

Dinamika Perkembangan Folikel dan Profil Progesteron Plasma selama Siklus Estrus pada Sapi Perah

(Follicular Development Dynamics and Plasma Progesterone Profile during the Estrous Cycle of Dairy Cows)

Prabowo Purwono Putro*, Raden Wasito, Hastari Wuryastuty dan Soedarmanto Indarjulianto

Fakultas Kedokteran Hewan Bagian Reproduksi dan Obstetri, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

ABSTRACT: A total of five local Friesian cows, 4 to 5 years, healthy, reproductively sound, were used in the study to understand the development dynamics of dominant follicles and plasma progesterone profile during estrous cycle. Transrectal ultrasonographic examination using real time, B-mode, with 7.5 MHz transducer was performed daily for one full cycle to follow the development of dominant follicle and corpus luteum dynamics. Blood plasma was collected daily to determine progesterone levels using EIA technique. Follicular development dynamics and plasma progesterone levels were analyzed statistically using analyses of variance, while correlation between plasma progesterone levels and corpus luteum size were tested using correlation analyses. The length of estrous cycle in local Friesian cow was 21.00 ± 1.00 days. Follicular dynamics during estrous cycle indicated only had two waves of dominant follicular development. The first wave of dominant follicle was firstly identified on day 3, reached maximum diameter (11.17 ± 0.90 mm) on day 11 and identifiable until day 15. The second dominant follicle appeared on day 11, reached maximum size on day 21 (13.17 ± 0.69 mm) and underwent ovulation on the next day. The increased diameter of dominant follicle from days 17 to 21 was linear with growth rate of 1.20 ± 0.18 mm/day. Ovulatory dominant follicle had larger size than non-ovulatory ones ($P < 0.05$). Corpus luteum was ultrasonically detectable from days 5 to 19 of the estrous cycle. The maximum size of corpus luteum (11.83 ± 0.75 mm) attained on day 11, and then regressed substantially till day 19. Plasma progesterone level started to rise during the luteal phase, reached the peak level on day 12 (4.64 ± 0.23 ng/ml) and then decreased steadily till the lowest level (0.42 ± 0.05 ng/ml) at the time of estrus. The plasma progesterone profile and the corpus luteum development were concomitant each other during estrous cycle of the cow. It can be concluded that the follicular dynamics during estrous cycle in local Friesian cows only had two waves of dominant follicular development, while plasma progesterone levels manifested corpus luteum function throughout the estrous cycle.

Key Words: Follicle, corpus luteum, progesterone, estrous cycle, cow

Pendahuluan

Dinamika folikel ovaria pada sapi terjadi dalam bentuk gelombang-gelombang perkembangan folikel. Suatu gelombang perkembangan folikel meliputi pertumbuhan serentak sekelompok folikel, satu diantaranya akan menjadi folikel dominan, mencapai ukuran terbesar, serta akan menekan perkembangan folikel-folikel lain yang lebih kecil (Pierson *et al.*, 1988). Pemeriksaan ultrasonografi transrektum dari folikel memperlihatkan bahwa kebanyakan siklus estrus pada sapi mempunyai dua gelombang (Fortune, 1993 dan Garcia *et al.*, 1999) atau tiga gelombang (Ginther *et al.*, 2001) perkembangan folikel dominan. Suatu folikel dominan dalam perkembangannya sampai mencapai diameter

terbesar, berkembang secara linier selama kurang lebih 6 hari, dalam ukuran yang relatif sama selama 6 hari, kemudian akan mengalami regresi, ditunjukkan dengan pengecilan diameter antrum folikel. Gelombang perkembangan folikel dapat diikuti dengan pemeriksaan ultrasonografi mulai ukuran folikel pertama 4-5 mm pada hari 0 dan 10 untuk 2 gelombang dan hari 0, 9 dan 16 untuk 3 gelombang perkembangan folikel dominan (Ginther *et al.*, 2001 dan Jaiswal *et al.*, 2004). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dinamika perkembangan folikel dominan dan profil progesteron dalam plasma darah selama siklus estrus pada sapi perah bangsa peranakan *Friesian Holstein* (PFH).

Metode Penelitian

Sejumlah 5 ekor sapi perah betina peranakan *Friesian Holstein*, umur 4-5 tahun, sehat, mempunyai

*Korespondensi Penulis: prabowopp@yahoo.co.id

siklus reproduksi baik, digunakan dalam penelitian ini. Hewan dinyatakan siap untuk dipakai dalam penelitian bila skor kondisi tubuhnya sudah mencapai antara 3,0 - 3,5 dari suatu ukuran penilaian kondisi tubuh antara 1 (emasiasi) dan 5 (kegemukan) menurut Matsuda (1997). Pengamatan estrus berdasarkan pengamatan tingkah laku dan tanda-tanda luar sekurang-kurangnya 4 kali sehari, seperti metode yang dilaporkan oleh Sturman *et al.* (2000). Estrus merupakan *standing estrus* dan dihitung sebagai hari 0.

Pemeriksaan Ultrasonografi Ovaria

Pemeriksaan reproduksi dilakukan dengan alat ultrasonografi *real-time* transrektal, B-mode (Honda HS-2000, Honda Electronics Co. Ltd., Tokyo, Japan). *Probe* yang digunakan merupakan transduser transrektum, mempunyai daya panjang gelombang ultrasonik 7,5 MHz, lebar *probe* 2 cm, serta dengan panjang kabel penyambung 3,5 meter. Sapi ditempatkan dalam suatu kandang jepit, kemudian rektum dievakuasi faecesnya dan diperiksa struktur ovarianya. Pemeriksaan ovaria dilakukan setiap hari selama satu siklus estrus penuh oleh operator yang sama.

Pemeriksaan ultrasonografi ovaria dilakukan dengan metode yang diperkenalkan oleh Singh *et al.* (1997) serta Garcia dan Salaheddine (1998). *Probe* dilumasi dengan cairan lubrikansia (*coupling gel*) dan dimasukkan ke dalam rektum, dengan dipandu oleh genggaman tangan operator pada permukaan ovaria. *Probe* digunakan untuk pemindaian permukaan ovarium dari lateral ke medial dan sebaliknya beberapa kali. Pengukuran folikel dominan dan korpus luteum menggunakan metode Pierson dan Ginther (1988). Ukuran folikel dominan merupakan diameter antrum folikel, tidak termasuk dinding folikel. Folikel tampak sebagai struktur bulat, berwarna hitam, serta berbatas tegas. Korpus luteum tampak sebagai struktur dengan ekhogenisitas rendah, pada layar monitor sebagai struktur berwarna abu-abu. Ukuran korpus juga diukur dengan cara diukur rerata diameter terpanjang dan terpendek. Waktu ovulasi ditentukan dari menghilangnya folikel dominan dengan diameter lebih dari 10 mm secara tiba-tiba.

Pengambilan Plasma Darah dan Determinasi Progesteron Plasma

Darah diambil dari vena coccygea semua hewan penelitian, menggunakan tabung vakum 10 ml berisi lithium heparin. Tabung kemudian disentrifugasi

dengan kecepatan 3.000 rpm selama 10 menit, kemudian plasma darah dipisahkan dan dipindahkan ke tabung plastik bertutup ukuran 1 ml dan seterusnya disimpan dalam suhu -20°C sampai saat dilakukan asai untuk hormon progesteron.

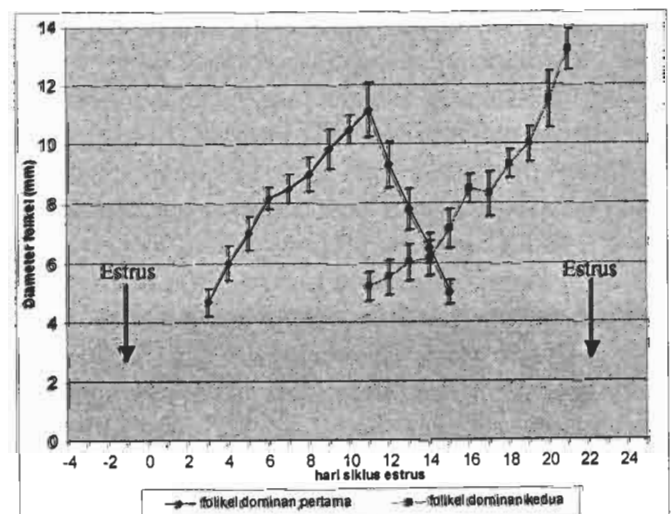
Determinasi kuantitatif progesteron dilakukan dengan metode EIA (*enzyme immunoassay*), menggunakan kit komersial (*Progesterone ELA Kit™*, Ridgeway Science, UK). Sensitivitas teknik ini sebesar 0,10 ng/ml, koefisien intraasai dan interasai kurang dari 10%, reaksi silang terhadap steroid lain kurang dari 2%.

Analisis Data

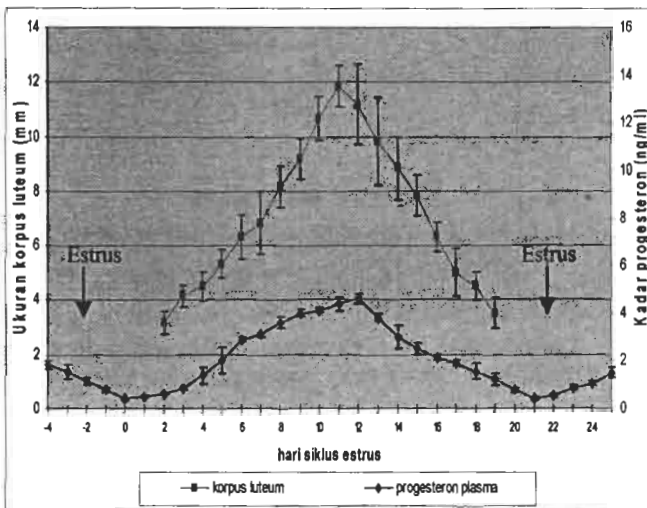
Data yang dicatat meliputi dinamika perkembangan folikel dan korpus luteum, serta kadar hormon progesteron plasma darah. Dinamika perkembangan folikel dan konsentrasi progesteron plasma dianalisa menggunakan analisis varian, sedangkan korelasi antara konsentrasi progesteron plasma dan ukuran korpus luteum diuji dengan analisis korelasi. Semua perhitungan statistik dilakukan dengan menggunakan program SPSS 13.0 for Windows XP (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA).

Hasil dan Pembahasan

Panjang siklus estrus dari sapi PFH dalam penelitian ini adalah $21,00 \pm 1,00$ hari. Perkembangan dinamika folikel dominan, korpus luteum, dan profil progesteron plasma selama siklus estrus disajikan pada Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 1. Grafik perkembangan dinamika folikel dominan pertama dan kedua selama siklus estrus pada sapi PFH



Gambar 2. Perkembangan korpus luteum dan profil progesteron plasma selama siklus estrus pada sapi PFH

Diameter folikel dominan pada hari ke 21 pada saat menunjukkan gejala estrus adalah $13,17 \pm 0,69$ mm. Peningkatan diameter folikel dominan dari hari 17 sampai 21 bersifat linier dengan kecepatan pertumbuhan $1,20 \pm 0,18$ mm/hari. Tiga dari 5 folikel ovulasi (60%) folikel berkembang dalam ovarium kanan, sedangkan 2 folikel ovulasi (40%) berkembang dalam ovarium kiri. Letak di dalam ovaria kanan atau kiri dari folikel dominan, folikel ovulasi dan korpus luteum tidak mempunyai pola spesifik dari 5 siklus estrus sapi PFH yang diteliti.

Dengan mengikuti perkembangan folikel secara individual, dalam penelitian ini hanya ditemukan perkembangan 2 gelombang folikel dominan dalam satu siklus estrus pada sapi PFH. Folikel dominan pertama diidentifikasi mulai hari ke 3 mencapai ukuran maksimum $11,17 \pm 0,90$ mm sekitar hari ke 11 dan masih dapat dideteksi sampai dengan hari ke 15. Folikel dominan kedua muncul mulai hari ke 11, mencapai ukuran maksimum pada hari ke 21. Folikel ini akan mengalami ovulasi pada hari berikutnya. Folikel dominan ovulasi mempunyai ukuran yang lebih besar daripada folikel dominan non-ovulasi ($13,17 \pm 0,69$ mm *versus* $11,17 \pm 0,90$ mm, $P < 0,05$). Pada pertengahan siklus estrus, proses perkembangan dan atresia folikel lebih lambat daripada awal atau akhir siklus estrus.

Hasil ini memang sedikit berbeda dengan penemuan-penemuan sebelumnya, seperti Noseir (2003) dan Fricke (2004) yang melaporkan adanya 2 dan 3 gelombang, sedangkan Salverson (2006) menemukan bahwa disamping adanya 2 dan 3 gelombang, kadang-kadang ada juga 1 dan 4 gelombang perkembangan folikel dominan pada sapi

Friesian Holstein. Dalam hal perkembangan dan regresi folikel berukuran lebih dari 5 mm serta korpus luteum dapat diikuti sepanjang siklus estrus sapi, hasil pemeriksaan ultrasonografi ini juga sependapat dengan temuan para peneliti tersebut.

Adanya sedikit perbedaan pola perkembangan folikel dominan pada sapi PFH di daerah tropis ini diduga erat kaitannya dengan perbedaan lingkungan, antara lain termasuk status nutrisi, suhu, kelembaban udara dengan sapi *Friesian* di daerah subtropis.

Data diameter folikel terbesar dari penelitian ini secara konsisten sama dengan laporan peneliti-peneliti lain dari berbagai hari siklus estrus pada sapi perah (Fortune, 1993; Garcia *et al.*, 1999; Ginther *et al.*, 2001; Fricke, 2002, 2004; Fortune *et al.*, 2004). Pemeriksaan ovaria menunjukkan bahwa perkembangan suatu folikel anovulasi berdiameter lebih dari 10 mm dari hari ke 0 sampai hari ke 8, serta perkembangan selektif folikel preovulasi dari hari ke 17 sampai hari ke 21. Pola perkembangan folikel dominan selama siklus estrus dari penelitian ternyata sama dengan yang dilaporkan oleh Jaiswal *et al.* (2004).

Meskipun dalam penelitian ini pemeriksaan folikel dominan hanya berdasarkan pada morfologinya saja, hasil penelitian memunculkan dugaan bahwa pertumbuhan folikel merupakan suatu proses dinamik yang dikendalikan oleh proses lokal dan sistemik (Vassena *et al.*, 2003; Fortune *et al.*, 2004). Kecepatan tumbuh yang lebih tinggi pada folikel dominan kedua menjelang ovulasi, menunjukkan bahwa dominasi hormon progesteron pada fase lutea berakibat mengurangi kecepatan tumbuh folikel. Hormon progesteron ini mempunyai pengaruh umpan balik negatif terhadap produksi hormon gonadotropin, seperti laporan oleh Sirois dan Fortune (1988).

Pola dinamika folikel ovaria setengah pertama siklus estrus, hari ke 3 sampai 11, ditandai dengan perkembangan folikel dominan 1, akhirnya regresi dan menghilang setelah hari ke 15. Perkembangan folikel dominan kedua, hari ke 11 sampai estrus berikutnya, ditandai dengan perkembangan folikel baru, akhirnya mengalami ovulasi setelah estrus. Pola dinamika perkembangan folikel ovulasi yang sama juga diamati oleh Savio *et al.* (1988) dan Ginther *et al.* (2001) yang mengikuti perkembangan folikel selama siklus estrus pada sapi *Friesian Holstein*.

Pada pertengahan siklus estrus, proses perkembangan dan atresia folikel lebih lambat daripada awal atau akhir siklus estrus, diduga karena

hambatan dari hormon progesteron pada sekresi hormon gonadotropin, seperti yang dilaporkan juga oleh Fortune *et al.* (2004). Sesuai dengan pengamatan Lobb dan Dorrington (1993), Burke *et al.* (1998) serta Ginther *et al.* (2001) bahwa perkembangan folikel dominan menghambat pertumbuhan lebih lanjut dari folikel-folikel kecil pada kedua ovaria, karena terjadinya regulasi intraovaria dalam perkembangan lebih lanjut folikel.

Korpus luteum dapat dideteksi ultrasonik mulai hari ke 5 sampai 19 dari siklus estrus. Ukuran maksimum korpus luteum $11,83 \pm 0,75$ mm dicapai pada hari ke 11 dari siklus estrus. Ukuran korpus luteum kemudian mengalami regresi secara tetap sampai 2 hari menjelang estrus, akhirnya tidak dapat diikuti lagi.

Perubahan dalam rerata kadar progesteron plasma paralel dengan ukuran korpus luteum sepanjang siklus estrus. Pola perkembangan korpus luteum yang mulai berkembang pada hari ke 2, mencapai ukuran maksimum hari ke 11, kemudian berangsur-angsur mengalami regresi, sampai hari ke 20 tidak dapat dideteksi lagi secara ultrasonografi. Kadar hormon progesteron selama siklus estrus, mulai meningkat setelah memasuki fase lutea, mencapai puncak hari ke 12 dan berangsur-angsur menurun hingga mencapai $0,42 \pm 0,05$ ng/ml pada saat estrus. Perubahan-perubahan pola perkembangan korpus luteum dengan kadar hormon progesteron terjadi secara paralel satu sama lain sepanjang siklus estrus sapi, seperti ditunjukkan dengan tingginya koefisien korelasi ($r = 0,913$). Kadar progesteron mulai meninggi seiring dengan meningkatnya ukuran korpus luteum, mencapai kadar puncaknya sewaktu ukuran korpus luteum mencapai maksimum, kemudian kadarnya menurun pada saat ukuran korpus luteum mengalami regresi. Kenyataan ini sependapat dengan tulisan Tom *et al.* (2000), O'Connor (2003), Shearer (2004). dan Salverson (2006) bahwa dinamika perkembangan dan regresi korpus luteum dapat diikuti dengan melihat profil kadar progesteron plasma darah.

Kesimpulan

Dinamika folikel selama siklus estrus pada sapi peranakan *Friesian Holstein* (PFH) hanya ditandai dengan 2 gelombang pertumbuhan folikel dominan. Folikel dominan pertama muncul hari 3-15 mencapai ukuran maksimum sekitar hari 11. Folikel dominan kedua muncul mulai hari 11, mencapai ukuran

maksimum hari 21, serta mengalami ovulasi pada hari berikutnya. Profil progesteron plasma darah mencerminkan status fungsi korpus luteum selama siklus estrus.

Daftar Pustaka

- Burke, J. M., J.H. Hampton, C.R. Staples and W.W. Thatcher, 1998. Body condition influences maintenance of a persistent first wave dominant follicles in dairy cows. *Theriogenology* 49: 751-760.
- Fortune, J.E., 1993. Follicular dynamics during the bovine estrous cycle: A limiting factor in improvement of fertility. *Animal Reproduction Science* 33: 111-125.
- Fortune, J.E., G.M. Rivera and M.Y. Yang, 2004. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Animal Reproduction Science* 82-83: 109-126.
- Fricke, P. M., 2002. Scanning the future-ultrasonography as a reproductive management tool for dairy cattle, *Journal of Dairy Science* 85: 1918-1926.
- Fricke, P. M., 2004. Potential applications and pitfalls of ultrasound for managing reproduction in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 87: 912-916.
- Garcia, A. and M. Salaheddine, 1998. Ultrasonic morphology of the corpora lutea and central lutea cavities during selection of recipients for embryo transfer. *Theriogenology* 49: 243. (Abstract).
- Garcia, A., G.C. Van Der Weijden, B. Colenbrander and M.M. Bevers, 1999. Monitoring follicular development in cattle by real-time ultrasonography: A Review. *Veterinary Record* 145: 334-340.
- Ginther, O. J., D. R. Bergfelt, M. A. Beg and K. Kot, 2001. Follicle selection in cattle: Relationship among growth rate, diameter ranking, and capacity of dominance. *Biology of Reproduction* 65: 345-350.
- Jaiswal, R. S., J. Singh and G.P. Adams, 2004. Developmental pattern of small antral follicles in the bovine ovary. *Biology of Reproduction* 71: 1244-1251.
- Lobb, D.K. and J. Dorrington, 1993. Intraovarian regulation of follicular development. *Animal Reproduction Science* 28: 343-354.
- Matsuda, S., 1997. Body condition score of donor and recipient for cattle embryo transfer. *Manual of*

- Bovine Embryo Transfer*. Fukushima Embryo Transfer Center, Japan.
- Noseir, W.M.B., 2003. Ovarian follicular activity and hormonal profile during estrous cycle in cows: the development of 2 versus 3 waves. *Reproduction Biology and Endocrinology* 1: 50-56.
- O'Connor, M.L., 2003. *Milk Progesterone Analysis for Determining reproductive status*. College of Agricultural Sciences. Cooperative Extension Compendium. The Pennsylvania State University.
- Pierson, R. A. and O.J. Ginther, 1988. Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. *Theriogenology* 29: 21-37.
- Pierson, R. A., J.P. Kastelic and O.J. Ginther, 1988. Basic principles and techniques for transrectal ultrasonography in cattle and horses. *Theriogenology* 29: 1-19.
- Salverson, R., 2006. *Manipulation of the oestrus cycle in cow*. South Dakota State University-Cooperative Extension Service-USDA.
- Savio, J. D., L. Keenan, M.P. Boland and J.F. Roche, 1988. Pattern of growth of dominant follicles during the estrous cycle in heifers. *Journal of Reproduction and Fertility* 83: 663-671.
- Shearer, J. K., 2004. *The milk progesterone test and its applications in dairy cattle reproduction*. University of Florida. Cooperative Extension Service Compendium.
- Singh, J., R.A. Pierson and G.P. Adams, 1997. Ultrasound image attributes of the bovine corpus luteum: structural and functional correlates. *Journal of Reproduction and Fertility* 109 : 35 - 44.
- Sirois, J. and J.E. Fortune, 1988. Ovarian follicular dynamics during estrous cycle in heifers monitored by real-time Ultrasonography. *Biology of Reproduction* 39: 308-317.
- Sturman, R.W., J.J. Brockway and A.P. Barry, 2000. Fixed time artificial insemination in dairy cows. *Theriogenology* 49: 1338-1344.
- Tom, J.W., R.A. Pierson and G.P. Adams, 2000. Quantitative echotexture analysis of bovine corpora lutea. *Theriogenology* 49: 1345-1352.
- Vassena, R., G.P. Adams, R.J. Mapletoft, R.A. Pierson and J. Singh, 2000. Ultrasound image characteristics of ovarian follicles in relation to oocyte competence and follicular status in cattle. *Animal Reproduction Science* 76: 25-41.