

PERKEMBANGAN *in vitro* DAN *in vivo* EMBRIO MENCIT TANPA ZONA PELLUSIDA

In vitro AND *in vivo* DEVELOPMENT OF ZONA PELLUCIDA-FREE MOUSE EMBRYOS

Kusdiantoro Mohamad¹, Kartini Eriani², Ita Djuwita¹, Arief Boediono¹

¹Laboratorium Embriologi, Bagian Anatomi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Jl. Taman Kencana 3 Bogor 16151 INDONESIA, e-mail: anafkh@bogor.wasantara.net.id

²Laboratorium Histologi-Embriologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Syiah Kuala, Darussalam, Banda Aceh 23111, INDONESIA

ABSTRAK

Media Veteriner. 1999. 6(2): 1-4

Penelitian ini bertujuan untuk melihat perkembangan embrio mencit tanpa zona pelusida pada pembiakan *in vitro* dan keberhasilan implantasi setelah dipindahkan ke rahim induk penerima. Embrio dipanen pada hari ke-4 (H-4) kebuntingan (H-1= hari saat sumbat vagina terlihat) dan zona pelusida dihilangkan dengan menggunakan pronase 0,25% selama 4-5 menit. Embrio dibiakkan dalam media biakan *tissue culture medium* 199 (TCM 199) yang diimbui albumin serum sapi (*bovine serum albumin*, BSA) 0,4% dalam inkubator CO₂ 5% pada suhu 37°C selama lima jam. Tidak diperoleh perbedaan antara blastosis utuh (dengan zona pelusida) dan tanpa zona pelusida dalam perkembangannya menjadi blastosis ekspan, yaitu masing-masing 76% (31/41) dan 73% (43/59). Sebaliknya terdapat perbedaan morula utuh dan tanpa zona pelusida yang berkembang menjadi blastosis, yaitu masing-masing 79% (49/62) dan 19% (10/52). Hasil pemindahan embrio menunjukkan 48% (12/25) dari blastosis utuh dan 13% (6/45) dari blastosis tanpa zona pelusida yang dipindahkan berhasil mengalami implantasi dan 100% (3/3) induk penerima yang mendapatkan blastosis utuh serta 67% (4/6) induk penerima yang mendapatkan blastosis tanpa zona pelusida berhasil bunting pada pemeriksaan H-10 kebuntingan. Hasil ini menunjukkan bahwa embrio tanpa zona pelusida mampu berkembang secara *in vitro* maupun *in vivo*.

Kata-kata kunci: embrio tanpa zona pelusida, pembiakan *in vitro*, implantasi, mencit

ABSTRACT

Media Veteriner. 1999. 6(2): 1-4

The aim of this study was to examine the *in vitro* and *in vivo* development of zona pellucida-free mouse embryos transferred to the recipient. Embryos were flushed on 4 days of gestation (vaginal plug = 1 day of gestation) and pellucida zona was removed by using 0.25% pronase for 4-5 min. Embryo were cultured in tissue culture medium (TCM) 199 supplemented with 0.4% bovine serum albumin (BSA) in 5% CO₂ incubator at 37°C for 5 h. There was no difference

between zona pellucida-intact and zona pellucida-free blastocysts developed into expanded blastocysts (76%, 31/41 and 73%, 43/59 for zona pellucida-intact and zona pellucida-free blastocysts, respectively). In contrast, zona pellucida-intact morula developed to blastocysts better than zona pellucida-free morula (79%, 49/62 and 19%, 10/52 for zona pellucida-intact and zona pellucida-free morula, respectively). The transfer of zona pellucida-intact blastocysts and zona pellucida-free blastocysts resulted in completely implantation (48%, 12/25 and 13%, 6/45 for zona pellucida-intact blastocysts and zona pellucida-free blastocysts, respectively). All animals (100%, 3/3) received zona pellucida-intact blastocysts got in pregnancy at the 10th days of gestation compared to those received zona pellucida-free blastocysts (67%, 4/6). These results demonstrate that zona pellucida-free embryos could develop both *in vitro* and *in vivo*.

Key words: zona pellucida-free embryo, *in vitro* culture, implantation, mouse

PENDAHULUAN

Zona pelusida, suatu selubung glikoprotein yang membungkus sel telur mamalia, dibentuk selama proses folikulogenesis di dalam ovarium. Selain berfungsi dalam proses pembuahan dan pencegahan polispermia, zona pelusida juga berfungsi melindungi sel telur, menjaga keutuhan sel-sel blastomer dan mencegah terjadinya implantasi dini pada awal perkembangan embrio (Wassarman, 1990; Hafez *et al.*, 1993; Edwards dan Brody, 1995). Perkembangan teknik manipulasi dan rekayasa embrio melalui pembuahan mikro (*microfertilization*) untuk membantu pembuahan *in vitro* dan implantasi (Keefer, 1990; Fishel dan Symonds, 1993), penyayatan embrio untuk pembuatan kembar identik (Kippax *et al.*, 1991; Gray *et al.*, 1991; Vivanco *et al.*, 1991; de Armas *et al.*, 1992), agregasi embrio untuk pembuatan hewan kimera (Boediono *et al.*, 1993), dan biopsi sel-sel embrio untuk penentuan jenis kelamin atau pemeriksaan kelainan kromosom (Herr dan Reed, 1991; Edwards dan Brody, 1995) akan menyebabkan kerusakan sebagian atau bahkan seluruh zona pelusida.

Pada awalnya terdapat kekhawatiran bahwa embrio yang tidak memiliki zona pelusida akan mengalami gang-