

**PENGGUNAAN CAIRAN FOLIKEL DARI FOLIKEL
UKURAN BERBEDA UNTUK STIMULASI
PERKEMBANGAN OOSIT *IN VITRO***



SKRIPSI

Oleh :

HERMAN
1 111 01 009

Tgl. Terima	20 / 7 / 06 .
Asal/Baru	fak peternakan.
Banyaknya	(1 Sato) ekr .
Harga	H
Daftar No	839 / 20-7-06



**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2006**

**PENGGUNAAN CAIRAN FOLIKEL DARI FOLIKEL
UKURAN BERBEDA UNTUK STIMULASI
PERKEMBANGAN OOSIT *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh :

HERMAN
I 111 01 009

**Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Peternakan
pada Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin**

**JURUSAN PRODUKSI TERNAK
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2006**

Judul : **Penggunaan Cairan Folikel dari Folikel Ukuran Berbeda untuk Stimulasi Perkembangan Oosit *In Vitro***

Bidang Penelitian : **Reproduksi Ternak**

Peneliti :

Nama : **H e r m a n**

No. Pokok : **I 111 01 009**

Jurusan : **Produksi Ternak**

Skripsi ini Telah Diperiksa dan Disetujui Oleh :

Prof. Dr. Ir. Herry Sonjaya, DEA
Pembimbing Utama

Prof. Dr. Ir. J. Toban Batosamma, M.S
Pembimbing Anggota

Mengetahui,

Prof. Dr. Ir. H. Basri Wello, M.Sc
Dekan Fakultas Peternakan

Dr. Ir. Lellah Rahim, M.Sc
Ketua Jurusan Produksi Ternak

Tanggal Lulus : **Juni 2006**

ABSTRAK

Herman (I 111 01 009). Penggunaan Cairan Folikel dari Folikel Ukuran Berbeda untuk Stimulasi Perkembangan Oosit *In Vitro*. Di bawah Bimbingan Herry Sonjaya sebagai Pembimbing Utama dan J. Toban Batosamma sebagai Pembimbing Anggota.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan medium standar yang ditambahkan cairan folikel dari folikel ukuran berbeda terhadap perkembangan oosit *in vitro*. Medium pematangan oosit yang digunakan: (A) 16 ml M-199 + 2 ml EBS + (2 ml CF dari folikel ukuran kecil 2 - 4 mm); (B) 16 ml M-199 + 2 ml EBS + (2 ml CF dari folikel ukuran sedang 5 - 9 mm) dan (C) 16 ml M-199 + 2 ml EBS + (2 ml CF dari folikel ukuran besar 10 - 20 mm) serta oosit imatur yang berasal dari folikel berdiameter 2 - 6 mm. Rancangan percobaan adalah rancangan acak lengkap. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis varian. Jumlah oosit dengan tingkat ekspansi kumulat tingkat 2 (berkembang sempurna) pada medium C nyata lebih tinggi dari pada medium A dan B. Penggunaan cairan folikel dari folikel ukuran besar pada medium standar menghasilkan pematangan *in vitro* oosit sapi Bali yang terbaik.

Kata kunci : Oosit sapi Bali, Ukuran folikel, Cairan Folikel, Ekspansi kumulat, IVM

ABSTRACT

Herman (I 111 01 009). The used follicular fluid from follicles of different sizes for stimulation the development of oocyte in vitro. Supervisor by Herry Sonjaya and Co-Supervisor J. Toban Batosamma.

The objectives of this research were to study influence the standard medium added follicular fluid from different sizes follicles on the development of oocyte in vitro. The oocyte maturation medium were: (A) 16 ml M-199 + 2 ml EBS + (2 ml FF from small follicles size 2 - 4 mm); (B) 16 ml M-199 + 2 ml EBS + (2 ml FF from medium follicles size 5 - 9 mm) and (C) 16 ml M-199 + 2 ml EBS + (2 ml FF from large follicles size 10 - 20 mm) and immature oocytes from follicles with diameters of 2 to 6 mm. The research method used was a completely randomized design. The data obtained was analyzed by variance analysis. Quantity oocyte with cumulus cell expansion stage 2 (perfect expansion) from medium C significantly was higher than medium A and B. The used follicular fluid from large follicles in standard medium research the best in vitro maturation of Bali cattle oocyte.

Keyword: Bali cattle oocyte, follicle sizes, follicular fluid, cumulus cell expansion, IVM

ABSTRACT

Herman (I 111 01 009). The used follicular fluid from follicles of different sizes for stimulation the development of oocyte in vitro. Supervisor by Herry Sonjaya and Co-Supervisor J. Toban Batosamma.

The objectives of this research were to study influence the standard medium added follicular fluid from different sizes follicles on the development of oocyte in vitro. The oocyte maturation medium were: (A) 16 ml M-199 + 2 ml EBS + (2 ml FF from small follicles size 2 - 4 mm); (B) 16 ml M-199 + 2 ml EBS + (2 ml FF from medium follicles size 5 - 9 mm) and (C) 16 ml M-199 + 2 ml EBS + (2 ml FF from large follicles size 10 - 20 mm) and immature oocytes from follicles with diameters of 2 to 6 mm. The research method used was a completely randomized design. The data obtained was analyzed by variance analysis. Quantity oocyte with cumulus cell expansion stage 2 (perfect expansion) from medium C significantly was higher than medium A and B. The used follicular fluid from large follicles in standard medium research the best in vitro maturation of Bali cattle oocyte.

Keyword: Bali cattle oocyte, follicle sizes, follicular fluid, cumulus cell expansion, IVM

RINGKASAN

Herman. Penggunaan Cairan Folikel dari Folikel Ukuran Berbeda untuk Stimulasi Perkembangan Oosit *In Vitro* (Di bawah Bimbingan **Herry Sonjaya** sebagai Pembimbing Utama dan **J. Toban Batosamma** sebagai Pembimbing Anggota).

Perkembangan oosit secara normal sejalan dengan pertumbuhan folikel dimana cairan folikel dari folikel yang tumbuh sangat menentukan pertumbuhan oosit, tetapi belum diketahui ukuran folikel berapa yang menghasilkan pertumbuhan oosit yang maksimal secara *in vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh cairan folikel sapi Bali yang berasal dari ukuran folikel yang berbeda terhadap stimulasi perkembangan oosit *in vitro*.

Penelitian dilakukan pada Desember 2005 – Maret 2006 di Rumah Pemotongan Hewan (RPH) Tamangapa, Makassar, Desa Kebun Sari dan Desa Sidodadi Kecamatan Wonomulyo, Polewali Mandar serta Laboratorium Fisiologi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makassar.

Materi yang digunakan adalah ovarium, oosit yang belum matang (*immature*), cairan folikel sapi (CF), NaCl fisiologis 0,9%, medium kultur standar (M-199), serum sapi betina berahi (EBS), antibiotik streptomisine, penicilline, larutan pencuci oosit, alkohol dan *paraffin oil*.

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan yang diuji adalah 3 jenis medium maturasi yang berasal dari cairan folikel dengan ukuran berbeda-beda (A: 2 – 4 mm, B: 5 – 9

mm dan C: 10 – 20 mm) setiap perlakuan diulang sebanyak 5 kali. Peubah yang diukur dalam penelitian ini adalah tingkat ekspansi kumulus. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis varian, apabila perlakuan menunjukkan adanya pengaruh nyata, maka dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Prosedur pelaksanaan penelitian terdiri dari beberapa tahapan sebagai berikut: 1. pembuatan serum sapi berahi; 2. pengumpulan ovarium; 3. pencucian ovarium; 4. koleksi cairan folikel; 5. pembuatan medium maturasi; 6. pengambilan oosit dari folikel; 7. evaluasi oosit dan 8. proses pematangan oosit (IVM).

Pada penelitian ini hanya oosit yang berkualitas A yang memiliki syarat untuk diproses lebih lanjut melalui maturasi *in vitro*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah oosit dengan tingkat ekspansi kumulus tingkat 0 (tidak berkembang) dari medium A, nyata lebih tinggi ($P < 0,05$) dibanding medium B dan sangat nyata lebih tinggi ($P < 0,01$) dibanding medium C, sedangkan jumlah oosit dengan tingkat ekspansi kumulus tingkat 1 (berkembang sebagian) dari medium B, nyata lebih tinggi ($P < 0,05$) dibanding medium A dan sangat nyata lebih tinggi ($P < 0,01$) dibanding medium C dan jumlah oosit dengan tingkat ekspansi kumulus tingkat 2 (berkembang sempurna) dari medium C, sangat nyata lebih tinggi ($P < 0,01$) dibanding medium A dan B.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah: (1). Penggunaan cairan folikel yang berasal dari folikel ukuran yang berbeda memberi pengaruh terhadap ekspansi kumulus oosit sapi Bali. (2). Medium standar yang berisi cairan folikel dari folikel ukuran besar merupakan medium yang terbaik untuk pematangan *in vitro* oosit sapi Bali.

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Puji syukur atas ke hadirat Allah SWT karena dengan rahmat, hidayah serta karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini, yang merupakan salah satu syarat menuntaskan jenjang pendidikan S1 pada Jurusan Produksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makassar.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan oleh karenanya masih perlu sumbangsi dari para pembaca baik berupa saran dan kritik agar menjadi bahan masukan pada penyusunan-penyusunan karya ilmiah yang lain pada jenjang pendidikan yang lebih tinggi.

Sebuah usaha yang maksimal meski dengan hasil yang minimal. Kendala waktu, dana serta potensi yang tersedia membuat skripsi ini terasa sangat sederhana, namun semoga dalam kesederhanaannya dapat memberi manfaat bagi kita semua. Amin.

"Barang siapa yang melalui suatu jalan untuk menuntut ilmu, maka dengan dia menuntut ilmu Allah akan memudahkan jalannya menuju surga"
(HR.Muslim)

Makassar, Juli 2006

H e r m a n

UCAPAN TERIMA KASIH

Rasanya tidaklah mungkin untuk mengucapkan terima kasih satu per satu atas semua bantuan dan sumber-sumber informasi dalam penyusunan skripsi ini. Namun demikian, saya ingin secara khusus mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof.Dr.Ir. Basit Wello, M.S selaku Dekan Fakultas Peternakan UNHAS
2. Prof.Dr.Ir. Herry Sonjaya, DEA dan Prof.Dr.Ir. J. Toban Batosamma, M.S. selaku pembimbing dalam penyusunan skripsi ini.
3. Prof.Dr.Ir.H.A.Baso Ronda, PGD sebagai Penasehat Akademik.
4. Dr.Ir.Lellah Rahim, M.Sc selaku Ketua Jurusan Produksi Ternak serta Prof.Dr Ir. Sudirman Baco, M.Sc selaku Sekretaris Jurusan Produksi Ternak atas segala motivasi dan dorongan, serta kemudahan pelayanan administrasi maupun fasilitas yang diberikan kepada penulis.
5. Prof.Dr.Ir. Herry Sonjaya, DEA selaku Kepala Laboratorium Fisiologi Ternak Jurusan Produksi Ternak serta Ka'Hasbi S.Pt selaku Kordinator Asisten Fisiologi Ternak atas segala fasilitas yang diberikan selama penulis mengadakan penelitian.
6. Laboratorium Mikrobiologi Kelautan atas fasilitas berupa Tabung CO₂ nya.
7. Rumah Pemotongan Hewan (RPH) Tamangapa, Makassar.
8. Insiminator daerah Desa Kebun Sari dan Desa Sidodadi Kec. Wonomulyo, Polewali Mandar.

9. Kedua Orang Tua penulis Ayahanda H.Semang dan Ibunda Hj.Upe, motivator terbesar dalam hidupku dengan penuh pengorbanan dan kasih sayang yang tulus telah membesarkan dan mendidik penulis.
10. Kakak-kakakku tersayang Drs.Sudirman, Norma,SH, Usma,S.Pt,M.Si dan adikku Irma serta tante Dra.I Tappa atas segala cinta, dorongan dan bantuannya dalam hidup penulis.
11. Rekan penelitianku Mawardi A.Asja thanks for everything.
12. Sahabatku tersayang Cute and my best friends 'Tanduk 01' yours all is the best.

H e r m a n

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
PENDAHULUAN	1
TINJAUAN PUSTAKA	
Perkembangan folikel, Oosit dan Cairan Folikel	3
Pengaruh Ukuran Folikel terhadap Perkembangan Oosit.....	11
Pengaruh Cairan Folikel dalam Medium Maturasi <i>In Vitro</i>	12
METODE PENELITIAN	
Waktu dan Tempat	15
Materi Penelitian	15
Metode Kerja	16
Analisa Data	21
HASIL DAN PEMBAHASAN	
Kualitas Oosit	22
Perkembangan Oosit <i>In Vitro</i>	25
KESIMPULAN DAN SARAN	31
DAFTAR PUSTAKA	32
DAFTAR ISTILAH	35
LAMPIRAN	37

DAFTAR TABEL

No.	Teks	Halaman
1.	Beberapa Komponen dan Metabolisme dari Cairan Folikel Beserta Fungsi Fisiologisnya	9
2.	Ekspansi Sel-Sel Kumulus Oosit Kompleks (COC) pada Beberapa Medium Maturasi	26
3.	Data Pengambilan Cairan Folikel	37
4.	Data Pengambilan Sampel Ovarium untuk Pengambilan COC.....	37
5.	Data Pengambilan Sampel Serum Sapi Berahi (EBS)	38
6.	Perkembangan Ekspansi Sel Kumulus	39
7.	Pengaruh Jenis Medium terhadap Ekspansi Sel Kumulus Oosit pada Tingkat Perkembangan 0 (tidak mengalami ekspansi kumulus).....	40
8.	Pengaruh Jenis Medium terhadap Ekspansi Sel Kumulus Oosit pada Tingkat Perkembangan 1 (mengalami ekspansi kumulus sebagian).....	41
9.	Pengaruh Jenis Medium terhadap Ekspansi Sel Kumulus Oosit pada Tingkat Perkembangan 2 (mengalami ekspansi kumulus sempurna)....	42

DAFTAR GAMBAR

No.	Teks	Halaman
1.	Bagan Tahapan Penelitian	20
2.	Oosit Sebelum dan Sesudah Inkubasi yang Dimaturasi Menggunakan Cairan Folikel dari Folikel Ukuran yang Berbeda. Diamati dibawah Mikroskop dengan Perbesaran 40x10.....	22

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Teks	Halaman
1.	Data Pengambilan Sampel Ovarium untuk Pengambilan Cairan Folikel dan COC di RPH Tamangapa Makassar	37
2.	Data Pengambilan Sampel Serum Sapi Berahi (EBS) di Wilayah Resipient IB Kebun Sari, Wonomulyo, Polewali Mandar.....	38
3.	Data Hasil Pengamatan Perkembangan Ekspansi Sel Kumulus.....	39
4.	Data Mentah Hasil Transformasi Arcsin Tingkat Perkembangan Ekspansi Sel Kumulus Oosit (tingkat 0, 1 dan 2) pada Sapi Bali.....	40
5.	Analisis Sidik Ragam Ekspansi Sel Kumulus Oosit pada Tingkat Perkembangan 0 (tidak mengalami ekspansi kumulus)	43
6.	Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Pengaruh Medium Maturasi Terhadap Ekspansi Kumulus Tingkat 0 (tidak mengalami ekspansi kumulus)	45
7.	Analisis Sidik Ragam Ekspansi Sel Kumulus Oosit pada Tingkat Perkembangan 1 (mengalami ekspansi kumulus sebagian)	46
8.	Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Pengaruh Medium Maturasi Terhadap Ekspansi Kumulus Tingkat 1 (mengalami ekspansi kumulus sebagian)	48
9.	Analisis Sidik Ragam Ekspansi Sel Kumulus Oosit pada Tingkat Perkembangan 2 (mengalami ekspansi kumulus sempurna)	49
10.	Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Pengaruh Medium Maturasi Terhadap Ekspansi Kumulus Tingkat 2 (mengalami ekspansi kumulus sempurna)	51

PENDAHULUAN

Masalah yang dihadapi peternak sapi (potong maupun perah) adalah rendahnya produktivitas sebagai akibat rendahnya mutu genetik ternak, penggunaan pakan yang tidak efisien dan rendahnya efisiensi reproduksi. Dalam aspek reproduksi, cara lain yang efisien dan efektif untuk meningkatkan mutu genetik dan produksi ternak adalah memanfaatkan teknologi reproduksi misalnya, inseminasi buatan dan transfer embrio.

Teknologi transfer embrio di Indonesia masih merupakan pengetahuan yang relatif baru (diperkenalkan pertama kali tahun 1984), sehingga perkembangannya banyak mengalami hambatan, baik secara alamiah maupun teknis. Oleh karenanya perlu dilakukan pengkajian yang lebih mendalam untuk meningkatkan keberhasilan program transfer embrio sebagai suatu teknologi yang mampu memperbaiki mutu genetik serta dapat meningkatkan produksi ternak dalam waktu yang relatif singkat. Salah satu alternatif penelitian tentang transfer embrio adalah penelitian tentang pemanfaatan teknologi Maturasi *In Vitro* (IVM) melalui IVM akan menghasilkan embrio dalam jumlah yang banyak sehingga di masa yang akan datang diharapkan populasi ternak sapi akan meningkat.

Perkembangan oosit secara normal sejalan dengan pertumbuhan folikel di mana cairan folikel merupakan larutan yang diperlukan oleh oosit untuk tumbuh dan berkembang mencapai kematangannya. Maturasi *in vitro* oosit imatur dapat menstimulir pertumbuhan oosit untuk mencapai kematangan, untuk mendapatkan

kondisi lingkungan *in vitro* yang dapat mendukung stimulasi ini diperlukan suatu penelitian tentang penggunaan cairan folikel yang berasal dari folikel ukuran yang berbeda di dalam medium kultur standar.

Peningkatan jumlah dan substansi penyusun cairan folikel mengalami keragaman seiring tingkat pertumbuhan folikel di mana cairan folikel berpengaruh terhadap aspek-aspek inti dari metabolisme dan pematangan sitoplasma pada oosit, melalui fungsi fisiologi dan biokimia. Oleh karenanya penggunaan cairan folikel yang berasal dari folikel ukuran berbeda diharapkan mampu memberikan hasil yang berbeda terhadap tingkat perkembangan oosit sapi Bali.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh cairan folikel sapi Bali yang berasal dari folikel ukuran berbeda terhadap stimulasi perkembangan oosit *in vitro*.

Kegunaan dari hasil penelitian ini adalah sebagai bahan informasi ilmiah dalam pengembangan teknologi reproduksi yang menyangkut penelitian teknik maturasi *in vitro* (IVM).

TINJAUAN PUSTAKA

Perkembangan Folikel, Oosit dan Cairan Folikel

a. Perkembangan Folikel

Perkembangan folikel diawali dengan pertumbuhan dan bertambahnya jumlah sel pipih yang mengelilingi oosit. Sel-sel pipih ini lambat laun berubah menyerupai kubus lalu berjajar. Satu lapisan sel tunggal akan menjadi dua lapis lalu menjadi tiga lapis dan lebih banyak lapisan sel terbentuk di sekitar oosit. Bila ovum sudah tumbuh sempurna, sel-sel mulai berpisah dan terbentuklah rongga di antaranya. Rongga ini terdiri dari cairan dan perlahan-lahan menjadi rongga besar yang disebut antrum. Sel-sel epitel yang mengelilingi antrum disebut sel granulosa. Ovum akan terletak pada salah satu sisi folikel dalam benjolan sel-sel granulosa yang disebut *cumulus oophorus* atau *discus proligerus* (Leeson, 1995).

Cairan yang mengisi antrum folikel disebut cairan folikel atau *liquor folliculi*. Cairan ini lekat dan mengandung banyak bahan estrogen. Cairan ini mempengaruhi pembesaran folikel, seakan-akan mendesak sel-sel ke tepi dan merupakan suatu pepadatan. Sel-sel yang terdapat di bagian luar dan mengelilingi folikel disebut sel-sel *theca*. Lapisan *theca* langsung sesudah folikel disebut *theca interna*, lapisan diluarnya adalah lapisan kedua disebut *theca externa* (Leeson, 1995).

Struktur yang terbentuk ketika selapis sel secara lengkap berkembang disebut folikel primer dan selanjutnya folikel sekunder ketika sel-sel itu membelah menjadi beberapa lapisan. Perkembangan selanjutnya terjadi pembelahan, sekresi dan

mengumpulnya cairan folikel mulai terjadi pada ruang antar sel dan penggabungan secara berangsur-angsur membentuk rongga antrum yang mengandung cairan folikel. Pembentukan antrum ini menandakan tercapainya stadium folikel tertier atau *folikel de graff*, tetapi hanya sebahagian kecil folikel-folikel primer yang mampu mencapai stadium ini (Hunter, 1995).

Pertumbuhan dan perkembangan folikel dikontrol oleh mekanisme endokrin, parakrin dan autokrin (Richards, 1980, Sonjaya, 1985 dan Ireland, 1987). Pengaturan melalui mekanisme endokrin dilakukan oleh hormon gonadotropin (GnRH); *follicle stimulating hormone* (FSH) dan *luteinizing hormone* (LH) dan prolaktin, pengaturan parakrin adalah pengaturan lokal di mana substansi peptida dan steroid (estrogen, progesteron dan androgen non-aromatis) disekresikan dalam ovarium untuk memodulasi respon folikel terhadap rangsangan GnRH (Sonjaya dan Driancourt, 1987).

Hiller, dkk, 1998 mengemukakan bahwa estradiol merupakan *regulator autokrin intrafolikuler* (yang mempunyai kegiatan di dalam folikel itu sendiri) yang merangsang mitosis sel-sel granulosa dan dapat meningkatkan aktifitas LH dan FSH melalui peningkatan jumlah reseptornya.

Pada domba yang dihipovasektomi atau yang diimunisasi terhadap GnRH pertumbuhan folikel terus berkembang hingga berdiameter 2 mm, hal ini membuktikan bahwa pertumbuhan folikel sampai ukuran 2 mm tidak bergantung pada GnRH (McNeilly, *et. al.* 1986, Sonjaya dan Driancourt, 1987).

b. Perkembangan Oosit

Oosit merupakan cikal bakal sel telur terbentuk setelah terjadi proses oogenesis, yakni proses perubahan bentuk dari oogonium menjadi oosit. Pada ternak mamalia proses oogenesis berakhir sebelum atau setelah kelahiran. Diferensiasi kelamin terjadi pada embrio berumur 30 hari pada babi, 31 hari pada domba dan 45 hari pada sapi. Akhir periode mitosis oogonial yang menandakan akhir oogenesis utama adalah pada hari ke-32 masa kebuntingan sampai tujuh hari setelah kelahiran pada babi, hari ke-35 sampai hari ke-90 masa kebuntingan pada domba dan hari ke-45 sampai lebih dari hari ke-110 pada sapi (Toelihere, 1985).

Oosit sapi yang masak, keadaannya seperti oosit hewan menyusui lainnya. Oosit ini terdiri dari sitoplasma bernukleus, dikelilingi selaput kuning telur dan sebaliknya dikelilingi oleh zona pellucida, suatu lapisan selaput yang terang. Biasanya diameter sitoplasma oosit sapi kira-kira 140μ dan tebal zona pellucida $12\mu - 15\mu$. Oosit yang telah matang berdiameter kira-kira 165μ (Aryaratna dan Gunawardana, 1996).

Oosit hanya dapat tumbuh dan mengalami pemasakan lebih lanjut dalam ovarium jika dikelilingi oleh sel-sel somatik. Proses ini terjadi sebelum lahir, ketika sel yang berasal dari epithelium menempatkan dirinya di sekeliling oosit. Selama tahap awal pertumbuhan oosit yang belum berkembang berada dekat permukaan ovarium hewan dewasa, masing-masing dilingkari oleh satu lapisan sel yang pipih (Aryaratna dan Gunawardana, 1996).

Pada waktu pertumbuhan, folikel dan oosit masuk ke dalam korteks ovarium. Selama tahap pertama waktu pertumbuhannya folikel dan oosit bertambah besar dengan selaras. Kemudian sesudah oosit berhenti berkembang, folikel tetap berkembang dalam waktu yang cukup lama (Aryaratna dan Gunawardana, 1996).

Pertumbuhan oosit melalui dua fase pertumbuhan. Fase pertama, oosit bertumbuh cepat dan berhubungan erat dengan perkembangan folikel ovarium. Ukuran dewasanya tercapai kira-kira pada waktu pertumbuhan antrum dimulai dalam folikel. Selama fase kedua, oosit tidak bertambah besar, sedangkan folikel ovarium yang respon terhadap hormon-hormon hipofisis sangat bertambah besar diameternya, pada ternak sapi, diameter oosit fase folikel primordial adalah $29,6\mu\text{m}$ dan sebanding dengan ternak kerbau (Aryaratna dan Gunawardana, 1996).

Pertumbuhan oosit ditandai dengan pembesaran sitoplasma karena penumpukan granula-granula deutoplasma (kuning telur) dalam berbagai ukuran, pembentukan zona pellucida sebagai suatu selaput sel telur dan proliferasi mitosis epitel folikuler dan jaringan sekitarnya. Sel-sel folikuler ini berperan sebagai pemberi makanan bagi oosit dengan jalan menyediakan deutoplasma bagi bakal sel telur tersebut (Aryaratna dan Gunawardana, 1996).

Pada ternak sapi, jumlah oosit bervariasi, yakni berkisar antara nol sampai 700.000 pada umur 1 – 2 tahun. Jumlah tersebut relatif stabil sekitar 140.000 oosit sampai ternak mencapai umur 4 – 6 tahun dan menurun secara cepat sampai 25.000 pada umur 10 – 14 tahun dan mendekati nol sampai pada umur 20 tahun (Toelihere, 1985).

ilisasi *in vitro* adalah peranan sel-sel tersebut dalam reaksi akrosom spermatozoa, dan ini dikarenakan sel-sel kumulus banyak mengandung asam hyaluronat.

Hubungan antara sel-sel granulosa dan sel-sel kumulus di sekitar oosit mengakibatkan oosit tertahan untuk tidak mengalami meiosis, apabila hubungan ini sudah merenggang oleh faktor-faktor pematangan oosit atau sel kumulus yang berkembang akan mengakibatkan *gap junction* dengan cepat menurun jumlahnya yang berakibat akses penghambat berlangsungnya meiosis berkurang drastis (Nasich, dkk., 2001).

2. Cairan Folikel

Cairan folikel mula-mula berasal dari lapisan luar plasma oleh pertukaran silang lapisan lamina folikel yang berkumpul di dalam antrum. Cairan folikel merupakan, suatu serum transudate yang dimodifikasi oleh aktivitas metabolisme folikel. Cairan folikel mengandung unsur-unsur spesifik seperti steroid dan *glycoprotein* sintesis dari sel-sel dinding folikel, selama pertumbuhan folikel terbentuk suatu keseimbangan diantara serum dan cairan folikel, konsentrasi metabolisme di dua bagian adalah sama. Pada folikel ukuran lebar (bukan pada folikel kecil) cairan folikel berisi 17β -estradiol dalam level yang tinggi pada tahap folikular dan progesteron menjelang ovulasi (Hafez and Hafcz, 2002).

Cairan folikel berisi beberapa komponen fisiologis utama dan kebanyakan cairan folikel konsentrasinya serupa/mirip serum darah dapat dilihat pada Tabel 1.

Oosit yang dimaturasi secara *in vitro* sering mengalami perubahan metabolisme dan menurunkan potensi perkembangan oosit. Hal ini bisa terjadi akibat defisiensi medium maturasi, abilitas oosit itu sendiri atau keduanya. Walaupun hanya sedikit oosit yang tidak mampu untuk mempertahankan kontrol metabolismenya, namun ia akan menghambat penurunan daya hidupnya. Regulasi metabolisme nutrisi dikontrol pada berbagai level, termasuk ketersediaan substrat untuk kebutuhan pokok, sistem transpor membran plasma dan aktivitas enzim serta regulasinya. Mekanisme ini adalah hal yang penting guna mencukupi kebutuhan pokok yang menunjang nukleus maturasi sitoplasma (Krisher, 2003).

Sel-sel kumulus adalah sel-sel granulosa yang menempel pada oosit dan dindingnya, berfungsi sebagai agen komunikasi antara sel penghubung mekanisme hormonal menuju oosit karena pada sel-sel kumulus terdapat reseptor FSH dan LH yang juga dapat berfungsi sebagai reseptor *pregnant mare serum* (PMSG) dan *human chorionic gonadotropin* (HCG), di samping itu sel-sel kumulus berperan juga dalam pemasukan nutrisi untuk oosit (Nasich, dkk., 2001).

Sel-sel kumulus akan mengalami ekspansi apabila terstimulir akibat peningkatan aktifitas hormon gonadotrophin dan metabolisme seluler tersebut. Sel-sel kumulus berperan penting dalam proses perkembangan oosit dan dengan berkembangnya oosit dapat dievaluasi tingkat kematangannya (De Haan, 1994).

Mattioli, 1994 berpendapat bahwa sel-sel kumulus mempunyai peran sebagai alat spesifik dalam mekanisme transduksi untuk mentransfer sinyal gonadotropin ke oosit melalui sistem *gap junction*. Peranan lain dari sel-sel kumulus pada saat



Tabel 1. Beberapa Komponen dan Metabolisme dari Cairan Folikel beserta Fungsi Fisiologisnya.

Komponen Biokimia	Komposisi/senyawa campuran
Protein	Albumin, Globulin, Iga, Igm, Fibrinogen, Lipoprotein dan Peptida
Asam-asam Amino	Asp, Thr, Glu, Gln, Ala, Gly dan Asn
Enzim-enzim	Intraselular/Ekstraselular
Karbohidrat	Glukosa, Fruktosa, Fukosa, Galaktosa dan Mannosa
Glikoprotein	Glukosamin, Galaktosamin, Asam Hyaluronik, Heparin dan Plasminogen
Gonadotropin	FSH, LH/Prolaktin
Steroid	Kolesterol, Androgen, Progesterin dan Estrogen
Prostaglandin	PGE dan PGF _{2a}
Element/mineral	Sodium, Potassium, Magnesium, Zinc, Copper, Calsium, Sulfur, Klorida, Inorganik phosphat dan phosphorus
Immunoglobulin	IgG merupakan immunoglobulin utama IgA merupakan penyedia kedua bagi IgG

Folikel besar yang baik ditandai oleh suatu kadar estradiol yang tinggi dan kadar testosterone yang relatif rendah. Ketika folikel besar beratresia, level estradiol menjadi turun dibandingkan level testosterone. Perbandingan estradiol-progesterone yang sama rendah diamati pada folikel kecil yang baik; bagaimanapun kadar progesterone lebih rendah dibanding folikel besar, meskipun folikel besar akan beratresia atau tidak.

Sumber: Hafez and Hafez (2002).

Cairan folikel memainkan peran utama dalam fungsi fisiologi, biokimia dan aspek-aspek inti dari metabolisme dan pematangan sitoplasma pada oosit. Cairan folikel (di dalam antrum) terdiri atas beberapa komponen fisiologis aktif, penghambat

pematangan oosit, penghambat-pengikat LH, inhibin dan variasi/macam enzim-enzim dan *chondroitin sulphuric acid*. Cairan folikel (di antara sel-sel granulosa), kaya akan *hyaluronic acid* tempat berkumpulnya cairan pada permulaan ovulasi. Banyak sisa oosit yang telah matang pada permukaan folikel setelah terjadinya ovulasi sampai dipindahkan oleh fimbria. Sel lutein tumbuh setelah ovulasi yang menjadi sumber utama progesterone pada Corpus Luteum (Hafez and Hafez, 2002).

Inhibisi merupakan taraf berhentinya perkembangan miosis dan proses meiosis dapat berjalan kembali tergantung dari interaksi antara gonadotropin, sel-sel folikel dan oosit (Pritchard, 1991).

Selama peningkatan inhibin folikel cair, hormon LH dalam serum meningkat dimana sekresi FSH tidak berubah. Aktivitas inhibin lalu menurun mulai dari awal sampai akhir penyentakan gonadotropin, Inhibin folikel cair berasal dari granulosa (Spicer, 1985).

Konsentrasi estradiol secara total pada ovarium sapi mendekati 10 kali lipat lebih besar selama periode preovulasi dibandingkan pada hari lain dari siklus berahi. Konsentrasi estradiol dalam zat cair dari folikel yang besar adalah tinggi. Estradiol diproduksi oleh folikel primer yang berasal dari sel-sel granulosit. 17β -Estradiol yang disintesa oleh sel granulosa mempengaruhi reseptor-reseptor gonadotropin serta merangsang pertumbuhan dan perkembangan *gap junction*. Adapun konsentrasi hormon androgen dalam cairan folikel antrum yang besar meningkat pada saat sebelum dan selama penyentakan LH (Spicer, 1985).

Pengaruh Ukuran Folikel terhadap Perkembangan Oosit

Folikel adalah media dari sel telur (ova) yang pertumbuhannya terjadi secara bergelombang dengan satu atau lebih folikel (tergantung spesies) berkembang sampai ovulasi dan yang lainnya menjadi *atretic* (degenerasi, mengering dan mati) (Tomaszewska, 1991).

Folikel sudah terbentuk sejak masa embrio dan sejak lahir sampai tua sebagian besar, yaitu 99,75%, folikel itu beratresia. Ketika atresia mitosis sel folikel terhenti, dan sel-sel itu lepas-lepas dari susunannya menyelaputi oosit. Oosit sendiri jadi mati dan *autolysis*. Sekitar 0,25% saja folikel yang banyak itu mengalami pertumbuhan sesuai dengan oosit yang dikandung (Yatim, 1990).

Substansi yang menyusun cairan folikel mengalami keragaman sesuai dengan tingkat perkembangan dan pertumbuhan folikel. Konsentrasi elektrolit (Na, K, Ca, dan Ca) dan glukosa dalam cairan folikel kecil (SF) dan folikel yang besar (LF) memberikan pengaruh yang berbeda terhadap tingkat maturasi inti. Konsentrasi kalium (K) dalam cairan folikel berukuran besar secara nyata lebih besar dibanding pada cairan folikel berukuran sedang dan kecil. Magnesium (Mg) dalam cairan folikel berukuran kecil memiliki konsentrasi yang tinggi dibanding konsentrasi Mg dalam medium kultur standar. Glukosa dalam cairan folikel dengan cepat mengalami penurunan selama penyimpanan ovarium. (Iwata, *et. al.* 2004).

Palvok, *et. al.* (1992), Lonergan, *et. al.* (1994) and Marchal, *et. al.* (2002) dalam beberapa penelitian menunjukkan bahwa koleksi oosit yang berasal dari folikel yang besar *large diameter follicles* (LF) lebih memungkinkan untuk

berkembang menjadi blastosit dari pada koleksi oosit yang berasal dari folikel ukuran kecil *small diameter follicles* (SF). Walaupun beberapa koleksi oosit yang berasal dari SF dan LF telah mampu untuk berkembang secara *in vitro* menjadi sebuah blastosit.

Penelitian yang dilakukan Tappa (1995) mengemukakan, bahwa hanya oosit yang berkualitas A saja yang merupakan kualitas paling baik dan akan menghasilkan oosit metafase II yang dipergunakan untuk maturasi *in vitro*. Djati (1999), menambahkan bahwa hanya oosit yang berkualitas baik saja yang dapat melalui tahap *germinal vesicle* (GV) dan *germinal vesicle break down* (GVBD) dengan baik dan sebagian terbesar mencapai metaphase II.

Pengaruh Cairan Folikel dalam Medium Maturasi *In Vitro*

Hormon estrogen dan progesteron yang terdapat dalam cairan folikel dan *Estrus Bovine Serum* (EBS) akan mengakibatkan meningkatkan sintesis DNA sel-sel kumulus untuk berproliferasi. Selain itu *epidermal growth factor* (EGF) yang terkandung dalam serum akan menstimulir interkomunikasi pada kumulus oosit kompleks, sehingga menghasilkan tingkat perkembangan kumulus yang tinggi (Dawns, 1989).

Sel kumulus yang terdapat di sekeliling oosit dirangsang secara *in vitro* oleh hormon LH dan estrogen yang terdapat dalam cairan folikel sehingga dapat menghalangi aksi inhibitor folikuler dan memacu meiosis dibentuk dalam kumulus oosit kompleks (Nasich, Ciptadi, Wahyuningsih, 2001).

Selama kultur cumulus oosit kompleks (COC), FSH dan insulin dalam cairan folikel menstimulir ekspansi reseptor LH sel-sel granulosa abnormal disekitar atau disekeliling oosit (Krisher, 2004).

Nasich, dkk (2001) mengemukakan, bahwa cairan folikel dapat merangsang pematangan sitoplasma dan inti oosit. Kennedy, *et.al.* (1994), menambahkan bahwa terjadinya perkembangan kumulus memberi peran dalam menciptakan lingkungan mikro untuk oosit berupa peningkatan kebutuhan makanan oosit. Kidson (2005), menambahkan bahwa sel-sel kumulus berfungsi sebagai pemberi peran metabolisme dan melindungi oosit dalam maturasi inti.

Kandungan asam lemak seperti asam linoleat dalam cairan folikel sapi dibutuhkan untuk memelihara terjadinya proses meiosis pada oosit dan penurunan konsentrasi asam linoleat dapat menghambat pecahnya *germinal vesikel* (GV) (Homa dan Brown, 1992).

Cairan folikel yang ditambahkan dalam medium kultur dengan konsentrasi sebesar 30% akan meningkatkan angka fertilisasi dan perkembangan morula menjadi blastosis sedangkan pada konsentrasi cairan folikel yang tinggi (60%) hasilnya akan menurun. Konsentrasi rendah (10%) dalam medium maturasi akan memacu maturasi oosit sapi, meningkatkan persentase pembelahan dan kemampuan untuk berkembang menjadi blastosit (Larocca, *et. al.* 1993).

Nasich, dkk, 2001 mengemukakan apabila digunakan cairan folikel dengan konsentrasi yang tinggi (60%) pada medium kultur, akan terjadi penurunan maturasi inti, angka fertilisasi dan kemampuan berkembang setelah fertilisasi. Hal ini

kemungkinan disebabkan oleh tidak terjadinya maturasi sitoplasma selama proses maturasi oosit. Kim, *et. al.* (1993) menambahkan bahwa konsentrasi cairan folikel sebesar 60% yang ditambahkan dalam medium IVM akan menghambat pematangan oosit, hal ini disebabkan oleh koagulasi sel kumulus yang terdapat di dalam cairan folikel seperti kelompok purin (*adenosine* dan *hypoxanthin*).

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan pada Desember 2005 – Maret 2006. Pengambilan ovarium sapi dilaksanakan di Rumah Pemotongan Hewan (RPH) Tamangapa, Makassar dan pengambilan serum sapi birahi (*Estrus Bovine Serum* = EBS) dilakukan di Desa Kebun Sari dan Desa Sidodadi Kecamatan Wonomulyo, Polewali Mandar. Uji tingkat maturasi *in vitro* oosit sapi dilakukan di Laboratorium Fisiologi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makassar.

Materi Penelitian

Alat-alat yang digunakan adalah *venoject*, inkubator, *waterbath*, *freezer*, *refrigerator*, *ependorf*, pipet pasteur, *microcentrifuge*, cawan petri, *scalpel*, *centrifuge*, cawan kultur integral, plat-x, hemostat, dekker plastik 1L, gelas dekker 400 ml, spoit (1ml, 27G dan 5ml, 18G) dan termos.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ovarium, oosit yang belum matang (*immature*), cairan folikel sapi (CF), NaCl fisiologis 0,9%, medium kultur standar (M-199 SIGMA, NP-M_4530), serum sapi betina berahi (EBS), antibiotik *streptomisine*, *penicilline*, larutan pencuci oosit, minyak netral dan alkohol.

Metode Kerja

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan yang diuji adalah 3 jenis medium standar yang ditambahkan cairan folikel dari folikel dengan ukuran berbeda (A: 2 – 4 mm, B: 5 – 9 mm dan C: 10 – 20 mm) setiap perlakuan diulang sebanyak 5 kali. Peubah yang diukur dalam penelitian ini adalah tingkat ekspansi kumulus.

Prosedur pelaksanaan penelitian terdiri dari beberapa tahapan sebagai berikut:

a. Pembuatan Serum Sapi Berahi

Darah dari *vena jugularis* sapi betina berahi diletakkan dalam *refrigerator* selama delapan jam. Cairan bening (*supernatan*) diambil kemudian *diinaktivasi* dalam inkubator pada suhu 56°C selama 30 menit. Serum kemudian dimasukkan dalam *ependorf* dan disimpan dalam *freezer* (suhu -4°C) sebagai stok (Nasich dkk, 2001).

b. Pengumpulan Ovarium

Ovarium dimasukkan dalam media koleksi. Media koleksi (NaCl 0.9% + *streptomisine* dan *penicilline* 0.01%) dalam termos dengan suhu 30 - 35°C (Nasich. dkk, 2001).

c. Pencucian Ovarium

Ovarium dimasukkan dalam dekker plastik 1L lalu ditambahkan dengan NaCl 0,9% hingga seluruh ovarium tergenangi. Ovarium kemudian diremas-remas perlahan untuk mengeluarkan darah yang tertinggal, setelah itu medium koleksinya dibuang. Perlakuan ini diulang sebanyak tiga kali.

Pada akhir pencucian larutan medium koleksi kembali ditambahkan dan selama pencucian dekker tetap berada di atas *waterbath* dengan suhu 37°C (Hansen, 1999).

d. Koleksi Cairan Folikel

Ovarium terlebih dahulu dikeringkan dengan kertas tisu, bagian dasar ovarium kemudian dijepit dengan hemostat, mesovarium kemudian dihilangkan dengan menggunakan *scalpel*. Selanjutnya cairan folikel diisap dengan menggunakan spuit, cairan folikel kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi yang telah diberi label berdasarkan ukuran folikel yang diambil cairannya. Cairan folikel kemudian *dicentrifuge* pada 3850 g selama 15 menit (suhu kamar) (Ayoub and Hunter, 1993).

Supernatan diambil kemudian *diinaktivasi* dalam *waterbath* pada suhu 56 °C selama 30 menit, setelah itu dimasukkan dalam *freezer*. Jika hendak digunakan terlebih dahulu di *thawing* (Nasich dkk, 2001).

e. Pembuatan Medium Maturasi

Menyiapkan tiga buah Tabung reaksi (Tabung A, B dan C) yang telah disterilkan, selanjutnya tabung tersebut diisi dengan komposisi sebagai berikut :

Tabung A = 16 ml M-199 + 2 ml EBS + (2 ml CF dari ukuran 2 - 4 mm)

Tabung B = 16 ml M-199 + 2 ml EBS + (2 ml CF dari ukuran 5 - 9 mm)

Tabung C = 16 ml M-199 + 2 ml EBS + (2 ml CF dari ukuran 10 - 20 mm)

Keterangan:

M 199	=	Medium Kultur Standar 199
EBS	=	<i>Estrus Bovine Serum</i> (serum sapi betina birahi)
CF	=	Cairan Folikel



f. Pengambilan Oosit dari Folikel (*aspirasi* oosit)

Medium koleksi dimasukkan dalam dekker 400 ml sebanyak 200 ml. Ovarium yang telah dicuci terlebih dahulu dikeringkan dengan kertas tisu, bagian dasar ovarium dijepit dengan hemostat lalu mesovariumnya dihilangkan. Dilakukan penyayatan pada permukaan folikel, ovarium kemudian digoyang-goyangkan dalam dekker sambil sesekali ovarium ditekan kebagian dinding dekker. menggunakan pisau *scalpel* permukaan folikel yang mempunyai keseragaman ukuran disayat *aspirasi* oosit imatur dari folikel berukuran 2 – 6 mm dengan jarum berukuran 18 G. Oosit dan cairan folikel dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10ml cairan pencuci oosit lalu didiamkan selama 30 menit. Supernatan kemudian dibuang, pada endapan ditambahkan lagi cairan pencuci oosit, diulang sampai 3 kali (Hansen, 1999).

g. Evaluasi Oosit

Selanjutnya dilakukan kualifikasi terhadap oosit yang akan dimatangkan, kualitas oosit imatur ditentukan berdasarkan penilaian visual dari kekompakan sel kumulus yang diamati di bawah pembesaran 400 kali, lalu diklasifikasikan ke dalam kualitas A, B dan C menurut Maddison dan Greeve (1992) berdasarkan pada:

- Kualitas A: Oosit dikelilingi oleh multilayer kumulus ooforus dan sel korona radiate yang kompak dan tebal.
- Kualitas B: Oosit dikelilingi oleh sel korona radiate yang kompak, sedangkan sel kumulus ooforus kurang kompak.
- Kualitas C: Oosit dikelilingi oleh sel kumulus ooforus sel korona radiata yang kurang kompak.

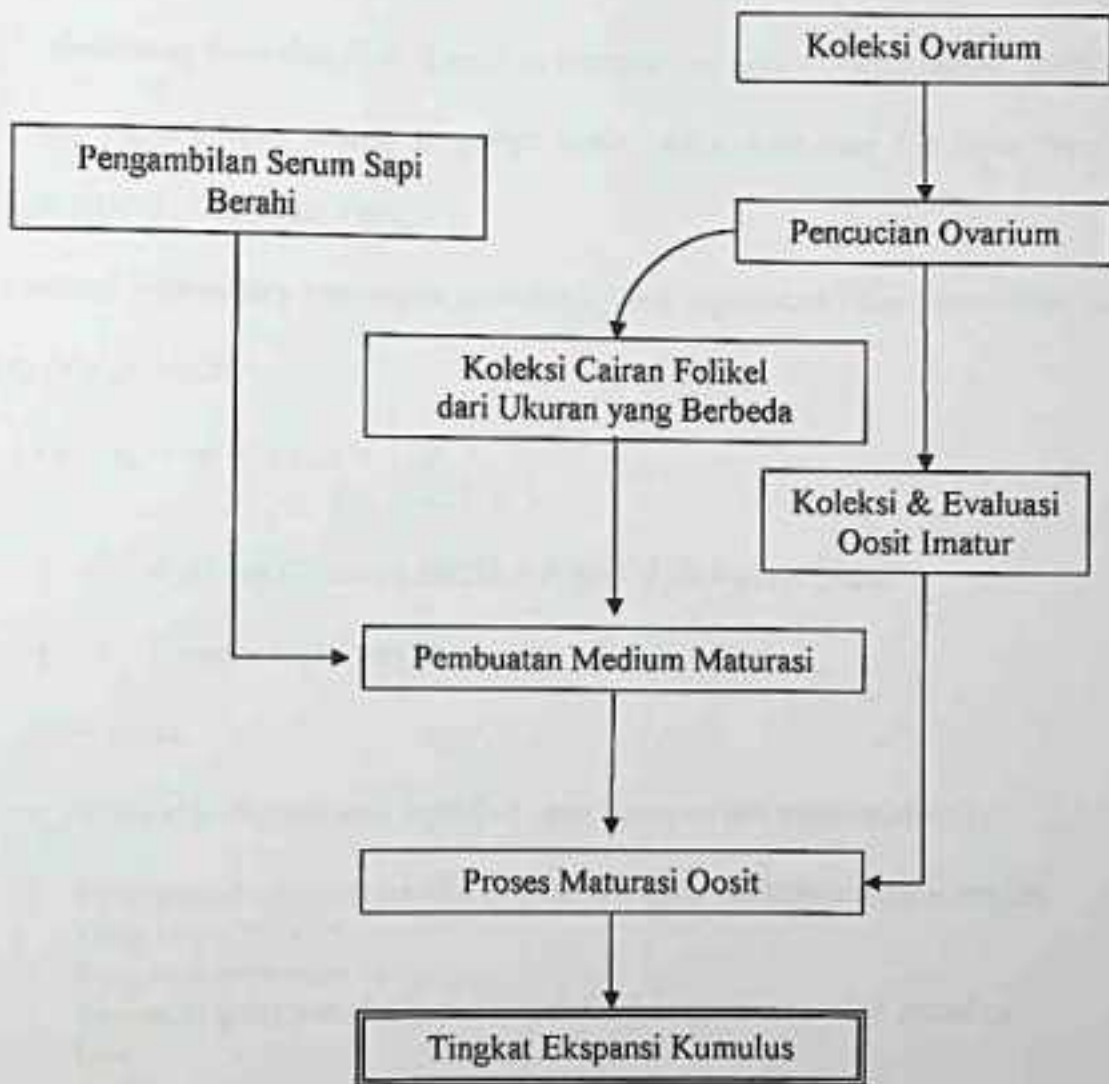
h. Proses Pematangan Oosit (IVM)

Endapan Oosit hasil pencucian ke-3 dan telah dievaluasi ditambah larutan pencuci oosit 10 ml dan dituang dalam cawan petri. Oosit diambil dengan menggunakan pipet pasteur ke dalam media pematangan *dorp* 200 μ l sebanyak dua kali, lalu dipindahkan ke dalam *dorp* 100 μ l lalu dimasukkan dalam inkubator CO₂ 5% dengan temperatur 39 °C selama 24 jam (Hansen, 1999).

i. Evaluasi Perkembangan Ekspansi Kumulus

1. Oosit yang sudah dimatangkan selama 24 jam diamati perkembangan ekspansi kumulusnya di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali.
2. Selanjutnya dilakukan klasifikasi ke dalam 3 tingkatan (Shamsuddin, *et al.*, 1993) :
 - 0 : tidak ada perkembangan sel kumulus
 - 1 : Sel kumulus berkembang sebagian
 - 2 : Sel kumulus berkembang secara sempurna

Adapun mekanisme penelitian yang dilakukan dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Bagan Tahapan Penelitian

Analisis Data

Data yang diperoleh akan dianalisis berdasarkan analisis sidik ragam, apabila perlakuan menunjukkan adanya pengaruh nyata, maka dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) (Gaspersz, 1991).

Model matematika rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = u_i + \tau_i + \varepsilon_{ij}, \quad \begin{array}{l} i = 1, 2, 3 \\ j = 1, 2, 3, 4, 5 \end{array}$$

i = A, B dan C (cairan folikel dari folikel ukuran berbeda)

j = Ulangan perlakuan ke- i

Keterangan:

Y_{ij} = Tingkat perkembangan kumulatif yang memperoleh perlakuan ke- i

u = Nilai tengah umum (rata-rata populasi) tingkat perkembangan kumulatif yang sesungguhnya













τ_i = Pengaruh perlakuan ke- i

ε_{ij} = Pengaruh galat percobaan pada oosit ke- j yang memperoleh perlakuan ke- i

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas Oosit

Kualitas oosit sapi Bali sebelum dan sesudah inkubasi yang diperoleh pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 2.

Oosit Sebelum Inkubasi	Diinkubasi pada Medium berdasarkan Ukuran Folikel	Oosit Sesudah Inkubasi		
		Tingkat Ekspansi Kumulus		
		0	1	2
	2-4mm			
	5-9mm			
	10-20mm			

Keterangan :

1. Oosit
2. Zona Pellucida
3. Korona Radiata
4. Kumulus Oophorus

Gambar 2. Oosit Sebelum dan Sesudah Inkubasi yang Dimaturasi Menggunakan Cairan Folikel dari Folikel Ukuran yang Berbeda. Diamati dibawah Mikroskop dengan Perbesaran 40x10.

Pada penelitian ini koleksi oosit imatur dilakukan dengan cara penyayatan dari folikel berukuran 2-6 mm. Penilaian kualitas oosit imatur ditentukan berdasarkan penilaian visual dari kekompakan dan banana kumulus yang diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali, setelah itu diklasifikasikan ke dalam kualitas A, B dan C menurut Maddison dan Greeve (1992).

Pada Gambar 2 dapat dilihat oosit sebelum diinkubasi dikelilingi oleh sekelompok sel folikel yang membentuk gundukan yang disebut kumulus oophorus. Sel folikel kumulus oophorus yang langsung berhubungan dengan oosit tersusun radier dan membentuk korona radiata, yang dipisahkan dari telur hanya zona pellucida.

Oosit sebelum diinkubasi (Gambar 2) merupakan oosit imatur hasil penilaian yang termasuk kualitas A. Pada penelitian ini hanya oosit yang berkualitas A (Oosit dikelilingi oleh multilayer sel folikel, baik sel kumulus oophorus maupun sel korona radiata yang kompak dan tebal) yang memiliki syarat untuk diproses lebih lanjut pada maturasi *in vitro*. Sesuai pendapat Tappa (1995) yang mengemukakan bahwa hanya oosit yang berkualitas A saja yang merupakan kualitas paling baik dan akan menghasilkan oosit metafase II yang dipergunakan untuk maturasi *in vitro*. Djati (1999), menambahkan bahwa hanya oosit yang berkualitas baik saja yang dapat melalui tahap *germinal vesicle* (GV) dan *germinal vesicle break down* (GVBD) dengan baik dan sebagian terbesar mencapai metafase II.

Pada penelitian ini tingkat penggunaan cairan folikel dalam medium maturasi adalah sebesar 10%. Hal ini sesuai dengan pendapat Larocca, *et. al.* (1993), bahwa

penggunaan cairan folikel (10%) dalam medium maturasi akan memacu maturasi oosit sapi, meningkatkan persentase pembelahan dan kemampuan untuk berkembang menjadi blastosit.

Pada penelitian ini bagian terpenting dari maturasi *in vitro* oosit sapi adalah lapisan sel-sel kumulus yang berada disekeliling oosit, hal ini disebabkan karena sel-sel ini bertindak sebagai perantara diantara oosit dan sel-sel folikuler dalam memelihara lingkungan serta berperan dalam proses pematangan oosit berupa pemberi sarana (fasilisator) dalam proses metabolisme hormonal, nutrisi serta komunikasi sel. Sesuai pendapat Kidson, (2005) bahwa sel-sel kumulus berfungsi sebagai pemberi peran metabolisme dan melindungi oosit dalam maturasi inti. Sejalan dengan pendapat Kennedy, *et.al.*, (1994) bahwa terjadinya perkembangan kumulus memberi peran dalam menciptakan lingkungan mikro untuk oosit berupa peningkatan kebutuhan makanan oosit.

Pada Gambar 2, hasil oosit imatur yang telah diinkubasi selama 24 jam, yang diamati perkembangan tingkat ekspansi kumulusnya di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali. Pelaksanaan penilaian kualitas oosit ditentukan berdasarkan penilaian visual dari perkembangan sel-sel kumulusnya, selanjutnya diklasifikasikan ke dalam 3 tingkatan (0, 1 dan 2) menurut Shamsuddin, *et al.*, (1993).

Kualitas oosit yang termasuk tingkat 0 adalah oosit yang setelah diinkubasi secara morfologi tidak mengalami ekspansi sel kumulus, bahkan cenderung lapisan sel-sel kumulus terpisah dari oosit serta zona pellucida dan korona radiata sudah tidak tampak terlihat, untuk kualitas oosit tingkat 1, terjadinya ekspansi sel-sel kumulus

sebagian dan zona pellucida dan korona radiata yang tampak terlihat sedangkan untuk oosit tingkat 2 dapat dilihat pada terjadinya ekspansi sel kumulus yang tampak kompak dan tebal yang mengelilingi oosit serta zona pellucida dan korona radiata yang jelas terlihat.

Berdasarkan hasil penilaian kualitas oosit, hanya oosit yang termasuk kualitas tingkat 2 yang dapat dikoleksi untuk proses lebih lanjut seperti pada teknologi oosit beku hasil maturasi *in vitro* maupun pada fertilisasi *in vitro*, terjadinya ekspansi sel-sel kumulus pada oosit seperti yang ditemukan pada oosit tingkat 2 memberi peran dalam menciptakan lingkungan mikro untuk oosit berupa kebutuhan makanan oosit sehingga oosit dapat melanjutkan proses pematangannya. Sesuai pendapat Nasich, dkk, (2001) yang mengemukakan bahwa sel-sel kumulus adalah sel-sel granulosa yang menempel pada oosit dan dindingnya, berfungsi sebagai agen komunikasi antara sel penghubung mekanisme hormonal menuju oosit karena pada sel-sel kumulus terdapat reseptor FSH dan LH yang juga dapat berfungsi sebagai reseptor PMSG dan HCG, di samping itu sel-sel kumulus berperan juga dalam pemasukan nutrisi untuk oosit. Sel kumulus yang terdapat di sekeliling oosit dirangsang secara *in vitro* oleh hormon LH dan estrogen yang terdapat dalam cairan folikel sehingga dapat menghalangi aksi inhibitor folikuler dan memacu meiosis dibentuk dalam kumulus oosit kompleks.

Perkembangan Oosit *In Vitro*

Perkembangan oosit *in vitro* sampai pada tingkat pengembangan/ekspansi kumulus dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Ekspansi Sel-sel Kumulus Oosit kompleks (COC) pada Beberapa Medium Maturasi.

Medium	Jumlah Oosit	Tingkat Ekspansi COC (%)		
		0	1	2
Medium standar + cairan folikel dari folikel ukuran kecil (2-4mm)	34	16 (47,06% ^{aA})	7 (20,59% ^b)	11 (32,35% ^{aA})
Medium standar + cairan folikel dari folikel ukuran sedang (5-9mm)	36	10 (27,78% ^b)	12 (33,33% ^{aA})	14 (38,89% ^{aA})
Medium standar + cairan folikel dari folikel ukuran besar (10-20mm)	32	8 (25,00% ^{bB})	4 (12,50% ^{bB})	20 (62,50% ^B)

Keterangan: Huruf yang berbeda (AB) pada kolom yang sama menunjukkan berbeda sangat nyata ($P < 0,01$).

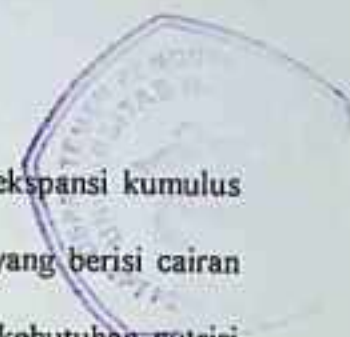
Huruf yang berbeda (ab) pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$).

Hasil analisis ragam terhadap ekspansi sel-sel kumulus (Lampiran 5) menunjukkan adanya pengaruh nyata ($P < 0,05$) perlakuan medium maturasi terhadap tingkat ekspansi kumulus tidak berkembang (tingkat 0). Pada uji BNT (Lampiran 6) diperoleh hasil bahwa jumlah oosit dengan tingkat ekspansi kumulus tingkat 0 (tidak berkembang) dari medium A nyata lebih tinggi ($P < 0,05$) dibanding medium B dan sangat nyata lebih tinggi ($P < 0,01$) dibanding medium C. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan medium standar yang berisi cairan folikel dari folikel ukuran kecil dapat memacu tingkat maturasi oosit pada ekspansi sel kumulus tingkat 0 dibanding menggunakan medium standar yang berisi cairan folikel dari folikel ukuran sedang dan besar.

Penurunan daya hidup dari oosit sehingga oosit imatur tidak berkembang (tingkat 0), sangat dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi yang dibutuhkan untuk

berkembang dan mempertahankan kondisi fisiologisnya selama maturasi, yang bersumber dari medium standar yang menggunakan cairan folikel dari folikel ukuran kecil, tidak mampu mensubsidi oosit untuk menjalankan fungsinya seperti pada kondisi di dalam tubuh ternak. Hal ini sesuai pendapat Krisher, (2003) yang mengemukakan bahwa oosit yang dimaturasi secara *in vitro* sering mengalami perubahan metabolisme dan menurunkan potensi perkembangan oosit. Hal ini bisa terjadi akibat defisiensi medium maturasi, abilitas oosit itu sendiri atau keduanya. Walaupun hanya sedikit oosit yang tidak mampu untuk mempertahankan kontrol metabolismenya, namun ia akan menghambat penurunan daya hidupnya. Regulasi metabolisme nutrisi dikontrol pada berbagai level, termasuk ketersediaan substrat untuk kebutuhan pokok, sistem transpor membran plasma dan aktivitas enzim serta regulasinya.

Hasil analisis ragam terhadap ekspansi sel-sel kumulus (Lampiran 7) menunjukkan adanya pengaruh nyata ($P < 0,05$) perlakuan medium maturasi terhadap tingkat ekspansi kumulus tingkat I (berkembang sebagian). Pada uji BNT (Lampiran 8) diperoleh hasil bahwa jumlah oosit dengan tingkat ekspansi kumulus tingkat I (berkembang sebagian) dari medium B nyata lebih tinggi ($P < 0,05$) dibanding medium A dan sangat nyata lebih tinggi ($P < 0,01$) dibanding medium C. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan medium standar yang berisi cairan folikel dari folikel ukuran sedang dapat menunjang tingkat maturasi oosit pada ekspansi sel kumulus tingkat I dibanding menggunakan medium standar yang berisi cairan folikel dari folikel ukuran kecil dan besar.



Kemampuan oosit imatur yang hanya mampu mengalami ekspansi kumulus sebagian, mungkin disebabkan oleh penggunaan medium standar yang berisi cairan folikel dari folikel ukuran sedang telah cukup mampu memenuhi kebutuhan nutrisi oosit untuk berkembang serta adanya pengaruh hormonal seperti estradiol yang terdapat pada cairan folikel yang terus meningkat seiring pertumbuhan folikel yang dapat merangsang sel-sel granulosa untuk melakukan mitosis. Sebagaimana pendapat Hiller, dkk., (1998) yang mengemukakan bahwa estradiol merupakan *regulator autokrin intrafolikuler* (yang mempunyai kegiatan di dalam folikel itu sendiri) yang merangsang mitosis sel-sel granulosa dan dapat meningkatkan aktifitas LH dan FSH melalui peningkatan jumlah reseptornya.

Hasil analisis ragam terhadap ekspansi sel-sel kumulus (Lampiran 9) menunjukkan adanya pengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) perlakuan medium maturasi terhadap tingkat ekspansi kumulus tingkat 2 (berkembang sempurna). Pada uji BNT (Lampiran 10) diperoleh hasil bahwa jumlah oosit dengan tingkat ekspansi kumulus tingkat 2 (berkembang sempurna) dari medium C sangat nyata lebih tinggi ($P < 0,01$) dibanding medium A dan B. Hal ini mengindikasikan bahwa penggunaan medium standar yang berisi cairan folikel dari folikel ukuran besar sangat menunjang tingkat maturasi oosit pada ekspansi sel kumulus tingkat 2 dibanding menggunakan medium standar yang berisi cairan folikel dari folikel ukuran kecil dan sedang.

Dari hasil penelitian ini dapat diketahui bahwa penggunaan cairan folikel yang berasal dari folikel ukuran besar dalam medium maturasi dapat merangsang maturasi oosit sapi pada ekspansi kumulus yang berkembang sempurna. Hal ini

didukung oleh Palvok, *et. al.* (1992), Lonergan, *et. al.*, (1994) and Marchal, *et. al.*, (2002) yang mengemukakan bahwa dalam beberapa penelitian menunjukkan bahwa koleksi oosit yang berasal dari folikel yang besar *large diameter follicles* (LF) lebih memungkinkan untuk berkembang menjadi blastosit dari pada koleksi oosit yang berasal dari folikel ukuran kecil *small diameter follicles* (SF). Walaupun beberapa koleksi oosit yang berasal dari SF dan LF telah mampu untuk berkembang secara *in vitro* menjadi sebuah blastosit.

Pada oosit yang dimaturasi menggunakan medium standar yang berisi cairan folikel dari folikel besar terdapat pula oosit yang tidak berkembang (kualitas tingkat 0) dan oosit yang hanya berkembang sebagian (kualitas tingkat 1), fenomena ini mungkin disebabkan oleh adanya efek penghambat (inhibin) oleh cairan folikel yang berasal dari sel granulosa sehingga menghambat terbentuknya meiosis sel-sel kumulus. Meskipun aktifitas penghambat ini akan menurun seiring penyentakan gonadotropin. Hal ini sejalan pernyataan Nasich, dkk., (2001) yang mengemukakan bahwa, hubungan antara sel-sel granulosa dan sel-sel kumulus di sekitar oosit mengakibatkan oosit tertahan untuk tidak mengalami meiosis, apabila hubungan ini sudah merenggang oleh faktor-faktor pematangan oosit atau sel kumulus yang berkembang akan mengakibatkan *gap junction* dengan cepat menurun jumlahnya yang berakibat akses penghambat berlangsungnya meiosis berkurang drastis. Didukung pendapat Pritchard, (1991) bahwa inhibisi merupakan taraf berhentinya perkembangan miosis dan proses meiosis dapat berjalan kembali tergantung dari interaksi antara gonadotropin, sel-sel folikel dan oosit.

Adanya perbedaan tingkat ekspansi kumulus pada oosit setelah dimaturasi secara *in vitro* dari berbagai medium (Tabel 2) dipengaruhi oleh substansi-substansi penyusun cairan folikel yang berbeda-beda sesuai dengan ukuran folikel. Hal ini sesuai pendapat Iwata, et. al., (2004) yang mengemukakan bahwa substansi yang menyusun cairan folikel mengalami keragaman sesuai dengan tingkat perkembangan dan pertumbuhan folikel. Konsentrasi elektrolit (Na, K, Ca, dan Ca) dan glukosa dalam cairan folikel kecil (SF) dan folikel yang besar (LF) memberikan pengaruh yang berbeda terhadap tingkat maturasi inti.

Terjadinya ekspansi kumulus secara sempurna pada berbagai medium disebabkan karena adanya kerja sama sinergik antara serum sapi berahi dan cairan folikel dalam meningkatkan proliferasi sel kumulus. Hal ini sesuai dengan pendapat Dawns (1989) yang mengemukakan bahwa hormon estrogen dan progesteron yang terdapat dalam cairan folikel dan *Estrus Bovine Serum* (EBS) akan mengakibatkan meningkatnya sintesis DNA sel-sel kumulus untuk berproliferasi. Selain itu *epidermal growth factor* (EGF) yang terkandung dalam serum akan menstimulir interkomunikasi pada kompleks kumulus oosit, sehingga menghasilkan tingkat perkembangan kumulus yang tinggi. Didukung oleh Krisher, (2004) bahwa selama kultur COC, FSH dan insulin dalam cairan folikel menstimulir ekspansi reseptor LH sel-sel granulosa abnormal di sekitar atau di sekeliling oosit.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Penggunaan cairan folikel yang berasal dari folikel ukuran berbeda (kecil 2-4mm, sedang 5-9mm dan besar 10-20mm) dalam medium standar memberi pengaruh terhadap ekspansi kumulus oosit sapi Bali.
2. Medium standar yang berisi cairan folikel dari folikel ukuran besar merupakan medium yang terbaik untuk pematangan *in vitro* oosit sapi Bali.

Saran

Menggunakan cairan folikel pada medium maturasi *in vitro* sebaiknya yang berasal dari folikel ukuran besar.

DAFTAR PUSTAKA

- Aryaratna, H.B.S., V.K. Gunawardana. 1996. Morphology and Morphometry of Ovarian Follicles in The Goat. Departemen of Preclinical Study Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Universitas of Peradeniya, Sri Lanka.
- Ayoub, A. M. and A. G. Hunter. 1993. Inhibitory effect of bovine follicular fluid on in vitro maturation of bovine oocytes. *J Dairy Sci.* 76: 59 – 100.
- De Haan, R. L., 1994. Gap junction communication and cell adhesion in development. *Zygote* 2: 183 – 189.
- Djati, M.S. 1999. Optimalisasi Proses Fertilisasi In Vitro dengan Suplementasi PMSG dan HCG serta Efisiensi Kultur Klon Embrio Sapi dengan IGF-I. Disertasi Doktor. IPB, Bogor.
- Downs, S.M. 1989. Specyfity of epidermal growth factor action on the murine oocyte and cumulus oophorus in vitro. *J. Reprod. Fert.* 46: 371-379.
- Hafez, E.S.E. and B. Hafez., 2002. Folliculogenesis, egg maturation and ovulation. In: Hafez ESE, ed. *Reproduction in Farm Animal*. 7th ed. Lea and Fibiger, Philadelphia.
- Hansen, J.P. 1999. *In Vitro Production*. http://hansen.ufl.edu/ABBREVIATED_IVP_PROTOCOL/IVM/IVP.htm. (diakses: Juni 2005).
- Homa, S.T. & Brown, C.A. 1992. Change in linoleic acid during follicular development and spontaneous breakdown of germinal vesicles in cumulus free bovine oocytes. *J. Reprod. Fert.* 94: 153 – 160.
- Hunter, R.H.F. 1995. *Fisiologi dan Teknologi Reproduksi Hewan Betina Domestik*. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Ireland., Jahsen T. Hedin L., Lifka J., Ratoosh S., Durica J.M & Goldring N.B., 1987. Ovarian Follicular development: From physiology to molekular biology. *Rec.Prog.Horm. Res*: 43: 231-276.
- Iwata, H. S. Hashimoto., M. Ohota., K. Kimura., K. Shibano and M. Miyake. 2004. Effects of follicle size and electrolytes and glucose in maturation medium on nuclear maturation and developmental competence of bovine oocytes. *Reproduction*. 127: 159-164.

- Kennedy, S. England, M.A. & Mills, C. 1994. Human cumulus cell complexes studied in vitro by light microscopy and electron microscopy.
- Kidson, A. 2005. In Vitro Embryo Development in The Pig. *Veterinary Science Tomorrow*. 1-12.
- Kim, K.S., Tajima, Yamaji, Nitzumiso, Fujita, K., Cho, H.J., Kato, H. & Utsumi, K. 1993. Effect of supplemented follicular fluid to IVM serum free medium and development of bovine oocytes. *Jap. Soc. Anim. Reprod. Tech.* 15: 41 – 48.
- Krisher, L. R., 2004. The effect of oocyte on development. *J. Anim. Sci* 82: E14 – E32.
- Larocca, C. S. Kmaid & Calvo, J. 1993. Effect of follicular fluid and estrus cow serum on maturation, fertilization and development bovine oocytes in vitro. *Theriogenology* 39:253. Abstr.
- Leeson, C. R. 1996. *Buku Teks Histologi*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Lonergan, P., P. Monaghan, D. Rizos, M.P. Boland, and I. Gordon. 1994. Effect of follicle size on bovine oocyte quality and developmental competence following maturation, fertilization and culture in vitro. *Mol. Reprod. Dev.* 37: 48-53.
- Maddison V., and T. Greeve. 1992. Selection of immature oocytes using ethylene glycol with sucroos of trehalose. *J. Reprod. Fert.* 100: 123 – 129.
- Marchal, R., C. Vigneron, C. Perreau, A. Bali-papp, and P. Mermillod. 2002. Effect of follicular size on meiotic and development competence of porcine oocytes. *Theriogenology* 57: 1523-1532.
- Mattioli, M. 1994. Transduction mechanism for gonadotrophin induces oocyte maturation in mammals. *Zigote* 2: 347 – 349.
- McNelly A.S., Jonassen J.A. & Fraser H.M., 1986. Suppression of follicular development after chronic LH-RH immunoneutralization in the ewe. *J. Reprod. Fert.* 76:481- 490.
- Nasich, M. Ciptadi, G. Wahyuningsih, S. 2001. Perkembangan kumulus oosit kompleks (COC) dan tingkat metafase II oosit kambing dalam medium hasil modifikasi menggunakan cairan folikel. *J. Ilmu-Ilmu Hayati*. 13: 129 – 134.

- Palvok, A., A. Lucas-Hahn and H. Nieman. 1992. Fertilization and development competence of bovine oocytes derived from different categories of antral follicles. *Mol. Reprod. Dev.* 31: 63-67.
- Pritchard, J.A., P. C. MacDonald and N. F. Gant. 1991. *Obstetri Williams*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Richards J.S. 1980. Maturation of ovarian follicles: Actions and interaction of pituitary and ovarian hormones on follicular cell differentiation. *Physiological Reviews* 60:51-89.
- Shamsuddin, M. Larrison, B. Martinez, H. R., 1993. Maturation related changes in bovine oocytes under different cultur condition. *J. Anim. Reprod. Sci.* 31: 49 – 59.
- Sonjaya, H., 1985 . Croissance folliculaire chez l'agnelle: Son Controle Application a la detection precoce de la Prolificite. Thesis. Diplome D'Etude Approfondies. (D.E.A). Universite Des Sciences et Technique Languedoc. Montpellier.
- Sonjaya, H dan Driancourt, M.A.D., 1987. Ovarian Follicles during infancy in Romanov and Ile-de-France ewe lambs. *J. Reprod. Fert.* 81: 241-248.
- Spicer, L. J. And S. E. Echtenkarp. 1985. Ovarian follicular growth, function and turnover in cattle:A review. Michigan State University, East Lansing and U.S. Departement of Agriculture. Hal:429-451.
- Tappa, B. 1995. Bioteknologi Reproduksi. Penelitian dan Aplikasi dalam Prosesing Lokakarya Nasional I. Bioteknologi Peternakan. Hal:107-126.
- Toelihere, M. 1985. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Angkasa, Bandung.
- Tomaszewska, M. W., I.K. Utama., I.G. Putu dan T.D. Chaniago. 1991. Reproduksi, Tingkah Laku, dan Reproduksi Ternak di Indonesia. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Yatim. 1990. Biologi Modern Histologi. Tarsito, Bandung.

DAFTAR ISTILAH

- Cairan folikel.** Cairan kental kaya akan asam hialuronat yang terdapat didalam folikel antrum.
- Estrogen.** Hormon betina yang disekresikan oleh ovarium. Secara alamiah estrogen tersebar luas dengan struktur yang berbeda-beda. Estrogen yang khusus dihasilkan oleh ovarium (terutama dari folikel de Graf) disebut estradiol.
- Estrus Bovine serum.** Bagian cair darah setelah pengeluaran fibrinogen dan faktor-faktor penggumpal darah atau bagian yang bening yang dipisahkan dari gumpalan butir-butir darah.
- Gap junction.** Hubungan celah yang memungkinkan lewatnya ion-ion serta molekul kecil dari satu sel ke sel yang lain. Jadi memungkinkan lewatnya impuls listrik dan mungkin terjadinya sinkronisasi fungsional dan kerja sama metabolisme antar sel. Disinilah letak pentingnya hubungan celah, karenanya banyak terdapat pada sel-sel jaringan tubuh, kecuali pada otot rangka, spermatozoa dan benda darah dalam aliran darah.
- Glycoprotein.** Protein gabungan yang terbentuk dari kombinasi protein dan rantai samping (side chain) karbohidrat.
- Gonadotropin.** Hormon penggiat folikel (FSH) dan hormon pengimbas lutien (LH), mengelola pematangan folikel dan pembentukan korpus luteum.
- Immature.** Belum matang/tidak dewasa.
- In vitro.** Luar tubuh.
- Korona radiata.** Sel folikel kumulus oofhorus yang langsung berhubungan dengan oosit dan tersusun radier, yang dipisahkan dari oosit hanya zona pellucida.
- Kumulus oophorus.** Pada saat membran granulosa lebih tebal dari bagian lainnya dengan membentuk gundukan di mana didalamnya terletak oosit.
- Mature.** Telah matang/dewasa.
- Meiosis.** Salah satu macam pembelahan sel di mana terjadi reduksi jumlah kromosom dalam pembentukan sperma atau oosit. Reduksi ini diperlukan agar jumlah kromosom dari hewan yang bersangkutan, tetap. Dalam hal ini tiap-tiap seks menyumbang separuh dari jumlah kromosom, jadi dari 'diploid' menjadi 'haploid'.
- Membran granulosa.** Epitel berlapis yang terdiri atas sel folikel yang membentuk lapisan utuh dan teratur.
- Mitosis.** Salah satu cara pembelahan sel di mana sel diploid (2n) tidak mengalami reduksi, yaitu tetap 2n
- Oosit.** Fase perkembangan dari oogonia. Oosit primer membelah reduksi menjadi oosit sekunder dan polar body atau sel telur muda yang akan mengalami meiosis dan pematangan untuk menjadi sel telur.
- Ovarium.** Organ reproduksi primer yang terdapat pada ternak betina, yang homolog dengan testis pada ternak jantan. Ovarium adalah organ yang menghasilkan ovum (telur) yang nantinya akan dibuahi, serta hormon (estrogen dan progesteron).

Morfologi ovarium sapi yaitu: Bentuk, ukuran dan berat: Oval; 3,75 x 2,5 x 1,25 cm; sekitar 11 sampai 18 gram. Posisi: Umumnya pada dinding lateral dari inlet pelvis. Kanan biasanya lebih besar dari kiri. Sekitar 40 atau 45 cm dari vulva. Posisi bervariasi berdasar seiringnya melahirkan. Permukaan: Folikel dan korpora lutea, sama-sama menonjol.

Proliferasi. Pembelahan beberapa kali secara mitosis.

Sel folikel. Sel yang membina folikel, untuk menyalurkan bahan nutrisi dari tubuh induk dan melindungi oosit yang sedang tumbuh didalamnya. Jika folikel tumbuh lanjut sel inti disebut juga sel granulosa.

Stimulasi. Dorongan rangsangan.

Zona pellucida. Lapisan mukoid yang jernih dan membungkus oosit, tampak homogen sewaktu segar dan berwarna cerah serta banyak mengandung glikoprotein.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Pengambilan Sampel Ovarium untuk Pengambilan Cairan Folikel dan COC di RPH Tamangappa, Makassar.

Tabel 3. Data Pengambilan Cairan Folikel.

Pengambilan	Sapi (ekor)	Rata-Rata Umur	Jumlah Ovarium	Cairan Folikel (ml)		
				SM	MF	LF
I	8	2 - 2,5	14			
II	12	2 - 2,5	22			
III	12	2 - 3,5	24	12	12	16
IV	6	3 - 3,6	12			
V	8	2 - 3,0	16			
Jumlah	46		88	12	12	16

Tabel 4. Data Pengambilan Sampel Ovarium untuk Pengambilan COC.

No.	Sapi (ekor)	Rata-Rata Umur	Jumlah Ovarium	Kualitas COC		
				A	B	C
I	12	2 - 3	24	87	7	8
II	9	2 - 2,5	16	74	6	3
III	10	2 - 2,5	18	70	7	5
	31		62	231	20	16

Lampiran 2. Data Pengambilan Sampel Serum Sapi Berahi (EBS) di Wilayah Resipiens IB Kebun Sari, Wonomulyo, Polewali Mandar.

Tabel 5. Data Pengambilan Sampel Serum Sapi Berahi (EBS)

No.	Tanggal	Umur (tahun)	Kuant. (ml)	Serum (ml)
1	02/12/2005	2	3	1,5
2	03/12/2005	2,5	3	1,5
3	04/12/2005	3	3	1
4	05/12/2005	3,5	3	1,5
5	06/12/2005	2,5	3	0,5
6	07/12/2005	2	3	1,5
7	08/12/2005	2	3	1,5
8	09/12/2005	3	3	1
9	10/12/2005	3,5	3	1
10	11/12/2005	2	3	1,5
11	12/12/2005	2,7	3	1,5
12	13/12/2005	1,5	3	1
13	14/12/2005	2	3	1
14	15/12/2005	2	3	1,5
15	16/12/2005	2,3	3	1,5
16	17/12/2005	2	3	1,5
17	18/12/2005	2	3	1,5
18	19/12/2005	2	3,5	2
19	20/12/2005	2	3	1
20	21/12/2005	2	3	1,5
	Total	46,50	60,50	26,50
	Rata-Rata	2,33	3,03	1,33

Lampiran 3. Data Hasil Pengamatan Perkembangan Ekspansi Sel Kumulus.

Tabel 6. Perkembangan Ekspansi Sel Kumulus.

Medium	Jumlah Oosit	Perkembangan COC		
		0	1	2
A	6	3	1	2
A	10	4	3	3
A	7	4	2	1
A	6	3	0	3
A	5	2	1	2
	34	16	7	11
B	7	1	3	3
B	7	1	3	3
B	6	2	2	2
B	8	4	2	2
B	8	2	2	4
	36	10	12	14
C	7	2	1	4
C	7	2	0	5
C	6	1	1	4
C	7	2	1	4
C	5	1	1	3
	32	8	4	20

		0	1	2
A	34	16	7	11
B	36	10	12	14
C	32	8	4	20
Total	102	34	23	45

Medium	Jumlah Oosit	Perkembangan COC (%)		
		0	1	2
A	34	47,06%	20,59%	32,35%
B	36	27,78%	33,33%	38,89%
C	32	25,00%	12,50%	62,50%

Lampiran 4. Data Mentah Hasil Transformasi Arcsin Tingkat Perkembangan Ekspansi Sel Kumulus Oosit (Tingkat 0, 1 dan 2) pada Sapi Bali.

Tabel 7. Pengaruh Jenis Medium Terhadap Ekspansi Sel Kumulus Oosit pada Tingkat Perkembangan 0 (tidak mengalami ekspansi kumulus).

r	Perlakuan		
	M1	M2	M3
I	50,00%	14,29%	28,57%
II	40,00%	14,29%	28,57%
III	57,14%	33,33%	16,67%
IV	50,00%	50,00%	28,57%
V	40,00%	25,00%	20,00%

r	Perlakuan		
	M1	M2	M3
I	0,500	0,143	0,286
II	0,400	0,143	0,286
III	0,571	0,333	0,167
IV	0,500	0,500	0,286
V	0,400	0,250	0,200

r	Perlakuan			Total
	M1	M2	M3	
I	45,000	22,219	32,330	
II	39,232	22,219	33,330	
III	49,082	35,244	24,120	
IV	45,000	45,000	32,330	
V	39,232	30,000	26,565	
Total	217,546	154,682	148,675	520,903
Rata-rata	43,509	30,936	29,735	

Tabel 8. Pengaruh Jenis Medium Terhadap Ekspansi Sel Kumulus Oosit pada Tingkat Perkembangan I (mengalami ekspansi kumulus sebagian).

r	Perlakuan		
	M1	M2	M3
I	16,67%	42,86%	14,29%
II	30,00%	42,86%	3,57%
III	28,57%	33,33%	16,67%
IV	4,17%	25,00%	14,29%
V	20,00%	25,00%	20,00%

r	Perlakuan		
	M1	M2	M3
I	0,167	0,429	0,143
II	0,300	0,429	0,036
III	0,286	0,333	0,167
IV	0,042	0,250	0,143
V	0,200	0,250	0,200

r	Perlakuan			Total
	M1	M2	M3	
I	24,120	40,918	22,219	
II	33,211	40,918	10,937	
III	32,330	35,244	24,120	
IV	11,826	30,000	22,219	
V	26,565	30,000	26,565	
Total	128,052	177,080	106,060	411,192
Rata-rata	25,610	35,416	21,212	

Tabel 9. Pengaruh Jenis Medium Terhadap Ekspansi Sel Kumulus Oosit pada Tingkat Perkembangan 2 (mengalami ekspansi kumulus secara sempurna).

r	Perlakuan		
	M1	M2	M3
I	33,33%	42,86%	57,14%
II	30,00%	42,86%	71,43%
III	14,29%	33,33%	66,67%
IV	50,00%	25,00%	57,14%
V	40,00%	50,00%	60,00%

r	Perlakuan		
	M1	M2	M3
I	0,333	0,429	0,571
II	0,300	0,429	0,714
III	0,143	0,333	0,667
IV	0,500	0,250	0,571
V	0,400	0,500	0,600

r	Perlakuan			Total
	M1	M2	M3	
I	35,244	40,918	49,082	
II	33,211	40,918	57,670	
III	22,219	35,244	54,755	
IV	45,000	30,000	49,082	
V	39,232	45,000	50,768	
Total	174,906	192,080	261,357	628,343
Rata2	34,9812	38,416	52,2714	

Lampiran 5. Analisis Sidik Ragam Ekspansi Sel Kumulus Oosit pada Tingkat Perkembangan 0 (tidak mengalami ekspansi kumulus).



A. Derajat Bebas (db)

$$\begin{aligned} \text{db total} &= (r \times t) - 1 = (5 \times 3) - 1 = 15 - 1 = 14 \\ \text{db Perlakuan} &= t - 1 = 3 - 1 = 2 \\ \text{db Galat} &= t(r - 1) = 3(5 - 1) = 3 \times 4 = 12 \end{aligned}$$

B. Faktor Koreksi (FK)

$$FK = \frac{(\sum Y_{ij})^2}{rt}$$

$$FK = \frac{(520,903)^2}{5 \times 3}$$

$$FK = \frac{271339,935}{15}$$

$$FK = 18089,329$$

C. Jumlah Kuadrat (JK)

a. Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$JKT = \sum Y_{ij}^2 - FK$$

$$JKT = (45,000)^2 + \dots + (26,565)^2 - 18089,329$$

$$JKT = 19180,670 - 18089,329$$

$$JKT = 1091,341$$

b. Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)

$$JKP = \frac{Y_1^2 + \dots + Y_i^2}{r} - FK$$

$$JKP = \frac{217,546^2 + 154,682^2 + 148,675^2}{5} - 18089,329$$

$$JKP = 18671,408 - 18089,329 = 582,079$$

c. Jumlah Kuadrat Galat (JKG)

$$JKG = JKT - JKP$$

$$JKG = 1091,341 - 582,079$$

$$JKG = 509,262$$

D. Kuadrat Tengah (KT)

a. Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)

$$KTP = \frac{JKP}{dbP}$$

$$KTP = \frac{582,079}{2}$$

$$KTP = 291,039$$

b. Kuadrat Tengah Galat (KTG)

$$KTG = \frac{JKG}{dbG}$$

$$KTG = \frac{509,262}{12}$$

$$KTG = 42,439$$

E. Frekuensi Hitung (F.Hit)

$$FH = \frac{KTP}{KTG}$$

$$FH = \frac{291,039}{42,439}$$

$$FH = 6,858$$

F. Tabel Analisa Ragam (ANOVA)

SK	DB	JK	KT	Fhit	F Tabel	
					5%	1%
P	2	582,079	291,039	6,858*	3,880	6,930
G	12	509,262	42,439			
T	14	1091,341				

Ket: * = Nyata pada taraf 5% ($P < 0,05$)

Lampiran 6. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Pengaruh Medium Maturasi Terhadap Ekspansi Kumulus Tingkat 0 (tidak mengalami ekspansi kumulus).

Beda Nyata Terkecil (*Least Significant Difference = LSD*)

$$LSD_{\alpha} = t_{\alpha} (2s^2/r)^{1/2}$$

LSD 5%

$$DBG = 2,179$$

$$KTG = 42,439$$

$$\begin{aligned} LSD_{0,05} &= t_{0,05} (2 \times 42,439 / 5)^{1/2} \\ &= 2,179 (2 \times 42,439 / 5)^{1/2} \\ &= 2,179 \times 4,120 \\ &= 8,978 \end{aligned}$$

LSD 1%

$$DBG = 3,055$$

$$KTG = 42,439$$

$$\begin{aligned} LSD_{0,01} &= t_{0,01} (2 \times 42,439 / 5)^{1/2} \\ &= 3,055 (2 \times 42,439 / 5)^{1/2} \\ &= 2,179 \times 4,120 \\ &= 12,587 \end{aligned}$$

Tabel Selisih

P		1	2	3
		43,509	30,936	29,735
1	43,509	-	12,573*	13,77**
2	30,936	-	-	1,20 ^{ns}
3	29,735	-	-	-

Ket: ** = Sangat nyata pada taraf 1% ($P < 0,01$)

* = Nyata pada taraf 5% ($P < 0,05$)

ns = tidak nyata

Lampiran 7. Analisis Sidik Ragam Ekspansi Sel Kumulus Oosit pada Tingkat Perkembangan I (mengalami ekspansi kumulus sebagian).

A. Derajat Bebas (db)

$$\text{db total} = (r \times t) - 1 = (5 \times 3) - 1 = 15 - 1 = 14$$

$$\text{db Perlakuan} = t - 1 = 3 - 1 = 2$$

$$\text{db Galat} = t(r - 1) = 3(5 - 1) = 3 \times 4 = 12$$

B. Faktor Koreksi (FK)

$$FK = \frac{(\sum Y_{ij})^2}{rt}$$

$$FK = \frac{(411,192)^2}{5 \times 3}$$

$$FK = \frac{169078,861}{15}$$

$$FK = 11271,924$$

C. Jumlah Kuadrat (JK)

a. Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$JKT = \sum_v Y_{ij}^2 - FK$$

$$JKT = (24,120)^2 + \dots + (26,565)^2 - 11271,924$$

$$JKT = 12360,692 - 11271,924$$

$$JKT = 1088,768$$

b. Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)

$$JKP = \frac{Y_1^2 + \dots + Y_t^2}{r} - FK$$

$$JKP = \frac{128,052^2 + 177,080^2 + 106,060^2}{5} - 11271,924$$

$$JKP = 11793,169 - 11271,924 = 521,245$$

c. Jumlah Kuadrat Galat (JKG)

$$JKG = JKT - JKP$$

$$JKG = 1088,768 - 521,245$$

$$JKG = 567,523$$

j. Kuadrat Tengah (KT)

a. Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)

$$KTP = \frac{JKP}{dbP}$$

$$KTP = \frac{521,245}{2}$$

$$KTP = 260,622$$

b. Kuadrat Tengah Galat (KTG)

$$KTG = \frac{JKG}{dbG}$$

$$KTG = \frac{567,523}{12}$$

$$KTG = 47,294$$

k. Frekuensi Hitung (F.Hit)

$$FH = \frac{KTP}{KTG}$$

$$FH = \frac{260,622}{47,294}$$

$$FH = 5,511$$

F. Tabel Analisa Ragam (ANOVA)

SK	DB	JK	KT	Fhit	F Tabel	
					5%	1%
P	2	521,245	260,622	5,511*	3,880	6,930
G	12	567,523	47,294			
T	14	1088,768				

Ket: * = Nyata pada taraf 5% (P<0,05)

Lampiran 8. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Pengaruh Medium Maturasi Terhadap Ekspansi Kumulus Tingkat 1 (mengalami ekspansi kumulat sebagian).

Beda Nyata Terkecil (*Least Significant Difference = LSD*)

$$LSD_{\alpha} = t_{\alpha} (2s^2/r)^{1/2}$$

$$\begin{aligned} LSD 5\% \\ DBG = 2,179 \\ KTG = 47,294 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} LSD 1\% \\ DBG = 3,055 \\ KTG = 47,294 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 LSD_{0,05} &= t_{0,05} (2 \times 47,294/5)^{1/2} \\
 &= 2,179 (2 \times 47,294/5)^{1/2} \\
 &= 2,179 \times 4,349 \\
 &= 9,477
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 LSD_{0,01} &= t_{0,01} (2 \times 47,294/5)^{1/2} \\
 &= 3,055 (2 \times 47,294/5)^{1/2} \\
 &= 2,179 \times 4,349 \\
 &= 13,287
 \end{aligned}$$

Tabel Selisih

p		1	2	3
		25,610	35,416	21,212
1	25,610	-	9,983*	4,04 ^{ns}
2	35,416	-	-	14,03**
3	21,212	-	-	-

Ket: ** = Sangat nyata pada taraf 1% ($P < 0,01$)

* = Nyata pada taraf 5% ($P < 0,05$)

ns = tidak nyata

Lampiran 9. Analisis Sidik Ragam Ekspansi Sel Kumulus Oosit pada Tingkat Perkembangan 2 (mengalami ekspansi kumulat sempurna).

A. Derajat Bebas (db)

$$\begin{aligned}
 \text{db total} &= (r \times t) - 1 = (5 \times 3) - 1 = 15 - 1 = 14 \\
 \text{db Perlakuan} &= t - 1 = 3 - 1 = 2 \\
 \text{db Galat} &= t(r - 1) = 3(5 - 1) = 3 \times 4 = 12
 \end{aligned}$$

B. Faktor Koreksi (FK)

$$\begin{aligned}
 FK &= \frac{(\sum Y_{ij})^2}{rt} \\
 &= \frac{(628,343)^2}{5 \times 3}
 \end{aligned}$$

$$= \frac{398414,93}{15}$$

$$= 26320,995$$

C. Jumlah Kuadrat (JK)

$$JKT = \sum_{ij} Y_{ij}^2 - FK$$

$$= (35,244)^2 + (33,211)^2 + \dots + (50,768)^2 - 26320,995$$

$$= (1242,140) + (1102,970) + \dots + (2577,390) - 26320,995$$

$$= 27638,069 - 26320,995$$

$$= 1317,068$$

$$JKP = \frac{Y_i^2 + \dots + Y_i^2}{r} - FK$$

$$= \frac{174,906^2 + 192,080^2 + 261,357^2}{5} - 26320,995$$

$$= \frac{30592,109 + 36894,726 + 68307,481}{5} - 26320,995$$

$$= \frac{135794,316}{5} - 26320,995$$

$$= 27158,863 - 26320,995$$

$$= 837,868$$

$$JKG = JKT - JKP$$

$$= 1317,068 - 837,868$$

$$= 479,200$$

D. Kuadrat Tengah (KT)

- a. Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP) b. Kuadrat Tengah Galat (KTG)

$$KTP = \frac{JKP}{dbP}$$

$$= \frac{837,868}{2}$$

$$= 418,934$$

$$KTG = \frac{JKG}{dbG}$$

$$= \frac{479,200}{12}$$

$$= 39,933$$

E. Frekuensi Hitung (Fhit.)

$$\begin{aligned}
 FH &= \frac{KTP}{KTG} \\
 &= \frac{418,934}{39,933} \\
 &= 10,491
 \end{aligned}$$

F. Tabel Analisa Ragam (ANOVA)

SK	DB	JK	KT	Fhit	F Tabel	
					5%	1%
P	2	837,868	418,934	10,491**	3,880	6,930
G	12	479,200	39,933			
T	14	1317,068				

Ket: ** = Nyata pada taraf 1% (P<0,01)

Lampiran 10. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Pengaruh Medium Maturasi Terhadap Ekspansi Kumulus Tingkat 2 (mengalami ekspansi kumulus sempurna).

Beda Nyata Terkecil (*Least Significant Difference = LSD*)

$$LSD_{\alpha} = t_{\alpha} (2s^2/r)^{1/2}$$

$$\begin{aligned}
 LSD \ 5\% \\
 DBG &= 2,179 \\
 KTG &= 39,933
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 LSD \ 1\% \\
 DBG &= 3,055 \\
 KTG &= 39,933
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 LSD_{0,05} &= t_{0,05} (2 \times 39,933 / 5)^{1/2} \\
 &= 2,179 (2 \times 39,933 / 5)^{1/2} \\
 &= 2,179 \times 3,997 \\
 &= 8,709
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 LSD_{0,01} &= t_{0,01} (2 \times 39,933 / 5)^{1/2} \\
 &= 3,055 (2 \times 39,933 / 5)^{1/2} \\
 &= 2,179 \times 3,997 \\
 &= 12,210
 \end{aligned}$$

Tabel Selisih

P		1	2	3
		34,981	38,416	52,271
1	34,981	-	3,43 ^{ns}	17,29**
2	38,416	-	-	13,86**
3	52,271	-	-	-

Ket: ** = Sangat nyata pada taraf 1% ($P < 0,01$)

ns = tidak nyata

RIWAYAT HIDUP



Herman. Lahir di Soppeng pada tanggal 05 Agustus 1982. Penulis adalah anak ke-empat dari lima bersaudara dari pasangan suami istri H. Semmang dan Hj. Upe. Jenjang pendidikan yang ditempuh penulis adalah tahun 1990 masuk Sekolah Dasar (SD) 004 Tanah Grogot (KAL-TIM), tamat pada tahun 1995. Melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Pertama Negeri (SMPN) 1 Tanah Grogot dan tamat pada tahun 1998. Kemudian melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Umum Negeri (SMUN) 1 Tanah Grogot dan tamat pada tahun 2001. Pada tahun 2001 penulis diterima sebagai mahasiswa Fakultas Peternakan Jurusan Produksi Ternak Universitas Hasanuddin melalui bebas test. Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif sebagai asisten mata kuliah Manajemen Ternak Unggas, Biokimia Nutrisi dan Ilmu Lingkungan/Tingkah Laku Ternak. Serta pernah menjadi pengurus organisasi Himpunan Mahasiswa Produksi Ternak (HIMAPROTEK) selama dua periode yakni tahun 2003 – 2005.