

STUDY TINGKAT KEMATANGAN OOSIT KAMBING PE YANG DIKULTUR SECARA IN VITRO PADA 22 JAM

Yulius Dendo,¹⁾Nonok Supartini,²⁾Hariadi Darmawan,³⁾

¹⁾ Mahasiswa

²⁾ Dan ³⁾dosenpeternakanfakpertanianunitri, malang.
Yuliusdendo@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 25 april sampai 25 juli 2013 dilaboratorium sentral ilmu hayati universitas brawijaya malang.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas pematangan oosit secara *in vitro* pada kambing pe. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk mengetahui peranan growth factor gdf-9 dan egf yang dapat meningkatkan jumlah oosit berkualitas baik pada pematangan oosit secara *in vitro*.

Materi yang digunakan dalam penelitian ini 46 oosit yang diperoleh dari kambing betina kelompok dewasa kelamin dan prapubertas. Ovarium dibawah kelaboratorium dalam termos air hangat dengan suhu 380C selama 22 jam. Pengamatan dilakukan berdasarkan tingkat pengembangan ekspansi cumulus kualitas A. penelitian ini dilakukan dengan 5 kali ulangan. analisa data yang digunakan adalah pengembangan ekspansi cumulus kualitas A dengan analisis deskriptif.

Hasil dari penelitian ini bahwa kualitas oosit hasil pematangan secara *in vitro* berdasarkan pengembangan ekspansi cumulus pada oosit kambing PE diperoleh 50 %.

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah kualitas oosit kambing PE pada hasil pematangan *in vitro* berdasarkan pengembangan ekspansi cumulus kualitas A dan keberadaan polar body di pengaruhi oleh growth factor GDF-9 dan EGF. Disarankan agar oosit dari kambing dapat digunakan untuk maturation. Agar data yang di hasilkan lebih lanjut perlu dilakukan dengan perlakuan yang lebih banyak oosit dari kambing.

Kata Kunci: Oosit Kambing, Kultur, In Vitro.

SUMMARY

This study was conducted on 25 April to 25 July 2013 the central laboratory of biological sciences UB Malang.

This study aims to determine the quality of oocyte maturation in vitro in goat. The results of this research can be used to determine the role of growth factor GDF - 9 and EGF can increase the number of good quality oocytes on oocyte maturation in vitro .

The material used in this study 46 oocytes obtained from adult female goat group sex and pre- puberty . Ovary laboratory into the flask under warm water with a temperature of 38 0C for 22 hours . Observations were made based on the level of development of cumulus expansion A. The quality of the research carried out with 5 times ulangan. analisa data used is the development of cumulus expansion with quality A descriptive analysis .

The results of this study that the quality of the oocyte maturation in vitro results based on the development of cumulus expansion peositkambing obtained 50 % .

The conclusion that can be drawn from this study is the quality of goat oocytes pe on the results of in vitro maturation of cumulus expansion is based on the development of quality A and the presence of polar body is influenced by growth factor GDF- 9 and EGF . It is suggested that oocytes of goats can be used for maturation . That the data generated needs to be done to further treatment more oocytes from goats .

Keywords : Goat Oocytes, Culture, In Vitro.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Penerapan bioteknologi reproduksi seperti Inseminasi Buatan dan Multiple Ovulation Embryo Transfer (MOET) bertujuan meningkatkan mutu genetik ternak dan memungkinkan ternak memproduksi anak lebih dari kapasitasnya (Balldassarre and Karatzas, 2004). Berbagai teknik dilakukan agar ternak dapat memproduksi oosit lebih banyak, yaitu teknik superovulasi menggunakan hormon maupun kultur ovary dan folikel (van de Hurk, et al., 1997; Prihatini, 2004).

Penelitian tentang kultur folikel maupun oosit sebagai teknologi reproduksi bantuan telah banyak dilakukan, untuk tujuan konservasi hewan langka (endangered spesies) dan membantu mengatasi masalah infertilitas. Selain itu juga berkembang teknologi kriopreservasi dan fertilisasi *in vitro* (IVF) yang akan menunjang ketersediaan embrio unggul (van der Hurk, et al., 1997). Ketersediaan oosit dalam jumlah besar merupakan syarat untuk pelaksanaan IVF.

Saat ini penyediaan embrio secara *in vitro* untuk keperluan transfer embrio masih belum bisa memenuhi kualitas embrio dengan daya hidup yang tinggi. Hal ini berdasarkan pada hasil angka kebuntingan dengan embrio hasil *in-vitro* yang ditransfer ke resipien menghasilkan angka kebuntingan yang rendah. Hal ini karena kultur *in vitro* maturation (IVM), *in vitro* fertilization

(IVF), embrio partenogenetik masih cukup rendah (Djati, 1999; Wahyuningsih dkk., 2001; Ciptadi dkk., 2004). Dalam oogenesis, keberhasilan maturasi oosit sangat dipengaruhi oleh tingkat kualitas sel cumulus (Widjiati, 2007). Kualitas ekspansi sel cumulus akan mempengaruhi keberhasilan maturasi oosit. Masih rendahnya angka kebuntingan ini perlu dikaji secara molekuler reproduksi terutama faktor-faktor yang berperan dalam maturasi oosit seperti adanya sel granulosa dan sel cumulus, growth factor (factor pertumbuhan), dan hormon.

Guna memenuhi kebutuhan oosit untuk produksi embrio, maka dapat digunakan immature oosit. Ovarium dari rumah potong hewan merupakan sumber oosit primer yang berlimpah dan paling murah untuk memproduksi embrio secara besar-besaran. Pada ovarium terdapat oosit dalam jumlah yang sangat banyak berukuran kecil. Pada babi dan sapi, hanya sebagian kecil saja yang tumbuh dari ukuran minimal kira-kira 30 μm diameternya sehingga mencapai 120-125 μm , dan kemudian oosit ini diovulasikan (Miyano and Hirao, 2003). Sisa dari oosit yang tidak terovulasikan akan mengalami degenerasi.

Selama ini suplementasi hormon dan serum yang sering digunakan dalam media maturasi *in vitro* berasal dari industri farmasi

sepertibovineserumalbumin (BSA), *new born calf serum* (NCS), *follicle stimulating hormone* (FSH), Estradiol, dan *human chorionic gonadotrophin* (hCG) dengan harga yang relatif mahal dan pada daerah tertentu sulit didapat. Mengingat hal tersebut, maka perlu diupayakan penggunaan suplementasi media maturasi lain yang mudah diadakan. Pemberian hormon steroid dan protein secara sinergi dapat menghasilkan pertumbuhan oosit yang lebih optimal. Penelitian van de Hurk, et al. (1997) yang melakukan kultur ovarium dan isolasi folikel preantral secara *in vivo* dan *in vitro* menunjukkan bahwa faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan oosit tersebut adalah faktor endokrin, vaskularisasi, nutrisi, sitokinesis, hormon dan substansi neuropeptida (*in vivo*); faktor hormon, growth factor dan nutrisi (*in vitro*).

METODOLOGI

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada tanggal 25 April-25 Juli 2013 di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati

Materi Penelitian

Materi penelitian yang digunakan adalah oosit kambing *immature* yang diperoleh dengan melakukan aspirasi ovarium kambing PE yang diambil dari rumah potong hewan (RPH) Kambing Sukun Malang. Kambing yang diambil adalah kambing betina kelompok dewasa kelamin dan kelompok Prapubertas, berdasarkan umur yang dilihat dari pergantian gigi. Bahan lain

Cairan folikel merupakan alternatif yang dapat digunakan sebagai suplementasi dalam media maturasi karena murah dan mudah diadakan di laboratorium. Di dalam cairan folikel terkandung senyawa yang berperan dalam maturasi oosit seperti insulin-like growth factor binding protein (IGFBP), oestradiol, LH, dan serum (Khatir *et al.*, 1997; Nakazawa *et al.*, 1997; Samad *et al.*, 1999). Penggunaan cairan folikel sebagai suplementasi media maturasi dalam level tertentu berperan dalam meningkatkan perkembangan oosit, dan angka fertilisasi (Khatir *et al.*, 1997). Berdasarkan uraian di atas maka dilakukan penelitian mengenai pengaruh ukuran folikel, penggunaan cairan folikel sebagai suplementasi media maturasi dengan level berbeda dan interaksi antara keduanya terhadap tingkat maturasi oosit kambing *in vitro*.

Universitas Brawijaya (LSIH-UB) Malang.

yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: α MEM, ITS, GDF, FSH, FBS, HCG, antibiotik penicillin dan streptomycin.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah falcon (Iwaki, ukuran 35mm), disposable syringe 10ml dengan jarum ukuran 21Gx1 1/2", petri dish, blue tip, yellow tip, rak tabung dan tabung reaksi,

bunsen, millipore, hematokrit (Assistent), mikroskop elektron,

Metode Penelitian

Penelitian dilakukan dengan metode percobaan dengan pengamatan yaitu tingkat kematangan oosit

Pengukuran Variabel/Parameter Penelitian

Variabel yang diukur/diamati dalam penelitian ini, yaitu :

1. Peranan growth factor GDF-9 dan EGF dalam medium kultur terhadap perkembangan oosit kambing PE pada pengamatan 22 jam.
2. Peranan suplementasi growth factor GDF-9 dan

Analisa Data

Analisis data dilakukan secara diskriptif pada eskpansi sel cumulus dan ekstruksi Polar Bodi I (PB I).

Batasan Istilah

1. Growth Differentiation factor 9 (GDF-9), yaitu suatu glikoprotein disekresi oleh oosit yang dapat menstimulasi proliferasi sel granulosa dan diferensiasi inhibitor.
2. Epidermal Growth factor (EGF), yaitu faktor pertumbuhan yang berfungsi untuk memproduksi dan mensekresiasam hyaluronat serta menyebarkan sel-sel.
3. Luteinizing Hormone (LH), yaitu hormon yang

autoklaf, oven, dan inkubator.

kambing dengan suplementasi GDF-9 dan EGF pada *in vitro* 22 jam.

EGF ke dalam medium kultur dalam meningkatkan jumlah immature oosit menjadi mature oosit (tahap M-II) pada pengamatan 22 jam.

3. Pengaruh GDF-9 dan EGF terhadap pengamatan polar body pada oosit kambing PE pada pengamatan 22 jam.

berfungsi sebagai reseptor dalam memacu meningkatkan kualitas oosit.

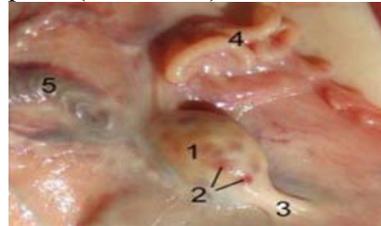
4. FolliclestimulatingHormone (FSH), yaitu hormon yang memiliki kemampuannya untuk menstimulasi aktivitas aromata sepada sel granulosa, yang mengkonversil ingkungan mikro folikular dari androgenik menjadi estrogenik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambaran Umum Ovarium Kambing

Ovarium adalah organ generatif hewan betina yang terdiri dari sepasang terletak dikiri dan kanan uterus dalam rongga pelvis (Toelihere, 1985). Tiap ovarium terdiri dari dua bagian yaitu bagian tengah yang disebut medulla, dan sebuah lapisan yang tebal mengelilingi yang disebut korteks (Lindsay, Entwistle, and Winantea, 1982). Bagian korteks terbagi atas epitel kecambah, folikel dari berbagai ukuran dan tingkat pertumbuhan, korpus luteum, korpus albikan dan tunan pengikat. Bagian medula terdiri dari pembuluh darah, syaraf dan pembuluh limfe, serta banyak tunan pengikat fibroblast. Epitel kecambah (germinal epithelium) menyelimuti permukaan ovarium dan merupakan asal dari folikel yang selalu berkembang secara tetap (Hardjopranto, 1995). Sel gamet pada betina dinamakan ovum. Ovum mengandung deutoplasma atau yolk yaitu cadangan makanan yang terdiri dari butiran-butiran lemak, karbohidrat dan protein. Ovum dilapisi tiga macam selaput pelindung yaitu: selaput primer, selaput sekunder dan selaput tersier. Selaput primer dihasilkan oleh ovum itu sendiri dan biasa disebut membran vitteline. Selaput sekunder pada mamalia disebut zona pellusida (Yatim, 1994). Selaput tersier terbentuk setelah pembuahan dihasilkan oleh kelenjar-kelenjar saluran kelamin betina. Kegiatan ovarium yang penting sebagai gonad penghasil gamet betina yang disebut ovum, terjadi di bagian korteks dan

pada lapisan luar korteks yang di sebut germinal epithelium yang banyak ditemukan pada sel induk telur atau oogonium (Yatim, 1990). Oogonia memerlukan pemasakan selama kehidupan reproduksi hewan dan pemasakan ini terjadi secara berurutan (Lindsay et al, 1982). Unsur-unsur utama ovarium mamalia dapat dilihat pada (Gambar 1)



Gambar 1. Ovarium Kambing

Bagian-bagian dari ovarium kambing ;

1. Ovarium
2. Folikel
3. Ligamentum
4. Tuba falopi
5. Corpus luteum

Ovarium yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Rumah Potong Hewan (RPH) Sukun, Kodya Malang. Dan kambing yang dipotong mempunyai variasi umur mulai dari umur 2-3 tahun dan kambing yang baru dipotong langsung di ambil ovariumnya. Penelitian kultur oosit dilakukan di Laboratorium Sentra Ilmu-Ilmu Hayati (LSIH), Universitas Brawijaya, Malang. Serta

ovarium yang didapat yaitu 52 butir yang didapat dari 26 ekor kambing yang dipotong, dan satu ekor kambing menghasilkan satu pasang ovarium lalu ovarium tersebut dimasukkan dalam botol yang berisi dengan NaCl dengan suhu 36-37°C.

Kambing memiliki umur pubertas 5 sampai 7 bulan, lama siklus estrus 18 sampai 22 hari, estrus 24 sampai 48 jam, tipe ovulasi spontan, waktu ovulasi 24 sampai 36 jam dari munculnya tanda birahi, umur korpus

Peranan Growth Factor GDF-9 Dan EGF Dalam Medium Kultur Terhadap Perkembangan Ekspansi Oosit Kambing PE Pada Pengamatan 22 Jam

Pada penelitian ini hanya oosit yang mempunyai kumulus kompleks (kategori 2 dan 3), yang digunakan dalam proses pematangan *in vitro*. Menurut Gordon (1994), bahwa pengembangan sel kumulus kualitas 2 dapat digunakan sebagai indikasi oosit matang, kumulus yang baik. COC (*cumulus oocyt complexe*) total terang dan transparan. Keberadaan sel kumulus mendukung terjadinya pematangan oosit secara *in vitro* sampai tahap M-11 dan berkaitan dengan pematangan sitoplasma. Sel telur tanpa kumulus setelah dimaturasi banyak protein yang hilang sedangkan pada sel telur dengan kumulus yang baik protein akan bertambah baik atau sempurna.

Hasil produk metabolik seperti choline, uridine dan *inositol* dapat masuk ke sel telur melalui sel kumulus maka nutrisi akan ditransport ke sitoplasma. Selain itu, sel kumulus diduga berfungsi menghambat pengerasan *zona peluzida* sehingga

luteum 16 hari, lama bunting 149 hari (Hafez and Hafez, 2000).

Perkembangan embrio secara *in vitro* dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan. Pada faktor genetik terutama akan dipengaruhi oleh induk dan pejantan (Sumantri dan Anggraeni, 1999), sedang faktor utama dari segi lingkungan adalah kualitas oosit yang digunakan. Faktor yang menentukan kualitas oosit tersebut adalah diameter dan morfologinya (Arlotto et al., 1996).

proses fertilisasi dapat berlangsung. Sementara pada penelitian Bavister et al (1992), bahwa sel-sel kumulus berperan dalam proses pematangan oosit dengan cara memberi sarana dalam proses metabolisme hormonal dan nutrisi serta komunikasi sel. Hal ini membuktikan bahwa sel kumulus sangat penting fungsinya untuk maturasi sitoplasma secara normal pada proses maturasi sel telur *in vitro*.

Pada penelitian ini hanya oosit yang mempunyai kompleks (kategori A dan B), yang digunakan dalam proses pematangan *in vitro*. Menurut Loos et al. (1989) bahwa oosit yang termasuk baik adalah sel kumulus kompak, berlapis-lapis dan rapat, ooplasma yang homogen, COC (Cumulus Oocyte Complexe) total terang dan transparan. Pemilihan oosit dilakukan dibawah mikroskop inverted. Oosit yang dimaturasi adalah oosit kualitas A saja yaitu oosit yang dikelilingi oleh multilayer sel folikel

baik sel cumulus oophorus maupun sel corona radiata yang kompak.

Tabel 1. Tingkat ekspansi kumulatif oosit kambing PE pada pengamatan 22 jam

KEL	JUMLAH OVARIUM	KUALITAS OOSIT	EKSPANSI			RATA-RATA
		A	1	2	3	6
1	12	13	4	3	6	13
2	14	10	3	3	4	10
3	8	9	1	3	5	9
4	8	12	3	6	6	15
5	10	2	2	5	4	11
TOTAL	52	46	13	20	25	64

Dari tabel di atas dapat dijelaskan bahwa tingkat ekspansi kumulatif oosit kambing PE pada pengamatan 22 jam terdapat pada kelompok 4 dimana dari 8 ovarium yang digunakan dalam pengamatan ekspansi kumulatif ada 12 oosit yang tergolong dalam kualitas A. Dari 12 oosit tersebut terbagi dalam 3 ekspansi yaitu 3 oosit yang termasuk ekspansi 1 dan 6 oosit pada ekspansi 2 serta 6

Hal lain yang harus diperhatikan dalam melakukan pengamatan ekspansi adalah medium kultur yang digunakan karena apabila medium kultur yang digunakan tidak dalam keadaan steril maka akan memberikan dampak yang kurang baik saat melakukan pengamatan ekspansi kumulatif pada oosit. Kesalahan dalam

Menurut Greeve and Madison (1993) kualitas oosit immature didasarkan atas penilaian visual dari kekompakan sel folikel dan diklasifikasikan menjadi tiga kategori yaitu : (1) kualitas A, oosit yang

oosit yang merupakan ekspansi 3, sehingga rata-rata ekspansi kumulatif dari kelompok 4 adalah 15. Jadi dari data pada tabel di atas dapat disimpulkan bahwa peranan growth factor GDF-9 dan EGF dalam medium kultur terhadap perkembangan ekspansi kumulatif oosit kambing PE pada pengamatan 22 jam memberikan hasil yang baik dengan rata-rata ekspansi yaitu 15.

melakukan aspirasi sampai pada proses pengundulan oosit juga mempengaruhi tingkat ekspansi kumulatif, sehingga dalam melakukan proses tersebut membutuhkan ketelatenan dan konsentrasi untuk mendapatkan hasil yang baik atau tingkat ekspansi kumulatif yang baik.

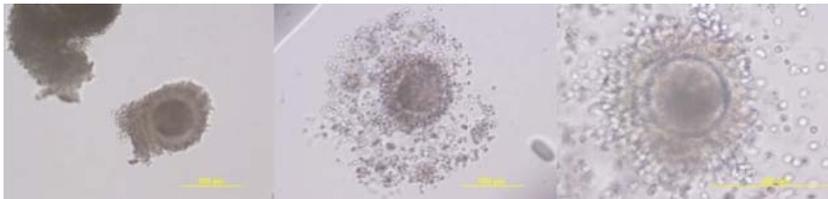
dikelilingi oleh multilayer sel folikel, baik cumulus oophorus atau corona radiata yang kompak, (2) kualitas B, oosit hanya dikelilingi oleh multilayer sel folikel corona radiata yang kompak sedangkan cumulus oophorus yang

mengelilinginya kurang kompak, (3) kualitas C, oosit dengan multilayer sel folikel, baik sel corona radiata maupun sel cumulus oophorus yang kurang kompak.

Keberadaan sel kumulus mendukung terjadinya pematangan oosit secara in vitro sampe tahap M-11 dan berkaitan dengan pematangan sitoplasma menurut Lapthitis et al. (2002). Hal tersebut didukung oleh Schroeter and Meinecke (1995). Bahwa saat pematangan in vivo, sel-sel kumulus berperan dalam menyediakan nutrisi untuk oosit dan membantu

sintesa protein untuk membentuk zonapelucida pada tahap profase. Sel kumulus sangat penting fungsinya untuk maturasi sitoplasma secara normal pada proses maturasi sel telur in vitro. Chian et al. 1994).

Setelah diinkubasi selama 22 jam, sel-sel kumulus akan terekspansi. Derajat ekspansi sel-sel kumulus dikelompokkan dalam tiga kategori yaitu : Derajat 1, sel-sel kumulus tidak mengalami ekspansi, Derajat 2, sel-sel kumulus mengalami ekspansi sebagian, Derajat 3, sel-sel kumulus mengalami ekspansi sempurna.



A

B

C

Gambar 5. Derajat ekspansi sel cumulus

C: derajat 3, sel-sel kumulus mengalami ekspansi sempurna.

A: derajat 1. Sel-sel kumulus tidak mengalami ekspansi;

B: derajat 2, sel-sel kumulus mengalami ekspansi sebagian;

Peranan Suplementasi Growth Factor GDF-9 Dan EGF Dalam Meningkatkan Immature Oosit Menjadi Mature Oosit pada pengamatan 22 Jam

Pada proses maturasi oosit, diketahui adanya peran growth factor. Growth Factor merupakan faktor lokal yang berperan dalam peningkatan proliferasi dan differensiasi sel granulosa, sehingga menyebabkan terjadinya ekspansi kumulus (Widjiati dkk., 2008). Growth Differentiation Factor-9 (GDF-9) merupakan salah

satu growth factor yang mempengaruhi berbagai fungsi sel ovari termasuk sintesis DNA pada sel granulosa dan proses penurunan cAMP sehingga proses meiosis dapat berlangsung (Vitt et al., 2000). GDF-9 disintesis oleh sel somatik ovum yang berperan pada pertumbuhan dan fungsi oosit.

Mekanisme kerja GDF-9 pada sel-sel granulosa mampu mengubah lingkungan intra folikular, yang akan berpengaruh pada kemampuan oosit untuk berkembang menjadi embrio praimplantasi yang normal secara morfologis (Vitt et al., 2000).

Kesempurnaan pematangan oosit sangat berpengaruh pada keberhasilan fertilisasi dan perkembangan awal embrio. Pada proses pematangan sel telur secara *in vitro* dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya medium dan tempat penyimpanan (inkubator), kehadiran sel-sel kumulus yang mengelilingi oosit dan ukuran sel folikel dari oosit yang dikoleksi. Bahkan lingkungan penyimpanan tidak hanya

mempengaruhi pada proses pematangan tetapi berpengaruh juga pada pembuahan dan perkembangan embrio.

Hasil pengamatan pada penelitian ini terhadap pengembangan sel-sel kumulus oosit kambing setelah *in vitro* maturation 22 jam dapat dilihat pada (Tabel 2) menunjukkan bahwa perkembangan oosit mengalami proses perkembangan ekspansi cukup baik. Tingkat kematangan oosit pada pengamatan 22 jam sudah bisa dilakukan, karena pada tingkat kematangan ini perkembangan kumulus oosit sudah bisa berkembang, hal ini dilihat dari proses inkubasi yang dilakukan pada pengamatan 22 jam.

Tabel 2. Hasil Pengamatan Kualitas Oosit Kambing PE Pada Saat Inkubasi *In Vitro* 22 Jam.

KEL	JUMLAH OVARIUM	KUALITAS OOSIT	JUMLAH OOSIT	EKSPANSI		
				1	2	3
1	12	13	13	4	3	6
2	14	10	10	3	3	4
3	8	9	9	1	3	5
4	8	12	12	3	6	6
5	10	11	2	2	5	4
TOTAL	55	55	46	13	20	25

Dari data yang diperoleh pada tabel 2 dapat dijelaskan bahwa banyaknya jumlah ovarium yang digunakan dalam penelitian ini tidak menjamin bahwa kualitas oositnya akan baik. Hal ini dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti faktor genetik, lingkungan dan morfologi oosit itu

sendiri. Pada faktor genetik terutama dipengaruhi oleh induk dan pejantan sedangkan faktor utama dari faktor lingkungan adalah kualitas oosit yang digunakan. Faktor morfologi oosit dapat mempengaruhi kualitas oosit karena memiliki hubungan yang kuat dengan embrio yang dihasilkan artinya

bahwa oosit yang mempunyai tipe kompak mempunyai angka fertilisasi yang tinggi dibandingkan oosit dengan tingkat lapisan cumulus yang lebih

rendah sehingga hanya cumulus oosit yang kompak yang digunakan untuk fertilisasi in vitro.

Pengaruh Growth Factor GDF-9 Dan EGF Terhadap Pengamatan Polar Body (PB) Selama Pada 22 Jam

Keberadaan first polar body dapat dijadikan sebagai bukti bahwa oosit sudah memasuki tahap metafase II. Proses pembentukan first polar body terjadi setelah oosit primer pada divisi Table 3. Hasil Pengamatan Polar Body (PB)

I meiosis II (metafase II) membentuk dua sel kembar satunya berukuran lebih kecil yang disebut first polar body.

KEL	JUMLAH OVARIUM	KUALITAS OOSIT A	POLAR BODY (PB)
1	12	13	2
2	14	10	10
3	8	9	2
4	8	12	3
5	10	11	2
TOTAL	52	55	19

Dari tabel diatas dapat dijelaskan bahwa jumlah PB yang paling banyak terdapat pada kelompok 2 dimana dari 14 ovarium yang digunakan dalam pengamatan polar body pada oosit kaging PE, terdapat 10 oosit yang tergolong dalam kualitas A dan dari 10 oosit tersebut ketika dilakukan pengamatan polar body (PB) melalui mikroskop ternyata masing-

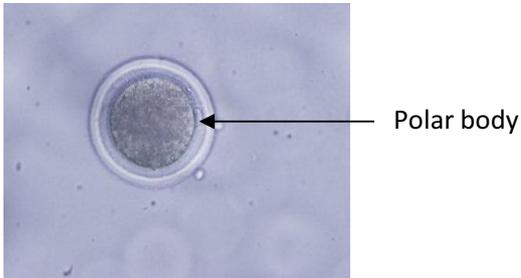
masing dari 10 oosit tersebut memiliki polar body (PB).

Keberhasilan fertilisasi in vitro sangat ditentukan keberhasilan pematangan oosit dan kualitas sperma yang digunakan untuk fertilisasi. Setelah 22 jam fertilisasi terlihat sebagian besar sel-sel komulus yang mengelilingi oosit terlepas oleh

sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa peranan growth factor GDF-9 dan EGF pada pengamatan polar body oosit kambing PE pada 22 jam memberikan pengaruh yang sangat baik untuk penampakan polar body (PB).

pengaruh enzim hyaluronidase yang dihasilkan oleh sperma. Medium yang digunakan proses kapasitasi dalam fertilisasi juga memegang peranan penting dalam menentukan keberhasilan fertilisasi. Tingkat fertilisasi oosit kambing dalam

penelitian ini ditandai dengan adanya



polar bodi (Gambar 6).

Gambar 6. Penampakan Polar Body

Penelitian yang telah dilakukan oleh Spiropoulos dan Long dalam Gordon (1994) membuktikan bahwa oosit yang mengalami pengembangan sel cumulus tinggi belum tentu mampu mencapai kematangan inti tahap metafase II yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan oosit yang

mengalami pengembangan cumulus sebagian. Pada proses pematangan oosit in vitro yang lebih penting adalah kematangan dari oosit, sehingga proses fertilisasi akan berhasil apabila didukung oleh kematangan inti pada tahap metafase II.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang diperoleh dapat diambil beberapa kesimpulan sebagai berikut :

1. Peranan GDF-9 dan EGF ke dalam medium kultur sangat berpengaruh terhadap perkembangan ekspansi oosit kambing PE secara in vitro.
2. Suplementasi growth Factor GDF-9 dan EGF dalam meningkatkan imature oosit menjadi mature oosit

memberikan pengaruh yang sangat baik.

3. Growth factor GDF-9 dan EGF memberikan pengaruh yang optimum terhadap penampakan polar body (PB).

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut penggunaan growth factor gdf-9 dan EGF terhadap tingkat kematangan oosit kambing PE secara in vitro.

2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai tingkat kematangan oosit yang telah dimatangkan pada incubator terhadap penampakan polar body melalui percobaan in vitro.

DAFTAR PUSTAKA

- Adifa, N. S. 2009. Pengaruh Penambahan Chorionic Gonadotrophin pada Medium Maturasi terhadap Kemampuan Maturasi, Fertilisasi, dan Perkembangan Embrio secara In Vitro Kambing Peranakan Ettawa. Fakultas Peternakan. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Anonima. 2008. Direktorat Peternakan: Populasi Ternak Kambing Di Yogyakarta. <http://www.ditjennak.go.id/druminansia.asp>. Diakses pada 28-05-2013.
- Anonimb. 2010. Plasma Nutfah Kambing Di Indonesia. <http://kandangbambu.wordpress.com/2010/06/18/tujuh-plasma-nutfah-kambing-lokal-indonesia/>. Diakses pada 28-05-2013.
- Ciptadi, G., Boediyono, A., dan M.S Djati,., 2004, Strategi dan Konservasi Bibit Kambing Lokal Unggul melalui Produksi Embrio Kloning Hasil Rekonstruksi dengan Transfer inti, Laporan Penelitian Lemlit Universitas Brawijaya, Malang.
- Conti, M., M. Hsieh, , Jy.Y Park, and Y. Q Su, 2006, Role of the Epidermal Growth Factor Network in Ovarium Follicles, *Molecular Endocrinology*, 20(4);715-723.
- Diaz F.J., O'Brien M. J., Wigglesworth K., and Eppig J.J., 2006, The Preantral Granulosa Cell Kumulus Transition in The Mouse Ovary : Development Of Competence To Undergo Expansion, *Developmental Biology*, 299;91-104.
- Frandsen, R.D. 1992. Anatomi dan Fisiologi Ternak. Edisi keempat terjemahan B. Srigondo dan K. Prasno. Gajah Mada University Press, Yogyakarta: 683.
- Ginther, O. J., K. Kot, L. J. Kulick and M. C. Wiltbank. 1997. Sampling Follicular Fluid without Altering Follicular Status in Cattle: Oestradiol Concentration Early in Follicular Wave. *Journal of Reproduction and Fertility*. 109(1):181- 186.
- Gordon I, 1994. Oocyte Recovery and Maturation in Laboratory Production of Cattle Embryos, *Cab International*. 39-143.
- Goto K, Yasuzuki T, Watani F, and Shiniciro T, 1995. *In vitro Development of Bovine Oocytes Collected Ovaries of Individual Cows After Fertilization*. *Animal Reproduction Science* 36:110-113.

- Guthrie, H. D., R. W. Grimes and J. M. Hammond. 1995. Changes in Insulin-Like Growth Factor-Binding Protein-2 and -3 in Follicular Fluid During Atresia of Follicles Grown After Ovulation in Pigs. *Journal of Reproduction and Fertility*.104(1):225-230.
- Hafez, E. S. E., and B. Hafez. 2000. Folliculogenesis, Egg Maturation, and Ovulation. In *Reproduction in Farm Animal*.7th Edition.Edited by B. Hafez and E. S. E. Hafez.Lae and Febiger. Philadelphia.
- Hardjopranto, S. 1995. Ilmu Kemahiran Pada Ternak. Airlangga University Press. Surabaya.
- Hyttel, P.H, Callensen, and T. Greve,1986. Ultra Structural Features of Preovulatory Oocytes Maturation in Superovulation Cattle. *J. Reprod.and Fert.* 76:645-656
- Hunter R.G.F, 1995. Fisiologi dan Teknologi Reproduksi Hewan Betina Domestik.Penerbit : ITB Bandung.
- Ismail, M., 2006. Karakteristik Semen Segar Pejantan Kambing Peranakan Ettawa (PE) Pada Peternakan Rakyat di Kecamatan Palu Utara. *J. Santina*. Vol. 3 : 195-201.
- Lindsay, D.R, K.W. Entwistle, dan A. Winantea, 1982. Reproduksi Ternak di Indonesia. Universitas Brawijaya. Fakultas Peternakan. Malang.
- Lv, L., Wenbin Y., Wenzhong L., Youshe R., Fuzhong Li., Kyung-Bon Lee, and Goerge W. S. 2010. Effect of Oocyte Selection, Estradiol and Antioxidant Treatment on In Vitro Maturation of Oocyte Collected from Prepubertal Boer Goats. *Italian Journal Animal Science*. 9(e11):50-53.
- Motta PM, S. Makobe. 1992. Development of the ovarian surface and associated microscopy *Cell Tissue Res* 1992; 226::493-570).
- Najamuddin dan Ismail, M., 2006. Pengaruh Berbagai Dosis Oestradiol Benzoat Terhadap Estrus dan Angka Kebuntingan Pada Domba Lokal Palu. *J. Agroland*. Vol. 13 (1) : 99-103.
- Nalbandov, 1990. Reproductive Phisiology of Mammals and Bird diterjemahkan oleh Sunarya Keman dalam Fisiologi Reproduksi pada Mamalia dan Unggas. Penerbit. Universitas Indonesia (UI, Press) Jakarta.
- Partodiharjo, S, 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. Penerbit Mutiara. Jakarta.
- Prochazka R., Kalap P., And Nagyova E., 2003 Epidermal Growth Factor Tyrisine Kinase Actvity Regulates Expansion Of

- Porcine Oocyte-Cumulus Cell Complexes In Vitro, *Biology Of Reproduction*, 68, 797-803.
- Shamsuddin, M, B, Larrison, H.R. Martinez, 1993. Maturation-Related Changes in Bovin Oocytes Under Different Cultur Condition. *J. Anim. Reprod. Sci.* 31:49-58.
- Toelihere, M.R, 1985. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Angkasa. Bandung.
- Vitt UA, S. Mazerbourg, C. Klein and A. J. W. Hsueh. 2002. Bone morphogenetic protein receptor for growth differentiation factor-9. *Biology of Reproduction*. 67:473-480.
- Wattimena, J., T. R. Tagama, dan B. Hadisusanto. 2006. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Serum terhadap Tingkat Maturasi Oosit Domba In Vitro. *Animal Production*. 8(2):94-99.
- Wattimena, J., dan M. E. Saija. 2005. Pengaruh Jenis Hormon terhadap Tingkat Maturasi Oosit Domba In Vitro. *Animal Production*. 7(3):194-197.
- Widayati, D. T. 1999. Pengaruh Ukuran Folikel terhadap Kualitas Oosit Sapi Peranakan Ongole (PO) 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.
- Widjiati. 2007. Induksi maturasi oosit secara in vitro oleh TGF β asal oosit kumulus kompleks. [Disertasi]. Universitas Brawijaya. Malang.
- Yatim, W, 1990. Reproduksi dan Embriologi. Penerbit Tarsito. Bandung.