

1. REPRODUCTION

2. BIOLOGY

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

KRS

KR

573-6

Kul

## KULTUR IN VITRO EMBRIO DINI MENCIT DALAM MEDIUM KULTUR BRINSTER

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

3000387963141-2

Ketua Peneliti :

**Drh. Maslichah Mafruchati**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN**



30003879631412



**LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Dibiayai Oleh : DIP OPF Unair 1995/1996

SK.Rektor Nomor : 6907/PT03.H/N/1995

Nomor : 31



DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
**UNIVERSITAS AIRLANGGA**  
**LEMBAGA PENELITIAN**

- |                                    |                                 |  |
|------------------------------------|---------------------------------|--|
| 1. Puslit dan Pembangunan Regional | 4. Puslit Lingkungan Hidup      | 8. Puslit Kependudukan dan Pembangunan |
| 2. Puslit Obat Tradisional         | 5. Puslit dan Pengembangan Gizi | 9. Puslit Bioenergi                    |
| 3. Puslit Pengembangan Hukum       | 6. Puslit/Studi Wanita          | 10. Puslit/Studi Kesehatan Reproduksi  |
|                                    | 7. Puslit Olahraga              |  |

Jl. Darmawangsa Dalam No. 2 Telp. (031) 42322 Fax. (031) 42322 Surabaya 60286

IDENTITAS DAN PENGESAHAN  
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

1. a. Judul Penelitian : Kultur In Vitro Embrio Dini Mencit Dalam Medium Brinster
- b. Macam Penelitian : (V) Fundamental, ( ) Terapan, ( ) Pengembangan
2. Kepala Proyek Penelitian
- a. Nama Lengkap Dengan Gelar : drh. Maslichah Mafruchati
- b. Jenis Kelamin : W a n i t a
- c. Pangkat/Golongan dan NIP : Penata Muda/IIIa/131 760 376
- d. Jabatan Sekarang : Staf Pengajar
- e. Fakultas/Jurusan/Puslit : Kedokteran Hewan/Reproduksi Dan Kebidanan
- f. Univ./Inst./Akademi : Universitas Airlangga
- g. Bidang Ilmu Yang Diteliti : Biologi Reproduksi
3. Jumlah Tim Peneliti : 5 (lima) orang
4. Lokasi Penelitian : Fak. Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
5. Kerjasama dengan Instansi Lain
- a. Nama Instansi : -
- b. A l a m a t : -
6. Jangka Waktu Penelitian : 5 (lima) Bulan
7. Biaya Yang Diperlukan : Rp 3.000.000,00
8. Hasil Seminar Penelitian :
- a. Dilaksanakan Tanggal : 14 Maret 1996
- b. Hasil Penilaian : ~~( ) Baik Sekali~~ ( V ) B a i k  
( ) S e d a n g ( ) K u r a n g

Surabaya, 18 Maret 1996



Mengetahui/ Mengesahkan :  
a.n. Rektor  
Ketua Lembaga Penelitian,

Prof. Dr. Noor Chotias Zaini

## RINGKASAN PENELITIAN

J u d u l : KULTUR IN VITRO EMBRIO DINI MENCIT DALAM  
MEDIUM KULTUR BRINSTER

Peneliti : Maslichah Mafruchati  
Bambang Poernomo S.  
Epy Muhammad Luqman  
W i d j i a t i  
Moch. Sukmanadi



Sumber Biaya : DIP/OPF Unair 1995-1996  
SK. Rektor Nomor : 6907/PT03.H/N/1995

Rekayasa embrio khususnya fertilisasi in vitro pada hewan ternak berkembang pesat, namun tingkat keberhasilannya relatif rendah. Kendala utama fertilisasi in vitro adalah pada maturasi oosit, kapasitas spermatozoa serta kondisi fisiologis medium kultur (Sukra dkk., 1992). Untuk mengantisipasi kendala-kendala tersebut harus dipahami tentang prinsip-prinsip dasar fertilisasi in vitro yaitu metode maturasi oosit, fertilisasi dan tumbuh kembang embrio dalam medium kultur. Medium kultur tersebut pada dasarnya dibuat berdasarkan kebutuhan nutrisi maupun lingkungan pada fase pre implantasi (Babister, 1990).

Dalam penelitian ini menggunakan hewan coba adalah mencit yang nantinya dapat digunakan sebagai batu loncatan untuk pengembangan fertilisasi in vitro pada hewan coba lain yang mempunyai nilai ekonomis lebih dan media yang paling sesuai untuk embrio mencit adalah media Brinster.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberhasilan kultur in vitro embrio dini mencit dalam perkembangannya untuk mencapai fase blastosis dan memberikan informasi ilmiah khususnya dalam bidang rekayasa embrio tentang keberhasilan fertilisasi in vitro dan kultur in vitro. Penelitian ini meliputi tahap pengamatan pada saat fertilisasi dan mengamati perkembangan embrio dengan menggunakan 50 ekor mencit betina dan 25 ekor mencit jantan. 8 ekor mencit betina pada fase diestrus di superovulasi menggunakan PMSG dan HCG disuntik PMSG sebanyak 0,5 ml, 2 hari kemudian disuntik HCG sebanyak 0,5 ml dan langsung dikawinkan dengan pejantan vasektomi. Sehari kemudian (pagi) dilakukan pemeriksaan *vaginal plug* untuk menentukan betina positif, tiga ekor mencit betina yang positif dikorbankan.

Uterus dipreparir dan diangkat kemudian dilakukan flushing dengan menggunakan PBS untuk panen oosit. Oosit yang telah diperoleh dibilas 3 kali dengan medium IVF yaitu medium Brinster, selanjutnya dilakukan kultur embrio.

Mencit jantan normal dikorbankan dan dikeluarkan testisnya. Bagian cauda epididimis dipotong dan dibilas

M. A. L. I. H.  
MAFRUCHATI  
AYU  
AYU  
AYU



dengan media IVF diatas cawan petri. Sperma diambil secara aspirasi dengan pipet kemudian dicampurkan pada oosit yang sudah dibilas. Cawan petri yang telah berisi oosit dan spermatozoa diinkubasi selama 6 jam, diamati perkembangannya dan dipindahkan dalam medium kultur, Pengamatan keberhasilan fertilisasi secara in vitro dilakukan berdasarkan persentase oosit yang terpenetrasi spermatozoa, perubahan pada kepala spermatozoa dan terbentuk pronukleus jantan dan betina. Sedangkan pengamatan perkembangan embrio dalam medium kultur diamati sampai embrio mencapai fase blastula.

Dari 8 ekor mencit betina yang dikawinkan dengan pejantan vasektomi, 3 ekor berhasil ovulasi. Koleksi oosit dari 3 ekor mencit yang ovulasi berhasil diperoleh 103 buah oosit yang terdiri dari 17 oosit yang diklasifikasikan grade C, 28 oosit dengan klasifikasi grade B, 50 oosit dengan klasifikasi grade A dan 8 oosit yang rusak. Oosit yang digunakan dalam fertilisasi in vitro adalah oosit dengan klasifikasi grade A dan B yaitu sebanyak 78 buah oosit.

Setelah dilakukan fertilisasi in vitro kemudian diinkubasi selama 6 jam, oosit yang berkembang menjadi sigot (yang dibuahi) sebanyak 70 buah sedangkan 8 buah mengalami degenarasi (tidak dibuahi). 70 buah sigot (2 sel) kemudian dikultur dalam medium Brinster selama 24 jam, ternyata yang berkembang mencapai tahap blastula hanya 2 buah, sedangkan lainnya mengalami degenarasi.

Adanya sigot yang tidak berkembang atau yang mengalami degenarasi disebabkan oleh proses maturasi yang tidak serempak. Fertilisasi yang terjadi juga tidak serempak, akibatnya kebutuhan nutrisi yang ada dalam media tidak terpenuhi sehingga menyebabkan degenarasi (Gilbert, 1993). Bila proses maturasi tidak serempak maka kemungkinan ada oosit yang *over matured* yang ditandai dengan *cumulus oophorus expansion*, sehingga *cumulus oophorus* sulit dipisahkan dari oosit yang berakibat pada terlambatnya untuk melakukan pembuahan.

Hasil penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa kultur embrio mencit dalam medium Brinster tidak meningkatkan secara nyata ( $p > 0,05$ ) proses perkembangan embrio mencit.

Sebagai saran bahwa untuk tidak melakukan kultur embrio dengan media Brinster.

## KATA PENGANTAR

Syukur kami ucapkan atas rahmat dan hidayahNya sehingga penulisan laporan penelitian ini dapat diselesaikan.

Pada kesempatan ini tak lupa kami sampaikan terima kasih kepada :

1. Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Unair atas bimbingan dan bantuannya selama penelitian berlangsung.
2. Ketua Lembaga Penelitian atas kesempatan yang diberikan kepada kami untuk melakukan penelitian ini.
3. Kepala Laboratorium Fisiologi Reproduksi FKH Unair atas arahan, bimbingan selama penelitian berlangsung.
4. Dekan FMIPA Universitas Brawijaya Malang atas kesempatan dan sarana yang telah disediakan selama pelaksanaan penelitian.

Penulis menyadari bahwa laporan ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu koreksi yang bertujuan untuk memperbaiki laporan ini sangat kami harapkan.

Surabaya, Desember 1995

Penulis



## DAFTAR ISI

	Halaman
Kata Pengantar .....	iii
Daftar Tabel .....	v
Daftar Lampiran .....	vi
Daftar Gambar .....	vii
I. PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang Penelitian .....	1
1.2. Tujuan Penelitian .....	3
1.3. Rumusan Masalah .....	3
1.4. Hipotesis Penelitian .....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA .....	5
2.1. Oosit .....	5
2.2. Fertilisasi .....	5
2.3. Fertilisasi In Vitro .....	6
2.4. Medium Kultur .....	8
III. MATERI DAN METODE .....	11
3.1. Tempat Penelitian .....	11
3.2. Materi Penelitian .....	11
3.2.1. Peralatan Penelitian .....	11
3.2.2. Bahan Penelitian .....	11
3.3. Metode Penelitian .....	12
3.3.1. Persiapan medium .....	12
3.3.2. Koleksi Oosit .....	12
3.3.3. Fertilisasi In Vitro .....	12
3.4. Peubah Yang Diamati .....	13
3.5. Rancangan Penelitian .....	14
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	15
4.1. Hasil .....	15
4.2. Pembahasan .....	16
V. KESIMPULAN DAN SARAN .....	21
5.1. Kesimpulan .....	21
5.2. Saran .....	21
DAFTAR PUSTAKA .....	22
LAMPIRAN .....	24



**DAFTAR TABEL**

Nomor	Halaman
1. Persentase Oosit yang Berhasil Mengalami Fertilisasi .....	15
2. Jumlah Embrio yang Berkembang Mencapai Tahap Blastula Dalam Medium Kultur Brinster .....	16

**DAFTAR LAMPIRAN**

Nomor	Halaman
1. Perhitungan Statistik Khi-kuadrat .....	24



**DAFTAR GAMBAR**

Nomor	Halaman
1. Ovum Yang Dipanen Dari Hasil Super-ovulasi .....	26
2. Spermatozoa Yang Diperoleh Dari Cauda Epididimis .....	26
3. Ovum Yang Telah Difertilisasi ....	27





BAB I  
PENDAHULUAN



1.1. Latar Belakang Penelitian

Peningkatan sumber daya manusia telah digaris bawahi, disamping peningkatan infra struktur ekonomi, ilmu pengetahuan, teknologi dan lingkungan hidup. Kesemuanya ini untuk mencapai terciptanya perdagangan bebas dan investasi bebas serta terbuka di Asia Pasifik dengan satu tekad ingin memajukan adanya keadaan yang lebih baik untuk kesejahteraan kehidupan rakyat negara-negara APEC, sesuai dalam keputusan Deklarasi Tekad Bersama para pemimpin Ekonomi APEC di Bogor (Suharto, 1994).

Salah satu upaya untuk merealisasikan peningkatan sumber daya manusia seiring meningkatnya jumlah penduduk Indonesia, adalah peningkatan jumlah kalori per hari melalui peningkatan nilai gizi yang memadai, baik dari sumber protein nabati maupun hewani. Untuk pemenuhan kebutuhan protein hewani per kapita sesuai dengan standar nilai gizi, perlu upaya untuk meningkatkan jumlah populasi ternak. Salah satu usaha untuk meningkatkan populasi ternak adalah dengan meningkatkan jumlah angka kelahiran ternak. Teknologi saat ini yang digunakan untuk meningkatkan jumlah angka kelahiran selain dengan inseminasi buatan adalah transfer embrio.

Untuk meningkatkan keberhasilan transfer embrio secara optimal yang dapat memberikan nilai tambah pada

teknologi ini serta dapat memperbaiki mutu genetik perlu ditunjang dengan penguasaan teknik-teknik rekayasa embrio seperti fertilisasi *in vitro*. Fertilisasi *in vitro* menyangkut aspek pematangan oosit di luar tubuh, kapasitas spermatozoa dan fertilisasi *in vitro* itu sendiri. Fertilisasi *in vitro* dapat digunakan untuk menghasilkan embrio yang berkualitas tinggi untuk keperluan transfer embrio. Embrio hasil fertilisasi *in vitro* diharapkan mampu berkembang apabila ditransfer ke resipien.

Saat ini penelitian mengenai rekayasa embrio khususnya fertilisasi *in vitro* pada hewan ternak menunjukkan perkembangan yang luar biasa. Namun bila diterapkan pada ternak-ternak produktif tingkat keberhasilannya relatif masih rendah. Kendala utama fertilisasi *in vitro* adalah pada maturasi oosit, kapasitas spermatozoa serta kondisi fisiologis medium kultur (Sukra dkk., 1992).

Untuk mengatasi kendala-kendala tersebut harus dipahami tentang prinsip-prinsip dasar fertilisasi *in vitro* yaitu metode maturasi oosit, fertilisasi dan pertumbuhan embrio dalam medium kultur. Medium kultur tersebut pada dasarnya dibuat berdasarkan kebutuhan nutrisi maupun lingkungan pada fase pre implantasi (Babister, 1990).

Kondisi lingkungan yang dimaksud adalah kondisi fisiologis yang sesuai dengan keadaan *in vivo* pada fase pre implantasi yang mengandung zat-zat biokomia yang



terdiri dari asam amino, glukosa, piruvat, CO<sub>2</sub>, buffer karbonat, NaCl, KCl dan hormon.

Telah banyak media kultur yang telah di uji keberhasilannya untuk meningkatkan jumlah embrio mencit, namun sampai pada tahap perkembangan yang diharapkan akan memperoleh hasil yang optimum, masih perlu penelitian lebih lanjut.

Penelitian dengan medium Brinster ini diharapkan akan lebih meningkatkan jumlah embrio mencit, baik dalam tahap fertilisasi maupun sampai pada tahap mencapai periode blastosis. Upaya ini diharapkan akan mampu mengatisipasi persediaan koleksi embrio untuk siap ditransfer ke resipien.

Dalam kultur embrio diperlukan energi tinggi pada awal perkembangan, dan energi yang ada seperti glukosa digunakan untuk proses deferensiasi dan proliferasi. Adanya *cell block* pada kultur embrio dini juga akan mempengaruhi keberhasilan kultur embrio *in vitro* (Abubaker *et al.*, 1994; Brison and Ceese, 1994; Ganong, 1992; Aurich and Han, 1994).

## 1.2. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui :

1. Keberhasilan kultur *in vitro* embrio dini mencit dalam perkembangannya untuk mencapai fase blastosis.
2. Memberikan informasi ilmiah khususnya dalam bidang



rekayasa embrio tentang keberhasilan fertilisasi *in vitro* dan kultur *in vitro*.

### 1.3. Rumusan Masalah

Penerapan teknik fertilisasi *in vitro* yang belum maksimal pada teknologi rekayasa embrio disebabkan adanya perbedaan antara kondisi lingkungan fisiologis dan kebutuhan nutrisi pada proses *in vitro* dan *in vivo*. Kondisi lingkungan tersebut berupa kondisi fisiologis serta kebutuhan nutrisi, hormon maupun faktor biokimiawi lainnya untuk maturasi oosit, kapasitas spermatozoa maupun perkembangan embrio.

Berdasarkan pemikiran-pemikiran tersebut dapat diidentifikasi atau dirumuskan permasalahan ini yaitu Apakah ada peningkatan dalam perolehan jumlah embrio dengan kultur medium Brinster ?

### 1.4. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan di atas, maka perlu diajukan hipotesis penelitian yang dijadikan landasan dalam pelaksanaan penelitian selanjutnya. Hipotesis yang diuji adalah sebagai berikut :

Kultur embrio mencit dalam medium Brinster akan meningkatkan proses perkembangan embrio mencit.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Oosit

Proses pembentukan sel telur meliputi tahap proliferasi yang berlangsung secara mitosis yang diawali dengan primordial germ cell atau oogonia berkembang menjadi primordial folikel. Pada tahap tumbuh yaitu primordial folikel akan berkembang menjadi folikel primer dan menghasilkan hormon pertumbuhan. Pada periode ini siklus estrus mulai berlangsung yang terdiri dari proestrus, estrus, metestrus dan diestrus (Partodihardjo, 1980). Tahap berikutnya adalah pemasakan yaitu terjadi perubahan dari oosit primer menjadi oosit sekunder dengan dilepaskannya benda kutub pertama dan diikuti dengan pematangan inti dan sitoplasma yang ditandai dengan longgarnya ikatan sel-sel granulosa.

Selanjutnya oosit sekunder akan berubah menjadi ootid dan melepaskan benda kutub ke dua pada saat fertilisasi (Hafez, 1987).

#### 2.2. Fertilisasi

Fertilisasi merupakan proses peleburan atau fusi antara oosit dan spermatozoa untuk membentuk sel baru yang disebut sigot. Setelah spermatozoa mengalami kapasitasi yang ditandai dengan pelepasan tudung akrosom dan dikeluarkannya enzim akrosin untuk penembusan zona

pelusida, maka reseptor pada zona pelusida mengalami modifikasi, struktur zona pelusida berubah dan tidak akan dikenali oleh spermatozoa yang lain (Hafez, 1987). Setelah spermatozoa menembus zona pelusida kemudian menuju membrana vitelina dan akan memutar sel telur untuk menembus membrana vitelina sehingga terjadi peleburan antara membran plasma dengan spermatozoa, kepala spermatozoa akan masuk ke dalam membran plasma, bersamaan dengan itu akan dilepaskan benda kutub ke dua.

Saat kepala spermatozoa menembus membran plasma maka, butir-butir kortek yang terletak di bawah membrana vitelina akan lepas dan membentuk ruang perivitelina. Ekor spermatozoa masuk ke dalam membrana vitelina dan mengalami desintegrasi, kemudian terlepas. Kepala spermatozoa mengalami deskondensasi dan membesar sehingga akan membentuk pronukleus jantan. Setelah kepala spermatozoa masuk ke dalam membrana vitelina maka terjadi reduksi ke dua, inti mengalami reduksi dan terbentuk pronukleus betina. Selanjutnya penggabungan pronuleus jantan dan betina akan membentuk individu baru yang disebut sigot (Gilbert, 1988)..

Lama fertilisasi dihitung berdasarkan waktu yang diperlukan sejak dimulai masuknya sel spermatozoa ke dalam sel telur sampai dengan dimulainya pembelahan zigot. Secara normal hanya satu sel spermatozoa saja yang memasuki sel telur, sering terlihat banyak sel spermatozoa bergerombol di sekeliling zona pelusida, tetapi hanya

satu sel kelamin jantan saja yang terdapat dalam sel telur. Dari kenyataan ini dapat ditarik kesimpulan bahwa zona pelusida dapat menjalani beberapa perubahan sesudah masuknya sel spermatozoa pertama dan menghalangi pemasukan sel spermatozoa yang berikutnya. Perubahan ini disebut reaksi zona. Reaksi zona tersebut terdiri dari suatu perubahan yang menyebar ke sekeliling zona. Sel spermatozoa pertama mengadakan kontak dengan perubahan vitellus untuk merangsang timbulnya perubahan tersebut yang dibawa oleh beberapa zat yang keluar dari vitellus ke arah zona. Mekanisme pertahanan lainnya terhadap pemasukan lebih dari satu sel spermatozoa ke dalam sel telur diperlihatkan oleh vitellus sendiri dan disebut blokade vitelin atau blokade terhadap polyspermia. Sel spermatozoa yang telah dibuahi diambil oleh vitellus, akan tetapi segera sesudah itu permukaan vitellus tidak memberi respon terhadap kontak dan tidak ada lagi sel spermatozoa yang diambil. sel spermatozoa yang berhasil memasuki vitellus, walaupun adanya reaksi zona dan blokade vitelin, disebut sperma supernumeralia, dan sel telur dikatakan memperlihatkan polyspermia (Mozes, 1980).

### 2.3. Fertilisasi In Vitro

Pada hakekatnya fertilisasi *in vitro* pada rekayasa embrio tidak berbeda dengan fertilisasi *in vivo*. Pengertian fertilisasi *in vitro* adalah proses fertilisasi buatan yang dilakukan oleh manusia dengan memanfaatkan



oosit maupun spermatozoa di luar tubuh hewan. Menurut Fulka (1994) proses fertilisasi *in vitro* dengan cara membuat tiruan kondisi lingkungan yang terjadi pada saat fertilisasi *in vivo*. Kondisi tersebut meliputi kondisi fisiologis berupa hormonal, nutrisi serta kondisi lain yang mendukung. Proses ini meliputi maturasi oosit *in vitro*, kapasitasi spermatozoa dan pertumbuhan embrio secara *in vitro*.

Kriteria fertilisasi *in vitro* meliputi: penetrasi dari spermatozoa kedalam membran vitelin, adanya ekor dari spermatozoa yang tinggal dalam membran vitelin, adanya pronukleus jantan dan betina dalam sel telur, adanya polar bodi II dalam ruang perivitelin, dijumpai pada pembelahan dan pembentukan 2 buah blastomer dengan ukuran serta bentuk yang sama disertai tidak ada fragmentasi (Hafez, 1987).

Menurut Hafez (1987), media untuk biakan ovum dari mencit yang paling sesuai adalah media Brinster, adapun susunan dari medium tersebut adalah NaCl, KCl, CaCl<sub>2</sub>, glukosa, Na piruvat, Bovine serum albumin, Na laktat, NaHCO<sub>3</sub>, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O.

Beberapa hal yang harus diperhatikan dalam menentukan keberhasilan dari fertilisasi *in vitro* adalah : kualitas dan kuantitas dari sel spermatozoa dalam biakan, kapasitasi sel spermatozoa, bahan dasar dari media untuk biakan, tekanan gas oksigen yang memadai, tidak adanya seminal plasma, bahan tambahan biakan (hormon, pH,

stimulan dari sel spermatozoa), karakteristik dari mikroskop untuk mendeteksi ovum akan diamati sesudah difertilisasi (Hafez, 1987).

Komposisi media *in vitro* harus dibuat mirip dengan kondisi uterus atau tuba falopii, yaitu tempat embrio berkembang secara alamiah. Dasar komposisi adalah cairan alat reproduksi induk ditambah dengan protein ekstra dan sumber enersi. Untuk mencapai kondisi kultur yang baik diperlukan beberapa syarat, antara lain kemurnian media, tekanan gas yang sesuai, suhu dan kelembaban inkubator yang optimum. Namun kondisi kultur *in vitro* tetap tidak sebaik kondisi *in vivo*. Oleh karena itu mudigah perlu waktu yang lebih lama pada media *in vitro* untuk berkembang mencapai fase yang sama dibanding pada media *in vivo* (Quinn, 1982).

#### 2.4. Medium Kultur

Penggunaan medium kultur sebenarnya tergantung dari tujuan kultur materi yang diteliti, oleh karena itu ada beberapa hal yang perlu dipertimbangkan yaitu jenis sel yang akan digunakan, dipakai untuk menumbuhkan sel atau mempertahankan kehidupan sel yang sudah jenuh pertumbuhannya, untuk populasi sel yang homogen atau heterogen, untuk diferensiasi atau proliferasi sel (Malole, 1990).

Kultur sel gamet relatif lebih homogen dibandingkan kultur jaringan atau organ, jaringan embrio sampai fase

blastosis juga relatif masih homogen, asalkan dipenuhi kebutuhan dasar lainnya untuk kultur (Hafez, 1987).

Kultur embrio mempunyai daya tahan hidup dan perkembangan yang lebih baik dibandingkan kultur jaringan tua karena embrio merupakan sel-sel muda yang aktif berbiak. Berdasarkan pertimbangan-pertimbangan tersebut medium kultur untuk fertilisasi *in vitro* dan perkembangan embrio harus sesuai dengan kondisi *in vivo*. Penyusunan medium kultur buatan harus diperhatikan sifat kelarutan bahan kimia yang digunakan, kemurniannya, kestabilan kandungan ion-ionnya dari bahan kimia yang dipakai. Cara penanganan yang tidak sempurna mungkin akan menyebabkan kegagalan kultur embrio (Malole, 1990).

Selain itu media buatan untuk kultur harus mengandung larutan garam seimbang sebagai bahan dasar yang bermanfaat untuk pengaturan pH, tekanan osmose dan sumber ion anorganik yang esensial. Demikian juga sifat-sifat fisik media kultur sangat mempengaruhi kualitas dari medium seperti temperatur yang secara tidak langsung mempengaruhi terhadap pertumbuhan sel, temperatur juga mempengaruhi pH melalui peningkatan kelarutan CO<sub>2</sub> dan mungkin melalui perubahan ionisasi dan pH dari buffer. Selain itu osmolaritas, kepekatan, tekanan permukaan dan pembentukan buih mempengaruhi kualitas medium. Berdasarkan pertimbangan-pertimbangan tersebut fertilisasi *in vitro* dan medium kultur disusun sesuai untuk maturasi oosit, kapasitas dan perkembangan embrio.

Penambahan zat-zat dalam medium kultur dapat meningkatkan keberhasilan fertilisasi *in vitro* dan kultur embrio *in vitro*. Namun demikian kondisi medium harus sesuai dengan kondisi *in vivo*.

Glukosa tidak hanya dibutuhkan sebagai sumber energi pada proses perkembangan embrio tetapi juga mempunyai efek racun pada stadium perkembangan morula. Asam laktat dapat merangsang perkembangan embrio stadium morula sebaik dengan piruvat (Takahashi and First, 1992). Demikian juga penambahan sel-sel epitel oviduk pada medium kultur dapat meningkatkan viabilitas embrio. Pada fertilisasi *in vitro* sel epitel oviduk membantu proses transkripsi embrionik. Sekresi sel epitel oviduk mempunyai peran pada aktivitas mesogenik. Ko-kultur sel epitel oviduk dapat merangsang perkembangan 8 sel menjadi 16 sel morula kambing. Penambahan IGF-1 tidak dapat menggantikan ko-kultur dengan sel-sel granulosa (Fukui et al., 1988).

### BAB III

#### MATERI DAN METODE

##### 3.1. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Kecil Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya Malang selama 1 (satu) bulan terhitung tanggal 9 Oktober hingga 4 Nopember 1995.

##### 3.2. Materi Penelitian

###### 3.2.1. Peralatan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari : Jarum, pipet mikro, pipet tiup, pinset, cawan petri, gas pek, inkubator CO<sub>2</sub> 5 %, mikroskop inverted. Mikroskop Differential Interference Contrast (DIC), stopwatch, erlenmeyer, analitic balance, scalpel, gunting dan tisu.

###### 3.2.2. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari : Larutan PBS, medium kultur Brinster, parafin cair, penisilin, streptomisin, aquabides, phenol red, bovine serum albumin, 50 ekor mencit betina dan 25 ekor mencit jantan.

**MILIK**  
**PERPUSTAKAAN**  
**UNIVERSITAS AIRLANGGA**  
**SURABAYA**

### 3.3. Metode Penelitian

#### 3.3.1. Persiapan Medium

Dalam penelitian ini digunakan medium Brinster untuk fertilisasi *in vitro* dan kultur embrio .

Penelitian ini dibagi 2 tahap yaitu

Tahap I : Pengamatan pada saat fertilisasi

Tahap II : Mengamati perkembangan embrio

#### 3.3.2. Koleksi Oosit

Mula-mula dilakukakan superovulasi menggunakan PMSG dan HCG yaitu 8 ekor mencit betina yang berada pada fase diestrus disuntik dengan PMSG sebanyak 0,5 ml, 2 hari kemudian disuntik HCG sebanyak 0,5 ml dan langsung dikawinkan dengan pejantan vasektomi. Sehari kemudian (pagi) dilakukan pemeriksaan vaginal plug untuk menentukan betina positif, tiga ekor mencit betina yang positif dikorbankan.

Uterus dipreparir dan diangkat kemudian dilakukan flushing dengan menggunakan PBS untuk panen oosit. Oosit yang telah diperoleh dibilas 3 kali dengan medium IVF yaitu medium Brinster, untuk selanjutnya dilakukan kultur embrio

#### 3.3.3. Fertilisasi in Vitro

Mencit jantan normal dikorbankan dan dikeluarkan testisnya. Bagian cauda epididimis dipotong dan dibilas dengan media IVF diatas cawan petri. Spermatozoa diambil



secara aspirasi dengan pipet kemudian dicampurkan pada oosit yang sudah dibilas. Cawan petri yang telah berisi oosit dan spermatozoa diinkubasi selama 6 jam, diamati perkembangannya dan dipindahkan dalam medium kultur, sehari kemudian diamati perkembangannya.

#### 3.4. Peubah yang Diamati

Mengamati oosit setelah dipanen dengan klasifikasi sebagai berikut :

1. Katagori A : oosit yang diselimuti oleh sel-sel granulosa secara utuh minimal 2 lapis.
2. Katagori B : oosit yang diselimuti oleh sel-sel granulosa tidak penuh atau kurang dari 2 lapis.
3. Katagori C : oosit yang tidak diselimuti oleh sel-sel granulosa (telanjang).

Pengamatan keberhasilan fertilisasi secara *in vitro* dilakukan berdasarkan jumlah oosit yang terpenetrasi spermatozoa, perubahan pada kepala spermatozoa dan terbentuk pronukleus jantan dan betina. Sedangkan pengamatan perkembangan embrio dalam medium kultur diamati sampai embrio mencapai fase blastula.

#### 3.5. Rancangan Penelitian

Tahap I :

Variabel yang diamati adalah tingkat keberhasilan fertilisasi. Berdasarkan peubah tersebut di atas maka

data yang diperoleh dianalisis dengan statistik non parametrik khi-kuadrat.

Tahap II :

Variabel yang diamati adalah tahap perkembangan embrio sampai mencapai fase blastula, maka data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Hasil

##### Tahap I :

Dari 8 ekor mencit betina yang dikawinkan dengan pejantan vasektomi, 3 ekor berhasil ovulasi. Koleksi oosit dari 3 ekor mencit yang ovulasi berhasil diperoleh 103 buah oosit yang terdiri dari 17 oosit yang diklasifikasikan katagori C, 28 oosit dengan klasifikasi katagori B, 50 oosit dengan klasifikasi katagori A dan 8 oosit yang rusak. Oosit yang digunakan dalam fertilisasi *in vitro* adalah oosit dengan klasifikasi katagori A dan B yaitu sebanyak 78 buah oosit.

Setelah dilakukan fertilisasi *in vitro* kemudian diinkubasi selama 6 jam, oosit yang berkembang menjadi sigot (yang dibuahi) sebanyak 70 buah sedangkan 8 buah mengalami degenarasi (tidak dibuahi). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat dari tabel di bawah ini.

Tabel 1. Persentase Oosit yang Berhasil Mengalami Fertilisasi.

Jumlah oosit (buah)	Negatif fertisasi (buah)	Positif fertisasi (buah)	Katagori
50	2	48	A
28	6	22	B

Tahap II :

Dari 70 buah sigot (2 sel) kemudian dikultur dalam medium Brinster selama 24 jam, ternyata yang berkembang mencapai tahap blastula hanya 2 buah, sedangkan lainnya mengalami degenarasi. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat dari Tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2. Jumlah Embrio yang Berkembang Mencapai Tahap Blastula Dalam Medium Kultur Brinster.

Embrio	Tahap Perkembangan Embrio		
	4 sel	Morula	Blastula
Berkembang	4	2	2
Tidak berkembang	66	68	68

#### 4.2. Pembahasan

Adanya sigot yang tidak berkembang atau yang mengalami degenarasi disebabkan oleh proses maturasi yang tidak serempak. Fertilsasi yang terjadi juga tidak serempak, akibatnya kebutuhan nutrisi yang ada dalam media tidak terpenuhi sehingga menyebabkan degenerasi (Gilbert, 1988).

FSH yang dihasilkan oleh kelenjar hipofisa anterior merangsang pertumbuhan folikel, sedangkan LH yang dihasilkan akan mempercepat folikel menjadi masak sehingga siap untuk diovulasikan. Oosit yang telah diovulasikan akan mengalami maturasi diawali dengan pematangan inti, sehingga inti membesar dan padat, demikian pula

sitoplasma mengalami pematangan melalui degenerasi sel-sel granulosa menjadi longgar (Gilbert, 1988). Bila proses maturasi tidak serempak maka kemungkinan ada oosit yang *over matured* yang ditandai dengan *cumulus oophorus expansion*, sehingga *cumulus oophorus* sulit dipisahkan dari oosit yang akan menghambat proses pembuahan.

Proses maturasi oosit yang tidak serempak menyebabkan pelepasan polar body II yang tidak bersamaan pula, sebagai akibat penembusan spermatozoa ke dalam zona pelusida tidak bersamaan juga. Pada saat ini akan ditemukan oosit yang belum siap dibuahi, oosit yang siap dibuahi dan oosit yang sudah sudah terlambat dibuahi.

Oosit yang belum siap dibuahi akan melakukan maturasi untuk selanjutnya siap ditembus spermatozoa, sedangkan oosit yang *over matured* sulit ditembus spermatozoa karena adanya *cumulus oophorus expansion*, maka selanjutnya akan mengalami degenarasi. Hal ini sesuai dengan pendapat Aurich and Han (1994) bahwa tingkat fertilisasi lebih baik pada oosit dengan sel *cumulus oophorus* yang tebal karena menunjukkan bahwa oosit sudah masak meskipun sel *cumulus* yang tebal ini merupakan hambatan bagi spermatozoa untuk melakukan penembusan.

Proses perkembangan embrio secara umum dimulai sejak sel telur diovulasikan dari indung telur sampai terjadi perkembangan organogenesis. Pada manusia proses perkembangan ini terjadi sampai kandungan berusia sekitar tiga



bulan, sedang pada tikus sampai kebuntingan hari ke 15 (Palmer, 1978; Shadily, 1983).

Pembentukan individu baru yang disebut sigot setelah mengalami proses penggabungan pronukleus jantan dan betina, sigot ini selanjutnya mengalami pembelahan membentuk morula, membelah lagi sampai akhirnya membentuk blastula (Hafez, 1987).

Pada saat pembelahan berlangsung kebutuhan nutrisi yang diperlukan embrio untuk pertumbuhan dalam medium kultur *in vitro* berbeda-beda tergantung pada stadium pembelahannya (Malole, 1990). Timbulnya degenerasi pada kultur embrio mencit 2 sel dibandingkan dengan kontrol positif, disebabkan adanya *cell block*, yaitu suatu keadaan transisi genom embrio sudah mulai membelah. Keadaan ini menyebabkan sel tidak bisa membelah menjadi 4 sel akibatnya embrio akan mengalami degenerasi.

Menurut Monk (1987) apabila melakukan kultur embrio pada stadium 2 sel akan dijumpai *cell block* dan yang harus diperhatikan adalah temperatur serta pH dari media, timbulnya *cell block* disebabkan adanya perubahan dari strain mencit dan adanya gerakan dari medium selama 32 jam setelah pemberian HCG. Temperatur dan pH harus diperhatikan karena akan menyangkut perubahan tekanan osmolaritas, pemakaian tempat media yang harus steril, media yang toksik.

Menurut Aurich and Han (1994) bahwa pada saat perkembangan mengalami hambatan akan terjadi perubahan

sintesis protein induk oleh genom embrio dan konsentrasi protein induk menurun, akibatnya pada stadium embrionik lingkungan sebelum dan sesudah *cell block* nampak berbeda. Konsentrasi asam amino yang tinggi diperlukan pada awal stadium perkembangan yaitu untuk aktivitas sintesis sehingga akan dihasilkan sumber energi yang dipakai untuk proses pembelahan dan pertumbuhan.

Proses perkembangan lebih lanjut asam amino esensial dalam medium kultur akan meningkatkan pembelahan blastosis. Perlu diperhatikan bahwa metabolisme asam amino akan menghasilkan amonium yang bersifat toksik bagi embrio, untuk menetralkan efek toksik ini diperlukan jumlah medium yang besar dan adanya sel granulosa monolognya.

Brisson and Ceese (1994) menyatakan bahwa perkembangan periode preimplantasi tikus berlangsung 5 hari setelah fertilisasi. Selama periode awal perkembangan ini kebutuhan energi yang diperlukan tinggi sekali selama tahap kritis. Proses fosforilasi oksidatif sangat berperan dalam tahap perkembangan ini. Selama periode ini ATP yang dihasilkan melalui jalur fosforilasi oksidatif dan pemecahan glukosa melalui glikolisis. Namun demikian selama pertumbuhan blastosis tikus tidak mutlak melalui jalur fosforilasi oksidatif tetapi bisa diganti dengan meningkatnya jumlah glukosa yang dibutuhkan dan dimetabolisme melalui jalur glikolisis. Model metabolisme ini mungkin berhubungan dengan perubahan lingkungan induk

selama awal perkembangan, pembentukan rongga blastula dan tempat implantasi.

Ternyata tidak semua embrio dapat berkembang dengan baik pada media kultur Brinster. Hal ini mungkin disebabkan oleh pengaruh kondisi lingkungan inkubator yang secara nisbi kurang serasi untuk perkembangan embrio dibanding dengan keadaan alamiah.

Untuk dapat mencapai kondisi media yang optimal dalam perkembangan embrio, maka pada media perlu ditambahkan protein dan bahan lain sebagai sumber energi (Quinn, 1982). Menurut Batt dan Miller (1988) protein yang perlu ditambahkan adalah protein fraksi tiga yang terutama terdiri dari albumin, oleh karena itu penambahan serum lengkap atau komponen serum yang lebih besar dari 10 Kd (Kilo dalton) merupakan faktor yang penting dalam pembuatan media kultur embrio. Diharapkan bahwa mudigah yang dikembangkan dalam media telah ditambahkan protein akan mampu berkembang dengan baik seperti mudigah pada fase perkembangan morula akan terus berkembang sampai fase blastula lanjut (expanded blastocyst).

Media umumnya berisi *Bovine Serum Albumin* (BSA) atau serum darah yang telah dideaktivasi. Selang konsentrasi BSA dalam media adalah 0.1 sampai 3.2 persen dengan rataan berkisar antara 0.3 sampai 1 persen. Selang konsentrasi serum darah dalam media in vitro adalah 1 sampai 50 persen dengan rataan berkisar antara 5 sampai 20 persen (Hafez, 1980).

Kandungan Bovine Serum Albumin pada media Brinster maksimal sebanyak 5% jumlah ini paling sesuai untuk embrio mencit, sedang untuk embrio sapi kandungan Bovine Serum Albumin dalam media minimal harus 5% - 10% (Soenardirahardjo, 1990).

Menurut Malole (1990), faktor yang paling berpengaruh dalam keberhasilan fertilisasi *in vitro* dan pertumbuhan embrio adalah lingkungan yang ada dalam medium biakan. Beberapa unsur dapat ditambahkan untuk mempertahankan lingkungan yang optimum untuk pertumbuhan embrio diantaranya insulin. Insulin memudahkan masuknya glukosa ke dalam sel dengan kerja atas membran sel. Kecepatan fosforilasi glukosa setelah memasuki sel jelas diregulasi oleh hormon ini. Insulin mempercepat metabolisme glukosa yang berfungsi sebagai sumber energi yang selanjutnya digunakan untuk proses pertumbuhan dari sel. Insulin juga berperan membantu pengambilan glukosa dan asam amino oleh sel, proses proliferasi dan perkembangan awal embrio serta merangsang pertumbuhan *inner cell mass* (Ganong, 1992; Dufasne et al., 1993).

## BAB V

## KESIMPULAN DAN SARAN

## 5.1. Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah :

Kultur embrio mencit dalam medium Brinster tidak meningkatkan secara nyata ( $p > 0,05$ ) proses perkembangan embrio mencit.

Media Brinster hanya sesuai untuk fertilisasi, untuk biakan dari 4 buah sel sampai periode blastosis sebaiknya jangan memakai media brinster.

## 5.2. Saran

1. Jika melakukan kultur embrio mencit sebaiknya tidak digunakan medium Brinster.
2. Jika melakukan kultur embrio tahap 2 sel sebaiknya tidak menggerakkan media setelah pemberian HCG selama 32 jam supaya tidak ditemui *cell block* dan fluktuasi temperatur serta pH harus stabil.

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA



## DAFTAR PUSTAKA

- Abubaker, A. M., S.J. Tan and D. S. Shi. 1994. Successful Cultur of One Cell Rabbit into Morula and Blastula in a Defined Medium : Effects of Energy Substrats. *J. Theriogenology*: 41: 152.
- Aurich, C. and J. Han. 1994. In Vitro Maturation Fertilisation and Culture of Bovine Oocytes in a Modified Menzo B<sub>2</sub> Medium. *J. An. Reprod. Sci*: 35, 153-162.
- Batt, P. A. dan B. G. Miller. 1988. development of sheep embryos in vitro in a medium supplemented with different serum fractions. *Aust. J. Biol. Sci.* 41: 189-199.
- Bavister, B. D. 1990. Regulation of Hamster Preimpaltation Embryo Development in Vitro by Glucose and Phosphate in Early Embryo Development and Paracrene Relationships. Ed. Heiper ang L. Wile Y. Alan Liss. Inc. New York.
- Brison, D. R. and M. J. Ceese. 1994. Blastocoel Cavity Formation by Preimplantation Rat Embryos in The Presence of Cyanide and Other Inhibitions of Oxidatve Phosphorylation. *J. of Repr. and Fert.* 101 : 305-300.
- Dufrasne, E., I. Vanderhyden, D. Robin, J. Delcourt, S. Pampfer and R. De Herfogh. 1993. Glucose and Pyruvate Metabolisme in Preimplantation Blastocysts From Normal and Diabetic Rats. *J. of Reprod. Fert.* 98 : 169-177.
- Fukui, F., A. M. Glen, F. Gandolfi and R. M. Moor. 1988. In Vitro Culture of Sheep Oocyts Matured and Fertilized in Vitro. *J. Theriogenology* : 29.
- Fulka, J. 1994. Oocyte Collection and In Vitro Maturation. *Procedings Regional Training Course on Embryo Bisection ang in Vitro Fertilisation in Cattle, sheep and Pig.* FAO - UNOP. Regional Coordinating Centre. ANBAPH. Beijing, China.
- Ganong, W. F. 1992. *Fisiologi Kedokteran.* Edisi 14. Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Gilbert, S. F. 1988. *Developmental Biology.* 2<sup>nd</sup> Ed. Sinaver Assosites Inc. Publisher. Sunderland. Massachusetts.
- Hafez, E. S. E. 1980. *Reproduction in Farm Animals.* 5<sup>th</sup> Ed. Lea and Febiger. Philadelphia.



- Malole, M. B. M. 1990. Kultur Sel dan Jaringan Hewan. Departemen Pendidikan Dan Kebudayaan. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Riset Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor.
- Monk, M. 1987. Mammalian development a practical approach. 4<sup>th</sup> Ed. London NW1 2HE, United Kingdom.p:38.
- Palmer, A. K. 1978. Design of Subprimate Animal Studies. Handbook of Teratology. 4:215-254.
- Partodihardjo, S. 1980. Ilmu Reproduksi Hewan. Penerbit Mutiara. Jakarta.
- Quinn, P. 1982. Fertilization and cultur of embryos: factors which have a major influence on ambryo survival in vitro. dalam Simposium Embryo Transfer in Catlle, Sheep and Goats. Camberra.
- Suharto. 1994. Pertemuan Konferensi Tingkat Tinggi Pemimpin Negara Anggota APEC. Istana Presiden. Bogor.
- Sukra, Y., I. Djuwita, A. Boediono dan S. Golfiani. 1992. Studi Tentang Pengembangan Teknik Fertilisasi in Vitro, Kultur, Pewarnaan Kromosom dan Pemotongan Embrio Dalam Proses Perekayasaan Embrio. Prosiding
- Soenardirahardjo, B. P. 1990. Kajian Manipulasi Mudigah Pada Tikus. Fakultas Pasca Sarjana IPB. Bogor.
- Takahashi, Y. and N. L. First. 1992. In Vitro Development of Bovine One-cell Embryos, Influence of Glucose, Lactose, amino Acids and Vitamins. J. Theriogenology 37 : 963-978.

## Lampiran 1. Perhitungan Statistik Khi-kuadrat.

Grade	Fertilisasi		Jumlah
	Negatif	Positif	
A	2	48	50
B	6	22	28
Jumlah	8	70	78

Tabel Frekuensi Harapan

Grade	Fertilisasi		Jumlah
	Negatif	Positif	
A	5,13 (e11)	44,87 (e12)	50
B	2,87 (e23)	25,13 (e24)	28
Jumlah	8	70	78

Hipotesis :

$H_0 : P_{ij} = P_i \cdot P_j$

$H_1 : P_{ij} \neq P_i \cdot P_j$

Keterangan :

$P_i$  : Fertilisasi

$P_j$  : katagori

$$X^2_{hit} = \frac{(2-5,13)^2}{5,13} + \frac{(48-44,87)^2}{44,87} + \frac{(6-2,87)^2}{2,87} + \frac{(22-25,13)^2}{25,13}$$

$$= 5,93$$

$$X^2_{(2-1)(2-1)} = X^2_{(1)(0,05)} = 3,84$$

yang berarti  $H_0$  ditolak.  
 Karena  $X^2_{hit} > X^2_{(1)(0,05)}$  artinya ada kaitan antara katagori oosit dengan keberhasilan fertilisasi.



Fertilisasi	Tahap Perkembangan Embrio			Rataan
	4 sel	Morula	Blastula	
Berkembang	4	2	2	2,7
Tidak berkembang	66	68	68	67,3
	35	35	35	35

Hipotesis :

$H_0 = B_0 = B_1$

$H_1 = B_0 \neq B_1$

$$JK \text{ Total} = \sum (Y_{ij} - Y_{..})^2 = (4-35)^2 + (2-35)^2 + \dots + (68-35)^2 = 6278$$

$$JK \text{ perlakuan} = \sum (Y_{i.} - Y_{..})^2 = 3[(2,7-35)^2 + (67,3-35)^2] = 6259,7$$

$$JK \text{ Kelompok} = \sum (Y_{.j} - Y_{..})^2 = 2[(35-35)^2 + (35-35)^2 + (35-35)^2 + (35-35)^2] = 0$$

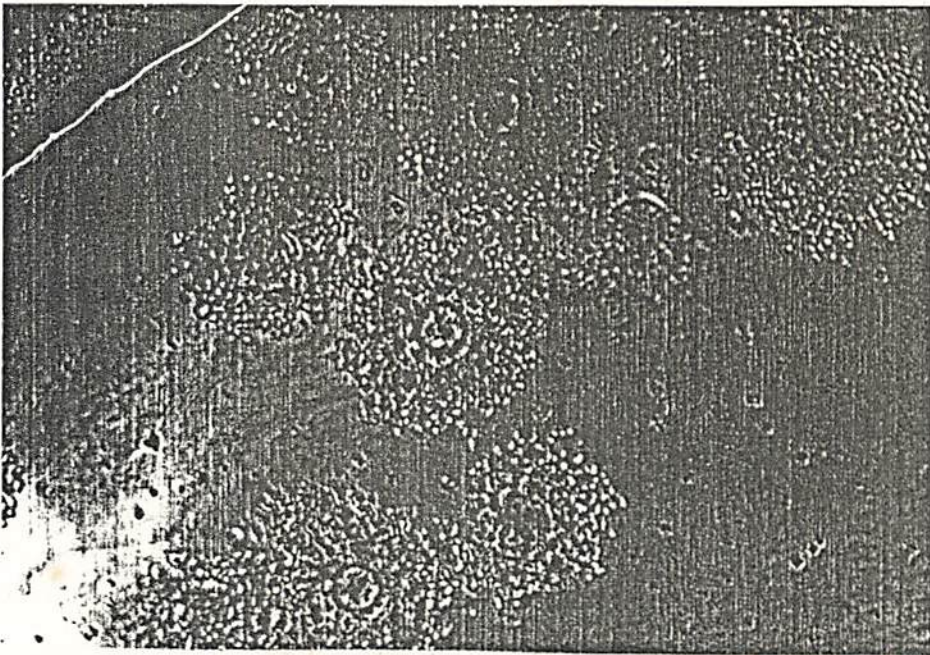
Analisis Sidik Ragam

db	db	JK	KT	Fhit	Ftabel
Kelompok	1	0	0		
Perlakuan	2	6259,7	3129,85	513,09	199,2
Sisa	3	18,3	6,1		
Jumlah	6	6278			

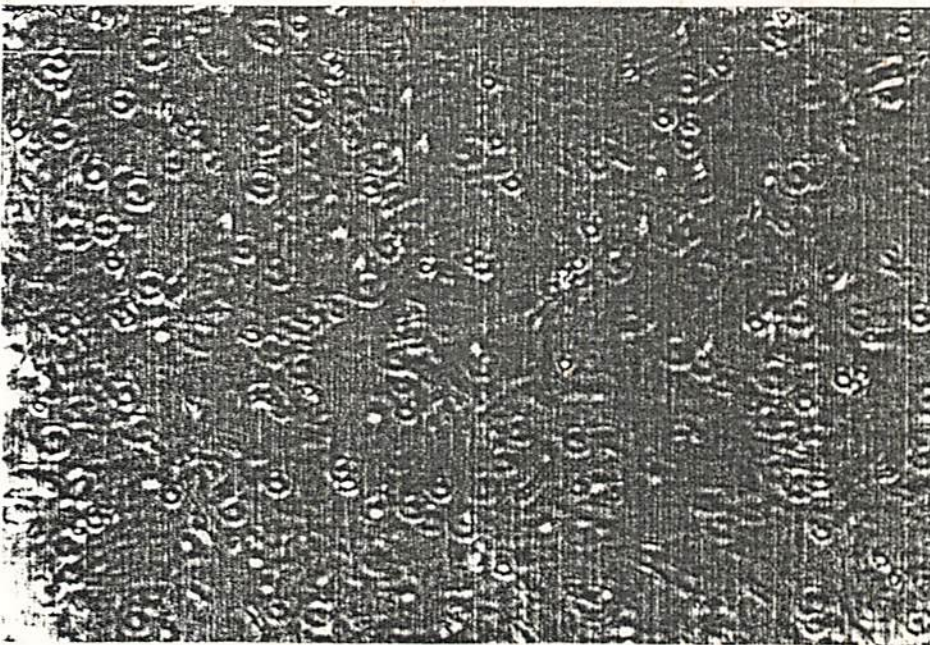
$$F_{tabel} = F_{(2,3)}(0,05) = 199,2$$

$F_{hit} > F_{tabel} = H_0$  ditolak, berarti tidak ada keterkaitan antara tingkat keberhasilan fertilisasi dengan perkembangan embrio.



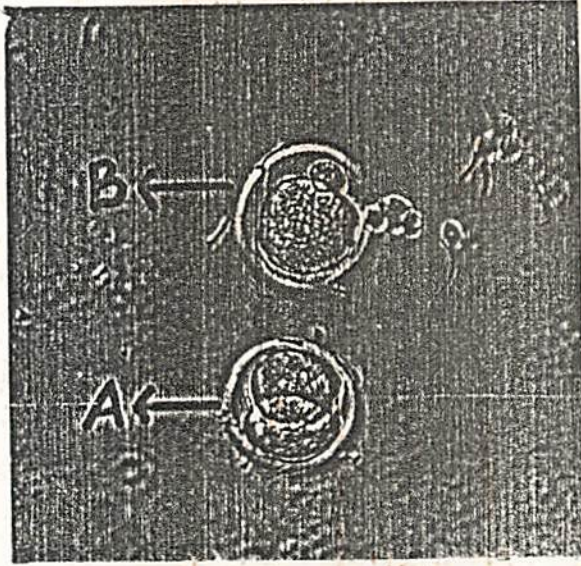


Gambar 1. Ovum Yang Dipanen Dari Hasil Superovulasi.  
Tampak Ovum Dikelilingi Oleh Sel-sel Cumulus.



Gambar 2. Spermatozoa Yang Diperoleh Dari Cauda Epididimis. Tampak Bentuk Kepala Dan Ekor Spermatozoa.





ambar 3. Ovum Yang Telah Difertilisasi. Tampak Embrio Fase Perkembangan 2 sel (A) dan Embrio Yang Tidak Berkembang.

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

NO

Ma : ANVA RUSLYANA

Mhs/Rap. : 0700141891