

PENGARUH PENAMBAHAN SERUM DALAM MEDIUM TCM 199 TERHADAP TINGKAT PEMATANGAN OOSIT DAN PERKEMBANGAN EMBRIO KAMBING KACANG SECARA IN VITRO

Dasrul

Abstrak. Telah dilakukan penelitian mengenai pengaruh serum dalam medium TCM 199 terhadap pematangan oosit dan perkembangan embrio dini kambing kacang secara in vitro. Untuk proses pematangan dan biakan in vitro digunakan serum yang diperoleh dari anak kambing (FGS), kambing estrus (EGS) dan kambing bunting estrus (PGS). Oosit dimatangkan dan dibiakkan didalam TCM 199 yang ditambahkan 10% FGS, EGS atau PGS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan 10% EGS dan PGS dapat meningkatkan pematangan oosit mencapai tahap Metafase-II secara nyata masing-masing sebesar $72,12 \pm 5,11 \%$ dan $75,54 \pm 3,24 \%$ ($p < 0,05$) dibandingkan FGS ($64,25 \pm 6,54 \%$). Tingkat pembuahan in vitro dalam medium yang diberi EGS dan PGS secara nyata lebih tinggi ($p < 0,01$) masing-masing $62,66 \pm 5,52 \%$ dan $61,25 \pm 2,97 \%$ dibandingkan EGS ($43,54 \pm 8,86 \%$). Sedangkan pengaruh kombinasi PGS dan PGS masing-masing untuk pematangan dan kultur embrio menghasilkan tingkat pembelahan embrio ke tahap blastosis ($20,34 \pm 6,11 \%$) lebih baik secara tidak nyata dibandingkan kombinasi EGS dan EGS ($16,28 \pm 5,31 \%$) dan keduanya lebih tinggi secara nyata dibandingkan dengan kombinasi FGS dan FGS ($8,67 \pm 4,69 \%$). Disimpulkan bahwa penambahan EGS atau PGS dalam media pematangan dan biakan memberi hasil yang lebih baik untuk tingkat pematangan dan perkembangan embrio dini kambing secara in vitro. (JKS 2005;1:4-13)

Kata kunci : IVF, oosit, embrio kambing, serum induk

Abstract. The experiments were carried out to study the influence of suplementasi serum into media TCM 199 on in vitro maturation and early development of goats embryos. Sera used in this study were Fetal Goat Serum (FGS), estrus Goat serum (ECS) and Pregnant Goat serum (PGS). Goats oocyte were matured and cultured in TCM-199 supplemented with 10% of different sera. Results of this experiment showed that supplementation of EGS or PGS could support maturation rate (Metaphase-II) at $72,12 \pm 5,11 \%$ and $75,54 \pm 3,24 \%$, respectively better than EGS ($64,25 \pm 6,54 \%$). The fertilization rate was significantly higher ($p < 0,05$) in medium supplemented with either ECS or PGS than FGS, ($62,66 \pm 5,52 \%$, $61,25 \pm 2,97 \%$ and $43,54 \pm 8,86 \%$, respectively). On the other hand the effect of ECS supplementation followed by PGS on IVM and IVC yielded in embryos blastocyst ($20,34 \pm 6,11 \%$) higher than those supplemented with EGS followed by EGS ($16,28 \pm 5,31 \%$) and EGS followed by FGS ($8,67 \pm 4,69 \%$). In conclusion, supplementation of ECS or EMS into maturation and culture medium have given better results on both maturation rate and early embryonic development. (JKS 2005;1:4-13)

Key words : IVF, oocytes, goat embryos, goat serum

Dasrul adalah Dosen Bagian laboratorium Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala Banda Aceh

Pendahuluan

Salah satu dari perkembangan yang paling menakjubkan dalam reproduksi hewan ternak adalah transfer embrio, yang bisa disebut sebagai generasi kedua dari bioteknologi reproduksi setelah inseminasi buatan (IB). Teknik tersebut sekarang telah digunakan dalam praktek dengan jutaan embrio diimpor-ekspor ke seluruh dunia.¹ Saat ini, penelitian pada kambing kurang berkembang dibandingkan pada sapi, domba dan babi, walaupun perkembangan ternak kambing sangat pesat di seluruh dunia. Di samping peran sosio-ekonomi yang penting dari ternak kambing di dunia, telah diketahui bahwa penelitian pada kambing baik penelitian dasar mau pun terapan, juga pada sistem produksinya masih jauh tertinggal dibandingkan dengan penelitian pada hewan lain.

In vitro fertilisasi adalah suatu teknik pembuahan yang terjadi di luar tubuh induk, dengan cara mempertemukan sel telur yang matang dengan sel spermatozoa yang telah berkapasitasi dalam cawan yang berisi medium kultur.² Dengan in vitro fertilisasi akan didapatkan embrio secara massal dan seragam.³ Ketersediaan oosit dalam jumlah besar merupakan syarat untuk pelaksanaan IVF. Ovarium dari rumah potong hewan merupakan sumber oosit primer yang berlimpah dan paling murah untuk memproduksi embrio secara besar-besaran. In vitro maturation (IVM) adalah salah satu tahapan dalam proses IVF. Pada kebanyakan penelitian, medium dasar untuk IVM diperkaya oleh hormon dan berbagai konsentrasi serum.⁴ Medium dan pemilihan suplemen protein dan hormon untuk IVM sangat berperan dalam keberhasilan IVF dan perkembangan selanjutnya. Menurunnya perkembangan zigot hasil IVF pada kambing merupakan indikasi bahwa kondisi IVM tidak mendukung maturasi sitoplasmik.^{3,4} Perbaikan sistem IVM untuk oosit sangat diperlukan dengan

maksud menciptakan kondisi in vitro yang mirip dengan lingkungan in vivo.⁵

Aplikasi teknologi FIV belum diterapkan secara meluas di bidang peternakan khususnya pada ternak kambing, karena berbagai kendala yang dihadapi diantaranya belum sempurnanya kondisi medium yang digunakan untuk pematangan oosit dan kultur embrio in vitro, sehingga produksi embrio melalui IVF masih rendah dan bervariasi. Serum dapat dipakai sebagai bahan suplementasi dalam media kultur, karena memiliki komponen esensial seperti; protein, hormon, faktor-faktor pertumbuhan, mineral, lipid yang diperlukan untuk maturasi, fertilisasi maupun perkembangan embrio.⁶ Selama ini serum yang digunakan sebagai bahan suplementasi berasal dari serum industri farmasi seperti; *estrus cow serum* (ECS), *bovine serum* (BS), *fetal calf serum* (FCS), dan *bovine serum albumin* (BSA) dengan harga relatif mahal, kemasan besar dan pada daerah tertentu sulit didapat. Mengingat faktor tersebut maka perlu diupayakan serum alternatif seperti: *proestrus goat serum* (PeGS), *estrus goat serum* (EGS) dan *pregnant goat serum* (PGS) yang dapat digunakan sebagai bahan suplementasi untuk meningkatkan kualitas media.⁴ Berdasarkan uraian di atas telah dilakukan penelitian pengaruh jenis serum terhadap tingkat maturasi oosit dan perkembangan embrio kambing kacang secara in vitro. Tujuan penelitian untuk mengetahui jenis serum yang memberikan pengaruh terbaik terhadap keberhasilan maturasi oosit dan perkembangan embrio kambing kacang secara in vitro. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh jenis serum terhadap proses maturasi oosit dan perkembangan embrio kambing kacang secara in vitro. Manfaat praktis penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan tingkat maturasi oosit dan perkembangan embrio dengan serum

alternatif yang relatif murah, mudah proses pembuatan, efektif dan mengurangi ketergantungan terhadap serum industri farmasi.

Metode Penelitian

Koleksi Ovarium dan Oosit

Ovarium yang digunakan dalam penelitian bersumber dari ovarium kambing lokal, dikoleksi dari rumah potong hewan (RPH) dan dibawa ke laboratorium menggunakan termos yang berisi NaCl fis. disuplementasi dengan penicillin 1000 IU/ml dan streptomycin 1000 ug/ml dengan suhu 30-35°C. Di Laboratorium, ovarium dibilas dengan media koleksi dan oosit dikoleksi dengan metode *aspirasi*, menggunakan spuit steril dengan jarum ukuran 18 gauge. Larutan hangat *Oocyte Whashing Solution (OWS)* telah digunakan untuk koleksi oosit. Cairan follikel yang didapat dimasukkan dalam tabung reaksi steril melalui dinding tabung dan disimpan dalam water bath selama 10 menit sampai oosit mengendap. Selanjutnya cairan bagian atas dibuang dan bagian bawah dituangkan dalam cawan petri dan diamati dibawah mikroskop pembesaran 100 X. Cumulus oocyte complexe (COC) diisolasi di dan dikelompokkan dalam kualitas A, B, dan C. Hanya oosit kualitas A dan B yang digunakan sebagai sampel penelitian.

Pematangan Oosit in vitro

Media pematangan yang digunakan adalah media TCM 199 yang dilengkapi 10% FCS, 100 ul pyrufat, 0,01 mg/ml FSH (Sigma USA) dan 25 ug gentamisin dan ditambahkan 10% serum sesuai perlakuan (serum anak kambing/FGS; serum kambing estrus/EGS dan serum kambing bunting/PGS). Tiga spot media maturasi oosit dibuat pada petri-dish (100 ul/drops), ditutup dengan mineral oil (Sigma, USA). Oosit dipindahkan ke dalam spot media maturasi (10-15 oosit) sesuai perlakuan

diinkubasi selama 24 jam dalam incubator CO₂ dengan suhu 37 - 38,5°C, 5% CO₂ dan kelembaban 95%. Selanjutnya dilakukan evaluasi tingkat kematangan oosit berdasarkan ekspansi sel cumulus dan tahap pembelahan inti. Evaluasi tingkat ekspansi sel kumulus dilakukan melalui pengamatan langsung dibawah mikroskop terdiri dari; grade 0, sel kumulus tidak berekspansi; grade 1. sel kumulus berekspansi sebagian dan grade 2. sel kumulus berekspansi sempurna.

Pencucian dan kapasitas Spermatozoa

Semen segar kambing yang dikoleksi dari pejantan berkualitas baik dimasukan kedalam tabung reaksi yang telah berisi medium *eart balance salt solution* (EBSS). Selanjutnya disentrifugasi sebanyak dua kali dengan kecepatan 1800 rpm selama 10 menit. Supernatan dibuang dan pelletnya diresuspensi kembali dengan medium EBSS 3 ml dan biarkan selama 5 menit untuk swim up spermatozoa.

Fertilisasi dan kultur embrio in vitro

Oosit yang sudah dimatangkan selama 24 jam pada masing-masing perlakuan dicuci sebanyak 2 kali dalam medium OWS yang mengandung hepes, BSA fraksi V dan antibiotik, dan dicuci sekali dengan medium fertilisasi (EBSS yang dilengkapi serum masing-masing perlakuan). Selanjutnya sebanyak 10 - 15 oosit tersebut dimasukan kedalam roset drop yang telah disiapkan dan telah berisi spermatozoa, selanjutnya diinkubasikan kedalam incubator CO₂ 5%, O₂ 5% dengan kelembaban 95% pada suhu 38,5 °C selama 24 jam.

Setelah inkubasi selama 24 jam bersama spermatozoa, semua oosit yang fertile dicuci dalam medium OWS 1 kali, kemudian dicuci lagi dengan medium kultur. Selanjutnya oosit fertile di pindahkan dalam mikro drop medium kultur TCM 199 dilengkapi ko kultur sel

cumulus dan inkubasi dalam incubator suhu 38,5°C selama 7 hari. Pergantian medium kultur dilakukan setiap 48 jam, sambil dilakukan pengamatan perkembangan embrio. Persentase morula dan blastosis dipakai sebagai indicator keberhasilan kultur embrio in vitro.

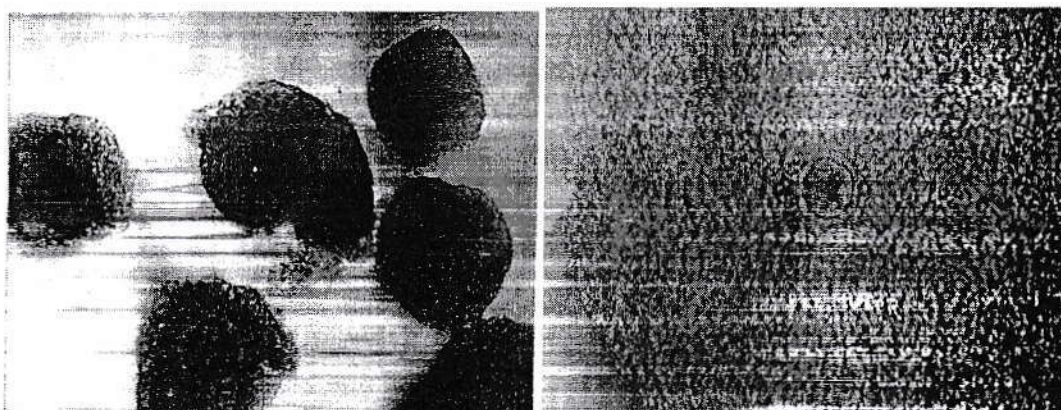
Analisis Data

Penelitian menggunakan metode eksperimental laboratorium berdasarkan rancangan acak lengkap (RAL) searah dengan 3 kelompok perlakuan penambahan serum induk (FGS, EGS dan PGS), masing-masing kelompok perlakuan diulangi 5 kali. Data tingkat pematangan, cleavage dan perkembangan embrio dianalisis dengan menggunakan ANAVA yang dilanjutkan dengan uji berganda Duncan's.⁷

Hasil Penelitian

Persentase Pematangan Oosit in vitro

Oosit matang (mature) merupakan salah satu faktor penting dalam menunjang keberhasilan fertilisasi in vitro. Oosit yang telah matang ditandai oleh adanya ekspansi cumulus dan terbentuknya pembelahan inti mencapai tahap metaphase-II. Pada penelitian ini tingkat kematangan oosit diamati berdasarkan ekspansi sel cumulus. Gambaran ekspansi sel cumulus oosit kambing sebelum dan setelah pematangan selama 24 jam dapat dilihat pada gambar 1. Sedangkan rata-rata persentase oosit yang matang setelah pematangan selama 24 jam dengan penambahan berbagai jenis dan konsentrasi serum dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 1 Gambaran ekspansi sel cumulus oosit kambing yang matang

Tabel 1 Rata-rata ($\pm$ SD) persentase oosit yang matang setelah pematangan selama 24 jam dalam medium TCM 199 dengan penambahan berbagai jenis dan konsentrasi serum

Jenis Serum	ulangan	Persentase Oosit Matang
FGS	5	64,25 $\pm$ 6,54 ^a
ECS	5	72,12 $\pm$ 5,11 ^b
PGS	5	75,54 $\pm$ 3,24 ^b

Ket: FGS: serum fetus kambing; EGS: serum kambing estrus; PGS: : serum kambing bunting. Superskrip huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Hasil analisis statistika terhadap persentase oosit kambing yang matang setelah pematangan menunjukkan bahwa jenis serum berpengaruh secara nyata ($p < 0,05$), terhadap persentase pematangan oosit in vitro. Penambahan jenis serum PGS ke dalam medium TCM 199 menghasilkan rata-rata persentase pematangan oosit sebesar $75,54 \pm 3,24 \%$, lebih tinggi secara nyata ($p < 0,05$) dibandingkan dengan penambahan FGS ($64,25 \pm 6,54 \%$), tetapi tidak berbeda secara nyata ($p > 0,05$) dibandingkan dengan pada jenis serum EGS ($72,12 \pm 5,11 \%$).

Persentase Cleavage

Gambaran oosit yang berhasil membelah (cleavage) dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2 Gambaran oosit kambing yang membelah 2 sel dan 4 sel.

Sedangkan rata-rata persentase cleavage oosit matang dengan penambahan berbagai jenis dan konsentrasi serum setelah fertilisasi dengan spermatozoa dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Rata-rata ($\pm$ SD) persentase Cleavage setelah fertilisasi

Jenis Serum	ulangan	Persentase Cleavage
FGS	5	$43,54 \pm 8,86^a$
ECS	5	$62,66 \pm 5,52^b$
PGS	5	$61,25 \pm 2,97^b$

Ket : FGS: serum fetus kambing; EGS: serum kambing estrus; PGS: : serum kambing bunting. Superskrip huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Hasil analisis statistika terhadap persentase cleavage menunjukkan bahwa jenis serum, berpengaruh secara nyata ($p < 0,05$). Penambahan 10 % serum FGS, EGS dan PGS ke dalam medium TCM 199 menghasilkan rata-rata persentase cleavage berturut-turut sebesar $43,54 \pm 8,86 \%$, $62,66 \pm 5,52 \%$, dan $62,66 \pm 5,52 \%$. Walaupun terlihat adanya kecendrungan peningkatan persentase cleavage dari penambahan serum EGS dibandingkan dengan PGS, uji statistik menunjukkan tidak berpengaruh secara nyata ($p > 0,05$) terhadap persentase cleavage.

Persentase Embrio tahap Morula

Rata-rata persentase perkembangan embrio yang dikultur dengan penambahan berbagai jenis serum dapat dilihat pada Tabel 3.

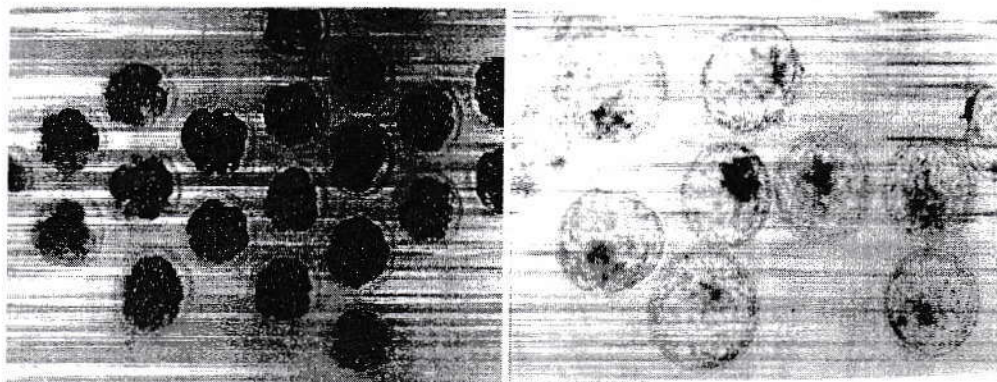
Tabel 3 Rata-rata persentase perkembangan embrio

Jenis Serum	Perkembangan embrio		
	Tahap 8-16 sel	Morula	blastosis
FGS	35,09± 4,51	11,89± 3,93	8,67± 4,69
EGS	45,63± 6,74	26,15± 5,84	16,28± 5,31
PGS	49,25± 6,39	28,80± 5,87	20,34± 6,11

Ket : FGS: serum fetus kambing; EGS: serum kambing estrus; PGS: : serum kambing bunting. Superskrip huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Hasil analisis statistika terhadap persentase embrio tahap morula menunjukkan bahwa penambahan serum dalam medium maturasi dan kultur berpengaruh secara nyata ($p > 0,05$) terhadap perkembangan embrio kambing secara in vitro. Penambahan jenis serum EGS dan PGS pada konsentrasi 10% ke dalam medium kultur menghasilkan rata-rata persentase embrio tahap morula berturut-turut sebesar $26,15 \pm 5,84\%$ dan $28,80 \pm 5,87\%$, lebih tinggi secara nyata ($p < 0,05$) dibandingkan dengan penambahan FGS yaitu $11,89 \pm 3,93\%$. Hal yang sama juga terlihat pada tahap

blastosis penambahan EGS dan PGS berturut-turut $16,28 \pm 5,31\%$ dan $20,34 \pm 6,11\%$ lebih tinggi secara nyata ($p < 0,05$) dibandingkan dengan penambahan FGS yaitu $8,67 \pm 4,69\%$. Walaupun terlihat adanya kecenderungan peningkatan persentase embrio tahap morula dan blastosis pada penambahan EGS dan PGS, namun uji statistik menunjukkan tidak berpengaruh secara nyata ($P > 0,05$) terhadap diantara keduanya. Gambaran embrio yang berhasil berkembang mencapai tahap morula dan blastosis dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3 Gambaran oosit kambing yang berhasil berkembang ketahap morula (a) dan blastosis (b).

Pembahasan

Berdasarkan tiga parameter dalam penelitian ini (angka pematangan oosit, angka cleavage, angka perkembangan embrio ke tahap morula dan blastosis) dapat dinyatakan bahwa jenis serum PGS menghasilkan angka pematangan oosit dan angka morula lebih tinggi ($p < 0,05$)

dibandingkan dengan jenis serum FGS tetapi tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dibandingkan dengan EGS. Penambahan serum EGS dan PGS memberikan respons yang sama terhadap perkembangan embrio taraf awal (cleavage, embrio morula dan blastosis). Dengan kata lain dapat dinyatakan bahwa jenis serum EGS

dan PGS memberikan pengaruh sama atau lebih tinggi dibandingkan dengan jenis serum FGS. Dengan demikian jenis serum EGS dan PGS dapat dijadikan sebagai pengganti FGS untuk pematangan oosit in vitro dan perkembangan embrio sampai taraf morula, dengan konsentrasi terbaik 10%.

Perbedaan pengaruh diantara jenis serum FGS, EGS dan PGS terhadap angka pematangan oosit in vitro dan angka perkembangan embrio (sampai blastosis) mencerminkan perbedaan komponen-komponen yang terkandung di dalam masing-masing jenis serum. Keefektifan serum estrus di dalam medium pematangan oosit in vitro bervariasi disebabkan besarnya variasi komponen-komponen yang terdapat di dalam serum seperti asam amino⁷, hormon gonadotropin, progesteron dan estrogen,⁸ berbagai macam protein, asam lemak, hormon insulin, mineral dan faktor penumbuh⁹.

FGS tergolong ke dalam jenis serum yang paling banyak digunakan di dalam medium kultur sel/jaringan hewan.^{10,11}

FGS mengandung fetuin, glikoprotein utama yang terdapat di dalam FBS, dapat mencegah pecahnya zona pelusida (ZP) selama pematangan oosit in vitro.¹² Dijelaskan bahwa fetuin bereaksi melalui pencegahan aktivitas enzim proteolitik.¹² Peneliti lain yang meneliti oosit tikus¹³ dan mencit¹⁴ juga menyatakan bahwa FGS dapat mencegah pecahnya ZP dan memperbaiki kematipan fertilisasi oosit. Serum yang diambil pada induk kambing bunting (PGS) mengandung estrogen kurang dari 1.0 pg/ml dan progesteron mendekati 6.2 ng/ml.¹⁵ Angka pematangan oosit in vitro tertinggi didapatkan pada rasio estrogen dan progesteron pada tingkat 2.10 ng/ml dan 4.90 ng/ml.¹⁶ Selanjutnya peneliti lain menyatakan bahwa pematangan oosit dipengaruhi oleh perubahan keseimbangan estrogen dan progesteron di dalam folikel.¹¹ Toelhiere (1985) juga menyatakan hal yang senada bahwa

progesteron secara normal bekerjasama dengan estrogen dan steroid-steroid lainnya dan menghasilkan hanya sedikit pengaruh-pengaruh khusus bila bekerja sendiri. Ditambahkan bahwa estrogen dapat merangsang pertumbuhan sel sedangkan progesteron menstimulir terjadinya diferensiasi sel.^{11,18,19} Namun secara fisiologik peranan progesteron dalam proses pematangan oosit tidak diketahui dengan jelas. Keterangan tersebut dapat menjelaskan mengapa angka pematangan oosit in vitro di dalam TCM-199 yang disuplementasi dengan jenis serum PGS lebih tinggi dibandingkan dengan jenis serum FGS, dan lebih tinggi atau sama dengan EGS.

Angka pematangan oosit in vitro yang lebih rendah pada suplementasi FGS diduga disebabkan oleh konsentrasi estrogen yang relatif rendah pada jenis serum FGS. Penelitian lain menyatakan bahwa persentase abnormalitas pembentukan spindle dan pemunculan badan kutub meningkat secara tajam pada oosit yang dikultur selama 12 sampai 20 jam di dalam medium yang mengandung konsentrasi estradiol yang tinggi (37 pg/l atau 37 pg/ml).²⁰ Sedangkan konsentrasi estrogen dalam plasma darah perifer sapi pada hari estrus berkisar antara 15 sampai 25 pg/ml.¹¹ Perlakuan estrogen saja (tanpa penambahan hormon FSH) dapat menghambat pematangan oosit in vitro yang dikultur di dalam tetes 50, ul medium TCM-199 yang mengandung 10% FCS.²¹

Sebaliknya penambahan progesteron dan LH berpengaruh baik terhadap pematangan oosit dan perkembangan embrio. Pengaruh yang menguntungkan dari serum terhadap pematangan oosit in vitro mungkin bereaksi melalui sel-sel kumulus atau secara langsung pada oosit. Selain itu serum juga mengandung sejumlah faktor penumbuh yang memainkan peranan penting dalam pengaturan pematangan oosit, khususnya melalui sel-sel kumulus.^{11,16} Sel-sel kumulus berperan sebagai pemelihara dan

penuplai zat-zat nutrisi yang dibutuhkan oosit²². Oleh karena itu sel-sel kumulus yang menyelimuti oosit sangat penting artinya dalam mendukung proses pematangan oosit *in vitro*, baik pematangan inti maupun pematangan sitoplasma. Pawshe dan Totey (1993) membuktikan bahwa kultur sel granulosa selapis yang berumur enam hari dapat meningkatkan angka pematangan oosit yang terlepas dari sel-sel kumulusnya. Persentase morula dan blastosis yang lebih rendah pada media perlakuan yang disuplementasi dengan FGS ($11,89 \pm 3,93\%$ dan $8,67 \pm 4,69\%$) juga mencerminkan adanya efek negatif dari suplementasi FGS dalam proses pematangan oosit *in vitro*. Oleh karena ketidaksempurnaan pematangan *in vitro* juga berpengaruh terhadap kemampuan perkembangan embrio *in vitro* pada taraf selanjutnya.^{11,14} Suatu penelitian yang bertujuan menguji penggunaan serum untuk pematangan oosit dan kultur embrio *in vitro* menyatakan bahwa serum sapi yang berada pada fase estrus kurang efektif dibandingkan dengan serum sapi yang diambil pada saat proestrus (diambil satu hari sebelum estrus).^{6,8} Pengaruh suplementasi 20% serum sapi yang berbeda yang diambil pada saat estrus (dengan konsentrasi LH dari 0.2 ng/ml sampai 50 ng/ml atau lebih, dan konsentrasi estradiol-17B dari 3 pg/ml sampai 26.6 pg/ml) di dalam medium TCM-199 + FSH 10 14g/ml terhadap perkembangan embrio.⁸ Suplementasi serum sapi estrus yang mengandung konsentrasi LH dan estradiol-17B yang tinggi tidak berpengaruh terhadap peningkatan angka morula atau blastosis.⁸ Angka morula dan blastosis yang lebih tinggi pada perlakuan TCM-199 yang disuplementasi dengan EGS ($26,15 \pm 5,84\%$ dan $16,28 \pm 5,31\%$), dan PGS ($28,80 \pm 5,87\%$ dan $20,34 \pm 6,11\%$), selain disebabkan oleh tingkat pematangan oosit *in vitro* yang lebih baik, diduga juga disebabkan oleh berbagai komponen yang terkandung di dalam

kedua jenis serum tersebut. Pengaruh FBS yang diambil pada berbagai fase fetus, menyatakan bahwa glycosa aminoglycan dan asam hialuronik yang terdapat di dalam EGS berperan penting dalam morfogenesis embrionik. EGS juga mengandung fetuin, glikoprotein utama yang terdapat di dalam EGS, dapat mencegah, rusaknya zona pelusida embrio karena gangguan aktivitas enzim proteolitik.^{13,17,22} Disamping itu serum EGS juga banyak mengandung Growth Hormone dan faktor penumbuh yang sangat dibutuhkan dalam perkembangan embrio.

Pengaruh penambahan serum PGS terhadap perkembangan embrio dalam penelitian ini hampir sama dengan hasil penelitian,²³ yang menyatakan bahwa jenis serum yang ditambahkan ke dalam medium kultur embrio dapat mempengaruhi perkembangan embrio sapi. Serum sapi yang diambil pada hari ketujuh setelah dikawinkan (diambil dari induk sapi donor yang disuperoovulasi) bermanfaat sebagai bahan penyusun medium kultur embrio *in vitro*.²³ Hal yang sama juga dikemukakan oleh²⁴ bahwa penambahan serum sapi yang diambil pada hari ketujuh setelah dikawinkan (diambil dari induk sapi donor yang disuperoovulasi) ke dalam medium TCM-199 dapat menghasilkan perkembangan embrio yang lebih tinggi. Para peneliti tersebut menyimpulkan bahwa suplementasi jenis serum sapi yang diambil pada hari ketujuh setelah dikawinkan menghasilkan pengaruh yang lebih baik dibandingkan dengan jenis serum FCS pada konsentrasi 10% terhadap pematangan oosit, dan fertilisasi *in vitro* pada domba.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penambahan serum kambing estrus (EGS) dan serum kambing bunting (PGS) menghasilkan tingkat pematangan oosit, cleavage dan perkembangan embrio yang lebih baik

dibandingkan dengan penambahan serum anak kambing (FGS).

Daftar Pustaka

1. Thibier M, Nibart M. 1992. Clinical aspects of embryo transfer in some domestic farm animals. *Anim Repro Sci* 28: 139-148.
2. Kaiin, E.M., B. Tappa, S. Said, F. Afiati, M. Gunawan & N.D. Yanthi. 2003. Aplikasi bioteknologi untuk produksi bibit yang sudah diketahui jenis kelaminnya. Laporan Teknik Proyek Penelitian Bioteknologi. Puslit Bioteknologi LIPI. Hlm. 96-116.
3. Kaiin, E.M., M. Gunawan, S.Said & B.Tappa. 2004. Fertilisasi dan perkembangan oosit sapi hasil IVF dengan sperma hasil pemisahan. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Puslitbang Peternakan, Bogor.
4. Baldassare H, Karatzas CN, 2004. Advanced assisted reproduction technologies (ART) in goats. *Anim Reprod Sci* 82-83: 255-266.
5. Wang ZG, Zu ZR, Yu SD, 2003. Effects of oocytes collection techniques and maturation media on in vitro maturation and subsequent embryo development in boer goat. *Czech. J Anim Sci* 52 (1): 21-25.
6. Dasrul, 1997. Pengaruh Penambahan serum Hewan Birahi pada media biakan terhadap pematangan oosit dan Pembuahan in vitro Kambing Lokal. Thesis Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya
7. Steel, R.G.D and Torrie j. 1991. Prinsip dan prosedur satistika suatu pendekatan biometrik. Alih bahasa Bambang Sumantri, Jakarta : PT. Gramedia Pustaka Utama
8. Adam, M, Dasrul dan Muslim Akmal, 1998. Efek Suplementasi Serum Betina Birahi dalam medium TCM 199 terhadap Pematangan Oosit dan Pembuahan in vitro Sapi Lokal. Laporan Litmud/ BBI-DIKTI, Lembaga Penelitian Unsyiah.
9. Dasrul, Adam, M, Susliwati dan Susanna Utama, 2001. Upaya Pembekuan Embrio Hasil Pembuahan in vitro dengan spermatozoa sexing pada Kerbau Lumpur; Fertilisasi in vitro dan perkembangan Embrio hasil Pembuahan dengan Spermatozoa Sexing. Laporan Penelitian Hibah bersaing VIII/DIKTI tahun ke 2 Lembaga Penelitian Unsyiah.
10. Malole, M.B.M., 1990. Kultur sel dan Jaringan Hewan. PAU Bioteknologi IPB
11. Dode MA, Graves C, 2002. Involment of steroid hormone on in vitro maturation of pig oocytes. *Theriogenology* 57: 811-821.
12. Gordon I. 1994. Laboratory Production of Cattle Embryos. Oxon UK. Cab International. Wellingford.
13. Ka HH, Sawai K, Wang WH, Im KS, Niwa K. 1997. Amino acids in maturation medium and presence of cumulus cell at fertilization promote male pronuclear formation in porcine oocytes matured and penetrated in vitro. *Biol Reprod* 57: 1478-1483.
14. Bavister, B.D., T.A. Rose-Hellekent and T. Pinyopummintr, 1992. Development of in vitro matured /in vitro fertilized bovine embryos into morulae and blastocyst in defined culture media, *J. Theriogenology*, 37; 698-704.
15. Leibfried-Rutledge ML, Critser ES, First NL. 1986. Effect of fetal calf serum and bovine serum albumin on in vitro maturation and fertilization of bovine and hamster cumulusoocyte complexes. *Biol Reprod* 35: 850-857.
16. Maurer MJ. 1992. Toward serum free. Chemical defined media for mammalian cell culture. A practical approach. 2 nd ed. New York. Oxford University Press.
17. Moor RM, Mattioli M, Ding J, Nagai T, 1990. Maturation of pig oocytes in vivo and in vitro. *Reprod Fertil* 40 (Suppl), 197-210.
18. Van der Valk J, Mellor D, Brands R, Fischer R, Gruber F, Gsthraunthaler G, Hellebrekers L, Hyllner J, Jonker FH, Prieto P, Thalen M, Baumans V, 2004. The humanecollection of fetal bovine serum and possibilities for serum-free cell and tissue culture. *Toxicology in Vitro* 18: 1-12.
19. Vivanco-Mackie HW, 2001. Embryo transfer in ovine and caprine. In: Palma G. (Ed), *Biotechnology of Reproduction*. Buenos Aires. Ediciones INTA.
20. Olar, T.T and A.S. Pott. 1993. Effect of fetal bovine serum of different gestation ages on mouse embryo growth and

- development. *J. Assisted Reprod and Genetic* 10; 236-238.
21. Yamauchi N, Nagai T. 1999. Male pronuclear formation in denuded porcine oocytes after in vitro maturation in the presence of cysteamine. *Biol Reprod* 61: 828-833.
22. Wongsrikeao P, Kaneshige Y, Ooki R, Taniguchi M, Agung B, Nii M, Otoi T, 2005. Effect of the removal of cumulus cells on the nuclear maturation, fertilization and development of porcine oocytes. *Reprod Dom Anim* 40:166-170.
23. Younis AI, KA Zuelke, KM Harper, MA Oliveira, Brackett BG. 1991. In vitro fertilization of goat oocytes. *Biol Reprod* 44: 1177-1182.
24. Matsouka, K., S.. Sakata, K. Ichino, Y. Shi Maya and T. Suzuki., 1992. Effect of superovulated cow serum for culture of bovine oocytes to the blastocysts stage. *J. Theriogenology*, 37; 254 – 260.