

Pengaruh Jenis Hormon terhadap Tingkat Maturasi Oosit Domba *In Vitro*

(The Influence of Kind of Hormone to Level of Sheep Oocytes Matured in Vitro)

J. Wattimena¹ dan M.E. Saija²

¹Lab. Reproduksi Ternak, Jur. Peternakan Fak. Pertanian Univ. Pattimura, Ambon

²Lab. Produksi Ternak, Jur. Peternakan Fak. Pertanian Univ. Pattimura, Ambon

Abstract

The objectives of the research were to know the effect of various hormone on *in vitro* maturation ovine oocyte. The result was expected to give information about the effect of various hormone on *in vitro* maturation ovine oocyte. The result of research show that treatment no significant ($P>0.05$) influenced on *germinal vesicle* (GV), *germinal vesicle breakdown* (GVBD) and *metaphase-I* (M-I) phase. The treatment P₃ (CR1aa+FSH+ Estradiol+hCG) significant ($P<0.05$) increased maturation rate then P₁ (CR1aa+FSH) dan P₂ (CR1aa+FSH+ Estradiol).

Key words : Hormone, Oocyte Maturation, Sheep, In Vitro

Pendahuluan

Domba merupakan jenis ternak ruminansia yang memberikan kontribusi dalam memenuhi kebutuhan protein hewani. Kebutuhan protein hewani dimasa yang akan datang diperkirakan akan terus meningkat seiring dengan meningkatnya jumlah penduduk dan kesadaran masyarakat tentang pentingnya gizi. Data statistik pada tahun 1999 menunjukkan bahwa kinerja reproduksi sapi, kerbau, kambing dan domba masih rendah yaitu sebesar 60%, kinerja reproduksi domba pada tahun yang sama panen anak domba hanya sebesar 48,7% dan panen domba muda sebesar 58,7% (Ditjen Peternakan, 1999; Natasasmita, 2001). Mengacu pada kondisi tersebut dikuatirkan akan berpengaruh pada populasi ternak domba dimasa mendatang. Oleh sebab itu perlu dilakukan upaya untuk meningkatkan populasi ternak domba melalui peningkatan kelahiran.

Salah satu upaya yang dilakukan adalah melalui penerapan bioteknologi reproduksi seperti inseminasi buatan (IB) dan transfer embrio (TE). Penerapan bioteknologi IB dan TE dalam bidang peternakan di Indonesia

masih diarahkan untuk memperbaiki mutu genetik dan produktivitas kambing dan domba (Boediono, dkk., 2000). Mengacu pada kondisi riil yang terjadi saat ini, maka penerapan bioteknologi IB dan TE, selain untuk memperbaiki mutu genetik dan produktivitas, sudah saatnya diarahkan untuk meningkatkan populasi ternak melalui peningkatan kelahiran.

Maturasi oosit secara *in vitro* merupakan salah satu faktor penting dalam menentukan keberhasilan proses fertilisasi *in vitro*. Aplikasi teknologi FIV belum diterapkan secara meluas dibidang peternakan, karena berbagai kendala yang dihadapi diantaranya kualitas media. Menurut Toelihere (1985); Gordon (1994); Lorenzo *et al.*, (1997), maturasi oosit secara *in vitro* dipengaruhi oleh keseimbangan antara hormon estrogen dan progesteron di dalam folikel. Hormon estrogen berperan pada proses proliferasi sel, sedang progesteron menstimuler diferensiasi sel. Estradiol berperan pada proses pembentukan spindel serta pembentukan polar bodi (Kruip *et al.*, 1988 dikutip Gordon, 1994). Hormon steroid seperti estradiol, progesteron

dan androstenedion pada proses maturasi oosit sapi berpengaruh terhadap peningkatan dan pemasukkan protein pada oosit (Pontbriand *et al.*, 1989). Selama proses maturasi oosit, hormon LH berperan mengubah distribusi kalsium di dalam ooplasma, menstimulasi dan meningkatkan glikolisis serta bersama-sama mitokondria meningkatkan oksidasi glukosa dan metabolisme glutamin (Zuelke *et al.*, 1991).

Berdasarkan uraian di atas maka dilakukan penelitian mengenai pengaruh jenis hormon terhadap tingkat maturasi oosit domba *in vitro*.

Penelitian bertujuan untuk mengkaji dan mempelajari pengaruh jenis hormon terhadap tingkat maturasi oosit domba *in vitro*. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi tentang pengaruh jenis hormon terhadap tingkat maturasi oosit domba *in vitro*.

Metode Penelitian

Penelitian menggunakan metode eksperimental laboratorium berdasarkan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan. Tiga perlakuan yang dicobakan dalam penelitian ini masing-masing; $P_1 = \text{CR1aa} + \text{FSH}$, $P_2 = \text{CR1aa} + \text{FSH} + \text{Estradiol}$ dan $P_3 = \text{CR1aa} + \text{FSH} + \text{Estradiol} + \text{hCG}$. Parameter yang diamati adalah tingkat maturasi tahap

germinal vesicle (GV), *germinal vesicle breakdown* (GVBD), *metafase-I* (M-I) dan *metafase-II* (M-II). Data dianalisis berdasarkan rancangan acak lengkap (RAL), dan diuji dengan uji wilayah berganda Duncan's (Gaspersz, 1994).

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Reproduksi Ternak, Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran, Jatinangor Bandung. Ovarium domba dikoleksi dari rumah potong hewan (RPH) di jalan Soekarno-Hatta Bandung, domba yang dipotong adalah domba lokal (domba garut) umur 1,5 sampai 3,5 tahun.

Media koleksi ovarium adalah NaCl fisiologis + penicillin 100 IU/ml, streptomycin 100 µg/ml. Media koleksi oosit adalah *modified phosphate buffered saline*(+) (mPBS+). Media maturasi adalah *Charles Rosenkrans-1aa* (CR1aa)+penicillin 100 IU/ml, streptomycin 100 µg/ml dan *sheep serum*/SS 10% (Sigma USA). Media Maturasi disuplementasi dengan *follicle stimulating hormone* (FSH) (Sigma USA), Estradiol (Sigma USA) dan *human chorionic gonadotrophin* (hCG) (Sigma USA) masing-masing 0.01 mg/ml sebagai perlakuan

Ovarium yang digunakan dalam penelitian bersumber dari ovarium domba lokal, dikoleksi dari rumah potong hewan (RPH) dan disimpan dalam termos dengan media koleksi (NaCl fisiologis) suhu 30-35°C.

Tabel 1. Pengaruh Perlakuan Terhadap Tingkat Maturasi Oosit Domba (%)

Perlakuan	Jumlah Oosit	Rataan Tingkat Maturasi (Jumlah Oosit)			
		GV	GVBD	M-I	M-II
P_1	39	12,82 (5) ^a	15,38 (6) ^a	23,08 (9) ^a	48,72 (19) ^a
P_2	41	4,88 (2) ^a	9,76 (4) ^a	26,83 (11) ^a	58,54 (24) ^b
P_3	37	0,00 (0) ^a	8,11 (3) ^a	21,62 (8) ^a	67,57 (25) ^c

Ket : $P_1 = \text{CR1aa} + \text{FSH}$, $P_2 = \text{CR1aa} + \text{FSH} + \text{Estradiol}$, $P_3 = \text{CR1aa} + \text{FSH} + \text{Estradiol} + \text{hCG}$
Huruf yang berbeda pada kolom menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$)

Ovarium dibilas dengan media koleksi dan oosit dikoleksi dengan metode *slicing*, oosit dicuci 3 kali pencucian terakhir dengan media maturasi (CR1aa). Hanya oosit kualitas A dan B yang digunakan sebagai sampel penelitian. Tiga spot media maturasi oosit (CR1aa) dibuat pada petridish (100 µl/drops), ditutup dengan mineral oil (Sigma, USA). Oosit dipindahkan ke dalam spot media maturasi (10-15 oosit) sesuai perlakuan diinkubasi selama 24 jam, suhu 38,5°C, 5% CO₂ dan kelembaban 95%. Evaluasi hasil maturasi dengan metode pewarnaan *aceto-orcein* (Pawshé *et al.*, 1994; Byrd *et al.*, 1997; Sharma *et al.*, 2001). Setelah penggundulan sel-sel kumulus, oosit difiksasi dalam larutan asam asetat dan ethanol (1:3) pada suhu kamar selama 24 jam. Oosit diwarnai dengan 1% *orcein* dalam 45% *asam asetat* dan dievaluasi dengan mikroskop fase-kontras.

Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian (Tabel 1) menunjukkan bahwa P₃ (67,57%) nyata (P<0,05) meningkatkan tingkat maturasi oosit domba dibanding P₁ (48,72%), dan dibanding P₂ (58,54%). Hal ini mengindikasikan bahwa adanya hormon gonadotrophin dan steroid dalam media maturasi sangat berperan dalam memicu terjadinya proses maturasi. Menurut Totey *et al.*, (1993) gonadotrophin dan estradiol dalam media maturasi menghasilkan angka maturasi lebih besar dibanding tanpa hormon. Gonadotrophin akan meningkatkan tingkat GVBD, sedang hormon steroid terutama estradiol akan meningkat maturasi inti dan sitoplasma oosit mamalia serta diduga mensitesis *male pronucleus growth factor* pada inti dan sitoplasma oosit. Hasil penelitian ini memperkuat pernyataan sebelumnya yang mengatakan bahwa kombinasi hormon estradiol (E2) dengan LH atau FSH menghasilkan respons tertinggi terhadap tingkat maturasi, penelitian Im *et al.*,

(1995) juga memberikan hasil yang sama bahwa suplementasi E2+LH+FSH menghasilkan tingkat maturasi oosit sapi sebesar (86,4%) dibanding FSH (73,3%) dan tanpa hormon (53,3%). Menurut Kruip *et al.*, (1988) dikutip Gordon, (1994) hormon estradiol berperan pada proses pembentukan formasi spindel serta pembentukan polar bodi. Hormon steroid seperti; estradiol, progesteron dan adrostenedion pada proses maturasi oosit sapi berpengaruh terhadap peningkatan dan pemasukkan protein pada oosit (Pontbriand *et al.*, 1989). Zuelke *et al.*, (1991) mengatakan selama proses maturasi oosit sapi, hormon LH berperan mengubah distribusi kalsium di dalam ooplasma, menstimulasi dan meningkatkan glikolisis serta bersama-sama mitokondria meningkatkan oksidasi glukosa dan metabolisme glutamin.

Kesimpulan

Perlakuan P₃ nyata meningkatkan tingkat maturasi oosit domba sehingga disarankan untuk menggunakan media maturasi CR1aa + FSH + Estradiol + hCG dalam proses maturasi oosit domba secara *in vitro*.

Daftar Pustaka

- Boediono, A., Y. Rusyantono, M. Kusdiantoro, I. Djuwita dan Herliatien. 2000. Perkembangan Oosit Kambing Setelah Maturasi, Fertilisasi dan Kultur *In Vitro*. *Media Veteriner*. 7 (4): 11-17.
- Byrd, S.R., G.F. Foxworth, A.A. Applewhite and M.E. Westhusin. 1997. *In Vitro* Maturation of Ovine Oocytes in A Portable Incubator. *Theriogenology*. 47: 857-864.
- Ditjen Peternakan, 1999. Buku Statistik Peternakan. Departemen Pertanian. Jakarta.
- Gaspersz, V. 1994. Metode Perancangan Percobaan. Armico. Bandung.
- Gordon, I. 1994. Laboratory Production of Cattle Embryos, Cab International. Ireland.

- Im, K.S., H.J. Kim, K.M. Chung, H.S. Kim and K.W. Park. 1995. Effects of Ovary Type, Oocyte Grade, Hormone, Sperm Concentration and Fertilization Medium on *In Vitro* Maturation, Fertilization and Development of Bovine Follicular Oocytes. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* Vol. 8. No. 2. : 123-127.
- Lorenzo, P.L., J.C. Illera, G. Silvan, M.J. Illera, C.J. Munro and M. Illera. 1997. Determination By EIA of Progesteron and 17 β -estradiol in Culture Medium From Rabbit Oocytes Matured *in Vitro* With Epidermal Growth Factor. *Theriogenology*. 47: 192.
- Natasasmita, A. 2001. Situasi Peternakan Ruminasia Potong di Indonesia, Khusus di Kawasan Timur Indonesia dan Pokok-Pokok Pemikiran Tentang Upaya Peningkatan Produksi. Makalah Seminar Peternakan Pasca-IAFUP. Kupang.
- Pawshe, C.H., S.M. Totey and S.K. Jain. 1994. A Comparison of Three Methods of Recovery of Goat Oocytes for *In Vitro* Maturation and Fertilization. *Theriogenology* 42:117-125.
- Pontbriand. D., A.K. Goff, K.P. Xu and W.A. King. 1989. Effect of Steroids on Protein Synthesis in Mature and Immature Bovine Oocytes. *Theriogenology*. 31: 240.
- Rehman, N.U., M. Sarwar and H.A. Samad. 2001. *In Vitro* Production of Bovine Embryos-A Review. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* Vol.14 No. 9: 1342-1351.
- Sharma, G.T., A. Teotia and A.C. Majumdar. 2001. Meiotic Competence of Caprine Oocytes During IVM on Granulosa Cell Monolayers Developed From Small and Large Follicles in Comparison to the Granulosa Cell Coculture. *Asian-Aust. J. AnimSci.* Vol.14.No.6: 777-784.
- Toelihere, M.R. 1985. Fisiologi Reproduksi Pada Ternak. C.V. Angkasa. Bandung.
- Totey, S.M., C.H. Pawshe and G.P. Singh. 1993. *In Vitro* Maturation and Fertilization Of Buffalo Oocytes (*Bubalus bubalis*); Effects Of Media, Hormones and Sera. *Theriogenology*. 39: 1153-1171.
- Zuelke, K.A., C.H. Keith and B.G. Brackett. 1991. LH Induction Of Calcium Oscillations in Immature Bovine Oocytes. *Biol. Reprod.* 44 (Suppl.1). 141 (Abs. 354).