

Profil hormon progesteron dan luteinizing hormone (LH) kerbau betina dalam keadaan reproduksi normal dan setelah pemberian PGF2 Alpha ¹⁾

G. WANANANDA, D. SASTRADIPRADJA, P. PARIDJO, R. WIDJAJAKUSUMA, H. PERMADI, ISKANDAR, A. SOETISNA DAN J.T. BATUSSAMA

Dep. Fisiologi dan Farmakologi Fak. Kedokteran Hewan
Institut Pertanian Bogor

RINGKASAN

Dalam penelitian ini dilakukan tehnik *radioimmunoassay* (RIA) untuk analisa hormon progesteron dan LH pada kerbau betina bersiklus normal dan setelah pemberian PGF2 alpha. Hewan percobaan yang dipakai adalah delapan ekor kerbau betina dewasa yang diberi makan dan minum secara *ad libitum*. Preparat PGF2 alpha yang diberikan adalah Enzaprost-F, secara intra-uterin, sebanyak dua kali pemberian dengan selang waktu sebelas hari dengan dosis 3-7 mg/hewan setiap kali pemberian.

Pada profil hormon normal kadar progesteron mulai meningkat pada hari ke-6 dan mencapai puncak pada hari ke-12 yaitu 423 ± 60.3 pg/ml. Kadar progesteron pada saat estrus berkisar antara 84-253 pg/ml. Kadar LH basal adalah sekitar 0.1 ng/ml dan puncak kadar LH dapat mencapai 1.5 ng/ml. Kadar progesteron setelah penyuntikan PGF2 alpha pertama maupun kedua berkisar antara 28-200 pg/ml.

Profil LH setelah perlakuan pada dasarnya

sama dengan yang diamati untuk siklus normal. Kerbau betina bersiklus normal memperlihatkan pola hormon progesteron dan LH dalam kualitas tidak berbeda dengan pola pada hewan ternak pemamah biak lain. Perbedaan itu terletak pada nilai kadar hormon yang lebih rendah yang dapat disebabkan oleh berbagai faktor seperti misalnya ciri genetik bangsa hewan dan mungkin juga berbagai keadaan cekaman (*stress*) seperti kualitas dan kuantitas makanan yang kurang baik, kondisi eksperimen, tatalaksana yang kurang baik dan sebagainya.

Perlakuan dengan PGF2 alpha menyebabkan regresi *corpus luteum* yang dicerminkan oleh penurunan kadar progesteron sampai ke nilai basal. Tumbuhnya puncak LH merupakan indikasi terjadinya ovulasi. Berdasarkan data tersebut, PGF2 alpha dapat dipakai sebagai penyerentak birahi pada kerbau yang diikuti oleh kemungkinan fertilitas, jika didukung oleh proses pematangan ovum yang cukup pada saat pemberian PGF2 alpha yang kedua.

Di Indonesia kerbau mempunyai peranan yang cukup penting dalam kehidupan manusia, baik dari segi sosial maupun ekonomi. Kerbau umumnya hidup di negara-negara Asia Selatan, Asia Tenggara, Eropa Selatan dan Eropa Timur. Populasi ternak kerbau di Indonesia pada tahun 1925 - 1940 diperkirakan 3.243 juta dan jumlah ini terus menurun yaitu menjadi 2.737 juta pada

tahun 1967 dan 2.243 juta pada tahun 1975 (Toelihere, 1979). Populasi yang makin berkurang ini disebabkan oleh berbagai faktor misalnya makin besarnya jumlah penyembelihan dari tahun ke tahun untuk memenuhi kebutuhan daging yang makin meningkat sejalan dengan makin bertambahnya populasi penduduk. Faktor lain adalah umur dewasa kelamin yang lambat, lamanya

¹⁾ Makalah yang disajikan pada Seminar Nasional Ikatan Ahli Ilmu Faal Indonesia di Sala, 3-6 September 1981.

Penelitian ini dibiayai oleh Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Proyek Penelitian Ilmu Pengetahuan dan Teknologi No. 023/PIT/DPPM/1978.

waktu sela kelahiran dan kurangnya pengetahuan tentang ketepatan waktu mengawinkan kerbau betina, kurangnya pejantan unggul dan sebagainya. Untuk meningkatkan populasi kerbau dengan cepat salah satu usaha adalah melalui program inseminasi buatan. Keberhasilan program inseminasi buatan mutlak memerlukan pengetahuan dasar biologi reproduksi kerbau betina maupun pejantan. Aspek hormonal merupakan salah satu segi yang sangat mempengaruhi biologi reproduksi.

Tujuan penelitian ini adalah mempelajari profil normal hormon progesteron dan *luteinizing hormone* (LH) selama periode birahi pada kerbau betina, pada waktu sebelum dan sesudah birahi dan setelah pemberian prostaglandin, di samping memantapkan penggunaan tehnik penentuan hormon progesteron dan LH dengan menggunakan metode radioimmunoassay (RIA) pada hewan ini. Diharapkan berdasarkan kadar hormon ini dapat dikembangkan metode diagnosa kebuntingan, kematian embryo dan kelainan gangguan reproduksi tertentu (*corpus luteum persistens*, kista ovarium dan lain-lain).

BAHAN DAN METODE

Bahan-bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini ialah : Antiserum terhadap progesteron yang diperoleh sebagai sumbangan dari Dr. L.E. Edqvist, Dept. of Clinical Biochemistry, Royal Veterinary College, Stockholm, Swedia; Progesteron label (1, 2, 6, 7-3 H progesteron) 101 Ci/mmol. dari The Radiochemical

Centre, Amersham, Inggris; Progesteron murni, untuk standar merk Calbiochem 534098, Lot. 602710; LH murni sapi (bLH : NIH - BIO) untuk radioiodinasi dan standar, dari NIAMDD, Amerika Serikat; GARGG (*Goat Antibody to Rabbit Gamma Globulin*), merk Calbiochem, Behring Corp., Amerika Serikat; Antiserum terhadap ovine LH, sumbangan dari Dr. G.D. Niswender, Colorado State University, Amerika Serikat; Isotop ^{125}I , dari The Radiochemical Centre, Amersham, Inggris.

Dalam penelitian ini dipakai delapan kerbau betina dewasa. Kepada kerbau-kerbau itu diberikan rumput dan makanan penguat secara *ad libitum*, dan sering digembalakan agar sesuai dengan sistem pemeliharaan secara ekstensif tradisional. Kerbau diberi kesempatan beradaptasi selama satu bulan sebelum penelitian dimulai. Kriteria pengamatan birahi meliputi kondisi lendir vulva, tingkah laku dan deteksi birahi memakai jantan pengusik, kondisi vulva termasuk suhu vagina dan rektum. Pengambilan darah dilakukan melalui vena jugularis dan setiap pengambilan banyaknya 6-8 ml. Plasma darah disimpan pada suhu -28°C dan baru dikeluarkan bila akan dianalisa. Pada waktu birahi pengambilan darah dilakukan setiap 4 jam, sedangkan pada waktu anestrus pengambilan darah dilakukan setiap sehari. Lamanya siklus birahi rata-rata adalah 21 hari.

Penyerentakan birahi dilakukan dengan memberikan Enzaprost F, yaitu suatu preparat PGF $_{2\alpha}$ secara intra uterin sebanyak dua kali pemberian

dengan selang waktu 11 hari. Sekitar waktu pemberian PGF2 alpha diambil sampel-sampel darah untuk penentuan dua hormon. Dosis yang diberikan 3 - 7 mg/ekor. Analisa kedua hormon tersebut menggunakan tehnik RIA, yaitu metode Edqvist dan Johansson (Edqvist dan Johansson, 1972) untuk hormon progesteron dan metode Niswender (Niswender *et al.*, 1969) untuk L.H. Kedua metode ini mengalami sedikit modifikasi disesuaikan dengan keadaan laboratorium kami. Evaluasi kedua metode tersebut serta bahan-bahan kimia yang diperlukan secara lebih terperinci dibahas secara tersendiri (Sastradipradja *et al.*, 1978; Wanananda *et al.*, 1981).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karena adanya variabilitas mengenai lamanya siklus estrus, maka hari terjadinya birahi pada setiap hewan dihitung sebagai hari 0. Pada tabel 1 dan gambar 1 dapat dilihat bahwa kadar progesteron pada hari ke-6 sudah mulai meningkat dan kadar tertinggi terdapat pada hari ke-12, mencapai 423 ± 60.3 pg/ml. Sedangkan konsentrasi progesteron pada waktu estrus (fase folikuler) untuk kedelapan kerbau tersebut berkisar antara 84 - 253 pg/ml (tabel 2 dan gambar 2). Pada beberapa hewan nilai kadar progesteron pada permulaan birahi mulai memperlihatkan kecenderungan menurun sedangkan pada beberapa hewan lainnya kadarnya sejak permulaan birahi sudah cukup rendah dan tetap rendah selama birahi. Setelah estrus berakhir seharusnya kadar progesteron meningkat sesuai

dengan perkembangan *corpus luteum*. Pada penelitian ini juga dapat diamati adanya peningkatan kadar progesteron meskipun kenaikan kadar tersebut relatif rendah. Beberapa peneliti lain (Jellinek dan Avenell, 1980; Kamonpatana *et al.*, 1979) melaporkan pada kerbau lumpur kadar maksimum pada fase luteal dapat mencapai sekitar 2 ng/ml. Tetapi Perera (1979) dari Sri Lanka melaporkan nilai maksimum sekitar 500 pg/ml untuk kerbau air. Dibandingkan dengan sapi, nilai kadar progesteron pada kerbau jauh lebih rendah. Adnan *et al.* (1980) melaporkan untuk sapi Bali betina dapat mencapai 3ng/ml pada fase luteal. Nilai progesteron pada kerbau yang relatif rendah ini mungkin juga dapat disebabkan oleh adanya gangguan pada *corpus luteum*. Kerbau mempunyai pola siklus estrus yang tidak ubahnya dari hewan ternak lain misalnya sapi, domba dan sebagainya. Perbedaannya terletak pada nilai kadar progesteron yang lebih rendah. Dalam penelitian ini juga dapat dilihat adanya variabilitas individual yang cukup besar. Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti adanya progesteron *extra-corpus-luteal* yang mungkin dihasilkan oleh kelenjar adrenal. Pengambilan darah yang terlalu sering akan menyebabkan *stress* yang mungkin dapat mempengaruhi kadar hormon di dalam tubuh.

Nilai basal LH kerbau adalah 100 pg/ml (tabel 1 dan gambar 3). Dari tujuh ekor kerbau yang memperlihatkan kadar LH yang relatif tinggi pada saat birahi, hanya dua ekor yaitu kerbau No. 1 dan No. 11 yaitu masing-masing

mencapai 1450 dan 1330 pg/ml (tabel 2 dan gambar 4). Kadar LH rata-rata adalah 390 ± 19.5 pg/ml. Adnan *et al.* (1980) melaporkan LH sapi Bali pada fase folikuler dapat mencapai 15 ng/ml. Mungkin rendahnya nilai puncak LH atau malahan tidak adanya puncak yang teramati pada beberapa hewan, disebabkan oleh karena selang waktu antara pengambilan darah adalah 4 jam. Jadi mungkin ada puncak-puncak yang hilang, tak teramati. Penggunaan LH sapi mungkin juga mempengaruhi kadar LH kerbau. Namun kami tidak menghilangkan kemungkinan bahwa kadar LH untuk kerbau memang rendah, mengingat bahwa kadar progesteron juga rendah. Nilai kedua hormon yang relatif rendah ini selain dapat disebabkan oleh *stress*

mungkin juga merupakan ciri genetik.

Kadar progesteron setelah pemberian PGF2 alpha menurun setelah perlakuan pertama maupun kedua dan berkisar antara 28.2 - 200.2 pg/ml (tabel 3 dan 4; gambar 5). Walaupun cenderung turun, konsentrasi progesteron sebelum dan sesudah perlakuan dalam penelitian ini tidak terlalu banyak berubah. Penurunan kadar progesteron merupakan petunjuk terjadinya luteolisis oleh PGF2 alpha. Rata-rata kadar LH setelah perlakuan adalah 524 ± 75 pg/ml (Gambar 6). Dua dari tujuh ekor kerbau memperlihatkan puncak kadar LH lebih dari 1000 pg/ml sedangkan puncak itu pada kelima ekor lainnya di bawah 1000 pg/ml. Puncak LH itu menunjukkan terjadinya ovulasi.

Tabel 1. Kadar progesteron dan LH (pg/ml) kerbau betina bersiklus normal (n = 8)

Waktu setelah birahi (hari)	Kadar progesteron (pg/ml)	Kadar LH (pg/ml)
4	125 ± 38.6	103 ± 28.0
6	202 ± 56.7	161 ± 57.3
8	281 ± 87.9	120 ± 36
10	349 ± 64.5	136 ± 60.6
12	423 ± 60.3	122 ± 40.7
14	224 ± 50.0	91 ± 20.2
16	243 ± 57.7	90 ± 33.8
18	109 ± 76.7	136 ± 71.5
20	160 ± 60.4	68 ± 12.3

Tabel 2. Kadar progesteron dan LH (pg/ml) kerbau betina selama 60 jam setelah timbulnya gejala birahi (n = 8).

Waktu setelah birahi (jam)	Kadar progesteron (pg/ml)	Kadar LH (pg/ml)
0	194 ± 32.7	62 ± 12.5
4	209 ± 46.8	161 ± 75.5
8	262 ± 42.9	141 ± 63.7
12	226 ± 50.6	100 ± 37.1
16	238 ± 44.3	68 ± 9.9
20	241 ± 87	112 ± 39.7
24	253 ± 50.7	77 ± 19.5
28	237 ± 63.5	390 ± 93
32	244 ± 52.1	231 ± 57
36	163 ± 49.1	132 ± 35.5
40	204 ± 63.8	101 ± 53.3
44	162 ± 51.7	168 ± 72.8
48	152 ± 48.9	75 ± 21.1
52	143 ± 40.4	83 ± 33.3
56	84 ± 30	55 ± 4.9
60	117 ± 40	105 ± 54.9

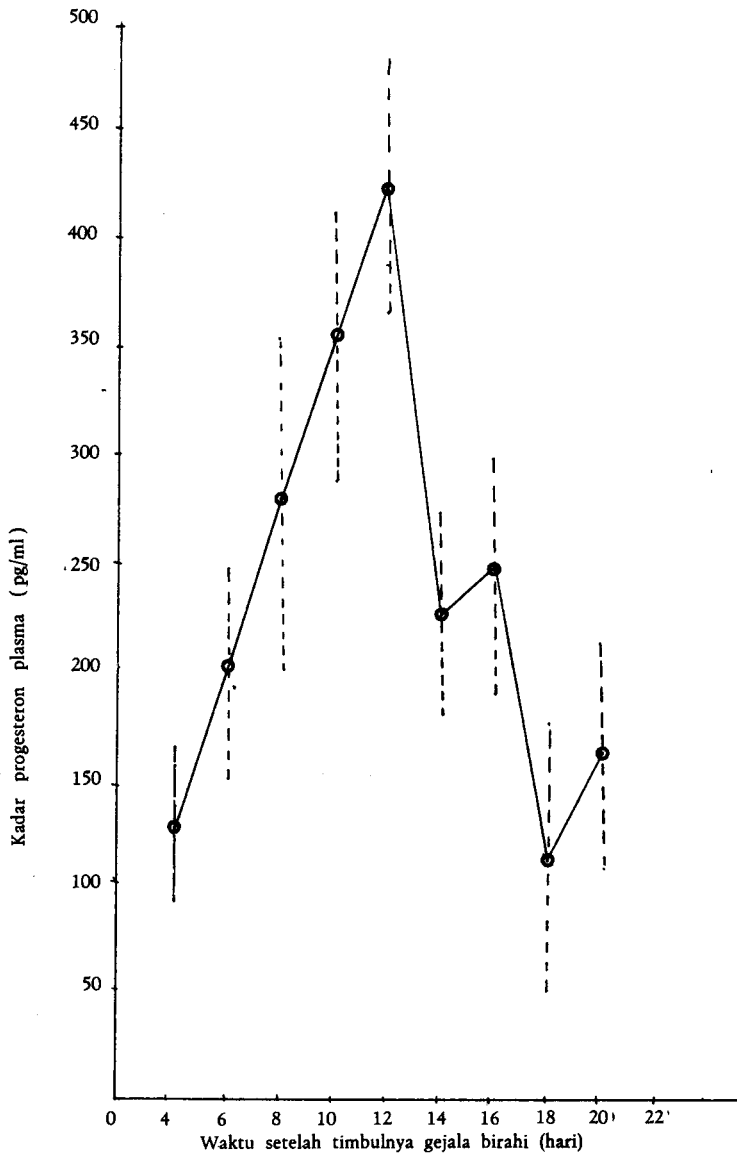
Tabel 3. Kadar progesteron dan LH (pg/ml) plasma kerbau betina setelah pemberian PGF2 alpha yang pertama (hari ke 0) s/d hari ke 10 (n = 7).¹⁾

Waktu pengamatan (hari ke)	Kadar progesteron (pg/ml)	Kadar LH (pg/ml)
0	114 ± 35.7	110 ± 59.8
3	119 ± 43.5	95 ± 44.1
6	200 ± 62.8	123 ± 38.2
9	156 ± 39.5	175 ± 69.5
	160 ± 35.8	241 ± 99.3

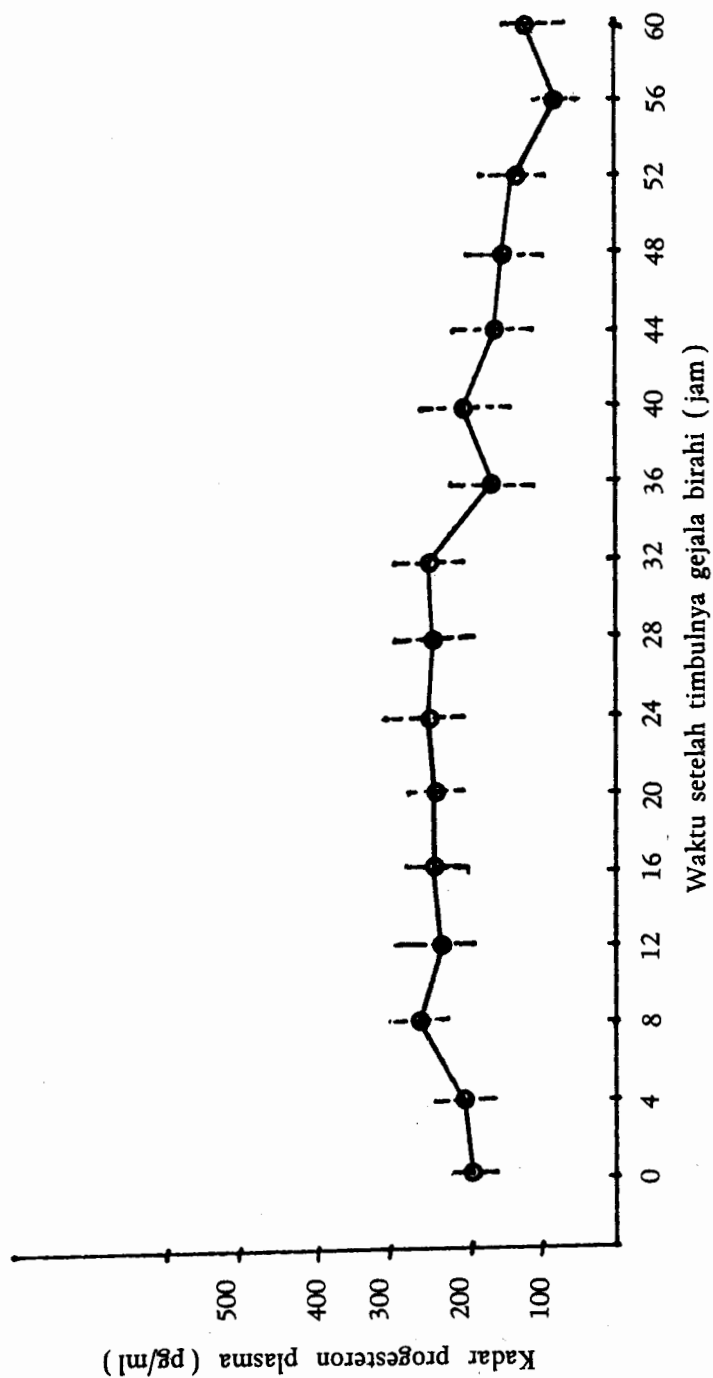
¹⁾ Dosis PGF2 alpha 3 - 7 mg/ekor, diberikan secara intra - uterin.

Tabel 4. Kadar progesteron dan LH (pg/ml) plasma kerbau betina setelah pemberian PGF2 alpha yang kedua (hari ke 11) selama 72 jam (n = 7).

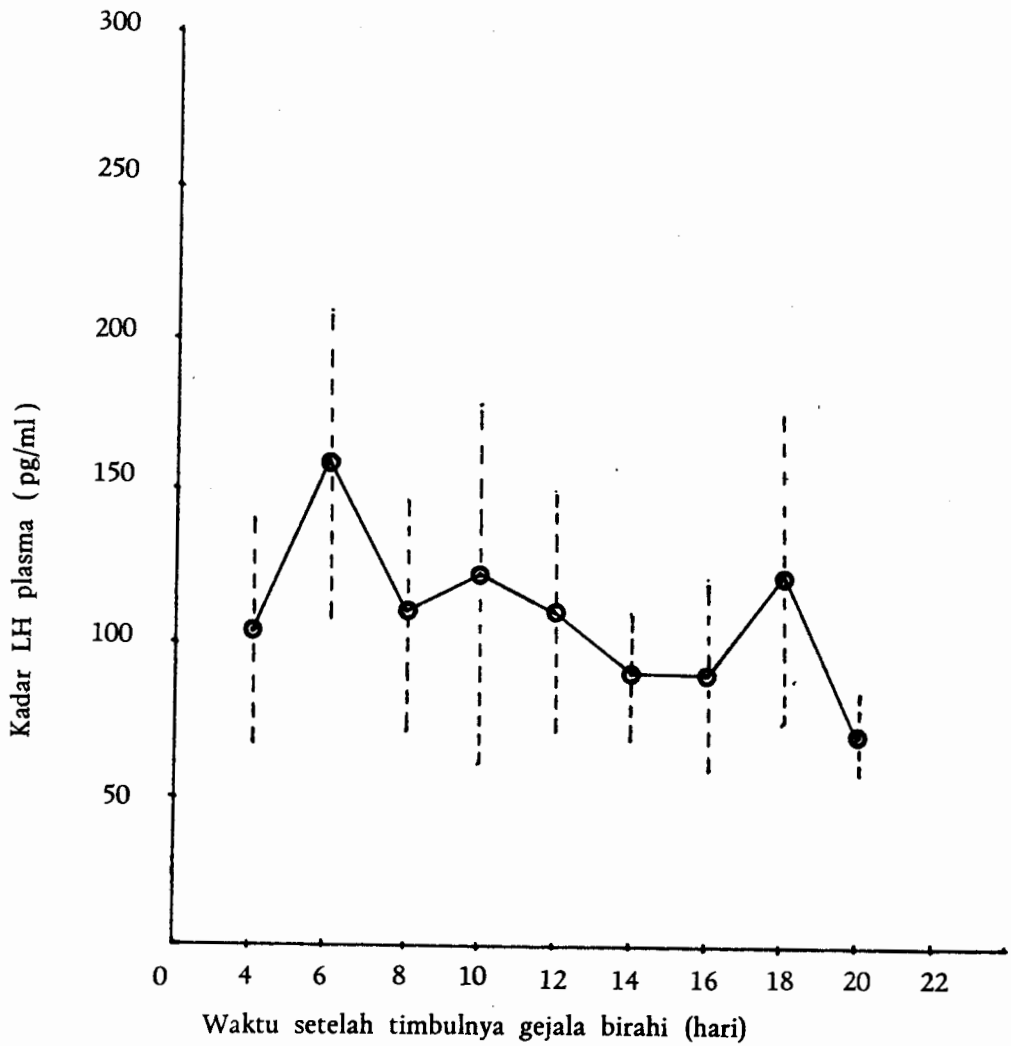
Waktu pengamatan (hari ke)	Kadar progesteron (pg/ml)	Kadar LH (pg/ml)
11	157 ± 47.3	112.8 ± 47.2
Setelah 24 jam	63.1 ± 15.1	554 ± 75
26 ..	59.6 ± 13.9	205 ± 95.6
28 ..	114.8 ± 32.8	365 ± 187.6
30 ..	81.7 ± 28.7	475.7 ± 132.7
32 ..	90 ± 24.9	218.6 ± 85.7
34 ..	100.4 ± 41.0	50 ± 0
36 ..	84.7 ± 38.6	50 ± 0
38 ..	131.1 ± 42.5	294 ± 137.7
40 ..	112.1 ± 39.7	58.6 ± 8.6
42 ..	123.9 ± 41.0	50 ± 0
44 ..	111 ± 43.6	105.7 ± 55.8
46 ..	117.3 ± 36.7	217.1 ± 97
48 ..	98.6 ± 36.5	215.7 ± 166
50 ..	81.4 ± 37.3	240 ± 103.1
52 ..	80.8 ± 34.6	236.7 ± 68.8
54 ..	119.4 ± 32	—
56 ..	54.3 ± 23	50.0 ± 0
58 ..	28.2 ± 15.2	131.7 ± 38
60 ..	90.1 ± 34	216 ± 114.0
62 ..	54.3 ± 24	146 ± 50.7
64 ..	109 ± 31.4	188.3 ± 104.1
68 ..	104.8 ± 20.9	454 ± 101.6
70 ..	99.3 ± 15.1	178 ± 89.9
72 ..	116 ± 28.2	215.7 ± 87.6



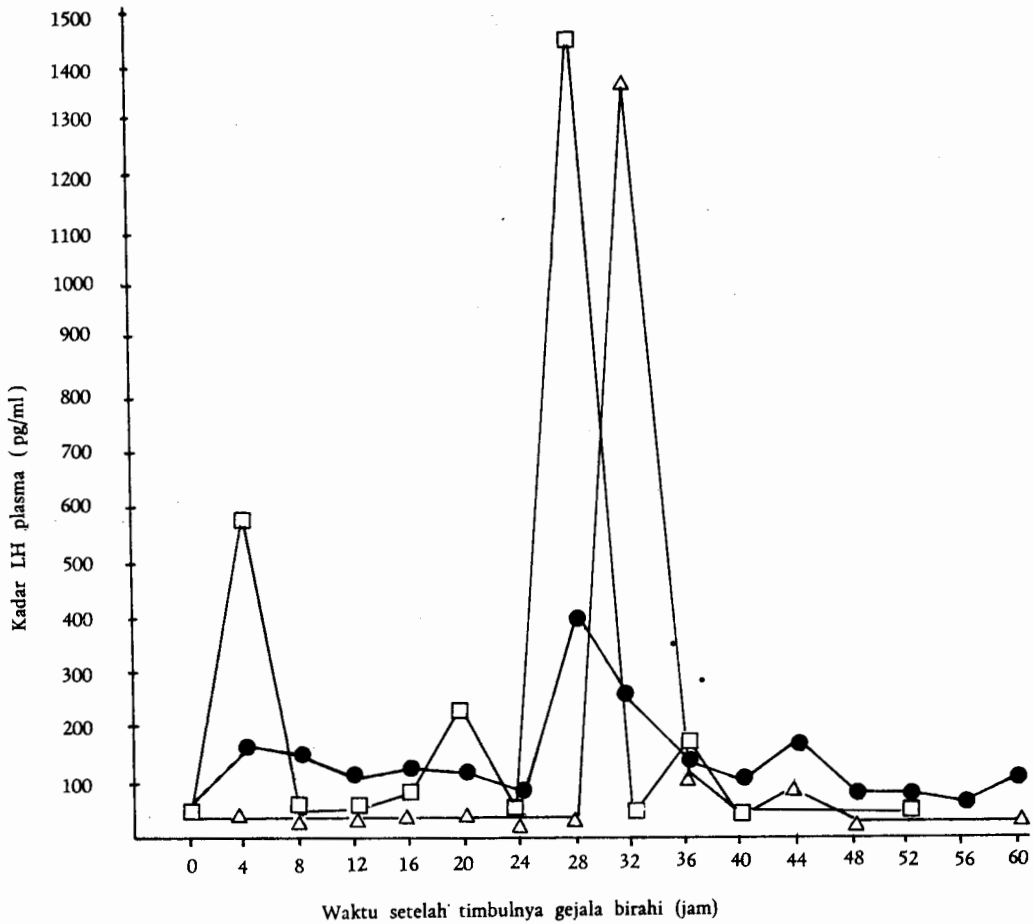
Gambar 1 : Kadar progesteron plasma kerbau betina selama 1 siklus birahi, Dinyatakan dalam $M \pm S.E.$ ($n = 8$).



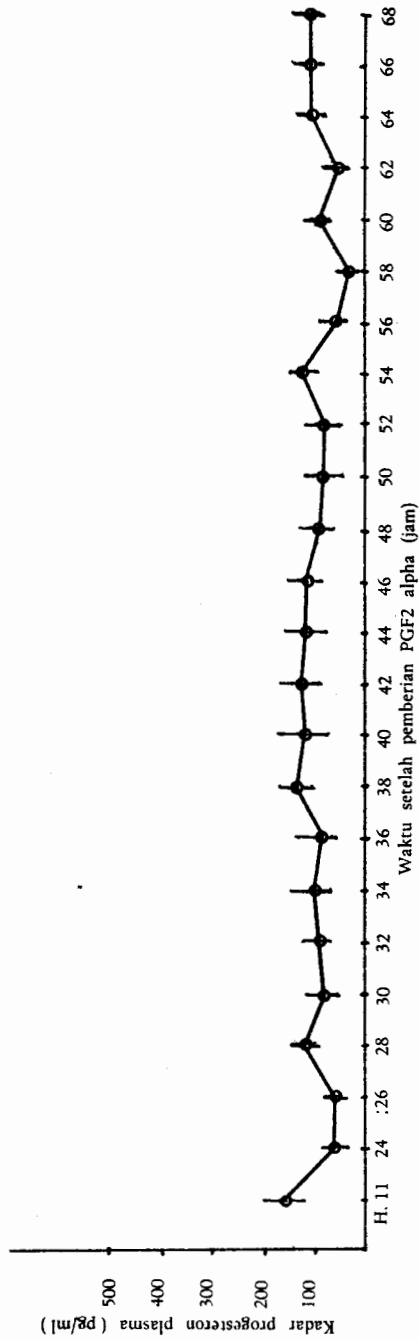
Gambar 2 : Kadar progesteron plasma kerbau betina selama 60 jam setelah timbulnya birahi. Dinyatakan dalam $M \pm S.E.$ ($n = 8$).



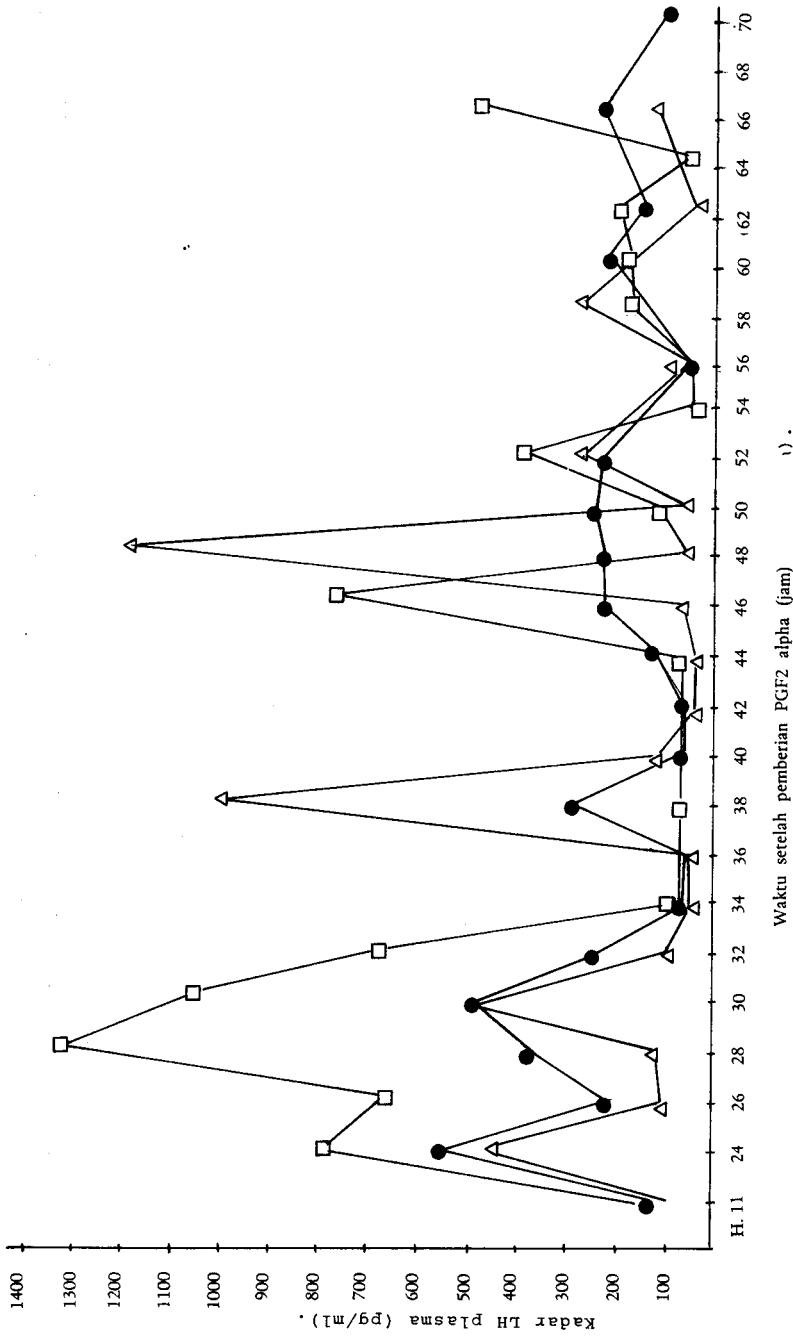
Gambar 3 : Kadar LH plasma kerbau betina selama 1 siklus birahi. Dinyatakan dalam $M \pm S.E.$ ($n = 8$).



Gambar 4 : Kadar LH plasma kerbau betina selama 60 jam setelah timbulnya gejala birahi. Dinyatakan dalam $M \pm S.E.$ ($n = 8$) (—●—●—) Kerbau No. 1 (—□—□—) dan Kerbau No. 11 (—△—△—).



Gambar 5 : Kadar progesteron plasma kerbau betina setelah pemberian PGF2 alpha yang kedua (H.11) Dinyatakan dalam $M \pm S.E.$ ($n = 7$).



Gambar 6 : Kadar LH plasma kerbau betina setelah pemberian PGF2 alpha yang kedua (H. 11) Dinyatakan dalam $M \pm S.E.$ (—●—) Kerbau No. 1 (—□—) dan Kerbau No. 11 (—△—).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kerbau betina bersiklus normal memperlihatkan pola hormon progesteron dan LH dalam kualitas yang tidak berbeda dengan pola pada hewan ternak pemamah biak lain. Perbedaan kadar progesteron dan LH pada kerbau betina bersiklus normal dengan hewan pemamah biak lain terletak pada nilai kadar hormonnya yang lebih rendah yang dapat disebabkan oleh berbagai faktor, seperti misalnya ciri genetik bangsa hewan dan mungkin juga berbagai keadaan cekaman (*stress*), berupa kualitas dan kuantitas makanan

yang kurang baik, kondisi eksperimen, tata laksana yang kurang baik dan sebagainya.

Perlakuan dengan PGF2 alpha menyebabkan regresi *corpus luteum* yang dicerminkan oleh penurunan kadar progesteron sampai ke nilai basal. Timbulnya puncak LH beberapa saat setelah perlakuan dengan PGF2 alpha merupakan indikasi terjadinya ovulasi. Berdasarkan data tersebut, maka PGF2 alpha dapat dipakai sebagai penyerentak birahi pada kerbau betina yang diikuti oleh kemungkinan fertilitas, jika didukung oleh proses pematangan ovum yang cukup pada saat pemberian PGF2 alpha yang kedua.

Profile of progesterone and luteinizing hormone (LH) of swamp buffaloes during normal and prostaglandin-synchronized oestrus cycles

SUMMARY

A radioimmunoassay technique was used for measuring serum progesterone and LH concentration in female swamp buffaloes during normal and prostaglandin synchronized oestrus cycles. Eight healthy female buffaloes were used. Prostaglandin used in this experiment was Enzaprost-F which was given intra-uterin with an interval of eleven days between administration. The dose varied between 3-7 mg for each animal.

In normal cycling animals, progesterone concentration began to increase on day 6 and reached a peak of 423-603 pg/ml on day 12. Progesterone concentration during oestrus varied between 84-253 pg/ml. Basal LH concentration was about 0.1 ng/ml and reached a peak of 1.5 ng/ml. Progesterone and LH concentration after treatment was similar to that during the normal cycle.

The results and conclusions obtained from this work were as follows :

1. The pattern of progesterone and LH were similar in quality to the pattern of other ruminants.
2. Low concentration of progesterone and LH may be caused by several factors e.g. species difference, stress (deficiency in food quantity and quality, experimental condition, mismanagement etc.).
3. Treatment with PGF-2a caused a regression of the corpus luteum which was demonstrated by a decrease of the progesterone concentration to the basal concentration.
4. The appearance of the LH peak after treatment with PGF-2a may indicate a successive ovulation.
5. Based on the present data, PGF2a may be used for oestrus synchronization in swamp buffaloes with a possibility to be followed by fertility, when the ovum had been matured enough during the second treatment with PGF2a.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada sdr. Kodir Rinjani dan sdr. Asmarida yang dengan penuh dedikasi telah membantu kami dalam melaksanakan penelitian ini. Demikian juga kepada para penjaga kandang hewan besar yang telah membantu kami dalam pengambilan darah kerbau.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnan, A., Effendi, A.S., Jusuf, H.A., dan Sastradipradja, D. 1980. Kadar hormon progesteron pada sapi Bali setelah pemberian prostaglandin. *Kongres Nasional ke IV Ikatan Ahli Farmakologi Indonesia*, Bandung, 30 Nop. - 4 Des. 1980.
- Adnan, A., Jusuf, H.A., and Sastradipradja, D. 1980. Determination of the correct time procedure of estrumate application to induce oestrus synchronisation for fertile artificial insemination in Bali cattle. *First Asian Australian Animal Science Congress*, Sept. 2 - 5, Serdang, Selangor, Malaysia.
- Edqvist, L.F. and Johansson, E.B.D. 1972. Radioimmunoassay and competitive protein binding of certain steroid hormones in farm animals. In: *FAO/IAFA Symp. on the use of isotop on the Physiol. of Dom. Anim. with special reference to hot climate*, Athens, Greece, 20 - 24 March.
- Kamompatana, M., Kunawongkrit, A., Bodhipaksha, P. and Luvira, Y. 1979. Effect of PGF₂ alpha on serum progesterone levels in the swamp buffalo (*Bubalus bubalis*) *J. Reprod. Fert.* 56 : 445.
- Jellinek, P., and Avenell, J. 1980. Oestrus behaviour and progesterone profiles in swamp buffalo. *First Asian Australian Animal Science Congress*, Sept. 2 - 5, Serdang, Selangor, Malaysia.
- Niswender, G.D., Reichert, L.E., Midgley, A.R. Jr. and Nalbandov, A.V. 1969. Radioimmunoassay for bovine and ovine luteinizing hormon. *Endocrinology* 84 : 116 - 1173.
- Perera, B.H.A.D. 1979. Radioimmunoassay of progesterone in the blood of buffaloes during normal and prostaglandin synchronized oestrus cycles. In: *The use of radioimmunoassay and related procedure to improve reproductive performance of domestic animals. Proceedings 2nd IAEA/FAO sponsored symposium* (D. Sastradipradja, Ed.) Direct. General of High. Ed. R.I.
- Sastradipradja, D., Paridjo, P., Wanananda, G., Widjayakusuma, R., Iskandar, Sutisna, A., dan Permadi, H. 1978. *Penelitian dasar hormonal reproduksi kerbau betina*. Laporan proyek No. 023/PIT/DPPM/1978.
- Toelihere, M.R. 1979. Peternakan kerbau dan reproduksinya di Indonesia *Media Veteriner* 1 : 2.
- Wanananda, G., D. Sastradipradja dan P. Paridjo. 1981. Uji radioimun untuk progesteron : suatu pemantapan metode. *Hemera Zoa* 71 (1) : 3 - 13.