

Efek Penambahan Insulin pada Media Maturasi *In Vitro* terhadap Pematangan Oosit Sapi Pesisir

Effect of Insulin Addition on In Vitro Maturation Media on Pesisir Cattle Oocyte Maturation

Delmita Nugrah Wati^{1*}, Tinda Afriani², & Jaswandi³

¹Program Pascasarjana, Fakultas Peternakan, Universitas Andalas, Padang, 25163

Sumatera Barat, Indonesia

²Jurusan Ilmu dan Teknologi Produksi Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Andalas, Padang, 25163

Sumatera Barat, Indonesia

³Jurusan Bioteknologi Reproduksi, Fakultas Peternakan, Universitas Andalas, Padang, 25163

Sumatera Barat, Indonesia

*Email korespondensi: demitanugrah@gmail.com

• Diterima: 22 Desember 2022 • Direvisi: 13 Februari 2023 • Disetujui: 15 Februari 2023

ABSTRAK. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kualitas oosit sapi Pesisir yang akan diproduksi secara *in vitro* dan untuk menentukan dosis penambahan Insulin pada media maturasi *in vitro* efektif untuk meningkatkan kematangan oosit sapi Pesisir. Sampel yang digunakan yaitu ovarium sapi Pesisir yang diambil di RPH kemudian dilakukan koleksi oosit dengan metode slicing di Laboratorium Bioteknologi. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang terdiri dari 4 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah penambahan insulin pada media maturasi *in vitro* yang terdiri dari tanpa insulin (P1), insulin 10 µg/ml (P2), insulin 15 µg/ml (P3) dan insulin 20 µg/ml (P4). Oosit sapi Pesisir dimaturasi dalam media maturasi selama 24 jam di dalam inkubator CO₂ dengan suhu 38,5 °C. Sampel yang sudah dimaturasi diwarnai dengan 2% aceto-orcein selama 5 menit kemudian zat pewarna dihilangkan dengan campuran (asam asetat, gliserin dan aquadest) selanjutnya pengamatan inti diamati dengan menggunakan mikroskop. Hasil penelitian menunjukkan bahwa oosit yang paling banyak ditemukan adalah oosit grade B (75,59%), A(13,53%), C (8,48%), dan yang paling sedikit adalah grade D (2,40%). Penambahan Insulin dengan dosis 10 µg/ml dan 15 µg/ml pada media maturasi *in vitro* dapat meningkatkan pematangan oosit sapi pesisir yang mencapai metaphase II (MII) daripada tanpa insulin, sedangkan penambahan dosis insulin 20 µg/ml menurunkan pematangan oosit sapi pesisir yang mencapai MII. Berdasarkan hasil penelitian tersebut disimpulkan bahwa oosit yang dimaturasi dengan penambahan insulin 10 µg/ml dan 15 µg/ml sangat berpengaruh ($P < 0,01$) terhadap pematangan oosit mencapai MII dan hasil terbaik adalah penambahan insulin 15 µg/ml sebesar 84,58%.

Kata kunci: Insulin, Oosit Sapi Pesisir, Pematangan Inti.

ABSTRACT. This study aims to determine the quality of Pesisir cattle oocytes to be produced *in vitro* and to determine that adding different insulin to *in vitro* maturation media effectively increases the maturity of pesisir cattle oocytes. The sample was bovine ovaries of Pesisir cattle taken at the RPH and then bovine oocytes collected at the Biotechnology Laboratory. This study used a randomized block design (RBD) which consisted of 4 treatments and 4 replications. The treatment used was adding of insulin to *in vitro* maturation media consisting of no insulin (P1), insulin 10 µg/ml (P2), insulin 15 µg/ml (P3) and insulin 20 µg/ml (P4). Pesisir bovine oocytes were matured in maturation medium for 24 hours in a CO₂ incubator with a temperature of 38.5 °C. Samples that had been matured were stained with 2% aceto-orcein for 5 minutes and then the dye was removed with a mixture (acetic acid, glycerin and distilled water) then the observations of the nucleus were observed using a microscope. The results showed that the most common oocytes were grade B oocytes (75.59%), A (13.53%), C (8.48%), and the fewest were grade D (2.40%). The addition of insulin at a dose of 10 µg/ml and 15 µg/ml in *in vitro* maturation media could increase the oocyte maturation of coastal bovines that reached metaphase II (MII) than without insulin, while the addition of 20 µg/ml insulin decreased the oocyte maturation of coastal bovines that reached MII. Based on the results of this study it was concluded that oocytes which were matured with the addition of insulin 10 µg/ml and 15 µg/ml had a very significant effect ($P < 0.01$) on oocyte maturation reaching MII and the best treatment in this study was an insulin dose of 15 µg/ml of 84.58%.

Keywords: Insulin, Nuclear Maturation, Pesisir Cattle Oocyte.

PENDAHULUAN

Sapi pesisir merupakan sapi asli Sumatera Barat yang berpotensi sebagai penghasil daging (Hendri, 2013). Berat badan rendah dan ukuran tubuh adalah salah satu ciri dari jenis sapi ini. Bobotnya yang ringan sangat efisien dalam penggunaan ruang. Adaptasi yang baik terhadap kondisi lingkungan pesisir dengan jumlah hijauan yang terbatas membuka peluang bagi sapi ini untuk berkembang di seluruh wilayah pesisir Indonesia. Salah satu cara yang harus dilakukan untuk mengembangkan ternak pesisir adalah melalui pemanfaatan teknologi reproduksi manipulasi embrio.

Salah satu teknologi manipulasi embrio adalah fertilisasi *in vitro* (IVF). Teknologi fertilisasi *in vitro* (IVF) adalah teknologi yang menghasilkan embrio di luar tubuh induk dalam sistem kultur sel (Syaiful dkk, 2011). Produksi embrio *in vitro* melibatkan tiga aspek utama, yaitu pematangan sel telur/*in vitro* maturation (IVM), fertilisasi oosit/*in vitro* fertilization (IVF) dan pembiakan embrio /*in vitro* culture (IVC) (Afriani dkk, 2018). Oosit atau sel telur adalah bagian terpenting dari teknik IVF. Penerapan bioteknologi IVF membutuhkan jumlah oosit yang banyak, dimana salah satu sumbernya berasal dari Rumah Potong Hewan (RPH) dan oosit tersebut dimatangkan secara *in vitro*.

Persiapan media IVF membutuhkan faktor pertumbuhan. Faktor pertumbuhan seperti insulin memengaruhi metabolisme, pertumbuhan sel, proliferasi, dan apoptosis, dan insulin adalah hormon protein yang dihasilkan oleh sel β pankreas (Neirijnck *et al.*, 2019). Hormon pertumbuhan dan insulin adalah hormon yang terkait dengan pertumbuhan, bersama dengan steroid, hormon tiroid, dan glukokortikoid yang terkait.

Menurut Nanda dkk (2019) penambahan insulin 10 $\mu\text{g/ml}$ pada pematangan sel telur dapat meningkatkan persentase oosit sapi yang

mencapai metafase II, dan media tersebut juga dapat meningkatkan jumlah embrio yang dikultur. Beberapa peneliti lain menambahkan insulin pada media maturasi *in vitro* dengan dosis 10 $\mu\text{g/ml}$ pada kambing menurut Ferreira *et al.* (2016), sapi menurut Laskowski *et al.* (2017), dan kuda menurut Aguiar *et al.* (2016) yang memungkinkan untuk mencapai hasil optimal dalam produksi embrio pada media maturasi dan kultur *in vitro*.

Tujuan penelitian yaitu untuk menentukan dosis penambahan Insulin pada media maturasi *in vitro* efektif untuk meningkatkan kematangan oosit sapi Pesisir.

MATERI DAN METODE

Koleksi Oosit

Prosedur tersebut dilakukan menurut Nanda dkk (2019). Ovarium dari sapi Pesisir diambil dari rumah pematangan dan dibawa ke laboratorium dalam ziplock plastik yang berisi cairan NaCl 0,9% ditambah dengan *penisilin* 100 IU/ml (Meiji, Jepang) dan *streptomisin* 100 $\mu\text{g/ml}$ (Meiji, Jepang) dan disimpan dalam termos pada suhu 37°C. Ovarium diletakkan dalam cawan petri yang telah diberi 5 ml medium koleksi yang mengandung larutan *phosphate buffered saline* (PBS). Kemudian folikel yang tampak pada permukaan ovarium disayat menggunakan pisau scalpel. Cairan folikel akan mengalir bersamaan dengan oosit untuk selanjutnya oosit dapat dikoleksi.

Oosit yang terdapat di cawan petri diseleksi di bawah mikroskop stereo (Nikon-SMZ660, Japan) dan oosit diklasifikasikan sebagai oosit grade A, grade B, grade C, dan grade D. Kualitas oosit grade A yaitu oosit paling baik dengan lima atau lebih lima lapisan sel kumulus kompak dan sitoplasma yang homogen, grade B yaitu oosit berkualitas baik dicirikan oleh oosit dengan lapisan kumulus kurang dari lima dan sitoplasma gelap, grade C yaitu kualitas oosit yang buruk ditandai dengan sel kumulus yang mengelilingi oosit tidak

beraturan dan sitoplasma tidak merata, dan grade D adalah grade oosit yang paling buruk tidak adanya sel kumulus dan sitoplasma transparan. Oosit yang digunakan adalah oosit dengan sel kumulus yang kompak dan sitoplasma homogen menggunakan grade B.

Pematangan Oosit

Prosedur dilakukan menurut Nanda dkk (2019) dengan sedikit modifikasi pada perlakuan insulin. Oosit terpilih kemudian dimatangkan menggunakan medium TCM-199 (Sigma-M530), *pregnant mare serum gonadotropin* (PMSG), BSA (*bovine serum albumin*) 0,3% (Sigma-A2153) dan dosis tambahan insulin (Sigma-I0516) (0, 10 ug/ml, 15 ug/ml, 20 ug/ml) dan *gentamisin* 50 ug/ml. Semua media yang digunakan pada penelitian di inkubasi didalam inkubator CO₂ 5% selama 2 jam dengan suhu 38.5 °C sebelum digunakan. Oosit terpilih dicuci tiga kali dengan media pematangan TCM-199 (Sigma-M530), ditempatkan dalam cawan Petri dalam bentuk drop 100 µl yang berisi 10 oosit dan ditutup dengan mineral oil untuk selanjutnya dimaturasi selama 24 jam di dalam inkubator CO₂ 5% dengan suhu 38.5 °C.

Selanjutnya setelah pematangan 24 jam, sel-sel kumulus yang mengelilingi oosit dihilangkan dengan bantuan enzim hyaluronidase (Sigma, USA) dengan dipipet berulang-ulang. Setelah sel kumulus pada oosit hilang diletakkan pada drop di atas gelas penutup yang memiliki bantalan parafin dan vaselin (1:9) di keempat sudutnya, lalu ditutup dengan gelas objek. Preparat tersebut dimasukkan ke dalam larutan fiksasi yang mengandung asam asetat dan ethanol (1:3) selama 2 hari. Setelah itu diwarnai dengan 2% aceto-orcein selama 5 menit. Kemudian zat pewarna dibersihkan dengan campuran (asam asetat 20 ml, gliserin 20 ml dan aquadest 60 ml) selanjutnya status inti oosit diamati dengan

menggunakan mikroskop Fluorescence Axio Imager A.2 (Carl Zeiss).

Laju pematangan inti dilihat dari dari tahap *germinal vesicle* (GV) ditandai dengan membran inti dan nukleolus yang tampak dengan jelas, *germinal vesicle break down* (GVBD) ditandai dengan pecahnya membran inti, metaphase I (MI) ditandai dengan adanya kromosom homolog yang berderet di bidang ekuator, *anaphase* (A) atau *telophase I* (TI) ditandai dengan terbentuknya benang-benang spindle yang menghubungkan dua kelompok kromosom yang menuju kutubnya masing-masing, serta metaphase II (MII) ditandai dengan adanya polar bodi I dan inti sel. Keberhasilan pematangan oosit dinilai berdasarkan persentase oosit yang mampu mencapai tahap MII.

Analisis Data

Persentase kualitas oosit sapi Pesisir diperoleh dari oosit (grade A, B, C dan D). Persentase tingkat maturasi oosit sapi Pesisir yang diproduksi secara *in vitro* pada berbagai perlakuan Insulin dalam media maturasi dilihat dari status inti (GV (*Germinal Vesicle*), GVBD (*Germinal Vesicle Break Down*), MI (*Metaphase I*), A/TI (*Anafase/Telofase I*) dan MII (*Metaphase II*)).

Data persentase tingkat pematangan inti oosit yang mencapai MII secara *in vitro* yang diperoleh dianalisis dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) menurut Steel dan Torrie (1991).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas Oosit Sapi Pesisir

Hasil penelitian kualitas oosit sapi Pesisir yang dibawa ke laboratorium selama 6 jam seperti terlihat pada tabel 1.

Table 1. Kualitas Oosit Sapi Pesisir

Ulangan	Jumlah Ovarium	Jumlah Oosit	Kualitas Oosit (%)			
			A	B	C	D
1	4 pasang ovarium	40	12,50	80,00	7,50	0,00
2	3 pasang ovarium	30	13,33	66,67	13,33	6,67
3	4 pasang ovarium	34	17,65	70,59	8,82	2,94
4	5 pasang ovarium	47	10,64	85,11	4,25	0,00
Rataan			13,53	75,59	8,48	2,40

Keterangan: A (Kualitas oosit grade A), B (Kualitas oosit grade B), C (Kualitas oosit grade C) dan D (Kualitas oosit grade D).

Kualitas oosit sapi Pesisir pada penelitian ini secara keseluruhan ditemukan bahwa grade yang paling banyak adalah grade B (75,59%), A (13,53%), C (8,48%), dan yang paling sedikit adalah grade D (2,40%). Hal ini disebabkan karena kualitas oosit dipengaruhi oleh umur, jenis hewan, waktu transportasi dan media transportasi. Menurut Febretrisiena et al. (2015) bahwa faktor yang mempengaruhi kualitas oosit yang dihasilkan setelah proses koleksi oosit dilaboratorium adalah waktu transportasi ovarium, suhu medium dan media yang digunakan selama transportasi. Pada penelitian ini waktu pengangkutan dari RPH ke laboratorium dan waktu pengangkutan yang baik adalah 6 jam, semakin lama waktu pengangkutan ovarium dari RPH ke laboratorium untuk pengambilan sel telur maka dihasilkan oosit grade C dan D yang lebih banyak dan oosit kelas A dan B yang lebih rendah diproduksi. Menurut Gordon (2003) jenis hewan, siklus birahi, umur, pola makan dan kondisi tubuh merupakan faktor yang mempengaruhi kualitas oosit, sedangkan

jumlah oosit yang dikumpulkan dipengaruhi oleh suhu dan lama penyimpanan ovarium. sel kumulus yang mengelilingi oosit bertindak sebagai sumber makanan dan sebagai pengatur hormon dan sinyal yang berkaitan dengan metabolisme oosit. Sesuai dengan pendapat Handarini dkk (2014) bahwa Oosit yang berkualitas baik mampu mencapai tahap pematangan inti oosit yang diperlukan dalam proses pembuahan sel telur. Kualitas oosit dijadikan acuan untuk memilih kriteria oosit yang dapat dilanjutkan dalam proses IVF. Menurut Muhajir dkk (2018) Oosit yang dapat digunakan dalam proses IVF adalah oosit dengan kualitas grade A dan grade B.

Pematangan Oosit *In Vitro*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa oosit sapi Pesisir yang dimatangkan secara *in vitro* menunjukkan perubahan inti oosit dari *germinal vesicle* (GV) menjadi tahap *metaphase* I (MI) hingga mencapai tahap *metaphase* II (MII), seperti ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Status inti oosit sapi pesisir secara *in vitro*

Tingkat Pematangan Oosit	Dosis Insulin (µg/ml)			
	0	10	15	20
GV	57,71	2,50	2,50	5,00
GVBD	-	-	-	-
MI	19,37	27,71	12,92	0,00
A/TI	-	-	-	-
MII	22,92 ^a	69,72 ^b	84,58 ^b	13,12 ^a
DEG	-	-	-	81,88

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata (P<0,01). Data disajikan dalam bentuk persentase.

Hasil Uji DMRT menunjukkan bahwa dosis Insulin 10 µg/ml dan 15 µg/ml secara sangat signifikan berpengaruh ($P < 0,01$) dalam meningkatkan jumlah oosit sapi pesisir yang mencapai MII dari pada tanpa Insulin dan 20 µg/ml. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan insulin dengan dosis 15 µg/ml efektif meningkatkan jumlah oosit sapi Pesisir mencapai tahap MII dibandingkan dosis 10 µg/mL, tanpa penambahan insulin dan dosis 20 µg/ml. Hal ini diduga dosis insulin yang ditambahkan efektif meningkatkan pematangan oosit sapi Pesisir mencapai tahap MII karena insulin berpengaruh terhadap proses pertumbuhan sel dan apoptosis. Hal ini sesuai dengan penjelasan Neirijnck *et al.* (2019) bahwa insulin mempengaruhi metabolisme, pertumbuhan sel, proliferasi dan apoptosis. Sesuai dengan penelitian Nanda dkk (2019) bahwa penambahan insulin 10 µg/mL pada pematangan sel telur dapat meningkatkan persentase oosit sapi mencapai metafase II daripada tanpa diberi insulin. Konsentrasi insulin 10 µg/ml selama periode kultur meningkatkan pertumbuhan folikel dan oosit (Ferreira *et al.*, 2016).

Penelitian lain oleh Laskowski *et al.* (2017) ditemukan bahwa jumlah nukleus setelah pemberian insulin meningkat sekitar 20% dibandingkan dengan tanpa insulin. Meningkatnya jumlah oosit yang mencapai metaphase II dapat dikaitkan dengan efek mitogenik insulin sebagai hormon pertumbuhan yang penting. Penambahan insulin telah terbukti menghasilkan penurunan apoptosis, dan ini menunjukkan bahwa insulin dapat berfungsi sebagai faktor kelangsungan hidup mitogen atau apoptosis selama awal perkembangan sel (Laskowski *et al.*, 2016). Dalam penelitian Aguiar *et al.* (2016) ditemukan konsentrasi insulin 10µg/ml cenderung meningkatkan kelangsungan hidup oosit dan menurunkan apoptosis bahwa insulin digunakan dalam kultur sel dan jaringan untuk memastikan viabilitas karena kemampuannya

untuk menurunkan kemungkinan terjadinya apoptosis.

Penambahan insulin 20 µg/ml ternyata menurunkan pematangan oosit mencapai MII. Diduga karena dosis yang ditambahkan kedalam media maturasi terlalu banyak yang menyebabkan oosit degenerasi. Dengan penambahan insulin yang banyak akan mempercepat fase pertumbuhan oosit yang membuat oosit terlalu cepat matang dari waktu yang ditentukan dan yang terjadi adalah degenerasi. Dimana kebutuhan anabolik oosit yang meningkat selama fase pertumbuhan yang cepat (Hasbi dkk, 2018). Disampaikan juga oleh Aguiar *et al.* (2016) bahwa konsentrasi insulin yang tinggi dapat mengurangi kemampuan pengikatan reseptor insulin pada jaringan ovarium yang dikultur dan akibatnya mengurangi kelangsungan hidup oosit. Oleh karena itu, penambahan konsentrasi insulin yang tepat ke media biakan penting karena meningkatkan kelangsungan hidup sel melalui modulasi kinase intraseluler, seperti Akt. Akt memfosforilasi anggota faktor transkripsi protein forkhead box (FOXO) yang menghambat transkripsi gen yang terlibat dalam apoptosis.

Pematangan oosit juga dipengaruhi oleh sel kumulus. Hal ini dibuktikan dengan adanya sel kumulus membantu hormon pertumbuhan seperti insulin dalam proses pematangan oosit, dan penghilangan sel kumulus dari oosit dapat mengganggu pematangan inti oosit secara *in vitro*. Penambahan insulin memiliki efek menguntungkan pada pematangan inti oosit pada oosit yang tertutup sel kumulus kompak dimana pematangan inti adalah komponen yang paling penting untuk kualitas oosit, dimana terjadi komunikasi sel antara oosit dengan sel kumulus, serta terjadinya ekspansi kumulus (Li *et al.*, 2016). Sel kumulus yang ekspansi dengan adanya penambahan hormon pertumbuhan dapat meningkatkan pematangan inti oosit. Toori *et al.* (2014) menyatakan bahwa sel kumulus sangat penting untuk

perkembangan oosit ketika faktor pertumbuhan ditambahkan ke dalam media.

Menurut Auclair *et al.* (2013) ketiadaan sel kumulus selama IVM memengaruhi metabolisme lipid dalam oosit dan menyebabkan pematangan sitoplasma yang kurang optimal karena sel kumulus dapat mempengaruhi oosit dengan mengarahkan konsumsi penyimpanan nutrisi melalui pengaturan sintesis asam lemak dan lipolisis untuk menyediakan energi pematangan. Sel granulosa khusus yang mengelilingi oosit disebut sel kumulus, terlibat dalam perolehan kompetensi perkembangan oosit. Sel-sel ini secara fisik dan metabolik digabungkan dengan oosit selama pertumbuhan dan pematangannya dan juga berpartisipasi dalam ovulasi dan pembuahan. Sel kumulus terlibat dalam menyediakan substrat energi sebagai asam

lemak (FA), karbohidrat, dan asam amino dari cairan di sekitarnya ke oosit. Oosit juga berkontribusi pada fungsi sel kumulus melalui sekresi berbagai faktor spesifik oosit dan dengan demikian mengatur lingkungan mikronya sendiri untuk memperoleh kapasitas yang lebih baik untuk berkembang menjadi embrio. Kondisi lingkungan maturasi oosit berdampak kuat pada kapasitas perkembangan embrio.

Tahap pematangan yang mencapai MII dipengaruhi oleh diameter oosit, dimana diameter oosit dipengaruhi oleh kualitas oosit, dimana jika kualitas oosit bagus diameter oosit yang didapatkan lebih dari >120 µm. Menurut Parera (2014) oosit yang memiliki diameter >120 µm mampu mencapai MII dibandingkan dengan oosit berdiameter <100 µm dan 100-110 µm. Data dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Diameter oosit sapi Pesisir yang mencapai MII setelah penambahan Insulin pada media maturasi *in vitro* (µm).

Ulangan	Dosis Insulin (µg/ml)			
	0	10	15	20
1	163,88	158,76	154,50	168,83
2	145,23	138,98	140,32	169,25
3	155,96	160,15	140,30	170,39
4	211,19	170,61	161,52	175,14
Total	676,26	628,50	596,64	683,61
Rata-rata	169,07 ^{ns}	157,13 ^{ns}	149,16 ^{ns}	170,90 ^{ns}

Keterangan: Superskrip yang sama menunjukkan tidak ada pengaruh yang signifikan (ns) P>0,05).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa diameter oosit sapi Pesisir yang mencapai MII setelah penambahan insulin pada media maturasi *in vitro* secara signifikan tidak berpengaruh nyata antar perlakuan (P>0,05). Penelitian sejenis dilakukan oleh Permana dkk (2015) juga mendapatkan hasil yang tidak signifikan pada diameter oosit sebelum dan setelah maturasi *in vitro* dengan penambahan insulin, hal ini menunjukkan bahwa tidak adanya peran insulin dalam perkembangan diameter oosit.

Pematangan oosit sapi Pesisir yang mencapai metaphase II dengan tanpa insulin,

dosis insulin 10 µg/ml, insulin 15 µg/ml dan insulin 20 µg/ml memiliki diameter oosit lebih dari 120 µm yaitu berturut turut 169,07 µm, 157,13 µm, 149,16 µm, dan 170,90 µm. Ini disebabkan karena diameter oosit sapi memiliki ukuran diameter yang berbeda-beda. Sesuai dengan penelitian Parera (2014) bahwa ovarium sapi bali betina memiliki diameter oosit yang berbeda-beda. Dimana terdapat oosit berdiameter >120 µm yang mencapai tahap maturasi MII.

Menurut Gordon (2003) diameter oosit sapi menjadi <100 µm, 100-110 µm, 110-120 µm dan >120 µm. Variasi diameter oosit

mempengaruhi perkembangan oosit dari perkembangan awal hingga tahap blastokista. Pengaruh diameter oosit terhadap kemampuannya berkembang berhubungan dengan lamanya pembentukan badan kutub pertama. Semakin cepat terbentuknya polar bodi pertama (pematangan dini), semakin besar tingkat keberhasilan pembentukan blastokista. Menurut Permana dkk (2015) diameter oosit merupakan faktor yang mempengaruhi kualitas oosit, yang mempengaruhi kemampuan oosit untuk menyelesaikan pematangan oosit.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kualitas oosit bahwa kualitas oosit sapi Pesisir secara keseluruhan ditemukan bahwa grade yang paling banyak adalah grade B (75,59%), A(13,53%), C (8,48%), dan yang paling sedikit adalah grade D (2,40%). Penambahan Insulin dengan dosis 10 µg/ml dan 15 µg/ml pada media maturasi dapat meningkatkan pematangan inti oosit sapi pesisir yang mencapai MII daripada tanpa insulin, sedangkan penambahan dosis insulin 20 µg/ml menurunkan pematangan oosit sapi pesisir yang mencapai MII. Hasil terbaik adalah penambahan dosis Insulin 15 µg/ml sebesar 84,58%.

KONFLIK KEPENTINGAN

Para penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis sampaikan kepada Kepala dan Staff Laboratorium Bioteknologi Universitas Andalas Padang, Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

Afriani, T., J. Hellyward., E. Purwanti., Jaswandi., F. Lyzmanto., dan M. Mundana. 2018. Manipulasi Embrio Pada Sapi. Padang:

Universitas Andalas Press. ISBN: 978-602-6953-33-9. Hal: 29-30.

Aguiar, F. L. N., F. O. Lunardi., L. F. Lima., R. M. P. Rocha., J. B. Bruno., D. M. Magalhaes-Padilha., and J. R. Figueiredo. 2016. Insulin Improves In Vitro Survival Of Equine Preantral Follicles Enclosed In Ovarian Tissue And Reduces Reactive Oxygen Species Production After Culture. *Theriogenology*, 85(6): 1063-1069.

Febretrisiana, A., M.A. Setiadi., dan N.W.K. Karja. 2015. Nuclear Maturation Rate Of Sheep Oocyte In Vitro: Effect Of Storage Duration And Ovary Temperature. *J Indonesian Trop Anim Agric*. 40(2): 93-99.

Ferreira, A. C. A., C. Maside, N. A. R. Sá, D. D. Guerreiro, H. H. V. Correia, J. Leiva-Revilla, ... and C. C. Campello. 2016. Balance of Insulin And FSH Concentrations Improves The In Vitro Development Of Isolated Goat Preantral Follicles In Medium Containing GH. *Animal reproduction science*. (165): 1-10.

Gordon, I. 2003. *Laboratory Production of Cattle Embryos*. 2nd edition. Willingford UK: CABI. Publishing. Hal: 112-157.

Handarini, R., D. Sudrajat., dan D. Hardiansyah. 2014. Kualitas Oosit dari Ovarium Sapi Peranakan Ongole (PO) Pada Fase Folikuler dan Luteal. *Jurnal Pertanian* 2(5): 89-94.

Hendri, Yanofi. 2013. Dinamika pengembangan Sapi Pesisir Sebagai Sapi Lokal Sumatera Barat. *Jurnal Litbang Pertanian*. 1(32): 39-45.

Laskowski, D., Y. Sjunnesson, P. Humblot, G. Andersson, H. Gustafsson, and R. Bage. 2016. The Functional Role Of Insulin In Fertility And Embryonic Development-What can we learn from the bovine model?. *Theriogenology*. 86(1): 457-464.

Laskowski, D., R. Bage, P. Humblot, G. Andersson, M. A. Sirard, and Y. Sjunnesson, 2017. Insulin during in vitro oocyte maturation has an impact on development, mitochondria, and cytoskeleton in bovine day 8 blastocysts. *Theriogenology*. (101): 15-25.

Muhajir, M., N.W.K. Karja., M.A. Setiadi., dan I.K.M. Adnyane. 2018. Kompetensi Maturasi Oosit *In Vitro* dan Kajian Histologi Folikel dari Ovarium Domba Pasca Penyimpanan Pada

- Suhu 4°C. *Acta Veterinaria Indonesiana*. 6(2): 17-22.
- Nanda, S. 2019. Efektifitas Penambahan Insulin dalam Media Maturasi dan atau Media Kultur pada Tingkat Maturasi Oosit dan Perkembangan Awal Embrio Sapi Secara *In Vitro*. *Jurnal Sains Veteriner*. 37(2): 135-142.
- Parera, H. 2014. Pengaruh Ukuran Ovarium dan Diameter Oosit Terhadap Kualitas Morfologi Oosit Sapi Bali-Timor yang Dikoleksi Secara *In Vitro*. *Jurnal Kajian Veteriner*. 2(2): 143-150.
- Permana, R.M.Y., Widjiati., B. Utomo., dan T.I. Restiadi. 2015. Pengaruh Suplementasi Insulin Transferrin Selenium (ITS) pada Media Maturasi TCM-199 terhadap Diameter Oosit Sapi. *Veterinaria Medika*. 8(3): 245-250.
- Steel, R. G. D. dan J. H. Torrie. 1991. Prinsip dan Prosedur Statistika. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.