

Hormon Progesteron Feses Pada Kambing Peranakan Ettawah Bunting

Progesterone Hormon of Feces on the Pregnant Ettawah Goat

Claude Mona Airin*, Amelia Hana, Sarmin, Pudji Astuti

Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada
Jalan Fauna No 2 Karangmalang Yogyakarta 55281

Article history

Received: May 18, 2021;

Accepted: Mar 26, 2022

* Corresponding author:

E-mail:

monaairin@ugm.ac.id

DOI:

[10.46549/jipvet.v12i1.224](https://doi.org/10.46549/jipvet.v12i1.224)



Abstract

The main obstacle of invasive hormone research of Ettawah crossbreed goats (PE) were the sample collection due to the aggressiveness of PE goats. Improper ways of handling the goats would result in stress which leads to bias on the data. This research aims to determine the level of fecal progesterone of PE goats during pregnancy. This research use 5 pregnant and 5 non-pregnant PE goats. Diagnosis of pregnancy was conducted by observing the absence of estrus after breeding. Fecal collection was conducted in week 4, 8, 12, 16, 20, and 2 weeks after parturition but sample collection of non-pregnant goats conducted once. The sample of fecal which has been collected then frozen and extracted using methanol 80% as much as 3 ml. The fecal extract was analyzed using EIA KIT progesterone. The results of measurement of fecal progesterone level were $6,282 \pm 950.96$ ng/gr of feces (week 4 of pregnancy); $18,391.8 \pm 2,584$ ng/gr (week 8 of pregnancy); $25,958.4 \pm 3,447.1$ ng/gr of feces (week 12 of pregnancy); $25,233.4 \pm 3,306$ ng/gr of feces (week 16 of pregnancy); $18,238.2 \pm 3,069.5$ ng/gr of feces (week 20 of pregnancy). The level of fecal progesterone in 2 weeks after giving birth was 516 ± 228.16 ng/gr of feces. Meanwhile, the level of fecal progesterone of non-pregnant PE goats is 254.2 ± 214.5 ng/gr of feces. The conclusion of the progesterone level of PE goats during pregnancy can be detected using the sample of feces with the highest level in week 12 of pregnancy.

Keywords: Feces; Non-invasive; PE Goats; Progesterone

Abstrak

Kendala utama penelitian hormonal secara invasive pada kambing Peranakan Ettawah (PE) pengambilan sampel pada hewan tersebut karena karakteristik kambing PE yang sangat agresif. Handling yang tidak tepat dapat menjadi stresor yang akan menghasilkan data yang bias. Penelitian ini bertujuan untuk mengukur kadar hormon progesteron feses pada kambing PE selama kebuntingan. Penelitian ini menggunakan 5 ekor kambing PE bunting dan 5 kambing PE tidak bunting. Diagnosa kebuntingan dilakukan dengan pengamatan tidak munculnya estrus setelah pengawinan. Pengambilan feses dilakukan pada minggu ke 4, 8, 12, 16 dan ke 20 dan 2 minggu setelah partus. Pada kambing tidak bunting, pengambilan sampel dilakukan 1 kali. Sampel feses yang telah terkumpul, dikeringbeku dan kemudian diekstraksi menggunakan methanol 80% sebanyak 3 ml untuk selanjutnya dianalisis menggunakan KIT Progesteron (Calbiotech^R USA). Hasil uji paralelisme menunjukkan adanya penurunan OD secara paralel seiring dengan besarnya pengenceran sampel. Kadar progesteron feses didapatkan, $6,282 \pm 950.96$ ng/gr feses (minggu ke 4 kebuntingan); $18,391,8 \pm 2584$ ng/gr fese (minggu ke 8 kebuntingan); $25,958, 4 \pm 3.447,1$ ng/gr feses (minggu ke 12 kebuntingan); $25,233,4 \pm 3.306$ ng/gr feses (minggu ke 16 kebuntingan); $18,238,2 \pm 3.069,5$ ng/gr feses (minggu ke 20 kebuntingan). Kadar progesteron feses 2 minggu setelah melahirkan adalah $516 \pm 228,16$ ng/gr feses sedangkan

progesteron kambing PE tidak bunting adalah $254,2 \pm 214,5$ ng/gr feses. Kesimpulan kadar progesteron kambing PE selama kebuntingan dapat dideteksi menggunakan sampel feses dengan kadar tertinggi pada minggu ke 12 kebuntingan.

Kata Kunci: Feses; Kambing PE, Non-invasif, Progesteron

PENDAHULUAN

Diagnosis kebuntingan pada kambing merupakan tahap esensial untuk efisiensi reproduksi dan manajemen pemeliharaan. Beberapa metode untuk diagnosis kebuntingan dapat berdasarkan data tidak munculnya kembali siklus estrus setelah perkawinan, palpasi transabdominal, laparoskopi, laparotomi, palpasi arteri uterin kaudal, rosette inhibition test, palpasi rectoabdominal, assay hormonal, assay protein pregnancy, dan ultrasonography (USG) (Karen, et.al, 2001). Deteksi kebuntingan berdasarkan pemeriksaan hormone progesterone memiliki akurasi 80 – 90% (Gonzales, et.al, 2004). Kambing PE merupakan jenis kambing yang mempunyai sifat agresif sehingga memerlukan keahlian saat akan mengambil sampel secara invasive seperti sampel darah. Pendeteksian hormon ada 2 macam yaitu secara in-vasif dan non in-vasif, pengelompokan ini berdasarkan manipulasi pada hewan. Pemeriksaan hormon secara noninvasive tidak hanya dilakukan pada satwaliar, beberapa penelitian telah membahas mengenai keuntungan penggunaan sampel non invasive unggas (Goymann, 2005), amfibi (Narayan, 2013), dan mamalia (Hodges et al., 2010). Salah satu keuntungan pengambilan sampel secara non invasive adalah tidak perlu memanipulasi hewan sehingga tidak menimbulkan stres. Karadaev (2015), metode deteksi kebuntingan secara non invasive akurat, mudah dilakukan dan sesuai dengan animal welfare.

Hormon steroid akan mengalami metabolisme di hati dan diekskresikan melalui empedu ke dalam usus, sehingga jumlah steroid feses yang terukur merefleksikan kondisi yang lalu (Palme, 2005). Variasi dalam jeda waktu tergantung pada spesies, dan aktivitas irama hewan (Jack, et.al, 2012). Pada hewan ruminansia kecil, ekstraksi feses dapat digunakan untuk menentukan kebuntingan dan penilaian fungsi reproduksi dengan metode

enzyme immunoassay. Menurut Cappezuto, et.al (2008) hormon metabolit progesteron dapat merefleksikan kadar serum progesteron dengan metode EIA. Peningkatan kadar progesterone dapat digunakan sebagai salah satu indikator terjadinya kebuntingan. Pada kambing, pemisahan secara dini kelompok kambing yang tidak bunting dan bunting dapat menurunkan resiko aborsi, *stillbirth* dan memudahkan dalam manajemen kesehatan (Wani, et al cit in Karadaev 2015). Penelitian ini dilakukan untuk mendeteksi kadar metabolit progesteron feses pada kambing PE selama kebuntingan.

METODE PENELITIAN

Hewan dan Koleksi Sampel

Penelitian ini menggunakan 5 kambing PE tidak bunting dan 5 kambing bunting milik peternakan rakyat daerah Cangkringan Yogyakarta. Sampel yang diambil adalah sampel feses seger yang ada dilantai kandang. Pengambilan sampel pada kambing bunting dilakukan selama kebuntingan yaitu pada minggu ke 4, 8, 12, 16, 20 dan 2 setelah partus. Pada kambing tidak bunting, pengambilan sampel dilakukan 1 kali. Metode ekstraksi feses berdasarkan prosedur kerja yang dinyatakan oleh Heistermann, et.al (1993). Sebanyak 5 gram feses basah dikeringbekukan menggunakan freezedryer dengan suhu -80°C selama 72 jam dan di pulverisasi menggunakan mortil. Sampel feses sebanyak 0,5 mg dicampur dengan methanol 80% sebanyak 3 ml menggunakan vortek selama 10 menit, dan disentrifuse selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Sampel feses kemudian disimpan dalam freezer sampai dilakukan analisis.

Asai Hormon

Pemeriksaan kadar progesteron menggunakan KIT EIA Progesteron komersial Calbiotech^R (USA). Prosedur pengerjaan pengujian hormone mengikuti cara kerja yang

tertulis dalam prosedur manual kit. KIT EIA yang digunakan mempunyai sensitivitas 0,22 ng/ml dengan koefisien variasi *intra assay* 1,62%-5,36 % dan *inter assay* 6,3% - 9,68%. Kadar progesteron standart yang digunakan 2,5 ng/ml sampai 40 ng/ml. Sebelum dilakukan assay enzyme konjugat diencerkan menggunakan assay buffer dengan perbandingan 1:21. Prosedur pemeriksaan sampel feses yang telah diekstraksi sebagai berikut: semua sampel dan kit kortisol diletakkan dalam temperatur ruangan (25° C). Sebanyak 10 ul standart dan sampel dimasukkan ke dalam sumuran, kemudian ditambahkan dengan 200 ul konjugat enzim konjugat ke dalam setiap sumuran. Proses berikutnya adalah inkubasi selama 60 menit pada suhu ruangan. Setelah inkubasi dilakukan pencucian tiga kali menggunakan *ELISA washer* kemudian diberi 100 ul TMB substrat dan diinkubasikan selama 15 menit. Tahap selanjutnya menambahkan larutan penyetop (*stop solution*) sebanyak 100 ul. Sumuran dibaca dengan *ELISA reader* dengan panjang gelombang 450 nm, hasil perolehan data yang berupa *optical density* (OD) diinterpolasikan secara *computerized* dengan menggunakan rumus umum: $y = -a \ln(x) + b$.

Validasi Asai

Validasi uji dilakukan dengan uji paralelisme terhadap asai hormone komersial Calbiotech (USA) dengan membandingkan

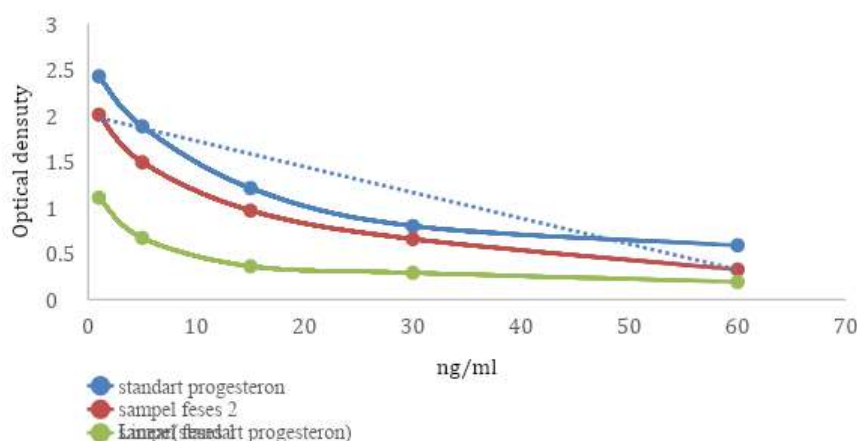
kurva standar kit dengan sampel ekstrak feses yang diencerkan dalam beberapa tingkat konsentrasi (1:5 – 1:40). Asai progesteron memiliki *cross reactivity* terhadap hormone steroid lain < 1%.

Analisa Statistik

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dengan menghitung nilai rata-rata dan standar deviasi kadar progesteron pada setiap pengambilan sampel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kambing PE merupakan jenis kambing yang mempunyai temperamen agresif, pemilihan sampel feses untuk pemeriksaan kadar hormon progesteron selama kebuntingan merupakan alternative untuk menghindari manipulasi yang berlebihan pada kambing. Penelitian Jack, et al (2012), kebuntingan pada kambing perah dapat dideteksi dengan pemeriksaan progesteron feses pada hari ke 19-20 setelah pengawinan. Hal ini selaras dengan hasil penelitian, feses kambing PE bunting mengandung metabolit progesteron, kadar hormon tersebut akan mengalami peningkatan selama periode kebuntingan. Akurasi pengukuran hormone progesteron dinilai dari hasil uji paralelisme yang dilakukan pada 2 sampel feses dengan nilai R^2 kurva baku = 0,98475 seperti yang tersaji pada Gambar 1 dan Tabel 1.



Gambar 1. Kurva hasil paralelisme sampel feses kambing PE bunting

Berdasarkan Gambar 1 dan Tabel 1 terlihat bahwa sampel feses 1 dan 2 mengalami penurunan optical density seiring dengan pengenceran yang dilakukan, sehingga dapat

dikatakan bahwa kurva sampel paralel. Menurut Nanik, et.al (2018), uji paralelisme adalah cara untuk menentukan bahwa hormone asai dapat mengukur hormone target secara

akurat. Hormon progesteron akan dimetabolisme dalam hati dan akan diekskresikan melalui empedu ke dalam feses

dalam bentuk *water-soluble metabolite pregnadiol 3-glucuronide* (IPDG).

Tabel 1. Nilai Optical Density Progesteron standra dan sampel pada uji pararelism

Kadar progesterone ng/ml	Pengenceran sampel	Net Optical Density (OD)		
		standart	sampel 1	sampel 2
0		0.335		
50		0.315		
100		0.285		
200	1:2	0.243	0.139	0.107
400	1:4	0.173	0.090	0.138
800	1:8	0.102	0.092	0.091
1600	1:16	0.066	0.084	0.084
3200		0.064		

Menurut Gholib, et al (20160, pararelism merupakan salah satu uji validasi analisis untuk menunjukkan kemampuan metode yang digunakan serta dapat digunakan untuk menetapkan pengenceran sampel yang optimal. Selain itu uji pararelism dapat juga digunakan validasi biologi, pada penelitian ini konfirmasi kebuntingan dilakukan dengan pengamatan tidak munculnya tanda estrus setelah

pengawinan. Menurut Karadaev (2015), metode tersebut merupakan metode yang murah dan praktis dibanding metode lain. Pengamatan non estrus return dapat dilakukan hari ke 17-21 setelah pengawinan. Pada penelitian ini kadar metabolit progesteron tinggi pada kebuntingan minggu ke 12 seperti yang tersaji pada Tabel 2.

Tabel 2. Kadar progesteron feses pada kambing PE bunting dan tidak bunting

		Kadar progesteron feses (ng/gr feses)						Tidak bunting
		Kebuntingan minggu ke-						
		4	8	12	16	20	+2*	
Mean	±	6.282 ±	18.391,8 ±	25.958,4 ±	25.233,4 ±	18.238,2 ±	516 ±	254,2 ±
SD		950,96	2584	3447.1	3.306	3.069,5	228,16	214,5

Keterangan: *setelah partus

Kadar metabolit progesteron kambing PE tidak bunting hanya berkisar $254,2 \pm 214,5$ ng/gr feses kadar hormone akan mulai meningkat pada minggu ke 4 mencapai $6.282 \pm 950,96$ ng/gr feses. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa diagnosis dini kebuntingan melalui pengukuran progesteron serum dapat dilakukan pada hari ke 19-21 hari setelah pengawinan pada domba dan kambing (Boscos, et al, 2009). Kadar progesteron feses mulai meningkat 2 hari setelah pengawinan dan akan mengalami puncak pada hari ke 11 mencapai $3.3535,3 \pm 292$ ng/gr feses dengan kadar baseline $344,3$ ng/gr feses (Jack, et al, 2012). Pada kambing Shami, kadar progesteron

serum tertinggi pada kebuntingan bulan ke 4 atau 16 minggu mencapai $9,15$ ng/ml namun pada kebuntingan kembar kadar progesteron tertinggi pada kebuntingan bulan ke 3 atau 12 minggu sebesar $10,0$ ng/ml (Husain, 2015). Menurut Airin, et al (2020), progesteron dan cortisol akan mengalami penurunan yang signifikan pada saat 2 minggu pasca partus. Kebuntingan merupakan *stressor* fisiologis yang dapat meningkatkan kadar kortisol (Duthie dan Reynolds, 2013). Menurut Hanim, et al (2021), proses kebuntingan pada hewan akan menimbulkan berbagai perubahan respon fisiologis.

Sebagian besar corpus luteum kambing tidak bunting akan mengalami regresi pada hari ke 21 sampai 24 setelah estrus diikuti dengan penurunan kadar progesteron secara drastis. Sebaliknya, pada kambing bunting, kadar progesteron akan tinggi mulai hari tersebut karena corpus luteum tidak mengalami regresi. Pada penelitian ini, kadar hormone metabolit progesteron mulai turun pada minggu ke 20 yaitu berkisar pada $18.238,2 \pm 3069,5$ ng/gr feses. Beberapa hasil penelitian mencatat bahwa ada perbedaan waktu saat mulai terjadi penurunan kadar metabolit progesteron pada kambing perah dimulai 6 hari sebelum partus (Jack, et. al, 2012); 19 hari sebelum partus pada kambing Dwarf (*Capra hircus*) (Khanum, et.al, 2008); 20 hari sebelum partus pada kambing persilangan (Khan and Ludri, 2002). Penurunan kadar hormone progesteron feses ini dapat diasumsikan sama dengan penurunan kadar hormone dalam serum sehingga dapat dikatakan bahwa penurunan kadar hormone metabolit progesteron berkorelasi dengan onset partus. Menurut Foncesca, et al (2005) penurunan kadar progesteron pada darah terjadi pada hari ke 13 sebelum partus, meskipun faktor yang mempengaruhi penurunan kadar progesteron tersebut belum diketahui.

KESIMPULAN

Kadar progesteron kambing PE selama kebuntingan dapat dideteksi menggunakan sampel feses dengan kadar tertinggi pada minggu ke 12 yaitu $25.958,4 \pm 3447,1$ ng/gr feses.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih pada kelompok ternak Ngudi Rejeki Cangkringan. Penelitian ini didanai oleh Hibah Pengembangan Bagian dengan No Kontrak 1009/J01.1.22/HK4/2018

DAFTAR PUSTAKA

Airin CM, Amelia H, Sarmin, & Pudji A. 2020. Fecal cortisol and progesterone concentrations in post partus of etawah crossbreed goat. Proceeding 1st ICVAES. Aceh, 15 Oktober 2019 - 17 Oktober 2019.

Boscós CM, Samartzi FC, Lymberopoulos AG, Stefanakis A & Belibasaki S. 2003. Assesment of Progesterone Concentration Using Enzymimmunoassay for Early Pregnancy Diagnosis in Sheep and Goats. *Reprod. Domest. Anim.* 38: 170-174

Cappezzuto A, Chelini MOM, Felipe ECG & Oliveira CA. 2008. Correlation Between Serum and Fecal Concentrations of Reproductive Steroids Throughout Gestation in Goat. *Anim. Reprod. Sci.* 103: 78-86

Duthie L and Reynolds RM. 2013. Changes in the Maternal Hypothalamic-Pituitary Adrenal Axis in Pregnancy and Postpartum: Influences on Maternal and Fetal Outcomes. *Neuroendocrinology* 2013; 98:106–115

Foncesca JF, Torres CAA, Costa EP, Maffili VV, Carvalho GR, Alves NG & Rubert M A. 2005. Progesterone Profile and reproductive performance of Estrous-Induced alpine Goats Given hCG Five Days After Breeding. *Anim. Reprod.* 2: 54-59

Gholib SW, Okta HK, Mulyadi A, Triva ML, Azhar, Muslim A, Tongku NS, Teuku A & Taufiq PN. 2016. Measurement of Serum Testosterone in Kacang Goat by using Enzyme- Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Technique: The Importance of KIT Validation. *Jurnal Kedokteran Hewan.* 10: 32-36

Gonzales F, Cabrera F, Batista N, Rodriguez D, Alamo D, Sulon J and Beckers. 2004. A Comparision of Diagnosis of Pregnancy in the Goat via Transrectal Ultrasound Scanningm Progesterone and Pregnancy associated glycoprotein assay. *Theriogenology*, 62: 1108 – 1115

Goymann. 2005. Noninvasive Monitoring Of Hormones In Bird Droppings: Physiological Validation, Sampling, Extraction, Sex Differences, And The Influence Of Diet On Hormone Metabolite Levels. *Ann. N.Y. Acad Sci.* 1046:35-53

Hanum MS, Amir H, Risa U, Pudji A & Airin CM. 2021. Ekstrak Rumput Laut

- Sargassum sp Mencegah Trombositopenia Gestational pada Tikus Selama Kebuntingan. *Jurnal Ilmu Peternakan dan Veteriner* 11(1):1-5.
- Heistermann M, Tari S, & Hodges JK. 1993. Measurement of Fecal Steroids for Monitoring Ovarian Function In New World Primates, Callitrichidae. *Journal of Reproduction and Fertility*. 99: 243-251
- Hodges JK, Brown J & Heistermann M. 2010. Endocrine Monitoring of Reproduction and stress, In: *Wilds Mammals in Captivity: Principles and Technique for Zoo Management*. The University of Chichago Press
- Hussain SO. 2015. Serum Progesterone analysis for Monitoring Astrus, Pregnancy and Parturition in Shami Goats. *Al-Qadisiya Journal of Vet. Med. Sci*. 14: 69-73
- Jack AMM, Chang CC, Peh. HC, & Chan WJ. 2012. Fecal Progesterone Analysis for Monitoring Reproductive Status in Dairy Goat. *Turk.Vet. Anim. Sci*. 36 (5): 566-572
- Karadaev M. 2015. Pregnancy Diagnosis Techniques in Goat- Review. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*. 18: 183-193
- Karen A, Kovacs P, Beckers JF & Szenzi O. 2001. Pregnancy Diagnosis In Sheep: Review of The Most Practical Methods. *Acta Vet Brno*. 70:115-126
- Khan JR & Ludri RS. 2002. Hormone Profile of crossbred Goats During The Paeriparturient Period. *Trop. Anim. Health. Prod*. 4: 151-162
- Khanum SA, Hussain M & Kausar R. 2008. Progesterone and Estradiol Profiles During Estrous Cycle and Gestation In Dwarf Goats (*Capra hicus*). *Pak. Vet. J*. 28: 1-4
- Nanik H, Tuty LS, Agil M, Iskandar E, Sajuthi D. 2018. Validasi analitik Kit ELISA Komersial untuk Mengukur Metabolit Estrogen dan Progesteron pada Feses Tarsius (*Tarsius spectrum*). *Acta Veterinaria Indonesiana*. 1: 1-7
- Narayan. 2013. Non-Invasive Reproductive and Stress Endocrinology In Amphibian Conservation Physiology. *Concervation Physiology*. 1: 1-16
- Palme R. 2005. Measuring Fecal Steroid: Guidelines for Practical Application. *New York Academy of Sciences*. 1046:75-80resource for domestic animals and fish. *Livestock Res. for Rur. Dev*. Vol. 7 No. 1.