



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

**PENGARUH PENAMBAHAN FSH DAN PMSG DALAM MEDIUM
KULTUR SEL GRANULOSA TERHADAP KONSENTRASI
PROGESTERON PADA MATURASI OOSIT IN VITRO**

TESIS



**DEVI DIANTI
07 204 004**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS ANDALAS
2010**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat (Al-Mujadilah,11)

"Allah menganugerahkan hikmah (pengetahuan) kepada siapa yang Dia kehendaki. Dan barangsiapa yang dianugerahi hikmah (pengetahuan) itu, ia benar-benar telah dianugerahi karunia yang banyak. Dan hanya orang-orang yang berakallah yang dapat mengambil pelajaran" (Al-Baqarah, 269)

Ku persembahkan Karya ini sebagai Terimakasihku Kepada Papa H.Mashadi dan Mama Hj.Yusmiarti, atas Kasih sayang dan Didikannya selama ini.

Serta Suamiku Hendri dan Putra kecilku Azka Fakhurrizi Al-Vindri yang selalu menjadi Motivasi bagiku untuk terus berKarya.

Kepada Rekan-rekan Tim penelitian di Labor Repro ; Bang Feri LS, Adikku Aie Susan dan Harissatria Terima kasih atas kerjasamanya, semoga sukses selalu. Pokoknya wish you all the best deh...

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Dengan ini saya menyatakan bahwa isi tesis yang ditulis dengan judul :

PENGARUH PENAMBAHAN FSH DAN PMSG DALAM MEDIUM KULTUR SEL GRANULOSA TERHADAP KONSENTRASI PROGESTERON PADA MATURASI OOSIT *IN VITRO*

Adalah hasil kerja / karya saya sendiri dan bukan merupakan jiplakan dari hasil kerja / karya orang lain, kecuali kutipan pustaka yang sebenarnya dicantumkan.

Jika dikemudian hari pernyataan ini tidak benar, maka status kelulusan dan gelar yang saya peroleh menjadi batal dengan sendirinya.

Padang, 24 Mei 2010
Yang membuat pernyataan,

Devi Dianti
07 204 004



RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan pada tanggal 2 Juli 1981, sebagai anak kedua dari dua bersaudara dari keluarga Bapak H.Mashadi dan Ibu Hj.Yusmiarti. Penulis menyelesaikan pendidikan di Sekolah Dasar (SD) Baiturrahmah III Padang pada tahun 1993, Sekolah Lanjutan Tingkat Pertama (SLTP) Adabiah Padang tahun 1996 dan Sekolah Menengah Umum (SMU) Negeri 3 Padang tahun 1999. Pada tahun yang sama penulis diterima di Fakultas Peternakan Universitas Andalas Padang pada Program Studi Produksi Ternak, dan menyelesaikan pendidikan Sarjana pada tahun 2004.

Sejak tanggal 1 Januari 2005 sampai sekarang penulis ditugaskan sebagai Dosen oleh Kopertis Wilayah X pada UNISI Tembilahan Riau. Pada tahun 2007 penulis diberi kesempatan melanjutkan pendidikan pada Program Pascasarjana Universitas Andalas Padang Program Studi Ilmu Ternak.

Padang, 24 Mei 2010

Devi Dianti

**PENGARUH PENAMBAHAN FSH DAN PMSG DALAM MEDIUM
KULTUR SEL GRANULOSA TERHADAP KONSENTRASI
PROGESTERON PADA MATURASI OOSIT *IN VITRO***

Oleh : **Devi Dianti**

(di bawah bimbingan Prof. Dr. Ir. Zaituni Udin, MSc dan Dr. Ir. H. Jaswandi, MS)

RINGKASAN

Penambahan hormon secara bersama-sama dengan sel-sel folikel, di antaranya adalah sel granulosa dilaporkan dapat mendorong ekspansi sel-sel kumulus. Oosit yang dikelilingi oleh sel kumulus yang sehat selanjutnya dapat berkembang menjadi M-I dan M-II dalam medium pematangan oosit *in vitro*. Pengaruh positif yang diberikan sel granulosa dan hormon dalam maturasi oosit memungkinkan terjadinya interaksi dalam meningkatkan angka pematangan maupun kadar hormon progesteron dalam medium maturasi tersebut. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh penambahan hormon FSH dan PMSG dalam medium maturasi oosit *in vitro* terhadap angka maturasi dan hormon progesteron.

Oosit yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari ovarium ternak sapi yang dipotong di RPH. Medium maturasi menggunakan TCM-199 yang disuplementasi serum 10%, gentamicin 50µg/ml, FSH 10µg/ml atau PMSG 10µg/ml dan kultur sel granulosa 1×10^5 sel/ml. Pada tiap unit perlakuan

digunakan 20 oosit kualitas A dan B dalam 100 μ l medium maturasi. Metode penelitian yang digunakan adalah RAK pola faktorial 2x2 dengan 4 kelompok. Faktor A kultur (tanpa sel dan sel granulosa), Faktor B hormon (PMSG dan FSH). Perbedaan antara perlakuan diuji dengan uji lanjut DMRT. Peubah yang diamati adalah angka maturasi dan kadar hormon progesteron dalam medium maturasi, diukur menggunakan teknik RIA.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi penambahan sel granulosa dengan hormon terhadap angka maturasi dan kadar hormon progesteron dalam medium maturasi. Pemakaian kultur sel granulosa dalam medium maturasi nyata ($P < 0,05$) meningkatkan angka maturasi oosit *in vitro*. Angka maturasi tertinggi didapat dari medium yang memakai sel granulosa dan FSH sebesar 71,25%. Kadar hormon progesteron tertinggi didapat dari medium yang memakai sel granulosa dan PMSG sebesar 1,40 ng/ml.

KATA PENGANTAR

Bismillahi rahmaanir rahiim

Syukur alhamdulillah penulis ucapkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat-Nya dan tak lupa salawat beriring salam kepada Nabi Muhammad SAW sehingga dapat menyelesaikan penulisan thesis dengan judul **“Pengaruh Penambahan FSH dan PMSG dalam Medium Kultur Sel Granulosa Terhadap Perubahan Konsentrasi Progesteron pada maturasi Oosit In Vitro”**. Thesis ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Master pada Program Studi Ilmu ternak program Pascasarjana Universitas Andalas padang.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada yang terhormat ibu Prof. Dr. Ir. Zaituni Udin, MSc dan bapak Dr. Ir. Jaswandi, MS selaku dosen pembimbing yang telah berkenan meluangkan waktu dan pikiran serta petunjuk dan pengarahan kepada penulis dalam menyelesaikan penulisan thesis ini.

Penulis menyadari bahwa banyak kekurangan dalam penulisan thesis ini, maka penulis mengharapkan saran dan kritikan yang membangun demi kesempurnaannya.

Padang, Maret 2010

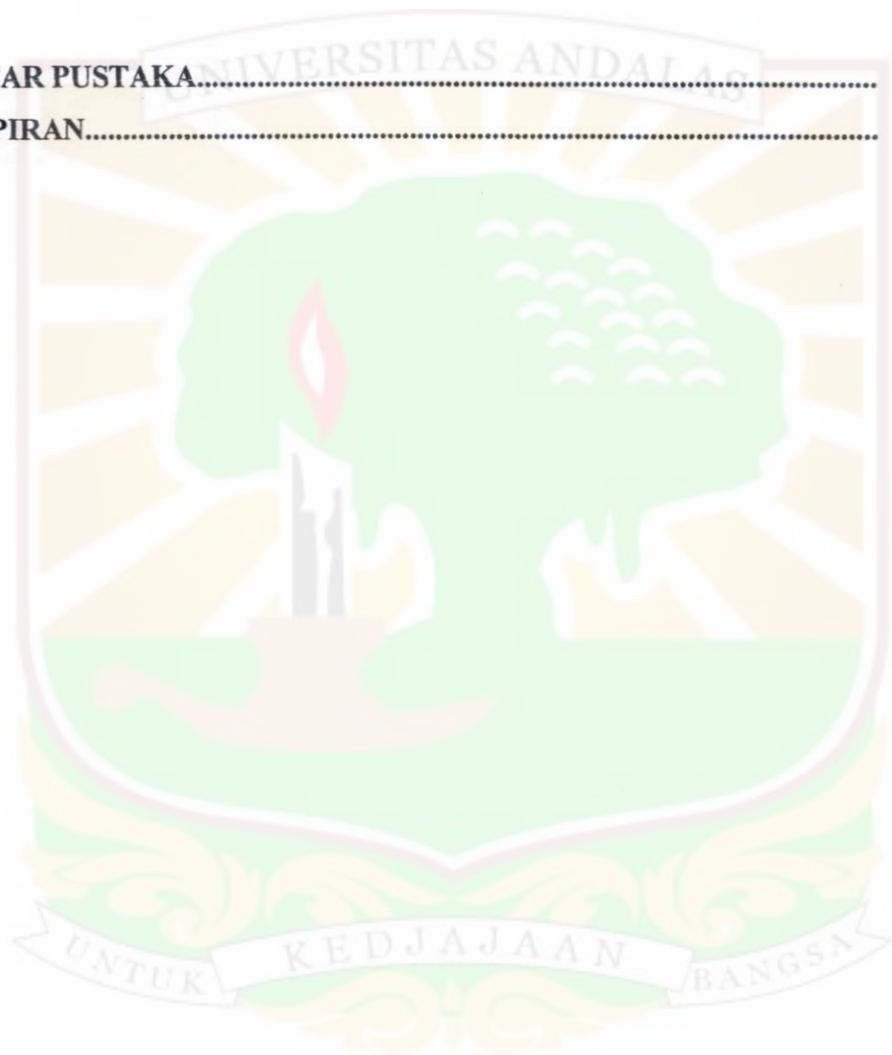
Penulis

DAFTAR ISI

Halaman.

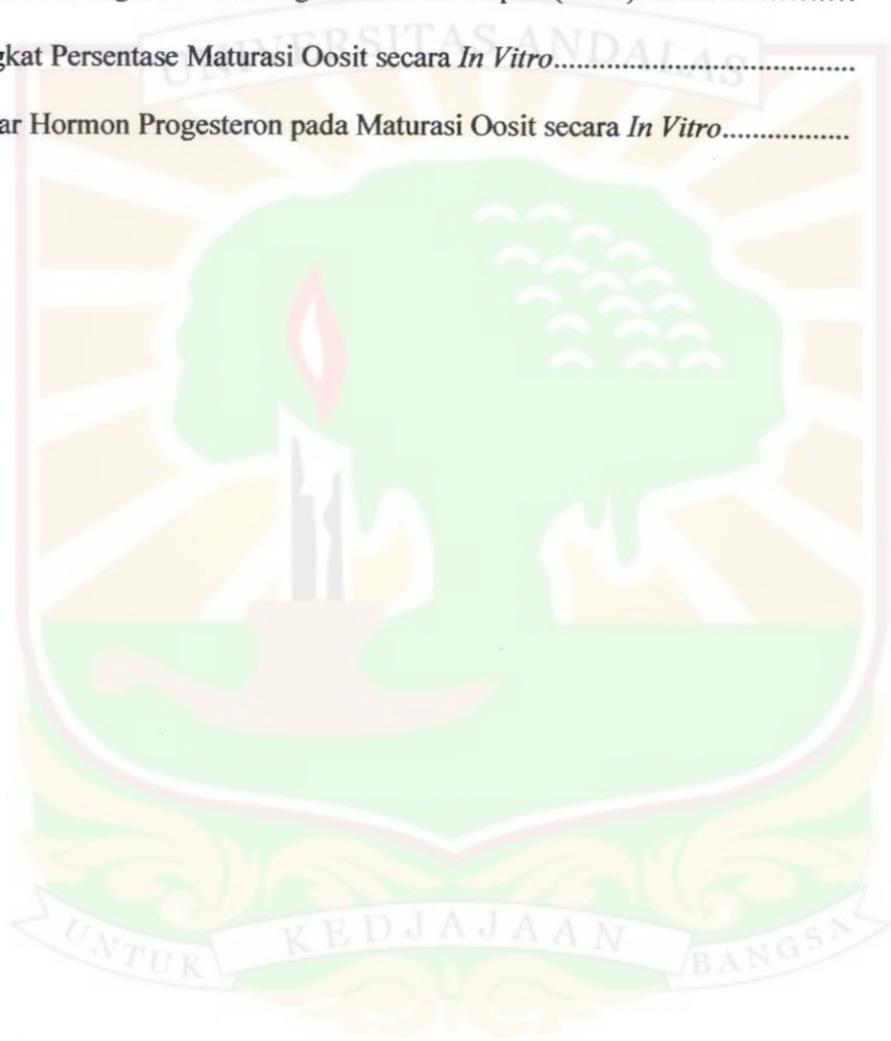
KATA PENGANTAR.....	i
DAFTAR ISI.....	ii
DAFTAR TABEL.....	iv
DAFTAR GAMBAR.....	v
DAFTAR GRAFIK.....	vi
I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Tujuan Penelitian.....	3
C. Manfaat penelitian.....	4
D. Hipotesis Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Perkembangan Oosit.....	5
B. Maturasi Oosit.....	7
1. Medium.....	8
2. Sistem Inkubasi.....	8
3. Teknik Kultur.....	9
C. Sel Granulosa.....	9
D. Follicle Stimulating Hormon (FSH).....	10
E. Pregnan Mare's Serum Gonadotropin (PMSG).....	11
F. Progesteron.....	12
G. Radioimmunoassay (RIA).....	13
III. MATERI DAN METODA PENELITIAN.....	15
A. Tempat dan Waktu penelitian.....	15
B. Materi Penelitian.....	15
C. Metoda Penelitian.....	16

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	21
A. Tingkat Persentase Maturasi Oosit secara <i>In Vitro</i>	21
B. Kadar Hormon Progesteron dalam Medium Maturasi Oosit secara <i>In Vitro</i>	24
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	28
A. Kesimpulan.....	28
B. Saran.....	28
DAFTAR PUSTAKA.....	29
LAMPIRAN.....	30



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kombinasi Perlakuan untuk Rancangan Acak Kelompok Faktorial.....	18
2. Penyajian Data Tiap Perlakuan.....	19
3. Analisis Keragaman Rancangan Acak Kelompok (RAK).....	19
4. Tingkat Persentase Maturasi Oosit secara <i>In Vitro</i>	21
5. Kadar Hormon Progesteron pada Maturasi Oosit secara <i>In Vitro</i>	24



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Status inti oosit setelah pematangan <i>in vitro</i>	6
2. Rumus Bangun Hormon Progesteron.....	12
3. Alur Pelaksanaan Penelitian.....	20
4. Oosit yang telah dimaturasi.....	21



DAFTAR GRAFIK

Grafik

Halaman

1. Grafik Kadar Hormon Progesteron dalam Medium Maturasi In Vitro... 25



I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penerapan bioteknologi merupakan upaya untuk meningkatkan efisiensi reproduksi ternak, terutama untuk mendapatkan ternak dengan kualitas dan kuantitas yang baik. Transfer embrio adalah salah satu cara yang dipandang efisien dan efektif dalam bidang reproduksi, namun produksi embrio secara *in vivo* terbatas oleh kemampuan ternak betina donor untuk menghasilkan embrio. Produksi embrio secara *in vitro* melalui teknik *in vitro* Fertilisasi (IVF) merupakan suatu alternatif untuk menyelesaikan permasalahan tersebut. Teknik IVF dapat memanfaatkan limbah oosit di Rumah Potong Hewan (RPH). Pemanfaatan oosit dari hewan yang dipotong merupakan cara produksi embrio yang ekonomis karena dengan cara ini oosit hewan yang harusnya dibuang dapat dimanfaatkan untuk dijadikan bakal bibit.

Teknologi IVF merupakan teknologi untuk produksi embrio pada lingkungan buatan (luar tubuh). Teknologi ini terdiri atas serangkaian kegiatan yang meliputi maturasi oosit, fertilisasi oosit dengan sperma dan kultur embrio. Hal yang harus dilakukan pada teknik IVF adalah menciptakan lingkungan *in vitro* yang menyerupai lingkungan asalnya di dalam tubuh (*in vivo*). Keadaan tersebut dapat diciptakan dengan menambahkan hormon ke dalam medium pematangan maupun medium kultur. Hormon yang umum digunakan adalah *Follicle Stimulating Hormon* (FSH), akan tetapi hormon ini relatif mahal. Hormon lain yang mempunyai kerja yang sama dengan FSH adalah *Pregnant Mare's Serum Gonadotropin* (PMSG). Secara fisiologis PMSG lebih bersifat seperti FSH,

PMSG memiliki fungsi merangsang pembentukan dan pertumbuhan folikel sehingga meningkatkan kadar hormon estrogen dalam darah (disekresikan oleh folikel de Graaf). Sedangkan sifat PMSG yang mirip dengan LH, mampu menstimulasi pertumbuhan sel-sel interstisial ovarium yang merangsang terjadinya ovulasi dan terbentuknya sel-sel luteal (Tolihere,1985 dan Partodihardjo, 1987).

Tahapan maturasi dalam teknik IVF membutuhkan media kultur, dan yang sering digunakan adalah Tissue Culture Medium 199 (TCM-199). Media kultur dapat disuplementasi dengan monolayer sel granulosa yang berasal dari sisa slicing ovarium (Gordon, 1994). Dalam penelitian Jaswandi *et al.*, (2003) diketahui bahwa media yang secara kebetulan terdapat sel granulosa yang merupakan bagian dari folikel, terlihat perkembangan embrio yang lebih baik dari segi kualitas dan kuantitas sampai tahap morula, tetapi sebagian gagal berkembang ke tahap berikutnya.

Sel granulosa secara *in vivo* terdapat pada folikel yang aktif untuk menghasilkan hormon steroid, di antaranya adalah hormon estrogen. Estrogen terbentuk dari prekursor kolesterol, proses sintesanya melewati beberapa tahap yang membutuhkan hormon perantara termasuk di dalamnya hormon progesteron.

Hewan-hewan betina sejak lahir pada ovariumnya sudah dilengkapi oleh ratusan ribu folikel, namun selama hidupnya hanya sebagian kecil saja yang berhasil diovulasikan. Upaya untuk memaksimalkan sel granulosa sebagai sumber daya biologik hormon endogen perlu sentuhan teknologi .

Melihat dari kondisi tersebut perlu adanya kajian untuk memodifikasi teknik kultur dengan menambahkan sel granulosa ke dalam media maturasi. Penambahan sel granulosa ini diharapkan dapat menyediakan zat atau faktor penumbuh bagi embrio tanpa terjadi kompetisi nutrisi. Faktor tersebut dapat berupa kandungan hormon progesteron.

Menurut Setiadi *et al.*, (2002) penambahan hormon secara bersama-sama dengan sel-sel folikel dilaporkan dapat mendorong ekspansi sel-sel kumulus. Kondisi sel-sel kumulus yang mengelilingi oosit menjadi penentu kualitas dari oosit tersebut. Oosit yang dikelilingi oleh sel kumulus yang sehat selanjutnya dapat berkembang menjadi M-I dan M-II dalam medium pematangan oosit *in vitro* (Hunter, 1995). Pengaruh positif yang diberikan sel granulosa dan hormon dalam maturasi oosit memungkinkan terjadinya interaksi dalam meningkatkan angka pematangan maupun kadar hormon progesteron dalam medium maturasi tersebut.

Berdasarkan penjelasan di atas penulis tertarik melakukan penelitian dengan judul **"Pengaruh Penambahan FSH dan PMSG dalam Medium Kultur Sel Granulosa Terhadap Konsentrasi Progesteron pada Maturasi Oosit *In Vitro*"**.

B. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Mengetahui interaksi penambahan hormon FSH dan PMSG dengan sel granulosa dalam maturasi oosit *in vitro* pada ternak sapi.

2. Mengetahui pengaruh penambahan hormon FSH dan PMSG dalam medium maturasi oosit *in vitro* terhadap angka maturasi.
3. Mengetahui pengaruh penambahan sel granulosa dalam medium TCM-199 terhadap angka maturasi oosit *in vitro*
4. Mengetahui kadar hormon progesteron dalam medium maturasi oosit *in vitro*.

C. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dalam penelitian ini dapat memberikan informasi mengenai kultur sel granulosa pada medium maturasi *in vitro* yang menggunakan hormon FSH dan PMSG.

D. Hipotesis penelitian

Terdapat interaksi penambahan sel granulosa dengan hormon FSH dan PMSG terhadap kadar hormon progesteron dan angka maturasi pada medium maturasi oosit *in vitro*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Perkembangan Oosit

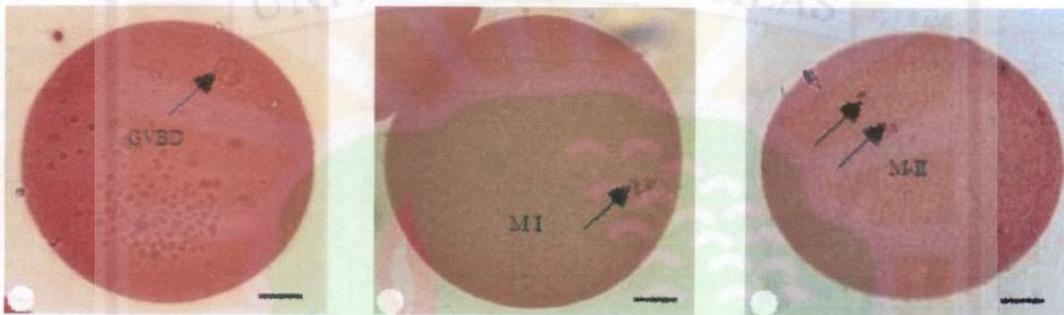
Jumlah oosit yang terdapat pada ovarium mamalia diperkirakan mencapai 200.000 buah. Namun demikian tidak semua oosit tersebut tumbuh menjadi matang, hanya sekitar 300 buah yang dapat mencapai tahap pematangan dan dapat diovulasikan, sedangkan yang lainnya mengalami pertumbuhan sesaat dan kemudian mati (Gordon, 1994).

Perkembangan oosit terjadi dua tahap, yaitu fase pertama perkembangan cepat dan berhubungan dengan perkembangan ovarium dimulai pada folikel. Fase kedua, oosit tidak berkembang ukuran sementara folikel ovarium yang merespon hormon pituitari meningkat diameternya dengan cepat. Pertumbuhan oosit ditandai oleh pembesaran sitoplasma karena penumpukan granula-granula deutoplasma (kuning telur) dalam berbagai ukuran, pembentukan zona pellucida dan poliferasi (memperbanyak diri) mitosis epitel folikuler kira-kira pada waktu pertumbuhan antrum dimulai dalam folikel (Toelihere, 1985)

Perkembangan pematangan oosit dapat dibedakan atas beberapa stadium (Lanzerdorf *et al.*, 1990) yang diikuti Gordon (1994) yaitu :

1. Stadium inti (*Germinal Vesicle* = GV), inti yang dikelilingi oleh lapisan *corona* pekat terlihat jelas. Berlangsung selama 0 – 8,0 jam.
2. Stadium *Germinal Vesicle Break Down* (GVBD), ditandai oleh membran yang mulai hilang dan tidak beraturan. Berlangsung selama 8,0 – 10,3 jam.

3. Stadium Metafase I (M-I), terjadi peleburan inti sehingga tidak terlihat di dalam sel. Berlangsung selama 10,3 – 15,4 jam.
4. Stadium Metafase II (M-II), terlihat adanya benda kutub (PB-I),. Pada stadium M-II inilah yang dianggap matang. Berlangsung selama 18,0 – 24,0 jam. Seperti terlihat pada Gambar 1.



Sumber: Boediono (2006)

Gambar 1. Status inti oosit setelah pematangan *in vitro*. Tanda panah menunjukkan status inti pada tahap: a. *Germinal Vesicle Break Down* (GVBD), b. Metafase I (MI), c. Metafase II (MII). Garis skala = 50 μm .

Berdasarkan keadaan sel-sel kumulus dan sitoplasma oosit, Loose *et al* (1989) dalam Gordon (1994) mengelompokkan oosit atas empat kategori kualitas, yaitu: (A) oosit yang dikelilingi oleh multi lapisan sel-sel kumulus dan mempunyai sitoplasma homogen, terang dan transparan, (B) oosit yang dikelilingi oleh multi lapisan sel-sel kumulus dan mempunyai sitoplasma kompak, kasar dan bagian tepi agak hitam, (C) oosit yang dikelilingi oleh lapisan sel-sel kumulus yang kurang kompak dan mempunyai sitoplasma yang tidak beraturan dengan bercak-bercak hitam dan lebih gelap dari kualitas A dan B, dan (D) lapisan sel-sel kumulus berpecah membentuk gumpalan gelap dan sitoplasma tidak beraturan serta oosit secara keseluruhan menghitam. Djati (1999) mengemukakan bahwa tingkat pematangan oosit A dan B tidak dipengaruhi oleh musim maupun bangsa

ternak, sehingga dapat digunakan untuk mengurangi ketidakseragaman individu dari sampel dan kondisi lingkungan atau musim.

De Smedt *et al.* (1992) menyatakan kisaran ukuran folikel yang digunakan sebagai sumber oosit untuk pematangan *in vitro* adalah 2 – 6 mm. Oosit yang berasal dari folikel yang kurang dari 2 mm menghasilkan angka cleavage yang lebih rendah dari ukuran 2 – 6 mm.

Viabilitas oosit dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti metode koleksi ovarium, sumber oosit dan kualitas oosit. Ovarium umumnya diambil dan dibawa ke laboratorium dalam waktu satu sampai dua jam setelah hewan dipotong dengan suhu 30 – 35⁰C (Gordon,1994). Koleksi oosit dari ovarium dapat dilakukan dengan dua cara yaitu aspirasi dan penyayatan (*slicing*). Meskipun teknik aspirasi menghasilkan jumlah oosit yang lebih banyak per ovarium, tetapi persentase oosit dengan kumulus yang kompak lebih tinggi diperoleh dengan metode penyayatan (Paswhe *et al*, 1994).

B. Maturasi Oosit *In Vitro*

Maturasi oosit merupakan suatu proses pematangan sitoplasma yang dilengkapi pematangan inti. Maturasi oosit bertujuan untuk mendapatkan oosit sekunder haploid yang dilengkapi dengan berbagai kebutuhan biologis yang diperlukan untuk keberhasilan perkembangan embrio berikutnya (Hyttel *et al*, 1997). Kematangan inti akan ditandai oleh terlihatnya polar bodi dan kromatin metafase-II (M-II) (Gordon, 1994). Menurut Jaswandi (2000), waktu yang efektif untuk pematangan inti adalah selama 24 jam. Apabila diperpanjang (32 jam) akan mengurangi fertilisasi oosit yang mengalami pematangan lebih awal.

1. Medium

Medium merupakan media tumbuh dalam produksi embrio. Medium yang sering digunakan dalam pematangan oosit adalah *tissue culture medium -199* (TCM-199). TCM-199 terdiri dari garam-garam *Earle's* yang mengandung *N*-(2-hidroxyethyl)-piperrazine-*N*-(2-ethane sulfonic acid) HEPES dan natrium bikarbonat sebagai penyangga dan disuplementasi dengan piruvat, laktat, asam amino, vitamin, purin dan substansi lain yang terdapat dalam serum (Gordon, 1994). Penambahan serum ke dalam medium pematangan dapat meningkatkan perkembangan oosit dan sebagai sumber nutrisi seperti asam-asam amino dan garam-garam organik (Walker *et al.*, 1994). Serum mungkin mempengaruhi perkembangan oosit secara langsung atau secara tak langsung melalui sel-sel kumulus (Trounson *et al.*, 1994)

Hasil penelitian Mundana dan Jaswandi (2003) 60.3% oosit sapi pesisir yang berasal dari folikel 2 – 6 mm mengalami pematangan sempurna dalam medium TCM-199 yang disuplementasi Fetal Calf Serum (FCS) 10%, FSH 10 µg/ml, LH 10 µg/ml dan estradiol 1 µg/ml. Demikian juga hasil penelitian Jaswandi *et al.* (2003) menyimpulkan bahwa pematangan oosit secara *in vitro* dapat dilakukan dalam straw dengan mengkultur 10–30 oosit dengan menggunakan medium TCM-199 yang disuplementasi dengan hepes 10–20 mM.

2. Sistem Inkubasi

Umumnya oosit dimatangkan secara *in vitro* menggunakan sistem kultur static, dimana 10 – 20 oosit dimatangkan dalam 50 – 100 µl medium. Penggunaan tetesan (drop) yang ditutupi dengan minyak mineral memberikan beberapa

keuntungan seperti mencegah dan mengurangi penguapan, mencegah kontaminasi mikroba, mengurangi fluktuasi suhu dan memudahkan pengamatan selama inkubasi (Gordon, 1994).

3. Teknik Kultur

Ko-kultur sel yang berasal dari lingkungan alamiahnya seperti sel granulosa, sel kumulus, sel oviduk dan sel fibrolas dari uterus dapat digunakan untuk medium pematangan oosit dan pertumbuhan embrio. Oosit sapi yang ditumbuhkan di dalam kultur sel kumulus mampu berkembang mencapai blastosis (Lim *et al*, 1996). Tidak ada perbedaan antara persentase pembelahan embrio dan tahap blastula pada kultur dengan sel kumulus dan sel oviduk (Bohboodi *et al.*, 1992). Ditambahkan oleh Braukelman *et al* (2004) hasil penelitiannya tidak didapati adanya kelainan dari anak yang dilahirkan dari hasil kebuntingan menggunakan embrio *in vitro* dari teknik ko kultur.

C. Sel Granulosa

Sel granulosa merupakan komponen dari folikel de Graaf. Sel-sel ini melapisi dinding antrum, juga menjadi *cumulus ooparus*; masa sel granulosa yang membungkus sel telur dan terletak paling dekat dengan telur disebut *Corona radiata*. Pada sapi sel telur meninggalkan folikel dengan disertai beberapa lapis sel granulosa (Partodihardjo, 1987 dan Frandson, 1992). Sel-sel *corona radiata* membentuk prosesus melalui zona pelusida ke *membran vitelin* (membran sel) dari ovum yang merupakan suplai material kuning telur kepada telur (Frandson, 1992).

Gordon (1994) mengungkapkan bahwa pada media koleksi bekas slicing ovarium akan terdapat sel-sel granulosa. Sel ini dicuci dua kali dan disentrifuse selama 5 menit. Hasil pemisahan sel granulosa dari media koleksi dapat digunakan pada maturasi *in vitro*.

Hasil penelitian Haney and Schomberg (1981) menunjukkan produksi progesteron oleh sel granulosa meningkat pada kelompok folikel 9 – 12 mm. Teotia (2001) juga mendapatkan sel granulosa dari folikel mendukung proses maturasi sitoplasma oosit kambing sebagaimana yang terlihat dari maturasi yang lebih baik, tingginya angka fertilisasi, angka cleavage meningkat dan pembentukan morula yang lebih baik.

D. Follicel Stimulating Hormon (FSH)

FSH merupakan gonadotropin yang terdapat pada hipofisa anterior. Baik FSH maupun LH adalah glycoprotein yang mempunyai berat molekul antara 30.000 sampai 67.000. hingga kini baik FSH maupun LH belum ada yang dapat dimurnikan secara 100%. Preparat FSH selalu mengandung sedikit LH dan sebaliknya. Namun FSH kurang sempurna larut dalam air, molekulnya stabil pada pH 4 sampai 11 dengan titik isoelektriknya pada pH 4,8. dalam rantai asam aminonya didapatkan karbohidrat. Macam karbohidrat yang terdapat dalam rantai asam amino ini tergantung pada spesies dari FSH itu diekstrak. Tetapi pada umumnya FSH mengandung fruktosa, *hexose (mannose)*, *hexosamine* dan asam sialat (*sialic acid* atau *neuraminic acid*). asam neuraminic ini memegang peranan amat penting untuk fungsi biologik FSH, kalau asam ini hancur atau terlepas dari

rangkaian asam amino yang membentuk molekul FSH, FSH tersebut akan kehilangan daya kerjanya (Partodihardjo, 1987).

Fungsi utama FSH adalah menstimulasi pertumbuhan dan pematangan folikel de Graaf dalam ovarium dan spermatogenesis dalam tubuli seminiferi testes. FSH murni menstimuler pertumbuhan folikel pada hewan betina yang dihipofasektomi tetapi tidak menyebabkan ovulasi, luteinisasi atau stimulasi terhadap jaringan interstitial ovarium. LH bekerja sama dengan FSH untuk menstimulir pematangan folikel dan pelepasan estrogen. sesudah pematangan folikel, LH menyebabkan ovulasi dengan menggertak pemecahan dinding sel dan pelepasan ovum. Ia mungkin juga ikut berpengaruh terhadap pembentukan corpus luteum yang berasal dari folikel yang sudah pecah. Sekresi LH yang terus menerus mungkin penting untuk mempertahankan corpus luteum dan sekresi progesteron untuk kelanjutan kebuntingan pada sapi (Toelihere, 1985).

E. Pregnan Mare's Serum Gonadotropin (PMSG)

PMSG merupakan gonadotropin yang dalam konsentrasi tinggi terdapat dalam serum darah kuda bunting. Hormon PMSG dihasilkan oleh mangkok-mangkok endometrium uterus kuda bunting (Toelihere, 1985 dan Nalbandov, 1990). Hormon PMSG mulai terdapat dalam serum darah kuda pada hari ke-40 masa kebuntingan dan mencapai konsentrasi tertinggi pada hari ke-60 sampai 65, namun akan menurun sampai mencapai kadar yang tidak dapat diukur, ini terjadi kira-kira pada hari ke-170 masa kebuntingan (Toelihere, 1985 dan Partodihardjo, 1987).

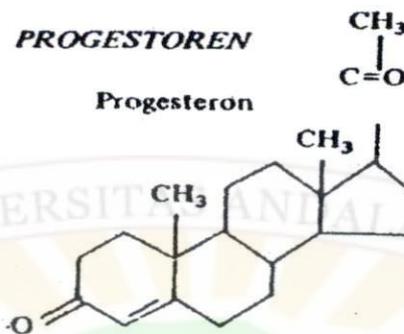
Menurut Nalbandov (1990), PMSG merupakan gonadotropin yang pertama kali diproduksi secara komersial yang digunakan untuk superovulasi dalam program transfer embrio pada ternak sapi, domba dan babi. Waktu pengaruh biologis dalam darah sangat panjang karena tidak mudah dimetabolisme sehingga pemberian dengan suntikan tunggal sama efektifnya dengan suntikan secara bertahap. Hal ini berbeda dengan gonadotropin lain yang dimetabolisme secara cepat sehingga penyuntikan secara bertahap akan lebih efektif.

Superovulasi dengan menggunakan PMSG merupakan suatu teknik untuk merangsang pembentukan dan pertumbuhan folikel di ovarium dalam jumlah banyak serta mematangkannya lebih cepat dari kemampuan alamiah, sehingga ketika berahi lebih banyak sel telur yang dihasilkan (melebihi normal). Pada kondisi ini FSH menggerak pematangan beberapa folikel sedangkan LH menyebabkan ovulasi (Toelihere, 1985).

F. Progesteron

Progesteron adalah progestogen alamiah terpenting yang disekresikan oleh sel-sel lutein *corpus luteum*. Disamping itu hormon ini dihasilkan juga oleh plasenta. Sejumlah kecil progesteron telah diisolasi dari testis dan kelenjar adrenal, karena progesteron mungkin merupakan suatu zat intermediair dalam biosintesis kortikoid adrenal atau androgen testikuler. Fungsi progesteron sulit dipisahkan dari hormon lain seperti estrogen. Estrogen menyebabkan proses-proses pertumbuhan sedangkan progesteron menstimulasi diferensiasi jaringan. Pengaruh khusus progesteron lainnya yaitu mempertahankan kebuntingan dengan menghasilkan suatu lingkungan endometrial yang sesuai untuk kelangsungan hidup dan

perkembangan embrio (Toelihere, 1985). Rumus bangun progesteron dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Rumus Bangun Hormon Progesteron
Sumber : Toelihere (1985)

Progesteron dikenal sebagai hormon kebuntingan karena menyebabkan penebalan endometrium dan perkembangan kelenjer uterin mendahului terjadinya implantasi dari ovum yang dibuahi. Pentingnya progesteron dalam mempertahankan kebuntingan tercermin dari kenyataan bahwa hewan abortus yang spontan terjadi pada beberapa hewan apabila ovarinya diambil pada masa kebuntingan, dengan konsekuensi penurunan jumlah progesteron (Frandsen, 1994).

G. Radioimmunoassay (RIA)

Radioimmunoassay (RIA) adalah teknik yang banyak digunakan untuk menentukan konsentrasi hormon. Pengujian ini menggunakan anti bodi yang spesifik untuk hormon sebagai protein yang terikat (Edqvist *et al.*, dalam Zen dkk (1996). Dasar kerja RIA adalah pengikatan anti gen progesteron yang terkandung

dalam susu atau serum dengan progesteron anti bodi spesifik yang dilapiskan pada bagian dalam dinding tabung. Sisa anti bodi spesifik yang tidak diikat oleh anti gen progesteron sampel akan mengikat ^{125}I . Makin banyak ^{125}I yang tercacah berarti makin sedikit kadar progesteron di dalam sampel (Maryati dan Nuniek, 1985).

Metode RIA ini mempunyai kemampuan untuk menentukan zat-zat fisiologis sampai konsentrasi yang sangat rendah sekali, sampai sekitar nanogram ($\text{ng} = 10^{-9}$) dan bahkan dapat mencapai konsentrasi pictogram ($\text{pg} = 10^{-10}$) untuk setiap 1 ml (Djojosoebagio, 1987). Metode ini sangat penting dalam penentuan peptida dan hormon steroid yang terdapat di dalam serum yang konsentrasinya sangat rendah. Metode RIA ini tergantung kepada kompetisi untuk mendapatkan tempat-tempat kedudukan (ikatan) pada anti bodi yang spesifik dari suatu zat tertentu antara zat yang terdapat di dalam serum dan zat yang sama ditandai dengan radio aktif. Zat ini misalnya suatu hormon seperti tiroksin, FSH dan lain-lain (Partodihardjo, 1987). Ditambahkan oleh Soewondo (1988) Prinsip dasar dari teknik RIA ini adalah ikatan antara anti gen dan antibody dan di dalam ikatan ini yang utama adalah sifat kekhususannya. Sebuah anti bodi yang berkaitan dengan anti gen yang spesifik untuknya dan tidak mengadakan reaksi silang (cross reaction) dengan tipe anti gen yang sama.

Kelebihan RIA dibandingkan teknik lain diantaranya mudah dikerjakan, mempunyai ketepatan yang tinggi, pekerjaannya lebih cepat dan tidak memerlukan jumlah sampel yang besar (Soewondo, 1988).

III. MATERI DAN METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Reproduksi Ternak Jurusan Produksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Andalas Padang, pada bulan September 2009 sampai Januari 2010.

B. Materi Penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Oosit dan sel granulosa diperoleh dari ovarium ternak sapi yang dipotong di Rumah Potong Hewan (RPH).
2. Bahan-bahan yang digunakan; NaCl Fisiologis 0,9%, Phosphate Buffered Salline (PBS;Nissui Jepang), Tissue Culture Medium-199 (TCM-199;Sigma, M-5017), serum sapi 10%, FSH 10 $\mu\text{g/ml}$, PMSG 10 $\mu\text{g/ml}$, gentamisin 50 $\mu\text{g/ml}$, mineral oil (M-8410, SIGMA), insulin, tissue dan alumunium foil.
3. Alat-alat yang digunakan; termos untuk tempat ovarium saat transportasi ke laboratorium, pisau silet untuk slicing ovarium, pipet pasteur (fisher), pipet eppendorf, filter millipore 0,22 μm , inkubator, timbangan analitik, sentrifuge, mikroskop stereo, lemari es, bunsen, oven, petridis 35 dan 60 mm, disposable syringe, refrigerator, laminar flow.

C. Metode penelitian

1. Prosedur Kerja

a. Koleksi oosit

Oosit diperoleh dari ovarium sapi yang dipotong di RPH. Ovarium yang diperoleh dari RPH dibawa ke laboratorium dengan termos yang berisi media NaCl fisiologis (0,9%) pada temperatur 30 – 35⁰C. Koleksi oosit dari ovarium dilakukan dengan cara slicing dalam petridis yang berisi medium PBS yang disuplementasi dengan serum sapi 10% dan gentamisin 50 µg/ml dan oosit yang terlepas diamati di bawah mikroskop. Oosit yang digunakan dalam pematangan adalah oosit yang dikelilingi sel-sel kumulus kompak dan mempunyai sitoplasma yang homogen (kualitas A dan B), dilakukan menurut prosedur yang dikemukakan oleh Jaswandi *et al.* (2003).

b. Penyiapan Sel Granulosa untuk Kultur

Sel granulosa diperoleh dari sisa slicing ovarium untuk koleksi oosit. Sel didistribusi dalam medium D-PBS yang mengandung tripsin 0.25%. sel dihomogenisasi dengan magnetic stirrer, lalu disentrifugasi 2 kali. Endapan yang diperoleh diencerkan dengan medium TCM-199 sampai konsentrasi 1 x 10⁵ sel/ml. Selanjutnya dikultur untuk mendapatkan monolayer sel granulosa pada dasar petridis.

c. *Maturasi oosit in vitro*

Dalam tahap maturasi dilakukan pengujian terhadap pengaruh medium kultur sel granulosa yang diberi FSH dan PMSG terhadap tingkat maturasi oosit. Prosedur maturasi oosit *in vitro* dilakukan menurut prosedur yang dikemukakan oleh Jaswandi (2000). Oosit yang diperoleh dicuci 3 kali dalam medium PBS dan dilanjutkan dalam medium maturasi. Medium maturasi oosit yang digunakan yaitu medium TCM-199 yang disuplementasi dengan FSH 10 μ g/ml atau PMSG 10 μ g/ml, serum sapi 10% dan gentamisin 50 μ g/ml serta ditambahkan sel granulosa. Oosit yang telah dicuci dalam medium TCM-199 dimasukkan ke dalam 200 μ l mikrodrip medium yang dibuat pada sebuah petridis, kemudian ditutupi dengan mineral oil. Penggunaan medium yang ditutup dengan minyak mineral memberikan beberapa keuntungan seperti mencegah atau mengurangi penguapan air, mencegah kontaminasi mikroba, mengurangi fluktuasi suhu dan memudahkan selama pengamatan (Gordon, 1994)..

Oosit ditempatkan secara acak pada 2 medium perlakuan kultur tanpa sel dan kokultur sel granulosa serta 2 macam hormon PMSG dan FSH. Masing-masing perlakuan terdiri dari 4 ulangan dan setiap unit ulangan atau eksperimen terdiri dari 20 oosit. Oosit semua perlakuan dikultur atau diinkubasi selama 24 jam pada suhu 38,5^oC dalam inkubator dengan CO₂ 5%.

Medium kultur adalah TCM-199 yang disuplementasi dengan serum 10%, Insulin 5 μ g/ml dan gentamisin 50 μ g/ml. Setelah proses inkubasi media maturasi yang digunakan dimasukan ke dalam botol untuk dianalisis kandungan hormon progesteron dengan metode RIA.

2. Variabel yang diamati

- a. Angka Maturasi, yaitu jumlah oosit yang telah matang atau telah terlihat polar bodi dan kromatin metafase II, dibandingkan dengan jumlah oosit yang dimatangkan.
- b. Kadar hormon progesteron dalam medium maturasi oosit *in vitro*.

3. Analisis Statistik

Data kadar progesteron yang diperoleh disajikan secara deskriptif dalam bentuk grafik, sedangkan data maturasi dianalisis dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial 2 x 2 dengan 4 ulangan sebagai kelompok, yang dikemukakan oleh Steel dan Torrie (1995).

Faktor pertama (Faktor A) adalah dua macam kultur, yaitu kultur tanpa sel (A_1) dan kokultur sel granulosa (A_2). Faktor ke dua (Faktor B) adalah dua macam hormon, yaitu FSH (B_1) dan PMSG (B_2). Kombinasi perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1., sedangkan penyajian data pada Tabel 2. dan analisis keragaman pada Tabel 3.

Tabel 1. Kombinasi Perlakuan untuk Rancangan Acak Kelompok Faktorial

Faktor A (kultur)	Faktor B (hormon)	
	B_1	B_2
A_1	A_1B_1	A_1B_2
A_2	A_2B_1	A_2B_2

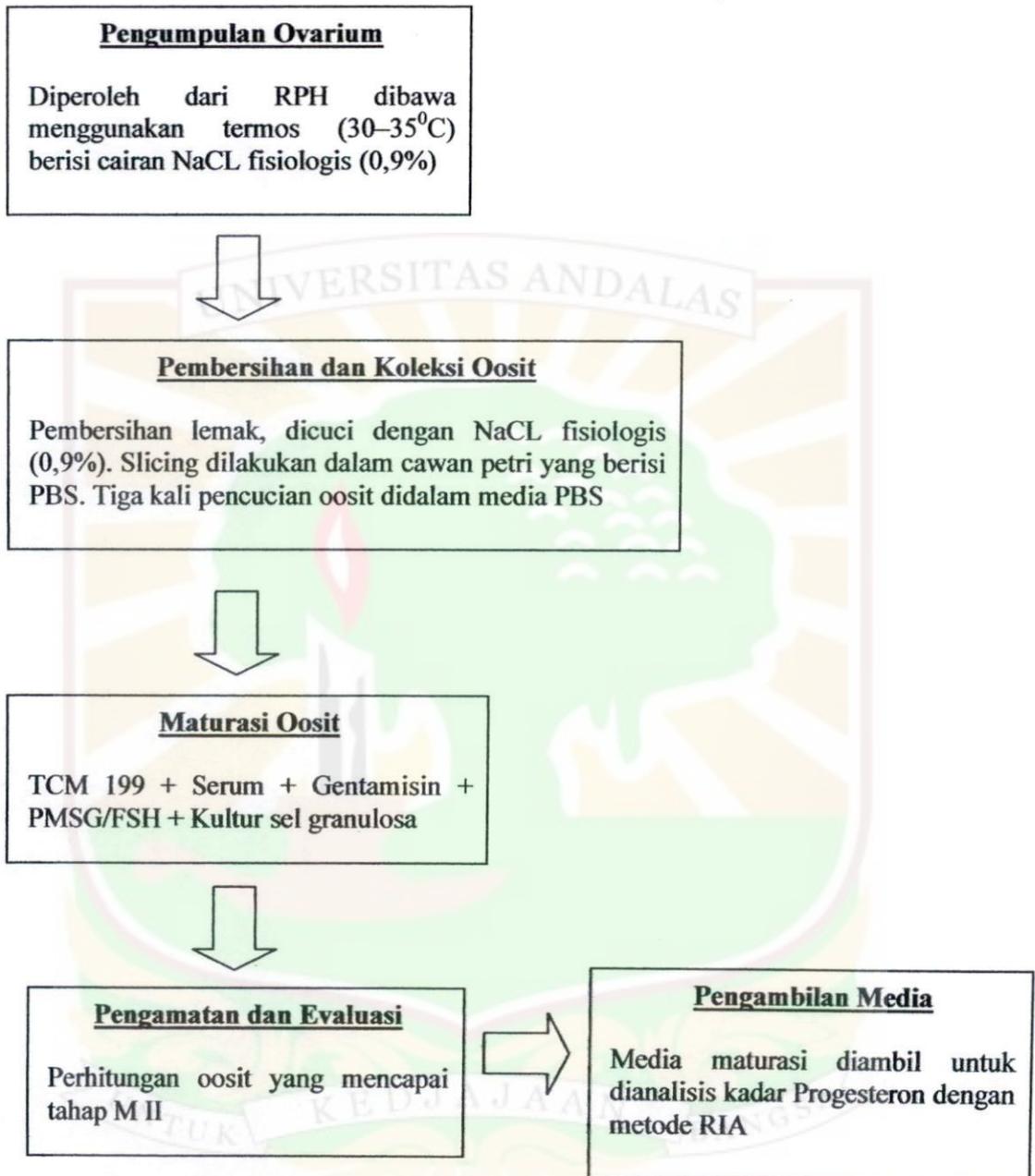
Tabel 2. Penyajian Data Tiap Perlakuan

Faktor A	Faktor B	Kelompok				Total	Rataan
		1	2	3	4		
Tanpa Sel	PMSG	Y111	Y112	Y113	Y114	Y11.	$\bar{Y}_{11.}$
	FSH	Y121	Y122	Y123	Y124	Y12.	$\bar{Y}_{12.}$
Total TS Hormon		Y1.1	Y1.2	Y1.3	Y1.4	Y1..	$\bar{Y}_{1..}$
Sel Granulosa	PMSG	Y211	Y212	Y213	Y214	Y21.	$\bar{Y}_{21.}$
	FSH	Y221	Y222	Y223	Y224	Y22.	$\bar{Y}_{22.}$
Total SG Hormon		Y2.1	Y2.2	Y2.3	Y2.4	Y2..	$\bar{Y}_{2..}$
Total Kelompok		Y..1	Y..2	Y..3	Y..4	Y...	$\bar{Y}_{...}$

Tabel 3. Analisis Keragaman Rancangan Acak Kelompok (RAK)

SK	db	JK	KT	F hitung	F tabel	
					0.05	0.01
Kelompok	$n-1 = 3$	JKK	JKK / 3	KTK / KTAcak	3.86	6.99
A	$a-1 = 1$	JKA	JKA / 1	KTA / KTAcak	5.12	10.59
B	$b-1 = 1$	JKB	JKB / 1	KT B / KTAcak	5.12	10.59
AB	$(a-1)(b-1) = 1$	JKAB	JKAB / 1	KTAB / KTAcak	5.12	10.59
Acak	$(n-1)(ab-1) = 9$	JKAcak	JKAcak / 9			
Total	$Abn-1 = 15$	JK				

Jika terdapat pengaruh yang nyata, maka analisis dilanjutkan dengan uji Duncan's Murtiple Range Test (DMRT) (Steel dan Torrie, 1995). Bagan penelitian keseluruhan dapat dilihat pada Gambar 3.

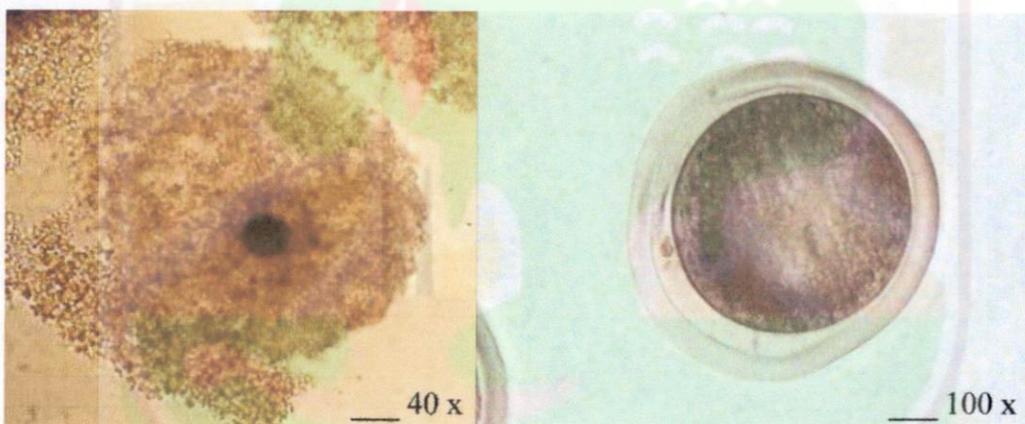


Gambar 3. Alur Pelaksanaan Penelitian

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Persentase Maturasi Oosit secara *In Vitro*

Persentase maturasi didapat dari jumlah oosit yang telah terlihat polar bodi dan kromatin metafase II, dibandingkan dengan jumlah oosit yang dimaturasi. Hasil penelitian yang dilakukan didapat oosit yang telah mencapai tahap metafase II atau telah memiliki polar bodi dapat dilihat pada Gambar 4. dan angka persentase oosit yang telah matang dapat dilihat pada Tabel 4.



Sumber : Hasil penelitian di Laboratorium Reproduksi Ternak (2010)

Gambar 4. (a) Oosit yang telah dimaturasi

(b) Oosit terlihat telah memiliki polar bodi

Tabel 4. Persentase Maturasi Oosit secara *In Vitro* (%)

Faktor A (Kultur)	Faktor B (Hormon)		Rataan Kultur
	PMSG	FSH	
Tanpa Sel	(43/80) 53.75	(47/80) 58.75	56.25 ^a ± 3.54
Sel Granulosa	(51/80) 63.75	(57/80) 71.25	67.50 ^b ± 5.30
Rataan Hormon	58.75 ± 7.07	65.00 ± 8.84	

Ket : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P < 0.05$)

Hasil analisis statistik tidak terdapat interaksi dari penambahan kultur sel granulosa dengan hormon FSH dan PMSG dalam medium maturasi oosit terhadap angka maturasi oosit *in vitro*. Hal tersebut menunjukkan bahwa penggunaan hormon FSH dan PMSG sama efektifnya dalam mendorong perkembangan pematangan oosit.

Hasil penelitian menunjukkan terjadinya peningkatan persentase maturasi oosit yang dikultur dengan sel granulosa. Oosit yang dimatangkan dalam medium maturasi tanpa sel mencapai tingkat maturasi sebesar 53,75% – 58,75%, sedangkan maturasi dengan kultur sel granulosa mencapai tingkat maturasi 63,75% – 71,25%. Hasil ini menunjukkan persentase maturasi oosit lebih tinggi medium dengan sel granulosa dari pada tanpa sel granulosa. Perbedaan hasil yang diperoleh dapat disebabkan oleh metode pematangan yang digunakan. Hasil ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Gordon (1994), bahwa faktor medium yang ditambahkan dengan sel-sel granulosa, yang dapat meningkatkan angka maturasi oosit. Hasil penelitian ini lebih tinggi dari hasil yang didapatkan oleh Hendri (1999) dengan angka kematangan oosit sebesar 60%.

Hasil analisis statistik faktor A (kultur) terhadap angka pengamatan menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$). Namun hasil uji DMRT menunjukkan bahwa perlakuan medium tanpa sel granulosa berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap medium yang memakai kultur sel granulosa.

Hal ini berarti pemakaian kultur sel granulosa dalam medium maturasi oosit dapat meningkatkan persentase oosit yang matang. Sesuai dengan hasil penelitian yang dikemukakan Jaswandi *et al*, (2003) bahwa medium yang di

dalamnya terkandung sel granulosa yang merupakan bagian dari folikel, terlihat perkembangan embrio yang lebih baik dari segi kualitas dan kuantitas. Demikian juga dari hasil penelitian Teotia (2001) yang mendapatkan sel granulosa dari folikel mendukung proses maturasi sitoplasma oosit kambing sebagaimana yang terlihat dari maturasi yang lebih baik, tingginya angka fertilisasi, angka cleavage meningkat dan pembentukan morula yang lebih baik.

Pemakaian hormon PMSG dan FSH dalam medium maturasi oosit *in vitro* tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($P > 0,05$), namun terlihat peningkatan persentase maturasi oosit yang lebih tinggi pada pemakaian FSH. Dimana angka maturasi yang didapat pada pemakaian PMSG sebesar 53,75% – 63,75%. Sedangkan pada pemakaian FSH didapat angka maturasi sebesar 58,75% – 71,25%. Hasil ini sesuai dengan pendapat Sahmirza (2006), yang menyatakan bahwa pemakaian hormon PMSG dan FSH dalam medium maturasi oosit *in vitro* tidak berpengaruh nyata terhadap tingkat kematangan inti oosit (M II).

Tingkat kematangan inti yang hampir sama di antara kedua perlakuan hormonal menunjukkan aktifitas biologis yang hampir sama dari hormon PMSG dan FSH dalam menstimulasi pertumbuhan folikel dan pematangan inti oosit sampai tahap metafase II. Seperti yang dikemukakan oleh Cole and Cupps (1997) dalam Toelihere (1985) dan Partodihardjo (1987), bahwa secara fisiologis PMSG lebih bersifat FSH yang memiliki fungsi merangsang pembentukan dan pertumbuhan folikel sehingga meningkatkan kadar hormon estrogen di dalam darah (disekresikan oleh folikel de Graaf). Sedangkan PMSG yang mirip dengan LH, mampu menstimulasi pertumbuhan sel-sel interstisial ovarium yang

merangsang terjadinya ovulasi dan merangsang terbentuknya sel-sel luteal. PMSG dalam dosis yang rendah akan memperlihatkan pengaruh yang mirip seperti FSH, jika dosisnya ditingkatkan maka pengaruhnya yang mirip LH akan terlihat (Nalbandov and Casida, 1940). Hasil ini juga diperkuat oleh Gupta *et al.*, (2004) bahwa PMSG efektif untuk menggantikan peranan FSH untuk maturasi *in vitro*.

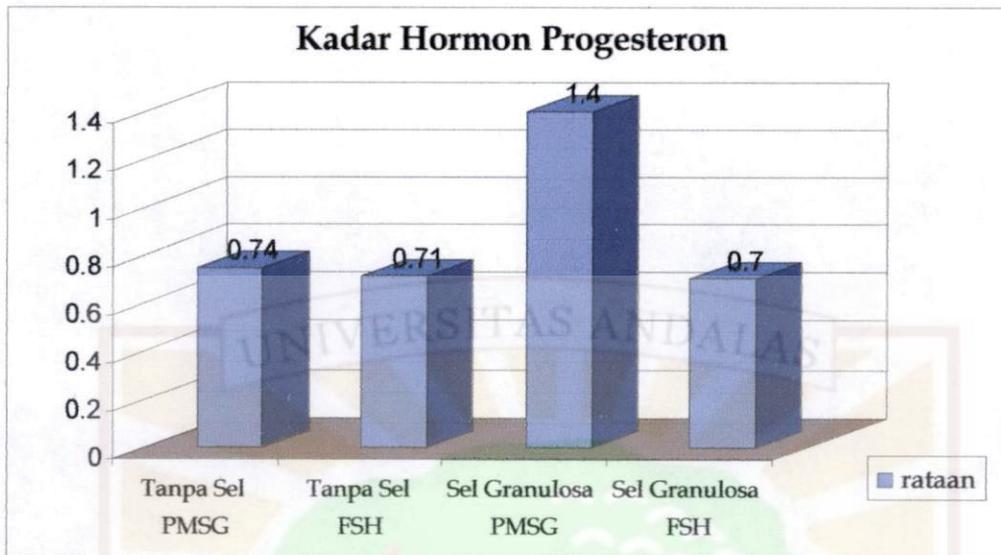
Tingkat kematangan yang sedikit rendah pada pemakaian PMSG dibanding FSH pada penelitian ini kemungkinan disebabkan oleh dosis yang belum optimal dari PMSG. Hasil penelitian Gupta *et al.*, (2004) pada kerbau menunjukkan bahwa hasil terbaik dari penggunaan PMSG dalam medium pematangan oosit kerbau secara *in vitro* adalah dengan dosis 40 – 50 IU/ml.

B. Kadar Hormon Progesteron dalam Medium Maturasi Oosit secara *In Vitro*

Kadar hormon progesteron yang didapat selama penelitian ini adalah dari medium maturasi oosit yang dikultur dengan sel granulosa yang ditambahkan hormon PMSG dan FSH secara *in vitro*. Hasil dari penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 5 dan Grafik 1.

Tabel 5. Kadar Hormon Progesteron pada Maturasi Oosit secara *In Vitro* (ng/ml)

Faktor A (Kultur)	Faktor B (Hormon)		Rataan Kultur
	PMSG	FSH	
Tanpa Sel	0.74	0.71	0.72 ± 0.02
Sel Granulosa	1.40	0.70	1.05 ± 0.49
Rataan Hormon	1.07 ± 0.47	0.70 ± 0.01	



Grafik 1. Kadar Hormon Progesteron dalam Medium Maturasi *In Vitro*

Hasil penelitian dan uji statistik menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi dari penambahan sel granulosa dengan hormon FSH dan PMSG dalam medium maturasi oosit terhadap kadar hormon progesteron. Hal ini kemungkinan disebabkan karena kinerja sel granulosa tidak saling berkaitan dengan kinerja hormon FSH dan PMSG. Namun terdapat sel lain seperti sel kumulus dalam penelitian Shirazi and Moalenian (2007) yang menunjukkan bahwa sel kumulus dalam maturasi *in vitro* berperan terhadap produksi hormon steroid dalam maturasi oosit *in vitro*.

Hasil penelitian menunjukkan produksi hormon progesteron paling tinggi terdapat pada medium maturasi oosit yang menggunakan hormon PMSG, yaitu sebesar 0,74 – 1,40 ng/ml. Sedangkan medium yang menggunakan hormon FSH sebesar 0,71-0,70 ng/ml. Hal ini menunjukkan bahwa peranan hormon PMSG dalam medium maturasi hampir setara dengan FSH. Seperti yang dikemukakan

oleh Nalbandov and Casida (1940) bahwa, PMSG dalam dosis yang rendah akan memperlihatkan pengaruh yang mirip seperti FSH, jika dosisnya ditingkatkan maka pengaruhnya yang mirip LH akan terlihat. Sebelumnya juga telah dikemukakan oleh Cole and Cupps (1969) dalam Toelihere (1985) dan Partodihardjo (1987), bahwa secara fisiologis PMSG lebih bersifat FSH yang memiliki fungsi merangsang pembentukan dan pertumbuhan folikel sehingga meningkatkan kadar hormon estrogen di dalam darah (disekresikan oleh folikel de Graaf).

Pemakaian medium maturasi kultur sel granulosa menghasilkan hormon progesteron yang lebih tinggi dari pada medium maturasi tanpa sel, yaitu sebesar 0,70 – 1,40 ng/ml. Dalam hal ini sel granulosa yang merupakan bagian dari folikel ikut memberi pengaruh terhadap kadar hormon progesteron. Progesteron disekresi oleh masing-masing komponen sel folikel, namun output tertinggi terjadi pada monolayer sel granulosa yang ditumbuhkan dalam kultur *in vitro* pada domba (Moor,1977). Hasil penelitian Haney and Schomberg (1981) menunjukkan produksi progesteron oleh sel granulosa meningkat secara dramatis pada kelompok folikel 9 – 12 mm. Sesuai dengan pendapat Partodihardjo (1987) bahwa bagian ovarium yang menghasilkan progesteron adalah folikel, CL dan sel-sel ovarium (*in vivo*). Ditambahkan oleh Nalbandov (1990) bahwa dua komponen yang terdapat pada ovarium adalah folikel dan CL yang keduanya mengeluarkan hormon progesteron (*in vivo*).

Hasil analisis statistik menunjukkan terdapat perbedaan yang tidak nyata ($P>0,05$) pada tiap perlakuan. Hal ini berarti penambahan FSH dan PMSG dalam maturasi oosit dengan sistem kultur tanpa sel atau kokultur sel granulosa tidak memberikan pengaruh terhadap kadar hormon progesteron dalam medium maturasi oosit *in vitro*. Rata-rata kadar hormon progesteron tertinggi dalam penelitian ini didapat dari medium yang menggunakan kultur sel granulosa dengan hormon PMSG, yaitu sebesar 1,40 ng/ml. Hal ini disebabkan PMSG dibentuk pada jaringan plasenta, dan telah banyak bukti plasenta memproduksi hormon progesteron (Partodihardjo, 1987).



V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Interaksi penambahan sel granulosa dengan PMSG dan FSH dalam medium maturasi berbeda tidak nyata terhadap angka maturasi oosit dan kadar hormon progesteron.
2. Persentase maturasi oosit yang tertinggi didapatkan pada medium dengan sel granulosa, yaitu sebesar 63,75 % – 71,25 %.
3. Media maturasi kultur sel granulosa yang disuplementasi oleh hormon FSH menunjukkan persentase oosit matang yang paling baik, yaitu sebesar 71,25%.
4. Kadar hormon progesteron tertinggi didapat dari media yang memakai kultur sel granulosa dan PMSG, yaitu sebesar 1,40 ng/ml.

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat dikemukakan beberapa saran sebagai berikut :

1. Diperlukan kajian lebih lanjut terhadap pengaruh kultur sel granulosa dengan konsentrasi 1×10^5 sel/ml sampai tahap embrio secara *in vitro*.
2. Diperlukan kajian lebih lanjut terhadap kandungan hormon progesteron secara terinci.

DAFTAR PUSTAKA

- Boediono, A., Yulnawati, M. A. Setiadi. 2006. Tingkat pematangan inti oosit domba dari ovarium dengan status reproduksi dan medium maturasi yang berbeda. *Hayati*. Vol 13. No 4:131-136.
- Bohboodi, E., G. B. Anderson and R. H. Bon Durant. 1996. Development of *in vitro* fertilized oocyt in oviduct cocultur system. *Theriogenology*. 38:1007-1084.
- Braukelman, S. P., J. M. C. Reinders., F. H. Jonker., L. de Ruigh., L. M. T. E. Kaal., A. M. van Wagendonk-de Leeuw., P. L. A. M. Vos., S. J. Dieleman., J. F. Beckers., Z. S. Perdnyi and M. A. M. Taverne. 2004. Fetometry and fetal heart rates between day 35 and 108 in bovine pregnancies resulting from transfer of either MOST, IVP-co-cultur or IVP SOF embryos. *Theriogenology*. 867-882.
- De Smedt, V., N. Crozet., M. Ahmed-Ali., A. Martino and Y. Cognie. 1992. *In vitro* maturation and fertilization of goat oocytes. *Theriogenology*. 37:1049-1060.
- Djati, M. S. 1999. Pengaruh suplementasi PMSG dan hCG pada proses fertilisasi *in vitro* dan kultur klon embrio sapi dengan IGF-I. Disertasi Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Djojosoebagio, S. 1987. Dasar-dasar Isotop dan Radiasi dalam Biologi. Pusat Antar Universitas. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Frandsen, R. D. 1992. Anatomi dan Fisiologi Ternak. Edisi ke-4. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Gordon, I. 1994. Laboratory Production of Cattle Embryos. Biotechnology in Agricultural Series. CAB. International.
- Gupta, P. S. P., S. Nandi., B. M. Ravindranatha and P. V. Sarma. 2004. Effect of commercially available PMSG on maturation, fertilization and embryo development of buffalo oocytes *in vitro*. Tech. Report. *Reprod, fert and Dev*. 13:355-360.
- Haney, A. F. and D. W. Schomberg. 1981. Estrogen and progesterone production by developing porcine follicles *in vitro* evidence for estrogen formation by theca. The Endocrine Society. *Endocrinology*. Vol 109:971-977.

- Hendri. 1999. Penambahan berbagai jenis serum pada medium TCM-199 untuk produksi embrio sapi melalui teknik fertilisasi *in vitro*. Laporan Penelitian Dosen Muda. Fakultas Peternakan Universitas Andalas. Padang.
- Hunter, R. H. F. 1995. Fisiologi dan Teknologi Reproduksi Hewan Betina Domestik (Terjemahan D. K. H. Putra). ITB. Bandung.
- Hyttel, P., T. Fair, H. Callesen and T. Greve. 1997. Oocyte growth, capacitation and final maturation in cattle. *Theriogenology*. 47:23-32.
- Jaswandi. 2000. Kualitas dan tingkat maturasi *in vitro* oosit domba pada berbagai suhu dan waktu penyimpanan ovarium. BBI, Dikti, 1998/99.
- Jaswandi., Z. Udin dan M. Mundana. 2003. Pengembangan system kultur tanpa CO₂ dalam produksi embrio secara *in vitro*. Laporan hibah Bersaing XI.
- Lanzerdorf, S. E., P. M. Glieman, A. E. Archibong, M. Alexander and D. P. Wolf. 1990. Collection and quality of rhesus monkey semen molecular. *Reprod and Dev*. 25:61 – 66.
- Lim, J. M., A. Rocha and W. Hansel. 1996. A serum free medium for use in cocultur system derived from *in vitro* maturation and fertilization. *Theriogenology*. 45:1081-1-89.
- Maryati, T dan L. Nuniek.. 1985. Penentuan tingkat kadar hormon progesteron dalam darah dan susu pada ternak kambing dan sapi. Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi Buatan. Jakarta.
- Moor, R. M. 1977. Sites of steroid production in ovine graafian follicles in culture. *Endocrinology* 73:143 – 150.
- Mundana, M. dan Jaswandi. 2003. Potensi dan viabilitas oosit sapi pesisir untuk produksi embrio *in vitro*. *Jurnal Peternakan dan Lingkungan*. Vol.9 no.01.
- Nalbandov, A.V. and L. E. Casida. 1940. Gonadotrophic action of pituitaries from pregnant cows. *Endocrinol*. 25:559-566.
- Nalbandov, A. V. 1990. Fisiologi Reproduksi pada Mamalia dan Unggas. Edisi ke-3. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Partodihardjo, S. 1987. Ilmu Reproduksi Hewan. Cetakan ke-3. Mutiara Sumber Widya. Jakarta.
- Pawshe, C. H., S. M. Totey and S. K. Jain. 1994. A comparison of three methods of recovery of goat for *in vitro* maturation and fertilization with frozen thawed semen. *Theriogenology* 25:591-600.

- Sahmirza. 2006. Perbandingan tingkat kematangan oosit *in vitro* pada medium yang disuplementasi hormon FSH dan PMSG. Skripsi. Fakultas Peternakan. Universitas Andalas. Padang.
- Setiadi, M. A. 2002. Effect of co-cultur with follicle shell on cumulus expansion and nuclear maturation porcine *in vitro*. *Reprotech*. 1:87-91.
- Shirazi, A. and Z. Moalemian. 2007. Ovine cumulus cells estradiol 17 β Production in the presence or absence of oocytes. *Animal reproduction science*. Vol 101:125-133.
- Soewondo. 1988. Dasar-dasar Isotop dan Radiasi dalam Biologi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Steel, R. D.G. and J. H. Torrie. 1995. Prinsip dan Prosedur Statistik Suatu Pendekatan Biometrik. Gramedia. Jakarta.
- Teotia, A. T., G. Tarusharma and A. C. Majumdan. 2001. Fertilization and development of caprine oocytes matured over granulose cell monolayer. *Theriogenology* 40:165-177.
- Toelihere, M. R. 1985. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Angkasa Bandung. Bandung.
- Walker, S. K., J. H. Hill, C. A. Bee and D. M. Warnes. 1994. Improving the rate production of sheep embryos using *in vitro* maturation and fertilization. *Theriogenology*. 41:330.
- Zen, Z., W. Azhari., F. Rahim. Yuherman dan H. Bakar. 1996. Penggunaan Radioimunoassay (RIA) untuk memonitor berahi ternak kambing PE sinkronisasi dengan progestin dan lutalyse (Prostaglandin F₂ α). Laporan Penelitian. Fakultas Peternakan. Universitas Andalas. Padang.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Persentase Maturasi Oosit secara *In Vitro*

1. Analisa Statistik

Faktor A	Faktor B	Kelompok				Total	Rataan
		1	2	3	4		
Kultur	Hormon						
Tanpa	PMSG	45	65	60	45	215	53.75
Sel	FSH	60	60	65	50	235	58.75
Total TS Hormon		105	125	125	95	450	56.25
Sel	PMSG	50	70	70	65	255	63.75
Granulosa	FSH	70	70	75	70	285	71.25
Total SG Hormon		120	140	145	135	540	67.50
Total Kelompok		225	265	270	230	990	61.88

Tabel Pembantu Total Hormon

Hormon	PMSG	FSH
Total	470	520

2. Perhitungan

$$FK = \frac{(990)^2}{16} = 61256,25$$

$$\begin{aligned} JKT &= (45)^2 + (65)^2 + \dots + (70)^2 - FK \\ &= 62650 - 61256,25 \\ &= 1393,75 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKKel &= \frac{(225)^2 + (265)^2 + (270)^2 + (230)^2}{4} - FK \\ &= 61662,50 - 61256,25 \\ &= 406,25 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKA &= \frac{(450)^2 + (540)^2}{8} - FK \\ &= 506,25 \end{aligned}$$

$$JKB = \frac{(470)^2 + (520)^2}{8} - FK$$

$$= 156,25$$

$$JKAB = \frac{(470)^2 + (520)^2}{8} - FK$$

$$= 156,25$$

$$JKAcak = JKT - JKA - JKB - JKKel - JKAB$$

$$= 318,75$$

3. Tabel Sidik Ragam

SK	Db	JK	KT	F hitung	F table	
					0.05	0.01
Kelompok	4-1 = 3	406,25	135,42	3,82	3,86	6,99
A	2-1 = 1	506,25	506,25	14,29**	5,12	10,59
B	2-1 = 1	156,25	156,25	4,41	5,12	10,59
AB	(2-1)(2-1) = 1	6,25	6,25	0,18	5,12	10,59
Acak	(4-1)(2.2-1) = 9	318,75	35,42			
Total	(2.2.4)-1 = 15					

Lampiran 2. Uji Lanjut DMRT untuk persentase Maturasi Oosit *InVitro*

a. Kesalahan Baku untuk Perlakuan

$$SE = \sqrt{\frac{35,42}{4}} = 2,97$$

b. Tabel SSR dan LSR

	2
SSR 5%	3,20
LSR 5%	9,50
SSR 1%	4,60
LSR 1%	13,66

c. Rata-rata Perlakuan dari terbesar – terkecil

Perlakuan	Rata-rata
A ₂ (Sel Granulosa)	67,50
A ₁ (Tanpa Sel)	56,25

d. Selisih dari rata-rata Perlakuan dibanding dengan LSR 5% dan LSR 1%

Perbandingan	Selisih	LSR 5%	LSR 1%	Kesimpulan
A ₂ - A ₁	11,25	9,50	13,66	*

Lampiran 3. Kadar Hormon Progesteron dalam Medium Maturasi Oosit secara *In Vitro*

1. Analisa Statistik

Faktor A	Faktor B	Kelompok				Total	Rataan
		1	2	3	4		
Tanpa Sel	PMSG	0.28	1.54	0.78	0.36	2.96	0.74
	FSH	1.44	0.65	0.52	0.21	2.82	0.71
Total TS Hormon		1.72	2.19	1.30	0.57	5.78	0.72
Sel Granulosa	PMSG	1.74	2.12	1.40	0.34	5.60	1.40
	FSH	0.85	0.70	0.88	0.36	2.79	0.70
Total SG Hormon		2.59	2.82	2.28	0.70	8.39	1.05
Total Kelompok		4.31	5.01	3.58	1.27	14.17	0.89

Tabel Pembantu Total Hormon

Hormon	PMSG	FSH
Total	8.56	5.61

2. Perhitungan

$$FK = \frac{(14,17)^2}{16} = 12,55$$

$$JKT = (0,28)^2 + (1,54)^2 + \dots + (0,36)^2 - FK$$

$$= 5,16$$

$$JKKel = \frac{(4,31)^2 + (5,01)^2 + (3,58)^2 + (1,27)^2}{4} - FK$$

$$= 1,98$$

$$JKA = \frac{(5,78)^2 + (8,39)^2}{8} - FK$$

$$= 0,42$$

$$JKB = \frac{(8,56)^2 + (5,61)^2}{8} - FK$$

$$= 0,54$$

$$JKAB = \frac{(2,96)^2 + (2,82)^2 + (5,60)^2 + (2,79)^2}{8} - FK$$

$$= 0,44$$

$$JKAcak = JKT - JKA - JKB - JKKel - JKAB$$

$$= 1,77$$

3. Tabel Sidik Ragam

SK	Db	JK	KT	F hitung	F table	
					0.05	0.01
Kelompok	4-1 = 3	1,9771	0,66	3,35	3,86	6,99
A	2-1 = 1	0,4258	0,43	2,16	5,12	10,59
B	2-1 = 1	0,5439	0,54	2,76	5,12	10,59
AB	(2-1)(2-1) = 1	0,4456	0,45	2,26	5,12	10,59
Acak	(4-1)(2.2-1) = 9	1,7711	0,20			
Total	(2.2.4)-1 = 15					