

RINGKASAN

Pengaruh Lama Waktu Pemaparan Krioprotektan 1,2 Propanediol Pada Proses Vitrifikasi Oosit Sapi Terhadap Morfologi Dan Daya Hidup (Rimayanti, Widjiati, 2004, 36 halaman).

Salah satu cara penyediaan embrio yang telah banyak dilakukan adalah melalui metode *in vitro* fertilisasi dan embrio yang dihasilkan diawetan dengan metode *freezing* atau pembekuan dengan cara *slow freezing*, *rapid freezing*, dan *ultra rapid freezing*. Namun, saat ini telah dikembangkan pembekuan embrio dengan metode vitrifikasi yang lebih mudah dilakukan dan jauh lebih sederhana. Pada metode vitrifikasi, material yang akan dibekukan ditempatkan dalam media hiperosmolaritas atau krioprotektan berkonsentrasi tinggi. Setelah itu material langsung dicelupkan ke dalam nitrogen cair sehingga larutan yang beku ini seolah-olah menjadi seperti kaca.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui tingkat keberhasilan metode vitrifikasi serta mengetahui formula krioprotektan dan lama waktu pemaparan krioprotektan yang paling sesuai untuk proses vitrifikasi oosit, sehingga bermanfaat untuk kepentingan pengembangan bioteknologi di dunia peternakan dan sebagai model kriopreservasi oosit bagi program *IVF* pada manusia.

Penelitian ini menggunakan krioprotektan 40% 1,2 Propanediol + 0,3M Sukrosa (PROH+S) dan 40% 1,2 Propanediol + 0,3M Sukrosa + 6% Bovine Serum Albumin (PROH+S+BSA) sebagai medium vitrifikasi. Sebagai sampel digunakan oosit sapi hasil aspirasi oosit dari ovarium yang berasal dari RPH Pegirian Surabaya dan telah mengalami maturasi *in vitro*. Sebanyak 187 oosit hasil maturasi *in vitro* ini mendapatkan 6 perlakuan dalam 2 formula krioprotektan dengan lama waktu pemaparan 10, 20, 30 menit pada suhu ruangan. Masing-masing kelompok perlakuan ini ditempatkan ke dalam *ministraw* yang sudah dilakukan *OPS (Open Pulled Straw)*, dan langsung dicelupkan ke dalam nitrogen cair. Setelah dibekukan selama 2-4 minggu, dilakukan *thawing* atau pencairan kembali dalam penangas air 30°C, kemudian pembilasan krioprotektan 2 x dengan 0,5 M sukrosa, dan diamati di bawah mikroskop.

Variabel yang diukur adalah jumlah oosit dengan morfologi normal dan jumlah oosit hidup. Penilaian morfologis normal menggunakan mikroskop invert berdasarkan pada plasma membran yang intak, ooplasma bergranulasi homogen, zona pelusida dan ooplasma berbatas jelas. Sedangkan penilaian terhadap oosit yang hidup berdasarkan pada pengamatan di bawah mikroskop fluoresen dengan pewarnaan propidium iodide. Gambaran yang terlihat adalah bila oosit hidup, ooplasmanya tidak akan menyerap warna (putih) dan bila oosit mati, ooplasmanya berwarna merah.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata persentase oosit dengan morfologi normal setelah vitrifikasi menggunakan krioprotektan PROH+S dan PROH+S+BSA adalah $72,76 \pm 5,04$ dan $67,89 \pm 5,04$. Setelah diuji statistik, ternyata ada perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antara masing-masing krioprotektan. Demikian juga dengan perlakuan lama waktu pemaparan 10, 20, dan 30 menit, rata-rata persentase oosit morfologi normal setelah vitrifikasi $67,79 \pm 6,16$, $71,93 \pm 6,16$ dan $71,24 \pm 6,16$. Uji statistik menunjukkan bahwa antara masing-masing lama waktu pemaparan terlihat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$). Sedangkan kombinasi penggunaan krioprotektan PROH+S dan PROH+S+BSA dengan lama waktu pemaparan 10, 20, dan 30 menit juga berbeda nyata ($p > 0,05$).

Rata-rata viabilitas oosit setelah vitrifikasi, baik dengan menggunakan krioprotektan PROH+S dan PROH+S+BSA adalah $79,69 \pm 3,06$, $77,05 \pm 3,06$. Uji statistik dengan Anava menunjukkan bahwa antara masing-masing krioprotektan tersebut tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$). Demikian juga dengan lama waktu pemaparan 10, 20, maupun 30 menit sebesar $84,47 \pm 3,75$, $72,64 \pm 3,75$, $75,98 \pm 3,75$. Analisis hasil statistik memperlihatkan bahwa antara masing-masing lama waktu pemaparan menunjukkan perbedaan yang bermakna yaitu 10 menit berbeda dengan 20 dan 30 menit sedangkan 20 dan 30 menit tidak berbeda ($p < 0,05$). Sementara itu, rata-rata persentase oosit hidup setelah vitrifikasi, akibat kombinasi menggunakan krioprotektan PROH+S dan PROH+S+BSA dengan lama waktu pemaparan 10, 20, dan 30 menit tidak berbeda nyata ($p > 0,05$).

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa krioprotektan vitrifikasi propanediol ditambah Sukrosa dapat digunakan dan mempunyai kemampuan yang baik dalam menjaga viabilitas oosit pasca *thawing*. Penambahan Bovine Serum Albumin (BSA) berpengaruh terhadap morfologi oosit tetapi tidak terhadap viabilitas oosit.. Lama waktu pemaparan krioprotektan 10 menit lebih baik dari terhadap viabilitas oosit dibanding pemaparan 20, dan 30 menit, sedangkan pemaparan 20 dan 30 menit berpengaruh baik terhadap morfologi oosit pasca *thawing* dibandingkan pemaparan 10 menit. Kombinasi macam krioprotektan PROH+S dan PROH+S+BSA dengan lama waktu pemaparan krioprotektan 10, 20, dan 30 menit pada proses vitrifikasi oosit berpengaruh terhadap morfologi oosit pasca *thawing* tetapi tidak terhadap viabilitas oosit.

(Dana Dik Rutin Universitas Airlangga Tahun 2004, Nomor S.K.Rektor :
890/JO3.2/PG/2004, Tanggal 12 Juli 2004)