

**PENGARUH PENAMBAHAN ENZIM  $\alpha$  SERINE PROTEASE (AKROSIN)  
TERHADAP PEROLEHAN EMBRIO Domba EKOR GEMUK (EG)  
PADA FERTILISASI IN-VITRO**

Budi Utomo  
NID N0016055904

Mas'ud Hariadi  
NIDN 0005025103



Perkembangan populasi ternak di Indonesia belum mencapai keadaan yang menggembirakan, bahkan di Jawa Timur pada tahun 2007 terjadi penurunan populasi beberapa jenis ternak yaitu domba sebesar 3,24% dan sapi yang lain mengalami kenaikan yang masih jauh dari harapan. (Anonimous, 2007). Pemerintah melalui program inseminasi buatan berusaha mengatasi penurunan populasi ternak domba tersebut. Namun demikian sejauh ini usaha pemerintah tersebut belum membuahkan hasil yang optimal.

Salah satu faktor utama penyebab turunnya populasi ternak domba tersebut adalah adanya gangguan reproduksi, terutama gangguan fertilisasi yaitu gagalnya sel sperma untuk menembus sel telur. Kegagalan penetrasi sperma ke dalam sel telur, disebabkan oleh berkurangnya potensi enzim yang ada pada spermatozoa tersebut, khususnya enzim akrosin yang berfungsi dalam penetrasi zona pelusida pada sel telur. Di Indonesia penelitian tentang fungsi akrosin dalam fertilisasi, khususnya penetrasi pada zona pelusida sel telur belum pernah dilaporkan.

Tujuan jangka pendek yang akan dicapai dalam penelitian ini adalah mengetahui peran akrosin terhadap potensi dan kualitas spermatozoa serta peran akrosin terhadap penetrasi zona pelusida. Sedangkan tujuan jangka panjang yang akan dicapai dalam penelitian ini adalah penyediaan protein spesifik berupa akrosin untuk perbaikan fertilitas ternak khususnya domba.

Penelitian tahun kedua suplementasi akrosin sperma domba EG dosis 0, 3,0; 4,5 dan 6,0  $\mu$ g terhadap penetrasi zona pelusida. Hasilnya yaitu: suplementasi akrosin 3,0  $\mu$ g selama inkubasi 30 menit sudah cukup untuk membelah sel (cleavage).

**Metode Penelitian**

**Aspirasi Oosit dan Pengamatannya**

**Prosedur Aspirasi Oosit**

Cairan aspirasi dengan isinya dituang dari tabung reaksi ke dalam cawan petri diameter 90 mm. Kemudian disiapkan cawan petri kecil berdiameter 35 mm yang berisi media OWS untuk pencucian oosit, setelah itu oosit diambil dengan pipet Pasteur yang diameternya lebih besar sedikit dibandingkan dengan diameter oosit (hati-hati agar sel kumulus tidak rusak). Oosit dimasukkan ke dalam cawan petri berisi media OWS dan dicuci sebanyak 2-3 kali, selanjutnya diperiksa di bawah mikroskop untuk membuat klasifikasi. Hanya oosit berkumulus yang ditanam dalam TCM.

**Pematangan Oosit In-Vitro**

Semua oosit terlebih dahulu dicuci sebanyak 2-3 kali dalam cawan petri yang berisi TCM, sebanyak 2,5-3 ml. Kemudian dipindahkan ke dalam medium maturasi (pematangan) TCM, yang ditambah serum 10%. Mula-mula 80 oosit dimasukkan ke dalam medium tetes 500  $\mu$ l, kemudian medium diisi tetes 100  $\mu$ l masing-masing sebanyak 20-25 oosit dan diinkubasi dalam inkubator 5% CO<sub>2</sub>, kelembaban 95-100%, suhu 38°C selama 24 jam.

**Pencucian Oosit**

Oosit yang sudah diinkubasi selama 20-24 jam dikeluarkan dari inkubator CO<sub>2</sub>, kemudian dilakukan pencucian sekitar 20 menit sebelum fertilisasi. Untuk mencuci oosit setelah maturasi digunakan larutan OWS (Oocyte Washing Solution). Tiap kelompok (20-25 oosit) dicuci sebanyak 2-3 kali, kemudian dihitung jumlah oositnya yang mature (matang).

**Fertilisasi In Vitro pada Media TCM**

Prosesnya berlangsung sama seperti inseminasi, namun yang dimasukkan adalah sel oositnya. Pertama-tama tetes spermatozoa yang telah mengalami kapasitasi 1 jam pada media TCM, dikeluarkan dari inkubator CO<sub>2</sub>. Kemudian ke dalam tetes spermatozoa yang sudah disuplementasi akrosin dosis 0, 3,0; 4,5 dan 6,0  $\mu$ g dimasukkan sebanyak 20-25 oosit tiap tetesnya dan diinkubasi ke dalam inkubator CO<sub>2</sub> selama 24 jam pada suhu 38,5°C.

**Hasil Penelitian**

**1. Hasil maturasi oosit domba selama 24 jam pada inkubator CO<sub>2</sub>**

Dari 2 kali aspirasi pada folikel ovarium domba sebanyak 78 ovarium didapatkan 76 oosit yang siap untuk dimaturnasi selama 24 jam pada inkubator CO<sub>2</sub>. Hasil dari maturasi tersebut dapat dilihat pada tabel 5.10, di bawah ini

**Tabel 1.1. rerata persentase keberhasilan maturasi oosit domba**

Maturasi	Jumlah oosit yang dimaturnasi	Hasil maturasi oosit	Persentase Maturasi	X <sup>2</sup>
Maturasi 1	40	27	67,50	X <sup>2</sup> : 0.099 B : 0.922
Maturasi 2	38	25	65,79	
Maturasi 3	35	23	65,71	
Maturasi 4	32	21	65,62	
<b>Jumlah</b>	<b>145</b>	<b>96</b>	<b>rerata 66,16</b>	

**Tabel 1.2. Rerata persentase cleavage (pembelahan sel) hasil fertilisasi in vitro setelah suplementasi akrosin**

Perlakuan	Jumlah Oosit yg di Fertilisasi in-vitro	Hasil Fertilisasi in-vitro	Persentase Fertili-sasi in-vitro	X <sup>2</sup>
Kontrol	27	11	40,74	X <sup>2</sup> : 23.429 P : 0.000
Perlakuan 3,0 $\mu$ g	25	15	60,00	
Perlakuan 4,5 $\mu$ g	23	14	60,87	
Perlakuan 6,0 $\mu$ g	21	0	0	
<b>Jumlah</b>	<b>96</b>	<b>40</b>		



**Keterangan**  
 A. Hasil fertilisasi in vitro tanpa suplementasi akrosin  
 B. Hasil fertilisasi in vitro dengan suplementasi akrosin 3,0  $\mu$ g  
 C. Hasil fertilisasi in vitro dengan suplementasi akrosin 4,5  $\mu$ g  
 D. Hasil fertilisasi in vitro dengan suplementasi akrosin 6,0  $\mu$ g



**Gambar 4.4. Hasil Fertilisasi In Vitro Pada Oosit Domba EG Dengan Suplementasi Akrosin**

**kesimpulan**

Suplementasi akrosin dosis 3,0 dan 4,5  $\mu$ g dengan lama inkubasi 30 menit dapat digunakan untuk meningkatkan potensi biologis spermatozoa domba EG hingga dapat dipakai untuk fertilisasi in-vitro pada domba EG.



**LEMBAGA PENELITIAN DAN  
PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT  
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

# *Sertifikat*

Nomor : 2228/UN3.14/LT/2014  
diberikan kepada :

**Dr. Budi Utomo, M.Si., drh.**

atas partisipasinya sebagai :

**PRESENTER POSTER**

Seminar Presentasi Poster Hasil Penelitian, 19 Desember 2014  
pada kegiatan Research Expo as Inspiring Airlangga 2014  
dalam rangka memperingati Dies Natalis ke-60 Universitas Airlangga

Ketua LPPM  
Universitas Airlangga,

Ketua Pelaksana  
RESEARCH EXPO 2014,



Prof. Dr. Djoko Agus Purwanto, Mst., Apt.  
NIP. 195908051987011001

Prof. Dr. Sukardiman, Apt., MS.  
NIP. 196601061988101001