

**PERBANDINGAN KADAR PROGESTERON YANG TERKANDUNG
DALAM BERBAGAI SAMPEL (DARAH, AIR SUSU DAN URIN)
MENGUNAKAN TEKNIK RADIOIMMUNOASSAY**

Pudji Astuti¹

INTISARI

Untuk kepentingan uji hormon, diperlukan sampel baik serum maupun plasma. Namun seperti diketahui bahwa pengambilan sampel kadang-kadang dapat mengganggu tata laksana manajemen dan menurunkan produktivitas sapi. Oleh karenanya dicari beberapa alternatif materi yang lain yang dapat menggantikannya. Alternatif sampel tersebut adalah air susu dan urin. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui sampai seberapa jauh perbedaan kuantitas hormon progesteron yang terkandung dalam berbagai materi yang berbeda (darah, air susu dan urin) menggunakan Teknologi Radioimmunoassay (RIA). Materi yang digunakan dalam penelitian berupa masing-masing 8 sampel : plasma, serum, *whole milk*, air susu tanpa lemak, dan urin. Sampel-sampel tersebut berasal dari 8 ekor sapi yang ada di BPT-HMT Baturaden dengan status reproduksi 16 hari setelah estrus. Dari sampel-sampel yang ada kemudian diukur kadar hormon progesteronnya dengan menggunakan Teknologi RIA. Hasil yang diperoleh adalah sebagai berikut: nilai rerata kadar progesteron dalam sampel urin 3,05 ng/ml; plasma 8,05 ng/ml; serum 7,66 ng/ml; *whole milk* 10,75 ng/ml dan *skin milk* 6,83 ng/ml. Secara statistik, tidak ada perbedaan yang nyata antara sampel yang berasal dari plasma maupun serum ($P > 0,05$). Dapat disimpulkan pula bahwa ternyata urin dapat digunakan sebagai sampel untuk mengukur kadar progesteron.

Kata kunci : Progesteron, Urin, Air susu, Plasma, Serum).

Buletin Peternakan 24 (2) : 51 - 56, 2000

¹ Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

**THE COMPARISON OF PROGESTERON CONTENT WHICH
WAS CONTAINED WITHIN VARIOUS SAMPLES
(BLOOD, MILK AND URINE) BY USING RIA**

ABSTRACT

For hormonal test, it is required both serum and plasma samples to be analysed. Nevertheless, occasionally technique of collecting samples can interfere the management of dairy cow and reduce productivity. Thus, it should be found Another sample alternative. There are two alternative samples i.e. milk and urine. This experiment was conducted to study progesterone concentration on many materials (blood, milk and urine) by using Radioimmunoassay technique (RIA). Eight samples of : plasma, 8 serum, whole milk and skim milk, respectively were examined in this experiment. All of samples were taken from 8 dairy cows which were kept in BPT-HMT Baturraden and they were in the 16 days post estrus stadium. By using RIA, all of samples were measured progesterone concentration. The result of experiment showed that the average of progesterone level were : 3.05 ng/ml for urine; 8.05 ng/ml for plasma; 7.66 ng/ml for serum; 10.75 ng/ml for whole milk; 6.38 ng/ml for skim milk, respectively. Statistically, there was no significant difference between progesterone concentration for plasma or serum ($P>0.05$): It might be concluded that urine can be used as a sample to measure the level of progesterone.

Key words : Progesterone, Urine, Milk, Plasma, Serum).

Pendahuluan

Untuk kepentingan suatu uji hormon diperlukan suatu sampel tertentu yang biasanya berupa darah baik serum maupun plasma. Namun dalam prakteknya, para pemilik hewan terutama hewan besar kadang-kadang tidak rela apabila dilakukan pengambilan darah pada ternaknya. Hal demikian dapat dimaklumi karena pengambilan darah yang tidak sempurna dapat mengakibatkan hewan stres sehingga produktivitas menurun. Oleh karenanya, dilakukan upaya yang lain yakni sampel berupa air susu. Drajat, *et al.* (1991), menyatakan bahwa penggunaan air susu untuk pengukuran kadar progesteron sangat menguntungkan, karena pengambilan sampel tidak mengganggu tata laksana dan produksi ternak. Meskipun demikian pengambilan air susu tidak mungkin dilakukan apabila hewan sedang dalam keadaan kering.

Cunningham (1992), menjelaskan bahwa hormon steroid dapat diekskresikan lewat urin. Ditambahkan pula, bahwa urin juga merupakan salah satu sampel alternatif untuk uji suatu hormon tertentu (Anonimus, 1997).

Ini berarti bahwa apabila urin tersebut benar-benar dapat digunakan untuk mendeteksi suatu hormon, akan diperoleh beberapa keuntungan. 1) pengambilannya sangat mudah karena merupakan suatu limbah, 2) pemilik hewan tidak perlu khawatir terhadap timbulnya stres dan 3) tidak terbatas hewan jantan maupun betina saja.

Dari kenyataan tersebut di atas akan dilakukan suatu penelitian tentang perbandingan kadar progesteron yang terkandung dalam materi yang berbeda. Yang dimaksud dengan perbedaan sampel dalam hal ini meliputi plasma, serum, air susu *whole milk*, air susu tanpa lemak dan urin.

Progesteron merupakan hormon steroid yang disekresikan oleh sel-sel korpus luteum, plasenta dan kelenjar adrenal (Reeves, 1987). Pada sapi, perkembangan korpus luteum rata-rata mencapai ukuran maksimum pada hari ke-15 dan ke-16, kemudian mengalami regresi pada hari ke-21 (Bearden dan Fuquay, 1984). Tinggi rendahnya kadar progesteron selain dipengaruhi oleh stadium reproduksinya, juga tergantung dari sampel yang digunakan. Pada sampel *whole milk* kadar progesteron biasanya

lebih tinggi daripada kadar progesteron dalam plasma (Sanmande dan Batra, 1985), sedangkan kadar progesteron dalam plasma mempunyai korelasi dengan kadar progesteron yang diperoleh pada air susu tanpa lemak (Gao, *et al.*, 1988; Godoy, *et al.*, 1988).

Penelitian tentang perbedaan kadar hormon dalam sampel darah dan air susu telah banyak dilakukan di luar negeri, namun untuk pemeriksaan di Indonesia masih sangat jarang dilakukan apalagi pemeriksaan dengan menggunakan sampel urin belum pernah dilakukan.

Apabila penelitian berhasil dengan baik, maka akan diperoleh berbagai nilai rata-rata yang berbeda dari tiap jenis sampel. Oleh karenanya dapat diharapkan bahwa setelah berakhirnya penelitian ini seorang peneliti tidak terlalu mudah untuk mengambil suatu kesimpulan tentang kondisi suatu hewan, karena kadar rata-rata hormon progesteron selain dipengaruhi oleh status reproduksinya, juga tergantung dari sampel yang digunakan. Misalnya: kadar progesteron sebesar 6 ng/ml mungkin sudah menunjukkan suatu status bunting apabila sampel yang digunakan adalah air susu tanpa lemak. Hal yang demikian sangat berbeda apabila sampel berasal dari air susu *whole milk*.

Penelitian yang akan dikerjakan bertujuan untuk mengetahui:

1. Apakah urin benar-benar merupakan sampel alternatif untuk mengukur kadar hormon progesteron?
2. Rerata kadar hormon progesteron dari berbagai sampel yang berbeda
3. Nilai rerata kadar hormon progesteron pada kadar maksimum dari berbagai sampel yang berbeda

Materi dan Metode

1. *Pembuatan Sampel Urin Terhidrolisis.* Sepuluh ml urin diambil dari sapi, kemudian ditambahkan dengan 0,1 gram asam borat. Sampel urin selanjutnya disimpan dalam freezer -20°C . apabila sampel urin akan diasai, maka urin

dikeluarkan dari freezer kemudian diberi perlakuan sebagai berikut:

- a. Ambil 1 ml urin tersebut, dan masukkan ke dalam tabung reaksi. Apabila sampel bersifat keras atau terbentuk suatu endapan, sebaiknya dilakukan sentrifugasi, kemudian diambil supernatannya.
 - b. Tambahkan 200 ml HCl 12 N, ke dalam urin (a), beri tutup dan inkubasikan dalam waterbath 100°C selama 15 menit.
 - c. Larutkan sampel (c) sebanyak 10 ml kedalam 240 ml dari kalibrasi O.
 - d. Assaikan butir c untuk mengetahui kadar progesteronnya (Anonimus, 1997).
2. *Pembuatan Sampel Skim Milk.* Delapan sampai 10 ml air susu diambil setelah pemerahan pagi hari. Selanjutnya, semua sampel air susu dalam tabung diputar dalam sentrifus 1000 rpm selama 15 menit, lalu krim yang berada dipermukaan tabung dihisap dengan mesin penghisap (*suction pump*). Skim disimpan dalam freezer dengan suhu -18°C sampai dilaksanakan uji RIA (Mahaputra, 1990).
 3. *Penghitungan Kadar Hormon Progesteron.* Dalam penghitungan kadar hormon harus dibuat suatu kurva baku terlebih dahulu. Untuk mendapatkan hasil asai yang optimal telah dilakukan beberapa uji sebagai berikut:
 % NSB : 3,5% uji sensitivitas : 0,36 ng/ml
 % MB : 38,54%

Intersept 20% : 40 ng/ml
 50% : 3,6 ng/ml
 80% : 0,32 ng/ml

Prosedur pelaksanaan

Dalam penelitian ini dibutuhkan 8 ekor sapi betina, dengan status reproduksi 16 hari setelah estrus. Maksud pengambilan pada hari ke-16 setelah estrus karena diperkirakan pada saat tersebut terjadi puncak sekresi progesteron. Dari sapi tersebut diambil: 1) 10 cc darah. Pengambilan darah dilakukan di daerah

vena jugularis, kemudian ditampung ke dalam 2 macam tabung reaksi yakni yang tanpa dan mengandung antikoagulan. Dari darah yang ada dibuat plasma dan serum; 2) 10 cc air susu yang untuk selanjutnya dibuat dalam bentuk sediaan *whole milk* dan air susu tanpa lemak. Penghilangan kadar lemak dilakukan dengan metode Hartantyo (1995); 3) 10 cc urin yang untuk selanjutnya disimpan di dalam freezer dengan suhu -20°C sampai seluruh target sampel terpenuhi.

Jenis materi sampel yang berbeda tersebut selanjutnya dianalisis kadar hormonnya dengan menggunakan RIA.

Analisis hasil

Data/hasil yang diperoleh selanjutnya dicari nilai reratanya dan dibuat suatu perbandingan.

Hasil dan Pembahasan

Dari penelitian yang telah dikerjakan diperoleh hasil sebagai berikut: nilai rerata konsentrasi progesteron dalam urin 3,05 ng/ml; plasma 8,05 ng/ml; serum 7,66 ng/ml; *whole milk* 10,75 ng/ml dan skim milk 6,83 ng/ml. (Tabel 1).

Bila dibandingkan dengan materi yang lainnya, kadar progesteron dalam urin ternyata

mempunyai kadar yang paling rendah. Meskipun demikian, hal tersebut sudah dapat membuktikan bahwa urin merupakan salah satu sampel yang dapat digunakan untuk mengukur progesteron. Cunningham (1992) mengatakan bahwa selain darah, hormon steroid dapat pula disekresikan melalui air susu dan urin. Hal yang serupa telah dilaporkan urin yang terhidrolisis dapat digunakan untuk mendeteksi kadar testosteron (Anonimus, 1995). Apabila dianalisa secara statistik (ANOVA) nampak bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna ($P>0,05$) antara sampel serum, plasma dan skim milk (Tabel 2). Ini berarti bahwa pengambilan sampel baik serum, plasma dan skim milk mempunyai kandungan progesteron yang tidak menunjukkan adanya perbedaan. Dalam Anonimus (1997) dikatakan bahwa plasma yang diperoleh dari heparinized blood mempunyai hasil yang tidak berbeda dengan serum dalam prosedur *Coat-A-Count* total testosteron, sedangkan plasma EDTA mempunyai hasil rata-rata 10% lebih rendah. Ditambahkan oleh Gao *et al.* (1988); Goday *et al.* (1988) bahwa kadar progesteron dalam plasma mempunyai korelasi dengan kadar progesteron yang diperoleh pada air susu tanpa lemak.

Tabel 1. Nilai rerata kadar progesteron pada berbagai sampel yang berbeda (urin, plasma, serum, *whole milk* dan skin milk) (*The average level of progesterone in various samples*)

No. (Number)	Urin (Urine) (ng/ml)	Materi (Material)			
		Darah (Blood) (ng/ml)		Air susu (Milk) (ng/ml)	
		Plasma	Serum	Whole milk	Skim milk
1.	1,8	6,2	6,7	10,0	6,80
2.	5,2	8,5	8,0	11,5	5,80
3.	1,9	9,0	6,2	9,5	7,50
4.	2,6	8,0	8,0	9,5	6,80
5.	2,8	10,0	9,5	13,0	7,50
6.	1,2	6,2	6,4	9,5	5,80
7.	2,1	9,0	8,5	12,0	8,50
8.	6,8	7,5	8,0	11,0	7,00
x	3,05	8,05	7,66	10,76	6,83
SD	+ 1,8033	+ 1,3606	+ 1,1388	+ 1,3363	+ 0,9022

Tabel 2. ANOVA tentang korelasi progesteron pada sampel plasma, serum dan skim milk (ANOVA of progesterone level in plasma, serum and skin milk samples)

Sumber variasi (Source of variance)	db (df)	JK (SS)	SR (MS)	F	P
Materi (Material)	2	6,1358	3,0679	2,23	0,1328
Galat (Error)	21	28,9375	1,3779		
Total (Total)	23	35,0733			
R Kuadrat (R Square)	CV	MSE	Data Mean		
0,1749	15,6169	1,1738	7,966		

Penghitungan statistik untuk sampel yang lain tidak dilakukan karena secara nominal sangat nyata terlihat berbeda.

Untuk sapi perah di Jawa Timur dilaporkan kadar progesteron yang diamati pada air susu tanpa lemak masing-masing 2,0 nmol/L pada hari ke-10 dan 2,6 nmol/L pada hari ke-14 siklus estrus (Mahaputra, 1990). Dalam penelitian ini didapatkan hasil rerata yang lebih rendah dibandingkan dengan Mahaputra (1990) yakni 6,83 ng/ml ~ 2,14 nmol/L pada hari ke-16 siklus estrus. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh besarnya variasi umur pada sapi penelitian yang digunakan, juga adanya perbedaan kadar lemak dari masing-masing individu sapi. Hartantyo (1995) menyatakan bahwa pada kadar lemak susu 1%, maka kadar progesteron dalam susu skim adalah 90%. Pada kadar lemak 2%, kadar progesteron 48%, kadar lemak 3%, kadar progesteron 22%, kadar lemak 8%, kadar progesteron 20%, kadar lemak 9%, kadar progesteron 18%, kadar lemak 10%, kadar progesteron 17%. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa semakin meningkat kadar lemak susu, persentase progesteron dalam susu skim makin menurun.

Tinggi rendahnya kadar progesteron selain dipengaruhi oleh stadium reproduksinya juga tergantung dari sampel yang digunakan. Pada *whole milk* kadar progesteron biasanya lebih tinggi daripada kadar progesteron dalam plasma (Saumande dan Batra, 1985). Hasil yang didapatkan pada penelitian ini adalah sesuai dengan penelitian di atas yakni kadar

progesteron dalam air susu *whole milk* lebih tinggi daripada kadar di dalam plasma.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa kadar progesteron pada berbagai sampel sangat berbeda, kecuali kadar progesteron dalam plasma dan urin mempunyai nilai yang relatif sama. Urin merupakan salah satu materi yang dapat digunakan untuk mengukur kadar progesteron.

Daftar Pustaka

- Anonimus. 1997. Total Testosteron. Coat-A-Count. Diagnostics Products Corporation, Los Angeles, CA.
- Bearden, H. J., and J. W. Fuquay. 1984. Applied Animal Reproduction. 2nd. Reston Publishing Company, Inc. A Prentice-Hall Company Reston, Virginia.
- Cunningham, J. G. 1992. Textbook of Veterinary Physiology. W.B. Saunders Company. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo.
- Drajat, A. S., Mas'ud Hariadi, dan P. P. Prabowo. 1991. Akurasi Teknik Enzyme Immunoassay (EIA) untuk Determinasi Kadar Progesteron dalam Air Susu. Buletin FKH UGM, Vol. X No. 2, Hal. 2-3.
- Gao, Y., R. V. Short and T. P. Fletcher. 1988. Progesterone Concentration in Plasma,

- Saliva and Milk of Cows in Different Reproductive States. *Br. Vet. J.* 144; p. 262-268.
- Godoy, A. V., T. L. Haughes, R. S. Emery, L. T. Chapin and R. L. Fogwell. 1988. Association Between Energy Balance and Luteal Function in Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 71; p. 1063-1072.
- Hartantyo, S. 1995. Pengaruh Waktu dan Temperatur Inkubasi Terhadap Ikatan I 125 dengan Progesteron dalam Air Susu. *Buletin FKH UGM*. Vol. XIV No. 1. Hal. 107-111.
- Hartantyo, S. 1995. Kalkulasi Presentase Progesteron dalam Susu Skim Jika diketahui Temperatur Sentrifugasi dan Kadar Lemak Susu. *Buletin FKH UGM*. Vol. XIV, No. 2: 1-6.
- Mahaputra, L. M. 1990. Pengukuran Kadar Progesteron Air Susu dan LH Serum untuk Menentukan Status Reproduksi dan Upaya Penanggulangan Infertilitas pada Sapi Perah Pasca Lahir. Disertasi Doktor dalam Ilmu Kesehatan, Universitas Airlangga.
- Reeves, J. J. 1987. Endocrinology of Reproduction. In: *Reproduction Farm Animals*. E.S.E. Lea and Febiger, Philadelphia. P. 85-106.
- Saumande, J., and S. K. Batra, 1985. Superovulation in The Cows: Comparison of Oestradiol-17 beta an Progesterone Patterns in Plasma and Milk of Cows Induce to Superovulated; Relationship with Ovarian Responses. *J. Endocr.* 107: p. 259-264.