

KULTUR *IN VITRO* EMBRIO MENCIT (*Mus musculus*) DAN HAMSTER MINI RUSIA (*Phodopus campbelli*) DALAM MEDIUM KSOMaa dan HECM-6

Bayu Rosadi¹, M Agus Setiadi², Dondin Sajuthi², Arief Boediono³

¹ Laboratorium Reproduksi Fakultas Peternakan Universitas Jambi, Jl Jambi-Muara Bulian KM 14 Mendalo Darat, Muaro Jambi Telp (0741)582907. E-mail:barostasik@gmail.com.

² Departemen Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan IPB

³ Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi Fakultas Kedokteran Hewan IPB

Kata kunci : kultur, embrio, KSOMaa, HECM-6, hamster

Pendahuluan

Penelitian kultur embrio mencit sudah banyak dilakukan, sedangkan sejauh yang kami ketahui belum ada laporan mengenai kultur embrio hamster mini Rusia (*Phodopus campbelli*). Lawitts dan Biggers (1993) mendesain medium KSOM untuk mengatasi *two-cell* block yang terjadi pada banyak strain outbred dan inbred mencit. Medium ini disempurnakan berdasarkan analisis konsentrasi K⁺ dan Na⁺ pada embrio tahap 2-sel dengan metode mikroanalisis probe elektron. Penambahan asam amino pada medium ini menstimulasi proliferasi sel embrio khususnya ICM dan differensiasi ICM menjadi ektoderm dan endoderm primitif (Biggers et. al. 2000). HECM dengan beberapa serinya (HECM-6, 9, dan 10) merupakan medium yang diformulasikan untuk mendukung perkembangan embrio hamster Syria (*Mesocricetus auratus*) praimplantasi (Ludwig et al. 2001), tidak mengandung fosfat berbeda dengan KSOM. Penelitian ini bertujuan untuk menyelidiki viabilitas embrio mencit dan hamster tahap 8-sel yang dikultur dalam medium KSOMaa dan HECM-6.

Materi dan Metode

Mencit betina strain DDY disuperovulasi dengan injeksi 5 IU PMSG (Foligon, Intervet, Netherland) dan 5 IU hCG (Chorulon, Intervet, Netherland) dengan interval 48 jam, hamster diinjeksi dengan 2,5 IU PMSG diikuti 2,5 IU hCG i.p 48 jam kemudian. Betina-betina mencit dan hamster yang disuperovulasi kemudian dikawinkan dengan pejantan. Embrio tahap 8-sel dikoleksi pada hari ke-3 setelah dikawinkan. Embrio mencit dikultur dalam medium KSOMaa+5% NBCS (T1) dan HECM-6+5% NBCS (T2), embrio hamster

dikultur dalam KSOMaa+5% NBCS (T3) dan HECM-6 + 5% NBCS (T4) pada suhu 37°C dan kondisi udara 5% CO₂ selama 48 jam. Setiap perlakuan terdiri dari lima ulangan. KSOMaa mengandung 0,35 mM fosfat (KH₂PO₄) dan 5,56 mM glukosa, HECM-6 tidak mengandung fosfat dan glukosa. Perkembangan embrio diobservasi setiap 24 jam. Setiap tahapan perkembangan yaitu morula kompak, blastosis awal, blastosis, blastosis lanjut, hatching, dan hatched diamati (Gambar).

Hasil dan Pembahasan

Perkembangan embrio mencit dan hamster tahap 8-sel dalam medium KSOMaa dan HECM-6 tercantum pada Tabel . Secara keseluruhan kedua macam medium mampu mendukung pertumbuhan embrio mencit dan hamster tahap 8 sel sampai mencapai tahap blastosis. Perbedaan mulai tampak ketika memasuki tahap blastosis lanjut dan proses hatching/hatched. Embrio hamster yang dikultur dalam medium KSOMaa (T3) perkembangannya menurun secara signifikan (P<0,05) dibandingkan T1, T, dan T4. Pada T2 embrio mencit yang dikultur dalam HECM-6 mampu tumbuh setara dengan embrio mencit yang dikultur dalam medium KSOMaa (T1), bahkan hatching/hatched rate yang diperoleh lebih tinggi dibandingkan T1 (P<0,05). Pada T3 tidak diperoleh satupun embrio hamster yang berhasil hatching atau hatched, sedangkan embrio hamster pada T4 mendapatkan angka hatching paling tinggi. Diduga perbedaan kompetensi perkembangan berkaitan dengan ketersediaan sumber energi, fosfat, dan faktor intrinsik dari embrio masing-masing spesies.

Tabel. Perkembangan embrio mencit dan hamster tahap 8-sel setelah kultur selama 48 jam

Perlakuan	Jumlah embrio	Tahap perkembangan dan jumlah embrio yang berkembang (%)				
		MK	HAw	Bl	BLj	H/ed
Mencit-KSOMaa (T1)	140	140 (100,0) ^a	140 (100,0) ^a	129 (92,1) ^a	129 (92,1) ^b	32 (22,9) ^b
Mencit-HECM-6 (T2)	52	52 (100,0) ^a	52 (100,0) ^a	52 (100,0) ^a	48 (92,3) ^b	30 (57,7) ^c
Hamster-KSOMaa (T3)	60	60 (100,0) ^a	60 (100,0) ^a	51 (85,0) ^a	29 (48,3) ^a	0 (0,0) ^a
Hamster-HECM-6 (T4)	46	46 (100,0) ^a	46 (100,0) ^a	46 (100,0) ^a	46 (100,0) ^b	34 (73,9) ^d

Ket. MK: Morula kompak; Baw: blastosis awal; Bl: blastosis; BLj: blastosis lanjut; H/ed: hatching/hatched

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata (P<0,05)

Kesimpulan

KSOMaa mampu mendukung perkembangan embrio tahap 8-sel pada mencit dan hamster, tetapi perkembangan embrio hamster lebih rendah memasuki tahap blastosis lanjut. Embrio mencit dan embrio hamster tahap 8-sel tumbuh lebih baik dalam medium HECM-6 dibandingkan KSOMaa.

Daftar Pustaka

Biggers JD, McGinnis LK, Raffin M. 2000. Amino acids and preimplantation development of the mouse in the protein-free potassium simplex optimized medium. *Biol Reprod* 63: 281-293.

Lawitts JA, Biggers JD. 1993. Culture of preimplantation embryos. *Methods Enzymol* 225:153-164.
 Ludwig TE, Squirell JM, Palmenberg AC, Bavister BD. 2001. Relationship between development, metabolism, and mitochondrial organization in 2-cell hamster embryos in the presence of low level of phosphate. *Biol Reprod* 65: 1648-1654.