

JURNAL METAMORFOSA

Journal of Biological Sciences

ISSN: 2302-5697

<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

Kuantifikasi Protein HAS2, PTX3, BCL2 dan BAX dalam Sel Kumulus Oosit Matur (MII) dan Imatur (MI) pada Pasien Bayi Tabung

Quantification of HAS2, PTX3, BCL2 and BAX Proteins in Cumulus Cells from Mature (MII) and Immature (MI) Oocytes in IVF Patients

Ni Putu Sri Risa Dewi^{1*}, Ngurah Intan Wiratmini¹ dan Jaqueline Sudiman²

¹Program Studi Magister Biologi Fakultas MIPA Universitas Udayana

²Bagian Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

*Email: risa.dewi11@gmail.com

INTISARI

Kompetensi oosit merupakan salah satu faktor penentu yang mempengaruhi hasil dari siklus IVF dalam hal kemampuan oosit untuk mencapai pematangan dan terbuahi. Oleh karena itu diperlukan suatu metode pemeriksaan yang objektif dan efisien untuk menilai viabilitas dan kompetensi oosit. Pendekatan non-invasif berupa analisis proteomik dari sel kumulus oosit dapat dijadikan sebagai pengembangan metode untuk memprediksi kompetensi dan viabilitas oosit yang berpotensi sebagai prediktor molekuler untuk prognosis program IVF. Penelitian ini bertujuan untuk mengukur penanda protein (HAS2, PTX3, BCL2 dan BAX) yang diekspresikan dalam sel kumulus oosit manusia pada oosit matang (MII) dan tidak matang (MI). Penelitian ini merupakan penelitian observasional. Sampel yang digunakan adalah sel kumulus dari 12 oosit matang (MII) dan tidak matang (MI) yang diperoleh dari petik ovum pada pasien yang mengikuti prosedur IVF-ICSI. Sampel sel kumulus diisolasi dengan menggunakan ultrasonikator, kemudian ekspresi protein dikuantifikasi dengan metode ELISA. Analisis data dilakukan dengan uji statistik Mann-Whitney test. Hasil penelitian menunjukkan kuantitas protein HAS2, PTX3 dan BCL2 lebih tinggi pada sel kumulus yang berasal dari oosit yang matang tetapi berbeda tidak signifikan ($P > 0,05$) dibandingkan dengan sel kumulus yang berasal dari oosit yang tidak matang, namun kuantitas protein BAX secara signifikan ($P < 0,05$) lebih tinggi ditemukan pada sel kumulus yang berasal dari oosit yang tidak matang dibandingkan dengan sel kumulus yang berasal dari oosit yang matang. Penelitian ini menunjukkan bahwa protein BAX dapat digunakan sebagai penanda kualitas dan pematangan oosit.

Kata kunci: ELISA, Maturasi, Protein penanda, Sel Kumulus

ABSTRACT

Oocyte developmental competence is one of the determining factors that influence the outcomes of an IVF cycle regarding the ability of a female gamete to reach maturation and be fertilized. A non-invasive approach using proteomic analysis of oocyte cumulus cells (CCs) can be used as a method to predict oocyte competence and viability that could potentially function as molecular predictors for IVF program prognosis. Our study was aimed at quantifying protein markers (HAS2, PTX3, BCL2 and BAX) that are expressed in human CCs between mature (MII) and immature (MI) oocytes. This research is an analytic observational study. Twelve samples of CCs from mature (MII) and immature (MI) oocytes were collected after ovum pick up from patients undergoing ICSI. CCs samples were isolated using an ultrasonicator and protein expressions were quantified using ELISA method. The Mann-Whitney test was used to compare the protein expressions from CCs between mature and immature oocytes. The results showed HAS2, PTX3 and BCL2 proteins expressions was increase in CCs from mature oocytes but had

no significant effect compared to CCs from immature oocytes, however, BAX protein expression was significantly higher ($P < 0.05$) in CCs from immature oocytes which CCs from mature oocytes. This present study shows that BAX proteins could be used as markers for oocyte quality and maturation.

Keywords: ELISA, maturation, proteins marker, cumulus cells (CCs)

PENDAHULUAN

Pengembangan Teknologi Reproduksi Berbantu (TRB) atau *Assisted Reproductive Technology* (ART) terus dilakukan untuk dapat mengatasi seluruh masalah infertilitas. Diantara beberapa teknologi reproduksi berbantu yang tersedia, IVF (*In Vitro Fertilization*) atau yang dikenal umum dengan bayi tabung memberikan tingkat keberhasilan tertinggi dalam kehamilan maupun kelahiran bayi hidup (Uyar *et al.*, 2013). Teknik ini sebenarnya telah banyak dilakukan pada beberapa dekade yang lalu, di Indonesia sendiri dari jutaan pasangan yang mengalami masalah infertilitas sekitar 5% dari pasangan tersebut melakukan perawatan di klinik TRB (Purvis, 2015). Walaupun teknologi ini terus berkembang, namun angka keberhasilan tidak banyak berubah.

Kualitas oosit merupakan faktor penentu yang penting dalam mencapai kehamilan dalam perawatan IVF (Molinari *et al.*, 2016). Oleh karena itu diperlukan suatu metode pemeriksaan yang objektif dan efisien untuk menilai kualitas oosit. Pendekatan non-invasif berupa analisis proteomik dari sel kumulus oosit dapat dijadikan sebagai pengembangan metode untuk memprediksi kompetensi dan viabilitas oosit (Braga *et al.*, 2016).

Pematangan oosit merupakan pusat dan puncak dari biologi reproduksi wanita. Proses ini selain didorong faktor eksternal seperti ketersediaan nutrisi (Faradila *et al.*, 2017), juga didukung oleh perkembangan intrinsik dari oosit itu sendiri dan hormon gonadotropin yang disekresikan oleh hipofisis. Pematangan oosit meliputi empat aspek yaitu; pematangan inti, pematangan sitoplasma, pematangan organel dan pematangan epigenetik (Fan & Sun, 2019). Kualitas kematangan oosit tergantung pada kematangan sitoplasma dan inti sel (nukleus). Kematangan nukleus dapat terlihat lebih jelas dibandingkan tingkat kematangan sitoplasma. Secara klinis, dalam TRB pematangan nukleus

mudah dinilai dengan pelepasan badan polar pertama, tetapi derajat pematangan sitoplasma dan epigenetik sulit untuk dinilai. Sementara untuk perkembangan embrio yang sukses diperlukan pematangan inti, sitoplasma, dan epigenetik yang sinkron (Coticchio *et al.*, 2014). Dengan demikian gangguan pada proses pematangan oosit ini dapat menurunkan jumlah embrio yang diperoleh serta menurunkan angka keberhasilan bayi tabung.

Berbagai protein dan gen berperan penting untuk pematangan oosit. Protein dan gen yang aktif pada oosit yang tidak matang (stadium germinal vesicle dan Metaphase I) berbeda dengan oosit yang matang (Metaphase II). Pada oosit yang matang terdapat lebih dari 400 gen yang ekspresinya sangat meningkat dan 800 gen yang ekspresinya menurun. Pada oosit yang matang kebanyakan gen dan protein yang meningkat adalah yang berhubungan dengan metabolisme protein, mitosis sel, transport elektron, fertilisasi, protein microtubule, replikasi DNA dan reseptor terkait protein G (Assou *et al.*, 2006).

Oosit dan sel kumulus merupakan dua bagian yang tidak terpisahkan melalui *gap junction*. Sel kumulus yang merupakan sel somatik memberikan suplai energi pada oosit. Aktivasi dari reseptor EGF pada sel granulosa melalui ERK1/2 akan meningkatkan produksi *hyaluronan-rich matrix* diantaranya *hyaluronan synthase 2* (HAS2), *tumor necrosis factor* (TNF)-*a-induced protein 6* (TNFAIP6), *pentraxin* (PTX3), *prostaglandin-endoperoxide synthase 2* (PTGS2) yang berguna untuk meningkatkan perkembangan sel granulosa serta berperan dalam musifikasi dan ekspansi dari sel kumulus. Adanya musifikasi dan ekspansi dari *cumulus-oocyte complex* (COC) diperlukan untuk ovulasi dan kematangan oosit, kegagalan dari proses ini dapat menyebabkan infertilitas. Ekspansi sel kumulus ini akan membantu penangkapan COC oleh fimbria, proses

fertilisasi dan proses perkembangan embrio selanjutnya (Gilchrist dan Ritter, 2011).

Penelitian Liu *et al.* (2018) juga menyatakan bahwa adanya faktor pertumbuhan yang disekresikan oleh oosit atau dikenal sebagai *oocyte-secreted factors* (OSFs) dapat merangsang ekspansi, proliferasi dan juga terlibat dalam regulasi apoptosis dari sel kumulus dengan adanya protein pro dan anti apoptosis yaitu *BCL2 Associated X protein* (BAX) dan *B-cell lymphoma-2* (BCL2). Berdasarkan uraian tersebut, maka peneliti tertarik untuk meneliti protein penanda yang berkaitan dengan kualitas oosit yaitu protein HAS2, PTX3, BCL2 dan BAX. Keempat protein ini dapat ditemukan pada sel kumulus oosit, dimana protein HAS2 memainkan peran penting dalam patologi vaskular karena mendukung proliferasi sel (Yung *et al.*, 2019), protein PTX3 berperan penting untuk proses fertilisasi oosit (Scarchilli *et al.*, 2007) serta protein BCL2 dan BAX berperan dalam regulasi apoptosis dari sel kumulus (Liu *et al.*, 2018). Penelitian ini bertujuan untuk mengukur penanda protein (HAS2, PTX3, BCL2 dan BAX) yang diekspresikan dalam sel kumulus oosit manusia pada oosit matang (MII) dan tidak matang (MI).

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik untuk melihat protein penanda sel kumulus oosit pada oosit matang (fase MII) dan oosit yang tidak matang (fase MI). Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, sementara pengambilan sampel diperoleh dari unit layanan reproduksi WIN RSIA Puri Bunda Denpasar. Waktu penelitian dilaksanakan dari bulan November 2021 sampai dengan bulan Februari 2022. Sampel dalam penelitian ini adalah kumulus sel oosit yang berasal dari 6 orang pasien pada rentang usia 30 sampai 40 tahun. Sel kumulus yang diambil berasal dari satu oosit matang (MII) dan satu oosit yang tidak matang (MI) pada masing-masing pasien, Dengan demikian total sampel sel kumulus yang digunakan pada *pentraxin* (Ptx3) ELISA Kit 96T (BT LAB[®]), *Human Bcl2/Adenovirus E1B 19kDa Interacting*

penelitian ini berasal dari 12 sel oosit yang berbeda. Variabel penelitian yang akan diukur adalah kuantitas protein HAS2, PTX3, BCL2 dan BAX pada sel kumulus oosit yang berasal dari oosit pada fase MI dan MII. Oosit matang (fase MII) ditunjukkan dengan adanya badan polar I sementara oosit yang tidak matang (fase MI) belum ditemukan adanya badan polar (Gambar 1).

Pengumpulan sampel sel kumulus

Sebanyak enam orang pasien yang telah memenuhi syarat untuk menjalani IVF-ICSI mendapat stimulasi ovarium terkontrol sesuai dengan metode *short protocol*. Pemicu ovulasi dilakukan dengan hCG 10.000 IU (Ovidrel[®]; Merck Serono) dan 34-36 jam kemudian dilakukan petik ovum atau OPU (*Ovum Pick Up*). Oosit yang diperoleh disimpan di dalam inkubator dengan kadar CO₂ 6%, suhu 37°C selama 2-3 jam. Setelah minimal 2 jam paska OPU, dilakukan denudasi *cumulus oophorus* di dalam 0,2 mL *enzym hyaluronidase* (HyaseTM-10X; Vitrolife). Sel kumulus dari masing-masing oosit yang sudah bebas dari sel-sel eritrosit dimasukkan ke dalam Mikrotube (ependorf[®]) terpisah untuk masing-masing sampel dan diberi label. Sel kumulus dicuci dengan PBS sebanyak dua kali dalam microcentrifuge kemudian supernatan dibuang. Sampel yang telah dicuci disimpan di lemari pendingin pada suhu -80°C sampai waktunya digunakan (Norris *et al.*, 2009; Demiray *et al.*, 2019). Metode ini telah disetujui oleh komisi etik penelitian Fakultas Kedokteran Udayana dengan nomor 2181/UN14.2.2.VII.14/LT/2021.

Isolasi protein sel kumulus oosit dan prosedur ELISA

Isolasi protein dari sel kumulus oosit dilakukan dengan menggunakan ultrasonikator (Biobase[®]). Sampel kemudian disentrifugasi dalam mikrocentrifuge pada suhu 4°C pada kecepatan 12.000 RPM selama 10 menit. Supernatan diambil kemudian digunakan dalam prosedur ELISA. ELISA kit yang digunakan antara lain: *Human hyaluronan synthase 2* (Has2) ELISA Kit 96T (BT LAB[®]), *Human Protein 3 (BNIP3)* ELISA Kit 96T (BT LAB[®]) dan *Human BCL2 Associated X protein* (BAX)

ELISA Kit 96T (BT LAB®). Prosedur penggunaan kit ELISA sesuai dengan yang dicantumkan oleh produsen, pertama semua reagen di *equilibrasi* pada suhu ruang sebelum digunakan. Selanjutnya tambahkan 50 μ L larutan standar ke dalam sumur sesuai dengan konsentrasinya, sementara untuk sampel tambahkan 40 μ L sampel ke dalam sumur. Kemudian tambahkan 10 μ L *biotinylated antibody*, selanjutnya pada seluruh sumur (standar dan sampel) ditambahkan 50 μ L *Streptavidin-HRP*, homogenkan kemudian ditutup dengan *seal* penutup dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit di dalam inkubator. Setelah inkubasi, lepaskan *seal* penutup kemudian cuci *plate* dengan menggunakan *wash buffer* 25X. *Plate* dikeringkan dengan menggunakan tissue dan diulang sebanyak lima

kali. Setelah *plate* mengering tambahkan 50 μ L *substrate solution A* dan 50 μ L *substrate solution B* ke dalam seluruh sumur. Selanjutnya *plate* diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama 10 menit di dalam inkubator. Setelah inkubasi ditambahkan *stop solution* pada seluruh sumur maka akan terjadi perubahan warna cairan dari biru menjadi kuning. Perubahan warna yang terjadi dibaca pada ELISA reader dengan panjang gelombang 450 nm dalam rentang waktu 10 menit setelah ditambahkan *stop solution*. Hasil yang tertera pada perangkat ELISA reader selanjutnya dihitung untuk menentukan jumlah protein yang terdapat dalam sampel sel kumulus. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji statistik *Mann-Whitney* menggunakan program *IBM SPSS Statistics* 22.0. Data dinyatakan berbeda secara signifikan pada taraf $P < 0,05$.

HASIL

Penelitian pada 12 sel kumulus oosit dari oosit yang matang dan tidak matang menunjukkan bahwa kuantitas protein HAS2, PTX3, BCL2 dan BAX berbeda antar kelompok. Oosit

ditentukan tingkat kematangannya setelah dilakukan denudasi oosit yaitu fase MII (adanya badan polar I) dan fase MI (belum adanya badan polar I) (Gambar 1).



Gambar 1 Perbedaan oosit matang (fase MII) dengan oosit yang tidak matang (fase MI) (Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2022).

Keterangan: A= oosit matang (fase MII), B= oosit yang tidak matang (fase MI), badan polar I (tanda panah). Perbesaran 40X, Bar= 50 μ m

Pada Tabel 1 ditunjukkan bahwa kuantitas protein HAS2, PTX3 dan BCL2 ditemukan lebih tinggi pada sel kumulus yang berasal dari oosit yang matang dibandingkan dengan sel kumulus yang berasal dari oosit yang tidak matang, namun perbedaan kuantitas protein ini tidak berbeda secara signifikan ($P > 0,05$). Sebaliknya kuantitas protein BAX ditemukan lebih tinggi

pada sel kumulus yang berasal dari oosit yang tidak matang dibandingkan dengan oosit yang matang, dan menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$) antar kelompok oosit.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa kuantitas protein HAS2 pada sel kumulus tidak terkait dengan pematangan oosit, hal ini terlihat dari kuantitas protein HAS2 yang ditemukan

tidak memiliki pengaruh signifikan ($P>0,05$) antara sel kumulus yang berasal dari oosit yang matang dan tidak matang. Rata-rata kuantitas protein HAS2 tertinggi pada kelompok oosit

matang yaitu sebesar 258,15 ng/mL sementara rata-rata kuantitas protein HAS2 terendah terdapat pada kelompok oosit tidak matang sebanyak 216,70 ng/mL.

Tabel 1 Rata-rata kuantitas protein HAS2, PTX3, BCL2 dan BAX pada oosit matang (fase MII) dan oosit yang tidak matang (fase MI)

Kuantitas Protein Pada Oosit Matang (MII) dan Tidak Matang (MI)			
	Oosit Matang (MII)	Oosit Tidak Matang (MI)	p-value
HAS2 (ng/mL)	258,15 ± 52,769	216,70 ± 42,732	0,337
PTX3 (ng/mL)	8,81 ± 0,897	8,02 ± 0,289	0,150
BCL2 (U/mL)	400,15 ± 80,517	322,75 ± 62,816	0,200
BAX (ng/mL)	37,09 ± 4,029	46,67 ± 7,678	0,016

Keterangan: Nilai (mean ± standar deviasi)

Kuantitas protein PTX3 juga tidak terkait dengan pematangan oosit, dimana kuantitas protein yang ditemukan tidak memiliki pengaruh signifikan ($P>0,05$) antara sel kumulus yang berasal dari oosit yang matang dan tidak matang. Rata-rata kuantitas protein PTX3 tertinggi juga ditemukan pada sel kumulus yang berasal dari oosit matang yaitu sebesar 8,81 ng/mL dan rata-rata kuantitas protein PTX3 terendah terdapat pada sel kumulus yang berasal dari oosit tidak matang yaitu sebesar 8,02 ng/mL. Demikian juga dengan kuantitas protein BCL2 tidak terkait dengan pematangan oosit, dimana kuantitas protein yang ditemukan tidak memiliki perbedaan yang signifikan ($P>0,05$) antar kelompok oosit yang matang dan tidak matang. Rata-rata kuantitas protein BCL2 tertinggi terdapat pada sel kumulus yang berasal dari oosit matang yaitu sebesar 400,15 U/mL sementara rata-rata kuantitas protein BCL2 terendah terdapat pada sel kumulus yang berasal dari oosit tidak matang sebesar 322,75 U/mL.

Berdasarkan hasil uji statistik, kuantitas protein BAX merupakan satu-satunya yang menunjukkan perbedaan yang signifikan pada kelompok oosit. Berbeda halnya dengan ketiga protein lainnya, kuantitas protein BAX secara signifikan ($P<0,05$) ditemukan lebih tinggi pada sel kumulus yang berasal dari oosit tidak matang dibandingkan dengan kelompok oosit yang matang. Rata-rata kuantitas protein BAX

tertinggi ditemukan pada sel kumulus yang berasal dari oosit yang tidak matang yaitu sebesar 46,67 ng/mL sedangkan rata-rata kuantitas protein BAX terendah terdapat pada sel kumulus yang berasal dari oosit matang yaitu sebesar 37,09 ng/mL. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa tingkat kematangan oosit berpengaruh signifikan terhadap kuantitas protein BAX pada sel kumulus oosit, namun tidak dengan protein HAS2, PTX3 dan BCL2.

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan kuantifikasi terhadap protein penanda kualitas oosit yang kemungkinan terkait dengan proses pematangan oosit. Hasil uji kuantitas protein HAS2, PTX3, BCL2 pada sel kumulus oosit menunjukkan bahwa ketiga protein tersebut ditemukan lebih tinggi pada sel kumulus yang berasal dari oosit yang matang dibandingkan dengan sel kumulus yang berasal dari oosit yang tidak matang, namun tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($P>0,05$) antar kelompok oosit. Berbeda halnya dengan kuantitas protein BAX yang tinggi ditemukan pada sel kumulus yang berasal dari oosit yang tidak matang dan menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($P<0,05$) antar kelompok oosit (Tabel 1).

Kuantitas protein HAS2 pada sel kumulus yang berasal dari oosit matang lebih tinggi dibandingkan oosit yang tidak matang, namun

hasil ini tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($P>0,05$). Kuantitas protein HAS2 tinggi ditemukan pada sel kumulus karena HAS2 adalah enzim utama untuk mensintesis asam hialuronat (HA). Pada sel kumulus, HA memainkan peran penting dalam patologi vaskular karena mendukung proliferasi dan migrasi sel (Yung *et al.*, 2019). Produksi hyaluronan diperlukan untuk ekspansi kumulus dimana ekspansi kumulus sel merupakan salah satu indikator kematangan oosit (Richards, 2005). Dengan demikian tingginya kuantitas protein HAS2 yang terdapat pada sel kumulus yang berasal dari oosit yang matang mengindikasikan proses proliferasi sel yang sedang terjadi pada oosit tersebut.

Menurut penelitian McKenzie *et al.* (2004) dengan uji RT-PCR pada sel kumulus oosit, melaporkan bahwa ekspresi gen pada sel kumulus seperti HAS2, PTGS2 dan GREM1 lebih tinggi diekspresikan pada oosit yang menghasilkan embrio dengan kualitas yang bagus dibandingkan dengan embrio berkualitas rendah pada pasien IVF-ICSI. Penelitian pada embrio stadium blastosis juga menunjukkan hasil yang serupa dimana gen HAS2 tinggi diekspresikan pada sel kumulus dari oosit yang mampu berkembang menjadi blastosis yang berkualitas baik (Kahraman *et al.*, 2018). Oleh karena itu, dibandingkan dengan fungsi sebagai protein yang berperan dalam ekspansi kumulus sel dan maturasi, kuantitas protein HAS2 lebih terkait dengan kompetensi oosit untuk tumbuh menjadi embrio berkualitas baik.

Kuantitas protein PTX3 tinggi ditemukan pada sel kumulus yang berasal dari oosit matang dibandingkan oosit yang tidak matang, namun hasil ini juga tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($P>0,05$). Kuantitas protein PTX3 pada penelitian ini dikatakan tidak terkait dengan pematangan oosit. Protein PTX3 pada sel kumulus oosit memiliki kuantitas yang lebih kecil jika dibandingkan dengan protein HAS2 baik pada sel kumulus yang berasal dari oosit matang maupun tidak matang. Hal ini disebabkan karena protein PTX3 dalam matriks ekstraseluler kumulus oophorus berperan penting untuk proses fertilisasi oosit (Scarchilli *et al.*, 2007). PTX3 diproduksi oleh sel kumulus

baik in vivo maupun in vitro di bawah rangsangan yang mendorong terjadinya ekspansi kumulus dan terlokalisasi dalam matriks ekstraseluler. Protein PTX3 tidak berinteraksi langsung dengan HA tetapi mengikat matriks kumulus dan membentuk kompleks multimolekul yang dapat menghubungkan rantai HA secara silang (Salustri *et al.*, 2004). Dengan demikian, PTX3 adalah konstituen struktural dari matriks ekstraseluler kumulus oophorus yang penting untuk kesuburan wanita terkait kemampuan oosit untuk terbuahi (Turathum *et al.*, 2021).

Pada penelitian Kahraman *et al.* (2018) dinyatakan bahwa peningkatan ekspresi PTX3 ditemukan pada sel kumulus dari oosit yang berkembang menjadi embrio yang tampak normal pada hari ke tiga dibandingkan dengan oosit yang gagal untuk terbuahi. Penelitian lain juga menunjukkan bahwa ekspresi PTX3 yang lebih tinggi ditemukan pada sel kumulus oosit dalam perkembangan embrio normal pada hari ketiga dibandingkan dengan oosit yang gagal dalam pembuahan. Defisiensi PTX3 kemungkinan menjadi penyebab infertilitas yang tidak dapat dijelaskan pada wanita (Salustri *et al.*, 2004).

Analisis kuantitas protein BCL2 dan BAX menggunakan sampel sel kumulus menunjukkan perbedaan signifikan ($P<0,05$) pada kuantitas protein BAX namun tidak pada kuantitas protein BCL2. Kuantitas protein BCL2 ini ditemukan tinggi pada sel kumulus yang berasal dari oosit matang dibandingkan oosit yang tidak matang, berbeda halnya dengan kuantitas protein BAX yang tinggi ditemukan pada sel kumulus yang berasal dari oosit yang tidak matang dibandingkan dengan sel kumulus yang berasal dari oosit yang matang. Dengan demikian kuantitas protein BCL2 dikatakan tidak berpengaruh terhadap kematangan oosit. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Filali *et al.* (2009), terkait kematangan oosit yang menunjukkan bahwa kandungan mRNA BCL2 lebih tinggi di dalam sel kumulus dari oosit yang berhasil terbuahi. Sehingga dapat dinyatakan bahwa ekspresi BCL2 lebih terkait dengan kemampuan oosit dalam proses fertilisasi.

Hasil penelitian menunjukkan kuantitas protein BAX berpengaruh signifikan ($P < 0,05$) terhadap kematangan oosit. Protein BAX merupakan salah satu protein pro-apoptosis, sehingga peningkatan kadar protein ini di dalam sel kumulus mengindikasikan adanya peningkatan tingkat apoptosis. BAX mengikat beberapa protein anti-apoptosis seperti BCL-xl yang menghambat translokasi BAX ke membran luar mitokondria, oleh karena itu apoptosis yang dimediasi BAX bergantung pada konsentrasi protein pro dan anti-apoptosis. BAX menginduksi permeabilisasi membran luar mitokondria yang menyebabkan pembengkakan dan pecahnya mitokondria serta menyebabkan pelepasan protein periplasmik seperti sitokrom C. Sitokrom C mengikat dan mengaktifkan caspases sitosolik yang dikenal sebagai protease efektor kematian sel (Carpenter & Brady, 2013).

Tingginya kadar protein BAX pada sel kumulus yang berasal dari oosit yang tidak matang menunjukkan bahwa oosit memiliki kualitas yang tidak bagus. Penelitian Yang & Rajamahendran (2002), pada oosit sapi juga menunjukkan hasil yang serupa, yaitu ekspresi protein BAX ditemukan jauh lebih tinggi dari ekspresi protein BCL2 pada oosit dengan grade IV (oosit yang terdenudasi) dan embrio yang mengalami degenerasi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa kuantitas protein HAS2, PTX3 dan BCL2 pada sel kumulus oosit tidak terkait dengan kematangan oosit sementara kuantitas protein BAX lebih tinggi pada sel kumulus yang berasal dari oosit yang tidak matang (MI) dibandingkan dengan sel kumulus yang berasal dari oosit yang matang (MII).

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih penulis ucapkan kepada Unit Layanan Reproduksi Wija Insan Nugraha RSIA Puri Bunda Denpasar yang telah memberikan ijin untuk penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Assou, S., Anahory, T., Pantesco, V., Le Carrour, T., Pellestor, F., Klein, B., Reyftmann, L., Dechaud, H., De Vos, J., and Hamamah, S. 2006. The human cumulus-oocyte complex gene-expression profile. *Human Reproduction*, 21(7): 1705–1719.
- Braga, D. P. A. F., Setti, A. S., Lo Turco, E. G., Cordeiro, F. B., Cabral, E. C., Cortezzi, S. S., Ono, E., Figueira, R. C. S., Eberlin, M. N., and Borges, E. 2016. Protein expression in human cumulus cells as an indicator of blastocyst formation and pregnancy success. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 33(12): 1571–1583.
- Carpenter, R., and Brady, M. F. 2013. *BAX Gene*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing LLC.
- Coticchio, G., Guglielmo, M. C., Albertini, D. F., Dal Canto, M., Mignini renzini, M., De Ponti, E., and Fadini, R. 2014. Contributions of the actin cytoskeleton to the emergence of polarity during maturation in human oocytes. *Molecular Human Reproduction*, 20(3): 200–207.
- Demiray, S. B., Goker, E. N. T., Tavmergen, E., Yilmaz, O., Calimlioglu, N., Soykam, H. O., Oktem, G., and Sezerman, U. 2019. Differential gene expression analysis of human cumulus cells. *Clinical and Experimental Reproductive Medicine*, 46(2): 76–86.
- Fan, H.-Y., and Sun, Q.-Y. 2019. Oocyte Meiotic Maturation. In *The Ovary (Third Edition)* (pp. 181–203). Academic Press.
- Faradila, D., Efrizal, dan Rahayu, R. 2017. Pengaruh Pemberian Tepung Tauge Dalam Formulasi Pakan Buatan Terhadap Respon Kematangan Telur Tahap Akhir Ikan Lele Sangkuriang (*Clarias gariepinus* var. Sangkuriang). *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 4(2): 256-262.
- Filali, M., Frydman, N., Belot, M. P., Hesters, L., Gaudin, F., Tachdjian, G., Emilie, D., Frydman, R., and Machelon, V. 2009. Oocyte in-vitro maturation: BCL2 mRNA content in cumulus cells reflects oocyte competency. *Reproductive Biomedicine*

- Online*, 19(4): 71–84.
- Gilchrist, R. B., and Ritter, L. J. 2011. Differences in the participation of TGFB superfamily signalling pathways mediating porcine and murine cumulus cell expansion. *Reproduction*, 142(5): 647–657.
- Kahraman, S., Çetinkaya, C. P., Çetinkaya, M., Tüfekçi, M. A., Ekmekçi, C. G., and Montag, M. 2018. Is there a correlation between follicle size and gene expression in cumulus cells and is gene expression an indicator of embryo development? *Reproductive Biology and Endocrinology*, 16(1): 1–10.
- Liu, C., Yuan, B., Chen, H., Xu, M., Sun, X., Xu, J., Gao, Y., Chen, C., Jiang, H., and Zhang, J. 2018. Effects of MiR-375-BMP2 as a Key Factor Downstream of BMP15/GDF9 on the Smad1/5/8 and Smad2/3 Signaling Pathways. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 46(1): 213–225.
- McKenzie, L. J., Pangas, S. A., Carson, S. A., Kovanci, E., Cisneros, P., Buster, J. E., Amato, P., and Matzuk, M. M. 2004. Human cumulus granulosa cell gene expression: A predictor of fertilization and embryo selection in women undergoing IVF. *Human Reproduction*, 19(12): 2869–2874.
- Molinari, E., Patrizio, P., Pyle, A. M., and Bar, H. 2016. Transcriptome analysis of human cumulus cells reveals hypoxia as the main determinant of follicular senescence. *Molecular Human Reproduction*, 22(8): 566–576.
- Norris, R. P., Ratzan, W. J., Freudzon, M., Mehlmann, L. M., Krall, J., Movsesian, M. A., Wang, H., Ke, H., Nikolaev, V. O., and Jaffe, L. A. 2009. Cyclic GMP from the surrounding somatic cells regulates cyclic AMP and meiosis in the mouse oocyte. *Development*, 136(11): 1869–1878.
- Purvis, T. E. 2015. Assisted reproduction in Indonesia: Policy reform in an Islamic culture and developing nation. *Reproductive BioMedicine Online*, 31(5): 697–705.
- Richards, J. S. 2005. Ovulation: New factors that prepare the oocyte for fertilization. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 234(1–2): 75–79.
- Salustri, A., Garlanda, C., Hirsch, E., De Acetis, M., Maccagno, A., Bottazzi, B., Doni, A., Bastone, A., Mantovani, G., Peccoz, P. B., Salvatori, G., Mahoney, D. J., Day, A. J., Siracusa, G., Romani, L., and Mantovani, A. 2004. PTX3 plays a key role in the organization of the cumulus oophorus extracellular matrix and in in vivo fertilization. *Development*, 131(7): 1577–1586.
- Scarchilli, L., Camaioni, A., Bottazzi, B., Negri, V., Doni, A., Deban, L., Bastone, A., Salvatori, G., Mantovani, A., Siracusa, G., and Salustri, A. 2007. PTX3 interacts with inter- α -trypsin inhibitor: Implications for hyaluronan organization and cumulus oophorus expansion. *Journal of Biological Chemistry*, 282(41): 30161–30170.
- Turathum, B., Gao, E.-M., and Chian, R.-C. 2021. The Function of Cumulus Cells in Oocyte Growth and Maturation and in Subsequent Ovulation and Fertilization. *Cells*, 10(9): 2292.
- Uyar, A., Torrealday, S., and Seli, E. 2013. Cumulus and granulosa cell markers of oocyte and embryo quality. *Fertility and Sterility*, 99(4): 979–997.
- Yang, M. Y., and Rajamahendran, R. 2002. Expression of Bcl-2 and Bax proteins in relation to quality of bovine oocytes and embryos produced in vitro. *Animal Reproduction Science*, 70(3–4): 159–169.
- Yung, Y., Ophir, L., Yerushalmi, G. M., Baum, M., Hourvitz, A., and Maman, E. 2019. HAS2-AS1 is a novel LH/hCG target gene regulating HAS2 expression and enhancing cumulus cells migration. *Journal of Ovarian Research*, 12(1): 1–7.