

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bioteknologi reproduksi merupakan teknologi unggulan dalam memproduksi dan meningkatkan produktivitas peternakan. Terkandung di dalamnya pemanfaatan proses rekayasa fungsi reproduksi dan genetika dalam upaya meningkatkan mutu dan jumlah produksi serta akan menjadi titik tolak bagi pengembangan industri ternak masa yang akan datang. Hal ini sangat mendukung program breeding dalam pemilihan bibit unggul dan menunjang efisiensi pada peternakan sapi potong.

Program peningkatan produksi dan kualitas pada ternak berjalan lambat bila proses reproduksi dilakukan secara alami, dengan rekayasa bioteknologi reproduksi, proses reproduksi dapat dimaksimalkan. Upaya peningkatan produktivitas hewan dapat dilakukan dengan menerapkan berbagai macam teknologi reproduksi seperti Inseminasi Buatan (IB), Fertilisasi *In Vitro* (FIV) dan Transfer Embrio (TE). Produksi embrio *invitro* merupakan salah satu teknologi reproduksi yang terdiri dari proses pematangan (*In Vitro Maturation*, IVM), fertilisasi (*In Vitro Fertilization*, IVF) dan kultur embrio (*In Vitro Culture*, IVC) secara *in vitro*. Dengan teknik FIV, materi genetik dari hewan yang mati mendadak atau sakit sehingga fungsi reproduksinya tidak dapat berjalan sebagaimana mestinya masih dapat diselamatkan. Disamping itu, FIV dapat digunakan untuk mempelajari berbagai teknologi reproduksi bantuan lainnya seperti kloning, *stem cell* untuk tujuan terapi dan lain sebagainya.

Prinsip utama dalam produksi embrio *in vitro* adalah tersedianya sel telur atau oosit dengan kualitas baik dalam jumlah banyak. Oosit yang belum matang dapat diperoleh melalui dua cara yaitu melalui aspirasi ovarium yang diperoleh dari RPH (Rumah Potong Hewan) atau dari induk sapi betina donor, melalui mekanisme superovulasi dengan menggunakan induksi hormon gonadotropin yaitu *Pregnant Mare Serum Gonadotrophin* (PMSG) dan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) yang dilanjutkan dengan tindakan *flushing* (Widjiati dkk., 2010). Oosit yang telah dikoleksi selanjutnya dimaturation secara *in vitro* (*in vitro maturation*, IVM), dan difertilisasi (*in vitro fertilization*, IVF) dengan cara menggabungkan oosit matang dengan sperma dari pejantan unggul, zigot hasil fertilisasi akan tumbuh menjadi embrio melalui kultur *in vitro* (Suzuki *et al.*, 1993; Boediono dkk., 1994; Amer, 2008).

Banyak faktor yang mempengaruhi keberhasilan proses FIV. Materi genetik yang digunakan dan sistem kultur sangat menentukan kualitas dan kuantitas embrio yang dihasilkan. Kualitas oosit sangat berpengaruh terhadap keberhasilan proses fertilisasi *in vitro*. Kekompakan dari bentukan kumulus ophorus dan ooplasma yang homogen serta adanya zona pelucida yang intak merupakan morfologi oosit yang mempunyai kualitas bagus untuk dapat dilakukan maturasi secara *in vitro* atau *in vitro maturation* (IVM) (Widjiati., dkk 2010).

Penguasaan dan aplikasi teknologi FIV telah mendorong para peneliti mencari kemungkinan baru yang memberi nilai tambah pemberdayaan embrio. Salah satu tujuannya agar zigot hasil FIV selain dapat dipakai seketika untuk keperluan transfer juga dapat disimpan sehingga dapat digunakan untuk keperluan kemudian hari. Ide ini berkembang sehingga ditemukan teknologi kultur embrio

(Sukra, 2000). Perkembangan embrio setelah proses fertilisasi *in vitro* terjadi di dalam media kultur. Periode produksi embrio *in vitro* terlama disimpan pada media kultur dibandingkan dengan media maturasi dan fertilisasi. Sebagai akibatnya, kultur media memiliki kontribusi yang besar dalam waktu perkembangan awal embrio, kualitas blastosis, serta jumlah sel embrio (Nedambale *et al.*, 2006).

Medium yang biasa digunakan pada proses produksi embrio dapat dibedakan menjadi medium kompleks dan medium sederhana (Gordon 1994). Medium kompleks merupakan medium yang mengandung asam-asam amino, vitamin, prekursor asam nukleat, serta ion-ion penting lainnya yang sesuai untuk oosit dan embrio *in vitro* (Gardner dan Lane 2000). Lebih lanjut dijelaskan bahwa embrio sangat rentan terhadap berbagai stress *in vitro* termasuk diantaranya dapat disebabkan oleh formulasi media yang tidak tepat, suplementasi media, masalah dalam sistem kultur, masalah teknis atau kurangnya kontrol kualitas yang tepat dan jaminan kualitas. Dampak jangka pendek yang dapat diamati dengan adanya stress *in vitro* tersebut diantaranya adalah terjadinya perubahan morfologi, proliferasi dan avoptosis sel, metabolisme, *transcriptome*, dan *proteome*, sedangkan dampak jangka menengah dan panjang diantaranya adalah rendahnya angka kebuntingan setelah dilakukan transfer, tingginya resiko aborsi, panjangnya masa kebuntingan, kelainan kongenital, kematian setelah kelahiran, dan munculnya penyakit setelah dewasa.

Pada umumnya embrio yang dihasilkan melalui fertilisasi *in vitro* atau mulai dikultur pada tahap zigot dalam medium kultur akan mengalami hambatan perkembangan embrio tahap awal yang dikenal dengan fenomena *cell-block*

(Djuwita *et al.*, 2000). Tahap terjadinya hambatan pada tiap spesies berbeda-beda, yaitu pada embrio antara tahap 2 sampai tahap 8 sel (Miyoshi *et al.*, 1994). Embrio mencit dan tikus sering mengalami hambatan pada tahap 2 sel (*two cell block*) (Hogan, 1987) sedangkan embrio sapi dan domba pada tahap 8 sel (Gordon, 1994). Kejadian tersebut sangat dipengaruhi konsentrasi glukosa dalam medium kultur *in vitro*. Menurut Djuwita *et al.* (2000) konsentrasi glukosa yang tinggi akan menghambat perkembangan embrio tahap awal (tahap 2 sel), tetapi konsentrasi glukosa yang tinggi dibutuhkan untuk perkembangan embrio mencapai tahap blastosis.

Tissue Culture Medium 199 (TCM-199) digolongkan ke dalam kelompok medium kompleks yang telah umum digunakan untuk produksi embrio sapi dan domba secara *in vitro*. Namun dalam medium yang umum digunakan tingkat perkembangan embrio masih rendah maka peneliti perlu menambahkan berbagai faktor penumbuh untuk mengatasi hambatan atau fenomena *cell-block*. Dalam penyediaan media kultur IVF seperti penambahan faktor penumbuh (*growth factor*), misalnya *Epidermal Growth Factor* (EGF) dari *Insuline-like Growth Factor* (IGF) telah dilaporkan (Heyner *et al.*, 1993 dalam Margawati, *et al.*, 2000).

Faktor penumbuh telah terbukti memainkan peran di regulasi fungsi ovarium. *Insulin-like growth factor- I* (IGF-I) merupakan faktor penumbuh yang penting dalam darah dan penting dalam interaksi antara rahim endometrium dan konsepsi (Simmen, *et al.*, 1993). Penambahan *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) dapat meningkatkan perkembangan embrio yang dikultur (Herrler *et al.*, 1992 dalam Jaswandi, 2002). *Insulin-like growth factor-1* meningkatkan pertumbuhan embrio 4-6% sebagaimana terlihat dari peningkatan inner cell mass dan tingkat

metabolisme (Kaye *et al.*, 1999 dalam Jaswandi, 2002). Beberapa peneliti menambahkan insulin 5 $\mu\text{g/ml}$ pada medium kultur embrio kambing (Rusiyantono, 2001 dan sapi Suzuki *et al.*, 1999 dalam Jaswandi, 2002).

Suplementasi *Insulin Bovine Pancreas* dalam medium maturasi dan kultur dapat menstimulasi dan meningkatkan jumlah oosit yang matang, meningkatkan hasil IVF, jumlah embrio yang mencapai tahap blastosis, dan meningkatkan ekspresi mRNA *insulin-like growth factor receptor-I* (IGFR-I). Selama pertumbuhan oosit, proses metabolisme terjadi antara oosit dan sel-sel folikel. Sel-sel folikel (sel granulosa dan sel teka) menghasilkan sejumlah steroid dan berbagai protein termasuk diantaranya adalah *growth factor*. Oleh karena itu penambahan *Insulin Bovine Pancreas* dan cairan folikel dalam medium maturasi dan kultur diharapkan dapat mengoptimalkan kemampuan perkembangan embrio *in vitro* pada sapi.

Untuk mendapatkan embrio yang mempunyai daya perkembangan yang tinggi maka dilakukan perbaikan melalui medium kultur. Maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian yang berjudul "***Pengaruh Penambahan Beberapa Level Insulin Bovine Pancreas Dalam Media Kultur In Vitro Terhadap Tingkat Perkembangan Embrio Pada Tahap Pembelahan (Cleavage)***".

1. 2 Perumusan Masalah

1. Apakah penambahan beberapa level *Insulin Bovine Pancreas* dalam media kultur *in vitro* berpengaruh terhadap tingkat perkembangan embrio pada tahap pembelahan (cleavage) 2 sel, 4 sel dan 8 sel ?

2. Berapa level *Insulin Bovine Pancreas* dalam media kultur *in vitro* yang dapat meningkatkan perkembangan embrio pada tahap pembelahan (cleavage) ?

1. 3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perkembangan embrio sapi pada pembelahan (cleavage) tahap 2 sel, 4 sel dan 8 sel yang dikultur dalam media *in vitro* dengan penambahan beberapa level *Insulin Bovine Pancreas*.

1. 4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan kontribusi dalam pengembangan bioteknologi reproduksi ternak dengan ketersediaan embrio yang berkualitas sesuai harapan.
2. Meningkatkan efisiensi aplikasi fertilisasi *in vitro* dengan menambahkan *growth factor* sehingga mendapatkan embrio yang berkualitas tinggi dalam menghasilkan embrio *in vitro* untuk transfer embrio.

1. 5 Hipotesis

Hipotesis penelitian adalah penambahan beberapa level *Insulin Bovine Pancreas* dalam media kultur *in vitro* akan berpengaruh terhadap tingkat perkembangan embrio pada tahap pembelahan (cleavage) 2 sel, 4 sel dan 8 sel.

