

RINGKASAN

Bioteknologi reproduksi merupakan upaya memanfaatkan teknik reproduksi terhadap organisme hidup agar organisme tersebut melakukan proses reproduksi seperti yang diinginkan (Widjiati dkk., 2011). Teknologi tersebut antara lain adalah Inseminasi Buatan (IB) yang telah dikenal masyarakat dan sudah membuahkan hasil serta Transfer Embrio (TE) yang saat ini masih dikembangkan.

Hal yang dibutuhkan pada teknik IVF adalah terciptanya lingkungan *in vitro* yang menyerupai lingkungan asalnya di dalam tubuh (Dianti dkk., 2011). Keadaan tersebut dapat diciptakan dengan menambahkan hormon, *growth factor* dan serum kedalam medium pematangan maupun medium kultur. Umumnya medium maturasi disuplementasi dengan hormon gondotropin seperti Folikel Stimulating Hormon (FSH), Luteinizing Hormon (LH) dan estradiol 17 β (Ongeri *et al.*, 2001; Cogie *et al.*, 2003; Jimenez Macedo *et al.* 2007). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui persentase maturasi oosit secara *in vitro* pada media TCM-199 dengan suplementasi estradiol 17 β .

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratoris dengan asumsi populasi sama dan memiliki kriteria yang homogen serta karakteristik sama. Semua kelompok penelitian berasal dari satu populasi dan objek yang diteliti adalah oosit pada ovarium sapi yang berasal dari RPH. Ovarium yang sudah terpisah dicuci dengan *Phosphate Buffered Saline* (PBS) hangat dengan suhu 39°C. Oosit diaspirasi dari folikel yang mempunyai ukuran 2-8 mm dengan menggunakan syringe 10 ml dan jarum 18 *gauge* yang berisi media *dissection*.

Cairan hasil aspirasi didiamkan selama 5-10 menit. Cairan hasil aspirasi di bagian atas tabung diambil hingga hampir habis tersisa sedikit di atas endapan di dasar tabung, sisa cairan dalam tabung dituang pada *petri dish* 100 mm yang sudah diberi garis bantu. Dengan menggunakan mikroskop *dissecting* dengan perbesaran 120-240x, dilakukan seleksi *cumulus oocyte complexes* (COCs) yang mempunyai sitoplasma homogen serta masih mempunyai minimal 3 lapis sel cumulus padat. Hasil seleksi dipindahkan ke media *dissection* dalam petri dish 60 mm, lalu diseleksi kembali dan COC dipindahkan ke media *dissection* pada *petri dish* 35 mm.

Cumulus oocyte complexes (COCs) yang sudah diseleksi dari media *dissection* dimasukkan ke dalam tetes media maturasi. Media yang digunakan adalah media TCM-199 yang ditambah PMSG 0,15 IU/ml, HCG 0,15 IU/ml dan FBS (konsentrasi akhir 10%). Setiap *petridish* berisi tiga drop media maturasi (300 µl/drop) yang dilapisi *mineral oil* kemudian diinkubasi pada inkubator CO₂ 5%, kelembaban maksimal, suhu 39°C.

Perhitungan persentase oosit matur berdasarkan fase *metaphase II* dapat dilakukan dengan pewarnaan aceto-orcein. Setelah 20 jam maturasi *in vitro*, sel kumulus yang mengelilingi oosit dihilangkan dengan cara dipipet berulang-ulang menggunakan pipet dalam medium yang mengandung hyaluronidase 100 IU. Oosit yang telah bebas dari sel kumulus diletakkan di *object glass*, lalu di tutup dengan *cover glass* yang di lapisi campuran yang memiliki bantalan paraffin dan vaselin (1:9) di keempat sudutnya, *object glass* tersebut dimasukkan dalam larutan fiksasi yang mengandung asam asetat-metanol dengan perbandingan 1:3 selama

24 jam. Kemudian, diwarnai dengan aceto-orcein 1% selama 10 menit dan dibersihkan dengan aceto-glycerol. Selanjutnya keempat sisi *cover glass* diberi kuteks bening untuk selanjutnya dilakukan pengamatan dengan menggunakan *inverted microscope*.

Data yang telah didapatkan dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) untuk mengetahui terdapatnya signifikansi perbedaan rata-rata dari perlakuan yang diberikan. Berdasarkan data rata-rata persentase kematangan oosit pada tabel 4.1, diketahui bahwa pemberian estradiol 17 β terhadap persentase kematangan oosit sapi tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($p>0,05$).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa suplementasi estradiol 17 β tidak berpengaruh terhadap persentase maturasi oosit secara *in vitro* pada media TCM-199.

**THE EFFECT OF *ESTRADIOL 17 β* SUPPLEMENTATION TO IN VITRO
MATURATION PERSENTATION OF CATTLE OOCYTES**

Umi Mufida

ABSTRACT

This study aimed to determine the percentage of in vitro oocyte maturation on TCM – 199 media with estradiol 17 β supplementation. Cumulus oocyte complexes (COCs) that had been selected from the dissection media were added into the maturation media. The media was using TCM-19 which were added 0,15 IU/ml PMSG, 0,15 IU/ml HCG, FBS and estradiol 17 β . Each petridish contained three drops of maturation media (300 μ l/drops) which were coated with mineral oil and then incubated in a 5% CO₂ incubator, with maximum humidity and temperature of 39°C. Control (P0) was oocyte maturation without supplementation with the hormone estradiol 17 β supplementation 1 μ g/ml. Treatment 1 (P1) was oocyte maturation with 1 μ g/ml of estradiol 17 β supplementation. Treatment 2 (P2) was oocyte maturation with 2 μ g/ml of estradiol 17 β supplementation. The calculation of mature oocyte percentage was using aceto-orcein staining. The data analyzed using ANOVA, the result showed that there were no significant differences in control (P0) 50.63%, in treatment 2 (P2) 54.07%, and in treatment 3 (P3) 48.60%. Based on the result, it can be concluded that estradiol 17 β supplementation to the maturation level of cattle oocytes showed did not effect the percentage of in vitro oocyte maturation.

Key words: *In vitro maturation, Bovine oocytes, Estradiol 17 β*