

Potensi dan Tingkat Kematangan *In vitro* Oosit Sapi Peranakan Simmental

Jaswandi, D. Mardona, F. Arlina dan Z. Udin

Jurusan Produksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Andalas, Padang
jaswandi_J@yahoo.co.id

Abstract

The present research was conducted to investigate the potency and viability of oocytes of Simmental cattle for production of embryo in *in vitro* method. Oocytes were collected from the ovaries of slaughtered Simmental cattle. At first, the ovaries were cleaned and measured for weigh, length, diameter and thickness. The ovaries were then sliced to collect oocyte follicles. The collected oocytes which were divided into 3 groups based on length size (<2, 2-6 and >6 mm) were kept in ringer solution (0,9 % NaCl) by temperature of 35 °C. By using microscope, the physical performances of the oocytes were observed and then classified into 3 different qualities of A, B and C/D. The oocytes of A and B quality were kept in TCM-199 medium for maturity process. Their viability was described as percentage of oocytes which reach metaphase II (M-II) stage during the process of maturity. The data was statistically analyzed by t-test. Results of the experiment showed that the physical measurement of ovaries were found significant different ($P>0,05$) between the left and right sides, but the potency of follicles from the both sides were not significant different ($P>0,05$). The percentage of oocytes reach the metaphase II stage was about $51,28 \pm 13,66\%$. It was concluded that Simmental has a high the potency and viability oocytes for embryos production *in vitro*.

Key words : Simmental, potency and viability oocytes

Pendahuluan

Sapi Peranakan Simmental merupakan ternak sapi hasil persilangan antara sapi lokal dengan ternak sapi unggul Simmental. Persilangan ini bertujuan untuk meningkatkan kualitas genetik sapi lokal. Persilangan diantara kedua bangsa sapi ini pada umumnya dilakukan dengan teknik Inseminasi Buatan (IB). Sampai saat ini penerapan bioteknologi reproduksi IB telah memberikan kontribusi yang cukup signifikan terhadap peningkatan produksi ternak. Disamping teknologi tersebut, belakangan ini juga mulai dikembangkan teknologi Transfer Embrio (TE) dan Fertilisasi *In Vitro* (FIV).

Teknologi FIV terdiri dari serangkaian kegiatan yang meliputi koleksi oosit, pematangan, fertilisasi *in vitro* dan kultur embrio *in vitro*. Penerapan teknologi ini telah berhasil dilakukan pada berbagai spesies seperti domba (Jaswandi *et al* 2006), kambing (Holmita, *et al*, 1997) dan domba (Brown, *et al.*, 1998) serta beberapa spesies hewan liar kucing, cheetah dan anjing (Beveridge dan Jabtour, 1998).

Keberhasilan dari teknologi FIV dipengaruhi oleh banyak faktor antara lain oosit, media dan sistem inkubasi dari setiap tahap. Potensi dan kualitas oosit bervariasi diantara spesies ternak maupun individu (Gordon, 1994). Pada ternak sapi Peranakan Simmental belum banyak diketahui seberapa jauh potensi oosit dari

ovarium ternak tersebut yang dapat digunakan dalam penerapan teknologi FIV untuk tujuan produksi embrio secara *in vitro*. Untuk itu perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan informasi mengenai potensi dan viabilitas dari ovarium sapi Peranakan Simmental. Dari hasil yang diperoleh diharapkan dapat digunakan untuk membantu pengembangan ternak tersebut khususnya melalui bantuan teknologi *in vitro*.

Metode Penelitian

Koleksi oosit

Ovarium sebagai sumber oosit diperoleh dari ternak sapi Peranakan Simmental yang dipotong di Rumah Potong Hewan dan dibawa ke laboratorium dengan termos yang berisi media NaCl fisiologis (0,9 %) pada temperatur 30 - 35 °C. Setelah ovarium dibersihkan, berat, panjang, diameter dan tebal ovarium diukur dan folikel berdasarkan ukurannya (<2, 2 - 6 dan >6) dihitung.

Koleksi oosit dilakukan dengan menyayat ovarium (*slicing*) dan oosit yang terlepas dari ovarium kanan dan kiri diamati dibawah mikroskop, jumlah dan kualitas (A, B, dan C/D) oosit dari kedua bagian dihitung. Oosit yang digunakan dalam pematangan adalah oosit yang dikelilingi sel - sel kumulus dan mempunyai sitoplasma yang homogen (A dan B).

Pematangan oosit *in vitro*

Oosit berkualitas A dan B yang diperoleh dicuci 3 kali dalam medium PBS dan dilanjutkan dalam medium pematangan TCM-199. Pematangan oosit menggunakan medium TCM-199 yang mengandung 10 µg FSH/ml, 10 % Calf Serum (CS) dan 50 µg Gentamisin/ml. Pematangan oosit dilakukan dalam 100 µl (drop) dari

medium pematangan yang ditutup dengan minyak mineral dalam petridish 30 mm. Oosit dikultur dalam inkubator CO₂ pada temperatur 39 °C selama 24 jam.

Evaluasi Pematangan

Pematangan oosit ditentukan berdasarkan keberadaan Metafase plate II (M II) yang diamati setelah pewarnaan orcein. Prosedur pewarnaan dilakukan menurut yang dikemukakan oleh Jaswandi, dkk (2006). Oosit setelah pengamatan polar bodi dibersihkan dari sel - sel kumulus lalu difiksasi selama 48 jam dalam larutan alkohol absolut : asetat glacial (3:1). Oosit selanjutnya diwarnai dengan pewarnaan orcein 1 % selama 10 menit lalu dicuci dengan gliserol asetat dan dikeringkan. Keberadaan Metafase plate II (M II) diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 40 x 10.

Peubah yang Diamati

1. Karakteristik ovarium sapi Peranakan Simmental yang meliputi berat, panjang, diameter dan tebal
2. Potensi oosit pada ovarium sapi Peranakan Simmental berdasarkan jumlah folikel < 2, 2 - 6, >6, dan kualitas
3. Viabilitas oosit berdasarkan persentase oosit yang mencapai tahap metafase II (M II) setelah mengalami pematangan secara *in vitro*.

Analisis Data

Data karakteristik ovarium dan jumlah berbagai ukuran folikel dari ovarium kanan dan kiri serta kualitas oosit dari ovarium kanan dan kiri diolah secara statistik dengan uji-

T dan data tingkat kematangan dinyatakan dalam bentuk persentase (Steel dan Torrie, 1984).

Hasil Dan Pembahasan

Karakteristik Ovarium Sapi Peranakan Simmental.

Karakteristik atau gambaran morfologi dari ovarium sapi Peranakan Simmental pada penelitian ini seperti berat, panjang, diameter dan tebal terlihat pada Tabel 1.

Secara statistik berbagai ukuran ovarium bagian kanan dan kiri sapi Peranakan Simmental menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa berat, panjang, diameter dan tebal ovarium pada sapi Peranakan Simmental dipengaruhi oleh letak ovarium tersebut. Menurut Toelihere (1981) hal ini disebabkan karena ovarium kanan lebih aktif dibandingkan dari ovarium sebelah kiri. Hendri (1998) menjelaskan bahwa ovarium karakteristik ovarium juga dipengaruhi oleh struktur yang ada seperti keberadaan folikel dan korpus luteum. Selanjutnya dikatakan bahwa ovarium sebelah kanan cenderung menghasilkan jumlah oosit yang lebih banyak. Hardjopranoto (1995) menyatakan bahwa secara fisiologik ovarium kanan lebih banyak aliran darah dari ovarium kiri.

Secara umum ukuran dari ovarium sapi Peranakan Simmental tidak jauh berbeda dari sapi yang lain. Toelihere (1981) mengemukakan bahwa berat ovarium sapi adalah 10 – 20 gram, panjang 1,3 – 5 cm, lebar 1,3-3,2 cm dan tebal 0,6 – 1,9 cm.

Hal yang hampir sama juga diungkapkan Salisbury dan Van de Mark (1984) bahwa berat ovarium sapi berkisar 29 – 40 gram, panjang 2,9 – 4,0 cm, lebar 1,3 – 19 cm, tebal 1,9 – 2,6 cm. Sapi Peranakan Simmental termasuk sapi yang mempunyai ukuran tubuh besar dimana sapi betina dapat mencapai 800 kg dan jantan 1.150 kg (Pane, 1986). Keadaan ini berpengaruh secara tidak langsung terhadap ukuran dari organ – organ tubuh lainnya termasuk ovarium.

Potensi Ovarium Sapi Peranakan Simmental

Dalam pelaksanaan produksi embrio secara *in vitro* potensi ovarium sebagai sumber oosit dapat dilihat dari beberapa aspek seperti jumlah folikel, jumlah oosit dan kualitas oosit yang diperoleh dari ovarium tersebut. Pada Tabel 2 terlihat potensi dari berbagai ukuran folikel yang terdapat pada ovarium sapi Peranakan Simmental.

Dibandingkan dengan ternak lainnya potensi folikel dari sapi Peranakan Simmental termasuk tinggi. Hal ini dapat disebabkan karena sapi Peranakan Simmental dipelihara secara intensif dan intervensi peternak terutama terhadap pakan cukup tinggi.

Dibandingkan dengan ternak lainnya potensi folikel dari sapi Peranakan Simmental termasuk tinggi. Hal ini dapat disebabkan karena sapi Peranakan Simmental dipelihara secara intensif dan intervensi peternak terutama terhadap pakan cukup tinggi.

Tabel 1. Karakteristik/gambaran Morfologi dari Ovarium Sapi Peranakan Simmental.

Posisi Ovarium	Berat (gram)	Panjang (cm)	Diameter (cm)	Tebal (cm)
Kanan	$8,01 \pm 2,86^a$	$3,24 \pm 0,48^a$	$2,18 \pm 0,34^a$	$1,70 \pm 0,44^a$
Kiri	$4,18 \pm 1,43^b$	$2,27 \pm 0,40^b$	$1,8 \pm 0,26^b$	$1,48 \pm 0,44^b$

Keterangan: huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$).

Tabel 2. Potensi Berbagai Ukuran Folikel Pada Ovarium Sapi Peranakan Simmental

Bagian Ovarium	Jumlah Folikel (buah)		
	< 2 mm	2 - 6 mm	> 6 mm
Kanan	$10,70 \pm 6,70^a$	$14,11 \pm 6,49^a$	$1,88 \pm 1,90^a$
Kiri	$7,58 \pm 5,78^a$	$14,47 \pm 6,69^a$	$0,76 \pm 1,14^b$

Tabel 3. Jumlah Dan Kualitas Oosit Dari Sapi Peranakan Simmental.

Bagian Ovarium	Jumlah oosit	Kualitas oosit		
		A	B	C
Kanan	212^a	$5,35 \pm 4,40^a$	$4,53 \pm 4,47^a$	$2,59 \pm 2,15^a$
Kiri	247^a	$6,41 \pm 3,45^a$	$4,47 \pm 3,89^a$	$3,64 \pm 3,74^a$

Keterangan : huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Makanan pada umumnya adalah rumput unggul yang mengandung serat kasar yang rendah sementara kandungan protein tinggi. Diantara peternak yaitu sekitar 5 – 6 % memberikan makanan tambahan atau konsentrat.

Jumlah oosit yang diperoleh berdasarkan asalnya yaitu dari ovarium kanan dan ovarium kiri masing-masing adalah 3,31 dan 8,25 oosit (Tabel 3). Hasil penelitian ini juga memperlihatkan bahwa jumlah oosit yang diperoleh dari bagian kanan hampir sama dengan oosit yang diperoleh dari ovarium kiri, baik oosit kualitas A, B dan C. Hasil ini membuktikan bahwa dalam satu

individu kuantitas oosit hampir sama. Hal ini disebabkan karena perkembangan folikel yang mengandung oosit dipengaruhi oleh konesntrasi hormon gonadotropin yang beredar dalam darah, dengan demikian kedua bagian ovarii mendapat stimulus yang sama. Beberapa faktor lain yang mempengaruhi kualitas oosit antara lain, media dan metode koleksi oosit.

Jumlah oosit yang diperoleh dari ovarium sapi ini hampir sama dengan yang dilaporkan Hendri (1998) pada sapi Brahman Cross yaitu antara 4,92 – 6,53 oosit dari bagian periperal per ovarium. Peneliti lain mendapatkan rataan yang lebih banyak yaitu 23 oosit per pasang

ovarium dan 10,6 memiliki sel – sel kumulus utuh (Suss, *et al.*, 1988), sedangkan Arlotto, *et al.*, 1996 mendapatkan jumlah oosit per ovarium berkisar antara 11,8 sampai 12,9 oosit.

Kualitas oosit yang diperoleh dikelompokkan atas tiga kelompok yaitu oosit kualitas A, B dan C. Kualitas oosit ovarium bagian kiri dan bagian kanan secara statistik tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Hal ini kemungkinan disebabkan karena masih pada satu individu ternak sehingga kualitas oosit hampir sama. Pada sapi Brahman cross, Hendri (1998) mendapatkan oosit berkualitas sebanyak 2 – 5 oosit dan oosit berkualitas B sebanyak 0,52 – 0,83 oosit per ovarium.

Viabilitas Oosit Sapi Peranakan Simmental.

Viabilitas oosit yang diukur berdasarkan angka pematangan secara *in vitro* (IVM) menunjukkan bahwa oosit sapi ini cukup baik. Sebanyak $68,4 \pm 6,72\%$ oosit yang dimatangkan selama 24 jam dapat mengalami pematangan atau mencapai tahap metafase II (MII).

Hendri (1999) yang melakukan pematangan oosit sapi potong Brahman Cross mendapatkan angka pematangan oosit sekitar 66,72 – 80,65 %. Arlotto, *et al* (1995) melaporkan bahwa angka pematangan oosit sapi berkisar 70 – 76 %. Sedangkan Ondho (1998) mendapatkan angka pematangan berkisar antara 40,5 – 62,5 %.

Angka pematangan oosit yang cukup tinggi diperoleh pada penelitian ini menunjukkan bahwa keturunan sapi Simmental cukup tinggi. Beberapa faktor lain yang dapat mempengaruhi keberhasilan pematangan oosit *in vitro* adalah

siklus ovarium, ukuran folikel (Tan dan Lu 1990), morfologi oosit dan folikel (Leibfried dan First, 1979), medium dan lama pematangan (Totev, *et al.*, 1993). Im, *et al* (1995) melaporkan angka maturasi oosit yang mempunyai morfologi bagus adalah 75 % dan yang jelek 58,8 %, juga dilaporkan bahwa oosit dengan kumulus kompak memperlihatkan angka konsepsi 77 %, sedangkan oosit dengan beberapa lapis kumulus menghasilkan angka pematangan 36 % dan oosit gundul 36 %.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ovarium sapi Peranakan Simmental mempunyai potensi dan viabilitas oosit yang cukup baik untuk digunakan produksi embrio *in vitro*. Hal ini memberi peluang untuk pemanfaatannya dalam mengembangkan maupun upaya konservasi ternak ini menggunakan teknologi FIV.

Kesimpulan

1. Sapi Peranakan Simmental mempunyai potensi dan viabilitas oosit yang cukup baik untuk digunakan untuk produksi embrio *in vitro*.
2. Potensi oosit pada ovarium kiri dan kanan hampir sama. Rata-rata folikel yang layak digunakan untuk produksi embrio *in vitro* (berukuran 2 – 6 mm) dari ovarium kiri dan kanan masing-masing adalah $14,47 \pm 6,70$ dan $14,11 \pm 6,49$ buah
3. Kualitas oosit A dan B dari bagian ovarium kanan dan kiri masing-masing adalah $2,2 \pm 3,71$, $3,5 \pm 2,17$ dan $0,400 \pm 0,966$, $0,500 \pm 0,707$ ($P > 0,05$).
4. Angka maturasi *in vitro* yang diperoleh dari oosit sapi

Peranakan Simmental adalah $68,4 \pm 6,72\%$.

Daftar Pustaka

- Arlotto, T., J.L. Schwarzt, N.L. First and M.L. Leibfried-Rutledge. 1996. Aspect of follicle and oocyte stage that affect in vitro maturation and development of bovine oocytes. Theriogenology. 45: 943-956.
- Beveridge, D.R. and H. N. Jabtou. 1998. Potential of assisted technique for the conservation of endangered species in captive. Veterinary Record. 143 : 159-168
- Brown, B.W. and T. Radziowic. 1998. Production of sheep embryos in vitro fertilization and development of progeny following single and twin embryos transfer. Theriogenology. 49: 1525-1537.
- Gordon, I. 1994. Laboratory Production of Cattle Embryos. Biotechnology in Agricultural Series. CAB. Int.
- Hardjopranjoto,S.H. 1995. Ilmu Kemajiran pada Ternak. Airlangga University Press. Surabaya
- Hendri. 1999. Penambahan berbagai jenis serum pada medium TCM-199 untuk produksi embrio sapi melalui teknik Fertilisasi in Vitro. Jurnal Peternakan dan Lingkungan. 5: 1-8
- Im, K.S., H.J. Kim, K.M. Chung, H.S. Kim and K.W. Park. 1995. Effects of ovary type, oocyte grade, hormone, sperm concetration and fertilization medium on ivtro maturation, fertilization and development of bovine follicular oocytes. AJAS. (2): 123-127.
- Jaswandi, M. Agus Setiadi, A. Boediono, M.R. Toelihere dan . Sukra. 2006. Persentase oosit terpenetrasi dan perubahan morfologi sperma pada fertilisasi in vitro dengan system inkubasi tanpa CO₂ 5%. Seminar Nasional. Peranan Bioteknologi Rproduksi alam Pembangunan Peternakan dan Perikanan di Indonesia. FKH IPB. Bogor.
- Leifbreid.L and N.L. First. 1979. Characterization of bovine follicular oocytes and their ability to mature in vitro. J. Anim Sci. 48: 76-86.
- Ondho, Y.S. 1998. Pengaruh Penambahan FSH, Estradiol-17 β dan Kultur Sel Tuba Fallopia ke Dalam TCM-199 Untuk Meningkatkan Pemantangan Oosit dan Perkembangan Embrio Domba Dalam Program Fertilisasi In Vitro. Disertasi Pascasarjana IPB. Bogor.
- Pane, I. 1986. Pemuliaan Ternak Sapi. Gramedia Jakarta
- Salisbury, G.W. dan N.L. Van Demark. 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. Gadjah Mada University Press.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1984. Prosedur dan Metode Statistik. Suatu Pendekatan Biometrik. Alih bahasa B. Soemantri. Gramedia. Jakarta.

- Szolozi, D., V. Desmet, N. Crozet and C. Brender. 1988. In vitro maturation of sheep ovary oocytes. *Reprod. Nutr. Dev.* 28: 1047-1080.
- Tan, S.J. and K.H. Lu. 1990. Effect different estrous stages of ovaries and sizes of follicles on generation of bovine follicular oocytes. *Theriogenology*. 3:335.
- Toelihere, M.R. 1981. *Fisiologi Reproduksi Pada Ternak*. Angkasa. Bandung.
- Totev, S.M., C.H. Pawshe and G.P. Singh. 1993. In vitro maturation and fertilization of buffalo oocytes : effect of media hormon and sera. *Theriogenology*. 39: 1153-1171

Alamat korespondensi: Dr. Ir. Jaswandi MS.

Jurusan Produksi Ternak, Fakultas Peternakan
Universitas Andalas, Kampus Limau Manis, Padang
Telp. 0751-74208 Fax: 0751-71464

Diterima: 6 September 2007, Disetujui: 24 September 2007