

**PENGARUH BERBAGAI KO-KULTUR SEL DALAM MEDIUM TCM-199
UNTUK MENINGKATKAN MATURASI OOSIT DAN PRODUKSI
EMBRIO SAPI SECARA *IN VITRO*, GAMBARAN HISTOLOGI KULTUR
JARINGAN, KADAR HORMON ESTRADIOL DAN PROGESTERON**

FERRY LISMANTO SYAIFUL

(Di bawah bimbingan: Endang Purwati R.N., Suardi M.S and Tinda Afriani)

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah: 1. untuk mengetahui pengaruh suplementasi berbagai kultur sel (sel tuba Fallopii, ampula, isthmus dan sel folikel) terhadap persentase maturasi oosit sapi secara *in vitro*, 2. untuk mengetahui pengaruh suplementasi berbagai kultur sel (sel tuba Fallopii, sel ampula, sel isthmus dan sel folikel) terhadap perkembangan embrio sapi (*cleavage*, 8-16 sel, morula dan blastosis) secara *in vitro*, 3. untuk mengetahui gambaran histologis berbagai kultur jaringan dan 4. untuk mengetahui kadar hormon estradiol dan progesteron dalam medium TCM-199.

Penelitian ini terdiri dari 15 unit percobaan. Untuk penelitian tahap 1. setiap unit percobaan terdiri 30-50 oosit selama 24 jam. Sedangkan penelitian tahap 2. setiap unit percobaan terdiri 20-30 oosit. Pengamatan dilakukan selama 48, 72, 96, 144 dan 196 jam setelah fertilisasi. Setiap 48 jam dilakukan pergantian media kultur embrio sambil mengamati perkembangan embrio *in vitro*. Sedangkan penelitian tahap III, dilakukan kajian gambaran histologis pertumbuhan dan perkembangan berbagai kultur jaringan pada periode kultur yang berbeda dalam medium TCM-199. Selanjutnya dilakukan analisis kadar hormon estradiol dan progesteron pada berbagai kultur sel dan periode kultur yang berbeda dalam medium TCM-199 untuk suplementasi kultur sel dalam medium maturasi oosit dan produksi embrio secara *in vitro* dengan metode ELISA.

Rancangan yang digunakan penelitian tahap 1 dan 2 adalah RAK (Rancangan Acak Kelompok) dengan 5 perlakuan. Ko-kultur sel perlakuan sebagai berikut: (P₀) tanpa sel, (P₁) sel tuba Fallopii, (P₂) ampula, (P₃) isthmus dan (P₄) sel folikel. Data hasil penelitian yang berpengaruh nyata maka dilanjutkan dengan uji DNMRT (*Duncans New Multiple Range Test*). Sedangkan data penelitian tahap 3 yang di peroleh disajikan dalam bentuk tabel dan gambar.

Variabel yang di amati adalah: 1. persentase maturasi oosit *in vitro*, 2. persentase perkembangan embrio *in vitro* (*cleavage*, 8-16 sel, morula dan blastosis), 3. pertumbuhan sel pada berbagai kultur jaringan (tuba Fallopii, ampula, isthmus dan folikel) dan periode kultur yang berbeda dalam medium TCM-199, dan 4. Kadar hormon estradiol dan progesteron terhadap berbagai kultur sel (tuba Fallopii, ampula, isthmus dan folikel) dan periode kultur yang berbeda.

Hasil penelitian yang di peroleh bahwa persentase maturasi oosit sapi secara *in vitro* pada berbagai ko-kultur sel dalam medium TCM-199 yaitu: tanpa sel 62,33±3,21, sel tuba Fallopii 69,00±1,00, sel ampula 68,00±3,46, sel

isthmus $67,67 \pm 1,53$ dan sel folikel $66,00 \pm 1,00$. Setelah di analisis secara statistik menunjukkan bahwa perlakuan berbagai ko-kultur sel tidak berpengaruh nyata terhadap angka maturasi oosit sapi *in vitro* ($P > 0,05$).

Selanjutnya perkembangan embrio sapi *in vitro* yang di peroleh pada perlakuan berbagai ko-kultur sel dalam medium TCM-199 yaitu: angka perkembangan *cleavage* pada berbagai ko-kultur sel yaitu; tanpa sel $47,76 \pm 2,28$; sel tuba Fallopii $59,24 \pm 5,16$; sel ampula $58,69 \pm 0,95$; sel isthmus $58,25 \pm 1,42$ dan sel folikel $52,24 \pm 1,38$. Persentase rata-rata angka embrio 8-16 sel pada berbagai ko-kultur sel yaitu: tanpa sel $38,50 \pm 1,20$; sel tuba Fallopii $46,02 \pm 0,67$; sel ampula $45,45 \pm 2,52$; sel isthmus $45,15 \pm 2,89$ dan sel folikel $43,07 \pm 1,45$. Persentase rata-rata angka morula pada berbagai ko-kultur sel yaitu tanpa sel $12,58 \pm 1,76$; sel tuba Fallopii $20,59 \pm 0,88$; sel ampula $20,48 \pm 2,40$; sel isthmus $20,30 \pm 1,15$ dan sel folikel $16,96 \pm 1,85$. Setelah di analisis secara statistik menunjukkan bahwa perlakuan berbagai ko-kultur sel tidak berpengaruh nyata terhadap angka perkembangan embrio sapi *in vitro* (*cleavage*, 8-16 sel dan morula) ($P > 0,05$). Sedangkan persentase rata-rata angka blastosis pada berbagai ko-kultur sel yaitu tanpa sel $3,27 \pm 2,65$, sel tuba Fallopii $10,13 \pm 4,58$, sel ampula $9,41 \pm 1,00$, sel isthmus $8,70 \pm 3,21$ dan sel folikel $5,03 \pm 0,58$. Setelah di analisis secara statistik menunjukkan bahwa persentase perkembangan blastosis pada perlakuan tanpa sel (4,09) berpengaruh nyata terhadap ko-kultur sel tuba Fallopii (10,13) ($P < 0,05$). Namun untuk persentase perkembangan blastosis pada perlakuan ko-kultur sel tuba Fallopii (10,13) tidak berpengaruh nyata terhadap ko-kultur sel ampula (9,41) dan ko-kultur sel isthmus (8,70) ($P > 0,05$). Kemudian persentase perkembangan blastosis pada perlakuan ko-kultur sel isthmus (8,70) tidak berpengaruh nyata terhadap ko-kultur sel ampula (9,41) dan ko-kultur sel folikel (5,03) ($P > 0,05$). Selanjutnya persentase perkembangan blastosis pada perlakuan tanpa sel (4,09) tidak berpengaruh nyata terhadap ko-kultur sel isthmus (8,70) dan ko-kultur sel folikel (5,03) ($P > 0,05$).

Pertumbuhan jaringan sel pada berbagai kultur sel pada berbagai periode kultur yaitu 0, 2 dan 4 hari dapat berkembang baik dalam medium TCM-199. Sedangkan kadar hormon estradiol yang di peroleh pada kultur sel tuba Fallopii menunjukkan bahwa perlakuan sel tuba Fallopii tertinggi pada periode kultur hari kedua (13,14 pg/ml) di ikuti dengan penurunan pada 0 hari (9,07 pg/ml) dan pada hari keempat menunjukkan kadar hormon estradiol terendah (9,00 pg/ml). Kadar hormon estradiol pada kultur sel ampula dan periode kultur bahwa perlakuan kultur sel ampula tertinggi pada periode kultur hari keempat (14,39 pg/ml) di ikuti dengan penurunan hari kedua (9,29 pg/ml) dan pada 0 hari menunjukkan kadar hormon estradiol terendah (9,00 pg/ml). Kemudian kadar hormon estradiol pada kultur sel isthmus dan periode kultur bahwa perlakuan kultur sel isthmus tertinggi pada periode kultur hari kedua (12,08 pg/ml) di ikuti dengan penurunan pada 0 hari dan hari keempat (9,00 pg/ml). Selanjutnya untuk kadar hormon estradiol pada kultur sel folikel dan periode kultur bahwa perlakuan kultur sel folikel tertinggi pada periode kultur hari kedua (476,67 pg/ml) di ikuti dengan penurunan pada 0 hari (415,04 pg/ml) dan pada hari keempat menunjukkan kadar hormon estradiol terendah (376,93 pg/ml).

Kadar hormon progesteron yang di peroleh pada kultur sel tuba Fallopii menunjukkan bahwa perlakuan sel tuba Fallopii tertinggi pada periode kultur hari kedua (24,644 ng/ml) diikuti dengan penurunan pada hari ke empat (24,474

ng/ml) dan pada hari ke nol menunjukkan kadar hormon progesteron terendah (24,107 ng/ml). Kadar hormon progesteron pada kultur sel ampula dan periode kultur bahwa perlakuan kultur sel ampula tertinggi pada periode kultur hari keempat (24,254 ng/ml) di ikuti dengan penurunan pada hari ke nol (24,187 ng/ml) dan pada hari kedua menunjukkan kadar hormon progesteron terendah (23,753 ng/ml). Kemudian kadar hormon progesteron pada kultur sel isthmus dan periode kultur bahwa perlakuan kultur sel isthmus tertinggi pada periode kultur hari kedua (24,083 ng/ml) di ikuti dengan penurunan pada 0 hari (24,071 ng/ml) dan pada hari keempat menunjukkan kadar hormon progesteron terendah (24,034 ng/ml). Selanjutnya untuk kadar hormon progesteron pada kultur sel folikel dan periode kultur bahwa perlakuan kultur sel folikel tertinggi pada periode kultur hari kedua (27,610 ng/ml) diikuti dengan penurunan pada hari ke nol (26,671 ng/ml) dan pada hari keempat menunjukkan kadar hormon progesteron terendah (24,034 ng/ml).

Dari hasil penelitian yang diperoleh maka dapat ditarik kesimpulan yaitu: 1. suplementasi berbagai kultur sel (sel tuba Fallopii, ampula, isthmus dan folikel) dalam medium TCM-199 tidak meningkatkan persentase maturasi oosit sapi secara *in vitro*, 2. suplementasi berbagai kultur sel dalam medium TCM-199 tidak meningkatkan persentase perkembangan *cleavage*, embrio 8-16 sel dan morula. Namun suplementasi berbagai kultur sel tuba Fallopii dapat meningkatkan persentase perkembangan blastosis dibandingkan tanpa kultur sel. Di sisi lain suplementasi berbagai kultur sel tuba Fallopii tidak meningkatkan persentase perkembangan blastosis dibandingkan suplementasi kultur sel ampula dan isthmus, 3. secara histologis pertumbuhan sel dapat berkembang dengan baik pada berbagai kultur sel terhadap periode kultur berbeda (0, 2 dan 4 hari) dalam medium TCM-199 dan 4. kadar hormon estradiol pada berbagai kultur sel dan periode kultur berbeda bahwa perlakuan kultur sel folikel tertinggi pada periode kultur hari kedua (476,67 pg/ml) dan kadar estradiol rendah pada kultur sel ampula pada periode kultur pada 0 hari (9,00 pg/ml). Kadar hormon progesteron pada berbagai kultur sel dan periode kultur bahwa perlakuan kultur sel folikel tertinggi pada periode kultur hari kedua (27,610 ng/ml) dan kadar progesteron terendah pada kultur sel ampula pada periode kultur hari kedua (23,753 ng/ml).

Kata kunci : Kultur sel, maturasi, embrio, hormon dan in vitro.