

TINGKAT PEMATANGAN *OOSIT* KAMBING YANG DIKULTUR SECARA *IN VITRO* SELAMA 26 JAM

ABSTRAK

Beni,V¹⁾, Marhaenyanto, E²⁾ dan Supartini, N³⁾

¹⁾ Mahasiswa PS Peternakan, Fak. Pertanian, Universitas Tribhuwana Tunggadewi

²⁾ Dosen PS Peternakan, Fak. Pertanian, Universitas Tribhuwana Tunggadewi

Penelitian ini dimulai pada tanggal (25 Juli- 25 Desember 2013) di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH), Universitas Brawijaya di Jl. Veteran Malang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan *oosit* kualitas A/B, yang dikultur secara *in vitro* selama 26 jam.

Materi yang digunakan adalah ovarium kambing diperoleh dari rumah potong hewan (RPH) Sukun Malang. Ovarium dari RPH dibawa ke laboratorium dengan diletakkan didalam termos suhu 36°C-38°C. Cairan yang digunakan, FBS 10% ml + FSH 20 ml + HCG 35 ml + MEM dan alkohol 70%. Metode penelitian ini adalah percobaan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan tingkat pengamatan *oosit* kualitas A/B, *ekspansi cumulus* dan *polar bodi* dalam *minimal essential medium* (MEM) secara *in vitro* selama 26 jam dan dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali.

Hasil penelitian menunjukkan tingkat pematangan *oosit* kambing yang dikultur selama 26 jam dengan jumlah semua (Ovarium 73), (*oosit* 61), (Kualitas A/B 61), dan *ekspansi kumulus* (1;3), (2;12), (3;46), menunjukkan pematangan *oosit* berbeda nyata ($P < 0.05$).

Disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan tentang ovarium kambing dengan *minimal essential medium* (MEM), dengan tingkat pematangan *oosit* kambing terhadap pengembangan *oosit ekspansi kumulus*. agar data yang di hasilkan lebih lanjut perlu dilakukan dengan perlakuan yang lebih banyak *oosit* kambing.

Kata kunci : selama *In vitro* 26 jam, tingkat kematangan *oosit* kambing yang dikultur

¹⁾ dan ²⁾ Program Studi Peternakan

³⁾ Universitas Tribhuwana Tunggadewi Malang
vincentoby@yahoo.com

OOCYTE MATURATION LEVEL THE GOAT IN VITRO CULTURED FOR 26 HOURS

ABSTRACT

Beni , V1) , Marhaeniyanto , E2) and Supartini , N3)

- 1) Students PS Ranch , Fac. Agriculture , University Tribhuwana Tunggaladewi
- 2) PS Livestock Lecturer , Fac. Agriculture , University Tribhuwana Tunggaladewi

The study was initiated on the date (25 July to 25 December 2013) at the Central Science Laboratory (LSIH) , Brawijaya University Jl . Veteran Malang . This study aimed to determine differences in oocyte quality A / B , which were cultured in vitro for 26 hours .

The material used is a goat ovaries obtained from slaughterhouses (RPH) Breadfruit Malang . The ovaries from slaughterhouses under the laboratory to be placed in a flask with a temperature of 36 °C -38 °C . The liquid used , 10 % FBS + FSH ml 20 ml + 35 ml + HCG MEM and 70 % alcohol . This research method is an experiment using a completely randomized design (CRD) with observations of oocyte quality level A / B , cumulus expansion and polar body in minimal essential medium (MEM) in vitro for 26 hours and be repeated 5 times .

The results showed that the level of maturation of goat oocytes were cultured for 26 hours by the number of all (Ovary 73) , (61 oocytes) , (Quality A / B 61) , and cumulus expansion (1 , 3) , (2 ; 12) , (3 ; 46) , shows the maturation of oocytes was significantly different ($P > 0.05$) .

It is recommended to conduct further research on ovarian goats with minimal essential medium (MEM) , the rate of oocyte maturation to the development of goat cumulus oocyte ekspansi . that the data generated needs to be done to further treatment more goat oocytes .

Keywords : In vitro for 26 hours, the level of maturity of goat oocytes cultured

1) dan 2) Program Studi Peternakan
3) Universitas Tribhuwana Tunggaladewi Malang
vincentoby@yahoo.com

PENDAHULUAN

Latar belakang

Dengan kemajuan bioteknologi dibidang reproduksi, limbah rumah potong hewan khususnya hewan kambing betina berupa ovarium sebagai sumber sel gamet betina melalui suatu rekayasa bioteknologi dapat dimanfaatkan sehingga menjadi suatu produk yang sangat berharga berupa embrio. Selain itu, ovarium juga dapat dimanfaatkan sebagai sumber cairan folikel yang dapat digunakan sebagai suplementasi media *maturasi in vitro* (Yoshida, Mizoguchiu, Ishigaki, Kojima dan Nagai, (1992). Hal tersebut dimungkinkan dengan penerapan teknologi *fertilisasi in vitro* yang dilaksanakan melalui proses aspirasi. (Boediono dan Damayanti, 1996).

Setiap ovarium mengandung *oosit* dalam jumlah yang sangat banyak, tetapi hanya sedikit sekali dari jumlah *oosit* tersebut yang dimatangkan dan diovulasikan selama masa subur atau pada masa reproduksi. Meskipun secara *in vitro* atau melalui ovulasi dapat dihasilkan *oosit* matang dalam jumlah yang banyak, namun sedikit sekali *oosit* yang dapat dibuahi oleh spermatozoa (Cushman, Wahl dan Fortune, 2002).

Koleksi sel telur dari ovarium limbah hasil pemotongan dari RPH memiliki keragaman kualitas dan stadium sel telur sehingga perlu dilakukan *maturasi in vitro* (Widayati, 1999). *Maturasi in vitro* memiliki peran penting dalam keberhasilan *fertilisasi in vitro* (Wattimena dan Saija 2005). Salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan *maturasi in vitro* adalah *medium maturasi*.

Perumusan Masalah

1. Apakah dengan melakukan *minimal essential medium* (MEM) yang dikultur selama 26 jam, akan meningkat jumlah *oosit* kualitas A/B?
2. Apakah dengan melakukan *minimal essential medium* (MEM) inkubasi selama 26 jam *oosit* akan mengembang?

Tujuan Penelitian

1. Menganalisis dengan melakukan *minimal essential medium* (MEM) yang dikultur selama 26 jam terhadap jumlah *oosit* kualitas A/B.
2. Untuk mengetahui pengaruh melakukan *minimal essential medium* (MEM) inkubasi selama 26 jam terhadap jumlah *oosit ekspansi kumulus*.

Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi tentang tingkat pematangan *oosit* kambing dengan *minimal essential medium* (MEM) terhadap pengamatan pengembangan *oosit ekspansi kumulus* dan *polar bodi*. Hasil penelitian ini juga sebagai pijakan penelitian dimasa yang akan datang.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada tanggal (25 Juli - 25 Desember 2013) di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH), Universitas Brawijaya di jl. Veteran Malang

Materi Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain ovarium kambing PE dari RPH Sukun Malang. Dengan cairan , FBS 10% ml + FSH 20 ml + HCG 35 ml + MEM dan alkohol 70%.

¹⁾ dan ²⁾ Program Studi Peternakan

³⁾ Universitas Tribhuwana Tunggaladewi Malang
vincentobye@yahoo.com

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, *water bath*, *inkubator*, mikroskop, timbangan analitik, oven, tabung *erlenmeyer*, *thermos*, kertas aluminium, *micropipet*, *sentrifuge*, lampu spirtus, pinset, gunting dan *tissue*.

Metode Penelitian

Metoda yang digunakan dalam penelitian adalah metode percobaan rancangan acak lengkap (RAL) dengan tingkat pematangan oosit kambing yang di kultur secara *in vitro* selama 26 jam.

Ovarium kambing dikoleksi dari (RPH) Sukun Malang dan dibawa ke laboratorium dengan didalam *thermos* suhu 36-38°C didalam *termos* dimasukkan gelas ukur berisi NaCl 0,9 yang telah diberi penisilin streptomisin. Sesampainya di laboratorium ovarium gelas ukur diambil dari *termos* dan dimasukkan dalam *water bath* dengan suhu 37°C, kemudian dilakukan aspirasi folikel.

Variabel Yang Diamati

Evaluasi hasil pengamatan setelah dikultur selama 26 jam diamati perkembangan sel-sel *kumulusnya* dan diklasifikasikan yaitu ;

- a) *Ekspansi* (1), sel *kumulus oophorus* tidak tidak berkembang sama sekali
- b) *Ekspansi* (2), sel *kumulus oophorus* berkembang sebagian
- c) *Ekspansi* (3), sel *kumulus oophorus* berkembang seluruhnya

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pematangan oosit di inkubasi selama 26 jam

Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini dengan tingkat

pematangan oosit kualitas A/B dan *ekspansi kumulus* (Tabel 1).

1) dan 2) Program Studi Peternakan
3) Universitas Tribhuwana Tungadewi Malang
vincentoby@yahoo.com

Tabel 2. Hasil pengamatan *oosit inkubator* selama 26 jam

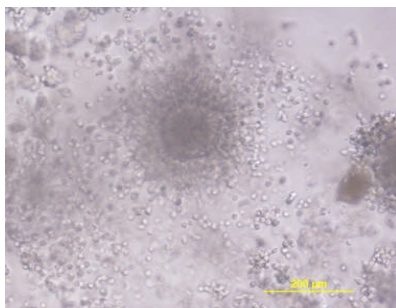
Sistem Inkubator	Waktu (Jam)	Jumlah Ovarium	Grade A/B	Jumlah Oosit	<i>Ekspansi</i>		
					1	2	3
CO ₂ 5%	26	20	17	17	2	5	10
		16	20	20	1	3	16
		17	9	9	0	4	5
		20	15	15	0	0	15
Total		73	61	61	3	12	46

Keterangan ;

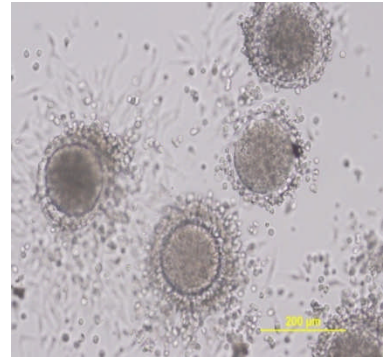
- *Ekspansi* (1) ; sel *kumulus oophorus* tidak tidak berkembang sama sekali
- *Ekspansi* (2) ; sel *kumulus oophorus* berkembang sebagian
- *Ekspansi* (3) ; sel *kumulus oophorus* berkembang seluruhnya

Hasil kultur pengamatan *oosit incubator* 26 jam menunjukkan bahwa jumlah semua ovarium 73, oosit 61, Kualitas (A/B 61) dan *ekspansi kumulus* (1;3), (2;12), (3;46). Menurut Susilawati, Sumitro, Hardjopranjoto, Djati dan Ciptadi (2000), bahwa *oosit* yang di dikultur siap untuk di fertilisasi adalah oosit (*ekspansi* 3) sampai metaphase II. *Oosit ekspansi* (2 dan 1) merupakan *oosit* belum matang karena pematangan sitoplasma yang kurang sempurna, sehingga pembelahan inti tidak berlanjut sampai metafase II.

Hasil pengamatan terhadap kualitas A/B dengan pengembangan sel-sel *kumulus oosit* setelah *maturasi in vitro* dapat dilihat pada (Gambar 1). Pada (Gambar 2 dan Gambar 3) *ekspansi* (1 dan 2), terlihat sel-sel *kumulus* tidak mengalami pengembangan yang seluruhnya bahkan *ekspansi* satu tidak ada pengembangan sama sekali. Bahwa pengembangan *kumulus oophorus* yang kurang sempurna menyebabkan pembelahan inti *oosit* tidak mencapai metafase II. Hal ini diduga karena hormon (LH dan FSH) yang diperlukan untuk pembelahan inti tidak bisa lancar masuk ke dalam *oosit* karena dihalangi oleh penumpukan sel *kumulus oophorus*.



Gambar 1. Ekspansi (3)

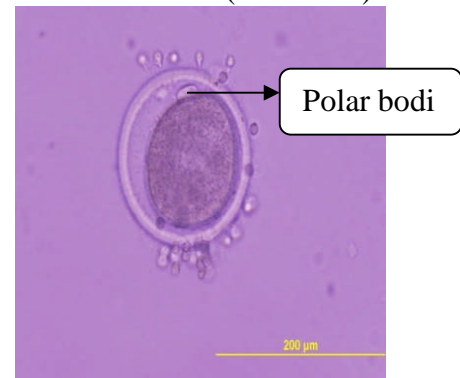


Gambar 2. Ekspansi (2)



Gambar 3. Ekspansi (1)

Proses pembentukan *polar body* terjadi setelah sel-sel komulus yang mengelilingi *oosit* terlepas dan sampai kelihatan gundul polar bodi tampak berukuran kecil (Gambar 4).



Gambar 4. Oosit kelihatan polar bodi

1) dan 2) Program Studi Peternakan

3) Universitas Tribhuwana Tungadewi Malang
vincentoby@yahoo.com

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan bahwa kultur folikel dengan ukuran folikel ukuran <2 mm sampai 2-5 mm dengan perlakuan aspirasi folikel sebanyak empat kali pengulangan dengan jumlah 73 ovarium, 61 *oosit* dan 61 *oosit* kualitas A/B. Masuk inkubator CO₂ 5% dengan pengamatan *ekspansi kumulus* (1;3), (2;12) dan (3;46).

SARAN

Penelitian ini diharapkan dapat dilakukan peningkatan ovarium kambing pada *maturasi oosit* yang di kultur secara *in vitro* selama 26 jam, agar data yang di hasilkan lebih lanjut perlu dilakukan dengan perlakuan yang lebih banyak *oosit* kambing.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini saya mengucapkan terima kasih kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala kasih dan anugerah-Nya, Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH), Universitas Brawijaya, Ir. Sri Firmiaty. MP, selaku Dosen Pembimbing pendamping, dan semua pihak yang telah membantu terselesaikannya penelitian ini hingga penyusunan laporan.

DAFTAR PUSTAKA

Boediono A dan Damayanti T. 1996 . Dari limbah rumah potong hewan bisa dihasilkan kambing . *Spektrum* 10 :32-33 .

Cushman RA, Wahl CM, Fortune JE. 2002. Bovine ovarian cortical pieces grafted to chick embryonic membranes: a model for studies on the activation of primordial follicles. *Human Reprod* 17: 48-54

Gordon, I. 1994. *Laboratory Production of Cattle Embryos. Department of Animal Science and Production. University College. Dublin. Ireland.*

Hardjopranjoto, S. 1995. *Ilmu Kemajiran Pada Ternak. Airlangga University Press. Surabaya*

Khatir, H., C. Carolan, P. Lonergan and P. Mermillod. 1997. Characterization of Calf Follicular Fluid and Its Ability to Support Cytoplasmic Maturation of Cow and Calf Oocyte. *Journal of Reproduction and Fertility*. 111(1):267-275.

Latifa, R. 2007. Pengembangan Teknik Pemanfaatan Cairan Folikel Ovarium Kambing sebagai Upaya Untuk Meningkatkan Produktifitas Itik Petelur Afkhir. *Jurnal Protein*. 15(2):130-140.

Partodiharjo, S. 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan. Penerbit Mutiara. Jakarta*

Snow M, Cox SL, Jenkin G, Trounson A, Shaw J. 2002. Generation of live young from xenografted mouse ovaries. *Science* 297: 2227

Samad, H. A., A. Raza, and N. U. Rehman. 1999. Effect of Media on In Vitro Maturation, Fertilization and

¹⁾ dan ²⁾ Program Studi Peternakan

³⁾ Universitas Tribhuwana Tunggaladewi Malang
vincentoby@yahoo.com

- Early Embryonic Development In Nili-Ravi Buffaloes. *International Journal of Agricultural & Biology*. 1(3):128-130.
- Susilawati, T, B.S. Sumitro, M.S. Hardjopranjoto, Djati dan G. Ciptadi. 2000. *Kaji Banding Antara Pengencer Tris Dengan TCM-199. dalam Upaya Pembekuan Semen Sapi Hasil Penyaringan Sephadex G-200*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Widayati, D. T. 1999. Pengaruh Ukuran Folikel terhadap Kualitas Oosit kambing Etawa (PE) dan Kemampuan Maturasi In Vitro. *Buletin Peternakan*. 23(3):94-102.
- Widayati, D. T., dan Wahyuningsih. 2010. Kriopreservasi *Embrio Kambing Peranakan Ettawa Hasil Produksi In Vitro Menggunakan Metode Vitrifikasi Cryoloop*. *Proseding Seminar "Peran Teknologi Reproduksi Hewan dalam Rangka Swasembada Pangan Nasional"*. Mayor Biologi Reproduksi, Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Yoshida, M., Y. Mizoguchiu, K. Ishigaki, T. Kojima, and T. Nagai. 1992. Effect of Maturation Media on Male Pronucleus formation in Pig Oocytes Matured In Vitro. *Reprod. Development*. 31:68-