

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

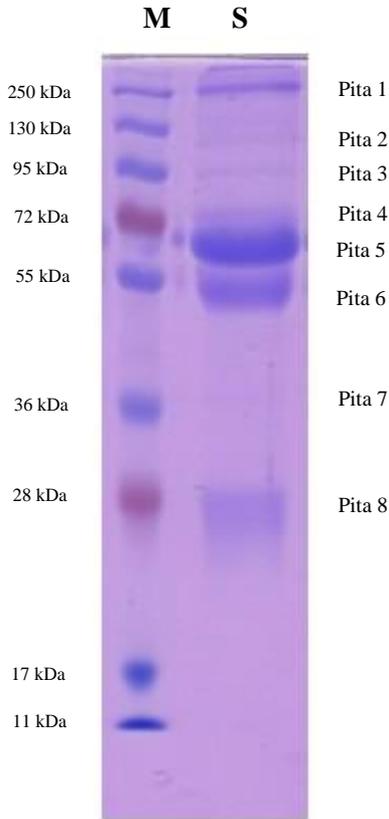
4.1 Analisis Protein Cairan Folikel

Untuk mengetahui kandungan protein yang ada dalam cairan folikel maka dilakukan elektroforesis SDS-PAGE dengan gel poliakrilamid 12,5%. Tujuan dari elektroforesis ini untuk mengetahui berat molekul protein-protein yang terdapat pada cairan folikel. Hasil analisis profil protein dengan menggunakan SDS-PAGE menunjukkan bahwa pada cairan folikel besar ovarium sapi terdapat delapan pita protein yang memiliki berat molekul berbeda yaitu berkisar antara 124,52-28,84 kDa (Gambar 3 dan Tabel 1). Pada penelitian ini terdapat protein dengan berat molekul 57,99 kDa yang menurut penelitian Widjiati dkk. (2008) protein dengan berat molekul kisaran 51 kDa diidentifikasi sebagai protein GDF-9 yang memiliki peran dalam proses maturasi secara *in vitro*.

Tabel 1. Berat molekul protein (kDa) pada cairan folikel besar ovarium sapi

Pita Sampel	BM (kDa)
1	124,52
2	112,26
3	103,49
4	93,93
5	68,23
6	57,99
7	42,12
8	28,84

*bm: Berat Molekul

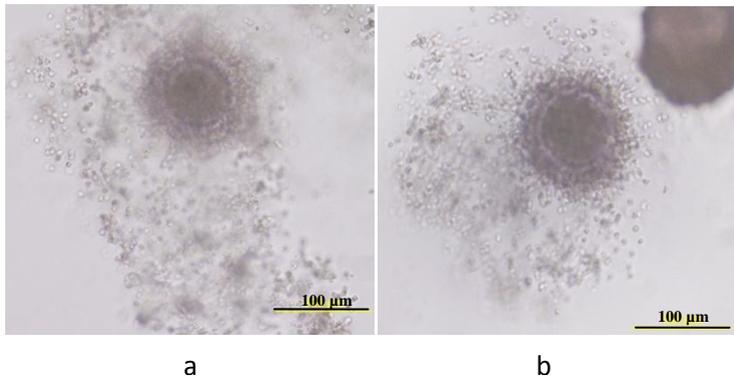


Gambar 3. Profil protein cairan folikel besar ovarium sapi pada gel sds-page 12,5%. Keterangan: S: Protein CF Sapi; M: *Marker Protein*

Berat molekul protein 42,12 kDa yang ditemukan pada penelitian ini diduga adalah protein IGFBP-3 seperti yang telah dilakukan oleh Khatir dkk. (1997) yang mengungkapkan bahwa pada *calf follicular fluid* terdapat protein IGFBP-3 memiliki berat molekul kisaran 44-42 kDa. Selain GDF-9 dan IGFBP, terdapat protein dengan berat molekul 28,84 yang diduga merupakan protein inhibin pada sel granulosa seperti penelitian yang dilakukan oleh Siregar dkk. (2006) yang mengungkapkan bahwa protein inhibin sel granulosa ditemukan pada berat molekul kisaran 32 kDa.

4.2 Maturasi Oosit secara *In Vitro*

Berdasarkan hasil maturasi oosit kambing yang dilakukan secara *in vitro* menunjukkan bahwa media yang diberi suplementasi cairan folikel menghasilkan kualitas oosit *mature* lebih baik dibandingkan dengan kontrol (Gambar 4 dan Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa di dalam cairan folikel besar ovarium sapi mengandung protein-protein yang dapat menunjang proses maturasi oosit. Maturasi oosit secara *in vitro* yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan media yang ditambahkan dengan berbagai suplementasi untuk memaksimalkan proses maturasi. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu media yang ditambah cairan folikel dengan konsentrasi 20% dan juga media kontrol.



Gambar 4. Oosit hasil IVM. Keterangan: (a) Kontrol (FBS 10%) (b) CF 20%. Pengamatan dengan mikroskop *inverted* perbesaran 100x

Salah satu ciri-ciri oosit telah matang yaitu ditandai dengan adanya ekspansi sel-sel kumulus yang merenggang mengelilingi oosit. Adanya ekspansi kumulus dapat diamati setelah dilakukan inkubasi selama 26 jam (Gambar 4). Pada Gambar 4 menunjukkan ekspansi kumulus dengan kategori sempurna dimana sel-sel kumulus merenggang mengelilingi oosit. Ekspansi sel kumulus bertepatan dengan terjadinya meiosis, sel-sel kumulus distimulasi oleh hormon

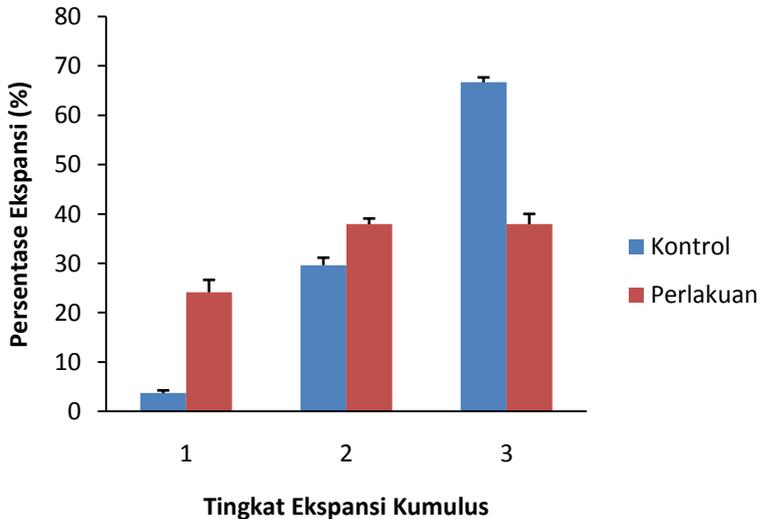
FSH dan *growth factor* untuk memproduksi dan mensekresikan *hyaluronic acid* yang menyebabkan terjadinya ekspansi. Interaksi antara sel kumulus dengan oosit dapat menghasilkan glikosaminoglikan, hormon steroid, nutrisi dan faktor-faktor yang mendukung terjadinya maturasi oosit (Widayati dkk., 2014).

Tabel 2. Hasil maturasi oosit setelah inkubasi selama 26 jam

Kelompok	Jumlah Oosit	Level ekspansi kumulus (%)		
		1	2	3
TCM 199 + FBS		3,70±	29,63±	
10% (kontrol)	27	0,577	1,528	66,67± 1
TCM 199 + CF		24,14±	37,93±	37,93±
20%	29	2,517	1,155	2,082

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tingkat maturasi oosit pada media yang ditambah cairan folikel besar ovarium sapi dengan konsentrasi 20% memiliki persentase lebih tinggi dibandingkan dengan maturasi tanpa perlakuan (kontrol) (Tabel 2). Maturasi yang dilakukan tanpa perlakuan (kontrol) menunjukkan bahwa dari 27 jumlah oosit terdapat sebanyak 3,70% oosit yang mengalami ekspansi dengan kategori baik atau mengalami ekspansi kumulus sempurna, sebanyak 29,63% oosit yang mengalami ekspansi kumulus dengan kategori terekspansi sebagian, dan sebanyak 66,67% oosit yang tidak mengalami ekspansi kumulus. Sedangkan pada media yang diberikan perlakuan cairan folikel besar dengan konsentrasi 20% menunjukkan hasil yaitu dari 29 jumlah oosit terdapat sebanyak 24,14% oosit mengalami ekspansi kumulus sempurna, sebanyak 37,93% oosit mengalami ekspansi kumulus dengan kategori sedang atau terekspansi sebagian, dan sebanyak 37,93% oosit tidak mengalami ekspansi kumulus. Persentase ekspansi kumulus juga dapat dilihat pada Gambar 5 yang menunjukkan adanya perbedaan antara media kontrol dan media dengan perlakuan cairan folikel 20%. Tingkat ekspansi kumulus dengan kategori 1 (ekspansi sempurna) dan 2 (ekspansi sebagian) lebih tinggi pada media dengan pemberian cairan folikel daripada media kontrol. Sedangkan persentase ekspansi pada kategori 3 (tidak

ekspansi) menunjukkan lebih tinggi pada media kontrol daripada media perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian cairan folikel besar ovarium sapi pada media dapat meningkatkan maturasi oosit dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Namun hasil analisis statistik yang dilakukan menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan terhadap setiap perlakuan (kontrol dan media yang diberi suplementasi).



Gambar 5. Maturasi oosit berdasarkan tingkat ekspansi kumulus

Hasil penelitian terdapat tingkat ekspansi menunjukkan bahwa media yang ditambahkan dengan cairan folikel 20% lebih baik daripada media kontrol. Hal ini didukung oleh penelitian Widayati dkk. (2014) bahwa medium dengan TCM-199+20% FL dan medium TCM-199+20% FCS menghasilkan perkembangan oosit yang lebih baik daripada medium kontrol yaitu ($82,43 \pm 6,59\%$; $80,75 \pm 9,68\%$ vs $70,42 \pm 8,83\%$) ($P < 0,05$). Fibrianto dkk. (2009) juga melaporkan bahwa media yang ditambahkan dengan CFS dan CFB menunjukkan tingkat maturasi inti sel yang lebih baik daripada media kontrol pada tiap-tiap stadium meiosis. Oosit yang dimaturasi pada media kontrol

memiliki persentase yang lebih tinggi pada stadium GVBD dibanding dengan medium yang ditambah dengan CFS dan CFB. Tanda oosit telah *mature* yaitu adanya ekspansi sel kumulus, *germinal vesicle break down*, dan ekstruksi badan polar I (Gordon, 2003).

Cairan folikel mengandung protein-protein yang dapat membantu proses maturasi oosit seperti LH, FSH, IGF-1, IGFBP (Avery dkk., 2003), TGF- β (Widjiati dkk., 2010). Menurut penelitian Widjiati dkk, (2010) pemberian dosis TGF- β pada medium maturasi dapat meningkatkan jumlah kematangan oosit. Hal ini dikarenakan TGF- β yang ada dalam cairan folikel dapat berpengaruh terhadap peningkatan perkembangan oosit mencapai metafase II.