

Penurunan Kadar Progesteron Kuda Fase Luteal Setelah Pemberian Prostaglandin $F_2\alpha$ Hasil Ekstraksi Vesikel Seminalis Sapi Bali

(REDUCTION OF PROGESTERONE LEVEL OF MARE IN LUTEAL PHASE
FOLLOWING TREATMENT WITH PROSTAGLANDINE $F_2\alpha$
EXTRACTED FROM VESICLE SEMINALIS FLUID OF BALI CATTLE)

Tjok Gde Oka Pemayun¹, Laba Mahaputra², Ismudiono², Soetjipto³

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

²Lab Kebidanan dan Endokrinologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga,
Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya

³Lab Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya
Kampus A Unair, Surabaya

ABSTRACT

The aim of this study is to determine the response of $PGF_2\alpha$ extracted from bali cattle seminal fluid on the level of progesterone which are in mares in their luteal phase. Seminal vesicle fluid was aspirated from bali cattle seminal vesicle gland and then extracted with methanol. Experimental animals (mares) were grouped into two : (i) group-one, animals received the extracted $PGF_2\alpha$ intra uterine, and group-two animals were given Dinoprost ($PGF_2\alpha$ /Lutalyse) intra uterine, respectively. The level of progesterone was detected using radioimmunoassay (RIA) technique prior the treatment and at 24, 48 and 72 hours after the $PGF_2\alpha$ treatment. Result of this study showed that the $PGF_2\alpha$ extracted from bali cattle seminal vesicle fluid were able to reduce the progesterone level up to 73.03% within 24 h and up to 92.79% within 48 h, respectively. In comparison, the commercial $PGF_2\alpha$ were able to reduce the progesterone level up to 76.07% and 93.69% within 24 h and 48 h, respectively. However, statistically there were no significant difference between the response of the extracted $PGF_2\alpha$ and the commercial $PGF_2\alpha$ in reducing the progesterone level. In conclusion $PGF_2\alpha$ extracted from bali cattle seminal vesicle fluid is able to reduce the progesterone level at mares in the luteal phase and that it has a similar response to the commercial $PGF_2\alpha$.

Keywords : seminal vesicle, $PGF_2\alpha$, progesterone, luteal phase

PENDAHULUAN

Dalam upaya meningkatkan efisiensi dan penanganan beberapa kasus reproduksi pada ternak, maka keberadaan prostaglandin $F_2\alpha$ ($PGF_2\alpha$) sangat diperlukan. Secara luas $PGF_2\alpha$ sudah digunakan baik pada manusia mau pun pada hewan. Peranan $PGF_2\alpha$ adalah luteolisis atau mereresi korpus luteum pada ternak (Arosh *et al.*, 2006 ; 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 $PGF_2\alpha$ secara sistemik menyebabkan regresi korpus luteum, ditandai dengan menurunnya kadar hormon progesteron sampai 60% dalam waktu 8 jam setelah pemberian $PGF_2\alpha$ (Towle *et al.*, 2002). Fungsi alami $PGF_2\alpha$ adalah mengontrol siklus estrus, estrus, transport ovum, transport spermatozoa dan kelahiran. Secara klinis $PGF_2\alpha$ telah banyak digunakan

untuk mereresi korpus luteum dan mestimulasi otot polos (Bearden dan Fuquay, 1992). Fungsi lain $PGF_2\alpha$ dilaporkan membantu proses ovulasi pada biri-biri dan sapi (Goff, 2004), mengontrol aktivitas ovarium, dan mengatur siklus estrus pada sapi (Diskin *et al.*, 2002 ; Goff, 2004 ; Wocklawek-Potocka *et al.*, 2005). Kelahiran juga dapat diinduksi dengan penyuntikan $PGF_2\alpha$, hal tersebut akan menyebabkan turunnya kadar progesteron dalam waktu 8 jam setelah penyuntikan $PGF_2\alpha$ dan menyebabkan kontraksi uterus yang kemudian diikuti dengan kelahiran (Taverne *et al.*, 2002). Kerja $PGF_2\alpha$ dalam mereresi korpus luteum juga dilaporkan oleh Mahaputra (1994) bahwa terjadi penurunan aktivitas korpus luteum sampai 36% dalam waktu 12 jam dan 65,5% dalam waktu 24 jam setelah penyuntikan $PGF_2\alpha$. Dilaporkan pula bahwa penurunan kadar progesteron pada kerbau terjadi dalam waktu 24 jam setelah pemberian $PGF_2\alpha$ (*cloprostenol*) dengan dosis 500 μ g melalui intra muskuler (Chohan, 1998).

Kelenjar vesikula seminalis mensekresikan prostaglandin dan merupakan sepasang kelenjar berlobulus yang terletak pada bagian lateral duktus deferent (Hafez, 2000). Perkembangan vesikula seminalis diatur oleh hormon androgen. Hal tersebut telah dibuktikan bahwa pada manusia, meningkatnya kadar hormon testosteron diikuti dengan meningkatnya aktivitas sekresi vesikula seminalis. Kondisi yang sama juga dilaporkan pada tikus yaitu meningkatnya kadar hormon testosteron serum atau dengan pemberian hormon androgen menyebabkan meningkatnya aktivitas sekresi serta berat vesikula seminalis (Gonzales, 2001).

Semen manusia mengandung sebagian besar prostaglandin yang diproduksi kelenjar vesikula seminalis dan telah dibuktikan bahwa pada vasektomi konsentrasi prostaglandin tetap tinggi, dan hal tersebut berhubungan dengan motilitas spermatozoa (Gonzales, 2001). *Cell line* kelenjar vesikula seminalis tikus juga dilaporkan sebagai sumber prostaglandin E_2 (PGE_2) dan $PGF_2\alpha$ (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 $PGF_2\alpha$ seperti enzim prostaglandin endoperoksidase dan reduktase yang berfungsi mereduksi 2 elektron prostaglandin H_2 menjadi $PGF_2\alpha$ (Burgess dan Reddy, 1997). Selain kelenjar vesikula seminalis, ada beberapa organ dilaporkan dapat menyekresikan $PGF_2\alpha$ antara lain endometrium (Binelli *et al.*, 2001; Thacher *et al.*, 2002; Goff, 2004), dan kelenjar prostat (Kirschenbaum *et al.*, 2000; Gonzales, 2001; Daniel *et al.*, 2004). Prostaglandin yang telah diisolasi pada cairan vesikula seminalis adalah 19-hydroxy- E_2 dan 19-hydroxy- E_1 (Bylund dan Oliw, 2001). Selain itu, prostaglandin juga telah diisolasi pada cairan semen yang diduga berperan untuk mengatur pola kontraksi uterus atau oviduk (Garner dan Hafez, 2000; Daniel *et al.*, 2004). Kadar $PGF_2\alpha$ yang terkandung pada cairan vesikula seminalis sapi bali sudah dilaporkan oleh Pemayun (2007) yaitu 1,23 pg/ml pada cairan vesikula seminalis tanpa ekstraksi dan 1750,83 pg/ml pada cairan vesikula seminalis sapi bali yang diekstraksi dengan metanol.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pemberian $PGF_2\alpha$ hasil ekstraksi cairan vesikula seminalis sapi bali terhadap penurunan kadar progesteron hewan, dengan harapan limbah rumah potong (RPH) berupa kelenjar

vesikula seminalis dapat dimanfaatkan sebagai sumber $PGF_2\alpha$.

METODE PENELITIAN

Sampel penelitian berupa cairan vesikula seminalis sapi bali jantan yang berumur 3 sampai 4 tahun dengan kisaran berat badan 300-350 kg diambil dari RPH Pesanggaran Kota Denpasar, Bali. Hewan coba yang digunakan adalah kuda betina yang berada dalam fase luteal dengan kadar progesteron >1 ng/ml (McDonald, 2000) pada peternakan kuda di Kenjeran Surabaya.

Cairan vesikula seminalis diaspirasi melalui salurannya dengan *sputite* 1cc dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian diekstraksi menggunakan metanol dengan perbandingan 1:5 (1cc sampel : 5cc metanol). Sampel yang sudah tercampur dengan metanol *divortex* selama 3 menit dan didiamkan selama 30 menit, kemudian supernatannya diambil dan dikeringkan dengan proses penguapan dalam *waterbath* pada suhu 50°C dengan hembusan udara dari *blowing pump*. Supernatan yang sudah dikeringkan kemudian dilarutkan dalam NaCl fisiologis dan pendepositan kedalam kornua uteri (intrauterin) dilakukan dengan perantaraan *foley catheter* G22. Untuk mengetahui kadar progesteron pada kuda fase luteal, sampel darah diambil melalui vena jugularis yaitu 0 jam (sebelum perlakuan) dan 24 jam, 48 jam, dan 72 jam setelah perlakuan. Kadar progesteron diukur dengan teknik *radioimmunoassay* (RIA) dengan kepekaan uji 0,1 pg/ml (Technical Reports Series, 1984).

Rancangan yang digunakan pada penelitian adalah rancangan *Split-plot* yang terdiri dari 2 kelompok yaitu kelompok I (T_0) diberi 20 cc ekstrak cairan vesikula seminalis/ekor kuda dan kelompok II (T_1) diberi $PGF_2\alpha$ paten (*Dinoprost®/Lutalyse* Pharmacia and Up John, Ontario) dosis 4 mg/ekor kuda melalui intrauterin dan setiap kelompok perlakuan terdiri dari 16 kali ulangan. Sedangkan data dianalisis dengan sidik ragam. Proses pengolahan data dilakukan dengan program SPSS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rataan kadar progesteron sebelum dan sesudah perlakuan $PGF_2\alpha$ hasil ekstraksi cairan vesikula seminalis adalah $7,12\pm 3,01$; $2,30\pm 2,23$; $0,64\pm 0,68$; dan $0,11\pm 0,68$ ng/ml,

masing-masing untuk 0 jam; 24 jam; 48 jam; dan 72 jam. Rataan kadar progesteron sebelum dan sesudah perlakuan PGF₂α produk paten adalah 9,46±5,12; 2,20±1,32; 0,61±0,45; dan 0,86±0,20 ng/ml, masing-masing untuk 0 jam; 24 jam; 48 jam; dan 72 jam (Tabel 1).

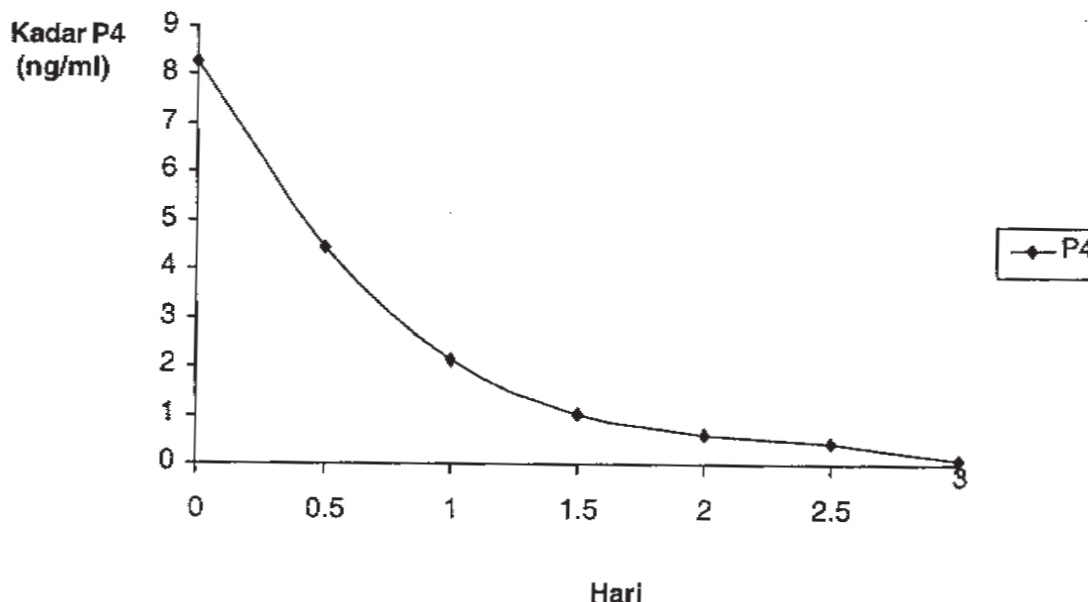
Pada tabel tersebut penurunan kadar progesteron mencapai rata-rata 76,07% dalam waktu 24 jam dan 93,69% dalam waktu 48 jam pada PGF₂α produk paten, sedangkan pemberian ekstrak cairan vesikula seminalis tidak jauh berbeda dengan produk paten yaitu 73,03% dalam waktu 24 jam dan 92,79% dalam waktu 48 jam, dan penurunan kadar progesteron secara statistik, tidak menunjukkan perbedaan

yang nyata (P > 0,05) antara PGF₂α produk paten dengan PGF₂α hasil ekstrak cairan vesikula seminalis. PGF₂α dari cairan vesikula seminalis sapi bali mempunyai respon yang sama dengan PGF₂α produk paten dalam meregresi korpus luteum dan hal ini juga dapat dilihat pada Gambar 1.

Tingginya kadar PGF₂α pada ekstrak cairan vesikula seminalis sapi bali sebelumnya telah dilaporkan oleh Pemayun (2007) yaitu 1750,83 pg/ml dan PGF₂α merupakan agen luteolisis (McCracken *et al.*, 1999 ; Hafez *et al.*, 2000 ; Goff, 2004 ; Arosh *et al.*, 2006). Sebagai agen luteolisis, PGF₂α menyebabkan regresi korpus luteum dan menurunkan kadar progesteron.

Tabel 1. Rataan kadar progesteron pada serum kuda fase luteal setelah perlakuan

Kelompok perlakuan PGF ₂ α	Kadar Progesteron (ng/ml)			
	0 jam	24 jam	48 jam	72 jam
20cc ekstrak cairan vesikula seminalis sapi bali	7,12 ± 3,01	2,30 ± 2,23	0,64 ± 0,68	0,11 ± 0,68
% Penurunan		73,03	92,79	98,92
4 mg produk paten	9,46 ± 5,12	2,20 ± 1,32	0,61 ± 0,45	0,86 ± 0,20
% Penurunan		76,07	93,69	99,23



** Keterangan P4: Hormon Progesteron

Gambar 1. Profil hormon progesteron pada serum kuda fase luteal setelah perlakuan PGF₂α paten (Dinoprost) dan PGF₂α dari ekstrak cairan vesikula seminalis sapi bali

Dilaporkan bahwa $\text{PGF}_2\alpha$ bekerja menginaktivkan enzim adenilat siklase sehingga menyebabkan lisisnya korpus luteum (Austin dan Short, 1990). Selain itu $\text{PGF}_2\alpha$ juga dilaporkan menyebabkan konstiksi pembuluh darah yang menuju ke ovarium, sehingga aliran darah ke ovarium menjadi berkurang, dan menyebabkan lisisnya korpus luteum serta diikuti dengan menurunnya kadar progesteron secara cepat (Bearden dan Fuquay, 1992 ; Hafez, 2000 ; Niswender *et al.*, 2000). Hasil penelitian yang sama juga dilaporkan sebelumnya oleh Mahaputra (1994) yaitu pemberian $\text{PGF}_2\alpha$ (Dinoprost) pada sapi perah menyebabkan penurunan kadar progesteron mencapai 36% dalam waktu 12 jam setelah penyuntikan $\text{PGF}_2\alpha$ dan penurunan kadar progesteron akan terus terjadi sampai 65,5% setelah 72 jam penyuntikan $\text{PGF}_2\alpha$. Penurunan kadar progesteron yang lebih cepat dilaporkan pada kambing yaitu mencapai 60% setelah 8 jam penyuntikan $\text{PGF}_2\alpha$ (Towle *et al.*, 2002 ; Taverne, *et al.*, 2002). Hasil yang sama juga dilaporkan pada kerbau yaitu penurunan kadar hormon progesteron terjadi dalam waktu 24 jam setelah penyuntikan $\text{PGF}_2\alpha$ (cloprostenol) (Chohan, 1998).

Hasil yang diperoleh terhadap penurunan kadar progesteron antara $\text{PGF}_2\alpha$ hasil ekstraksi cairan vesikula seminalis sapi bali dengan $\text{PGF}_2\alpha$ paten (Dinoprost) tidak menunjukkan perbedaan yang nyata, hal ini mencerminkan bahwa $\text{PGF}_2\alpha$ yang bersumber dari ekstrak cairan vesikula seminalis sapi bali mempunyai respon yang sama dengan $\text{PGF}_2\alpha$ produk paten.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

$\text{PGF}_2\alpha$ hasil ekstraksi cairan vesikula seminalis sapi bali dapat meregresikan korpus luteum, hal tersebut dicirikan dengan penurunan kadar progesteron pada kuda fase luteal.

Saran

Limbah RPH berupa cairan vesikel seminalis dapat dimanfaatkan sebagai luteolitik pada kuda betina. Diperlukan uji pada hewan lain untuk mengetahui daya luteolitik ekstrak cairan vesikula seminalis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada Kepala Laboratorium Fertilisasi *In Vitro* dan Endokrinologi FKH Unair dan Peternakan Kuda Kenjeran Surabaya atas kerjasamanya.

DAFTAR PUSTAKA

- Arosh JA, Banu SK, Chapdelaine P, Madore E, Sirois J, Fortier MA. 2006. Prostaglandin Biosynthesis, Transport, and Signaling in Corpus Luteum: A Basis for Autoregulation of Luteal Function. *Endocrinology* 145(5): 2551-2560
- 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. *Endocrinol Rev* 9: 88–105.
- Austin CR, Short RV. 1990. *The Ovary*. "Reproduction in mammals" Second ed. New York: Cambridge University Press. Pp. 91- 112.
- Bearden HJ, Fuquay J. 1992. *Applied Animal Reproduction*. Reston Publ Co. Virginia: A Prentice-Hall Company Reston. Pp. 35 - 36, 66.
- Binelli M, Thatcher WW, Mattos R, Baruselli PS. 2001. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. *Theriogenology* 56 (9): 1451-63.
- Burgess JR, Reddy CC. 1997. Isolation and characterization of an 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(2) :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 (1): 123-9
- Chohan KR. 1998. Estrus synchronization with lower dose of $\text{PGF}_{2\alpha}$ and subsequent fertility in subestrous buffalo. *Theriogenology* 50:1101–1108.
- Daniel LS, Regina M, Botting, Timothy Hla. 2004. Cyclooxygenase Isozymes: The Biology of Prostaglandin Synthesis and Inhibition. *Pharmacol Rev* 56:387-437.
- Diskin MG, Austin EJ, Roche JF. 2002. Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Domest Anim Endocrinol* 23(1-2):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 Biotechnology* Vol. 17
- 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(4): 503-12.
- Garner DL, Hafez ESE. 2000. *Spermatozoa and Seminal Plasma*. "In Reproduction in Farm Animals". Hafez and Hafez. 7thed. Lippincott William & Wilkins. A Wolter Kluwer Company
- 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". Dalam Hafez 7thed. Lippincott William & Wilkins. A Wolter Kluwer Company
- 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. *Experimental Biol Med*. 228: 1057-1062.
- Kirschenbaum A, Dara RL, Shen Y, Xin-Hua L, Adam PK, Pamela U, Ellen S., Irwin L, Alice CL. 2000. Immunohistochemical Localization of Cyclooxygenase-1 and Cyclooxygenase-2 in the Human Fetal and Adult Male Reproductive Tracts. *The J Clinic Endocrinol & Met*. 85(9): 3436-3441
- 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.
- McCracken JA, Custer EE, Lamsa JC. 1999. Luteolysis: A Neuroendocrine-Mediated Event. *Physiological Rev*. 79 (2) : 263-323
- McDonald LE. 2000. *Veterinary Endocrinology and Reproduction*. 3rdEd. London: Baillere Tindall. Pp. 299-315
- Meidan R, Milvae RA, Weiss S, Levy N, Friedman A. 1999. Intraovarian regulation of luteolysis. *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.
- Niswender GD, Juengel JL, Silva PJ, Rollyson MK, McIntush EW. 2000. Mechanisms Controlling the Function and Life Span of the Corpus Luteum. *Physiol Rev*. 80(1): 1-29
- 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. *Jurnal Veteriner*. 8(4): 167-172.
- Silvia WJ, Lewis GS, McCracken JA, Thatcher WW, Wilson L Jr. 1991. Hormonal regulation of uterine secretion of prostaglandin F₂ alpha during luteolysis in ruminants. *Biol Reprod*. 45: 655-663.
- Taverne MA, Breeveld-Dwarkasing VN, van Dissel-Emiliani FM, Bevers MM, de Jong R, van der Weijden GC, 2002. Between parturition luteolysis and onset of expulsion. *Domest Anim Endocrinol*. 23(1-2): 329-3
- 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.
- 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.
- Wocklawek-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. *Experimental Biol Med*. 230: 326-333.