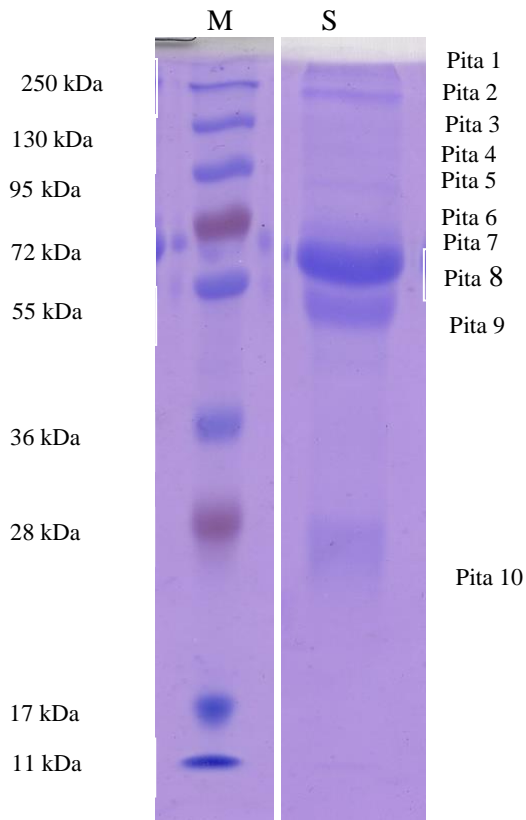


BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Profil Protein Cairan Folikel Sapi

Cairan folikel diketahui sebagai media maturasi alami atau *in vivo*. Analisa profil protein cairan folikel menggunakan metode SDS-PAGE diperoleh hasil protein dengan berat molekul 126,47 kDa; 113,14 kDa; 104,18 kDa; 93,2 kDa; 68,76 kDa; 58,37 kDa; 50,34 kDa; 43,06 kDa; 32,49 kDa; dan 24,48 kDa (Gambar 6 dan Tabel 2).



Gambar 6. Profil Pita Protein Cairan Folikel Sapi , M : Marker Protein, S : Cairan Folikel Sapi

Tabel 2. Berat molekul protein cairan folikel sapi yang teridentifikasi

Pita	Berat Molekul (kDa)
1	126,47
2	113,14
3	104,18
4	93,2
5	68,76
6	58,37
7	50,34
8	43,06
9	32,49
10	24,48

Hasil elektroforesis menunjukkan bahwa terdapat 10 pita protein dengan berat molekul berkisar 126,47 kDa – 24,48 kDa (Tabel 2). Menurut penelitian Nicholas dkk. (2002) protein dengan berat molekul 24 kDa diidentifikasi sebagai IGFBP-4 (*Insulin-like growth factor banding protein*), untuk berat molekul 44-43 kDa diketahui IGFBP-3 (Khatir dkk.,1997). IGFBP-3 dan IGFBP-4 merupakan bagian dari IGF-1 yang merupakan stimulator proliferasi seluler, diferensiasi dan perkembangan sel dan IGF-1 juga berfungsi menginduksi pembelahan mitosis pada sel-sel granulosa, IGF-1 hanya dapat bekerja jika terdapat interaksi dari IGFBP 1-6 (Hasibi, 2014). Selain IGFBP ditemukan juga protein inhibin dengan berat molekul kisaran <50 kDa (Nicholas dkk, 2002). Albumin juga ditemukan dalam cairan folikel, menurut penelitian Robertson dkk, (1987), serum albumin memiliki berat berkisar 67 kDa. Berdasarkan hasil di atas, diduga komponen dalam cairan folikel sapi ini memiliki peranan dalam maturasi seperti IGFBP (Guthrie dkk.,1995) dan albumin yang berfungsi sebagai metabolit yang berperan dalam perkembangan sel kumulus (Tabatabaei & Mamoei,2011).

4.2 Maturasi Oosit In Vitro

Proses maturasi *in vitro* pada penelitian ini menggunakan media TCM 199 yang disuplementasi dengan serum FBS (*Fetal Bovine Serum*) dan hormon LH (*Luteinizing Hormone*) dan FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) serta antibiotik sebagai kontrol dan media yang disuplementasi dengan cairan folikel dan hormon LH (*Luteinizing Hormone*) dan FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) serta antibiotik sebagai perlakuan. Media merupakan kunci penting dalam proses maturasi karena media merupakan wadah perkembangan dan penyuplai nutrisi yang dibutuhkan selama proses maturasi *in vitro*. Sel oosit yang telah diinkubasi dalam inkubator CO₂, diamati setelah 26 jam tingkat ekspansi kumulusnya.

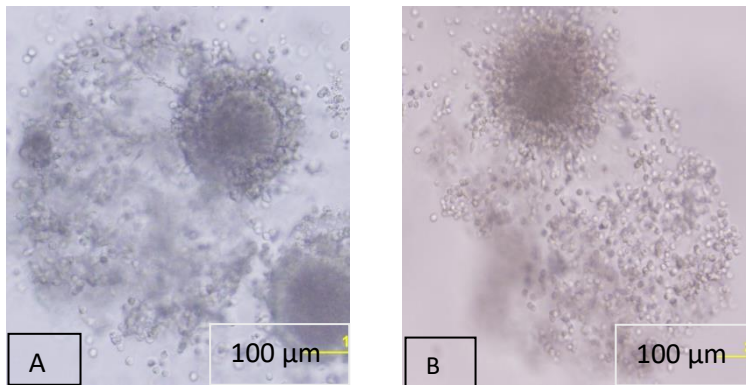
Maturasi *in vitro* dilakukan sebanyak lima kali ulangan untuk kedua kelompok uji, kontrol (P0) dan perlakuan (P1) dengan total sel oosit 106 sel, pada kelompok kontrol total oosit yang dimaturasi sebanyak 55 oosit dan kelompok perlakuan sebanyak 51 oosit (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil maturasi oosit *in vitro*

Jenis Medium	Jumlah Oosit	Level Ekspansi Sel Kumulus		
		1	2	3
TCM199+10%FB S	55	3,6±0,54 7	14,54±0,89 4	81,81±1,224
TCM199+20%CF	51	3,9±0,54 7	39,21±1,41 4	52,72±1,788

Hasil maturasi pada kelompok kontrol, ekspansi kumulatif tingkat 1 sebanyak 3,6% sedangkan pada kelompok perlakuan 3,9%. Ekspansi kumulatif tingkat 2, kelompok perlakuan memiliki nilainya 39,21% lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol yang hanya 14,54% dan pada ekspansi kumulatif tingkat 3 kelompok perlakuan memiliki nilainya lebih rendah yaitu 52,72% daripada kelompok kontrol (Tabel 3 dan Gambar 8). Hasil analisa statistika (Lampiran 8) yang telah dilakukan dengan menggunakan uji T menunjukkan hasil adanya pengaruh pada ekspansi kumulatif tingkat 2 dan 3.

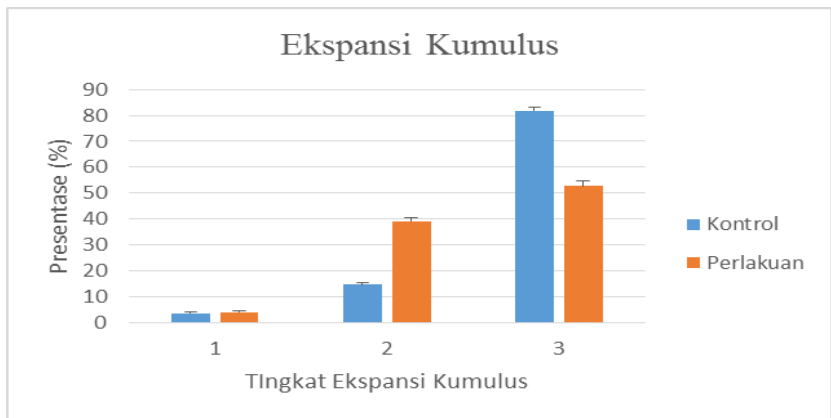
Ekspansi kumulus dijadikan sebagai parameter pengamatan dalam penelitian maturasi ini karena mudah diamati. Sel kumulus yang berdekatan dengan matiks ekstraseluler adalah bagian penting dari oosit kumulus kompleks (COSs). Sel kumulus mengelilingi sel oosit selama perkembangan dan proses maturasi sel oosit mengalami perubahan morfologi dan aktivitas metaboliknya. Interaksi antara sel oosit dan kumulus menghasilkan sel kumulus mensintesis matriks ekstraseluler dalam jumlah yang banyak selama terjadinya pelebaran atau pemanjangan, fenomena inilah yang disebut ekspansi kumulus. Ekspansi kumulus terjadi sebelum ovulasi pada keadaan *in vivo* dan terjadi setelah terjadi maturasi *in vitro* (Nevoral dkk,2014).



Gambar 7. Sel Oosit hasil maturasi *in vitro*. Keterangan: (A) Kontrol FBS 10% , (B) Perlakuan CF 20% (100x)

Menurut Rahman dkk, (2003), tingkat ekspansi kumulus ada 3 tingkatan yaitu tingkat 1 yang berarti terekspansi sempurna (Gambar 7), tingkat 2 yang artinya terekspansi sebagian dan tingkat 3 yang ditandai dengan tidak adanya ekspansi. Ekspansi tingkat 1 atau ekspansi sempurna adalah ekspansi sel kumulus yang semua sel kumulus menyebar secara merata dan terlihat merenggang (Gambar 7). Ekspansi kumulus distimulasi oleh hormon FSH selama proses folikulogenesis karena adanya sintesis glycosaminoglycan pada *hyaluronic acid* (HA) ke bagian ekstraseluler yang mana berperan

sebagai komponen struktural dari ekspansi kumuli dan sinyal molekuler regulasi maturasi oosit (Nevoral dkk, 2014).



Gambar 8. Grafik tingkat ekspansi kumulus

Pemberian cairan folikel memberikan peningkatan jumlah sel oosit yang mengalami ekspansi. Terlihat pada tingkat 2 (ekspansi sebagian) jumlah sel oosit yang *mature* naik hingga 2x lipat (Gambar 8). Hal ini membuktikan cairan folikel dapat menjadi suplementasi yang baik bagi media maturasi oosit karena mengandung IGFBP-4, IGFBP-3 yang memiliki fungsi untuk mengaktifkan IGF-1 yang merupakan stimulator utama proliferasi seluler, diferensiasi dan perkembangan sek, regulasi steroidogenesis oleh sel-sel granulosa dan apoptosis selama folikulogenesis (Roesmanto, 2004) ,dan Albumin yang berperan dalam proses maturasi dan ekspansi sel kumulus, seperti pada Yoshida dkk (1992), menunjukkan bahwa cairan folikel dapat mempengaruhi ekspansi sel kumulus oosit dan penelitian dari Aquilar dkk. (2001), Arlotto dkk. (1996) serta Fibrianto dkk. (2009) menyatakan bahwa penggunaan cairan folikel sebagai suplementasi media maturasi dalam level tertentu berperan dalam meningkatkan perkembangan oosit, *fertilization rate*.