

Kadar Prostaglandin F₂α pada Cairan Vesikula Seminalis dan Produk Sel *Monolayer* Vesikula Seminalis Sapi Bali

(CONCENTRATIONS OF PROSTAGLANDIN F₂α IN SEMINAL VESICLE FLUID AND PRODUCT OF SEMINAL VESICLE MONOLAYER CELLS OF BALI CATTLE)

Tjok Gde Oka Pelayun

*Laboratorium Reproduksi VeterinerFakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana,
Jalan Sudirman Denpasar, telepon:(0361) 8423062 Email : tjokormas@yahoo.com*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar Prostaglandin F (PGF)₂ α pada cairan vesikula seminalis dan produk sel *monolayer* vesikula seminalis, baik sebelum diekstraksi maupun setelah ekstraksi. Cairan dalam vesikula seminalis diambil dengan cara aspirasi menggunakan spuit sedangkan produk sel *monolayer* diperoleh dengan mengkultur sel epitel vesikula seminalis pada *tissue culture medium* (TCM)199 yang mengandung 10% *foetal calf serum* (FCS) dan 10% *oestrous mare serum* (EMS). Sel dikultur dengan konsentrasi 1,9 x 10⁶ /ml dan masa inkubasi 6 hari pada suhu 38,5^o C dengan 5% CO₂. Kadar PGF₂ α dalam cairan vesikula seminalis dan kultur sel *monolayer* vesikula seminalis kemudian diukur dengan teknik *radioimmunoassay* (RIA). Rataan kadar PGF₂ α pada produk sel *monolayer* vesikula seminalis tanpa ekstraksi (1287,50 ± 3,39 pg/ml) secara bermakna lebih tinggi daripada kadar PGF₂ α pada cairan vesikula seminalis tanpa ekstraksi (1,23 ± 0,79. pg/ml). Sebaliknya, kadar PGF₂ α pada produk sel *monolayer* vesikula seminalis setelah ekstraksi (218,33 ± 2,87 pg/ml) secara bermakna lebih rendah jika dibandingkan dengan kadar PGF₂ α pada cairan vesikula seminalis setelah ekstraksi (1750,83 ± 2,71 pg/ml)). Kadar PGF₂ α tertinggi diperoleh dari cairan vesikula seminalis yang diekstraksi.

Kata Kunci: Vesikula Seminalis, PGF₂ α, Sapi Bali

ABSTRACT

In this study, the concentration of prostaglandin F₂ α (PGF₂α) in seminal vesicle fluid and seminal vesicle monolayer cell cultures of Bali cattle was determined. The seminal vesicle fluid was aspirated and the epithelial cells of the seminal vesicles were cultured in tissue culture medium (TCM) 199 growth medium containing 10% fetal calf serum (FCS) and 10% oestrus mares serum (EMS) with a density of 1.9 x 10⁶ cells / ml medium. Following an incubation at 38.5^o C in 5% CO₂ atmosphere for 6 days and the level of PGF₂ α in the original seminal vesicle fluid and in the cell culture medium were determined by radioimmunoassay techniques (RIA). The results showed that the level of PGF₂ α in the non-extracted monolayer culture of seminal vesicle (1287,50 ± 3,39 pg/ml) was significantly higher than that of detected in non-extracted seminal vesicle fluid (1,23 ± 0,79 pg/ml). In contrast, after extraction the level of PGF₂ α in seminal vesicle monolayer cell cultures (218,33 ± 2,87 pg/ml) significantly decreased as compared to seminal vesicle fluid (1750,83 ± 2,71 pg/ml). In conclusion the highest level of PGF₂ α was found in the extract of seminal vesicle fluid.

Keywords: Seminal Vesicle, PGF₂ α, Bali Cattle

PENDAHULUAN

Prostaglandin merupakan hormon lokal (bukan sistemik) karena mempunyai masa paruh yang pendek (Mayes, 1993 ; Brandt, 2000). Nama prostaglandin diberikan oleh Von Euler pada tahun 1936, karena diduga

diproduksi oleh kelenjar prostat. Namun, sekarang diketahui bahwa bagian terbesar prostaglandin dalam cairan seminal disekresikan oleh kelenjar vesikula seminalis (Margolius *et al.*, 1987 ; Fallon and Mary, 1999 ; Daniel *et al.*, 2004). Senyawa prostaglandin bersifat asam, larut dalam

pelarut 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).

Fungsi alami Prostaglandin F (PGF)₂ α adalah untuk mengontrol siklus estrus, estrus, transportasi ovum, transportasi spermatozoa dan kelahiran. Secara klinis, PGF₂ α telah digunakan secara luas, baik pada manusia maupun di bidang peternakan. PGF₂ α mempunyai sifat luteolisis yaitu dapat meregresi korpus luteum pada ternak ruminansia (Auletta and 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), dan mengontrol aktivitas ovarium pada sapi (Diskin *et al.*, 2001 ; Goff, 2004 ; Wocklawek-Potocka *et al.*, 2005). PGF₂ α juga telah banyak digunakan untuk menginduksi partus pada sapi perah yang mengalami gangguan reproduksi (Kask *et al.*, 2000), bahkan Dhaliwal *et al.* (2001) merekomendasikan penggunaan PGF₂ α untuk pengobatan endometritis pada sapi, baik yang *non-cycling* maupun *cycling*.

Beberapa organ atau jaringan telah dilaporkan dapat mensekresikan PGF₂ α adalah endometrium (Binelli *et al.*, 2001 ; Thacher *et al.*, 2002 ; Goff, 2004), kelenjar prostat dan kelenjar vesikula seminalis (Freyberger *et al.*, 1987 ; Klein and Stoff, 1987 ; Kirschenbaum *et al.*, 2000 ; Gonzales, 2001 ; Daniel *et al.*, 2004). Prostaglandin yang telah diisolasi pada cairan vesikula seminalis adalah 19-hydroxy-E₂ dan 19-hydroxy-E₁ (Bylund and Oliw, 2001) dengan konsentrasi tertinggi dijumpai pada domba dan manusia yaitu 50 sampai 100 ug/ml serta konsentrasi lebih rendah dijumpai pada sapi jantan (Margolius *et al.*, 1987). Selain itu, prostaglandin juga telah diisolasi pada cairan semen yang diduga berperan dalam mengatur pola kontraksi uterus atau oviduk (Garner and Hafez, 2000 ; Daniel *et al.*, 2004), dan pada cairan menstruasi (Hofer *et al.*, 1993).

Vesikula seminalis adalah salah satu kelenjar asesoris pada saluran alat kelamin jantan. Ukuran dan anatominya sangat bervariasi di antara berbagai spesies hewan.

(Hafez, 2000). Beberapa peneliti melaporkan bahwa kelenjar vesikula seminalis mensekresikan PGF₂. Semen manusia mengandung sejumlah besar prostaglandin yang diproduksi dari kelenjar vesikula seminalis dan telah dibuktikan teridentifikasi dalam konsentrasi tinggi pada vasektomi (Gonzales, 2001). Kultur sel lestari dari kelenjar vesikula seminalis tikus juga dilaporkan sebagai sumber prostaglandin E₂ (PGE₂) dan PGF₂ α (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 PGF₂ α seperti enzim prostaglandin endoperoksidase dan reduktase yang berfungsi mereduksi 2 elektron prostaglandin H₂ menjadi PGF₂ α (Burgess and Reddy, 1997). Kerana itu, pengetahuan tentang kemungkinan penggunaan kultur sel asal kelenjar vesicularis sapi jantan sebagai sumber PGF₂α

METODE PENELITIAN

Sampel Penelitian

Dalam penelitian ini dipakai vesikula seminalis sapi Bali jantan yang berumur 3 sampai 4 tahun dengan kisaran berat badan 300 - 350 kg. Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 6 pasang kelenjar vesikula seminalis sapi Bali

Pengambilan Cairan Vesica Seminalis

Cairan vesikula seminalis diambil dengan cara aspirasi melalui salurannya menggunakan *sputite* 1 ml. Cairan yang diperoleh selanjutnya dimasukkan ke dalam *vial* dan disimpan pada temperatur - 4^o C sampai saat digunakan.

Penyiapan Kultur sel epitel Vesicula seminalis

Sel epitel dari vesikula seminalis dibiakkan pada *tissue culture medium* (TCM 199) + *fetal calf serum* (FCS) 10% dan *Estrus Mare Serum* (EMS) 10%. Konsentrasi sel dalam kultur adalah 1,9 x 10⁶ /ml dan diinkubasi selama 6 hari pada suhu 38,5^o C dengan kadar CO₂ 5%. Produk sel dicuci pada hari ke -3 dan ke -6.

Penentuan Kadar Prostaglandin F₂α

Kadar PGF₂ α baik dalam cairan vesikula seminalis maupun dalam produk sel *monolayer* hari ke -6, sebelum dan setelah diekstraksi diukur dengan teknik *radio-immunoassay* (RIA) dengan kepekaan uji 0,2 pg/ml (Technical Reports Series, 1984). Cairan vesikula seminalis dan cairan produk sel *monolayer* diekstraksi dengan menggunakan metanol dengan perbandingan 1 : 5 (1 cc sampel : 5 cc metanol). Sampel yang sudah tercampur dengan metanol divorteks selama 3 menit dan didiamkan selama 30 menit, kemudian supernatannya dikoleksi dan dikeringkan dengan proses penguapan dalam *water bath* pada suhu 50⁰ C dengan hembusan udara dari *blowing pump*.

Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak

lengkap (RAL) 4 kelompok perlakuan dan setiap kelompok terdiri atas 6 kali ulangan. Data yang diperoleh dari penelitian ini diuji dengan analisis varian (Anova) dan bila ada perbedaan yang bermakna, analisis dilanjutkan dengan uji *Duncan*. Proses pengolahan data dilakukan dengan program SPSS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rataan kadar PGF₂ α pada produk sel *monolayer* vesikula seminalis yang tanpa ekstraksi, produk sel *monolayer* vesikula seminalis dengan ekstraksi, cairan vesikula seminalis tanpa ekstraksi dan cairan vesikula seminalis dengan ekstraksi berturut-turut adalah 1287,50 ± 3,39 ; 218,33 ± 2,87 ; 1,23 ± 0,79 dan 1750,83 ± 2,71 pg/ml (Tabel 1).

Tabel 1. Rataan kadar PGF₂ α (pg/ml) pada produk sel *monolayer* vesikula seminalis dan pada cairan vesikula seminalis.

Kelompok	Kadar PGF ₂ α pada Cairan Vesikula Seminales	Kadar PGF ₂ α pada Produk Sel <i>Monolayer</i> Vesikula Seminalis
Tanpa ekstraksi	1,23 ± 0,79 ^a	1287,50 ± 3,39 ^b
Ekstraksi	1750,83 ± 2,71 ^c	218,33 ± 2,87 ^d

Keterangan : - Data = rata-rata ± SD

- Huruf yang berbeda pada baris dan kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna

Tabel di atas menunjukkan bahwa kadar PGF₂ α pada produk sel *monolayer* vesikula seminalis tanpa ekstraksi lebih tinggi daripada kadar PGF₂ α pada cairan vesikula seminalis tanpa ekstraksi. Sebaliknya, setelah diekstraksi ada kecenderungan bahwa kadar PGF₂ α pada cairan vesikula seminalis yang diekstraksi lebih tinggi daripada kadar PGF₂ α pada produk sel *monolayer* vesikula yang diekstraksi.

Hasil ini membuktikan bahwa kelenjar vesikula seminalis merupakan sumber yang baik untuk memproduksi PGF₂

α. PGF₂ α terlacak, baik pada cairan vesikula seminalis maupun dari produk sel *monolayer* vesikula seminalis sebelum dan setelah ekstraksi. Namun, kadar PGF₂ α pada cairan vesikula seminalis ternyata lebih tinggi daripada kadar PGF₂ α produk sel *monolayer* vesikula seminalis (P < 0,05). Tingginya kadar PGF₂ α pada cairan vesikula seminalis mungkin disebabkan karena secara alami populasi sel pada kelenjar vesikula seminalis lebih tinggi daripada populasi sel pada kultur sel epitel sehingga kadar PGF₂ α pada cairan vesikula seminalis lebih tinggi

daripada kadar $\text{PGF}_2\alpha$ pada produk sel *monolayer* vesikula seminalis.

Perbedaan kadar $\text{PGF}_2\alpha$ juga terlihat setelah diekstraksi dengan metanol baik pada cairan vesikula seminalis maupun pada produk sel *monolayer*. Kadar $\text{PGF}_2\alpha$ pada cairan vesikula seminalis lebih tinggi setelah diekstraksi yang sebelumnya rataannya adalah 1,27 pg/ml. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yaitu pemberian 20 cc cairan vesikula segar (tanpa ekstraksi) pada kuda fase luteal tidak memberikan respon, sebaliknya pemberian 20 cc ekstrak cairan vesikula seminalis sapi Bali pada kuda fase luteal dapat meregresi korpus luteum yang dicerminkan dari penurunan hingga 74% kadar hormon progesteron serum dalam kurun waktu 24 jam. Hal ini mengindikasikan bahwa tingginya kadar $\text{PGF}_2\alpha$ pada ekstrak cairan vesikula seminalis (Mahaputra dan Pemayun, 2004). Hasil berbeda diperoleh pada kadar $\text{PGF}_2\alpha$ dari produk sel *monolayer* vesikula seminalis setelah diekstraksi, justru lebih rendah yaitu dari 1287,50 pg/ml menjadi 218 pg/ml.

Rendahnya kadar $\text{PGF}_2\alpha$ pada cairan vesikula seminalis sebelum diekstraksi pada penelitian ini, kemungkinan disebabkan karena banyaknya protein yang terkandung dalam cairan vesikula seminalis itu sendiri, sehingga menyebabkan terganggunya reseptor $\text{PGF}_2\alpha$ pada sel luteal. Kelenjar vesikula seminalis secara *in vivo* dilaporkan menghasilkan banyak protein seperti protein SV1, SV2, SV3 dan SV4 yang pelepasannya dipengaruhi oleh hormon androgen (Norvitch *et al.*, 1991), sehingga kemungkinan protein yang terdapat dalam cairan vesikula seminalis akan mengganggu reseptor $\text{PGF}_2\alpha$ pada sel luteal, sedangkan metanol yang digunakan sebagai ekstraksi dapat mengendapkan protein, sehingga protein akan terpisah dengan $\text{PGF}_2\alpha$ yang mempunyai berat molekul lebih rendah atau berada pada supernatan. Sedangkan pada produk sel *monolayer* vesikula seminalis, selain populasi selnya lebih sedikit dan kemungkinan jumlah protein yang dihasilkan lebih sedikit sehingga tidak mengganggu reseptor $\text{PGF}_2\alpha$ pada sel luteal. Namun sebaliknya rendahnya kadar $\text{PGF}_2\alpha$ pada produk sel *monolayer* vesikula seminalis setelah diekstraksi, sampai saat ini

belum pernah dilaporkan dan perlu dikaji lebih lanjut.

SIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa $\text{PGF}_2\alpha$ dapat terdeteksi baik dalam cairan vesikula seminalis sebelum dan setelah diekstraksi dengan kadar tertinggi diperoleh pada cairan vesikula seminalis yang diekstraksi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pemulis mengucapkan terima kasih atas bantuan dana BPPS, Dana Penelitian Fundamental 2004, dan Lab Endrokinologi-Invitro Fertilisasi FKH Unair yang membuat penelitian ini dapat dilaksanakan

DAFTAR PUSTAKA

- Auletta FJ, Flint AF. 1988. Mechanisms controlling corpus luteum function in sheep, cows, nonhuman primates, and women especially in relation to the time of luteolysis. *Endocrinol Rev* 9, 88-105.
- Bearden HJ, Fuquay J. 1992. *Applied Animal Reproduction*. Reston Publishing Company, Inc. A Prentice-Hall Company Reston, Virginia. pp. 35 - 36, 66
- Binelli M, Thatcher WW, Mattos R, Baruselli, PS. 2001. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. *Theriogenology* 56 :1451-63.
- Brandt M. 2000. Prostaglandin Biosynthesis. <http://www.aw.com/mathews/ch19pb.htm>
- Burgess JR, Reddy CC. 1997. Isolation and characterization of enzyme from sheep seminal vesicles that catalyzes the glutathion-dependent reduction of prostaglandin H_2 to prostaglandin $\text{F}_2\alpha$. *Biochem Mol Biol Int.*41:217-26.
- Bylund J, Oliw EH. 2001. Cloning and characterization of CYP4F21: a prostaglandin E2 20-hydroxylase of ram seminal vesicles. *Arch. Biochem Biophys* 1:389 ; 123-9
- Daniel LS, Regina M, Botting, Timothy Hla, 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): 135-52.
- Diskin MG, Austin EJ, Roche JF. 2002. Eksogenes hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Domest Anim Endocrinol.* 23:211-28
- 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 Biotechnol.* 17
- Fallon S, Mary G. 1999. Tripping Lightly Down the Prostaglandin Pathways. *Articles Price-Pottenger Nutrition Foundation* at info @price-pottenger.org.
- 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.
- Garner DL, Hafez ESE. 2000. *Spermatozoa and Seminal Plasma*. "In *Reproduction in Farm Animals*". Hafez and Hafez (7th ed.). Lippincott William & Wilkins. A Wolter Kluwer Company. pp.107
- Goff AK. 2004. Steroid Hormon Modulation of Prostaglandin Scretion in the Ruminant Endometrium During the Estrous Cycle. *Biol Reprod.* 71, 11-16
- Gonzales GF. 2001. Function of seminal vesicles and their role on male fertility. *Asian J Androl* 3:251-258.
- 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
- Hofer G, Bieglmayer C, Kopp B, Janishch H. 1993. Measurement of eicosanoids in menstrual fluid by the combined use of high pressure chromatography and radioimmunoassay. *Prostaglandin* 45:413-426
- 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. *Experiment Biol and 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* 59:129-139
- Kirschenbaum A, Dara RL, Shen Y, et al. 2000. Immunohistochemical Localization of Cyclooxygenase-1 and Cyclooxygenase-2 in the Human Fetal and Adult Male Reproductive Tracts. *J Clin Endocrinol & Metab* 85: 3436-3441
- Klein LA, Stoff JS. 1987. Prostaglandin synthesis is independent of androgen levels in rat male genitalia. *J Lab Clin Med* 109:402-408.
- Mahaputra L, Pemayun TGO. 2004. Daya luteolitik cairan vesikula seminalis sapi Bali yang diekstraksi pada kuda betina fase luteal (In Press).
- Margoliush HS, Halushka PV, Frolich JC. 1987. *Prostaglandin, Kallikreins and Kinins, and Barter's Syndrome*. In (Philip Felig, M.D., et al.) *Endocrinology and Metabolism*. Second ed. McGraw-Hill Book Company. pp. 1768-1789
- Mayes PA. 1993. *Lipid of Physiologic Significance*. In "Biochemistry" Harpers (20th ed). Prentice-Hall International Inc. pp.142-143
- 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: 1-5.
- Norvitch M, Harvey S, Hgstrom J, Toft J, Wieben E. 1991. Post-Transcriptional Regulation of Scretory Protein Production during the Development of the Guinea Pig Seminal Vesicle. *Biol Reprod* 45, 797-803
- Okuda K, Miyamoto Y, Skarzynski DJ. 2002. Regulation of endometrial prostaglandin F₂ (2 alpha) syntesis during luteolysis and early pregnancy in cattle. *Domest Anim Endocrinol* 23:255-264.
- Technical Reports Series, 1984. *Laboratory Training Manual on Radioimmunoassay in Animal Repro-*

- Thacher WW, Morcira F, Pancarci SM, Bartolome JA, Santos JE. 2002. Strategies to optimize reproductive efficiency by regulation of ovarian function. *Domest Anim Endocrinol* 23:243-254.
- 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 Mechanism. *Exper Biol and Med* 230:326-333.