daripada kadar PGF₂α pada masa inkubasi 12 hari dan secara statistika menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (P < 0,01).

Rendahnya kadar PGF₂α pada produk sel *monolayer* endometrium, disebabkan adanya beberapa faktor yang memegang peranan penting dalam pelepasan/sekresi PGF₂α dari sel epitel endometrium. Seperti yang dilaporkan oleh Silvia *et al.*, (1991) bahwa pada ruminansia ada 3 hormon yang memegang peranan penting dalam mengatur sekresi PGF₂α pada endometrium yaitu oksitosin yang dihasilkan

Tabel 1. Rataan kadar PGF₂α produk sel *monolayer* vesikula seminalis dan endometrium sapi bali

Kelompok	Kadar PGF ₂ α (pg/ml)	
	Inkubasi 6 hari	Inkubasi 12 hari
MVS	1287,57 ± 3,10	135,29 ± 1,70
ME	40,00 ± 0,82	10,71 ± 1,11

Keterangan : MVS = Sel *Monolayer* Vesikula Seminalis
ME = Sel *Monolayer* Endometrium

oleh hipotalamus, progesteron yang dihasilkan oleh korpus luteum, dan estradiol yang dihasilkan oleh folikel ovarium. Oksitosin bekerja menstimulasi sekresi PGF₂α, sedangkan estrogen secara bersamaan dengan progesteron mengatur sekresi PGF₂α pada uterus dan secara bersamaan pula dilaporkan memodulasi ekspresi enzim yang diperlukan dalam sintesis prostaglandin (Kieborz *et al.*, 1991 ; Gross *et al.*, 1998). Dilaporkan pula bahwa peningkatan produksi PGF₂α pada sel epitel endometrium disebabkan adanya peranan estrogen dalam meningkatkan aktivitas PG *synthase* yang berperanan dalam biosintesis prostaglandin. Penambahan hormon estrogen pada kultur endometrium sapi dengan masa inkubasi 96 jam juga telah dilaporkan dapat menstimulasi sekresi PGF₂α, akan tetapi tidak berpengaruh terhadap konsentrasi reseptor estrogen (Mann, 2001).

Skarzynsky *et al.*, (2000) melaporkan bahwa selain hormon steroid, *tumor necrosis factor* (TNF) juga merupakan stimulator yang poten untuk sekresi PGF₂α pada sel stroma endometrium sapi, sebaliknya hormon oksitosin menstimulasi produksi PGF₂α pada sel epitel. Hal ini telah dibuktikan pada kultur sel endometrium sapi, ditemukan adanya beberapa reseptor spesifik TNF dalam konsentrasi yang tinggi pada hari ke -15 dan -17 siklus estrus (Miyamoto *et al.*, 2000). TNF berfungsi mengaktifkan enzim fosfolipase A₂ yang berperanan mengubah asam lemak (linolenat) menjadi asam arakhidonat yang merupakan prekursor prostaglandin (Skarzynsky *et al.*, 2000). Selain itu pelepasan PGF₂α dari endometrium juga berkaitan dengan kerja PGF₂α sebagai agen luteolitik, karena sekresi

PGF₂α sangat tergantung dari siklus estrus. Umumnya sekresi PGF₂α tertinggi terjadi pada akhir fase luteal (pada sapi hari ke -13 sampai ke -15 siklus estrus) (Shaw dan Britt, 2000). Sebaliknya tingginya kadar PGF₂α produk sel monolayer vesikula seminalis hasil penelitian, kemungkinan berkaitan dengan status reproduksi yang berbeda antara hewan betina dan hewan jantan. Kelenjar vesikula seminalis pada hewan jantan dilaporkan aktif secara terus menerus mensekresikan PGF₂α dan hal ini berhubungan dengan kehidupan spermatozoa. Seperti yang dilaporkan oleh Gonzales (2001) bahwa pada semen manusia dan domba mengandung sejumlah besar prostaglandin yang diproduksi glandula vesikula seminalis dan hal ini telah dibuktikan bahwa kadar prostaglandin tetap teridentifikasi dalam konsentrasi tinggi pada vasektomi, sehingga dapat disimpulkan bahwa kelenjar vesikula seminalis aktif secara terus menerus mensekresikan PGF₂α. Selain itu pada kelenjar vesikula seminalis juga telah diidentifikasi adanya enzim *cyclooxygenase 1* (COX 1) dalam konsentrasi tinggi (Simmon *et al.*, 2004) dan enzim ini berperanan dalam biosintesis prostaglandin atau dalam perubahan asam arakhidonat menjadi Prostaglandin G₂ (PGG₂) (Burgess dan Reddy, 1997).

Kadar Hormon Progesteron Uji *In Vitro* pada Sel *Monolayer* Luteal

Hasil uji luteolitik *in vitro* menunjukkan rata-rata kadar hormon progesteron adalah; pada PGF₂α produk sel *monolayer* 2,67 ± 2,33 ng/ml sebelum perlakuan dan 1,75 ± 1,61 ng/ml 48 jam setelah perlakuan, sedangkan rata-rata kadar hormon progesteron yang diperoleh pada dinoprost® adalah 2,71 ± 1,57 ng/ml sebelum

Tabel 2. Rataan kadar hormon progesteron pada produk sel *monolayer* luteal sapi bali

Kelompok	Kadar Hormon Progesteron (ng/ml)		
	0 jam	48 jam	Penurunan Kadar progesteron (%)
10% Produk Penelitian yang mengandung 1,746 x 10 ⁻⁶ mg PGF ₂ α /flask.	2,67 ± 2,33	1,75 ± 1,61	26,98
PGF ₂ α (Dinoprost) dosis 1,25 mg /flask	2,71 ± 1,57	1,44 ± 0,85	38

Keterangan : 0 jam = kadar hormon progesteron sebelum perlakuan
 48 jam = kadar hormon progesteron setelah perlakuan
 vs = vesikula seminalis

perlakuan dan $1,44 \pm 0,85$ ng/ml 48 jam setelah perlakuan (Tabel 2).

Hasil yang diperoleh dalam penelitian seperti yang dipaparkan pada Tabel 2. adalah kedua perlakuan mampu menurunkan kadar hormon progesteron yaitu rata-rata 26,98% dalam waktu 48 jam pada perlakuan PGF₂α produk penelitian dan 38% pada perlakuan dinoprost® dalam waktu 48 jam. Hal ini mencerminkan bahwa PGF₂α produk penelitian mampu melisis sel luteal dan secara statistik keduanya terlihat mengalami penurunan yang nyata ($P < 0,05$). Namun, penurunan kadar hormon progesteron terlihat tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) antara PGF₂α produk sel monolayer dengan dinoprost®.

Prostaglandin secara luas digunakan baik pada manusia maupun ternak. PGF₂α mempunyai aksi luteolisis atau meregresi korpus luteum pada ternak ruminansia (Auletta dan Flint, 1988; Silvia *et al.*, 1991; Ivanisevic-Milovanovic *et al.*, 1998; Meidan *et al.*, 1999; Milvae, 2000; Okuda *et al.*, 2002; Jaroszewski *et al.*, 2003). Hal ini telah dibuktikan pada kambing yang diberikan PGF₂α secara sistemik menyebabkan regresi korpus luteum yang dicerminkan dengan menurunnya kadar hormon progesteron sampai 60% dalam waktu 8 jam setelah pemberian PGF₂α (Towle *et al.*, 2002). Secara klinis, PGF₂α telah banyak digunakan untuk meregresi korpus luteum dan mestimulasi otot polos (Bearden dan Fuquay, 1992) dan induksi partus pada sapi perah yang mengalami gangguan reproduksi (Kask *et al.*, 2000). Penggunaan PGF₂α untuk tujuan sinkronisasi estrus juga secara luas telah digunakan dalam program *breeding* dan program transfer embrio (Nebel dan Jobst 1998). Kerja PGF₂α dalam meregresi korpus luteum juga dilaporkan oleh Mahaputra (1994) bahwa terjadi penurunan aktivitas korpus luteum sampai 36% dalam waktu 12 jam setelah penyuntikan PGF₂α dan penurunan kadar hormon progesteron mencapai 65,5% setelah 72 jam, hal ini dicerminkan dengan penurunan kadar hormon progesteron 12 jam setelah penyuntikan PGF₂α dari 1,24 ng/ml menjadi 0,79 ng/ml.

PGF₂α 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). Beberapa peneliti melaporkan peranan utama PGF₂α adalah meregresi korpus luteum pada beberapa spesies (Auletta dan Flint, 1988; Silvia *et al.*, 1991; Ivanisevic-Milovanovic, *et al.*, 1998; Meidan *et al.*, 1999; Milvae, 2000; Okuda *et al.*, 2002), akan tetapi telah dilaporkan bahwa PGF₂α hanya mampu meregresi korpus luteum yang berumur di atas 6 hari siklus estrus, sedangkan korpus luteum di bawah 6 hari kurang peka terhadap PGF₂α (Girsh *et al.*, 1995).

Secara *in vitro* juga dilaporkan bahwa PGF₂α mampu menurunkan kadar hormon progesteron mencapai 40% setelah pemberian PGF₂α pada korpus luteum umur 6 -12 hari (Girsh *et al.*, 1995). Injeksi langsung PGF₂α pada korpus luteum akan menyebabkan penurunan kadar hormon progesteron dan akan memperpendek fase luteal (Bennegard *et al.*, 1991). Sakamoto *et al.*, (1995) dan Wiltbank *et al.*, (1995) melaporkan bahwa PGF₂α mempunyai reseptor pada membran sel luteal yang kemudian ikatan PGF₂α pada reseptor membran akan meningkatkan konsentrasi kalsium bebas intraseluler dan menginaktifkan protein kinase C, sedangkan Diaz *et al.*, (2000) melaporkan penurunan kadar hormon progesteron mencapai 87% pada kultur sel luteal babi setelah pemberian PGF₂α (cloprostenol®). Menurut McCracken *et al.*, (1999) ada beberapa mekanisme seluler kerja PGF₂α terhadap penurunan hormon progesteron yaitu; menurunnya reseptor hormon luteotropik, menurunnya *uptake* seluler kolesterol sebagai prekursor hormon progesteron, menurunnya transport kolesterol melalui sel atau memasuki membran mitokondria, dan menurunnya aktivitas enzim yang diperlukan untuk biosintesis PGF₂α.

SIMPULAN

Kadar PGF₂α produk sel *monolayer* vesikula seminalis lebih tinggi dibandingkan dengan produk sel *monolayer* endometrium. Daya luteolitik *in vitro* PGF₂α produk sel *monolayer* sama dengan PGF₂α produk komersial (Dinoprost®).

SARAN

Untuk mengetahui efektivitas kerja PGF₂ α produk sel *monolayer*, perlu dilakukan penelitian lanjutan terhadap daya simpan dan uji biologis pada hewan coba.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai melalui Penelitian Hibah Bersaing Tahun Anggaran 2008/2009. Untuk itu kami mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional. Terima kasih juga kami ucapkan kepada Laboratorium Fertilisasi *In Vitro* dan Endokrinologi FKH Unair atas segala fasilitas yang diberikan selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Auletta FJ, Flint AP. 1988. Mechanisms controlling corpus luteum function in sheep, cows, nonhuman primates, and women especially in relation to the time of luteolysis. *Endocr Rev.* (9): 88 -105.
- Bearden HJ, Fuquay J. 1992. *Applied Animal Reproduction*. Virginia. Reston Publishing Company, Inc. A Prentice-Hall Company Reston. pp. 35 - 36 , 66.
- Bennegard B., Hahlin, M , Wennberg, E. 1991. Local luteolytic effect of prostaglandin F₂ alpha in the human corpus luteum. *Fertil. Steril* (56):1070–1076
- Burgess JR, Reddy CC. 1997. Isolation and characterization of an enzyme from sheep seminal vesicles that catalyzes the glutathion-dependent reduction of prostaglandin H₂ to prostaglandin F₂ α. *Biochem Mol Biol Int* 41(2):217-26
- Daniel LS, Regina M, Botting , Timothy Hla. 2004. Cyclooxygenase Isozymes: The Biology of Prostaglandin Synthesis and Inhibition. *Pharmacol. Rev* (56):387-437
- Diaz FJ, Crenshaw TD, Wiltbank MC. 2000. Prostaglandin F (2 alpha) induces distinct physiological responses in porcine corpora lutea after acquisition of luteolytic capacity. *Biol Reprod* 63(5): 1504 -12
- Dyck MK, Gagne D, Quellet M, Senechal JF, Belanger E, Lacroix D, Sirard MA, Pothier F. 1999. Seminal vesicle production and secretion of growth hormone into seminal fluid. *Nature Biotechnology* Vol. 17
- Eldering JA, Nay MG , Hoberg LM, Longcope C, McCracken JA. 1993. Hormonal regulation of endometrial prostaglandin F₂ alpha production during the luteal phase of the rhesus monkey. *Biol. Reprod.* 49: 809-815.
- Fallon S, Mary G. 1999. Tripping Lightly Down the Prostaglandin Pathways. Articles Price-Pottenger Nutrition Foundation at info@price-pottenger.org.
- Fleming H. 1995. Differentiation in human and endometrial cells in monolayer culture: dependence on a factor in fetal bovine serum. *J. Cell Biochem* 57: 262-270
- Freyberger A, Schnitzler R, Schiffmann D, Degen GH. 1987. Prostaglandin-H-synthase competent cells derived from ram seminal vesicles: a tool for studying cooxidation of xenobiotics. *Mol Toxicol* 1: 503-12.
- Gonzales GF. 2001. Function of seminal vesicles and their role on male fertility. *Asian J. Androl* 3: 251-258
- Goff AK. 2004. Steroid Hormon Modulation of Prostaglandin Secretion in the Ruminant Endometrium During the Estrous Cycle. *Biol Reprod* 71: 11-16
- Girsh E., Greber Y, Meidan R. 1995. Luteotrophic and luteolytic interactions between bovine small and large luteal-like cells and endothelial cells. *Biol Reprod* 52: 954-962
- Gross TS, Lacroix MC , Bazer FW, Thatcher WW, Harney JP. 1998. Prostaglandin secretion by perfused porcine endometrium: further evidence for an endocrine versus exocrine secretion of prostaglandins. *Prostaglandins.* 35: 327–341.
- Hafez ESE. 2000. *Anatomy of Male Reproduction*. "In Reproduction in Farm Animals". Hafez (7th ed.). Lippincott William & Wilkins. A Wolter Kluwer Company. pp.8-9
- Ivanisevic-Milovanovic OK, Demajo MA, Karakasevic AM, Pantic VR. 1998. Regulation of ovarian hyperluteinization. *Ital. J Anat Embryol* 103 (4 Suppl 1):213-225.

- Jaroszewski JJ, Skarzynski DJ, Hansel W. 2003. Nitric Oxide as a Local Mediator of Prostaglandin F₂ alpha – Induced Regression in Bovine Corpus Luteum: An In Vivo Study. *Exp Biol Med* 228: 1057-1062
- Kask K, Gustafsson H, Gunnarsson A, Kindahl H. 2000. Induction of parturition with prostaglandin F₂ alpha as a possible model to study impaired reproductive performance in the dairy cow. *Anim Reprod Sci* ;59(3-4):129-139
- Kieborz KR, Silvia WJ, Edgerton LA. 1991. Changes in uterine secretion of prostaglandin F₂ and luteal secretion of progesterone in response to oxytocin during the porcine estrous cycle. *Biol Reprod* 45:950-954
- Leung ST, Cheng Z, Sheldrick EL, Derecka K, Flint APF, Wathes DC. 2001. The effect of lipopolysaccharide and interleukins- 1?, -2 and -6 on oxytocin receptor expression and prostaglandin production in bovine endometrium. *J Endocrinol* 168: 497-508.
- Mahaputra L. 1994. Application of radioisotope to monitor corpora lutea activity following injection with PGF₂ alfa in cow. Proc. 7AAAP Animal Science Cong. July 11-16, Bali Indonesia.
- Margolius HS, Halushka PV, Frolich JC. 1987. *Prostaglandin, Kallikreins and Kinins, and Bartter's Syndrome*. In (Philip Felig, M.D., at al.) *Endocrinology and Metabolism*. Second ed. McGraw-Hill Book Company. pp. 1768-1789.
- Markiewicz L, Gurbide E. 1988. C19 adrenal steroids enhance prostaglandin F₂ alpha output by human endometrium in vitro. *AM J Obstet Gynecol* 59:500-504.
- Mayes PA. 1993. *Metabolism of Unsaturated Fatty Acids & Eicosanoids In" Biochemistry"* Harpers (20th ed). Prentice-Hall International Inc. pp.236-238
- Miyamoto Y, Skarzynski DJ, Okuda K. 2000. Is Tumor Necrosis Factor a Trigger for the Initiation of Endometrial Prostaglandin F₂ Release at Luteolysis in Cattle?. *Biol. Reprod* 62: 1109-1115.
- Mann GE. 2001. Hormone control of prostaglandin F(2 alpha) production and oxytocin receptor concentrations in bovine endometrium in explant culture. *Domest Anim. Endocrinol* 20(3):217-26.
- McCracken JA, Custer EE, Lamsa JC. 1999. Luteolysis: A Neuroendocrine-Mediated Event. *Physiological Rev.* 79 (2): 263-323
- Meidan R, Milvae RA, Weiss S, Levy N, Friedman A. 1999. Intraovarian regulation of luteolysis. *J Reprod Fertil Suppl* 52:217-228
- Milvae RA. 2000. Inter-relationships between endothelin and prostaglandin F₂ alpha in corpus luteum function. *Rev Reprod* 5(1): 1-5.
- Nebel RL, Jobst SM 1998. Evaluation of systematic breeding program for lactating dairy cows: a Review. *Dairy Sci* 8(4): 1169-1174.
- Okuda K, Miyamoto Y, Skarzynski DJ. 2002. Regulation of endometrial prostaglandin F (2alfa) syntesis 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 Veteriner.* 8(4):167-172
- Sakamoto K, Miwa K, Ezashi T. 1995. Expression of mRNA encoding the prostaglandin F2 alpha receptor in bovine corpora lutea throughout the oestrous cycle and pregnancy. *J Reprod Fertil* 103, 99 -105.
- Shaw DW, Britt JH. 2000. In Vivo Oxytocin Release from Microdialyzed Bovine Corpora Lutea During Spontaneous and Prostaglandin-Induced Regression. *Bio Reprod* 62: 726 -730
- Silvia WJ, Lewis GS, McCracken JA, Thatcher WW, Wilson Jr L. 1991. Hormonal regulation of uterine secretion of prostaglandin F2 alpha during luteolysis in ruminants. *Biol Reprod* 45: 655-663
- Simmon DL, Regina MB, Timothy Hla. 2004. Cyclooxygenase Isozymes: The Biology of Prostaglandin Synthesis and Inhibition. *Pharmacol. Rev.* 56:387-437.
- Skarzynsky DJ, Miyamoto Y, Okuda K. 2000. Production of Prostaglandin F₂ á by Cultured Bovine Endometrial Cells in Response to Tumor Necrosis Factor: Cell Type Specificity and Intracellular Mechanisms. *Biol. Reprod.* 62: 116-1120
- Technical Reports Series, 1984. *Laboratory Training Manual on Radioimmunoassay in Animal Reproduction*. International Atomic Energy Agency Vienna. Pp. 79-83

- Towle TA, Tsang PC, Milvae RA, Newbury MK, McCracken JA. 2002. Dynamic in vivo changes in tissue inhibitors of metalloproteinases 1 and 2, and matrix metalloproteinases 2 and 9, during prostaglandin F(2alpha)-induced luteolysis in sheep. *Biol. Reprod.* 66(5):1515-1521.
- Webb R, Woard KJ, Armstrong DG. 2002. Corpus Luteum (CL) function: local control mechanisms. *Domest Anim Endocrinol.* 23: 277-285
- Wiltbank MC, Shiao TF, Bergfelt DR. 1995. Prostaglandin F2 alpha receptors in the early bovine corpus luteum. *Biol Reprod* 52:74-78.
- Woclawek-Potocka I, Tomas JA, Anna K, Mamadou MB, Masami S, Kiyoshi O, Dariusz JS. 2005. Phytoestrogens Modulate Prostaglandin Production in Bovine Endometrium: Cell Type Specificity and Intracellular Mechanisms. *Exp Biol Med* 230: 326-333.