

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Ovarium merupakan organ reproduksi yang memiliki peran yang sangat penting yaitu memproduksi oosit yang *fertilizable* dan memiliki perkembangan yang sempurna, serta untuk mensekresi hormon steroid yang diperlukan untuk mempersiapkan saluran reproduksi dalam proses fertilisasi dan implantasi (Palermo, 2007), sehingga ketika ovarium mengalami gangguan maka dapat mengganggu sistem reproduksi. Banyak penelitian yang menggunakan bahan bioaktif yang bertujuan untuk meningkatkan kemampuan reproduksi (Abdullah dkk., 2018).

Salah satu bahan bioaktif yang berperan dalam sistem reproduksi hewan betina adalah insulin dan *Insulin-Like Growth Factor-I* (IGF-I). Insulin dan IGF adalah faktor pertumbuhan peptida dengan berat molekul rendah yang berfungsi sebagai pengatur pertumbuhan, diferensiasi sel, metabolisme sel, dan apoptosis untuk mengatur perkembangan awal embrio (Byrne *et al.*, 2002). Menurut Abdullah dkk. (2018), suplementasi IGF-I dalam medium maturasi dan kultur oosit dapat menstimulasi dan meningkatkan jumlah oosit yang matang, meningkatkan hasil *in vitro fertilization* (IVF), dan jumlah embrio yang mencapai tahap blastosis pada beberapa jenis ternak termasuk diantaranya babi dan sapi (Neira *et al.*, 2010), serta kerbau (Singhal *et al.*, 2009). Insulin dan IGF-I memiliki struktur molekul yang mirip dan berperan penting dalam pertumbuhan dan juga dapat mengatur sintesis protein dan DNA.

Teknologi fertilisasi secara *in vitro* (FIV) pada ternak, khususnya sapi merupakan salah satu usaha memanfaatkan limbah ovarium dari induk sapi betina yang dipotong di Rumah Potong Hewan. FIV ini diharapkan dapat memproduksi embrio sapi dalam jumlah massal untuk dititipkan pada induk resipien, sehingga dapat diperoleh ternak dalam jumlah banyak untuk meningkatkan populasi ternak di Indonesia (Kaiin dkk., 2005).

Perkembangan embrio melalui fertilisasi, pembelahan, pembentukan blastokis, dan implantasi sangat bergantung pada kualitas oosit. Secara khusus, peran oosit sangat penting selama interval antara pembuahan yang disebut dengan transisi maternal embrionik (MET) yaitu ketika dimana aktivitas transkripsi genom embrionik menjadi berfungsi dengan baik. Selama periode ini, perkembangan embrio didukung oleh RNA maternal dan protein yang disintesis selama oogenesis. Panjang periode tergantung pada setiap spesies seperti, pada mamalia dapat terjadi pada tahap akhir 2 sel seperti pada tikus atau lebih lambat, tahap 4 sel pada babi, antara tahap 4 dan 8 sel pada embrio manusia, tahap 8 sel pada kelinci, dan antara tahap 9 dan 16 sel pada embrio domba dan sapi (Brevini *et al.*, 2004).

Transisi antara transkripsi transisi maternal dan embrionik adalah proses bertahap yang melibatkan degradasi mRNA maternal dan molekul protein disertai dengan peningkatan ekspresi gen embrionik. Tergantung pada spesiesnya, transkripsi zigotik atau embrionik dimulai pada waktu tertentu setelah pembuahan. Ekspresi gen zigotik atau embrionik penting tidak hanya dalam dirinya sendiri tetapi juga untuk pemrograman ulang ekspresi gen untuk perkembangan selanjutnya (Memili and First, 2000).

Salah satu teknik untuk mengetahui keberhasilan pengembangan praimplantasi pada hewan sangat tergantung pada RNA maternal dan protein yang disintesis selama oogenesis pada perkembangan awal embrio. Salah satu gen efek maternal spesifik oosit yang penting untuk awal perkembangan embrio adalah *Zygote Arrest 1* (ZAR 1).

Zygote Arrest 1 (ZAR 1) adalah gen maternal yang berfungsi pada transisi oosit ke embrio yang dapat memberikan wawasan baru tentang inisiasi perkembangan embrionik dan kontrol kesuburan pada mamalia. Gen ZAR 1 dilestarikan secara evolusioner pada vertebrata dan protein ZAR 1 dicirikan oleh adanya *atypical plant homeobox zing finger domain*, yang menunjukkan perannya dalam regulasi transkripsi. Gen ZAR 1 dapat menjadi salah satu pengatur utama keberhasilan pengembangan praimplantasi hewan peliharaan pada babi dan sapi. (Uzbekova *et al.*, 2006; Brevini *et al.*, 2004).

Gen ZAR 1 juga diekspresikan dalam oosit, zigot, dan dalam semua tahap perkembangan embrio hingga pembentukan blastokis. Analisis *reverse transcription* (RT) *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dilakukan pada oosit dan pra-implantasi embrio yang diproduksi secara *in vitro*. Menurut Brevini *et al.* (2004), gen ZAR 1 merupakan gen efek maternal terbaru yang diidentifikasi pada tikus dan yang paling spesifik. MRNA gen ZAR 1 terdapat dalam oosit dan embrio 1 sel tetapi menurun tajam pada tahap 2 sel, sedangkan pada sapi gen ZAR 1 terdapat pada semua tahap pembelahan sel tetapi menurun setelah pembelahan 2 sel, sedangkan menurut Uzbekova *et al.*, (2006); Pennetier *et al.*, (2004) gen ZAR 1 terdapat dalam oosit dan embrio 4 sel tetapi menurun pada tahap 8 sel.

Studi ekspresi gen selama embriogenesis sapi masih sulit dipahami, karena studi hanya pada satu spesies sehingga tidak memadai untuk menyediakan model untuk kontrol ekspresi gen selama perkembangan awal pada mamalia dan aktivasi gen zigotik atau embrionik pada sapi perlu dijelaskan. Analisis rinci ekspresi gen selama embriogenesis sapi berguna untuk memahami mekanisme seluler dan molekuler dasar dari kontrol ekspresi gen, pengembangan sistem kultur embrio yang lebih baik dan strategi yang lebih baik untuk studi transgenik dan kloning. Metode analisis ekspresi gen ini dapat digunakan sebagai alat penunjang untuk suatu riset yang penting dan mendalam bagi para peneliti yang bergerak dalam bidang genetika hewan dan ternak pada tingkat sel dan molekuler.

Berdasarkan uraian diatas, maka penulis tertarik melakukan penelitian yang berjudul **“Deteksi Gen *Zygote Arrest 1* (ZAR 1) pada Oosit, Zigot, dan Embrio Sapi Pesisir dengan atau Tanpa Penambahan Insulin pada Media Maturasi *In Vitro*”**.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah terdapat gen *Zygote Arrest 1* (ZAR 1) pada oosit, zigot dan embrio sapi Pesisir dengan atau tanpa penambahan insulin pada media maturasi ?
2. Apakah terdapat perbedaan gen *Zygote Arrest 1* (ZAR 1) pada oosit, zigot dan embrio sapi Pesisir dengan atau tanpa penambahan insulin pada media maturasi ?

C. Tujuan Penelitian

1. Mendeteksi gen *Zygote Arrest 1* (ZAR 1) pada oosit, zigot dan embrio sapi Pesisir dengan atau penambahan insulin pada media maturasi.
2. Mendeteksi ada atau tidaknya perbedaan gen *Zygote Arrest 1* (ZAR 1) pada oosit, zigot dan embrio sapi Pesisir dengan atau tanpa penambahan insulin pada media maturasi.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai salah satu informasi dasar dalam rangka melengkapi kerangka kerja genetika molekuler dalam upaya perbaikan mutu genetik dan juga sebagai acuan dasar bagi penelitian berikutnya.

E. Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini adalah terdapat gen *Zygote Arrest 1* (ZAR 1) pada oosit, zigot dan embrio sapi Pesisir, serta terdapat perbedaan gen ZAR 1 pada oosit, zigot dan embrio sapi Pesisir dengan atau tanpa penambahan insulin pada media maturasi.

