

Pengaruh Penyuntikan Crude HY-Antigen yang Berasal dari Homogenat Testis dan Limpa Mencit (*Mus musculus*) terhadap Rasio Seks Anak Mencit (*Mus musculus*)

Injection Effect of Mice (*Mus musculus*) Testes and Spleen Homogenat Derived HY-Antigen on Pup's Sex Ratio

¹Pudji Srianto, ²Ani Nia Nilasari, ¹Husni Anwar, ¹Hasutji Endah Narumi

¹Fakultas Kedokteran Hewan Unair

²PPDH Fakultas Kedokteran Hewan Unair

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya – 60115

Telp. 031-5992785, Fax. 031-5993014

Email : vetunair@telkom.net

Abstract

HY-antigen is the first plasma membrane that plays a role in the process of organogenesis. The functions of HY-antigen are to stimulate immune response of T lymphocyte and the developing of genital ridge into testes. This research was aimed to determine differences in sex ratio of mice which had been injected by HY-antigen. The first treatment (P1) was the HY-antigen that was derived from mice testes homogenate and the second treatment (P2) was the HY-antigen that was derived from mice spleen homogenate. The data was analyzed by independent T test and the result showed that there was no significant difference between the two treatment ($P > 0,005$). Those two treatments were able to skew the sex ratio towards males.

Keywords : HY-antigen, Organogenesis, Testes, Spleen, Mice.

Pendahuluan

Seiring dengan pertumbuhan penduduk yang semakin cepat serta meningkatnya pola konsumsi masyarakat terhadap protein hewani, sehingga berdampak terhadap permintaan daging sapi potong yang semakin meningkat. Tetapi hal ini tidak diimbangi dengan meningkatnya produksi daging pada peternakan sapi potong. Sehingga pemerintah harus melakukan import daging untuk mengatasi masalah tersebut. Pada tahun 2014 pemerintah menargetkan swasembada daging sapi sebesar 240 ton. Hal ini merupakan upaya untuk meningkatkan perekonomian serta mengurangi ketergantungan terhadap import daging sapi. Sehingga tidak akan muncul masalah saat terjadi penghentian import daging seperti saat ini (Ditjennak, 2011).

Program swasembada daging sapi sering mengalami kegagalan karena laju pertumbuhan populasi sapi potong kalah cepat dibandingkan dengan konsumsi masyarakat. Sehingga diperlukan adanya penelitian dibidang bioteknologi reproduksi yang bertujuan untuk menyiasati pedet lahir dengan

jenis kelamin jantan agar kebutuhan akan daging sapi dapat terpenuhi. Salah satu yang dapat dilakukan adalah pemisahan spermatozoa dengan kromosom X dan kromosom Y yang dihasilkan pejantan dengan menggunakan metode HY antigen (Andonian, *et al.*, 2001).

Pejantan pada mamalia merupakan penentu dari jenis anak yang akan dilahirkan. Spermatozoa yang mengandung kromosom X jika bergabung dengan sel telur dari induk akan menghasilkan embrio betina, sedangkan spermatozoa yang mengandung kromosom Y akan menghasilkan embrio jantan. Terbentuknya embrio jantan atau betina tersebut disebabkan pada kromosom Y terdapat antigen Histocompatibility Y (HY) yang menentukan terbentuknya organ-organ reproduksi pada hewan jantan (Wachtel, 1983).

HY antigen merupakan antigen khusus karena HY antigen bertanggung jawab atas perkembangan testis pada mamalia, mempengaruhi respon kekebalan tubuh, rasio

seks, dan diferensiasi gonad (Beer and Billingham, 1977).

HY antigen merupakan protein spesifik yang bekerja merangsang genital embrionik. HY antigen terdapat pada kromosom Y yang dapat menentukan terbentuknya organ reproduksi pada hewan jantan. HY antigen dapat terikat pada reseptor spesifik di permukaan sel gonad yaitu tempat-tempat *anchorage* yang berikatan dengan dimmers dari MHC (Knobil and Neill, 1988).

Reaksi sekunder dari in vitro cytotoxic terhadap hy-antigen disebabkan oleh sitotoksi limposit T, dan target sel yang spesifik untuk hy-antigen ditentukan oleh mayor histocompatibility complex (Gordon et al., 1975).

Hy antigen memiliki peranan penting dalam pembentukan testis pada mamalia. Dan selama terdapat jaringan testicular, maka HY-antigen akan dapat terdeteksi (Watchel, 1983).

Materi dan Metode Penelitian

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fistekpro dan Laboratorium Invitro Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Februari sampai Juni 2011.

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan pada penelitian ini adalah testis dan limpa yang berasal dari mencit jantan yang berumur 3 minggu, PBS, dan CFA.

Peralatan yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah : kandang mencit yang terbuat dari kotak plastik persegi empat dengan tutup dari kawat, tempat minum mencit, gunting bedah, pisau bedah (*scalpel*), pinset, cawan petri, mortar, cawan porselin, *disposable syringe* 1 ml dan 5 ml (Terumo), tabung reaksi 20 ml, *centrifuge*, *vortex*, tabung *ependorf*, timbangan analitik, tissue.

Tahap Preparasi Testis dan Limpa

Preparasi testis dan limpa mencit diawali dengan dilakukan dekapitasi terhadap 10 ekor mencit jantan yang berumur 3 minggu. Kemudian dilakukan sayatan di daerah abdomen, dan dicari organ limpa (di bawah lambung) dan testis (di abdomen). Testis dan limpa yang diperoleh diletakkan di dalam cawan petri dan ditambahkan PBS agar tidak mengering

Tahap Pembuatan Homogenat Testis dan Limpa

Pembuatan homogenat diawali dengan melakukan penimbangan pada 10 pasang testis (0,236 gr) dan 10 limpa (0,2946 gr) dengan timbangan analitik. Kemudian mengambil tunika yang menempel sehingga tertinggal korteks dan medula. Lalu gerus semua testis sampai lembut, tambahkan 2 ml PBS lalu tuangkan ke tabung reaksi. Hal yang sama dilakukan pada limpa. Setelah itu lakukan sentrifuse pada gerusan testis dan limpa dengan kecepatan 3000rpm selama 10 menit. Selanjutnya diambil bagian supernatan dan dimasukkan ke tabung eppendorf.

Tahap Perlakuan Terhadap Hewan Percobaan

Mencit jantan yang berjumlah 6 ekor dibagi menjadi 2 kelompok perlakuan dengan 10 ulangan. Kedua kelompok perlakuan mencit tersebut diberi perlakuan sebagai berikut:

1. Kelompok Perlakuan I

Mencit disuntik dengan homogenat testis 0,2 ml+CFA 0,2 ml secara intraperitoneal

2. Kelompok Perlakuan II

Mencit disuntik dengan homogenat limpa 0,2 ml+CFA 0,2 ml secara intraperitoneal

Selanjutnya mencit dari masing-masing kelompok perlakuan dikawinkan dengan mencit betina. Perkawinan dilakukan pada hari ke-7 setelah penyuntikan homogenat testis dan limpa. Selama 21 hari mencit betina bunting kemudian melahirkan. Lalu dihitung jumlah jenis kelamin betina dan jantan fetus.

Pemeriksaan Sex Ratio Anak

Anak mencit yang telah lahir akan diperiksa jenis kelaminnya pada usia 2 – 3 minggu, dengan cara melakukan pembedahan dan dilihat ada tidaknya organ reproduksi jantan (Testis). Kemudian dihitung persentase jenis kelamin jantan dan betina anak dalam satu periode kelahiran.

Analisis Data

Data yang diperoleh disusun dalam bentuk tabel dan diagram batang, selanjutnya perbedaan pengaruh antara testis dan limpa dilakukan uji t tidak berpasangan (independent t test).

Hasil dan PembahasanTabel 1 Jumlah Anak Mencit Jantan (Rerata $\pm$ Standart Deviasi)

Perlakuan	Jumlah (Rerata $\pm$ standard deviasi)
Testis	3,50 ^a $\pm$ 1,90
Limpa	3,10 ^a $\pm$ 1,96

Keterangan : huruf superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata.

Berdasarkan perhitungan dan rata-rata persentase anak mencit yang berjenis kelamin jantan dengan menggunakan uji t tidak berpasangan dengan taraf signifikansi 5%, menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata ($p > 0,05$) antara mencit yang diinjeksi dengan homogenat testis dan limpa

Tabel 2 Jumlah Anak Mencit Betina (Rerata $\pm$ Standart Deviasi)

Perlakuan	Jumlah (Rerata $\pm$ standard deviasi)
Testis	2,10 ^a $\pm$ 1,37
Limpa	2,30 ^a $\pm$ 1,49

Keterangan : huruf superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata.

Berdasarkan perhitungan dan rata-rata persentase anak mencit yang berjenis kelamin betina dengan menggunakan uji t tidak berpasangan dengan taraf signifikansi 5%, menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata ($p > 0,05$) antara mencit yang diinjeksi dengan homogenat testis dan limpa.

Tabel 3 Jumlah, Persentase, Rasio, dan Jenis Kelamin Anak Mencit

Perlakuan	Jumlah		Persentase		Rasio	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Testis	35	21	62,5%	37,5%	1,25	0,75
Limpa	31	23	57,4%	42,6%	1,14	0,85

Berdasarkan gambar diatas terlihat bahwa perlakuan injeksi homogenat testis dan limpa dapat menggeser rasio seks lebih ke arah jantan daripada betina. Secara umum rasio sex jantan : betina pada embrio sapi

mencapai 1 jantan:1 betina, tetapi pada kenyataannya sering terjadi pergeseran nilai tersebut baik pada waktu pembuahan maupun perkembangannya (Jafar and Flint, 1996). Fungsi dari *HY antigen* yaitu untuk merangsang genital ridge yang berkembang menjadi testis dan *hematopoietic progenitor cell* (HPC) untuk merangsang sel T (Voogt *et al*, 1988). *HY-antigen* dihasilkan oleh sertoli testis sel. Dengan menggunakan *HY-antibody*, Watchel *et al* (1975), mengemukakan bahwa *HY-antigen* tetap ada selama evolusi dan selalu berikatan dengan seks heterogamet.

HY-antigen pada awalnya dikenal sebagai Mayor Histocompatibility Complex (MHC) spesifik jantan. Molekul *HY antigen* dapat merangsang sel T, sehingga sel T teraktivasi. Sel T yang teraktivasi mensekresi *IFN γ* , *IL3*, *IL4*, dan *IL10*. *Interferon γ* mensekresi enzim yang berupa serine esterase. Enzim ini menyebabkan lisisnya darah perifer eritrosit sehingga dapat meningkatkan epitop dari *HY antigen*. Epitop *HY antigen* yang teridentifikasi adalah gen *selected mouse cDNA on Y (SMCY)* dan gen *Ubiquitously transcribed tetratricopeptide repeat gene Y linked (UTY)*. Gen *SMCY* dan *UTY* merupakan epitop dari kromosom Y baik pada mencit maupun pada manusia. Gen *SMCY* ditranskripsikan di luar jaringan gonad, dan gen *UTY* ditranskripsikan khusus di jaringan gonad (Arsov and Vulmanovic, 1997).

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik kesimpulan bahwa penyuntikan homogenat testis dan limpa pada mencit dapat menggeser seks rasio anak mencit menjadi lebih banyak mencit yang berjenis kelamin jantan sehingga sex rasio jantan : betina menjadi sebanyak 1,25 : 0,75 pada penyuntikan homogenat testis. Dan pada penyuntikan homogenat limpa, juga lebih banyak anak mencit dengan rasio jantan : betina yaitu 1,14 : 0,85. Rasio tersebut bergeser dari rasio seks normal yaitu 1 (jantan) : 1 (betina).

Daftar Pustaka

- Andonian, L., M. B. Eslami, A. A. Mohammad, J. Akbarzadah, H. R. Soelaimanpour, and D. D. Farhad. 2001. Preparation of *HY Antibody* in Female Mice as a Model for Sex Preselection. *Iranian J. Publ Health*. 30. 41-44.

- Arsov I and Vukmanovic S. 1997. Altered Effector responses of HY Transgenic CD8⁺ cells. *International Immunology*. 9: 1423-1430.
- Beer, A. E. and Billingham, R. E. 1977. Histocompatibility Gene Polymorphisms and Maternal-Fetal Interactions. *Transplant. Proc.* 9. 1393.
- Ditjennak,. 2011. Pendataan Sapi Kerbau 2011. Jakarta
- Gordon R D, E Simpson, and L E Samelson. 1975. In vitro cell-mediated immune responses to the male specific(H-Y) antigen in mice. *The Journal of Experimental Medicine*. 142 : 1108-1120.
- Jafar, S. I. and A. P. F. Flint. 1996. Sex Selection in Mammals : a review. *Theriogenology*. 461 : 91-200.
- Knobil, E. and J. D. Neill. 1988. *The Physiology of Reproduction Vol I*. Raven Press New York. USA.
- Voogt, P J, Goulmy E, Fibbe W E, Veenhof W F, Brand A, and Falkenburg J H. 1988. Minor histocompatibility antigen H-Y is expressed on human hematopoietic progenitor cells. Department of Hematology, University Medical Center, Leiden, Netherlands.
- Wachtel S S , Koo G C, Breg W R, Elias S, Boyse E A, and Miller O J. 1975. Expression of H-Y antigen in human males with two Y chromosomes. *J Med*. 293 : 1070-1072.
- Wachtel, S. S. 1983. HY-antigen and The Biology of Sex Determination. Grune and Stratton. New york.