

PERTUMBUHAN DAN AKTIVITAS NADH-TETRAZOLIUM REDUKTASE SEL-SEL TROFOBLAS BLASTOSIS VITRIFIKASI YANG MENGALAMI ‘HATCHING’ DAN ‘NON-HATCHING’

Ita Djuwita, Wahono Esthi Prasetyaningtyas dan Adi Winarto

Bagian Anatomi, Histologi dan Embriologi, Departemen Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi,
Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor
Jalan Agatis Kampus IPB Darmaga Bogor 16680 INDONESIA

RINGKASAN

Salah satu permasalahan yang dihadapi dalam aplikasi transfer embrio beku adalah rendahnya angka kebuntingan dan kelahiran anak dari hasil transfer embrio beku dibandingkan hasil transfer embrio segar (Dobrinsky, 1996; Djuwita et al. 2009; Hochi et al. 1996). Diduga blastosis pasca kriopreservasi, walaupun secara morfologi tampak normal mengalami kegagalan ‘hatching’ dan implantasi sehingga menyebabkan rendahnya tingkat kebuntingan. Hatching’ adalah proses keluarnya blastosis dari zona pelusida, sedangkan implantasi adalah proses menempel, melekat dan invasi sel-sel trofoblas kedalam endometrium uterus induk. Faktor maternal ataupun perlakuan seperti kriopreservasi dapat mengakibatkan rendahnya kualitas embrio, khususnya struktur intraseluler yang secara morfologi tidak tampak dibawah mikroskop cahaya (Cocero et al, 2002; Thouas et al, 2004). Untuk itu perlu dilakukan penelitian untuk menganalisis sejauh mana proses kriopreservasi embrio dengan metode vitrifikasi dapat mengakibatkan kegagalan ‘hatching’ dan implantasi menggunakan sistem kultur *in vitro* dan blastosis mencit (*Mus musculus albinus*) sebagai model..

Penelitian dirancang secara acak lengkap dalam empat kelompok perlakuan yakni (1) blastosis kontrol (tanpa vitrifikasi) yang mengalami ‘hatching’ (KH); (2) blastosis kontrol yang ‘non-hatching’ (KNH); (3) blastosis vitrifikasi yang ‘hatching’ (VH) dan (4) blastosis vitrifikasi yang ‘non-hatching’ (VNH). Parameter yang diamati adalah (1) kemampuan ‘hatching’ blastosis pasca vitrifikasi; (2) diameter pertumbuhan (outgrowth) sel-sel trofoblas, (3) aktivitas NADH-Tetrazolium Reduktase yang berperan dalam memproduksi ATP (energi), serta (4) Pola distribusi mitokondria. Pengujian proses ‘hatching’ dan implantasi dilakukan dengan system kultur *in vitro* baik blastosis maupun

sel-sel trofoblast dalam cawan petri (sebagai tempat perlekatan sel-sel trofoblas) menggunakan medium DMEM yang disuplementasi dengan Newborn Calf Serum 10%, Insuline-Transferin dan Selenium (ITS) 10%, dan gentamicine 50 µg/ml (µl). Kultur dilakukan selama 7 hari dalam inkubator CO₂ 5% suhu 37°C. Analisa NADH-TR dilakukan secara histokimia berdasarkan Malik et al (2000), sedangkan pola distribusi mitokondria dilakukan secara imunohistokimia.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa (1) proses vitrifikasi blastosis secara nyata dapat mengakibatkan kegagalan 'hatching'; (2) diameter pertumbuhan sel-sel trofoblas blastosis (baik segar maupun vitrifikasi) yang mengalami 'hatching' tidak berbeda nyata, namun keduanya lebih tinggi dibandingkan dengan blastosis yang gagal 'hatching'; (3) aktivitas enzim NADH-TR sel-sel trofoblas blastosis yang mengalami 'hatching' lebih tinggi dibandingkan dengan embrio yang gagal 'hatching', dan (4) mitokondria pada sel-sel trofoblas blastosis hatching terkumpul secara homogen disekeliling nukleus, sedangkan pada blastosis gagal hatching menyebar di sitoplasma.

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa proses vitrifikasi blastosis dapat mengakibatkan perubahan distribusi mitokondria, gangguan terhadap aktivitas produksi enzim NADH-TR, serta kegagalan 'hatching' dan hambatan pertumbuhan sel-sel trofoblas. Hal ini menunjukkan indikasi adanya hubungan antara aktivitas enzim NADH TR dengan kemampuan 'hatching' dan pertumbuhan sel-sel trofoblas blastosis.

Kata kunci: vitrifikasi, embrio, 'hatching', sel trofoblas, pertumbuhan, NADH-reduktase

Pustaka

- Cocero, MJ., Moreno S, Díaz de la Espina, Aguilar B. 2002. Ultrastructural characteristics of fresh and frozen-thawed ovine embryos using two cryoprotectants *Biology of Reproduction* 66(5):1244-1258. 2002
- Djuwita, I, Faralinda, Mohamad K. 2009. The comparison of one and two steps equilibration in vitrification process on the morphology and viability of mouse blastocysts . *Jurnal Veteriner* (submitted).
- Dobrinisky JR. 1996. Cellular approach to cryopreservation of embryos. *Theriogenology* 45:17-26.
- Hochi, S, Semple S, Leibo SP. 1996. Effect of cooling and warming rates during cryopreservation on survival of in vitro-produced bovine embryos. *Theriogenology* 838-847.

- Malik S, Sudoyo H, Marzuki H. 2000. Microphotometric analysis of NADH-tetrazolium reductase deficiency in fibroblasts of patients with Leber hereditary optic neuropathy. *J Inherit Metab Dis* 23:730-744
- Thouas GA, Trounson AO, Ernst J, Wolvetang, Jones GM. 2004. Mitochondrial dysfunction in mouse oocytes results in preimplantation embryo arrest *in vitro*. *Biol Reprod* 71:1936-1942.
