

## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Dalam bidang reproduksi, infertilitas merupakan masalah yang sampai saat ini masih umum ditemukan baik pada manusia maupun pada hewan. Menurut *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2012, terdapat sekitar 50-80 juta pasangan mengalami infertilitas di dunia. Upaya yang dapat dilakukan dalam menanggulangi infertilitas adalah dengan teknologi reproduksi berbantu yang kini semakin berkembang. Salah satu teknologi reproduksi berbantu yang kini populer dalam menanggulangi masalah infertilitas adalah *In vitro Fertilization* (IVF). IVF merupakan metode yang sangat menguntungkan, karena disamping dapat menanggulangi masalah infertilitas, metode ini dapat memproduksi embrio dengan kualitas yang tinggi dan dalam jumlah besar (Amin, 2000).

Untuk kepentingan penelitian dan perkembangan bioteknologi reproduksi, terutama pada metode IVF, oosit yang sering digunakan sebagai model penelitian adalah oosit yang berasal dari kambing yang diperoleh dari Rumah Potong Hewan (RPH). Hal ini dikarenakan ovarium yang diperoleh dari RPH dapat digunakan sebagai sumber oosit alternatif yang melimpah dan murah untuk digunakan dalam produksi embrio secara *in vitro* (Ondho dan Anwar, 2012). Salah satu jenis kambing yang sering digunakan dalam keperluan penelitian adalah kambing kacang, yang merupakan kambing lokal asli Indonesia dengan jumlah yang melimpah dan memiliki potensi reproduksi yang tinggi untuk dikembangkan.

Angka keberhasilan metode IVF pada kambing secara konvensional masih tergolong rendah. Penelitian yang telah dilakukan oleh Boediono dkk.. (2000) menyatakan bahwa tingkat keberhasilan fertilisasi *in vitro* yang dilakukan pada kambing hanya mencapai angka 40,91%. Selain itu, kegagalan oosit setelah dibuahi dapat mencapai fase blastosis pada fertilisasi *in vitro* tergolong tinggi, yaitu mencapai angka 60% (Gilchrist *and* Thompson, 2007).

Keberhasilan IVF dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor. Salah satu faktor yang paling menunjang keberhasilan IVF adalah kualitas spermatozoa dan oosit yang digunakan (Salam, 2008). Kualitas oosit dapat dilihat dengan ada atau tidaknya sel-sel kumulus yang mengelilingi oosit, yang berperan sebagai *chemoattractant* spermatozoa untuk menuju oosit supaya terjadi pembuahan. Klasifikasi oosit yang didasarkan pada kelengkapan struktur oosit sangat mempengaruhi maturasi *in vitro* dan perkembangan oosit sampai ke tahap blastosis (Ksiazkiewicz *et al.*, 2007). Oosit dengan sel-sel kumulus intak menyediakan faktor esensial selama proses maturasi, menjaga oosit, berperan selama tahapan pembelahan meiosis, serta sangat berpotensi untuk terfertilisasi (Daoed dkk., 2013). Selain itu, oosit dengan sel-sel kumulus intak akan memungkinkan terjadinya komunikasi intraseluler, meningkatkan maturasi *in vitro*, dan menyelamatkan oosit dari degradasi (Adifa dan Widayati, 2010).

Spermatozoa juga memiliki peran yang penting dalam keberhasilan fertilisasi *in vitro*. Selama proses fertilisasi, spermatozoa memberikan kontribusi yang sangat penting untuk proses pembelahan dan perkembangan embrio dengan menyediakan faktor pengaktivasi oosit, komponen *centrosomal*, dan kromosom

paternal (Dogan *et al.*, 2015). Penggunaan semen beku sebagai sumber spermatozoa pada kultur IVF dapat mengakibatkan terdegradasinya beberapa molekul protein spermatozoa yang berkorelasi terhadap penurunan kualitas spermatozoa, seperti penurunan motilitas, peningkatan abnormalitas, penurunan viabilitas, dan penurunan kemampuan kapasitas saat fertilisasi (Priyanto dkk., 2018).

Kualitas spermatozoa yang menurun pada semen beku dapat mengakibatkan terdegradasinya molekul protein yang terdapat dalam spermatozoa. Salah satu protein spesifik yang terdapat dalam spermatozoa adalah *phospholipase c-zeta* (PLC- $\zeta$ ) yang ketika dilepaskan ke dalam oosit akan menginduksi pelepasan  $\text{Ca}^{2+}$  dalam sitoplasma oosit (Chitiwala *et al.*, 2015), dan merupakan faktor yang sangat penting untuk proses aktivasi oosit mamalia (Ramadan *et al.*, 2012). Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Susilowati *et al.* (2015) menyatakan bahwa proses preparasi spermatozoa yang berasal dari semen beku dengan melibatkan proses sentrifugasi juga dapat mengakibatkan motilitas spermatozoa menurun dan juga mengakibatkan kematian spermatozoa. Hal ini dapat mengakibatkan spermatozoa gagal dalam mengaktivasi oosit sehingga fertilisasi akan gagal.

Aktivasi oosit merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan fertilisasi. Aktivasi oosit dapat terjadi dengan adanya interaksi kompleks yang dipicu oleh masuknya spermatozoa ke dalam oosit (Karabulut *et al.*, 2018). Indikator awal terjadinya aktivasi oosit ditandai dengan terjadinya kenaikan konsentrasi kalsium intraseluler secara berulang (Ciptadi dkk., 2013).

Kalsium *ionophore* (CaI) A23187 merupakan senyawa yang umum digunakan untuk meningkatkan kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) intraseluler. CaI A23187 adalah

suatu senyawa kimia yang bertindak sebagai divalen kation *ionophore*, yang memungkinkan ion-ion ini dapat melewati membran sel yang umumnya tidak dapat dilewatinya (Nalley *and* Hine, 2015). Hal ini memungkinkan pemberian CaI A23187 dapat meningkatkan kadar  $Ca^{2+}$  intraseluler pada oosit.

Kenaikan kalsium intraseluler merupakan mekanisme inisiator aktivasi oosit yang dapat diamati setelah adanya interaksi kompleks yang dipicu oleh masuknya sel sperma ke dalam oosit pada proses fertilisasi (Karabulut *et al.*, 2018). Pada saat proses fertilisasi, retikulum endoplasma di dalam oosit melepas ion  $Ca^{2+}$  yang dikenal sebagai pemicu penting untuk pengembangan telur menjadi embrio (Hardy, 2002). Kadar  $Ca^{2+}$  yang meningkat pada sitoplasma oosit akan menginisiasi pembentukan pronukleus, yang merupakan pertanda bahwa oosit telah terfertilisasi.

Kenaikan kadar kalsium intraseluler dapat ditingkatkan dengan pemberian CaI A23187. Oleh karena itu, dilakukan penelitian mengenai suplementasi CaI A23187 pada medium fertilisasi supaya kadar  $Ca^{2+}$  intraseluler pada oosit dapat meningkat dan dapat membantu dalam aktivasi oosit sehingga tingkat keberhasilan IVF dapat meningkat.

Berdasarkan latar belakang diatas, tujuan penelitian ini adalah ingin mengetahui jika suplementasi CaI A23187 pada medium fertilisasi pada oosit kambing kacang dapat meningkatkan angka fertilisasi dengan metode fertilisasi *in vitro* sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai hal tersebut.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang dikemukakan diatas, maka didapat rumusan masalah sebagai berikut :

Apakah suplementasi CaI A23187 pada medium fertilisasi *in vitro* mampu meningkatkan angka fertilisasi oosit kambing kacang ?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan efek suplementasi CaI A23187 pada medium fertilisasi *in vitro* terhadap angka fertilisasi oosit kambing kacang.

### **1.4 Manfaat Hasil Penelitian**

#### **1.4.1 Manfaat Teoritis**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang manfaat suplementasi CaI A23187 pada medium fertilisasi *in vitro* terhadap angka fertilisasi oosit kambing kacang.

#### **1.4.2 Manfaat Praktis**

Secara praktis, penelitian ini memiliki manfaat sebagai berikut :

- a. Mendukung penelitian tentang bioteknologi reproduksi, khususnya mengenai metode Fertilisasi *In vitro*
- b. Dapat digunakan sebagai referensi untuk penelitian lebih lanjut yang berhubungan dengan suplementasi CaI A23187 pada medium fertilisasi *in vitro* terhadap angka fertilisasi oosit kambing kacang.

### **1.5 Landasan Teori**

*In vitro Fertilization* (IVF) merupakan salah satu bioteknologi reproduksi yang dapat dipakai untuk memproduksi embrio ternak dalam jumlah besar. Namun,

dalam proses IVF sering terjadi kegagalan yang disebabkan oleh beberapa faktor. Faktor yang paling menunjang keberhasilan IVF adalah kualitas spermatozoa dan oosit yang digunakan (Salam, 2008).

Oosit merupakan salah satu faktor yang paling menentukan tingkat keberhasilan fertilisasi *in vitro*. Kualitas oosit dapat ditentukan dari ada atau tidaknya sel kumulus yang mengelilingi zona pelucida, yang berperan penting dalam mempengaruhi terjadinya meiosis dan mempengaruhi maturasi sitoplasmik pada oosit (Adifa dan Widayati, 2010). Sel kumulus juga mensekresikan progesteron yang berperan sebagai *chemoattractant* spermatozoa sehingga sangat penting untuk kelangsungan fertilisasi (Benaroya *et al.*, 2008).

Pada proses fertilisasi *in vitro*, semen beku umum digunakan sebagai sumber spermatozoa. Namun, pembekuan semen dapat mengakibatkan terdegradasinya beberapa molekul protein spermatozoa yang berkorelasi terhadap penurunan kualitas spermatozoa (Priyanto dkk., 2018). Salah satu protein yang terdapat dalam spermatozoa adalah *phospholipase C-zeta* (PLC- $\zeta$ ), dimana PLC- $\zeta$  merupakan protein pemicu kenaikan konsentrasi kalsium intraseluler secara berulang ( $\text{Ca}^{2+}$  *oscillation*) dan aktivasi oosit (Swann *et al.*, 2006).

Aktivasi oosit merupakan langkah pertama dan paling kritis yang menginisiasi perkembangan embrio setelah fertilisasi (Nomikos *et al.*, 2017). Aktivasi oosit dapat diamati setelah adanya interaksi kompleks yang dipicu oleh masuknya sel spermatozoa ke dalam oosit yang merupakan proses fertilisasi (Karabulut *et al.*, 2018). Menurut Swann *et al.* (2006), aktivasi oosit pada saat fertilisasi disebabkan oleh peningkatan kadar  $\text{Ca}^{2+}$  di dalam oosit.

Kalsium *ionophore* (CaI) A23187 merupakan senyawa yang umum digunakan untuk meningkatkan kalsium intraseluler. Kenaikan kalsium intraseluler merupakan sinyal yang berperan untuk dimulainya kembali meiosis dan awal perkembangan embrio, sehingga memainkan peran penting selama pembuahan (Borges *et al.*, 2009).

### **1.6 Hipotesis**

Berdasarkan latar belakang dan landasan teori diatas, hipotesis dari penelitian ini adalah suplementasi CaI A23187 pada medium fertilisasi mampu meningkatkan angka fertilisasi dengan metode fertilisasi *in vitro*.