

**SKRIPSI**

**PENGARUH KOMPLEKS PROTEIN *Insulin-like Growth Factor-I* (IGF-I)  
DAN *Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3* (IGFBP-3)  
TERHADAP PEROLEHAN SEL TELUR MENCIT  
(*Mus musculus*)**



oleh

**ANI LESTARI**  
**SURABAYA - JAWA TIMUR**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2004**

**PENGARUH KOMPLEKS PROTEIN *Insulin-like Growth Factor-I* (IGF-I)  
DAN *Insulin-like Growth Factor Binding-3* (IGFBP-3) TERHADAP  
PEROLEHAN SEL TELUR MENCIT  
(*Mus Musculus*)**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

**SARJANA KEDOKTERAN HEWAN**

Pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

ANI LESTARI

NIM 069912613

Menyetujui

Komisi Pembimbing,



---

Herry Agoes Hermadi, M.Si., Drh

Pembimbing Pertama



---

Mirni Lamid, M.P., Drh

Pembimbing Kedua

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh. Kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar SARJANA KEDOKTERAN HEWAN

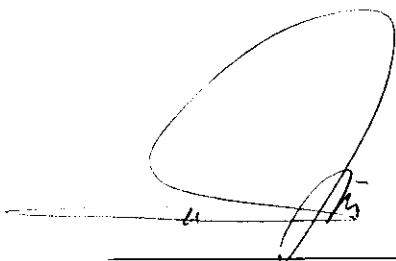
Menyetujui

Panitia Penguji,



Rr. Sri Pantja Madyawati, M.Si., Drh

Ketua



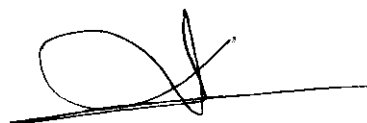
Dr. Hardijanto, M.S., Drh

Sekretaris



Herry Agoes Hermadi, M.Si., Drh

Anggota



Budi Utomo M.Si., Drh

Anggota



Mirni Lamid, M.P., Drh

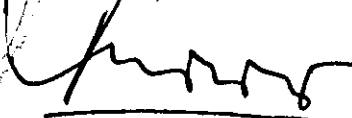
Anggota

Surabaya, 30 April 2004

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Dr. Ismudiono, M.S., Drh  
NIP. 130687297

**PENGARUH KOMPLEKS PROTEIN *Insulin-like Growth Factor-I* (IGF-I)  
DAN *Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3* (IGFBP-3)  
TERHADAP PEROLEHAN SEL TELUR MENCIT  
(*Mus musculus*)**

**Ani Lestari**

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh kompleks protein *Insulin-like Growth Factor-I* (IGF-I) dan *Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3* (IGFBP-3) terhadap perolehan jumlah sel telur mencit.

Hewan percobaan yang digunakan 20 ekor mencit betina strain Balb/C umur 60 hari dan 20 ekor mencit jantan vasektomi, dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan dan mendapat 5 ulangan. Rancangan percobaan yang digunakan adalah *Completely Randomized Design* (Rancangan Acak Lengkap). Perlakuaannya sebagai berikut: P0 (kontrol): Mencit disuntik NaCl fisiologis pada fase estrus, P1: disuntik 10 ng/ml kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3 pada fase diestrus, P2: disuntik 30 ng/ml kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3 pada fase diestrus, P3: disuntik 50 ng/ml kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3 pada fase diestrus, sebanyak 0,1 ml secara subkutan dan dikawinkan secara *mono mating* (individu) dengan pejantan vasektomi. *Flushing* (panen sel telur) dilakukan 14 jam setelah pengawinan, dengan merobek kantong fertilisasi pada ampula tuba falopii. Pengamatan dan penghitungan dilakukan langsung di bawah mikroskop *inverted* dengan pembesaran 40X. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan Anava dan dilanjutkan dengan uji BNT 5%.

Rataan jumlah sel telur pada P0:  $8,20 \pm 1,10$  dan P1:  $8,40 \pm 1,14$  tidak berpengaruh nyata dengan kontrol, sedangkan pada P2:  $14,00 \pm 1,87$  dan P3:  $20,20 \pm 2,39$  berpengaruh nyata dengan kontrol.

Disimpulkan bahwa penyuntikan 30 ng/ml dan 50 ng/ml kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3 dapat merangsang peningkatan jumlah sel telur. Penyuntikan dengan dosis 50 ng/ml merupakan dosis terbaik yang memberikan respon paling efektif terhadap peningkatan jumlah sel telur yang diovulasikan.

## KATA PENGANTAR

Rasa syukur alhamdulillah penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas limpahan berkah, rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul **Pengaruh Kompleks Protein *Insulin-like Growth Factor-I (IGF-I)* dan *Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3 (IGFBP-3)* terhadap Perolehan Sel telur Mencit (*Mus musculus*).**

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengetahui pengaruh kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3 terhadap perolehan jumlah sel telur mencit. Salah satunya seperti yang penulis lakukan dan hasilnya disajikan dalam laporan ini.

Dengan rasa hormat penulis ucapkan Terima Kasih kepada Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Bapak Herry Agoes Hermadi, M.Si., Drh. selaku dosen pembimbing pertama dan Ibu Mirni Lamid, M.P., Drh. selaku dosen pembimbing kedua, atas saran, bimbingan serta bantuannya selama ini. Bapak Abdul Samik, M.Si., Drh. dan Ibu Widjiati, M. Si., Drh Terima Kasih atas saran, bimbingan serta bantuannya baik secara moril dan materiil yang telah diberikan dari awal hingga akhirnya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik dan tepat waktu. Bapak Budi Utomo M.Si., Drh. selaku dosen wali, Terima Kasih atas semua nasehat yang telah diberikan. Kepada seluruh staf pengajar dan karyawan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga penulis sampaikan Terima Kasih yang tak terhingga atas bekal ilmu pengetahuan yang sangat bermanfaat.

Rasa hormat dan Terima Kasih yang tak terhingga penulis sampaikan kepada Ibu, Bapak dan semua keluargaku yang sangat kusayangi, atas perhatian, pengorbanan materi yang tak terhingga, semangat, dukungan doa serta nasehat yang diberikan selama ini.

Rekan-rekan penelitian Bisono, Tri, Sisi, Nuky, Mbak Lia dan Hengki, Terima Kasih telah memberikan saran, bantuan, dorongan semangat dan perhatian kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Sahabat-sahabat penulis Erin, Laili, Wahyu Kholifa, Mas Dewo di ITS, Adi di Unair, Mbak Jenny '98, Mbak Dini '98, Mbak Agung '98, Mbak Yeti '98, Dicky '98, Nina, Niken, Riyanti, Laksyuda, Kurniawan, Analis, Anton, Ichwan, Arif, Harry, Udin serta teman-teman angkatan '99 atas segala bantuan dan dorongan semangat selama ini. Dan semua pihak yang telah membantu penyelesaian tulisan ini.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna, meskipun sudah diusahakan semaksimal mungkin, oleh sebab itu penulis mengharap kritik dan saran untuk kesempurnaan skripsi ini. Semoga hasil yang dituangkan dalam skripsi ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan peternakan di Indonesia. Akhir kata penulis mengucapkan Terima Kasih yang sebesar-besarnya.

Surabaya, Maret 2004

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	x
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xii
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	2
1.3. Landasan Teori.....	2
1.4. Tujuan Penelitian.....	5
1.5. Manfaat Penelitian.....	5
1.6. Hipotesis.....	5
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1. Tinjauan Tentang Mencit.....	6
2.2. Siklus Birahi Mencit.....	6
2.3. Pertumbuhan Dan Perkembangan Folikel.....	8
2.4. Ovulasi Dan Pembentukan Korpus Luteum.....	10
2.5. <i>Growth Factor</i> .....	13
2.6. <i>Insulin-like Growth Factor (IGF)</i> .....	14

2.7.	Kompleks Protein IGF-I dan IGFBP-3.....	15
2.7.1.	<i>Insulin-like Growth Factor (IGF-I)</i> .....	15
2.7.2.	<i>Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3</i> (IGFBP-3).....	16
2.8.	Pembanding: Superovulasi Menggunakan PMSG.....	18
<b>BAB III.</b>	<b>MATERI DAN METODE</b>	
3.1.	Tempat dan Waktu Penelitian.....	20
3.2.	Materi Penelitian.....	20
3.2.1.	Hewan Percobaan.....	20
3.2.2.	Bahan Penelitian dan Alat-Alat.....	21
3.3.	Metode Penelitian.....	21
3.3.1.	Uji Potensi Biologis Pada Mencit.....	21
3.3.2.	Perlakuan.....	22
3.3.3.	Jadwal Panen Sel Telur pada Mencit.....	22
3.4.	Peubah Yang Diamati.....	23
3.5.	Rancangan dan Analisis Data.....	23
<b>BAB IV.</b>	<b>HASIL PENELITIAN</b>	
4.1.	Uji Biologis Kompleks Protein IGF-I dan IGFBP-3 Pada Mencit.....	24
4.2.	Perolehan Sel Telur Setelah Pemberian Kompleks Protein IGF-I dan IGFBP-3.....	25
<b>BAB V.</b>	<b>PEMBAHASAN</b> .....	27



<b>BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
6.1. Kesimpulan.....	30
6.2. Saran.....	30
<b>RINGKASAN.....</b>	<b>31</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>33</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>36</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Perolehan Sel Telur.....	26

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Mekanisme Kerja IGF-I dan IGFBP-3.....	4
2. Ovarium mamalia dengan pertumbuhan folikel.....	10
3. Uterus mencit setelah dikawinkan.....	23
4. Perubahan Sel Epitel Vagina.....	24
5. Kantong fertilisasi yang berisi sel telur.....	25
6. Sel Telur yang dikelilingi sel granulosa.....	25
7. Diagram garis rata-rata jumlah sel telur mencit.....	26

## DAFTAR LAMPIRAN.

Lampiran	Halaman
1. Uji Statistik.....	36
2. Jumlah Sel Telur yang Dihasilkan.....	37
3. Kerangka Penelitian secara Skematis.....	38
4. Urutan Asam Amino IGF-I.....	40
5. Mekanisme Hormonal pada Mamalia.....	41

**BAB. I**  
**PENDAHULUAN**

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1. Latar Belakang

Peningkatan mutu ternak merupakan salah satu aspek utama dalam pengembangan peternakan di Indonesia. Perkembangan populasi ternak di Indonesia belum mencapai keadaan yang menggembirakan bahkan di Jawa Timur pada tahun 2001 terjadi penurunan populasi beberapa ternak yaitu kuda sebesar 3,24 %, sapi perah 5,86 % dan kerbau 5 % sedang ternak yang lain mengalami kenaikan yang masih jauh dari harapan kita. Sapi potong naik 0,02 %, kambing sebesar 0,56 % dan domba turun 0,36 % (Anonimous, 2001).

Kendala yang sering dihadapi peternak adalah menyangkut bidang reproduksi, seperti gangguan kesehatan alat reproduksi betina yang menyebabkan rendahnya tingkat kebuntingan sehingga untuk mencapai tingkat reproduktivitas yang tinggi sulit dicapai.

Gangguan perkembangan folikel ovarium yang meliputi gagalnya perkembangan proses pembentukan dan pertumbuhan folikel merupakan faktor utama yang menghambat tingkat reproduktivitas ternak.

Berbagai upaya dilakukan agar reproduktivitas yang tinggi dapat tercapai adalah dengan pengelolaan reproduksi yang meliputi perbaikan manajemen pakan, pengobatan dan pencegahan penyakit reproduksi menular, perangsangan dengan hormonal dan pemakaian bahan-bahan bioaktif yang mendukung perbaikan dan perkembangan organ reproduksi betina seperti ovarium.

*Insulin-like growth factor* (IGF) atau somatomedin adalah *polypeptida growth factor* yang disekresikan oleh hati dan berbagai jaringan sebagai respon dari rangsangan *growth hormone* (Hafez, 2000). IGF-I dan IGF-II berfungsi untuk regulasi proliferasi dan deferensiasi dari berbagai macam sel dan mengeluarkan efek metabolik dari IGF (Hafez, 2000). Dan Spicer *et al.* (1991) mengatakan bahwa sistem IGF yang terdiri dari IGF-I dan IGF-II berperan penting dalam regulasi perkembangan folikel dominan.

Uji fertilitas pada penelitian ini dilakukan pada mencit dengan harapan diperoleh suatu model penggunaan *Insulin-like Growth Factor-I* dan *Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3* untuk perbaikan fertilitas ternak.

## 1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan yang telah diuraikan di atas, maka rumusan masalah yang diajukan adalah apakah pemberian kompleks protein *Insulin-like Growth Factor-I* (IGF-I) dan *Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3* (IGFBP-3) berpengaruh terhadap perolehan sel telur mencit?

## 1.3. Landasan Teori

*Growth factor* adalah *hormone-like polypeptida* dan protein, yang bekerja secara *endocrine*, *paracrine* dan *autocrine* yang merangsang aktivitas mitogenik pada jaringan yang mengalami proliferasi seperti transformasi folikel ovarium menjadi korpus luteum. *Endocrine* adalah hormon yang dihasilkan oleh sel dan

bekerja untuk seluruh sel diseluruh tubuh melalui aliran darah, *paracrine* adalah hormon yang bekerja pada sel-sel disekitar sel penghasil hormon tersebut dan *autocrine* adalah hormon yang bekerja pada sel penghasil hormon itu sendiri, sedangkan hormon dihasilkan oleh sel-sel yang tidak punya saluran (Hafez, 2000).

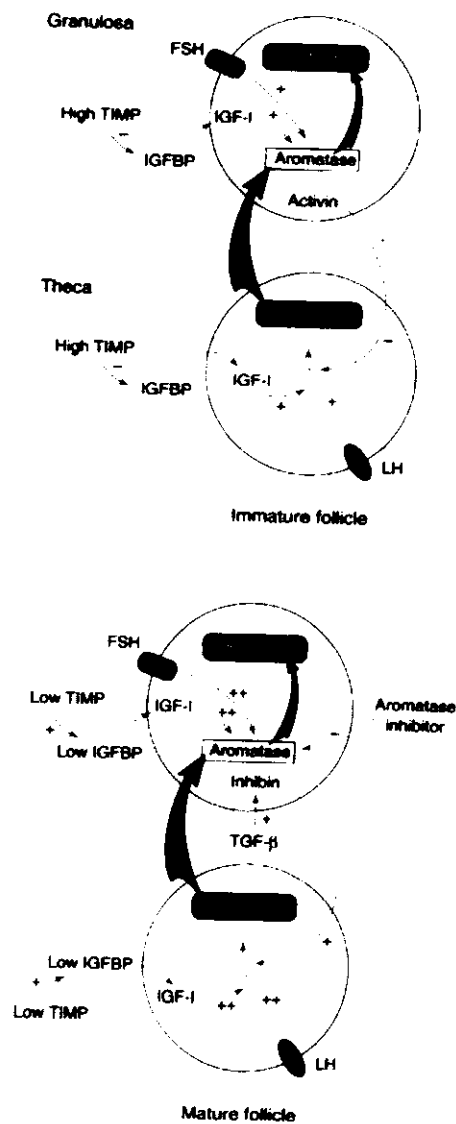
*Insulin-like growth factor* (IGF) atau somatomedin adalah *polypeptida growth factor* yang disekresikan oleh hati dan berbagai jaringan sebagai respon dari rangsangan *growth hormone* (Hafez, 2000). IGF terdiri atas insulin-like *growth factor* I (IGF-I), Insulin-like *growth factor* II (IGF-II) dan *insulin-like growth factor binding protein* (IGFBP-1, -2, -3, -4, -5, -6) (Monget dan Monniaux, 1995).

Mekanisme kerja kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3 pada folikel muda, LH merangsang sel teka untuk membentuk androgen dibantu oleh IGF-I dan dikontrol oleh aktivin yang ada di sel granulosa. IGF-I berikatan dengan IGFBP kemudian dipecah dengan *Tissue Inhibiting Metallo Proteinase* (TIMP) yang tinggi tetapi kemampuan memecahnya tidak terlalu besar sehingga IGF-I yang dihasilkan tidak banyak. Androgen di bawah ke sel granulosa diubah menjadi estradiol melalui proses aromatisasi dan dirangsang oleh IGF-I dan FSH. Estradiol berfungsi untuk pertumbuhan dalam hal ini pertumbuhan folikel. Sedangkan pada folikel masak, LH yang lebih banyak merangsang sel teka untuk membentuk androgen dibantu oleh IGF-I dan inhibin yang ada di sel granulosa. IGFBP yang rendah dipecah oleh TIMP yang rendah menghasilkan IGF-I dalam jumlah yang banyak. Androgen di bawa ke sel granulosa diubah menjadi estradiol melalui proses aromatisasi yang dikontrol oleh enzim aromatase inhibitor kemudian



dirangsang oleh lebih banyak IGF-I dan FSH sehingga estradiol yang disekresikan juga meningkat (J. F. Roche, 1998). Mekanisme kerja ada di gambar 1.

Peningkatan sekresi estradiol oleh sel-sel granulosa pada folikel yang akan ovulasi menyebabkan birahi dan merangsang banjir LH yang menyebabkan ovulasi dan mengeluarkan oosit (Rochler, 1993).



Gambar 1. Mekanisme Kerja IGF-I dan IGFBP-3 (J.F Roche, 1998)

#### 1.4. Tujuan penelitian

Untuk mengetahui apakah ada pengaruh kompleks protein *Insulin-like Growth Factor-I* (IGF-I) dan *Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3* (IGFBP-3) terhadap perolehan sel telur mencit.

#### 1.5. Manfaat Penelitian

Peneliti, sebagai bahan informasi ilmiah dalam rangka mengkaji penggunaan kompleks protein *Insulin-like Growth Factor-I* (IGF-I) dan *Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3* (IGFBP-3) sebagai bahan bioaktif untuk perbaikan fertilitas ternak.

Peternak, dapat menggunakan bahan bioaktif ini untuk membantu memperbaiki kondisi reproduksi ternaknya sehingga harapan untuk meningkatkan reproduktivitas ternaknya dapat tercapai.

#### 1.6. Hipotesis Penelitian

Pemberian kompleks protein *Insulin-like Growth Factor-I* (IGF-I) dan *Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3* (IGFBP-3) berpengaruh terhadap perolehan sel telur mencit.

## **BAB. II**

# **TINJAUAN PUSTAKA**

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Tinjauan Tentang Mencit**

Mencit merupakan salah satu hewan percobaan yang sering digunakan dalam penelitian. Hewan ini dinilai cukup efisien dan ekonomis sebagai hewan percobaan karena mencit mudah dipelihara, tidak memerlukan tempat yang luas dan memiliki banyak anak. Mencit memiliki sifat-sifat produksi dan reproduksi yang menyerupai hewan mamalia besar serta cepat mempunyai anak dan siklus birahi yang pendek. Data biologis mencit : lama hidup 1-2 tahun bisa sampai 3 tahun, lama bunting 19-21 hari, dewasa kelamin 35 hari, umur dikawinkan 8 minggu, siklus kelamin poliestrus, ovulasi terjadi dekat akhir fase estrus, siklus birahi 4-5 hari, lama birahi 12-14 jam, fertilisasi terjadi 2 jam sesudah kawin sedangkan implantasi terjadi 4-5 hari sesudah fertilisasi, jumlah anak rata-rata 6-12 ekor (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

#### **2.2. Siklus Birahi Mencit**

Birahi adalah keadaan dimana hewan betina bersedia menerima pejantan untuk berkopulasi. Jarak antara birahi satu dengan birahi berikutnya disebut siklus birahi (Partodihardjo, 1992).

Selama siklus birahi terjadi perubahan-perubahan fisiologis dari alat kelaminnya. Perubahan-perubahan tersebut dapat terjadi pada epitel vagina,

folikel ovarium, lapisan endometrium dan miometrium dari uterus maupun tingkah laku hewan betina itu sendiri. Perubahan bentuk dan susunan epitel vagina disebabkan adanya fluktuasi sekresi hormon estrogen dan progesteron. Perubahan ini dapat digunakan untuk menentukan fase dalam siklus birahi (Hafez, 2000).

Turner dan Bagnara (1988), menjelaskan bahwa siklus birahi dapat dibagi menjadi empat fase, yaitu : proestrus, estrus, metestrus dan diestrus. Fase proestrus merupakan tanda datangnya birahi dan mempunyai ciri adanya regresi korpus luteum serta pembengkakan folikel praovulasi. Cairan terkumpul di dalam uterus yang selanjutnya menjadi sangat kontraktile. Preparat hapus vagina didominasi oleh sel-sel epitel berinti yang muncul secara tunggal atau berbentuk lapisan. Fase ini berlangsung selama 12 jam. Fase estrus merupakan periode birahi dan kopulasi. Periode ini berakhir 9–15 jam dengan ciri-ciri aktivitas berlari-lari yang sangat tinggi, bergerak-geraknya telinga dan lordosis atau melengkungnya punggung dalam menghadapi perlakuan manusia atau bila didekatkan dengan hewan jantan. Di bawah pengaruh FSH, beberapa folikel ovarium tumbuh dengan cepat, uterus mengalami pembesaran progresif dan menjadi kembung karena akumulasi cairan dalam lumen. Banyak terjadi mitosis yang mengakibatkan lapisan permukaan mukosa vagina menjadi skuamosa dan menanduk. Banyak sel-sel menanduk yang terkelupas dalam lumen vagina yang dapat dilihat dalam preparat hapus vagina dan dipakai sebagai petunjuk estrus. Sel telur secara normal dilepas dari ovarium pada fase ini.

Fase metestrus, fase ini terjadi setelah ovulasi, yang periodenya berakhir 10-14 jam dan perkawinan biasanya tak dimungkinkan. Ovarium mengandung

korpus luteum dan folikel-folikel kecil. Vaskularisasi dan kontraktilitas uterus berkurang. Banyak leukosit muncul di dalam lumen vagina bersama dengan sel-sel menanduk. Fase diestrus berlangsung paling lama yaitu sampai 60 - 70 jam, regresi fungsional korpus luteum terjadi. Uterus kecil, anemik dan sedikit kontraktil. Pada preparat hapus vagina tampak mukosa vagina tipis dan hampir semua terdiri dari sel-sel leukosit. Apabila terjadi kebuntingan siklus terganggu (Turner dan Bagnara, 1988).

### **2.3. Pertumbuhan dan Perkembangan Folikel**

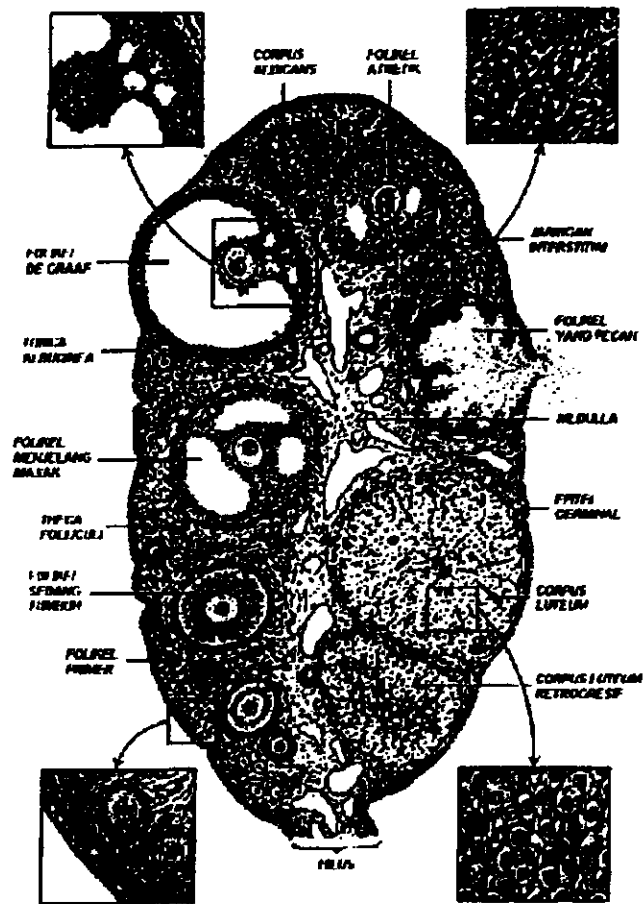
Ovarium bentuknya bervariasi tergantung spesiesnya, dari bentuk bulat telur sampai menyerupai kacang kara. Terdiri dari dua buah berwarna abu-abu sampai merah muda dan permukaan yang licin pada waktu sebelum terjadinya ovulasi secara teratur. Ovarium secara fisiologis mempunyai dua fungsi yaitu fungsi reproduksi dimana ovarium akan menghasilkan sel telur dan fungsi endokrinologis dimana ovarium akan menghasilkan hormon reproduksi serta sifat-sifat kelamin sekunder (Turner dan Bagnara, 1988).

Proses terbentuknya ovum melalui tahap-tahap yaitu: tahap proliferasi terjadi pra lahir sampai pasca lahir dimana sel telur membagi diri secara mitosis sehingga terbentuk berjuta-juta oogonia. Pada akhir tahap tumbuh ditandai dengan terbentuknya oosit primer. Tahap pemasakan terjadi pada fase proestrus yaitu terjadinya perubahan oosit primer menjadi oosit sekunder kemudian berkembang menjadi sel telur dewasa. Ovarium pada kebanyakan mamalia yang telah mencapai dewasa kelamin dibagi menjadi dua bagian yaitu bagian luar yang

disebut korteks dan bagian dalam yang disebut medula. Bagian korteks terdiri atas *germinal epithelium* (epitel kecambah). Folikel dari berbagai ukuran dan tingkat pertumbuhan, korpus luteum, korpus albikan dan tunjangan pengikat, sedangkan medula terdiri dari pembuluh darah, pembuluh limfe, saraf dan tunjangan pengikat. Ovarium memperoleh banyak darah dari arteri ovarika yang beranastomose dengan arteri uterina dan membentuk jala-jala kapiler di permukaan ovarium sehingga mempunyai efisiensi yang tinggi untuk aktivitas ovarium (Hardjopranto, 1995).

Menurut Partodihardjo (1992), pertumbuhan dan perkembangan folikel dibagi menjadi empat tahap. Tahap pertama terjadi pada waktu hewan betina masih dalam tubuh induknya sampai setelah partus, dari satu primordial sel membelah diri menjadi folikel primer, yang dikelilingi oleh selapis sel granulosa. Tahap kedua, folikel primer berkembang menjadi folikel sekunder yang sel telurnya dikelilingi oleh dua lapis sel granulosa, folikel ini mempunyai membran vitelin dan zona pelusida. Tahap ini terjadi setelah hewan betina lahir serta mengalami dewasa tumbuh.

Tahap ketiga, terjadi pertumbuhan dari folikel sekunder menjadi folikel tersier yang mempunyai ukuran lebih besar dan letaknya jauh dari ovarium. Folikel ini mempunyai ruang yang disebut antrum folikuli, dimana antrum ini berisi cairan folikel. Sel telur pada tahap ini disebut ootid. Tahap keempat atau tahap terakhir terjadi pertumbuhan folikel tersier menjadi folikel de Graaf yang merupakan bentuk terakhir dan terbesar. Folikel ini dilapisi oleh dua lapisan stroma, yaitu teka interna dan teka eksterna (Partodihardjo, 1992).



Gambar 2. Ovarium mamalia dengan pertumbuhan folikel (Hunter, 1995)

#### 2.4. Ovulasi dan Pembentukan Korpus Luteum

Ovulasi adalah suatu proses terlepasnya sel telur dari ovarium sebagai akibat pecahnya folikel de Graaf atau folikel yang telah masak. Sel telur yang telah dilepaskan oleh ovarium akan ditangkap oleh infundibulum yang terdapat di tuba falopii, dengan bantuan *fimbriae* (rambut getar) yang bergerak aktif untuk menangkap sel telur (Hardjopranjoto, 1995).



Ovulasi terjadi akibat peningkatan LH yang berada dalam sel teka dan peningkatan androgen, estrogen serta penurunan IGFBP (Stewart R E *et al.*, 1998). Dan peningkatan sekresi estradiol oleh sel-sel granulosa pada folikel yang akan ovulasi menyebabkan birahi dan merangsang banjir LH yang menyebabkan ovulasi dan mengeluarkan oosit (Rochler, 1993). LH menyebabkan ovulasi karena histamin yang dilepaskan menyebabkan hiperemi pada ovarium dan merangsang pelepasan enzim proteolitik yaitu kolagenase ke dalam cairan folikel. Enzim proteolitik akan melemahkan dinding folikel sehingga terjadi daerah avaskuler dan ovulasi terjadi pada daerah penonjolan superfisial dinding folikel yang tidak ditunjang stroma ovarium (Hardjopranjoto, 1995).

Bila ditinjau dari aktivitas ovarium yaitu pada pertumbuhan folikel dan korpus luteum, siklus birahi dibagi menjadi 2 fase yaitu : fase luteal (metestrus, diestrus) dan fase folikuler (proestrus, estrus). Fase luteal atau fase progesteronik adalah fase dimana ovarium terdapat korpus luteum yang aktif dan telah berkembang, progesteron merupakan hormon yang dominan pada fase ini. Sedangkan fase folikuler atau fase estrogenik adalah fase yang dimulai dari regresi korpus luteum sampai terjadinya ovulasi (Ismudiono, 1999).

Setelah folikel de Graaf pecah dan sel telur dibebaskan, maka terjadi pendarahan dalam folikel yang disebut korpus hemoragikum. Pendarahan terjadi melalui dinding folikel, bukan pada tempat pecahnya folikel. Saat terjadi pendarahan, hewan betina tidak lagi birahi dan memasuki periode luteal. Lambat laun darah yang beku diresorpsi dan proses pembentukan korpus luteum dimulai (Partodihardjo, 1992)

Pembentukan korpus luteum melalui proses luteinisasi dari sel-sel granulosa dan sel-sel teka. Semakin bertambahnya umur korpus luteum, maka bertambah pula besarnya. Pembesaran tersebut terjadi karena hipertropi dan hiperplasia sel-sel granulosa dan sel-sel teka (Partodihardjo, 1992).

Apabila tidak terjadi kebuntingan maka korpus luteum mengalami regresi yang disebabkan oleh pengaruh hormon *prostaglandin* (PGF $2\alpha$ ) yang dihasilkan oleh endometrium dari uterus. Selanjutnya pengecilan korpus luteum akan disertai dengan munculnya sel-sel tenunan pengikat lemak dan struktur semacam sel-sel hialin diantara sel-sel luteal. Hal ini dapat mempercepat regresi korpus luteum sehingga bekas tempat korpus luteum berubah menjadi jaringan parut berwarna coklat keputihan atau keputihan yang disebut korpus albikan yang dalam proses reproduksi tidak mempunyai peranan sama sekali (Partodihardjo, 1992).

Apabila terjadi kebuntingan maka korpus luteum ini dikenal dengan nama korpus luteum graviditatum yang akan mempertahankan ukuran besarnya dan berfungsi sampai saat menjelang kelahiran. Hal ini disebabkan karena korpus luteum dibawah pengaruh *Luteotropic Hormone* (LTH) yang dihasilkan oleh hipofisis anterior menghasilkan hormon progesteron yang fungsinya adalah mempersiapkan endometrium untuk implantasi dan memelihara kebuntingan serta merangsang pertumbuhan kelenjar susu untuk mempersiapkan produksi susu (Partodihardjo, 1992 dan Hafez, 2000).

## 2.5. *Growth Factor*

*Growth factor* adalah *hormone-like polypeptida* dan protein, yang bekerja secara *endocrine*, *paracrine* dan *autocrine* yang merangsang aktivitas mitogenik pada jaringan yang mengalami proliferasi seperti transformasi folikel ovarium menjadi korpus luteum. *Endocrine* adalah hormon yang dihasilkan oleh sel dan bekerja untuk seluruh sel diseluruh tubuh melalui aliran darah, *paracrine* adalah hormon yang bekerja pada sel-sel disekitar sel penghasil hormon tersebut dan *autocrine* adalah hormon yang bekerja pada sel penghasil hormon itu sendiri, sedangkan hormon dihasilkan oleh sel-sel yang tidak punya saluran (Hafez, 2000).

Berdasarkan perbedaan struktur dan aktivitas biologisnya *growth factor* diklasifikasikan menjadi : 1) *Epidermal growth factor* (EGF), 2) *Fibroblast growth factor* (FGF), 3) *Platelet-derived growth factor* (PDGF), 4) *Transforming growth factor* (TGF- $\beta$ ), 5) *Haemopoetic growth factor* (Cytokines) (Monget dan Monniaux, 1995). Sedangkan Hafez (2000), membagi *growth factor* menjadi : 1) Agen yang merangsang multiplikasi atau perkembangan dari berbagai macam sel (*nerve growth factor*, *insulin-like growth factor I*, *activin*, *inhibin* dan *epidermal growth factor*), 2) *Cytokine* yang dihasilkan oleh *macrophage* dan *lymphocyte* yang sangat penting untuk regulasi dari sistem imun, 3) *Colony stimulating factor* (CSF) yang berfungsi untuk regulasi proliferasi dan maturasi dari darah merah serta darah putih.

## 2.6. *Insulin-like Growth Factor (IGF)*

*Insulin-like growth factor (IGF)* atau somatomedin adalah *polypeptida growth factor* yang disekresikan oleh hati dan berbagai jaringan sebagai respon dari rangsangan *growth hormone* (Hafez, 2000). IGF terdiri atas *insulin-like growth factor I (IGF-I)*, *Insulin-like growth factor II (IGF-II)* dan *insulin-like growth factor binding protein (IGFBP-1, -2, -3, -4, -5, -6)* (Monget dan Monniaux, 1995).

Daerah purifikasi dua protein somatomedin yaitu protein dasar (SM-C) dan protein netral (SM-A). Tahun 1978, Rinderknecht dan Humbel mengisolasi dua somatomedin aktif tersebut dari plasma manusia dan membuktikan adanya persamaan struktur dengan proinsulin. Sesuai dengan persamaan dua protein ini maka diberi nama *Insulin-like Growth Factors* (Wilson *et al.*, 1998)

Konsentrasi steroid, IGF-I, IGF-II dan IGFBP dalam cairan folikel memperlihatkan bahwa produksi androstenedion dan estradiol meningkat pada folikel yang akan berovulasi (Stewart *et al.*, 1998). Reseptor IGF-I, IGF-II dan IGFBP-3 paling besar terdapat pada fase estrus (Gadsby *et al.*, 2000).

IGF-I dan IGF-II berfungsi untuk regulasi proliferasi dan diferensiasi dari berbagai macam sel dan mengeluarkan efek metabolik dari IGF (Hafez, 2000). Dan Spicer *et al.* (1991) mengatakan bahwa sistem IGF yang terdiri dari IGF-I dan IGF-II berperan penting dalam regulasi perkembangan folikel dominan.

Giudice *et al.*, (1990), ada dua buah IGFBP yang utama yaitu IGFBP-2 dan IGFBP-3 diidentifikasi dari cairan folikel yang diaspirasi dari folikel ovarium yang telah distimulasi oleh LH dan FSH. Sedangkan IGF-I dan IGF-II ditemukan

pada cairan folikel pada waktu pemanenan sel telur. Ini menunjukkan bahwa regulasi IGF dalam ovarium dikontrol oleh regulasi IGFBP. Dan Cataldo *et al.*, (1993), berpendapat bahwa sejak IGFBPs dipercaya mengendalikan IGF dan menghambat aksinya dalam sel granulosa, kontrol IGFBP mungkin penting dalam regulasi hormon gonadotropin dan aksi IGF dalam sel granulosa manusia. Dan IGFBP bekerja sebagai pembawa protein dan merangsang kerja IGF (Wilson *et al.*, 1998).

## **2.7. Kompleks Protein IGF-I dan IGFBP-3**

### **2.7.1. *Insulin-like Growth Factor-I (IGF-I)***

Struktur utama IGF-I terdiri dari 70 asam amino (lampiran 4) dan 60% homolog dengan proinsulin (Brzozowski *et al.*, 1998). Asam amino yang aktif yaitu Tyr-24, Phe-25, Phe-49, Cys-52, Phe-16 dan bekerja pada reseptor IGF-I atau spesifik IGFBPs (Sato A *et al.*, 2000).

Fungsi IGF-I pada sel-sel folikel adalah merangsang sel-sel reseptor tipe I pada sel-sel granulosa dan sel-sel teka (Giudice, 1992). Ekspresi reseptor tersebut pada sel-sel granulosa ditingkatkan oleh adanya estrogen dan gonadotropin. Pada sapi ekspresi reseptor IGF-I meningkat pada folikel antral kecil (Wandji *et al.*, 1992). Sedangkan Monget dan Monniaux (1995), mengatakan bahwa pada domba tidak ada perubahan konsentrasi reseptor IGF-I pada folikel yang sedang tumbuh dari ukuran diameter folikel dari 0,8 mm sampai 8,0 mm.

Banyak faktor yang menyebabkan hambatan fungsi ovarium, IGF-I mempunyai kemampuan merangsang sekresi hormon reproduksi dan pemberian

IGF-I akan menurunkan afinitas IGFBP yang berakibat menstimulasi sekresi steroid dari ovarium (Campbell *et al.*, 1993), yang mengindikasikan bahwa IGF-I dapat bekerja mempengaruhi produksi hormon dari folikel-folikel dominan yang tergantung pada gonadotropin. Efek stimulasi dari IGF-I dapat menerangkan perkembangan folikel pada sapi (Gong *et al.*, 1993).

Pada domba sama seperti pada tikus dan manusia, IGF-I merangsang proliferasi dan deferensiasi dari sel-sel granulosa folikel. IGF-I juga merangsang steroidogenesis pada sel-sel teka folikel (Giudice, 1992). Fungsi IGF-I untuk merangsang proliferasi dan deferensiasi tergantung pada tahap perkembangan folikel, mulai dari folikel yang berukuran kecil (diameter 1-5 mm) dan folikel besar (diameter >5 mm) akan merangsang sekresi progesteron (Spincer dan Chamberlain, 1999).

Hasil penelitian Zhou *et al.*, (1991), bahwa konsentrasi IGF-I yang tertinggi terjadi dalam sel granulosa dan reseptor IGF-I dalam sel granulosa diatur oleh *Pregnant Mare Serum Gonadotropin* (PMSG).

### **2.7.2. *Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3 (IGFBP-3)***

IGFBP-3 yang matang pada umumnya mempunyai berat molekul yang terbesar diantara IGFBP lainnya yaitu 40 – 46 kDa dan perbedaan analisa untuk IGFBP-3 mempunyai kemampuan untuk berikatan dengan IGF serta mampu membentuk kompleks protein. IGFBP-3 dapat membawa sekitar 75% - 80% dari total IGF dengan komposisi satu molekul IGF-I, IGFBP-3 serta ditambah satu molekul protein lagi dan disebut *acid-labile subunit* (ALS) dengan berat molekul

150 kDa. Dengan berat molekul tersebut maka sulit untuk meninggalkan sistem sirkulasi dan hal ini memperpanjang waktu hidup IGF-I, karena bila IGF-I berdiri sendiri hanya akan bertahan sekitar 10 menit maka dalam kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3 daya hidupnya akan bertahan antara 12–15 jam. Secara nyata semua IGF-I dalam serum berikatan dengan IGFBP-3 sebagai kompleks protein (Wilson *et al.*, 1998).

Monget dan Monniaux (1995), berpendapat bahwa dalam kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3 dibutuhkan pemecahan protein untuk menurunkan afinitas IGFBP-3 sehingga dapat berikatan dengan IGF-I dan dapat meningkatkan bioavailabilitas IGF-I pada membran sel.

Wandji *et al.*, (1998), menyatakan bioavailabilitas IGF-I dalam ovarium diregulasikan oleh IGFBP. Mayoritas dari IGF-I dan IGFBP-3 berikatan sebagai kompleks protein, diperkirakan IGFBP-3 mempunyai peran ganda sebagai tempat penyimpanan IGF-I yang tidak bermobilisasi dan pengontrol kerja IGF-I dengan reseptornya (Hughes *et al.*, 1997).

IGFBP-3 terdeteksi pada folikel preantral dalam sel telur dan dikelilingi jaringan stroma (Armstrong *et al.*, 2002). Sedangkan Woods *et al.*, (1996), berpendapat bahwa konsentrasi normal IGFBP-3 di dalam serum, membuktikan bahwa protein ini tergantung dari hormon pertumbuhan dan bukan dari IGF-I.

Penelitian yang lalu menunjukkan bahwa IGFBP-3 dapat menghambat IGF-I dan menyebabkan steroidogenesis serta penambahan jumlah sel granulosa dan sel teka pada sapi (Spicer dan Chamberlain, 1999). Sedangkan penelitian

terbaru yang dilakukan Spicer *et al.*, (2001), menunjukkan bahwa IGFBP-3 meningkatkan konsentrasi IGF-I dalam sel granulosa dan sel teka pada sapi.

## 2.8 Pembeding : Superovulasi menggunakan PMSG

Superovulasi adalah bertambahnya jumlah sel telur yang diovulasikan dalam satu periode siklus birahi normal dengan menggunakan hormon gonadotropin pada seekor hewan betina dewasa. Hormon *Pregnant Mare Serum Gonadotrophin* (PMSG) pertama kali ditemukan oleh Cole dan Hart pada tahun 1930 dalam serum kuda bunting. Hormon ini sering digunakan untuk superovulasi karena dapat merangsang pertumbuhan folikel untuk tumbuh lebih cepat sehingga jumlah folikel yang dihasilkan banyak, preparat ini sering digunakan dilapangan sebagai pengganti FSH (Hardjopranto, 1995).

PMSG merupakan hormon glikoprotein yang mempunyai efek menyerupai FSH dan sedikit LH, mempunyai ukuran molekul mencapai 28-30 kDa. Selain berpotensi untuk superovulasi, efek sampingnya yaitu mempunyai waktu paruh yang panjang hal ini dikarenakan PMSG mengandung asam sialat yang tinggi dimana fungsi asam sialat yaitu melindungi PMSG dari degradasi oleh hati sehingga berpengaruh terhadap waktu paruh (Hafez, 2000). Efek samping lainnya adalah terbentuknya folikel sistik yang menyebabkan infertilitas karena residu PMSG dalam darah masih potensial untuk menstimulasi pertumbuhan folikel yang terdapat di ovarium tetapi karena mengandung sedikit LH sehingga tidak mampu untuk menyebabkan terjadinya ovulasi. Folikel yang banyak



menyebabkan tingginya kadar estrogen darah sehingga akan timbul gejala birahi berkepanjangan (Amstrong *et al.*, 1982).

Kombinasi hormon yang sering digunakan salah satunya adalah kombinasi antara PMSG sebagai sumber FSH dengan hCG sebagai sumber LH (Partodihardjo, 1992). PMSG paling baik diberikan pada akhir siklus birahi atau setelah korpus luteum regresi dari ovarium. Hogan *et al.*, (1986) menyatakan bahwa dosis PMSG yang diberikan pada mencit adalah 5 IU dan kemudian diberikan hCG 5 IU dengan interval 42-48 jam biasanya akan langsung diikuti dengan ovulasi 12-18 jam kemudian.

**BAB. III**  
**MATERI DAN METODE PENELITIAN**

## **BAB III**

### **MATERI DAN METODE**

#### **3.1. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yaitu :

1. Laboratorium Invitro dan Laboratorium Fisiologi Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, untuk koleksi cairan folikel, pemeliharaan hewan coba mencit dan pemeriksaan jumlah sel telur.
2. Laboratorium Biomolekuler Fakultas Kedokteran Hewan serta *Tropical Disease Centre* Universitas Airlangga untuk identifikasi kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3 dengan *Sodium Deodecyl Sulfate Poly Acrilamid Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE).

Pelaksanaan penelitian dilakukan mulai bulan Juli sampai Desember 2003.

#### **3.2. Materi Penelitian**

##### **3.2.1. Hewan Percobaan**

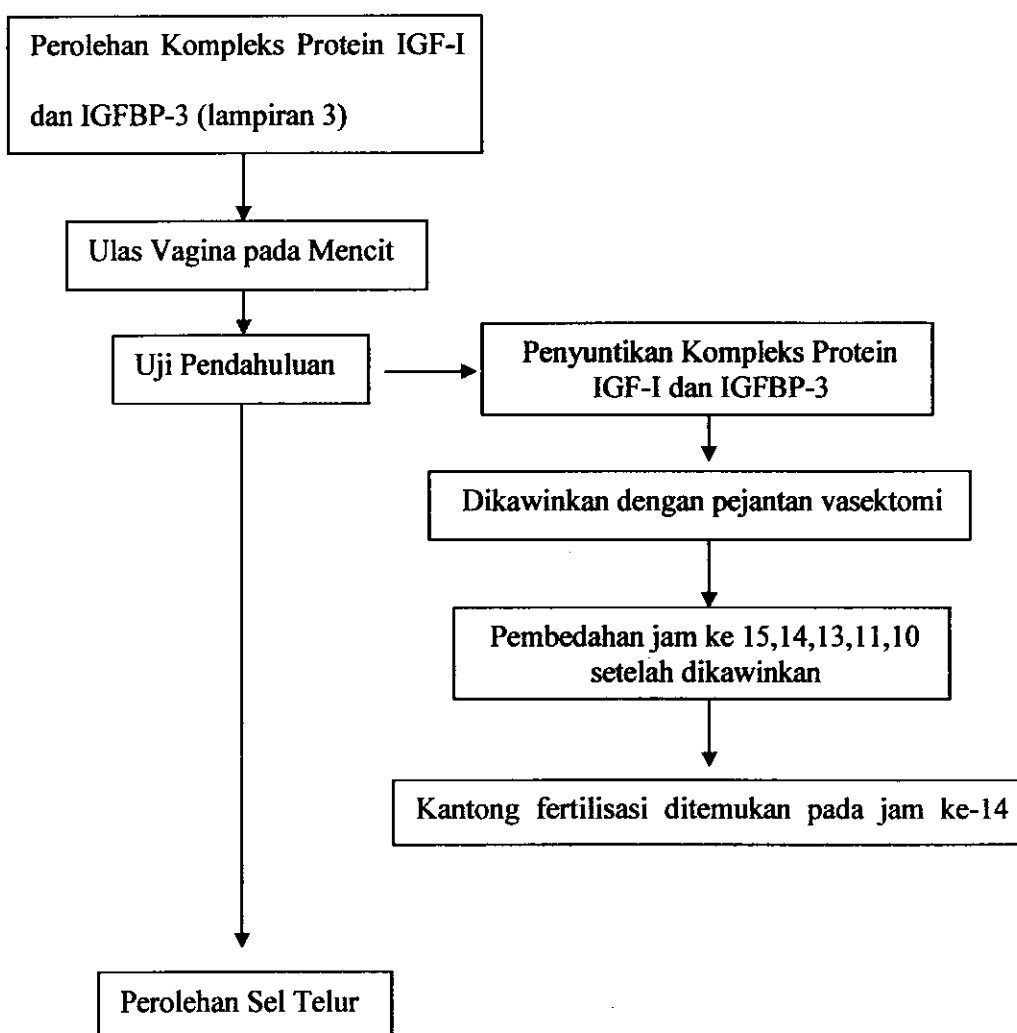
Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah 20 mencit betina strain Balb/c dewasa umur 60 hari dengan berat badan 20 gram dan 20 ekor mencit jantan yang sudah divasektomi dengan berat badan 25 gram.

### 3.2.2. Bahan Penelitian dan Alat-alat

Bahan dan peralatan yang diperlukan dalam penelitian ini meliputi media M 16, Konsentrat mencit, *disposable syringe* 1 ml, Pipet Pasteur, Cawan Petri *disposable*, Obyek glass, *Cotton bud*, Gunting biasa, *Minor Surgical* (Scalpel, pinset, arteri klem, gunting), Kandang mencit, *Miliphore*, Aquades, Alkohol, Pewarna giemsa, Air pam, mikroskop binokuler dan mikroskop *inverted*.

### 3.3. Metode Penelitian

#### 3.3.1. Uji Potensi Biologis Kompleks Protein IGF-I dan IGFBP-3 pada Mencit.



### 3.3.2. Perlakuan dengan Kompleks Protein IGF-I dan IGFBP-3

Dua puluh ekor mencit betina strain Balb/c dewasa, dikelompokkan secara acak menjadi empat perlakuan dengan masing-masing perlakuan mendapat lima ulangan, disuntik secara subkutan sebanyak 0,1 ml kemudian dikawinkan secara individu dengan pejantan vasektomi. Perlakuan yang diberikan sebagai berikut :

- P0 (kontrol) : Mencit betina disuntik NaCl fisiologis pada fase estrus.  
P1 : Mencit betina disuntik 10 ng/ml kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3 pada fase diestrus.  
P2 : Mencit betina disuntik 30 ng/ml kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3 pada fase diestrus.  
P3 : Mencit betina disuntik 50 ng/ml kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3 pada fase diestrus.

Sebelum penyuntikan kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3, dilakukan pemeriksaan ulas vagina untuk menentukan fase estrus dan fase diestrus dari mencit tersebut.

### 3.3.3. Jadwal Pelaksanaan Panen Sel Telur pada Mencit

Pemanenan sel telur dilakukan 14 jam setelah pengawinan. Mencit dikorbankan dengan cara dislokasi cervicalis lalu dibedah untuk mengambil tuba fallopii dari uterus kemudian dicuci dengan media M 16 dan diletakkan pada

cawan petri untuk dilakukan panen sel telur dengan cara merobek kantong fertilisasi dan menghitung jumlah sel telur di bawah mikroskop *inverted*.



Gambar 3. Uterus Mencit setelah Dikawinkan

### 3.4. Peubah Yang Diamati

Peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah perolehan jumlah sel telur mencit.

### 3.5. Rancangan dan Analisis Data

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan pengumpulan data dilakukan dalam lingkungan yang terkontrol dan terkendali dengan asumsi semua kondisi diusahakan sama. Data yang diperoleh dari penelitian ini yaitu berupa jumlah sel telur, dilakukan analisis sidik ragam atau *Analisis of Variant* (Anava), dilakukan uji lebih lanjut dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5% (Steel and Torrie, 1995).

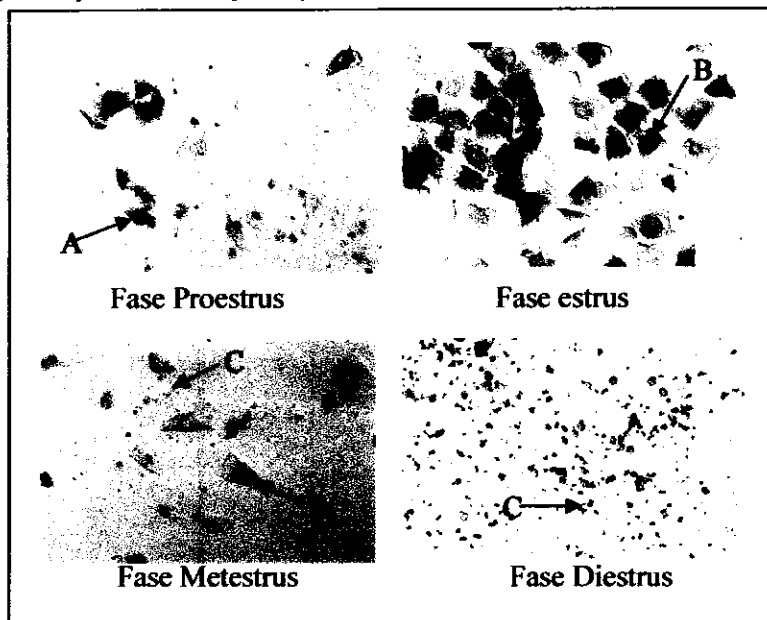
**BAB IV**  
**HASIL PENELITIAN**

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN

#### 4.1. Uji Biologis Kompleks Protein IGF-I dan IGFBP-3 pada Mencit

Kompleks protein *Insulin-like Growth Factor-I* (IGF-I) dan *Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3* (IGFBP-3) diperoleh dari aspirasi cairan folikel. Aspirasi menggunakan *disposable syringe* dan ditampung pada tabung reaksi untuk dilakukan uji selanjutnya. Sebelum penyuntikan dilakukan pemeriksaan ulas vagina seperti terlihat pada gambar 4 di bawah ini:



Gambar 4. Perubahan Sel Epitel Vagina (Pewarnaan Giemsa)

A. Sel Epitel Berinti B. Sel-sel Menanduk C. Leukosit

Hasil penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa pemberian kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3 memberi efek bila disuntik pada fase diestrus dan



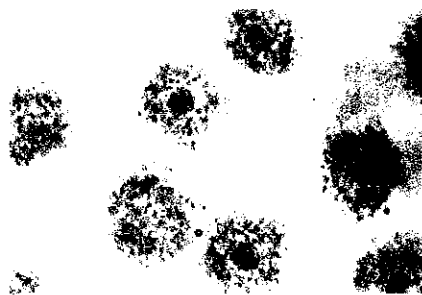
setelah 14 jam dikawinkan dengan pejantan vasektomi. Dibuktikan dengan terlihatnya kantong fertilisasi. Seperti terlihat pada gambar 5 :



Gambar 5. Kantong Fertilisasi yang Berisi Sel Telur

#### 4.2 Perolehan Sel Telur Setelah Pemberian Kompleks Protein IGF-I dan IGFBP-3 pada Fase Diestrus

Tujuan penelitian, untuk mengetahui pengaruh pemberian kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3 dalam perbaikan perolehan sel telur mencit. Pemeriksaan dan penghitungan jumlah sel telur dilakukan 14 jam setelah pengawinan mencit betina yang sudah disuntik kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3 dengan pejantan vasektomi secara individu. Sel telur dipanen dari hasil ovulasi yang masih baru seperti pada gambar 6 berikut ini :



Gambar 6. Sel Telur yang Dikelilingi Sel Granulosa

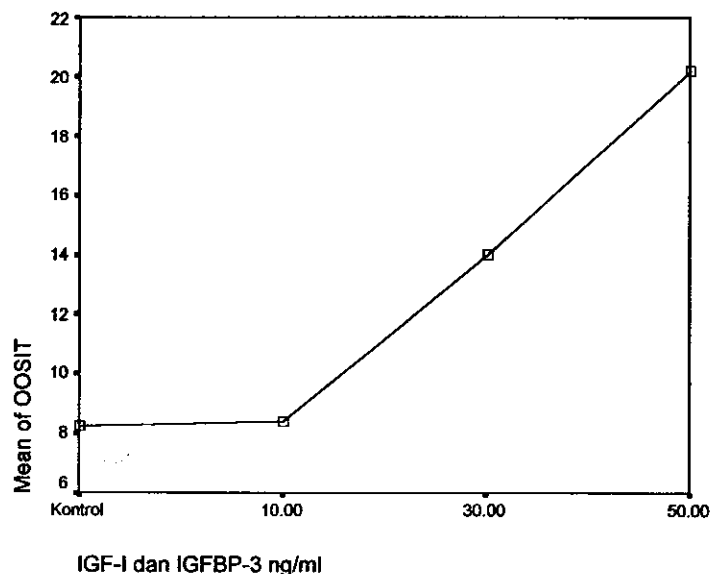
Jumlah sel telur yang diperoleh pada kelompok kontrol dan perlakuan dapat dilihat pada lampiran 2. Rataan jumlah sel telur dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1 : Rataan Perolehan Sel Telur

Perlakuan	Rentangan	Rataan Jumlah Sel Telur
Kontrol	7 – 10	8,20 ± 1,10 <sup>a</sup>
10 ng/ml	7 – 10	8,40 ± 1,14 <sup>a</sup>
30 ng/ml	12 – 17	14,00 ± 1,87 <sup>b</sup>
50 ng/ml	17 – 23	20,20 ± 2,39 <sup>c</sup>

Superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ )

Berdasarkan uji statistik Anava (lampiran 1) terdapat pengaruh yang nyata ( $p < 0,05$ ) di antara kelompok kontrol dan perlakuan. Setelah dilanjutkan dengan uji BNT 5% diperoleh bahwa yang paling baik di antara kelompok perlakuan tersebut adalah kelompok yang mendapat suntikan 50 ng/ml kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3 seperti terlihat pada tabel 1. Gambar 7 berikut adalah grafik rata-rata jumlah sel telur :



Gambar 7. Grafik Rata-rata Jumlah Sel Telur

**BAB. V**  
**PEMBAHASAN**

## BAB V

### PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan rangkaian dari penelitian sebelumnya, untuk mengisolasi kompleks protein *Insulin-like Growth Factor-I* (IGF-I) dan *Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3* (IGFBP-3) yang berpengaruh terhadap perolehan jumlah sel telur mencit. Kompleks protein ini diperoleh melalui aspirasi cairan folikel dari ovarium sapi selanjutnya dilakukan identifikasi kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3 dari cairan folikel dengan SDS-PAGE. Kemudian dilakukan penelitian dengan melihat potensi biologisnya pada mencit.

Tujuan penelitian ini, untuk mengetahui efektifitas kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3 dalam memperbaiki fertilitas ternak dengan melihat peningkatan jumlah sel telur yang diovulasikan pada mencit. Satuan ukuran pada perlakuan adalah ng/ml, satuan ini berdasarkan penelitian yang dilakukan Debbie W *et al* tahun 1996.

Perlakuan kontrol yang disuntik 0,1 ml NaCl fisiologis didapatkan jumlah sel telur dengan rata-rata  $8,20 \pm 1,10$ . Hal ini berbeda dengan perlakuan pada mencit yang diberi suntikan 30 ng/ml dan 50 ng/ml kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3, sel telur yang diovulasikan rata-rata  $14,00 \pm 1,89$  dan  $20,20 \pm 2,39$ . Ini menunjukkan pada dosis tersebut memberi pengaruh yang nyata terhadap kontrol, sehingga membuktikan bahwa kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3 mampu merangsang proses folikulogenesis yang memacu pertumbuhan folikel dan mengoptimalkan produksi hormon LH pada target organ dalam hal ini adalah sel-

sel teka dari ovarium untuk meningkatkan jumlah sel telur yang diovulasikan, sedangkan pada penyuntikan 10 ng/ml kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3 sel telur yang diovulasikan rata-rata  $8,40 \pm 1,14$  ini menunjukkan pada dosis tersebut tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap kontrol, sehingga membuktikan bahwa pengenceran tersebut kurang dapat mengoptimalkan aktivitas dari LH untuk merangsang terjadinya ovulasi.

Dosis kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3 sangat berpengaruh terhadap perolehan sel telur mencit. Pelepasan IGF-I dan IGFBP-3 dipengaruhi oleh enzim protease. Enzim protease ini akan bekerja di bawah pengaruh FSH. IGF berfungsi sebagai perangsang peningkatan aksi gonadotropin pada tingkat seluler dan menstimulasi sel-sel granulosa dan sel-sel teka dari folikel untuk berproliferasi dan berdeferensiasi (Amstrong dan Webb, 1997). Kemudian folikel akan tumbuh dan berkembang menjadi folikel masak. Pada tahap akhir dari proses maturasi, sel-sel teka dari folikel banyak mengandung reseptor LH dan folikel lebih responsif terhadap pengaruh LH sehingga terjadi ovulasi (Hafez, 2000).

Peningkatan perolehan sel telur menunjukkan bahwa IGFs dan IGFBPs mempunyai peran penting dalam bidang reproduksi antara lain oogenesis, pengembangan folikel ovarium, pemasakan sel telur serta ovulasi (Yoshimura, 2003). Sedangkan Carneiro *et al.*, (2001), IGF-I mempunyai efek positif dalam pemasakan sel telur kuda. Demikian juga hasil penelitian Oosterhuis *et al.*, (1998), bahwa IGF-I dan IGFBP-3 mempunyai peran yang penting dalam pertumbuhan folikel dan pemasakan sel telur. Peran hormon *Growth Hormone* dalam

pertumbuhan folikel hampir bisa dipastikan terjadi karena pengaruh dari IGF-I atau IGFBP-3 (Jacoba *et al.*, 1999).

IGF-I menyebabkan perkembangan folikel, produksi estradiol dan pendewasaan sel telur dengan berinteraksi pada reseptor spesifik pada membran ovarium kelinci (Yoshimura *et al.*, 1996). Dan Damri Darawiroj *et al.*, (2000), menunjukkan bahwa IGF-I mengubah kemampuan pendewasaan sel telur kucing menjadi lebih baik. Konsentrasi IGF-I yang tinggi terjadi dalam sel granulosa untuk merangsang pertumbuhan folikel, ini menunjukkan bahwa IGF-I berperan dalam pertumbuhan folikel atau pemasakan sel telur (Zhou *et al.*, 1991).

Penelitian Funston *et al.*, (1996), menunjukkan bahwa konsentrasi IGF-I atau IGFBP-3 dalam cairan folikel pada folikel yang akan mengalami ovulasi tidak mengubah terjadinya banjir LH meskipun estradiol dan androstenedion mengalami penurunan. Ketidakhadiran IGFBP kecuali IGFBP-3 dalam folikel sapi yang akan mengalami ovulasi diikuti peningkatan tersedianya IGF-I dengan tujuan untuk kepentingan pemasakan sel telur dan ovulasi.

**BAB. VI**  
**KESIMPULAN DAN SARAN**

## **BAB VI**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **6.1. Kesimpulan**

Hasil penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa penyuntikan kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3 berpengaruh terhadap perolehan jumlah sel telur yang diovulasikan dengan dosis 50 ng/ml sebagai dosis terbaik yang memberikan respon paling efektif.

#### **6.2. Saran**

Saran yang dapat disampaikan dari penelitian ini adalah :

Perlu diadakan penelitian lanjutan tentang efek penggunaan kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3 pada program perbaikan fertilisasi hewan besar untuk meningkatkan efisiensi reproduksi ternak.



# RINGKASAN

## RINGKASAN

**ANI LESTARI.** Peningkatan produktivitas ternak merupakan salah satu aspek utama dalam peternakan di Indonesia. Berdasarkan latar belakang tersebut maka pemberian kompleks protein *Insulin-like Growth Factor-I* (IGF-I) dan *Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3* (IGFBP-3) diharapkan berpengaruh terhadap perolehan jumlah sel telur mencit.

Kompleks protein *Insulin-like Growth Factor-I* (IGF-I) dan *Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3* (IGFBP-3) diperoleh dengan mengaspirasi cairan folikel, dari folikel yang berdiameter dibawah 5 mm dan diatas 5 mm. Folikel-folikel tersebut cairannya diaspirasi dengan menggunakan spuit dan ditampung pada tabung reaksi untuk dilakukan uji selanjutnya.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian kompleks protein *Insulin-like Growth Factor-I* (IGF-I) dan *Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3* (IGFBP-3) terhadap perolehan sel telur mencit. Hewan percobaan yang digunakan 20 ekor mencit betina strain Balb/C dewasa umur 60 hari yang dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan dengan setiap perlakuan mendapat 5 ulangan. Perlakuaannya sebagai berikut: P0 (kontrol): Mencit disuntik NaCl fisiologis pada fase estrus, P1: disuntik 10 ng/ml kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3, P2: disuntik 30 ng/ml kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3, P3: disuntik 50 ng/ml kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3, sebanyak 0,1 ml secara subkutan dan dikawinkan secara individu dengan pejantan vasektomi. P1, P2 dan P3 dilakukan pada fase diestrus. Panen sel telur

dilakukan 14 jam setelah dikawinkan dengan merobek kantong fertilisasi pada ampulla tuba falopii.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penyuntikan dengan dosis 10 ng/ml tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap kontrol, sedangkan penyuntikan dengan dosis 50 ng/ml memberikan respon yang paling efektif dalam meningkatkan jumlah sel telur yang diovulasikan.

Berdasarkan hasil penelitian ini disarankan untuk menggunakan kompleks protein IGF-I dan IGFBP-3 pada fase diestrus dari siklus birahi, sehingga dapat meningkatkan fertilitas ternak.

# LAMPIRAN

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonimous, 2001. Jawa Timur Dalam Angka 2001. Badan Statistik Propinsi Jawa Timur. Hal. 163
- Amstrong, D. T. 1982. *Endocrine Response and Factor Which Limit The Cattle, Sheep, Goat*. Journal Reproduction Biology. Vol 34 (9), 121-126
- Amstrong, D.G. and R. Webb. 1997. *Ovarian Follicular Dominance: The Role Of Intraovarian Growth Factors And Novel Protein*. Review of Reproduction. Vol 2, 139-146
- Amstrong, D.G., G. Baxter, C.O. Hogg, K.J. Woad. 2002. *Insulin-like growth factor (IGF) system in the oocyte and somatic cells of bovine preantral follicles*. Journal Reproduction. Vol 123, 789-797
- Bell, I. R. G. I., L. B. Rall and J. P. Merryweather. 1993. *Preproinsulin-like Growth Factor I and II*. Daily Journal. Hal: 93-1375
- Brzozowski, A.M., F. de Bree and G. Dodson. 1998. *Structural Studies on Insulin-Like Growth Factor*. Expression and Purification. Vol 13, 319-325
- Campbell, B.K., B.M. Gordon, H. Dobson and R.J. Scaramuzzi. 1993. *Insulin-Like Growth Factor Can Stimulate Oestradiol Production Both in vivo and in vitro*. Journal of Reproduction and Fertility Vol 12, 1-4
- Carneiro, G., P. Lorenzo, C. Pimentel, L. Pegoraro, M. Bertolini, B. Bali, G. Anderson and I. Liu. 2001. *Influence of Insulin-like Growth Factor-I and Its Interaction with Gonadotropins, Estradiol, and Fetal Calf Serum on In Vitro Maturation and Parthenogenic Development in Equine Oocytes*. Biology of Reproduction. Vol 65, 1-2
- Cataldo, N.A., T.K. Woodruff and L. C. Giudice. 1993. *Regulation of insuline-like growth factor binding protein production by human luteinizing granulosa cells cultured in defined medium*. Endocrine Society. Vol 76, 207-215
- Darawiroj, D., M. Jaroensuwan, Y. Kitiyanant and K. Pavasuthipaisit. 2000. *Insulin-like growth factor-I Promotes Maturation Rate of The Domestic Cat Oocytes in Vitro*. Mahidol University Annual Research. Hal : 405
- Debbie, W., H. Mason, H. Watson and S. Franks. 1996. *The Relative Potencies of Insulin-like Growth Factor (IGF)-I in Human Granulosa Cells*. Journal of Endocrinology. Vol 148, P26

- Funston, R.N., Jr.G.E. Seidel, J. Klindt and A.J. Roberts. 1996. *Insulin-like growth factor I and insuline-like growth factor-binding proteins in bovine serum and follicular fluid before and after the preovulatory surge of luteinizing hormone*. *Biology of Reproduction*. Vol 55, 1390-1396
- Gadsby, J.E., S. Wandji, F.A. Simmen, J.A. Barber and J.M. Hammond. 2000. *Porcine ovarian cells express messenger ribonucleic acids for the acid-labile subunit and insulin-like growth factor binding protein-3 during follicular and luteal phases of the estrous cycle*. *Endocrinology*. Vol 141, 2638-2647
- Giudice, L.C., E.M. Farrell, H. Pham, R.G. Rosenfeld. 1990. *Identification of Insulin-like growth factor-binding protein-3 (IGFBP-3) and IGFBP-2 in human follicular fluid*. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. Vol 71, 1330-1338
- Giudice, L.C. 1992. *Insulin-Like Growth factor and Ovarian Follicular Development*. *Endocrine Reviews*. Vol 13, 641-669
- Gong, J.G., T.A. Bramley and R. Webb. 1993. *The Effect of Recombinant Bovine Somatotrophin on Ovarian Follicular Growth and Development in Heifers*. *Journal of Reproduction and Fertility*. Vol 97, 247-254
- Hafez, E.S.E. 2000. *Reproduction in Farm Animal*. 7<sup>th</sup> Ed. Lippincott Williams & Wilkins. Hal : 48-52; 59-62; 68-80; 90-94; 196-200
- Hardjopranjoto, S. 1995. *Ilmu Kemajiran Pada Ternak*, Penerbit Lab. Ilmu Kemajiran Jurusan Reproduksi dan Kebidanan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Hal : 19 – 53
- Hogan, B., F. Constantini and E. Lacy. 1986. *Manipulating The Mouse Embryo*. Cold Spring Harbor Laboratory, USA. Vol 123, 42-51
- Hughes, S.C.C., H.D. Mason, S. Franks and J.N.T. Holly, 1997. *The Insulin-like Growth Factor in Follicular Fluid or Predominantly Bound in Ternary Complex*. *Journal Endocrinology*. Vol 155, 1-4
- Hunter, R.H.F. 1995. *Fisiologi dan Teknologi Reproduksi Hewan Betina Domestik*. Penerbit ITB Bandung, Penerbit Universitas Udayana. Hal : 1-28, 45 - 55
- Ismudiono. 1999. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. Hal : 85 – 88

- Jacoba, A. M. de Boer, Maartje van der Meer, Eduard A. van der Veen and Joop Schoemaker. 1999. *Growth Hormone (GH) Substitution in Hypogonadotropic, GH-Deficient Women Decreases the Follicle Stimulating Hormone Threshold for Monofollicular Growth*. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. Vol. 84, No. 2; 590-595
- Monget, P. and D. Monniaux. 1995. *Growth factors and the control of folliculogenesis*. Journal of Reproduction and Fertility Supplement. Vol 49, 321-333
- Oosterhuis, G.J., I. Vermes, C.B. Lambalk, H.W. Michgelsen and J. Schoemaker. 1998. *Insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF binding protein-3 concentrations in fluid from human stimulated follicles*. Human Reproduction. Oxford University Press. Vol 13, 285-289
- Partodihardjo, S. 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. Cetakan Ketiga. Jakarta. Mutiara Sumber Widya. Hal : 165 – 188
- Rochler, M.M. 1993. *Insuline-Like Growth Factor Binding Protein*. Vitamins and Hormones. Vol 47, 1-114
- Roche, J.F. 1998. *Control of Folliculogenesis*. Theriogenology Journal. Vol 49, 557-569
- Sato, A., S. Koyama, H. Yamada, S. Suzuki, M. Kobayashi, M. Niwa, T. Yasuda, Y. Kyokoku and Y. Kobayashi. 2000. *Three-dimensional solution structure of a disulfide bond isomer of the human insulin-like growth factor-I*. Journal Pept Protein Res. Vol 56 (4), 30-218
- Smith, J.B. dan Mangkoewidjojo. 1988. Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. Hal : 18 – 23
- Spicer, L.J., K.E. Tucker, K.A. Henderson and R.T. Duby. 1991. *Concentrations of Insuline-Like Growth Factor-I in Follicular Fluid and Blood Plasma of mares During Early and Late Oestrus*. Animal Reproduction Science. Vol 25, 57-65
- Spicer, L.J. and C.S. Chamberlain. 1999. *Effects of Insuline-like Growth Factor Binding Protein-3 on Bovine Ovarian Granulosa Cell Proliferation and Steroidogenesis*. Animal Science Research Report. Hal: 301-304
- Spicer, L.J. et al., 2001. *Effects of Heparin and Insulin-Like Growth Factor (IGF) Binding Protein-3 on Bovine Ovarian Granulosa and Theca Cell IGF-I Receptors*. Animal Science Research. Vol 56, 1458

- Steel, R.G.D dan J.H. Torrie. 1995. Prinsip dan Prosedur Statistika. Jakarta : Penerbit PT. Gramedia Pustaka Utama. Hal 68-205
- Stewart, R.E., L.J. Spicer, T.D. Hamilton, B.E. Keefer, L.J. Dawson, G.L. Morgan and S.E. Echtenkamp. 1998. *Levels of Insuline-Like Growth Factor (IGF) Binding Proteins, LH and IGF-I Receptors and Steroids in Dominant Follicles During The First Follicular Wave in Cattle Exhibiting Regular Estrous Cycles*. TEKTRAN, Agricultural Research Service. Hal : 1-2
- Turner, C.D. dan J.T. Bagnara. 1988. Endokrinologi Umum. Edisi ke-6, Airlangga University Press. Surabaya. Hal : 564 – 607
- Wandji, S.A., G. Pelletier and M.A. Sirard. 1992. *Ontogeny and Cellular Localization of 125I-Labeled Insuline-Like Growth Factor-I, 125I-Labeled Follicle Stimulating Hormone and 125I-Labeled Human Chorionic Gonadotropin Binding Site in Ovaries from bovine Fetuses and Neonatal Calves*. Biology of Reproduction. Vol 47, 814-822
- Wandji, S.A., Teresa L., Wood., Jennifer Crawsord., Steven W., Levison and James M., Hammond. 1998. *Expression of Mouse Ovarian Insulin-like Growth Factor System Component during Follicles Development and Atresia*. Endocrinology Vol 134, 5205-5214
- Wilson, J.D., D.W. Foster, M.K. Hendry and P.R. Larsen. 1998. Endocrine Disease. Williams Text Book of Endocrinology 9<sup>th</sup> ed. W.B. Founder Saunders Company. Hal 1437-1452
- Woods, K.A., C. Camacho-Hubner, M.O. Savage, A.J.L. Clark. 1996. *Intrauterine growth retardation and postnatal growth failure associated with deletion of the insulin-like growth factor I gene*. N Engl J Med. Vol 335, 1363-1367
- Yoshimura, Y., S. Nagamatsu, M. Ando, M. Iwashita, T. Oda, Y. Katsumata, S. Shiokawa and Y. Nakamura. 1996. *Insulin-like growth factor binding protein-3 inhibits gonadotropin-induced ovulation, oocyte maturation, and steroidogenesis in rabbit ovary*. Endocrinology. Vol 137, 438-446
- Yoshimura, Y., 2003. *Insulin-like growth factors and their binding proteins: Potential relevance to reproductive physiology*. Reproductive Medicine and Biology. Vol 2, 1445-5781
- Zhou, J., E. Chin and C. Bondy. 1991. *Cellular pattern of insuline-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-I receptor gene expression in the developing and mature ovarian follicle*. Endocrinology. Vol 129, 3281-3288



# LAMPIRAN

# LAMPIRAN

**Lampiran 1. Uji Statistik****Sidik Ragam**

## Deskriptif

## OOSIT

	Ulangan	Rata-rata	Std. Defiasi	Std. Kesalahan
Kontrol	5	8,20	1,10	,49
10 ng/ml	5	8,40	1,14	,51
30 ng/ml	5	14,00	1,87	,84
50 ng/ml	5	20,20	2,39	1,07
Total	20	12,70	5,28	1,18

## ANOVA

## OOSIT

	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	F	Sig.	F Tabel
Perlakuan	483,400	3	161,133	55,088**	,000	3,24
Sisa	46,800	16	2,925			
Total	530,200	19				

**Test Post Hoc**

## Membandingkan

Variable yang diamati: OOSIT

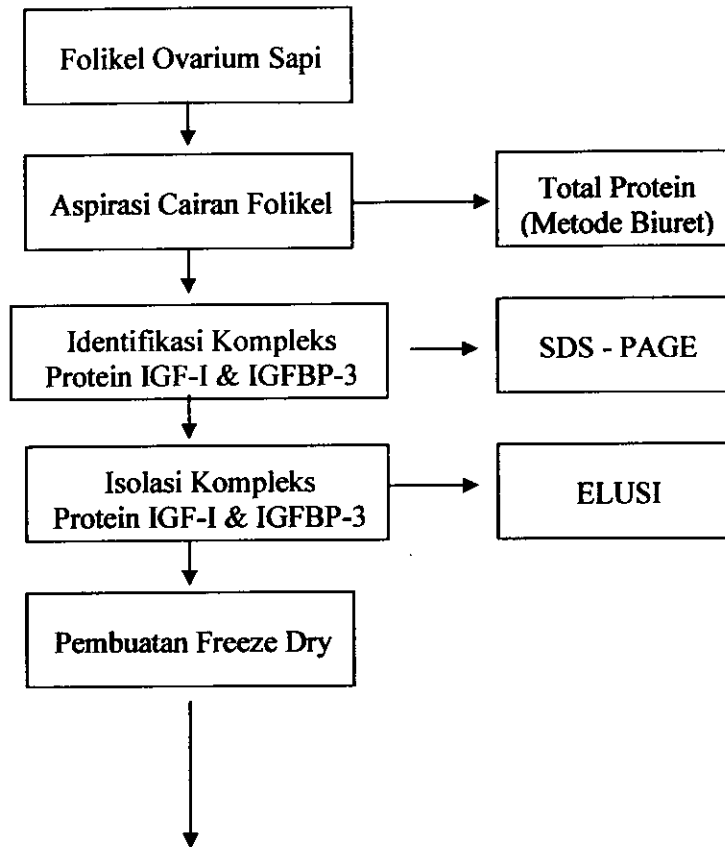
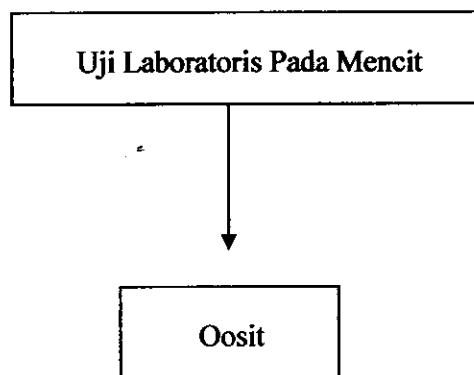
BNT 5%

(I) dosis	(J) dosis	Nilai Tengah (I-J)	Std. Kesalahan	Sig.
kontrol	10 ng/ml	-,20	1,08	,856
	30 ng/ml	-5,80*	1,08	,000
	50 ng/ml	-12,00*	1,08	,000
10 ng/ml	kontrol	,20	1,08	,856
	30 ng/ml	-5,60*	1,08	,000
	50 ng/ml	-11,80*	1,08	,000
30 ng/ml	kontrol	5,80*	1,08	,000
	10 ng/ml	5,60*	1,08	,000
	50 ng/ml	-6,20*	1,08	,000
50 ng/ml	kontrol	12,00*	1,08	,000
	10 ng/ml	11,80*	1,08	,000
	30 ng/ml	6,20*	1,08	,000

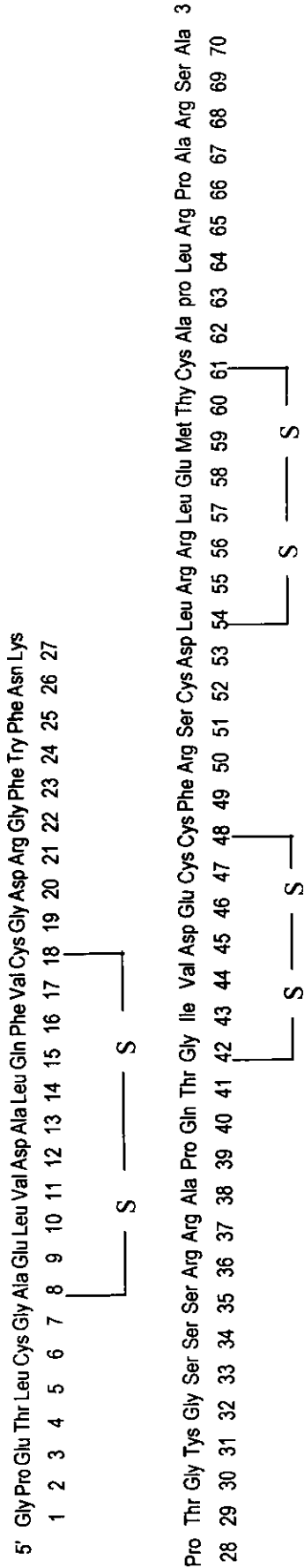
- The mean difference is significant at the .05 level.

**Lampiran 2. Jumlah Sel Telur Yang Dihasilkan Pada Masing-masing Perlakuan Setelah Pemberian Kompleks Protein IGF-I dan IGFBP -3.**

U \ P	Kontrol	10 ng/ml	30 ng/ml	50 ng/ml
1	8	7	17	19
2	7	9	14	22
3	10	8	13	17
4	8	10	12	20
5	8	8	14	23

**Lampiran 3. Kerangka Penelitian Secara Skematis Sebagai Berikut :****Tahap Pertama****Tahap Kedua, Penjelasannya  
Di BAB 3. Materi dan Metode**

**Lampiran 4 : Urutan Asam Amino IGF-I**

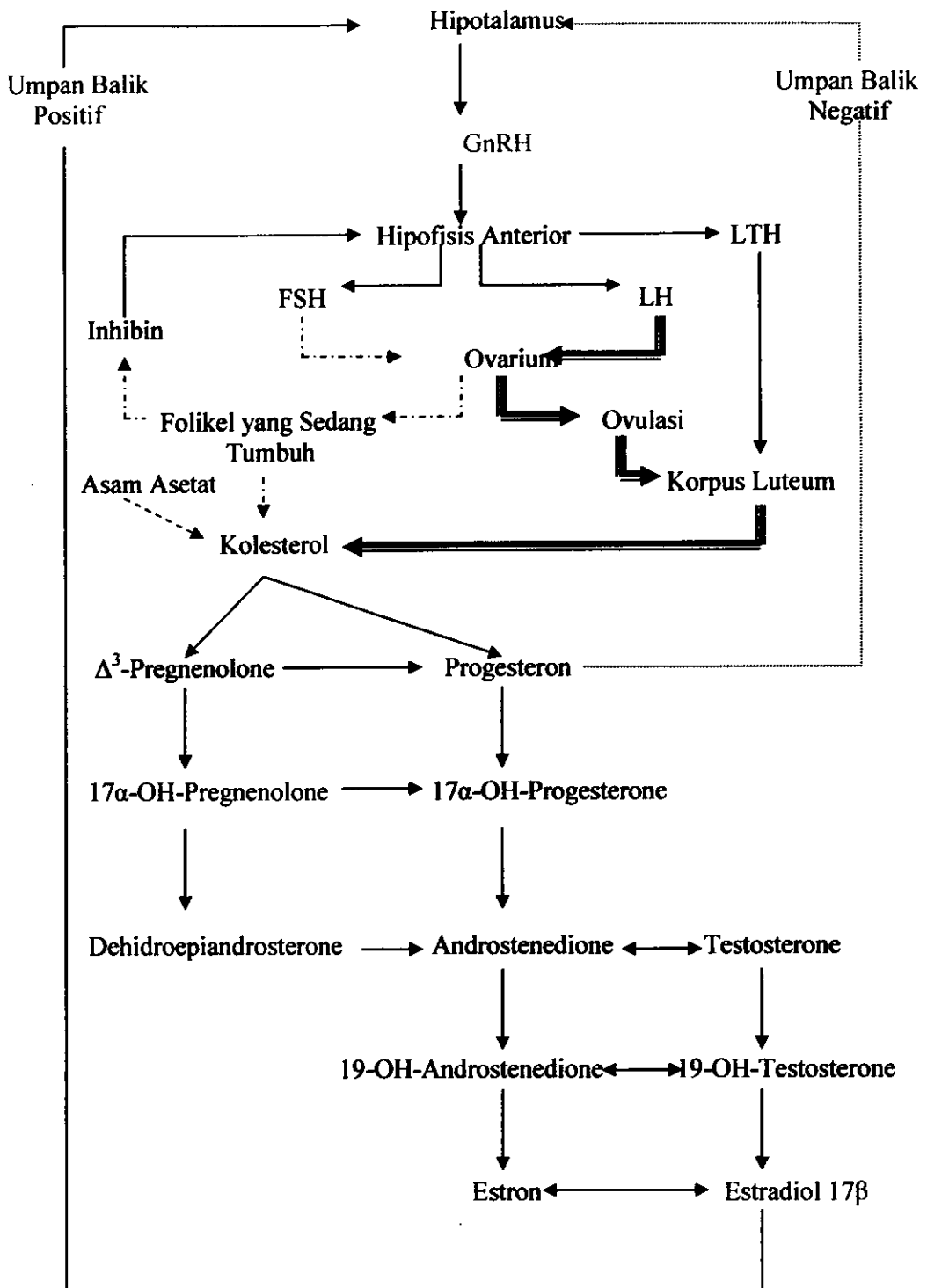


**Keterangan:**

- Ala = Alanin
- Asa = Asparagin
- Cys = Sistin
- Gln = Glutamin
- Glu = Asam Glutamat
- (Bell, I.R.G.I *et al.*, 1993, Turner dan Bagnara, 1988)

- Ser = Serin
- Tyr = Tirosin
- Thr = Treonin
- Val = Valin

**Lampiran 5 : Mekanisme Hormonal pada Mamalia**



- Umpan Balik Positif
  - .....→ Umpan Balik Negatif
  - - - - -→ Kerja FSH
  - Kerja LH
- (Partodihardjo, 1992)