

TESIS

**PENGARUH SUPLEMENTASI UREA PADA MEDIA
MATURASI *IN VITRO* OOSIT SAPI TERHADAP
EKSPRESI *Bax* DAN *Bcl-2* SERTA
RASIO *Bax/Bcl-2***

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



Oleh

DHESY KARTIKASARI
NIM. 061614153002

**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU BIOLOGI REPRODUKSI VETERINER
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

TESIS

**PENGARUH SUPLEMENTASI UREA PADA MEDIA
MATURASI *IN VITRO* OOSIT SAPI TERHADAP
EKSPRESI *Bax* DAN *Bcl-2* SERTA
RASIO *Bax/Bcl-2***

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



Oleh

DHESY KARTIKASARI
NIM. 061614153002

**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU BIOLOGI REPRODUKSI VETERINER
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

**PENGARUH SUPLEMENTASI UREA PADA MEDIA
MATURASI *IN VITRO* OOSIT SAPI TERHADAP
EKSPRESI *Bax* DAN *Bcl-2* SERTA
Rasio *Bax/Bcl-2***

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

TESIS

**untuk memperoleh gelar Magister
dalam Program Studi Ilmu Biologi Reproduksi Veteriner
pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
Surabaya**

DHESY KARTIKASARI

NIM. 061614153002

**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU BIOLOGI REPRODUKSI VETERINER
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam tesis berjudul :

**SUPLEMENTASI UREA PADA MEDIA MATURASI *IN VITRO* OOSIT
SAPI TERHADAP EKSPRESI *Bax*, *Bcl-2* DAN RASIO *Bax/Bcl-2***

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar Magister di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 28 Januari 2020



DHESY KARTIKASARI
NIM. 061614153002

Lembar Pengesahan

TESIS INI TELAH DISETUJUI
Tanggal, 23 Januari 2020

Oleh:

Pembimbing Ketua



Dr. Sri Mulyati, drh., M.Kes.

NIP. 196106111988032001

Pembimbing



Prof. Dr. Pudji Sianto, drh., M.Kes.

NIP. 195601051986011001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Ilmu Biologi Reproduksi
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga



Dr. Rimayanti, drh., M.Kes.

NIP. 196303121988032003

Usulan penelitian tesis ini telah diuji dan dinilai pada

Tanggal 27 Juni 2019

PANITIA PENGUJI USULAN TESIS

Ketua : Dr. Sri Mulyati, M.Kes., drh

Anggota : 1. Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes.

2. Dr. Hani Plumeriastuti, M.Kes., drh

3. Suzanita Utama M.Phil., Ph.D., drh

4. Prof. Dr. Widjiati, drh., M.Si.

Tesis ini telah diuji dan dinilai pada

Tanggal: 23 Januari 2020

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Suzanita Utama M.Phil., Ph.D., drh

Anggota : 1. Prof. Dr. Widjiati, drh., M. Si.
2. Dr. Hani Plumeriastuti, M.Kes., drh
3. Dr. Sri Mulyati, M.Kes., drh
4. Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes.

Surabaya, 28 Januari 2020
Program Studi Ilmu Biologi Reproduksi
Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., M. Kes.
NIP : 195601051986011001

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur Kehadirat Allah SWT atas karunia yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan tesis dengan judul **Pengaruh Suplementasi Urea pada Media Maturasi *In Vitro* Oosit Sapi terhadap Ekspresi *Bax* dan *Bcl-2* serta Rasio *Bax/Bcl-2*.**

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes., dan Ketua Program Studi Magister Ilmu Biologi Reproduksi Dr. Rimayanti, drh., M.Kes., atas kesempatan mengikuti pendidikan di Program Studi Magister Ilmu Biologi Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Dr. Sri Mulyati, drh., M.Kes., selaku pembimbing pertama dan Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes., selaku pembimbing serta, atas saran dan bimbingannya. Suzanita Utama M.Phil., Ph.D., drh selaku dosen penelitian dan ketua penguji, Prof. Dr. Widjiati, drh., M.Si. selaku sekretaris penguji, Dr. Hani Plumeriastuti, M.Kes., drh selaku anggota penguji.

Ibunda Suratin dan ayahanda Suwanto yang telah memberikan bantuan berupa materiil, doa, dorongan, bimbingan, pengorbanan, semangat, kasih sayang bagi penulis dari kecil sampai saat ini yang tak terhingga serta senantiasa memberikan motivasi bagi penulis dan suami Gembong Surya S.M yang selalu memberikan dukungan, motivasi, kasih sayang serta anak Hanum Alesha Mahira yang selalu memberi semangat dan kebahagiaan. Teman-teman penelitian seperjuangan Mas Dodit, Vivi dan Fifi yang selalu memberikan semangat,

motivasi, bantuan tenaga dan pikiran yang telah banyak membantu selama proses penyelesaian tesis ini.

Dr. Soeharsono, M.Si., drh yang selalu sabar membimbing untuk pengolahan data statistik dan teman-teman Martia Rani Tacharina, drh., M.Si. ; Nurul Azizah, drh. M.Si. ; Enggar, drh. ; Sara kartika, S.Kh., teman-teman S2 IBR yang selalu memberikan motivasi dan masih banyak yang tidak bisa disebutkan satu per satu yang telah membantu penyelesaian tesis ini.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan, sehingga kritik dan saran demi perbaikan sangat diharapkan. Akhir kata, semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi pembaca pada umumnya dan memberi sumbangsih bagi perkembangan ilmu pengetahuan di bidang kedokteran hewan.

Surabaya, 28 Januari 2020

Penulis

RINGKASAN

PENGARUH SUPLEMENTASI UREA PADA MEDIA MATURASI *IN VITRO* OOSIT SAPI TERHADAP EKSPRESI *Bax* DAN *Bcl-2* SERTA RASIO *Bax/Bcl-2*

Manajemen nutrisi merupakan hal yang penting dalam pengelolaan peternakan sapi perah. Pakan dengan protein tinggi dapat menstimulasi produksi susu. Peternak sapi perah pada umumnya meningkatkan produksi susu dengan menaikkan asupan protein pada pemberian pakan, namun ternyata hal tersebut dapat mengganggu sistem reproduksinya. Kadar protein yang tinggi dalam pakan dapat mengurangi tingkat konsepsi pada hewan yang memiliki konsentrasi serum urea nitrogen lebih dari 20 mg/dl. Urea bersifat toksik dan dapat merusak membran sel oosit. Kondisi stress sebagaimana kerusakan DNA sel yang disebabkan senyawa toksik dapat menginduksi sel untuk memulai proses apoptosis.

Penelitian ini bertujuan untuk melihat ekspresi *Bax*, *Bcl-2* dan rasio *Bax/Bcl-2* pada oosit yang disuplementasi dengan urea pada media maturasi *in vitro* sejumlah 263 oosit yang didapatkan dari ovarium sapi yang diambil dari rumah potong hewan dan data yang diambil sesuai kriteria yang ditentukan. Data dikelompokkan menjadi 3 kelompok yang terdiri dari kelompok kontrol (P0), perlakuan 1 dengan penambahan urea 20 mg/dl (P1) dan perlakuan 2 dengan penambahan urea 40 mg/dl (P2). Hasil maturasi oosit *in vitro* dilanjutkan dengan identifikasi oosit dengan pewarnaan imunositokimia dengan penambahan antibodi *Bax* dan *Bcl-2*. Selanjutnya data ekspresi *Bax* dan *Bcl-2* dianalisis statistik menggunakan Uji Kruskal Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney, kemudian mean \pm SD dari ekspresi *Bax* dan *Bcl-2* dirasioakan menjadi rasio *Bax/Bcl-2*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa data ekspresi *Bax* masing-masing kelompok penelitian adalah (P0) sebesar $22,31 \pm 21,15$, (P1) sebesar $42,31 \pm 12,33$ dan (P2) $56,66 \pm 25,17$. Data ekspresi *Bcl-2* masing-masing adalah (P0) sebesar $27,5 \pm 32,21$, (P1) sebesar $52,85 \pm 31,94$ dan (P2) sebesar $89,58 \pm 16,61$. Sedangkan rasio *Bax/Bcl-2* masing-masing kelompok penelitian adalah (P0) sebesar $0,81 \pm 0,66$, (P1) sebesar $0,81 \pm 0,38$ dan (P2) sebesar $0,63 \pm 1,51$.

Berdasarkan hasil analisis statistik menunjukkan bahwa ekspresi *Bax* antara kelompok kontrol (P0) dibandingkan dengan kelompok perlakuan (P1) tidak terdapat perbedaan yang signifikan (\bar{p} 0,05). Demikian pula antara kelompok perlakuan (P1) dengan kelompok perlakuan (P2) juga tidak terdapat perbedaan yang signifikan (\bar{p} 0,05), sedangkan antara kelompok kontrol (P0) dengan kelompok P2 terdapat perbedaan yang signifikan (\bar{P} 0,05). Hasil analisis statistik ekspresi *Bcl-2* menunjukkan bahwa antara kelompok kontrol (P0) dengan kelompok perlakuan (P1) tidak terdapat perbedaan yang signifikan (\bar{p} 0,05), sedangkan antara kelompok (P0) dan kelompok (P1) dibandingkan dengan kelompok P2 terdapat perbedaan yang signifikan (\bar{p} 0,05). Hasil analisis statistik rasio *Bax/Bcl-2* antara kelompok (P0) dengan kelompok (P1) tidak terdapat

perbedaan yang signifikan (\bar{p} 0,05), sedangkan antara kelompok (P0) dan (P1) dibandingkan dengan kelompok (P2) terdapat perbedaan yang signifikan (\bar{p} 0,05).

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa suplementasi urea 40 mg/dl pada media maturasi in vitro oosit sapi dapat meningkatkan ekspresi *Bax* dan *Bcl-2*. Sedangkan suplementasi urea 40 mg/dl dapat menurunkan ekspresi rasio *Bax/Bcl-2*. Hal ini membuktikan bahwa tidak ada pengaruh suplementasi urea terhadap rasio *Bax/Bcl-2*.

SUMMARY

**EFFECT OF UREA SUPPLEMENTATION IN IN VITRO MATURATION
MEDIA BOVINE OOCYTE TO Bax AND Bcl-2 EXPRESSION
ALONG WITH Bax/Bcl-2 RATIO**

Nutrition management is important in managing dairy farming. High protein food can stimulate milk production. Dairy farmers generally increase milk production by increasing protein intake in feeding, but in fact it can disrupt the reproductive system. High protein levels in feed can reduce the level of conception in animals that have serum urea nitrogen concentrations of more than 20 mg / dl. Urea is toxic and can damage the oocyte cell membrane. Stress conditions such as damage to cell DNA caused by toxic compounds can induce cells to begin the process of apoptosis.

This study aims to look the expression of Bax, Bcl-2 and Bax / Bcl-2 ratio in oocytes supplemented with urea on in vitro maturation media as many as 263 oocytes obtained from cow ovaries taken from abattoirs and data taken according to the criteria specified determined. Data were grouped into 3 groups consisting of a control group (P0), treatment 1 with the addition of urea 20 mg / dl (P1) and treatment 2 with the addition of urea 40 mg / dl (P2). The results of oocyte maturation in vitro continued with oocyte identification by immunocytochemical staining with the addition of Bax and Bcl-2 antibodies. Furthermore, the Bax and Bcl-2 expression data were analyzed statistically using the Kruskal Wallis Test and continued with the Mann-Whitney test, then the mean \pm SD of the Bax and Bcl-2 expressions was sorted into the Bax / Bcl-2 ratio.

The results showed that the Bax expression data of each study group was (P0) of 22.31 ± 21.15 , (P1) of 42.31 ± 12.33 and (P2) 56.66 ± 25.17 . The expression data of Bcl-2 were (P0) 27.5 ± 32.21 , (P1) 52.85 ± 31.94 and (P2) 89.58 ± 16.61 . While the Bax / Bcl-2 ratio of each study group was (P0) 0.81 ± 0.66 , (P1), 0.81 ± 0.38 and (P2) 0.63 ± 1.51 .

Based on the results of statistical analysis showed that Bax expression between the control group (P0) compared with the treatment group (P1) there was no significant difference ($\bar{p} > 0.05$). Likewise, there was no significant difference between the treatment group (P1) and treatment group (P2) ($\bar{p} > 0.05$) but between the control group (P0) and treatment group (P2) there was significant difference ($\bar{p} < 0.05$). The results of the statistical analysis of Bcl-2 expression showed that between the control group (P0) and the treatment group (P1) there were no significant differences ($\bar{p} > 0.05$), whereas between the group (P0) and group (P1) compared to the P2 group there significant difference ($\bar{p} < 0.05$). The results of the statistical analysis of the Bax / Bcl-2 ratio between groups (P0) and groups (P1) there were no significant differences ($\bar{p} > 0.05$), whereas between groups (P0) and (P1) compared to groups (P2) there were differences significant ($\bar{p} < 0.05$).

From the results of the study it can be concluded that urea supplementation of 40 mg / dl on in vitro maturation media of bovine oocytes can increase the expression of Bax and Bcl-2. While urea supplementation of 40 mg /

dl can reduce the expression of the Bax / Bcl-2 ratio. This proves that there is no effect of urea supplementation on the Bax / Bcl-2 ratio.