

PEMBERIAN EKSTRAK EPIDIDIMIS BERPOTENSI MENINGKATKAN KONSENTRASI ESTROGEN KAMBING LOKAL JANTAN

(Administration of Epididymis Extract Have Potency to Increase the
Concentration of Estrogen in Male Local Goat)

Muslim Akmal¹⁾, Tongku Nizwan Siregar²⁾, Sri Wahyuni³⁾, Mustafa Kamal
Nasution⁴⁾, Mahdi Abrar⁵⁾, Syafruddin⁶⁾

¹⁾Laboratorium Histologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala

²⁾Laboratorium Reproduksi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala

³⁾Laboratorium Anatomi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala

⁴⁾Departemen PGMI, Fakultas Tarbiyah, Sekolah Tinggi Agama Islam Negeri

⁵⁾Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala

⁶⁾Laboratorium Klinik, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui efek pemberian ekstrak epididimis (EE) terhadap peningkatan konsentrasi estrogen kambing lokal jantan. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola *one way analysis of varians* (ANOVA). Dalam penelitian ini digunakan 12 ekor kambing lokal jantan berumur 1,5 tahun dengan bobot badan 14–16 kg. Kelompok K0 merupakan kelompok kontrol, hanya diinjeksi dengan 1 ml NaCl fisiologis, sedangkan kelompok KP1, KP2, dan KP3 kambing diberi perlakuan masing-masing berupa EE dengan dosis bertingkat, yaitu 1, 2, dan 3 ml ekor⁻¹ selama 13 hari berturut-turut. Pada akhir perlakuan (hari ke-14), dilakukan pengambilan darah kambing melalui vena yugularis untuk pemeriksaan konsentrasi estrogen dengan menggunakan teknik *enzim-linked immunosorbent assay* (ELISA). Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan ANOVA dan dilanjutkan dengan uji Tukey HSD dengan bantuan program SPSS 16,0 *for windows*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata konsentrasi estrogen kambing pada K0, KP1, KP2, dan KP3 masing-masing 266,00±159,18; 499,67±251,34; 465,00±282,31; dan 281,67±84,15. Hasil uji statistik menunjukkan tidak adanya pengaruh yang signifikan (P>0,05) antara kelompok K0 dengan kelompok perlakuan, namun dari hasil rerata terlihat adanya peningkatan konsentrasi estrogen antara kelompok K0 dengan kelompok perlakuan. Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa EE berpotensi meningkatkan spermatogenesis melalui peningkatan konsentrasi estrogen pada kambing lokal jantan.

Kata kunci: ekstrak epididimis, estrogen, fertilitas, spermatogenesis.

ABSTRACT

This study aims to determine the effect of epididymis extract (EE) on the estrogen level of local male goat. An experimental study was performed using a completely randomized design (CRD) pattern of one-way analysis of variance (ANOVA). 12 local male goats aged 1.5 years with body weight 14–16 kg were engaged. The K0 group as a control group, injected with only 1 ml physiological saline, while each KP1, KP2, and KP3 groups treated with multilevel EE dose, ie 1, 2, and 3 ml goat⁻¹ for 13 consecutive days. At the end of treatment (day 14th), blood samples were taken through the jugular vein for examining the estrogen concentration by using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) technique. Data gathered were later analyzed using ANOVA followed by Tukey's HSD in SPSS 16.0 for Windows. The result showed that the average concentration of estrogen on K0, KP1, KP2, and KP3 respectively were 266.00 ± 159.18; 499.67 ± 251.34; 465.00 ± 282.31; and 281.67 ± 84.15. Statistical analysis showed that there was no significant effect (P>0.05)

between groups K0 and the treatment group. However, from average values, it was seen increased estrogen concentrations between groups K0 and the treatment groups. From this study, it can be concluded that the EE has the potential to improve spermatogenesis and sperm quality through increasing the estrogen concentration in the local male goats.

Keywords: epididymis extract, estrogen, fertility, spermatogenesis.

PENDAHULUAN

Spermatogenesis merupakan proses yang panjang dan kompleks (Ramm *et al.* 2014) terhadap ekspansi dan perkembangan sel-sel germinal yang berlangsung di dalam tubulus seminiferus testis dan berperan penting dalam menentukan fertilitas pria (Walker 2010). Spermatogenesis berlangsung di dalam epithelium seminiferus dengan cara meningkatkan proses pembentukan spermatozoa dari spermatogonia. Tubulus seminiferus mengandung asosiasi sel-sel germinal spesifik dan sel-sel sertoli serta secara serentak proses spermatogenesis tersebut berlangsung dalam tahap-tahap epithelium seminiferus (Bois *et al.* 2010).

Spermatozoa testikular mendapatkan fertilitas hanya setelah satu atau dua minggu melakukan transit melalui epididimis. Setelah melalui saluran panjang epididimis, spermatozoa mampu melakukan pergerakan, kapasitas, migrasi di dalam saluran betina, berikatan dengan membran sel telur dan akhirnya berfusi dengan oosit dalam upaya mendapatkan embrio yang layak. Keseluruhan bahan-bahan spermatozoa tersebut diperoleh setelah adanya modifikasi yang teratur baik pada tingkat spermatozoon ataupun diperoleh dari sekitar epididimis itu sendiri (Dacheux & Dacheux 2014).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa di dalam epididimis terkandung sejumlah protein atau molekul yang berperan penting pada pematangan spermatozoa. Protein-protein tersebut adalah: *cluster of differentiation 52* (CD52), *G protein-coupled receptor 64* (GPR64), *beta-defensin 126* (DEFB126), *cysteine-rich secretory proteins-1* (CRISP1), *human sperm-associated antigen 11e* (SPAG11e), *carbonyl reductase P34H* (Sipilä *et al.* 2009), dan *pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide* (PACAP) (Tanii *et al.* 2011).

Testis mamalia merupakan suatu organ yang kompleks dengan dua fungsi penting, yaitu mensintesis hormon-hormon steroid dan memproduksi spermatozoa

melalui kontrol oleh gonadotropin dan sejumlah faktor yang disintesis secara lokal (Saez 1994), termasuk hormon estrogen (Carreau *et al.* 1999). Hasil penelitian kami terdahulu pada kambing lokal jantan menunjukkan bahwa pemberian EE dengan dosis 1–3 ml ekor⁻¹ selama 13 hari berturut-turut dapat meningkatkan kualitas spermatozoa khususnya motilitas dan konsentrasi spermatozoa (Akmal *et al.* 2015) serta peningkatan hormon testosteron (Akmal *et al.* 2014).

Testosteron merupakan hormon steroid yang berperan esensial dalam menjaga spermatogenesis dan fertilitas pria (Walker 2010), sedangkan estrogen merupakan metabolit testosteron (Meachem *et al.* 2005) dan disintesis oleh aromatase serta secara biologik terekspresi di dalam testis (Bois *et al.* 2010). Sintesis estrogen dari prekursor androgenik dikatalisasi oleh enzim kompleks aromatase yang terdapat di dalam retikulum endoplasmik dari sel-sel penghasil estrogen (Simpson *et al.* 1997). Aromatase merupakan tahap akhir dalam *pathway* steroidogenesis yang menyebabkan peningkatan pembentukan estrogen dari androgen, yang terdapat di dalam retikulum endoplasmik selular dari sejumlah jaringan (Carreau & Hess 2010). Penelitian ini bertujuan mengetahui efek pemberian EE terhadap peningkatan hormon estrogen kambing lokal jantan.

METODE PENELITIAN

Pembuatan Ekstrak Epididimis (EE)

Pembuatan EE mengacu pada metode Akmal *et al.* (2014) sebagai berikut: testis kambing lokal jantan yang diperoleh dari Rumah Potong Hewan (RPH) Kota Banda Aceh direndam di dalam air agar mudah memisahkannya dari testis. Setelah dipisahkan dari testis, epididimis kemudian diiris-iris hingga berukuran kecil lalu ditimbang dan dihaluskan serta ditambahkan larutan akuabides sebanyak 10 ml/g epididimis, lalu disaring dengan kertas saring. Larutan EE yang telah diperoleh, disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 *rpm* selama 20 menit, lalu supernatnya diambil dan disimpan dalam *freezer* dan siap untuk digunakan.

Perlakuan Hewan Coba

Dalam penelitian ini digunakan 12 ekor kambing lokal jantan, berumur 1,5 tahun dengan berat badan antara 14–16 kg dan dibagi atas empat kelompok, yakni

K0, KP1, KP2, dan KP3. Kelompok K0 merupakan kelompok kontrol yang hanya diinjeksi dengan 1 ml NaCl fisiologis, sedangkan kelompok KP1, KP2, dan KP3 kambing diberi perlakuan berupa EE dengan dosis bertingkat, yaitu 1, 2, dan 3 ml/ekor selama 13 hari berturut-turut. Pada akhir perlakuan (hari ke-14), dilakukan pengambilan darah kambing melalui vena yugularis untuk mendapatkan serum, lalu dilakukan pemeriksaan konsentrasi estrogen (Estradiol ELISA & EIA-DRG 2693) dengan menggunakan teknik *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA).

Prosedur Pengukuran Konsentrasi Estrogen (estradiol) dengan Teknik ELISA

Pertama sekali, *well* yang tersedia dimasukkan 25 μ l larutan standar, sampel, dan kontrol, yang dicampur masing-masing dengan 200 μ l *enzyme conjugate* estradiol. Kemudian larutan diinkubasi selama 120 menit pada suhu ruangan, lalu dikocok dengan cepat untuk mengeluarkan isi *well* yang selanjutnya dibilas sebanyak 3 kali dengan menambahkan larutan pencuci sebanyak 400 μ l pada setiap *well*. Pada masing-masing *well* dimasukkan sebanyak 100 μ l larutan *substrat solution* dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruangan. Reaksi enzimatik dihentikan dengan menambahkan 50 μ l *stop solution* kemasing-masing *well*. Nilai absorbansi dibaca pada ELISA reader setelah 10 menit dengan absorbansi 450 ± 10 nm.

Analisis Data

Data hasil pengukuran konsentrasi estrogen dianalisis dengan menggunakan *analysis of varians* (ANOVA). Apabila data signifikan, dilanjutkan dengan uji Tukey HSD dengan bantuan program *software* SPSS 16.0 for windows.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Data pengukuran terhadap konsentrasi estrogen kambing lokal jantan setelah pemberian EE disajikan pada Tabel 1. Rerata konsentrasi estrogen tertinggi terlihat pada kelompok KP1 yaitu $499,67 \pm 251,34$; lalu diikuti oleh KP2, $465,00 \pm 282,31$; KP3, $281,67 \pm 84,15$; dan K0, $266,00 \pm 159,18$. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak epididimis menyebabkan peningkatan konsentrasi estrogen, meskipun secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($P > 0,05$).

Tabel 1 Rerata konsentrasi estrogen kambing lokal jantan setelah pemberian EE

Kelompok	Rerata konsentrasi estrogen (ng ml ⁻¹) (X ± SD)
K0	266,00±159,18 ^a
KP1	499,67±251,34 ^a
KP2	465,00±282,31 ^a
KP3	281,67±84,15 ^a

Keterangan: notasi yang sama pada *superscrip* menunjukkan perbedaan yang tidak nyata (P>0,05).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa estrogen memegang peranan penting dalam menginduksi fungsi testikular (Gould *et al.* 2007) dan reproduksi pria (O'Donnell *et al.* 2001). Testis memproduksi estrogen akibat adanya aromatisasi oleh testosteron (Nitta *et al.* 1993), sehingga memengaruhi tipe-tipe sel utama di dalam testis (Gould *et al.* 2007).

Berdasarkan hasil penelusuran literatur yang kami lakukan diketahui bahwa hasil penelitian ini merupakan laporan pertama yang melaporkan tentang adanya efek EE terhadap peningkatan konsentrasi estrogen. Hasil penelitian kami terdahulu menunjukkan bahwa pemberian EE dapat meningkatkan konsentrasi testosteron (Akmal *et al.* 2014) yang diikuti dengan terjadinya peningkatan kualitas spermatozoa (Akmal *et al.* 2015).

Adanya peningkatan konsentrasi estrogen pada penelitian ini disebabkan oleh adanya peningkatan konsentrasi testosteron. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Meachem *et al.* (2005) yang menyebutkan bahwa estrogen merupakan metabolit dari testosteron. Hal ini bermakna bahwa apabila testosteron meningkat maka akan diikuti pula dengan peningkatan estrogen. Oleh karena itu, dapat dipahami bahwa adanya peningkatan kualitas spermatozoa pada penelitian sebelumnya (Akmal *et al.* 2015), selain karena adanya peran testosteron, namun juga oleh estrogen.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa estrogen menginduksi spermatogenesis pada tikus model *hypogonadal* (hpg) (Ebling *et al.* 2000). Fungsi estrogen di dalam testis dimediasi oleh 2 (dua) reseptor penting, yaitu estrogen receptor α (ER α) dan estrogen receptor β (ER β) yang juga terdapat di dalam testis. Pada tikus, ER β terekspresi di dalam sel-sel Leydig, sel-sel Sertoli, spermatogonia, dan *elongated* spermatid (Jefferson *et al.* 2000), sedangkan ER α terekspresi di dalam sel-sel *Leydig* tikus dewasa (Zhou *et al.* 2002). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada tikus

yang mengalami ER α *knockout* (ER α KO) menyebabkan terjadinya kerusakan sel-sel parah di dalam tubulus seminiferus (Gould *et al.* 2007). Hasil penelitian Carreau dan Hess (2010) menunjukkan bahwa pada tikus yang mengalami ER α KO selama 90 hari menyebabkan terjadinya dilatasi tubulus seminiferus dan semua sel-sel epitel mengalami penurunan jumlah yang sangat nyata. Selain itu, pada tikus yang mengalami ER α KO selama 180 hari menyebabkan terjadinya atrofi pada keseluruhan tubulus seminiferus. Oleh karena itu, berdasarkan hal tersebut dapat dipahami pentingnya peran estrogen pada spermatogenesis dan fertilitas jantan.

KESIMPULAN

Berdasarkan serangkaian penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa pemberian EE berpotensi meningkatkan spermatogenesis dan kualitas spermatozoa kambing lokal jantan melalui peningkatan konsentrasi estrogen.

UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada Dirjen Pendidikan Tinggi Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi, Rektor Universitas Syiah Kuala, dan Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Syiah Kuala atas kepercayaan yang diberikan kepada penulis melalui Tim Penelitian Pascasarjana Tahun Anggaran 2014 sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Gholib, S.Pt, M.Si., drh. Suriadi dan drh. Zul Azmi yang telah banyak membantu terhadap suksesnya pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Akmal M, Siregar TN, Wahyuni S. 2014. Eksplorasi Potensi Ekstrak Ductus Epididimis Sebagai Induktor Peningkatan Kualitas Sperma: Upaya Meningkatkan Populasi dan Mutu Genetik Kambing Lokal. [Laporan Penelitian]. Banda Aceh (ID): Lembaga Penelitian Universitas Syiah Kuala.

- Akmal M, Siregar TN, Wahyuni S, Hambal M, Sugito, Amiruddin, Syafruddin, Roslizawaty, Zainuddin, Adam M, Gholib, Iskandar CD, Rinidar, Asmilia N, Hamny, Joharsyah, Suriadi. 2015. Pemberian ekstrak epididimis berpotensi meningkatkan kualitas spermatozoa kambing jantan lokal. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 9(2): 168–173.
- Bois C, Delalande C, Nurmio M, Parvinen M, Zanatta L, Toppari J, Carreau S. 2010. Age- and cell-related gene expression of aromatase and estrogen receptors in the rat testis. *Journal of Molecular Endocrinology*. 45(3): 147–159.
- Carreau S, Genissel C, Billinska B, Levallet J. 1999. Sources of oestrogen in the testis and reproductive tract of the male. *International Journal of Andrology*. 22(4): 211–223.
- Carreau S, Hess RA. 2010. Oestrogens and spermatogenesis. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. 365(1546): 1517–1535.
- Dacheux JL, Dacheux F. 2014. New insights into epididymal function in relation to sperm maturation. *Reproduction*. 147: R27–R42.
- Ebling FJP, Brooks AN, Cronin AS, Ford H, Kerr JB. 2000. Estrogenic induction of spermatogenesis in the hypogonadal (hpg) mouse. *Endocrinology*. 141(8): 2861–2869.
- Gould ML, Hurst PR, Nicholson HD. 2007. The effects of oestrogen receptors α and β on testicular cell number and steroidogenesis in mice. *Reproduction*. 134(2): 271–279.
- Jefferson WN, Couse JF, Banks EP, Korach KS, Newbold RR. 2000. Expression of estrogen receptor beta is developmentally regulated in reproductive tissues of male and female mice. *Biology of Reproduction*. 62(2): 310–317.
- Meachem SJ, Robertson DM, Wreford NG, McLachlan RI, Stanton PG. 2005. Oestrogen does not affect the restoration of spermatogenesis in the gonadotrophin-releasing hormone-immunised adult rat. *Journal of Endocrinology*. 185: 529–538.
- Nitta H, Bunick D, Hess RA, Janulis L, Newton SC, Millette CF, Osawa Y, Shizuta Y, Toda K, Bahr JM. 1993. Germ cells of the mouse testis express P450 aromatase. *Endocrinology*. 132(3): 1396–1401.
- O'Donnell L, Robertson KM, Jones ME, Simpson ER. 2001. Estrogen and Spermatogenesis. *Endocrine Reviews*. 22(3): 289–318.
- Ramm SA, Schärer L, Ehmcke J, Wistuba J. 2014. Sperm competition and the evolution of spermatogenesis. *Molecular Human Reproduction*. 20(12): 1169–1179.

- Saez JM. 1994. Leydig cells: endocrine, paracrine and autocrine regulation. *Endocrine Reviews*. 15(5): 574–626.
- Simpson ER, Zhao Y, Agarwal VR, Michael MD, Bulun SE, Hinshelwood MM, Graham-Lorence S, Sun T, Fisher CR, Qin K, Mendelson CR. 1997. Aromatase expression in health and disease. *Recent Progress in Hormone Research*. 52(29): 185–213.
- Sipilä P, Jalkanen J, Huhtaniemi IT, Poutanen M. 2009. Novel epididymal proteins as targets for the development of post-testicular male contraception. *Reproduction*. 137(3): 379–389.
- Tanii I, Aradate T, Matsuda K, Komiya A, Fuse H. 2011. PACAP-mediated sperm–cumulus cell interaction promotes fertilization. *Reproduction*. 141(2): 163–171.
- Walker WH. 2010. Non-classical actions of testosterone and spermatogenesis. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. 365(1546): 1557–1569. doi:10.1098/rstb.2009.0258.
- Zhou Q, Nie R, Prins GS, Saunders PT, Katzenellenbogen BS, Hess RA. 2002. Localization of androgen and estrogen receptors in adult male mouse reproductive tract. *Journal of Andrology*. 23(6): 870–881.