

© 2004 Retno Prihatini
Makalah Pribadi
Pengantar ke Falsafah Sains (PPS 702)
Sekolah Pascasarjana/S3
Institut Pertanian Bogor
Tanggal 1 Desember 2004

Posted: 20 December 2004



Pengajar:
Prof.Dr.Ir.Rudy C. Tarumingkeng
Prof.Dr.Ir.Zahrial Coto
Dr.Ir.Hardianto, MS

PEMANFAATAN TEKNOLOGI KULTUR OVARI SEBAGAI SUMBER OOSIT UNTUK PRODUKSI HEWAN DAN BANTUAN KLINIK BAGI WANITA YANG GAGAL FUNGSI OVARI

Oleh :

Retno Prihatini

A361040071

Email: prihatiniretno@yahoo.com

I. PENDAHULUAN

Telah banyak dilakukan penelitian tentang kultur jaringan hewan baik kultur organ maupun kultur sel. Beberapa diantara penelitian tersebut diarahkan untuk meningkatkan kualitas ternak, penyediaan embrio unggul dan juga sebagai teknologi reproduksi bantuan untuk tujuan konservasi hewan langka yang sukar bereproduksi secara alami.

Salah satu teknologi yang dikembangkan berkenaan dengan hal diatas adalah pemanfaatan ovarium sebagai sumber ovum yang potensial pada masa embrio ataupun pada masa prepubertal (Telfer, 1996; Roche, 1996; Mc Gee *et al.*, 2000). Disamping itu juga dapat digunakan ovarium yang berasal hewan betina yang dipotong di rumah potong hewan, terutama ovarium yang berasal dari hewan yang sehat.

Jika oosit dapat diambil lebih banyak pada saat folikel preantral dan ditumbuhkan secara *in vitro*, akan dapat memberikan lebih banyak manfaat, seperti dapat menghasilkan embrio unggul, memperpendek interval generasi untuk menghasilkan keturunan (Van den

Hurk et al, 1997). Selain itu juga akan dapat menyediakan banyak oosit matang yang kompeten untuk di fertilisasi secara IVF dan embrio sehingga mengurangi kehilangan oosit yang mengalami atresia selama siklus reproduksi secara alami (Tilly, 1996). Oosit dan embrio yang dihasilkan dapat digunakan dalam penelitian-penelitian untuk meningkatkan kualitas ternak, menyediakan embrio secara masal untuk produksi ternak, sebagai model untuk mengembangbiakkan hewan langka.

Sejalan dengan perkembangan teknik kultur jaringan ovarium atau folikel, juga berkembang teknologi kriopreservasi dan *in vitro* fertilisation (IVF) yang akan menunjang ketersediaan embrio unggul ataupun embrio hewan-hewan langka (Van den Hurk et al, 1997). Oosit matang hasil kultur dapat disimpan beku dengan menggunakan krioprotektan tertentu atau dapat juga disimpan sebagai embrio, setelah terlebih dahulu dilakukan IVF.

Teknologi transplantasi ovarium juga telah dilakukan untuk membantu pasien yang beresiko mengalami menopause dini atau mengalami gagal fungsi ovarium. Meskipun demikian aplikasi pada transplantasi ovarium manusia ini masih terus diteliti dan disempurnakan. Sedangkan transplantasi ovarium yang dilakukan lebih banyak diarahkan untuk aspek konservasi atau penyelamatan ovarium sebagai sumber gamet betina dari hewan-hewan langka baik dalam jangka pendek maupun jangka panjang

II. BEBERAPA ASPEK PENGEMBANGAN KULTUR OVARIUM

Kultur ovarium ataupun kultur folikel terus dikembangkan untuk memanfaatkan ovarium sebagai sumber oosit dan embrio sejalan dengan perkembangan teknologi IVF dan kriopreservasi semen dan embrio. Berbagai model atau metode kultur dikembangkan untuk mengetahui kemampuan ovarium, folikel dan embrio baik secara *in vivo* maupun *in vitro*.

Beberapa model kultur yang telah dikembangkan hingga saat ini yang menyangkut penyediaan oosit matang yang siap di fertilisasi secara IVF ataupun untuk dibekukan (penyediaan embrio masal) dapat dilakukan dengan cara : kultur keseluruhan ovarium (jika ovarium kecil), kultur fragmentasi dari ovarium (potongan ovarium) dan kultur folikel. Kultur jaringan ovarium dapat dilakukan secara *in vitro* maupun *in vivo* (Hartshorne, 1997).

Hurk *et al* (1997) melakukan kultur ovarium dan isolasi folikel preantral secara *in vivo* dan *in vitro* untuk mengetahui faktor yang berpengaruh terhadap keberhasilan kultur

tersebut. Diantara faktor-faktor yang mempengaruhi tersebut adalah faktor endokrin, vaskularisasi, nutrisi, sitokinesis, hormon dan substansi neuropeptida (*in vivo*) dan faktor hormon, growth factor dan nutrisi (*in vitro*).

Oktay *et al* (1998) melakukan transplantasi ovarium manusia pada subkapsular ginjal mencit SCID/hpg selama 17 minggu dan memperlihatkan bahwa model xenograf berpotensi digunakan untuk mempelajari perkembangan folikel pada manusia. Selain itu dengan memberikan FSH secara subkutan sekali dua hari selama 6 minggu dengan dosis 1 IU dan setelah minggu ke sebelas, dilakukan analisis pada ovarium yang ditransplantasikan tersebut. Ternyata ditemukan folikel sekunder pada kelompok perlakuan sedangkan pada kelompok kontrol sampai minggu ke 17 tidak ditemukan adanya folikel sekunder. Hal ini memperlihatkan bahwa FSH tetap diperlukan untuk pertumbuhan folikel, meskipun inisiasi pertumbuhan folikel tidak bergantung pada stimulasi gonadotropin.

Untuk mengetahui adanya oosit, normal tidaknya proses meiosis dan untuk mengetahui apakah kondisi kultur berpengaruh terhadap jumlah sel folikel, Hartshorne *et al* (1999) mengkultur ovarium manusia yang berasal dari fetus umur 13 – 16 minggu. Potongan jaringan dikultur dalam MEM + 10% serum ± FSH (100mIU). Serum yang digunakan adalah Fetal Calf Serum (FCS), FCS for Embryonic Stem Cell (ES-FCS). Jumlah dan fase perkembangan oosit ditaksir setelah 7 hari kultur. Hasilnya memperlihatkan bahwa pada jaringan yang segar mengandung oosit pada fase leptoten, zigoten, pachiten dan diploten yang ditemukan pada tiga dari lima sampel yang ada. Empat spesimen kemudian dikultur *in vitro* dan pada tiga dari empat spesimen tersebut ditemukan oosit setelah dikultur. Jumlah oosit meningkat dan proporsi sel zigoten dan pachiten meningkat sejalan dengan lamanya kultur. Proporsi sel yang berdegenerasi pada kultur ditemukan lebih tinggi dibandingkan sampel jaringan segar. Beberapa oosit ditemukan pada kultur dengan menggunakan serum ES-FCS dan human serum. Pada akhir penelitian ditemukan oosit manusia yang dapat hidup pada kultur dan berkembang menjadi oosit tahap profase I.

Newton dan Illingworth (2001) berhasil melakukan kultur jaringan ovarium yang berasal dari pasien wanita yang beresiko mengalami menopause dini. Ovarium terlebih dahulu dibekukan dan disimpan (frozen dan thawed) dengan menggunakan krioprotektan yang berbeda-beda. Untuk melihat kemampuan tumbuh dan berkembang dari folikel yang berasal dari ovarium yang telah di “frozen-thawed” kemudian diisolasi dan dikultur secara *in vitro* selama 8 hari. Hasilnya menunjukkan bahwa folikel yang berasal dari ovarium yang

telah di “frozen-tawed” dapat tumbuh menjadi folikel antral dan dapat menghasilkan oosit yang matang.

Penelitian lain dengan menggunakan mencit sebagai hewan uji digunakan untuk melihat adanya oosit yang matang, oosit matang yang mampu difertilisasi dan oosit yang nantinya mampu berkembang menjadi embrio, yang berasal dari ovarium fetus mencit yang baru dilahirkan dan telah dikriopreservasi dengan dua cara, yang dilakukan oleh Liu *et al.*, (2001). Cara pertama ovarium yang berasal dari fetus mencit yang baru dilahirkan di “frozen-tawed” dan kemudian ditransplantasikan subkapsular ginjal untuk menginisiasi pertumbuhan folikel. Cara kedua folikel preantral yang tumbuh pada ovarium yang ditransplantasikan tersebut kemudian dikultur. Hasilnya didapatkan folikel primordial yang mampu tumbuh menjadi folikel preantral selama masa transplantasi dan folikel preantral tersebut kemudian diisolasi secara mekanik dan dikultur. Sebanyak 76% folikel mencapai oosit M II dan kemudian difertilisasi secara IVF dan didapatkan 72% dari 142 oosit M II yang diinseminasi mampu difertilisasi dan mencapai tahapan embrio 2 sel. Selanjutnya 79,7% dari embrio 2 sel (n = 69) mampu melanjutkan perkembangan sampai mencapai tahap morula akhir – blastosista awal yang kemudian dilakukan embrio transfer dan dapat menghasilkan keturunan. Dapat disimpulkan bahwa *in vivo* maturasi dengan cara transplantasi/grafting pada ovarium yang sebelumnya telah di “frozen-thawed”, yang diikuti oleh *in vitro* maturasi folikel preantral dapat mengembalikan fertilitas oosit mencit.

Cushman *et al* (2002) melakukan transplantasi potongan ovarium yang berasal dari fetus sapi umur 6 – 8 bulan di bawah membran chorioallantoic (CAM) embrio ayam umur 6 hari (*in ovo*) untuk menginisiasi/mengaktifasi folikel primordial pada ovarium. Ternyata CAM tidak mendukung terjadinya pertumbuhan folikel primordial. Tetapi jika ovarium yang ditransplantasikan pada CAM dipindahkan ke kultur *in vitro*, maka folikel primordial mampu berkembang lebih lanjut menjadi folikel primer dalam 2 hari kultur.

Pada kenyataannya teknik kultur jaringan memberikan kontribusi yang nyata jika ditunjang oleh teknik-teknik lainnya seperti teknik kriopreservasi, IVF, grafting (autografting ataupun xenografting) dalam mempelajari pertumbuhan dan perkembangan sel folikel serta teknik embrio transfer untuk membuktikan viabilitas embrio yang dihasilkan. Secara klinik pada manusia telah dilakukan koleksi dan pembekuan ovarium yang berasal dari pasien yang memiliki resiko kegagalan fungsi ovarium. Jika ovarium yang telah dibekukan tersebut di cangkokkan kembali (autografting), dapat mendukung kembali

terjadinya menstruasi dan pembentukan folikel antral pada pasien tersebut (Shaw dan Trounson, 2003).

Ovarium menciit yang telah divitrifikasi dengan menggunakan krioprotektan EG 30% dan campuran DMSO 15% : EG 15% memiliki kemampuan untuk berkembang setelah autotransplantasi secara subkapsular ginjal (Mohamad *et al*, 2003). Disamping itu ditemukan fenomena adanya kelompok-kelompok folikel terdiri dari 4 -5 folikel yang mem-perlihatkan perkembangan secara hirarki dari ovarium yang telah divitrifikasi dan diautotransplantasikan pada subkapsular ginjal.

III PEMBAHASAN

Perkembangan teknik kultur jaringan terutama yang menyangkut optimalisasi pemanfaatan ovarium sebagai sumber oosit dan sekaligus sumber embrio memegang peranan penting dalam usaha peningkatan kualitas ternak, konservasi dan produksi masal embrio. Perkembangan teknik kultur jaringan pada ovarium memberikan kontribusi pengan- daan oosit dalam jumlah yang lebih besar dibandingkan dengan kondisi alami.

Penggunaan teknologi kultur jaringan ini pada sektor peternakan dan konservasi masih terus diteliti dan dikembangkan. Tujuan utamanya adalah peningkatan mutu dan produksi ternak sehingga dapat memenuhi kebutuhan masyarakat akan protein hewani yang bersumber dari ternak pedaging khususnya ruminansia.

Sejalan dengan teknik reproduksi bantuan lainnya yang juga berkembang seperti IVF, Transplantasi, Kriopreservasi dan Transfer Embrio semakin memacu pengembangan teknik kultur ovarium atau folikel secara *in vivo* dan *in vitro*. Pengembangan aplikasi teknik ini tidak saja pada skala labor tetapi juga sudah mulai pada tahap aplikasi dilapangan termasuk secara klinis telah dilakukan pada manusia.

Pada kasus kegagalan fungsi ovarium atau menopause dini pada wanita, teknologi ini mungkin dapat dipakai sebagai alternatif jalan keluarnya. Pada kasus kegagalan fungsi ovarium dapat ditangani dengan cara transplantasi ovarium donor pada subkapsular ginjal atau tempat lain yang memungkinkan sehingga wanita yang mengalami kasus ini tidak lagi tergantung pada asupan hormon dari luar untuk mengantisipasi kekurangan hormon estrogen yang terjadi sebagai akibat harus dilakukannya ovariectomi.

Sejauh ini teknologi kultur memberikan sumbangan jika ada donor ovarium dan pada tahap awal perlakuan adalah preservasi atau dikultur sementara untuk mempertahankan struktur viabilitasnya. Tahap berikutnya adalah kriopreservasi dengan menggunakan krioprotektan tertentu dan sediaan dapat disimpan dalam nitrogen cair. Sebelum digunakan ovarium tersebut harus diaktivasi kembali dalam proses thawing.

Selama ini belum efektifnya penggunaan teknologi ini disebabkan tidak dikenalnya hal ini dimasyarakat sebagaimana halnya donor ginjal yang sudah dilakukan dan dikenal masyarakat. Namun demikian penelitian lebih lanjut masih harus terus dilakukan untuk menyempurnakan kelemahan-kelemahan yang ada. Dipandang dari segi etika sejauh teknologi ini tidak menimbulkan kerugian baik materiil maupun moral pada manusia maka teknologi ini dapat menjadi alternatif jalan keluar bagi wanita yang harus menjalani ovariectomi.

Persoalan yang timbul kemudian adalah pengadaan donor ovarium. Jika hal ini tidak diikuti atau diatur dengan aturan-aturan yang ketat maka akan timbul kekacauan seperti terjadinya jual beli organ secara gelap maupun terang-terangan dari sumber yang tak jelas. Atau bahkan mungkin juga terjadinya pengadaan organ secara paksa dengan cara-cara yang tidak berperikemanusiaan. Pada dasarnya teknologi ini menawarkan solusi bagi wanita yang terpaksa harus kehilangan ovariumnya dan tidak menawarkan bencana pada pihak lain. Kesadaran seperti ini perlu menjadi dasar bagi siapa saja yang akan terlibat nantinya dalam pengembangan dan penerapan teknologi pada manusia.

Persoalan di atas akan bisa diatasi jika ditemukan teknologi yang memungkinkan terjadinya transplantasi ovarium dari hewan ke manusia (xenografting). Hanya saja perlu pula dipertimbangkan faktor sosiobudaya dan agama dalam menentukan hewan donor tersebut.

IV. PENUTUP

Penggunaan teknik kultur jaringan terhadap ovarium, folikel atau embrio yang diikuti oleh kriopreservasi, transplantasi maupun embrio transfer memungkinkan dilakukannya penelitian-penelitian lebih lanjut untuk meningkatkan kualitas ternak, membantu konservasi hewan langka dan secara klinis membantu manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Boediono A, Mohamad K, Rusiyantono Y, Djuwita I, Sukra Y. 2003. Kloning embrio dengan pembuatan kembar identik melalui rekayasa embrio dan pembekuan dengan metode vitrifikasi. *Poster*. Lab. Embriologi FKH IPB.
- Cushman R.A, Wahl C.M, & Fortune J.E. 2002. Bovine ovarian cortical pieces grafted to chick embryonic membranes : A model for studies on the activation of primordial follicles. *Human Reprod.* 17 : 48-54.
- Hartshorne G.M. 1997. *In vitro* culture of ovarian follicles. *J. Reprod. & Fert.* 2 : 94 -104
- Hartshorne G.M, Barlow A.L, Child T.J, Barlow D.H, & Hulten M.A. Immunocytogenetic detection of normal and abnormal oocytes in human fetal ovarian tissue in culture. *Human Reproduction*. Vol 14. no 1 :172-182.
- Liu J. Van der Elst J. Van der Brecke R. & Dhont M. 2001. Live offspring by *in vitro* fertilization of oocytes from cryopreserved primordial mouse follicles after sequential *in vivo* transplantation and *in vitro* maturation. *Biology of Reproduction*. 64 : 171-178.
- Mc Gee E.A. & Hsueh A.J.W. 2000. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocrine Reviews*. Vol 21. no 2 : 200-214.
- Mohamad K, Djuwita I, Boediono A, Supriatna I, Sukra Y. 2003. Perkembangan ovarium vitrifikasi setelah autotransplantasi secara subkapsular ginjal pada mencit. *Poster*. Lab. Embriologi FKH IPB.
- Newton H. & Illingworth P. 2001. *In vitro* growth of murine preantral follicles after isolation from cryopreserved ovarian tissue. *Human Rproduction*. Vol 16. no 3 :423-429.
- Oktay K. Newton H. Mullan J. & Gosden R.G. 1998. Development of human primordial follicles to antral stages in SCID/htp mice stimulated with FSH. *Human Reproduction*. Vol 13. no 5 : 1133-1138.
- Roche J.F. 1996. Control and regulation of folliculogenesis. *J.Reprod. & Fert.* 1 : 19-27.
- Shaw J.M, & Trounson A.O. 2002. Experimental models for ovarian tissue and immature follicles. *Seminar on Reproduction Medicine*. 20 : 51-62.
- Telfer E.E. 1996. The development of methods for isolation and culture of preantral follicles from bovine and porcine ovaries. *Theriogenology*. 45 : 101 – 110.
- Tilly J.L. 1996. Apoptosis and ovarian function. *J. Reprod. & Fert.* 1: 162-172.
- Van den Hurk R, Bevers M.M, Beckers J.F. 1997. In vivo and in vitro development of preantral follicles. *Theriogenology*. 47 : 73 – 82.