

IDENTIFIKASI PROFIL PROTEIN OOSIT KAMBING PADA LAMA MATURASI *IN VITRO* YANG BERBEDA DENGAN SDS-PAGE

Nurul Isnaini

Produksi Ternak, Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang

Abstrak

Penelitian tentang identifikasi profil protein oosit kambing pada lama maturasi *in vitro* yang berbeda dengan SDS-PAGE telah dilakukan. Dari penelitian ini, diharapkan informasi mengenai ekspresi profil protein oosit kambing pada lama maturasi *in vitro* yang berbeda. Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental labolatoris. Hasil penelitian menunjukkan bahwa profil protein oosit pada lama maturasi *in vitro* 0,6,12, 18 dan 24 jam adalah : 158 kDa; 116 kDa; 97,2 kDa; 27 kDa dan 6,5 kDa sedangkan pada lama maturasi *in vitro* 30 jam adalah 116 kDa; 97,2 kDa; 27 kDa dan 6,5 kDa . Disarankan untuk melakukan *imunoblotting* sebagai konfirmasi untuk mengetahui apakah protein-protein tersebut merupakan protein yang berperan dalam maturasi oosit (yang berperan sebagai *Maturation Promoting Factor*).

Kata kunci : profil protein, oosit kambing, maturasi *in vitro*, SDS-PAGE

IDENTIFICATION OF GOAT OOCYTES PROTEIN PROFIL IN DIFFERENT TIME *IN VITRO* MATURATION (IVM) BY SDS-PAGE

Abstract

A study on the identification of goat oocytes protein profile in different time *in vitro* maturation by SDS-PAGE was conducted. This study was designed as an experimental laboratory study. The results showed that the oocyte protein profile in 0,6,12,18 and 24 hours of IVM were: 158 kDa; 116 kDa; 97,2 kDa; 27 kDa dan 6,5 kDa; while the oocyte protein profile in 30 hours were 116 kDa; 97,2 kDa; 27 kDa and 6,5 kDa. It was suggested to do *immunoblotting* as confirmation to know that these protein are important in maturation *in vitro* for goat oocytes

Key words : protein profile, goat oocyte, IVM, SDS-PAGE

PENDAHULUAN

Kambing merupakan ruminansia kecil yang sangat potensial untuk dikembangkan di Indonesia, karena selain sebagai sumber protein hewani yang baik, kambing dapat menghasilkan pupuk dan kulit sebagai komoditi ekspor yang bernilai jual tinggi. Pengembangan ternak kambing dengan mutu tinggi bisa dilakukan melalui embrio transfer. Dalam embrio transfer dibutuhkan embrio bagus dalam jumlah yang cukup dan tersedia secara kontinyu.

Tingkat produksi embrio kambing secara *in vitro* sampai saat ini masih relatif rendah, yaitu sekitar 11% (Boediono, dkk., 1999). Untuk memproduksi embrio kambing yang tinggi dibutuhkan tingkat fertilisasi dan tingkat perkembangan embrio yang tinggi pula. Oosit yang berhasil difertilisasi adalah oosit yang sudah mengalami maturasi. Tingkat maturasi oosit kambing bervariasi antara 15%-66% (Isnaini, dkk., 2000). Tingkat maturasi oosit kambing dipengaruhi oleh lama maturasi *in vitro* (Isnaini, 2006). Protein yang terkandung dalam oosit kambing sangat berpengaruh terhadap proses maturasi oosit.

Oosit matang atau *mature* mengandung semua komplemen protein induk yang dibutuhkan untuk fertilisasi, transisi untuk transkripsi sigot dan memulai fase embryogenesis (Ma et. Al., 2008). Komunikasi dua arah antara oosit dan sel granulosa yang mengelilinginya adalah esensial untuk perkembangan oosit (Meng et.al.,

2007). Proses maturasi akan merubah sintesis pola protein dalam oosit. Dalam proses maturasi oosit akan terjadi perubahan protein yang terbentuk dalam oosit, hal ini akan menyebabkan perubahan susunan protein dalam oosit.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil protein dari oosit kambing pada lama *in vitro* maturasi, berdasarkan berat molekul yang bersangkutan.

METODE PENELITIAN

Lokasi Penelitian

Penelitian *in vitro* maturasi oosit kambing dilakukan di laboratorium RS Bersalin Mutiara Bunda jl. Ciujung 19 Malang, dan untuk elektroforesis dilakukan di laboratorium Biokimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang.

Metode Penelitian

Metode Penelitian yang digunakan adalah percobaan laboratorium

Tahapan Penelitian

Penelitian dilakukan dengan beberapa tahapan kegiatan penelitian yaitu koleksi ovari dan oosit, maturasi oosit, dan analisa profil protein oosit dengan SDS-PAGE

a. Koleksi ovari dan oosit

Ovari diperoleh dari Rumah Potong Hewan (RPH) Kambing di Sukun Malang. Ovari yang didapatkan disimpan dalam termos yang berisi NaCl fisiologis yang mengandung penicillin G 1000 IU per ml dan streptomisin sulfat 0,2 Ug

per liter pada suhu 30-35 °C. Oosit diambil secara aspirasi dengan menggunakan jarum ukuran G 21 yang dihubungkan dengan spuit 5 ml berisi 1 ml PBS yang telah diberi tambahan BSA 0,3% dan gentamisin 50 mg/L. Aspirasi dilakukan pada folikel berukuran 6-8 mm.

b. Pematangan oosit

Oosit dimatangkan dalam TCM 199 + FBS 10%. Sebanyak sekitar 100 buah oosit dikultur dalam 500 UI (5 drop medium, masing-masing 100 UI) medium tetes dan ditutup dengan mineral oil. Pematangan oosit dilakukan pada suhu 38,5 °C dalam inkubator yang mengandung 5% CO₂ selama 0, 6, 12, 18, 24, dan 30 jam. Setelah dilakukan *in vitro* pematangan, dilakukan elektroforesis menggunakan SDS-PAGE.

c. Analisis profil protein oosit dengan SDS-PAGE

Pada Penelitian ini dilakukan isolasi protein yang berbeda dari 6 kelompok oosit dengan lama pematangan *in vitro* (0, 6, 12, 18, 24 dan 30 jam). Protein hasil isolasi dikonfirmasi dengan teknik SDS-PAGE (Fathiyah dkk., 2006). Pita-pita protein yang nampak dianalisis untuk mengetahui berat molekulnya dengan membandingkan standard marker (Lastuti dkk., 2008).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi protein sampel oosit setelah berbagai lama pematangan *in vitro* dilakukan di laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas

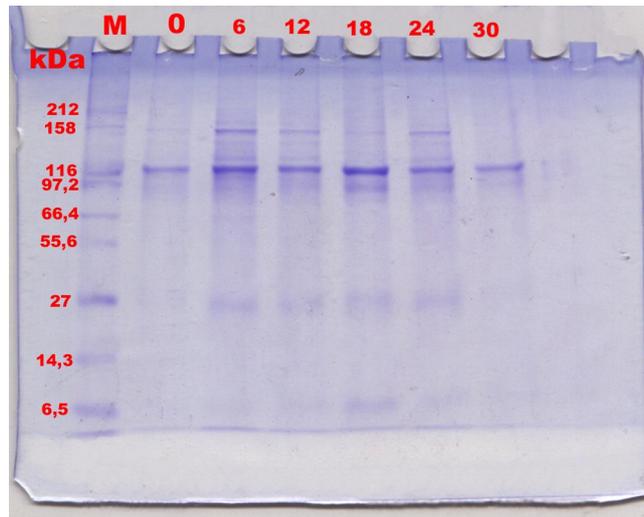
MIPA Universitas Brawijaya Malang. Profil protein hasil isolasi oosit, dikonfirmasi dengan SDS-PAGE ditampilkan pada Gambar 1.

Gambar 1. menunjukkan bahwa kelompok oosit pada sumuran 2, 3, 4, 5 dan 6 (0, 6, 12, 18 dan 24 jam MIV) mengekspresikan pita-pita protein dengan berat molekul berturut-turut adalah : 158 kDa; 116 kDa; 97,2 kDa; 27 kDa dan 6,5 kDa sedangkan pada sumuran 7 (30 jam MIV) pita protein dengan berat molekul 158 kDa menghilang dan pita-pita protein yang lain yaitu 116 kDa; 97,2 kDa; 27 kDa dan 6,5 kDa tetap ada.

Oosit masak merupakan oosit yang sudah siap difertilisasi oleh sperma, oosit ini akan mengandung gen-gen tertentu sehingga menyebabkan terjadinya perubahan pada protein yang diekspresikannya. Semua kelompok oosit pada Gambar 1. mengekspresikan protein dengan berat molekul 116 kDa; 97,2 kDa; 27 kDa dan 6,5 kDa.

Metode *immunoblotting* diperlukan sebagai konfirmasi untuk mengetahui apakah protein-protein tersebut merupakan protein yang berperan dalam pematangan oosit (yang berperan sebagai *Maturation Promoting Factor*) apakah tidak.

Elektroforesis dengan Acrylamid (PAGE) merupakan metode standar untuk memisahkan, identifikasi, karakterisasi, dan purifikasi molekul DNA, RNA, (Artama, 1991).



Gambar 1. Profil protein oosit kambing setelah berbagai lama maturasi *in vitro*, menggunakan SDS-PAGE.

Keterangan: (Sumuran 1 s/d 5 adalah : M = Marker, 0 = lama maturasi *in vitro* (MIV) 0 jam; 6 = lama MIV 6 jam; 12 = lama MIV 12 jam; 18 = lama MIV 18 jam dan 30 = lama MIV 30 jam).

Pemisahan protein dengan metode SDS-PAGE bertujuan untuk memisahkan protein dalam sampel berdasarkan molekul. Prinsip dasar SDS-PAGE ini adalah dinaturasi protein oleh *Sodium Dodecyl Sulphate* yang dilanjutkan dengan pemisahan molekul berdasarkan molekulnya dengan metode elektroforesis yang menggunakan gel, dalam hal ini digunakan *polyacrylamide*. Zat lain yang digunakan adalah Temed sebagai inisiator terjadinya polimerisasi dan Ammonium Persulfat (APS) sebagai katalisator. Pemberian Temed dan APS harus disesuaikan dengan kebutuhan karena apabila terlalu banyak dapat menyebabkan protein teroksidasi dan perubahan pada *buffer*, sedangkan pemakaian APS

yang terlalu sedikit dapat memperlambat reaksi sehingga polimerisasi akan berjalan lambat. Pemilihan konsentrasi gel yang tepat juga menentukan keberhasilan pemisahan fraksi protein karena menentukan besar pori-pori matriks gel, makin tinggi konsentrasi gel maka pori yang terbentuk semakin kecil. Pemakaian *Laemmli buffer* dalam penelitian ini bertujuan agar fraksi protein saat *dirunning* dapat terpisah dengan sempurna. Pencucian dengan *E. Buffer* bertujuan untuk menghantarkan listrik agar cairan sampel dapat turun ke dasar *plate*. Pemberian asam asetat diperlukan untuk menghentikan reaksi agar pewarnaan tidak terlalu gelap sehingga dapat terbaca (Lastuti dkk, 2008).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Oosit kambing yang dimaturasi *in vitro* dengan waktu yang berbeda memiliki profil protein yang berbeda.

Saran

Perlu dilakukan uji lebih lanjut berupa *immunoblotting* dengan antibodi primer tertentu terhadap hasil elektroforesis oosit dengan SDS-PAGE untuk memastikan bahwa protein yang terekspresi tersebut merupakan protein yang berperan dalam maturasi oosit kambing secara *in vitro*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Pada kesempatan kali ini penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Direktorat Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional yang telah mendanai penelitian ini sehingga penelitian bisa berjalan dengan lancar.

DAFTAR PUSTAKA

- Artama, W.T. 1991. *Rekayasa Genetika*. PAU-Bioteknologi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Boediono, A., S. Saha, C. Sumantri and T. Suzuki. 1999. *Development In Vitro and In Vivo of Aggregated Parthenogenetic Bovine Embrios*. Journal of Reproduction, Fertility and Development. 107: 1073-1079.
- Fathiyah, S. Rahayu, S. Widyarti dan E. Laras. 2006. *Teknik Dasar Analisis Protein*. FMIPA Universitas Brawijaya Malang.
- Isnaini, N., S. Wahjuningsih, G. Ciptadi. 2000. *Suplementasi ekstrak hipofise sapi dalam TCM199 untuk in vitro maturasi oosit kambing*. Agritek 8(3), 213-218.
- Isnaini, N. 2006. *Ekspresi Gen Maturation Promoting Factors (MPF) Serta Kompetensinya dalam Maturasi Oosit Kambing Secara In Vitro*. J. Ternak Tropika 7 (1), 34-42.
- Lastuti, N.D.R., A. R. Pasila dan T. Nurhayati. 2008. *Identifikasi Profil Protein Ekskresi-Sekresi Cacing Haemonchus contortus Dewasa dengan SDS-PAGE*. Veterinaria Medika 1 (1), 39-42
- Ma, M., X. Guo, F. Wang, C. Zhhao, Z. Liu, Z. Shi, Y. Wong, K. Zhang, N. Wang, M. Lia, Z. Zhhou, J. Liu, Q. Li, L. Wang, R. Huo, J. Sha and Q. Zhou. 2008. *Protein Expression Profile of the Mouse Metaphase-II Oocyte*. J Proteome Res. 7 (11), 4821-4830.
- Meng, Y., L. Xiao-Hui, X. Ma, Y. Shen, L. Fan, J. Leng, L. Jia-Yin and S. Jia-Hao. 2007. *The Protein Profile of Mouse Mature Cumulus-oocyte Complex*. J. Proteins and Proteomics. 1774, 1477-1490.