

PEMBERIAN EKSTRAK VESIKULA SEMINALIS MENINGKATKAN KUALITAS SPERMATOZOA TETAPI TIDAK MEMENGARUHI KONSENTRASI SPERMATOZOA DAN TESTOSTERON TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)

*The Administration of Seminal Vesicle Extract to Increase the Quality of Spermatozoa without Affects the Spermatozoa and Testosterone Concentration on White Rat (*Rattus norvegicus*)*

Tongku Nizwan Siregar¹, Muslim Akmal², Sri Wahyuni³, Hermawaty Tarigan⁴, Mulyadi⁴, dan Idawati Nasution⁵

¹Laboratorium Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁴Sekolah Menengah Kejuruan Pembangunan Pertanian Negeri Saree, Aceh Besar

⁵Laboratorium Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

E-mail: tongku_ns@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian ekstrak vesikula seminalis terhadap kualitas spermatozoa dan konsentrasi testosteron tikus putih (*Rattus norvegicus*). Dalam penelitian ini digunakan 20 ekor tikus putih jantan dewasa, galur Wistar, berumur 3-4 bulan, berat badan 250-300 g dan dibagi menjadi 4 kelompok (K1, K2, K3, dan K4), masing-masing kelompok berturut-turut diberikan 0,2 ml NaCl fisiologis, 25 µg cloprostenol, 0,2 ml ekstrak vesikula seminalis (EVS), dan 0,4 ml EVS secara intraperitoneal. Pada akhir perlakuan, seluruh tikus dikorbkan secara *dislocatio cervicalis*. Selanjutnya, kauda duktus epididimis dinekropsi untuk dikoleksi spermatozoanya. Pemeriksaan kualitas spermatozoa, meliputi motilitas dan konsentrasi spermatozoa. Pemeriksaan konsentrasi testosteron serum darah dilakukan menggunakan teknik *enzymelinked immunosorbant assay* (ELISA). Motilitas dan konsentrasi ($\times 10^6$) spermatozoa pada kelompok K1; K2; K3; dan K4 masing-masing adalah $3,00 \pm 0,00$; $3,20 \pm 0,28$; $2,00 \pm 0,86$; dan $3,20 \pm 0,28$ dan $146,60 \pm 71,90$; $187,80 \pm 60,80$; $124,20 \pm 64,70$; dan $129,40 \pm 27,07$. Konsentrasi testosteron pada kelompok K1; K2; K3; dan K4 masing-masing adalah $5,53 \pm 1,75$; $4,68 \pm 4,56$; $2,51 \pm 1,33$; dan $2,40 \pm 1,60$ ng/ml. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian EVS mampu meningkatkan motilitas spermatozoa tetapi tidak memengaruhi konsentrasi spermatozoa dan testosteron serum darah tikus putih.

Kata kunci: ekstrak vesikula seminalis, kualitas spermatozoa, testosteron, tikus putih

ABSTRACT

*This study aims to determine the effect of extracts of seminal vesicles (ESV) on sperm quality and concentration of testosterone on white rats (*Rattus norvegicus*). This study used 20 adult male white rats, Wistar strain, with the aged of 3-4 months, 250-300 g body weight. The samples were divided into 4 groups (K1, K2, K3, and K4), each group was given 0.2 ml physiological saline, 25 mg cloprostenol, 0.2 ml and 0.4 ml of ESV intraperitoneally, respectively. At the end of treatment, all rats were sacrificed by cervical dislocatio. Furthermore, cauda of epididymis duct was necropsied and spermatozoa were collected. The examination of sperm quality was carried out including sperm motility and concentration. Examination of testosterone concentration of blood serum was performed using the technique of enzymelinked immunosorbant assay (ELISA). Motility and concentration ($\times 10^6$) of spermatozoa in group K1, K2, K3, and K4 were 3.00 ± 0.00 , 3.20 ± 0.28 , 2.0 ± 0.86 , and 3.20 ± 0.28 , and 146.60 ± 71.9 , 187.80 ± 60.80 , 124.20 ± 64.70 , and 129.40 ± 27.07 , respectively. Testosterone concentrations in group K1, K2, K3, and K4, respectively, were 5.53 ± 1.75 ; 4.68 ± 4.56 ; 2.51 ± 1.33 ; and 2.40 ± 1.60 ng/ml. The results showed that the extract of seminal vesicle improves sperm motility but does not affect the concentration of spermatozoa and testosterone blood serum of white rats.*

Key words: seminal vesicle extract, quality of spermatozoa, testosterone, *Rattus norvegicus*

PENDAHULUAN

Keberhasilan program kegiatan inseminasi buatan dan transfer embrio pada ternak sangat tergantung pada kualitas dan kuantitas semen yang diejakulasikan seekor pejantan. Upaya untuk meningkatkan jumlah spermatozoa akan dapat meningkatkan jumlah semen yang dibekukan. Penggunaan prostaglandin $F_2\alpha$ ($PGF_2\alpha$) untuk meningkatkan kualitas spermatozoa masih menjadi polemik. Pada sapi, domba, babi, dan kuda, hormon $PGF_2\alpha$ terbukti dapat meningkatkan kualitas spermatozoa (Hess, 2002). Pada anjing, pemberian $PGF_2\alpha$ tidak memengaruhi kualitas spermatozoa (Traas dan Kustritz, 2004). Perbedaan hasil ini di samping karena perbedaan jenis hewan

diduga juga dipengaruhi oleh perbedaan *breed* atau galur (Bard, 1975).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian $PGF_2\alpha$ menurunkan jumlah normal spermatozoa selama tiga jam pertama setelah inseminasi. Penelitian lain menunjukkan bahwa prostaglandin membantu transpor spermatozoa menuju oviduk dengan merangsang kontraktilitas saluran reproduksi betina (Hawk dan Cooper, 1979). Selain itu, hasil penelitian Kelly *et al.* (1979) menunjukkan bahwa adanya korelasi antara jumlah spermatozoa dengan level prostaglandin seminal.

Upaya untuk meningkatkan kualitas dan kuantitas spermatozoa melalui pemberian $PGF_2\alpha$ dibatasi oleh kendala ketersediaan hormon $PGF_2\alpha$ di pasar lokal dan harga yang relatif mahal. Salah satu alternatif yang

dapat digunakan untuk mengatasi masalah di atas adalah penggunaan ekstrak vesikula seminalis (EVS) sebagai sumber PGF2 α . Vesikula seminalis pada umumnya merupakan sumber produksi prostaglandin. Hal ini telah dibuktikan Pemayun (2007) yang melaporkan konsentrasi PGF2 α yang tinggi pada EVS sapi bali yakni 1.750, 63 pg/ml.

MATERI DAN METODE

Dalam penelitian ini digunakan 20 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, galur Wistar, berumur 3-4 bulan dengan bobot badan 250-300 g. Sebelum perlakuan, tikus diaklimatisasi selama 7 hari di kandang hewan coba Laboratorium Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala. Tikus diberi pakan serta air minum secara ad libitum.

Prosedur Ekstraksi

Penelitian ini menggunakan vesikula seminalis sapi lokal aceh yang diambil dari Rumah Potong Hewan Kota Banda Aceh. Prosedur ekstraksi mengikuti petunjuk Pemayun (2007) yang sudah dimodifikasi. Organ vesikula seminalis diiris (*slicing*) dan direndam dengan metanol selama 24 jam. Supernatannya diambil serta dikeringkan pada rotari evaporator. Supernatan yang sudah dikeringkan, kemudian diambil sebanyak 2,5 g dan ditambahkan dengan 10 mg *carboxyl methyl cellulose* (CMC) dan dilarutkan dalam 25 ml NaCl fisiologis selama 5 menit pada suhu 37-40° C sehingga konsentrasi EVS menjadi 10%.

Rancangan Penelitian

Tikus dibagi atas 4 kelompok, masing-masing 5 ekor untuk setiap kelompok. Kelompok K1, K2, K3, dan K4 masing-masing diberi 0,2 ml NaCl fisiologis, 25 μ g *cloprostenol* (Prostavet C, Virbac S.A), 0,2 ml EVS, dan 0,4 ml EVS secara intraperitoneal. Perlakuan dilakukan selama 5 hari berturut-turut, dan pada akhir perlakuan, masing-masing tikus jantan tersebut dikorbankan dengan cara *dislocatio cervicalis*. Testis dinekropsi, lalu dipisahkan dari duktus epididimis. Selanjutnya kauda duktus dinekropsi, lalu disayat untuk pemeriksaan kualitas yang meliputi motilitas dan konsentrasi spermatozoa.

Motilitas Massa Spermatozoa

Ujung kauda epididimis ditusuk-tusuk dengan ujung kanul spuit 1 ml, sehingga semen menempel pada ujung spuit. Ujung spuit sudah yang mengandung semen, diteteskan pada gelas obyek yang sudah

dibubuhi larutan *phosphate buffer saline* (PBS) sebanyak 500 μ l lalu diaduk-aduk hingga merata. Kemudian gelas obyek ditutup dengan *cover glass* dan diamati motilitas massa spermatozoa dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x. Pemeriksaan motilitas massa spermatozoa dilakukan menurut Toelihere (1985), yakni 0= spermatozoa imotil atau tidak bergerak; nilai 1= gerakan berputar ditempat; nilai 2= gerakan berayun atau melingkar, kurang dari 50% bergerak progresif dan tidak ada gelombang; nilai 3= antara 50-80% spermatozoa bergerak progresif dan menghasilkan gerakan massa; nilai 4= Pergerakan progresif yang gesit dan segera membentuk gelombang dengan 90% spermatozoa motil; dan nilai 5= gerakan yang sangat progresif, gelombang yang sangat cepat menunjukkan 100% motil aktif.

Konsentrasi Spermatozoa

Konsentrasi spermatozoa dihitung menggunakan metode WHO (1999) menggunakan *slide* hemositometer. Suspensi spermatozoa yang belum diencerkan diisi ke dalam pipet eritrosit sampai tanda 0,5. Selanjutnya, larutan eosin 0,2% dihisap menggunakan pipet eritrosit sampai tanda angka 101. Kemudian larutan dihomogenkan membentuk angka 8 selama 2-3 menit. Beberapa tetes dibuang dan dihomogenkan kembali, kemudian diambil satu tetes lalu ditempatkan di bawah gelas penutup hemositometer pada ketebalan 0,1 mm. Konsentrasi spermatozoa dihitung pada kamar hitung Neubauer. Perhitungan konsentrasi sperma = Z x 1 juta sperma/ml.

Pengukuran Konsentrasi Testosteron

Penghitungan konsentrasi testosteron dilakukan dengan teknik *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) dengan menggunakan kit testosteron.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Motilitas Spermatozoa

Data persentase motilitas spermatozoa tikus putih setelah pemberian EVS disajikan pada Tabel 1. Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa pemberian EVS memperlihatkan adanya penurunan motilitas spermatozoa pada kelompok K3 bila dibandingkan dengan kelompok K1, K2, dan K4. Namun sebaliknya, pemberian EVS menunjukkan peningkatan motilitas spermatozoa pada kelompok K4 bila dbandingkan kelompok K1. Rata-rata persentase motilitas spermatozoa yang terendah terlihat pada perlakuan EVS 0,2 ml (K3) yaitu 2,00 \pm 0,86, sedangkan perlakuan

Tabel 1. Hasil pemeriksaan kualitas spermatozoa dan konsentrasi testosteron tikus putih pada berbagai kelompok perlakuan pemberian hormon dan ekstrak vesikula seminalis

Parameter	Perlakuan			
	K1	K2	K3	K4
Motilitas	3,00 \pm 0,00 ^a	3,20 \pm 0,28 ^b	2,00 \pm 0,86 ^a	3,2 \pm 0,28 ^b
Konsentrasi (x 10 ⁶ /ml)	146,60 \pm 71,90 ^a	187,80 \pm 60,80 ^a	124,20 \pm 64,70 ^a	129,4 \pm 27,07 ^a
Testosteron (ng/ml)	5,53 \pm 1,75 ^a	4,68 \pm 4,56 ^a	2,51 \pm 1,33 ^a	2,40 \pm 1,60 ^a

^{a,b}Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata (P<0,05). (K1= 0,2 ml NaCl fisiologis; K2= 25 μ g prostaglandin; K3= 0,2 ml ekstrak vesikula seminalis; K4= 0,4 ml ekstrak vesikula seminalis)

EVS dengan dosis 0,4 ml (K4) dapat menginduksi peningkatan motilitas spermatozoa sebesar $3,20 \pm 0,28$. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian EVS dosis 0,4 ml dapat meningkatkan motilitas spermatozoa seperti halnya penggunaan hormon PGF2 α (K2).

Mekanisme peningkatan motilitas akibat pemberian EVS diduga mempunyai mekanisme yang sama dengan pemberian PGF2 α . Menurut Schlegel *et al.* (1981), PGF2 α berperan dalam meningkatkan motilitas sperma. Hal ini dibuktikan dengan inaktivasi PGF2 α pada sperma melalui inkubasi dengan prostaglandin 15-*hydroxydehydrogenase* mengakibatkan penurunan motilitas sperma.

Herawati dan Widiarso (2003) melaporkan bahwa penambahan 2,0 mg PGF2 α dapat meningkatkan motilitas spermatozoa kambing sebelum diencerkan. Peningkatan motilitas spermatozoa tersebut disebabkan karena prostaglandin dapat mengaktifkan elemen kontraktil spermatozoa yaitu lapisan serabut yang mengelilingi *acronema* sentral dari bagian utama spermatozoa.

Prostaglandin dapat meningkatkan motilitas sperma melalui transpor pasif dengan menginduksi kontraksi uterus. Transportasi spermatozoa adalah kombinasi dari transpor aktif dan pasif. Transpor aktif adalah hasil dari gerakan alami sel sperma sedangkan transportasi pasif disebabkan oleh kontraksi uterus (Anonimus, 2005). Suropto *et al.* (2003) melaporkan bahwa PGF2 α yang diberikan pada kelinci dapat meningkatkan kecepatan pengangkutan spermatozoa dari kauda epididimis ke vas deferens. Secara *in vitro*, pemberian PGF2 α meningkatkan kontraksi tubulus seminiferus tikus serta meningkatkan transpor spermatozoa, akibatnya terjadi peningkatan jumlah sperma muda di dalam duktus epididimis. Gottlieb *et al.* (1988) melaporkan bahwa PGF2 α berperan penting dalam meregulasi motilitas spermatozoa dengan cara memediasi kandungan *adenosine triphosphate* (ATP) di dalam spermatozoa.

Konsentrasi Spermatozoa

Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa pemberian EVS memperlihatkan kecenderungan peningkatan konsentrasi spermatozoa pada kelompok K2 bila dibandingkan dengan kelompok K1, K3, dan K4. Konsentrasi spermatozoa tikus putih setelah pemberian EVS pada masing-masing perlakuan mengalami penurunan dibandingkan dengan K1 dan K2. Rata-rata konsentrasi spermatozoa tertinggi terdapat pada kelompok K2 yakni sebesar $187,80 \pm 60,80$, sedangkan rata-rata terendah terdapat pada kelompok K3 yakni sebesar $124,20 \pm 64,70$. Selain itu, juga terlihat bahwa pemberian ekstrak vesikula seminalis dengan dosis 0,4 ml lebih baik dibandingkan dosis 0,2 ml, meskipun hal tersebut jauh lebih rendah dibandingkan konsentrasi spermatozoa pada kelompok K1. Hal tersebut mengindikasikan bahwa bahwa pemberian EVS dengan dosis 0,2 dan 0,4 ml belum mampu menginduksi peningkatan konsentrasi spermatozoa pada tikus putih. Rendahnya konsentrasi spermatozoa pada kelompok perlakuan pemberian EVS kemungkinan disebabkan

karena masih rendahnya konsentrasi PGF2 α dalam EVS tersebut.

Efek pemberian PGF2 α terhadap konsentrasi spermatozoa dilaporkan dengan hasil yang berbeda. Hasil penelitian ini mendukung laporan Kreider *et al.* (1981), bahwa pemberian PGF2 α dapat menyebabkan penurunan jumlah spermatozoa pada kuda. Meskipun Hafs *et al.* (1974) melaporkan hal yang sebaliknya, bahwa pemberian PGF2 α dapat meningkatkan jumlah spermatozoa di dalam duktus deferens yang mungkin berkaitan dengan adanya peningkatan pergerakan spermatozoa yang keluar dari duktus epididimis. Selanjutnya Estienne dan Harper (2004) melaporkan bahwa tidak terdapat pengaruh pemberian PGF2 α terhadap konsentrasi sperma babi. Hess (2002) juga melaporkan hal yang sama, bahwa pemberian PGF2 α tidak memengaruhi konsentrasi spermatozoa. Hal ini diduga karena pemberian PGF2 α , di samping meningkatkan jumlah total sperma juga meningkatkan volume sperma sehingga konsentrasi relatif akan sama.

Konsentrasi Testosteron

Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa pemberian PGF2 α dan EVS memperlihatkan kecenderungan menurunkan konsentrasi testosteron, meskipun secara statistik tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata ($P > 0,05$). Hasil yang diperoleh pada penelitian ini berbeda dengan laporan Saifudini *et al.* (2005) yang melaporkan peningkatan konsentrasi testosteron domba yang diinduksi dengan PGF2 α . Perbedaan ini sejalan dengan peningkatan kualitas spermatozoa yang diperoleh pada penelitian tersebut. Meskipun demikian, hasil penelitian ini mendukung pernyataan Fuchs dan Chantharaksri (1981) yang menyatakan bahwa PGF2 α mempunyai aksi yang sama terhadap sel luteal tikus. Prostaglandin menurunkan konsentrasi testosteron karena aksinya menghambat *luteinizing hormone* (LH) yang mempunyai aksi menstimulasi produksi testosteron oleh sel Leydig. Perbedaan kedua hasil penelitian ini kemungkinan karena perbedaan jenis hewan. Fungsi PGF2 α pada domba kemungkinan sama dengan fungsi PGF2 α pada sapi. Haynes *et al.* (1977) melaporkan bahwa prostaglandin secara normal berperan dalam pelepasan LH pada sapi, sedangkan hambatan pelepasan LH dilakukan oleh testosteron melalui hambatan terhadap PGF2 α .

KESIMPULAN

Pemberian EVS mampu meningkatkan motilitas spermatozoa tetapi tidak memengaruhi konsentrasi spermatozoa dan konsentrasi testosteron pada tikus putih.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian Universitas Syiah Kuala, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan atas bantuan pendanaan kegiatan melalui skim Penelitian Hibah Pascasarjana

Tahun Anggaran 2013 Nomor: 388/UN11/A.01/APBN-P2T/2013, tanggal 29 April 2013.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 2005. **Does Prostaglandin Improve Sperm Motility?** University of Missouri, AgEBB, Missouri.
- Badr, F.M. 1975. Prostaglandin levels in tissues of the male reproductive system in six strains of mice. **Endocrinol.** 96:540-543.
- Estienne, M.J. and A.F. Harper. 2004. Semen characteristic and libido in boars treated repeatedly with PGF_{2α}. **J. Anim. Sci.** 82(5):1494-1498.
- Fuchs, A.T. and U. Chantharaksri. 1981. Prostaglandin F_{2α} regulation of LH-stimulated testosterone production in rat testis. **Biol. Reprod.** 25(3):492-501.
- Hawk, H.W. and B.S. Cooper. 1979. Increased retention of spermatozoa in the reproductive tract of estrous rabbits after administration of prostaglandin F_{2α} immediately before insemination. **J. Anim. Sci.** 49:154-157.
- Haynes, N.B., T.E. Kiser, H.D. Hafs, and J.D. Marks. 1977. Prostaglandin F_{2α} overcomes blockade of episodic LH secretion with testosterone, melengestrol acetate or aspirin in bulls. **Biol. Reprod.** 17(5):723-728.
- Herawati dan B.P. Widiarso. 2003. Pengaruh penambahan prostaglandin F_{2α} terhadap kualitas sperma pada semen kambing yang diencerkan dengan berbagai larutan. **J. Indon. Trop. Anim. Agric.** 28(2):74-78.
- Hess, M. 2002. The Effects of Prostaglandin F_{2α}, Oxytocin and Gonadotropin Releasing Hormone on Ejaculate Characteristics in The Dog. **Thesis.** Virginia Polytechnic Institute and State University, Virginia.
- Kelly, R.W., I. Cooper, and A.A. Templeton. 1979. Reduced prostaglandin levels in the semen of men with very high sperm concentrations. **J. Reprod. Fert.** 56:195-199.
- Kreider, J.L., W.L. Ogg, and J.W. Turner. 1981. Influence of prostaglandin F_{2α} on sperm production and seminal characteristics of the stallion. **Prostaglandin.** 22(6):903-913.
- Pemayun, T.G.O. 2007. Kadar Prostaglandin F_{2α} pada cairan vesikula seminalis dan produksi sel monolayer vesikula seminalis sapi bali. **J. Vet.** 8(4):167-172.
- Saifudini, M., S. Soebagyo, dan P.P. Putro. 2005. Pengaruh pemberian prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}) terhadap kualitas semen dan kadar testosteron domba lokal. **Agrosains.** 18(4):Abstrak.
- Schlegel, W., S. Rotermund, G. Färber, and E. Nieschlag. 1981. The influence of prostaglandins on sperm motility. **Prostaglandins.** 21(1):87-99.
- Suripto, L.A. Sutasurya, Hasanuddin, dan D.A. Adi. 2003. Pengaruh prostaglandin F_{2α} terhadap fertilitas tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar jantan. **JMS.** 5(2):69-81.
- Toelihere, M.R. 1985. **Fisiologi Reproduksi pada Ternak.** Angkasa, Bandung.
- Traas, A.M. and M.V.R. Kustritz. 2004. Effect of administering oxytocin or prostaglandin F_{2α} on characteristics of the canine ejaculate. **Can. Vet. J.** 45(12):999-1002.
- WHO (World Health Organization). 1999. **WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction.** 4th ed. Cambridge University Press, United Kingdom, Cambridge.