

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Aplikasi bioteknologi reproduksi di bidang peternakan merupakan suatu terobosan untuk memacu pengembangan usaha peternakan. Sapi merupakan salah satu jenis ternak yang memberikan kontribusi besar dalam memenuhi protein hewani masyarakat Indonesia. Diperkirakan kebutuhan daging dan susu di masa yang akan datang semakin meningkat sebagai akibat tumbuhnya kesadaran masyarakat untuk mengkonsumsi protein hewani.

Kebutuhan masyarakat di Indonesia akan protein hewani/ daging mengalami peningkatan. Pada tahun 2000, konsumsi daging 1,72 kg/ kapita/ tahun sedangkan pada tahun 2010, konsumsi daging meningkat 2,72 kg/ kapita/ tahun. Kebutuhan masyarakat akan daging selama 10 tahun terakhir mengalami peningkatan sebesar 1,0 kg/ kapita/ tahun (Victorbuana, 2010).

Data populasi sapi potong di Indonesia pada tahun 2011 sebesar 14.824.373 ekor, sedangkan pada tahun 2015 populasi sapi meningkat menjadi 15.494.288 ekor. Selama 4 tahun terakhir populasi ternak sapi di Indonesia mengalami peningkatan sebesar 4,32%. Di Sumbar populasi sapi potong tahun 2011 sebesar 327.013 ekor sedangkan pada tahun 2015 sebanyak 400.256 ekor. Populasi ternak sapi di Sumbar selama 4 tahun terakhir terjadi peningkatan hanya sebesar 18,30% (Direktorat Jenderal Peternakan, 2015). Menanggapi masih rendahnya peningkatan populasi sapi maka perlu perhatian dalam pengembangbiakan ternak sapi.

Program peningkatan produktivitas sapi akan berjalan lambat bila proses reproduksi dilakukan secara alamiah. Pemanfaatan bioteknologi di bidang peternakan merupakan suatu terobosan untuk memacu pengembangan usaha peternakan, di antaranya adalah aplikasi bioteknologi reproduksi.

PEIV (Produksi Embrio *In vitro*) merupakan bioteknologi reproduksi memiliki potensi besar untuk mempercepat peningkatan mutu ternak (Vivanco-Mackie, 2001). Penggunaan PEIV oleh perusahaan-perusahaan komersial embrio telah meningkat, dan saat ini PEIV sapi embrio mewakili persentase yang cukup besar dari jumlah ternak embrio diproduksi di seluruh dunia (Thibier, 2005).

Aplikasi PEIV melalui teknologi IB (Inseminasi Buatan), MOET (*Multiple Ovulation Embryo Transfer*), TE (Transfer Embrio), pembekuan embrio dan manipulasi embrio, memungkinkan hewan dengan mutu genetik tinggi untuk memproduksi anak lebih dari kapasitasnya (Baldassarre dan Karatzas, 2004). Salah satu dari faktor pembatas yang esensial pada transfer embrio pada ternak ruminansia adalah biaya yang tergolong mahal karena masih diperlukan peralatan yang mahal. Teknik FIV (fertilisasi *in vitro*) sebagian dari teknologi transfer embrio, merupakan teknologi baru untuk produksi embrio secara masal dan murah.

Teknologi FIV merupakan teknologi produksi embrio pada lingkungan buatan diluar tubuh dalam suatu sistem biakan sel (Hunter, 2003). Teknologi FIV terdiri atas serangkaian kegiatan yang meliputi koleksi oosit, pematangan oosit, fertilisasi oosit dan sperma dan kultur embrio. Teknologi FIV dapat menghasilkan embrio dalam jumlah yang besar dan tidak membutuhkan ternak donor yang terlalu banyak, di samping itu juga dapat memanfaatkan oosit dari Rumah Potong Hewan (RPH). Teknologi ini berpotensi untuk meningkatkan daya reproduksi sapi betina, baik semasa maupun setelah habis masa produksinya/ afkir. Oosit yang diambil dari ovarium sapi yang berasal dari RPH yang dapat dimanfaatkan untuk menghasilkan embrio.

Adrial (2010) mengemukakan bahwa ternak sapi secara ekonomis memiliki potensi yang besar namun keberlangsungan hidupnya terancam, hal ini dikarenakan eksploitasi pemotongan ternak yang berlebihan. Fitriani (2006) juga mengemukakan bahwa sapi merupakan ternak yang paling dominan dipotong di RPH (Rumah Potong Hewan) Kota Padang yaitu sebesar 54,48%. Untuk itu, perlu upaya optimalisasi peningkatan produktivitas ternak sapi dengan penerapan bioteknologi seperti FIV akan lebih efektif untuk menjamin keberlangsungan sapi.

Penerapan teknologi FIV masih dapat memanfaatkan potensi hewan yang dipotong melalui penggunaan oosit dan spermanya untuk produksi embrio. Sehingga pengurusan populasi akibat pemotongan yang tinggi dapat dikurangi. Gordon (2003) menyatakan bahwa teknologi FIV juga sangat bermanfaat dalam mengembangkan teknik manipulasi gamet dan embrio seperti produksi kloning melalui transfer inti (*nuclear transfer*), transgenik (*genes transfer*), kimera dan

pantenogenik. Teknologi FIV telah berhasil dilakukan pada berbagai spesies yaitu; sapi (Syaiful *et al.*, 2011), kambing (Boediono *et al.*, 2000) dan domba (Jaswandi *et al.* 2001), hewan kesayangan/ kucing (Boediono *et al.*, 2000) serta beberapa spesies hewan liar (anoa dan kancil).

Prospek dari pengembangan sistem ko-kultur sel *in vitro* sangat besar. Teknik ini akan banyak mengatasi permasalahan-permasalahan fertilitas pada manusia dan hewan yang menghadapi masalah infertilitas. Selama ini beberapa teknologi yang digunakan seperti maturasi *in vitro* oosit, fertilisasi *in vitro* dan embrio transfer yang berbasis pada sistem kultur sel *in vitro*, telah banyak dikembangkan dan berhasil diaplikasikan dengan hasil yang cukup memuaskan. Berbagai sistem kultur telah dikembangkan pada beberapa spesies seperti mencit (Bishonga *et al.*, 2001) dan hewan domestik (Miyano, 2005). Gordon (2003) mengemukakan bahwa ko-kultur embrio yang di suplementasi beberapa sel monolayer seperti sel tuba Fallopii, kumulus dan lain-lain dapat memberikan zat atau faktor tumbuh yang diperlukan bagi perkembangan embrio.

Proses perkembangan embrio *in vitro* dengan menggunakan medium yang sesuai sangat mempengaruhi kualitas embrio yang akan dihasilkan. Medium TCM-199 merupakan medium yang telah umum digunakan untuk produksi embrio sapi dan domba secara *in vitro* (Gordon, 2003). Palazs *et al.* (2000) mengemukakan bahwa TCM-199 merupakan salah satu media umum yang digunakan pada tahapan pertama produksi embrio yaitu pematangan oosit dengan hasil yang memuaskan. Atas dasar tersebut maka penelitian ini dilakukan untuk melihat kemampuan maturasi oosit *in vitro* dan perkembangan embrio sapi *in vitro* dengan suplementasi berbagai kultur sel dalam medium TCM 199.

Sel tuba Fallopii berperan penting dalam reproduksi mamalia dan dapat menyediakan lingkungan yang optimal untuk pematangan oosit, kapasitasi sperma, fertilisasi dan transportasi gamet dan embrio (Leese *et al.*, 2001) dan (Hunter, 2003). Menurut Gordon (2003) bahwa ko-kultur embrio dengan beberapa sel monolayer dapat memberikan zat atau faktor tumbuh yang diperlukan bagi perkembangan embrio seperti sel tuba Fallopii dan sel kumulus. Trilaksana dan Bagus (2008) melaporkan bahwa sel kumulus dan sel tuba Fallopii menghasilkan faktor pertumbuhan dan hormon steroid (estrogen dan progesteron). Selanjutnya

Hunter (2003) mengemukakan bahwa suplementasi sel tuba Fallopii dapat meningkatkan perkembangan embrio yang di kultur.

Sel folikel dari ovarium dan kultur *in vitro* mampu meningkatkan perkembangan pada tahap pertumbuhan oosit, pematangan, ovulasi dan embrio. Kultur sel folikel memiliki implikasi penting pada potensi bioteknologi untuk menghasilkan sejumlah besar oosit untuk perkembangan embrio dan transfer (Gutierrez *et al.*, 2000). Atas dasar tersebut maka pada penelitian kultur sel tuba Fallopii dan folikel yang digunakan ingin mengetahui gambaran histologis kultur jaringan. Disamping itu ingin melihat kemampuan pada bagian-bagian tuba Fallopii seperti sel ampula dan isthmus yang berperan sebagai maturasi oosit dan perkembangan embrio serta melihat kemampuan kultur sel folikel sampai tahap perkembangan embrio dengan menggunakan kultur berbahan dasar TCM 199.

Hafez dan Hafez (2000) mengemukakan bahwa proses reproduksi berkaitan dengan mekanisme sistem hormonal, yaitu hubungan antara hormon hipotalamus hipofisa yakni GnRH (*Gonadotrophin Releasing Hormone*), FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) dan LH (*Luteinizing Hormone*), hormon ovarium (estrogen dan progesteron) dan hormon uterus (prostaglandin). Hormon ovarium yang mempunyai peranan besar terhadap reproduksi adalah estrogen dan progesteron. Lonergan *et al.* (2007) mengemukakan bahwa peningkatan progesteron dapat merangsang pertumbuhan dan perkembangan embrio.

Kadar hormon dapat mempengaruhi perkembangan embrio. Hafez dan Hafez (2000) mengemukakan bahwa progesteron salah satu hormon penting yang berhubungan dengan reproduksi yang disekresikan oleh sel-sel luteal/ corpus luteum (CL). CL merupakan organ endokrin yang bertanggung jawab untuk memproduksi hormon progesteron. Konsentrasi progesteron dapat menentukan keadaan hewan tersebut dalam keadaan infertil, normal, berahi, dan bunting sehingga dapat digunakan untuk deteksi berahi, pemeriksaan kebuntingan dan mengetahui kondisi patologis lainnya. Sedangkan estrogen merupakan hormon steroid yang dihasilkan oleh sel granulosa dan sel teka dari folikel *de Graaf* pada ovarium. Fungsi utama hormon estrogen adalah untuk merangsang berahi, merangsang timbulnya sifat-sifat kelamin sekunder, mempertahankan sistem saluran ambing betina dan pertumbuhan ambing. Dari hal di atas, maka pada

penelitian ini ingin mengetahui profil hormon estradiol dan progesteron pada berbagai kultur sel dalam medium TCM-199 yang di analisis dengan metode ELISA. ELISA merupakan uji yang memiliki beberapa keunggulan seperti teknik pengerjaan yang relatif sederhana, ekonomis, dan memiliki sensitivitas yang cukup tinggi (Lequin, 2005; Leng *et al.*, 2008 dan Setiawan, 2007).

Dari uraian di atas maka penulis melakukan penelitian yang berjudul “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”.

B. Perumusan Masalah

Dari masalah yang diuraikan di atas dapat diidentifikasi sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh suplementasi berbagai kultur sel (sel tuba Fallopii, sel ampula, sel isthmus dan sel folikel) terhadap angka maturasi oosit sapi secara *in vitro*.
2. Bagaimana pengaruh suplementasi berbagai kultur sel (sel tuba Fallopii, sel ampula, sel isthmus dan sel folikel) terhadap perkembangan embrio secara *in vitro*.
3. Bagaimana gambaran histologis berbagai kultur jaringan dalam medium TCM-199.
4. Bagaimana pengaruh suplementasi berbagai kultur sel (sel tuba Fallopii, sel ampula, sel isthmus dan sel folikel) terhadap kadar hormon estradiol dan progesteron.

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut ;

1. Untuk mengetahui pengaruh suplementasi berbagai kultur sel (sel tuba Fallopii, sel ampula, sel 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.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah; untuk menjaga kelestarian sumber daya genetik/ plasma nutfah sapi unggul, tersebarluasnya informasi tentang produksi embrio unggul melalui teknik ko-kultur sel secara *in vitro* dan memberikan informasi data mengenai gambaran histologis berbagai kultur jaringan dalam medium TCM-199 serta kadar hormon estradiol dan progesteron pada berbagai kultur sel sebagai acuan untuk meningkatkan angka maturasi oosit dan produksi embrio sapi *in vitro* dalam upaya untuk meningkatkan populasi ternak serta membantu proses penyelamatan plasma nutfah dan membantu penyediaan bibit ternak unggul secara massal, cepat dan murah.

E. Hipotesis Penelitian

- Berbagai ko-kultur sel (tuba Fallopii, ampula, isthmus dan folikel) dalam medium TCM-199 dapat meningkatkan angka maturasi oosit *in vitro*.
- Berbagai ko-kultur sel dalam medium TCM-199 dapat meningkatkan perkembangan embrio sapi secara *in vitro*.
- Pertumbuhan berbagai kultur jaringan dapat tumbuh dengan baik dalam medium TCM-199 secara histologi.
- Kadar hormon estradiol dan progesteron berbeda pada berbagai kultur sel.