

USUL PENELITIAN
HIBAH PROYEK DUE-LIKE
TAHUN ANGGARAN 2003/2006



**PROFIL PROTEIN OOSIT DARI BERBAGAI
UKURAN FOLIKEL PADA PROSES MATURASI
OOSIT : SEBUAH UPAYA MENINGKATKAN
KUALITAS PRODUKSI EMBRIO *IN VITRO***

Oleh :
Widjiati, M. Si., Drh.

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

MARET, 2003

USUL PENELITIAN
HIBAH PROYEK DUE-LIKE
TAHUN ANGGARAN 2003/2006



**PROFIL PROTEIN OOSIT DARI BERBAGAI
UKURAN FOLIKEL PADA PROSES MATURASI
OOSIT : SEBUAH UPAYA MENINGKATKAN
KUALITAS PRODUKSI EMBRIO *IN VITRO***

Oleh :
Widjiati, M. Si., Drh.

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

MARET, 2003

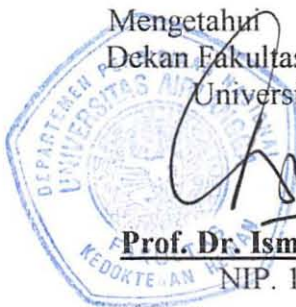
A. JUDUL : **PROFIL PROTEIN OOSIT DARI BERBAGAI UKURAN FOLIKEL PADA PROSES MATURASI OOSIT : SEBUAH UPAYA MENINGKATKAN KUALITAS PRODUKSI EMBRIO *IN VITRO***


Ketua Peneliti

Nama Lengkap dan Gelar : Drh. WIDJIATI, M.Si
Jenis Kelamin : Perempuan
Golongan Pangkat : Lektor/III C
NIP : 131 877 882
Jabatan sekarang : Dosen
Fakultas/Jurusan/Puslit : Kedokteran Hewan / Reproduksi
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga
Biaya 2003 yang diajukan : Rp. 30.000.000,-
Biaya 2004 dari instansi lain : Rp. –
Total Biaya : Rp. 30.000.000,-

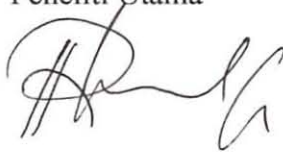
Surabaya, 13 Maret 2003

Mengetahui
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga




Prof. Dr. Ismudiono, MS., Drh.
NIP. 130 687 297

Peneliti Utama



Drh. Widjiati, M.Si
NIP. 131 877 882

Menyetujui,
Direktur Eksekutif

Tjitjik Sri Tjahjandarie, Ph.D, Dra.
NIP. 131 801 627

DAFTAR ISI

	Halaman
1. URAIAN UMUM	1
2. ABSTRAK RENCANA PENELITIAN	3
3. MATRIKS PENELITIAN.....	5
4. TUJUAN KHUSUS	6
5. PENTINGNYA ATAU KEUTAMAAN RENCANA PENELITIAN INI	6
5. STUDI PUSTAKA / KEMAJUAN YANG TELAH DICAPAI DAN STUDI PENDAHULUAN YANG SUDAH DILAKSANAKAN	8
6. DESAIN DAN METODE PENELITIAN	9
7. ANGGARAN PENELITIAN	21
8. PUSTAKA	21
 LAMPIRAN	
1. JUSTIFIKASI ANGGARAN	23
2. DUKUNGAN PADA PELAKSANAAN PENELITIAN	25
3. SARANA DAN PRASARANA	26
4. BIOGRAFI / DAFTAR RIWAYAT HIDUP PENELITIAN	27

1. URAIAN UMUM

1.1 Judul usulan

PROFIL PROTEIN OOSIT DARI BERBAGAI UKURAN FOLIKEL
PADA PROSES MATURASI OOSIT : SEBUAH UPAYA
MENINGKATKAN KUALITAS PRODUKSI EMBRIO *IN VITRO*

1.2 Ketua Peneliti

Nama lengkap : Widjiati, M.Si, Drh.

Bidang Keahlian : Bioteknologi Reproduksi

Jabatan : Lektor

Unit Kerja : Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Alamat surat : Jl. Mulyorejo Kampus C Unair Surabaya

Kode Pos : 60115

Faksimili : 031 - 5993015

Telepon : 031 - 5992785

e-mail : vetunair@mdo.net.id

1.3 Anggota Peneliti

No.	Nama Dan Gelar Akademik	Bidang Keahlian	Instansi	Alokasi Waktu	
				Jam Minggu	Bulan
1	Widjiati, MSi, Drh.	Bioteknologi Reproduksi	FKH UNAIR	20	4
2	Prof. Dr. Ismudiono, MS, Drh.	Biologi Reproduksi	FKH UNAIR	10	4
3.	Tatik Hernawati, M.Si., Drh.	Inseminasi Buatan	FKH UNAIR	10	4

1.4. Subyek Penelitian

Subyek penelitian ini adalah profil protein oosit sapi dari berbagai ukuran folikel sebelum dan sesudah dilakukan maturasi.

Penelitian ini meliputi beberapa aspek:

1. Maturasi oosit sapi secara *in vitro*.
2. Pemeriksaan profil kromosom oosit sapi.
3. Fertilisasi *in vitro*.
4. Produksi embrio *in vitro*.
5. Analisis fraksi protein berdasarkan metode biuret dan SDS PAGE dari hasil isolasi pada setiap tahapan dan ukuran folikel sebelum maturasi.
6. Analisis fraksi protein berdasarkan metode biuret dan SDS PAGE dari hasil isolasi pada setiap tahapan dan ukuran folikel sesudah dilakukan maturasi secara *in vitro*.

1.5. Periode Pelaksanaan Penelitian

Mulai : Juli 2003, Berakhir : Desember 2003.

1.6. Jumlah Anggaran yang diusulkan untuk seluruh program :

Rp. 30.000.000,-

1.7. Lokasi Penelitian

- a. Laboratorium Fertilisasi *in vitro*, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- b. Laboratorium Molekuler FKH Unair.
- c. Rumah Potong Hewan Pegirian Surabaya.

1.8. Hasil Yang Ditargetkan :

Hasil yang ditargetkan dari penelitian ini adalah :

- a. Mengetahui kondisi kematangan oosit yang dikoleksi dari folikel ukuran 1-2 mm, 3-5 mm dan 6-8 mm berkaitan dengan peran protein yang diproduksi selama proses maturasi.
- b. Mengetahui pengaruh oosit yang dikoleksi dari folikel ukuran 1-2 mm, 3-5 mm dan 6-8 mm terhadap tingkat fertilisasi berkaitan dengan peran protein yang diproduksi selama proses maturasi.
- c. Mengetahui pengaruh oosit yang dikoleksi dari folikel ukuran 1-2 mm, 3-5 mm, 6-8 mm terhadap kualitas embrio berkaitan dengan peran protein yang diproduksi selama maturasi.

1.9. Perguruan Tinggi Pengusul

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

1.10. Keterangan lain yang dianggap perlu :

Penelitian ini merupakan rangkaian penelitian yang menunjang peningkatan viabilitas dan kualitas serta kuantitas produksi embrio *in vitro* dalam rangka mendukung program pemerintah meningkatkan populasi ternak besar.

2. ABSTRAK RENCANA PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan jangka panjang untuk memperoleh dasar-dasar ilmu dan pengembangan produksi embrio *in vitro* yang mempunyai viabilitas tinggi dengan teknologi biomolekuler reproduksi melalui pengkajian profil protein yang berperan dalam proses maturasi oosit yang

selanjutnya dapat dikembangkan untuk penyiapan kit deteksi kualitas oosit sebagai sumber embrio.

Kualitas produksi embrio sapi secara *in vitro* masih cukup rendah. Dari beberapa penelitian produksi embrio *in vitro* tahap blastosis pada sapi sekitar 30% - 40% (Van Blerkom *et al.*, 1990).

Salah satu faktor yang ikut mempengaruhi rendahnya produksi embrio adalah populasi oosit yang dimaturasi sangat heterogen sehingga proses pematangan akhir tidak berjalan secara sempurna (Hytell *et al.*, 1997; Hagemann *et al.*, 1992).

Dari penelitian yang telah dilakukan Widjiati dan Rimayanti (2001) diketahui bahwa oosit yang dipanen dari folikel ukuran 30-12 mm prosentase jumlah oosit yang mencapai tahap metafase II adalah 50%, sedangkan oosit yang dikoleksi dari folikel ukuran kurang dari 3 mm hanya mencapai 12%. Hal ini menunjukkan bahwa kualitas oosit yang dihasilkan secara *in vitro* dari folikel yang berdiameter besar lebih baik daripada oosit yang dikoleksi dari folikel berdiameter kecil.

Pentingnya mengetahui peran protein yang mempunyai fungsi menjaga kualitas oosit untuk dipakai dalam produksi embrio *in vitro* dan pencarian metode alternatif untuk deteksi kualitas oosit berdasarkan profil protein sekama proses maturasi. Dipilihnya fraksi protein oosit dari berbagai ukuran folikel sebagai antigen untuk produksi antibodi, karena berdasarkan kajian imunologi antibodi ini akan mengenali fraksi protein yang mempunyai peran penting dalam proses maturasi, sehingga memungkinkan untuk dikembangkan menjadi kit deteksi kualitas oosit yang dipersiapkan untuk produksi embrio *in vitro*.

3. MATRIKS PENELITIAN

Sasaran	Kerangka Acuan	Realisasi	Masalah	Pemecahan Masalah	Keterangan
1. Produksi Kit deteksi kualitas oosit untuk produksi embrio <i>in vitro</i>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Maturasi oosit secara <i>in vitro</i>. 2. Fertilisasi <i>in vitro</i>. 3. Produksi embrio blastosis secara <i>in vitro</i>. 4. Produksi dan analisis fraksi dengan metode biuret dan SDS PAGE dari hasil isolasi pada setiap tahapan dan ukuran folikel sebelum dan sesudah maturasi. 5. Produksi antibodi terhadap setiap fraksi protein untuk deteksi kualitas oosit yang dimaturasi. 6. Produksi antibodi terhadap setiap fraksi protein untuk deteksi kualitas embrio yang di produksi secara <i>in vitro</i>. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Mendapatkan keberadaan fraksi protein oosit atau (fpO) yang berfungsi untuk meningkatkan produksi embrio <i>in vitro</i>. 2. Memperoleh sekuen asam amino fpO untuk menyiapkan sistesis fpO. 3. Memperoleh gambaran fraksi protein dari oosit hasil maturasi berdasarkan ukuran folikel. 4. Mengetahui kualitas embrio tahap blastosis berdasarkan kualitas masing-masing oosit. 	Apakah profil protein oosit pada berbagai ukuran folikel berperan terhadap kualitas oosit hasil maturasi dan produksi embrio <i>in vitro</i> .	<ol style="list-style-type: none"> 1. Mengamati tingkat kematangan oosit berdasarkan ukuran folikel 1-2 mm, 3-5mm dan 6-8 mm. 2. Isolasi fpO dari berbagai ukuran folikel. 3. Analisa fraksi protein oosit dengan metode biuret dan SDS PAGE dari berbagai ukuran folikel. 4. Produksi dan analisis antibodi terhadap setiap fraksi protein untuk deteksi kualitas oosit yang telah di maturasi dengan metode ELISA, dot blot dan western blot 	Meningkat kualitas peroduksi embrio <i>in vitro</i> sebagai bank embrio untuk transfer embrio dan meningkatkan populasi ternak.

4. TUJUAN KHUSUS

Tujuan Jangka Pendek

Tujuan jangka pendek yang akan dicapai adalah :

1. Memperoleh bukti peran fraksi protein pada oosit dari berbagai ukuran folikel yang disintesis selama proses maturasi oosit secara *in vitro*.
2. Memperoleh data karakterisasi fraksi protein oosit hasil isolasi dari berbagai ukuran folikel yang disintesis selama proses maturasi oosit secara *in vitro*.

Tujuan Jangka Panjang

Tujuan jangka panjang yang akan dicapai adalah :

1. Menghasilkan kit terhadap kualitas oosit yang dipakai untuk produksi embrio *in vitro* yang ekonomis dan mudah dilakukan.
2. Meningkatkan produksi embrio *in vitro* ruminansia besar dan menunjang keberhasilan transfer embrio, sehingga dapat meningkatkan populasi ternak.

5. PENTINGNYA ATAU KEUTAMAAN RENCANA PENELITIAN INI

Kemajuan penelitian dibidang tranfer embrio masih belum biasa memenuhi embrio secara kuantitas dan kualitas. Hal ini berdasarkan pada hasil angka kebuntingan apabila embrio yang diproduksi secara *in vitro* apabila ditransfer ke resipien menghasilkan angka kebuntingan yang rendah. Masih rendahnya angka kebuntingan ini perlu dikaji secara molekuler reproduksi, mengingat pada proses maturasi oosit banyak protein diduga

berperan dalam proses pematangan oosit, dan sampai saat ini sintesis dan fungsi protein tersebut secara molekuler masih belum banyak diketahui.

Saat ini untuk ruminasia kecil kualitas produksi embrio *in vitro* baik ditingkat nasional maupun internasional masih jauh tertinggal dibandingkan dengan hewan ruminansia lain seperti sapi. Dari beberapa penelitian menunjukkan bahwa produksi embrio *in vitro* tahap blastosis pada sapi sekitar 30% - 40% (Van Blerkom *et al*, 1990) dan domba sekitar 36% sedangkan pada kambing hanya 11% (Sukra *dkk*, 1997 ; Boediono *dkk*, 1999). Dari penelitian yang telah dilakukan oleh Widjiati dan Rimayanti, (2001) diketahui bahwa oosit yang dipanen dari folikel ukuran 3 - 12 mm prosentase jumlah oosit yang mencapai tahap metafase II adalah 50%, sedangkan oosit yang dikoleksi dari folikel ukuran kurang dari 3 mm hanya mencapai 12%. Hal ini menunjukkan bahwa kualitas oosit yang dihasilkan secara *in vitro* dari folikel yang berdiameter besar lebih baik dari pada oosit yang dikoleksi dari folikel berdiameter kecil.

Banyak hal yang mempengaruhi rendahnya produksi embrio secara *in vitro* tahap blastosis satunya adalah sistem kultur dan seleksi ukuran folikel yang belum diperhatikan. Secara molekuler pada setiap variasi ukuran folikel terjadi sintesis protein yang berbeda, yang diduga sangat menentukan oosit setelah maturasi, secara berurutan menentukan kualitas embrio yang akan diproduksi secara *in vitro*. Hal ini diduga bahwa ukuran oosit yang heterogen menyebabkan proses pematangan akhir (kapasitas) tidak berjalan secara sempurna sehingga proses sintesis beberapa protein

diduga berkaitan dengan proses maturasi yang disintesi oleh mRNA (Hytell *et al* ; 1997). Oosit yang diperoleh dari folikel yang heterogen menyebabkan pertumbuhan oosit secara *in vitro* tidak dapat mencapai perkembangan kapasitas yang seragam dan kondisi ini sangat mempengaruhi proses perkembangan selanjutnya.

Dari hasil penelitian Widjiati dan Rimayanti (2002) menunjukkan bahwa tingkat fertilisasi oosit yang dikoleksi dari beberapa ukuran folikel berpengaruh terhadap angka fertilisasi. Folikel ukuran 1-2 mm, 3-5 mm dan 6-8 mm menghasilkan angka fertilitas yang bervariasi, secara berurutan adalah 53 ; 90 dan 91,6 %.

6. STUDI PUSTAKA / KEMAJUAN YANG TELAH DICAPAI DAN STUDI PENDAHULUAN YANG SUDAH DILAKSANAKAN

Kemajuan penelitian dibidang transfer embrio masih belum bisa memenuhi embrio secara kuantitas dan kualitas. Hal ini berdasarkan pada hasil angka kebuntingan apabila embrio yang diproduksi secara *in vitro* apabila ditransfer ke resipien menghasilkan angka kebuntingan yang rendah. Masih rendahnya angka kebuntingan ini masih perlu dikaji secara molekuler reproduksi, mengingat pada proses maturasi oosit banyak protein diduga berperan dalam proses pematangan oosit, dan sampai saat ini sintesis dan fungsi protein tersebut secara molekuler masih belum banyak diketahui.

Saat ini pada ruminasia kualitas produksi embrio *in vitro* baik ditingkat nasional maupun internasional masih jauh tertinggal. Dari beberapa penelitian menunjukkan bahwa produksi embrio *in vitro* tahap

blastosis pada sapi sekitar 30% - 40% (Van Blerkon *et al.* 1990) dan domba sekitar 36% sedangkan pada kambing hanya 11% (Sukra *dkk.* 1997, Boediono *dkk.* 1999). Dari penelitian yang telah dilakukan oleh Widjiati dan Rimayanti, (2001) diketahui bahwa oosit yang dipanen dari folikel ukuran 3-12 mm prosentase jumlah oosit yang mencapai tahap metafase II adalah 50%, sedangkan oosit yang dikoleksi dari folikel ukuran kurang dari 3 mm hanya mencapai 12%. Hal ini menunjukkan bahwa kualitas oosit yang dihasilkan secara *in vitro* dari folikel yang berdiameter besar lebih baik dari pada oosit yang dikoleksi dari folikel berdiameter kecil.

Dari hasil penelitian Widjiati dan Rimayanti (2002) menunjukkan bahwa tingkat fertilisasi oosit yang dikoleksi dari beberapa ukuran folikel berpengaruh terhadap angka fertilisasi. Folikel 1-2, 3-5 dan 6-8 mm menghasilkan angka fertilisasi yang bervariasi, secara berurutan adalah 53%, 90% dan 91,6%.

7. DESAIN DAN METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode eksplorasi laboratorium secara eksperimental dilakukan untuk menguji hipotesis melalui beberapa tahapan penelitian.

1. Melakukan maturasi oosit sapi berdasarkan ukuran folikel 1-2 mm, 3-5 mm dan 6-8 mm.
2. Pemeriksaan tingkat kematangan oosit sapi dengan metode pewarnaan arceto orcein untuk mengetahui kualitas oosit sapi.

3. Melakukan fertilisasi *in vitro* terhadap kualitas oosit.
4. Melakukan kultur *in vitro* untuk produksi embrio tahap blastosis.
5. Melakukan isolasi fraksi protein oosit dari ukuran folikel 1-2 mm, 3-5 mm dan 6-8 mm sebelum dilakukan maturasi.
6. Melakukan isolasi fraksi protein oosit dari folikel ukuran 1-2 mm, 3-5 mm dan 6-8 mm setelah dilakukan maturasi.
7. Analisis fraksi protein dari oosit berdasarkan metode biuret dan SDS PAGE dari hasil isolasi pada setiap tahapan dan ukuran folikel sebelum maturasi.
8. Analisis fraksi protein dari oosit berdasarkan metode biuret dan SDS PAGE dari hasil isolasi pada setiap tahapan dan ukuran folikel setelah maturasi.

7.1. Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan asumsi semua perlakuan dihasilkan sama dari pengambilan sampel sampai dengan pengerjaan serta kondisi laboratorium. Hari pengerjaan dianggap sebagai ulangan.

7.2. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah ovarium sapi yang diambil dari rumah potong hewan Pegirian Surabaya. Ovarium di bawa ke laboratorium Fertilisasi *in vitro* Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga untuk dilakukan koleksi oosit berdasarkan ukuran folikel masing-masing yaitu 1-2 mm, 3-5 mm dan 6-8 mm. Selanjutnya di maturasi,

fertilisasi dan kultur *in vitro*. Selain itu oosit yang belum di maturasi dan yang sudah di maturasi dilakukan analisis fraksi protein dan antibodi terhadapnya di Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

7.3. Variabel Penelitian

Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah :

1. Oosit sapi yang dikoleksi dari folikel ukuran 1-2 mm yang sudah dilakukan maturasi.
2. Oosit sapi yang dikoleksi dari folikel ukuran 3-5 mm yang sudah dilakukan maturasi.
3. Oosit sapi yang dikoleksi dari folikel ukuran 6-8 mm yang sudah dilakukan maturasi.

Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah :

1. Tingkat kematangan oosit sapi setelah dilakukan maturasi *in vitro*.
2. Angka fertilisasi setelah oosit setelah dilakukan fertilisasi *in vitro*.
3. “*Blastosis rate*” setelah dilakukan kultur *in vitro*.
4. Karakter protein oosit berdasarkan kadar dan berat molekul berdasarkan metode biuret dan SDS PAGE.
5. Analisis spesifik protein terhadap antibodinya dengan metode dot blot, western blot dan ELISA.

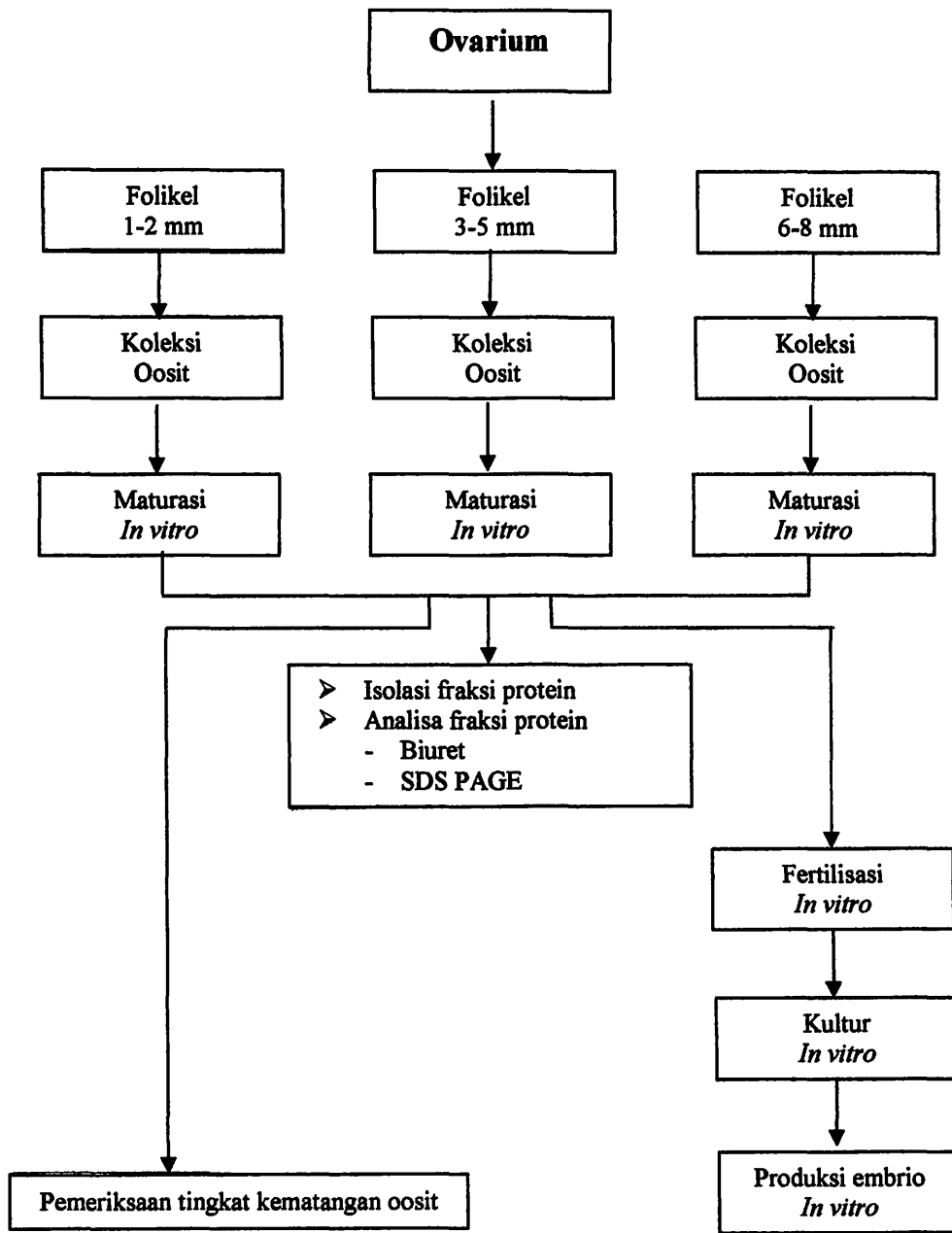
Variabel Terkontrol

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah ruang penelitian, inkubator CO₂, peralatan, pemilihan alat ukur dari hasil penelitian, bahan-bahan yang digunakan pada penelitian.

7.4. Lokasi Penelitian

- Rumah Potong Hewan (RPH) Pegirian Surabaya untuk memperoleh ovarium.
- Laboratorium Fertilisasi *in vitro* Fakultas Kedokteran Hewan untuk melakukan koleksi oosit, maturasi oosit, fertilisasi *in vitro* dan kultur embrio.
- Laboratorium Biologi Molekuler untuk Analisis fraksi protein.

Kerangka Penelitian



7.5. Prosedur Pengumpulan Data Penelitian

a. Koleksi Oosit

Ovarium sapi diperoleh dari Rumah Potong Hewan Pegirian dan disimpan dalam NaCl 0,89% yang telah diberi tambahan gentamycin sulfat 50 µg/ml, pada suhu 30-35⁰C. Oosit diambil secara aspirasi dengan menggunakan jarum ukuran G 18 yang dihubungkan dengan spuit 5 ml berisi 1 ml Phosphate Buffer Saline (PBS) yang telah diberi tambahan 0,3% Bovine Serum Albumine (BSA) dan 50 µg/ml gentamycin. Aspirasi dilakukan pada folikel ukuran 1-2 mm, 3-5 mm dan 6-8 mm. Oosit yang memiliki lapisan kumulus kompleks dicuci secara berturut-turut sebanyak 3 kali di dalam medium Phosphate Buffer Saline (PBS) dan 2 kali di dalam Tissue Buffer Culture (TCM) 199 dan dikelompokkan berdasarkan ukurannya.

b. Maturasi Oosit

Untuk proses maturasi oosit dipergunakan medium TCM yang ditambahkan 0,01 µg/ml FSH, 0,01 µg/ml LH, 5% BSA dan 50 µg/ml gentamycin sulfat. Sembilan puluh oosit berdasarkan ukurannya di kultur dalam 100 µl medium tetes dan ditutup dengan mineral oil. Pematangan oosit dilakukan pada suhu 38⁰C didalam inkubator CO₂ 5% selama 22 jam (Pawshe *et al.*, 1996).

Oosit yang telah matang berdasarkan kelompok perlakuan masing-masing selanjutnya dibagi 3 bagian untuk pemeriksaan tingkat kematangan oosit dengan metode pewarnaan arceto osein, untuk analisa fraksi protein dan dilakukan fertilisasi *in vitro* untuk produksi embrio tahap blastosis.

c. Pemeriksaan Tingkat Kematangan Oosit

- 22 jam setelah proses maturasi oosit, oosit berdasarkan kelompok masing-masing diletakkan pada gelas obyek, kemudian ditutup dengan gelas penutup dan difiksasi di dalam asam acetat : etanol (1 : 3) selama 2- 3 hari.
- Oosit yang telah difiksasi diwarnai dengan pewarna aceto ocein 1% melalui salah satu sisi gelas penutup dan didiamkan 2-3 menit.
- Oosit yang telah terwarnai, dibilas dengan larutan penghilang warna sambil cairan dihisap dengan tissue supaya preparat menjadi kering.
- Kemudian preparat diamati dibawah mikroskop interved untuk menentukan oosit yang berkembang menjadi *Germinal Vesicle* (GV), *Germinal Vesicle Break Down* (GVBD), Metafase I dan Metafase II berdasarkan kelompok perlakuan masing-masing.

d. Fertilisasi *In Vitro*

Untuk fertilisasi *in vitro* dipergunakan semen sapi segar, semen dikoleksi dengan mempergunakan vagina buatan. Setelah dievaluasi standar, semen dicuci dalam 6 ml medium fertilisasi yaitu medium TCM 199 yang diberi suplementasi glutamin, 20 µg/ml heparin, 0,3% BSA dan 50 µg/ml gentamycin. Endapan spermatozoa diencerkan sampai dengan konsentrasi 5×10^6 spermatozoa/ml. Tiga puluh oosit yang telah matang berdasarkan ukurannya dimasukkan ke dalam 100 µl suspensi sperma yang telah ditutup mineral oil. Fertilisasi dilakukan selama 16 jam di dalam inkubator CO₂ 5% suhu 38,5⁰C (Shamsudin *et al.*, 1993)

e. Produksi Embrio Tahap Blastosis

Enam belas jam setelah dilakukan fertilisasi *in vitro*, sigot dicuci 3 kali dengan medium kultur, kemudian sigot yang telah dicuci klutur di dalam medium perkembangan yaitu medium tissue cultur medium (TCM 199) yang diberi tambahan 5% BSA, 5 mg/ml insulin (Wako Pure Chemical Industri, Osaka Jepang) dan 50 µg/ml gentamycin sulfat.

f. Isolasi Fraksi Protein Dari Oosit yang diambil dari berbagai ukuran folikel

Oosit yang telah dikoleksi dilarutkan di dalam larutan PBS yang telah ditambah 0,05 mM PMSF (Phenyl Metil Sulfonil Flouride), yang berfungsi sebagai antibiotik. Setelah itu oosit dicuci dengan PBS (Phosphat Buffer Saline) dengan (2-4⁰C) steril, dengan cara memindahkan oosit ke dalam cawan petri yang sudah berisi PBS. Selanjutnya oosit dipindah ke dalam larutan PBS. Oosit dimasukkan ke dalam eppendorf yang sudah berisi PBS mengandung EDTA dan Tween 100 dan divortek, kemudian disentrifus dengan kecepatan 6000 rpm 4⁰C selama 30 menit. Supernatan ditampung sebagai fraksi protein oosit (fpO) selanjutnya ditambah 20 mM Tris-Cl 200 µl. dan disimpan dalam freezer suhu -10⁰C dan siap digunakan sebagai bahan isolat fpO (Sumitro, 1994 ; Scopes, 1987 ; Robyt and White, 1987).

g. Analisa Fraksi Protein Oosit (fpO)

g.1. Penentuan Kadar Fraksi Protein Oosit (fpO) dari beberapa variasi ukuran folikel

Penentuan kadar fraksi oosit (fpO) dilakukan dengan Biuret dengan tahapan : penentuan panjang gelombang maksimum BSA, pembuatan kurva standar BSA dan pengukuran kadar protein sampel (Goers, 1993).

Penentuan panjang gelombang maksimum

Dua mL larutan standar BSA dengan konsentrasi 5000 rpm, diukur absorbansinya dengan spektronik 20 pada panjang gelombang antara 500 sampai 600 nm dengan kisaran 10 nm.

Pembuatan kurva standar BSA

Disiapkan 9 tabung masing-masing diisi dengan 2 mL larutan standar BSA dengan konsentrasi 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, dan 9000 ppm. Masing-masing ditambah 8 mL, reagen biuret kemudian dikocok dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Selanjutnya diukur serapannya dengan spektronik 20 pada panjang gelombang yang diperoleh dari prosedur penentuan panjang gelombang maksimum. Kemudian dibuat regresi linier sehingga diperoleh standar BSA.

Penentuan kadar protein sampel

Kadar protein sampel ditentukan dengan cara 2 mL, fraksi protein ditambah 8 mL reagen biuret, dokocok dan didiamkan selama

30 menit pada suhu ruang. Kemudian diukur serapannya dengan spektrometri pada panjang gelombang 560 nm. Sebagai blanko digunakan 2 ml akuades ditambah 8 ml reagen biuret, dikocok, didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang dan diukur serapannya. Konsentrasi sampel protein ditentukan dari perhitungan dengan persamaan regresi linier dari kurva standar BSA (Sumitro, 1994).

g.2. Penentuan Berat Molekul Fraksi Protein dengan SDS Page

Persiapan gel. Plat gel dibuat dengan merangkai dua buah plat kaca dengan jarak antara plat ± 1 mm. gel dibuat dua lapis yaitu gel sebagai tempat pengumpulan sampel (stacking gel) dan gel sebagai media untuk pemisahan protein (separating gel). Campuran separating gel dimasukkan hati-hati ke dalam plate (tempat lapisan gel) menggunakan mikropipet. Dibiarkan 10-30 menit hingga terbentuk gel. Berikutnya stacking dituang di atas separating gel sambil dipasang sisir hingga terbentuk gel berikut sumurannya. Didiamkan selama 30 menit. Setelah terbentuk gel, sisir diangkat dengan hati-hati. Selanjutnya plate dipasang pada alat elektroforesis, berikutnya buffer dituangkan pada bejana elektroforesis, berikutnya buffer dituangkan pada bejana elektroforesis (Sumitro, 1996).

Injeksi sampel. Delapan 8 μ l, fraksi protein oosit (fpO) ditambah 8 μ l RSB (Reducing Sample Buffer) dan dimasukkan ke dalam eppendorf, kemudian dipanaskan dalam penangas air pada suhu 100^o C selama 3 menit. Setelah didinginkan sampel dimasukkan dalam

sumur-sumur gel dengan volume 8 μ l, untuk tiap sumur. Protein standar dengan komposisi seperti pada tabel 1.3. diperlakukan sama dengan sampel. Setelah itu anoda dihubungkan pada reservoir bawah dan katoda dihubungkan pada reservoir atas. Power supply dihidupkan dengan arus listrik sebesar 30 mA. Proses pemisahan (running) dihentikan setelah warna biru dari penanda mencapai ketinggian \pm 0,5 cm dari batas bawah plate gel.

Pewarnaan dan pencucian gel. Pewarnaan dilakukan dengan merendam gel dalam larutan staining 30-60 menit. Penghitungan warna dilakukan dengan merendam gel dalam larutan destaining sambil digoyangkan dengan penggoyang otomatis sampai gel menjadi jernih. Kemudian hasil elektroforesis difoto.

Penentuan berat molekul. Dengan membandingkan hasil elektroforesis fraksi protein dengan marker protein. Penentuan berat molekul dilakukan dengan menghitung nilai Rf (Retardation factor) dari masing-masing pita dimana :

$$Rf = \frac{\text{Jarak pergerakan protein dari tempat awal}}{\text{Jarak pergerakan warna dari tempat awal}}$$

Kemudian dibuat kurva standar protein marker dengan harga Rf sebagai sumbu x dan harga logaritma berat molekul sebagai sumbu y. Berat molekul fraksi protein ditentukan dengan interpolasikan pada kurva standar (Goers and John, 1993).

h. Analisis data

Pengumpulan data dilakukan dalam lingkungan yang terkontrol dan terkendali dengan asumsi semua kondisi diusahakan sama. Data yang diperoleh dari tingkat kematangan embrio, viabilitas embrio, analisis fraksi protein dan anti fraksi protein diuji dengan anova, sedangkan untuk tingkat fertilisasi diuji dengan Khi Kwadrat (Steel and Torrie, 1991)

i. Jadwal penelitian

Kegiatan		Bulan ke					
		1	2	3	4	5	6
1.	Persiapan alat + bahan sampel						
2.	Kerja laboratorium :						
	- Koleksi oosit						
	- Maturasi oosit						
	- Tingkat kematangan						
	- Fertilisasi in vitro						
	- Kultur in vitro						
	- Isolasi dan karakterisasi fraksi protein oosit						
	Pembuatan laporan dan seminar						

7. ANGGARAN PENELITIAN

Jenis Pengeluaran	Rincian Anggaran Yang Diusulkan
Peralatan	Rp. 4.000.000
Bahan Aus (Material Penelitian)	Rp.20.750.000
Perjalanan	Rp. 1.000.000
Pemeliharaan	-
Pertemuan/Lokakarya/Seminar	Rp. 1.500.000
Laporan/Publikasi	Rp. 2.750.000
Lain-lain	-
Total Anggaran	Rp.30.000.000

8. PUSTAKA

Boediono, A, Suzuki, L. Y. li and R.A. Godke. 1999. Offspring Born From Chimeras Reconstructed From Parthenogenetic Bovine Embryos. *J.Reprod. Fertil. Dev.* 7: 1073-1079.

Crowther, J.R. 1995. *ELISA Theory and practice: Methods in Molecular Biology.* Vol.42. Humana Press Inc. New Jersey.

Goers, John, 1993, *Immunochemical Techniques Laboratory Manual*, Academic Press, USA, pp. 86, 174.

Goldsby, R.A, Thomas JK, Osborne B.A, 2000. *Kuby Immunology.* Fourth edition. W.H Freeman and Company. New York

Hagemann, L.I., S.E. Beaumont, M. Berg, M.J. Donnison, A. Ledgard, A. Peterson, A Schurman and H.R Donnison. 1992. Development during of bovine oocytes from dissected follicle, interactive effects of dissected xycle stage, follicle size and atresia. *J. Reprod. Dev.* (53) : 451 – 458.

Hyttel, P., 1. Fair, H. Callsen and 1. Greve. 1997. Oocytes Growth, Capacitation And Final Maturation In Cattle. *J. Theriogenology.* 47: 23-32.

Pawshe, C.H., A. Palanisamy, M. Taniju, S.K. Jain and S.M. Totey. 1996. Comparison Of Various Maturation Tretments On In vitro Maturation Of Good Oocytes And Their Early Embryonic Development And Cell Number. *J. Thenogenology.* 46: 971-982.

- Robyt, J.F and B.J White. 1987. *Biochemical Techniques Theory And Practice*. Brooks / Cole Publishing Company California. P : 141 – 150.
- Shamsudin, M., B. Larsson, H. Gustafsson and H. Rodrigues-Martines. 1993. *In vitro Development Up To Hatching Of Bovine In vitro Matured And Fertilized Oocytes With Or Without Support From Somatic Cells*. *J. Thenogenology*. 39 : 1067-1079.
- Scope R.K. 1987. *Protein Purification : Priciples and practice*. 2nd Ed. Springer Verlog. New York.
- Sumitro S.B. 1994. *Kursur Teknik-Teknik dasar Analisa Protein dan DNA*. Jurusan Biologi. FMIPA. Unibraw Malang. P : 35-48.
- Van Blerkom, J., H. Bell and D. Weipz. 1990. *Cullular And Developmental Biological Aspects Of Bovine Meotic Maturation. Fertilization, And Preimplantation Embryogenesis In vitro*. *J. Electron Microsc Technique* 16: 298-323
- Widjiati dan Rimayanti. 2001. *Seleksi Ukuran Folikel terhadap profil transformasi kromosom oosit kambing pada proses maturasi in vitro*. *Media Kedokteran Hewan* (18) : 79-85.
- Widjiati dan Rimayanti. 2002. *Seleksi folikel terhadap profil Transformasi kromosom oosit kambing pada proses maturasi in vitro*. *Media Kedokteran Hewan*.

LAMPIRAN**1. Justifikasi Anggaran****1.1. Anggaran Untuk Komponen Peralatan**

No.	Peralatan	Kegunaan	Satuan	Total
1.	Pipet Pasteur	Koleksi oosit	100 biji	Rp. 700.000
2.	Cawan petri disposable	Kultur	1 boks	Rp. 800.000
3.	Ependrof	Penunjang pembuatan drof kultur		Rp. 350.000
4.	Mikro filter	Sterilisasi media	50 biji	Rp. 1.000.000
5.	Spuit disposable 5 ml, 10 ml	Koleksi oosit	1 boks	Rp. 200.000
6.	Peralatan bedah mikro	Koleksi oosit		Rp. 150.000
7.	Tube dialisis	Isolasi fraksi protein	1 boks	Rp. 800.000
Jumlah				Rp. 4.000.000

1.2. Anggaran untuk bahan aus (material penelitian)

No	Bahan Habis Pakai	Kegunaan		jumlah
1	Ovarium kambing	Sumberoosit	1000 ps	Rp. 1.000.000
2	Amomonium sulfat	Pemurnian	500 cc	Rp. 250.000
3	KH ₂ PO ₄	Pemurnian	100 gr	Rp. 300.000
4	Natrium cetrat	Isolasi/produksi	100 gr	Rp. 300.000
5	NaH ₂ PO ₄	Blastosis	100 gr	Rp. 400.000
6	Acrylamid	Isolasi protein	100 gr	Rp. 700.000
7	Anti Rat Ig G AP	Karakterisasi	1 boks	Rp. 4.500.000
8	P-NPP	Karakterisasi	-	Rp. 700.000
9	Enzim hialoronidase	Isolasi protein	1 0 gr	Rp. 2.000.000
10	Commase blue	Karakterisasi	100 gr	Rp. 800.000
11	Sephadex G 75	Karakterisasi		Rp. 2.000.000
12	Buffer Tris Gliserin	Fiksasi medium	500 cc	Rp. 500.000
13	Protein standar	Fiksasi medium	10 gr	Rp. 1.500.000
14	Membran nitroselulosa	Karakterisasi	1 pak	Rp. 2.000.000
15	APS	Karakterisasi		Rp. 300.000
16	Aquadest nanopore	Analisa	1 lt	Rp. 200.000
17	Medium TCM 199	Medium kultur	1 boks	Rp. 800.000
18	Mineral oil	Fiksasi medium	500 cc	Rp. 400.000
19	Medium PBS	Medium pencucian	1 lt	Rp. 400.000
20	Bovine serum albumin	Kultur, sumber energi	5 gr	Rp. 1.000.000
21	Bisacrylamin	Karakterisasi	5 gr	Rp. 450.000
22	Semen segar	Donor spermatozoa	5 cc	Rp. 100.000
23	Aceto orcein	Pewarnaan	1 gr	Rp. 150.000
Jumlah				Rp. 20.750.000

1.3. Anggaran Untuk Perjalanan

No.	Perjalanan	Tujuan	Jumlah (Rp.)
1.	Pegirian – laboratorium 10 kali @ Rp. 50.000,-	Pengambilan oosit	Rp. 500.000
2.	Gresik – laboratorium 5 kali @ Rp. 100.000	Pengambilan semen	Rp. 500.000
Jumlah			Rp. 1.000.000

1.4. Anggaran untuk pertemuan / lokakarya / seminar

No.	Uraian	Kegunaan	Satuan	Jumlah (Rp.)
1.	Analisis data	Evaluasi hasil	-	Rp. 300.000
2.	Diskusi/lokakarya/ seminar	Membahas hasil penelitian	-	Rp. 1.200.000
Jumlah				Rp.1.500.000

1.5. Anggaran laporan / publikasi

No.	Uraian	Kegunaan	Satuan	Jumlah (Rp.)
1.	Film + cuci cetak	Dokumentasi hasil	3 rol	Rp. 450.000
2.	Pembuatan slide	Dokumentasi hasil	3 rol	Rp. 600.000
3.	Publikasi journal	Publikasi ilmiah		Rp. 1.000.000
4.	Penggandaan laporan	Pembuatan laporan		Rp. 700.000
Jumlah				Rp. 2.750.000

1.6. Anggaran lain-lain

No.	Uraian	Kegunaan	Satuan	Jumlah (Rp.)
1.	Alat tulis	Administrasi	-	Rp. 500.000
Jumlah				Rp. 500.000

Lampiran 2

DUKUNGAN TERHADAP PELAKSANAAN PENELITIAN

Tidak ada

Lampiran 3

SARANA DAN PRASARANA

3.1. Laboratorium

No.	Nama Laboratorium	Jenis pekerjaan	Kemampuan
1.	Lab. Fertilisasi <i>in vitro</i> FKH Unair	Uji maturasi, Fertilisasi, Kultur <i>in vitro</i>	Memadai
2.	Lab. Biologi Molekuler FKH Unair	Isolasi daun karakterisasi protein	Memadai
3.	RPH Pegirian Surabaya	Pengambilan ovarium	Memadai

3.2. Peralatan utama yang tersedia

No.	Nama alat	Lokasi	Kegunaan	Kemampuan
1.	Mikroskop inverted	Lab. Fertilisasi <i>in vitro</i> FKH Unair	Pengamatan hasil	Memadai
2.	Mikroskop stereo	Lab. Fertilisasi <i>in vitro</i> FKH	Koleksi oosit	Memadai
3.	Inkubator CO ₂	Lab. Fertilisasi <i>in vitro</i> FKH	Melakukan kultur	Memadai
4.	Laminar flow	Lab. Fertilisasi <i>in vitro</i> FKH	Koleksi oosit	Memadai
5.	Oven	Lab. Fertilisasi <i>in vitro</i> FKH	Sterilisasi peralatan	Memadai
6.	Autoclave	Lab. Fertilisasi <i>in vitro</i> FKH	Sterilisasi peralatan	Memadai
7.	Timbangan analitik	Lab. Fertilisasi <i>in vitro</i> FKH	Menimbang bahan-bahan	Memadai
8.	Elektroforesis	Lab. Biologi molekuler FKH Unair	Isolasi protein	Memadai

CURRICULUM VITAE

1. **Nama Lengkap** : Widjiati, MSi, Drh.
2. **Tempat dan Tanggal Lahir** : Surabaya, 15 September 1962
3. **Pangkat / Golongan / NIP** : Penata / III C / 131877882
4. **Jabatan Sekarang** : Lektor
5. **Kesatuan / Perguruan Tinggi** : Universitas Airlangga
6. **Alamat Kantor** : FKH Kampus C Unair, Mulyorejo,
Surabaya 60115
Telp. (031) 5993016, 5992785
E-mail : vetunair@sby.centin.net.id.

7. Riwayat Pendidikan (dalam dan luar negeri)

No.	Macam Pendidikan	Tempat	Tahun		Bidang Spesialis	Titel/Ijasa
			Dari	Sampai		
1	Strata 1	FKH Unair	1981	1987	Kedokteran Hewan	Ijasah
2	Strata 2	IPB-Bogor	1994	1997	Biologi Reproduksi	Ijasah

8. Pengalaman Penelitian

No.	Tahun	Judul Penelitian	Biaya / Sponsor	Keterangan
1	2001	Viabilitas oosit sapi setelah proses vitrifikasi dengan krioprotektan etilin glicol.	Dik Rutin	Anggota
2	2001	Seleksi ukuran folikel terhadap profil transformasi kromosom oosit kambing pada proses maturasi <i>in vitro</i>	Dik Rutin	Ketua
3	2000	Pengaruh ekstrak n-butanol Gandarusa Vulgaris Nees terhadap penetrasi spermatozoa dalam proses fertilisasi <i>in vitro</i>	OPF	Anggota
4	2000	Hambatan hesperitin <i>in vitro</i> dan <i>in vivo</i> terhadap penetrasi spermatozoa dalam proses fertilisasi <i>in vitro</i>	Iptek Dok	Anggota

No.	Tahun	Judul Penelitian	Biaya / Sponsor	Keterangan
5	2000	Pengaruh hesperitin terhadap kultur <i>in vitro</i> embrio mencit	OPF	Ketua
6	1999	Pengaruh ekstrak diklormetan Gandarusa Vulgaris Nees terhadap proses spermatogenesis mencit	SPP / DPP	Anggota
7	1999	Pengaruh ekstrak diklormetan Gandarusa Vulgaris Nees terhadap gambaran histopatologi organ hati dan ginjal mencit	Iptek Dok	Anggota
8	1999	Efek inhibitor fraksi diklormetan dan metanol dari <i>Justicia Gandarusa</i> Burm. F. terhadap enzim hialuronidase mencit	Iptek Dok	Anggota
9	1999	Uji toksisitas daun Gandarusa Vulgaris Nees terhadap gambaran darah dan histopatologi hati, ginjal, dan usus mencit jantan.	DP3M	Anggota
10	1998	Penggunaan sel-sel granulosa pada kultur <i>in vitro</i> embrio mencit tahap satu sel	DIP/OPF	Ketua
11	1997	Pengaruh <i>Gandarusa vulgaris</i> Nees terhadap kultur <i>in vitro</i> embrio mencit	SPP/DIP	Ketua
12	1997	Pengaruh hesperidin sebagai inhibitor enzim hialuronidase spermatozoa mencit pada pencegahan fertilisasi <i>in vitro</i>	Iptek dok	Anggota
13	1996	Kultur <i>in vitro</i> Embrio mencit dalam Brinster	DIP/OPF	Ketua
14	1996	Pengaruh fosfat, glukosa dan kombinasinya dalam medium kultur <i>in vitro</i> terhadap perkembangan embrio mencit	Tesis	Ketua
15	1994	Efek teratogenik alkil benzene sulfonate pada tikus putih	DIP/OPF	Ketua
16	1995	Pengaruh air kali Surabaya terhadap efek teratogenik dan gambaran histopatologi hati dan ginjal tikus putih	DIP/OPF	Ketua

9. Daftar Publikasi

1. Purnomo, B. dan **Widjiati**. 1992. Peningkatan produksi mudigah paruh melalui metode manipulasi mikro. *Media Kedokteran Hewan*.
2. Ajik,A., M.Moenif. R.Darsono, Arimbi dan **Widjiati**. 1994. Pengaruh limbah pabrik kertas terhadap efek teratogenik dan hitopatologi hati dan ginjal mencit. *Media Kedokteran Hewan*.
3. Mafruchati, M. dan **Widjiati**. 1996. Kultur *In vitro* Embrio Mencit dalam Medium Brinster. *Biomorfo*.
4. Prajogo, B., A. Hinting, L. Hamdani dan **Widjiati**. 1997. Pengaruh hespirdin sebagai inhibitor enzim hialuronidase spermatozoa mencit pada pencegahan fertilisasi *in vitro*. *Perhiba*.
5. Luqman, E.M., **Widjiati**, M. Mafruchati, B. Poernomo dan H.A. Hermadi. 1997. pengaruh pemberian Prostaglandin F2 alfa dan Prostaglandin E1 terhadap fertilitas spermatozoa mencit jantan. *Media Kedokteran Hewan*.
6. **Widjiati**, Y.Sukra, B. Purwantara dan I.Djuwita. 1997. Pengaruh glukosa dalam medium kultur *in vitro* terhadap perkembangan embrio mencit. *Media Kedokteran Hewan*.
7. **Widjiati**, M. Mafruchati, B. Purnomo, E. Luqman dan H. A. Hermadi. 1998. Penggunaan sel-sel granulosa pada kultur *in vitro* embrio mencit tahap satu sel. *Media Kedokteran Hewan*.
8. **Widjiati**, B. Prajogo, dan H. A. Hermadi. 1998. Pengaruh gandarussa vulgaris ness terhadap kultur *in vitro* embrio mencit. Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia, Malang.
9. **Widjiati**, E.S. Pangesto dan Budiarto. 1998. Peran fosfat dalam medium kultur *in vitro* terhadap perkembangan embrio tahap preimplantasi. *Media Kedokteran Hewan*.
10. **Widjiati**, B.Prajogo dan E.M.Luqman. 2000. Uji toksisitas daun Gandarussa vulgaris Nees terhadap gambaran darah dan histopatologi hati, ginjal dan usus mencit jantan. *Jurnal Penelitian Universitas Airlangga*.

Surabaya, 13 Maret 2003



(Drh. Widjiati M.Si)
NIP. 131 887 882

Lampiran 4

RIWAYAT HIDUP

1. Nama Lengkap : Prof.Dr. Ismudiono,MS.,Drh.
 2. Tgl.Lahir/jenis kelamin/agama : 16 Mei 1952/Pria/Islam
 3. Alamat (Bagian, Fakultas dll) : Lab. Fisiologi Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Unair
 Kampus C, Jl.. Mulyorejo Surabaya 60115
 Telp. (031) 5993016, 5992785;
 Fax. (031) 5993015
 e-mail : vetunair @sby.centrin.net.id.
 4. Alamat Rumah : Jl. Semolowaru Tengah VII/32 Surabaya
 Telp. (031) 5939951, Fax.(031) 5995048
 5. Pangkat/Golongan/NIP : Pembina Tingkat. I / IV-b / 130 687 297
 6. Jabatan Pokok : Lektor Kepala Madya
 7. Kesatuan/Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

Riwayat Pendidikan

No	Nama Pendidikan	Tempat	Tahun		Bidang Spesialis	Titel/ Ijazah/ Diploma
			Dari	Sampai		
1.	Fak. Kedokt. Hewan	UNAIR	1972	1978	Dokter Hewan	S1
2.	Program Pascasarjana	IPB	1980	1982	Reproduksi Hewan	S2
3.	Program Doktorat	IPB	1982	1988	Reproduksi Hewan	S3

9. Pengalaman Penelitian

NO	TAHUN	JUDUL PENELITIAN	SUMBER BIAYA	KETERANGAN
1.	1993	Pengaruh Pemberian Hormon LH Pascainseminasi Terhadap Persentase Kebuntingan pada Sapi Perah Dara	OPF	Anggota
2.	1995	Pembekuan Embrio Sapi Perah dengan Menggunakan Metoda Vitrifikasi	DP3M	Ketua peneliti
3.	1996	Transfer Embrio Sapi Perah dengan Menggunakan Embrio Sapi Potong Sebagai Resipien.	DP3M	Ketua peneliti
4.	1997	Kombinasi Inseminasi Buatan dan	BBI	Ketua peneliti

Transfer Embrio pada Sapi Perah.				
5.	1998	Penambahan Serum Sapi Ovulasi dalam TCM199 Sebagai Media Kultur Demi-Embrio Sapi Perah Fase Morula	DIK Suplemen	Anggota
6.	1999	Upaya meningkatkan angka Kebuntingan Melalui Inseminasi ganda dalam Program Penyerentakan Birahi pada Sapi perah.	DP3M	Ketua Peneliti
7.	2000	Vitrifikasi Sebagai Alternatif Cara Penyimpanan Ejakulat Sapi Perah	DIK. Rutin	Ketua Peneliti
8.	2001	Penyinaran dengan Sinar Ultra Violet pada Semen Beku Sapi Perah setelah Thawing Sebagai Upaya Pemisahan Kromosom Seks X dan Y	Dik Suplemen	Ketua Peneliti
9.	2001	Perbedaan Tingkat Perkembangan Embrio Paruh Sapi Perah Yang Dibiakkan dalam Media M16 dan TC199	Litnud	Anggota

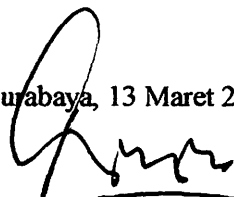
Kegiatan Kursus/Pelatihan

- Tim transfer embrio Jawa Timur (tahun 1990- 1996)
- Staf pengajar kursus inseminasi buatan, PKB, ATR Dinas Peternakan Daerah Tingkat I Jawa Timur (tahun 1990 - sekarang)
- Tim pemberantasan Kemajiran Nasional (tahun 1988 - 1992)

Kegiatan Seminar/Simposium

- Simposium Bioteknologi di Cisarua Bogor, 1998
- Seminar Sehari Peranan Kesehatan Masyarakat Veteriner dalam Menunjang Optimalisasi Produk Pangan asal Hewan. Forkom KesMavet Indonesia, Surabaya, 2000
- Lokakarya Kurikulum Nasional Pendidikan Tinggi Kedokteran se-Indonesia, FKH Unair, 2000
- Lokakarya Kurikulum 2000, FKH Unair, Lawang, 1999

Surabaya, 13 Maret 2003



Prof. Dr. Ismudiono, M.S., Drh
NIP 130687297

CURRICULUM VITAE

1. **Nama Lengkap** : Tatik Hernawati, MSi, Drh.
 2. **Tempat dan Tanggal Lahir** : Surabaya, 10 Februari 1958
 3. **Pangkat / Golongan / NIP** : Penata Tk I / III D / 131 653 459
 4. **Jabatan Sekarang** : Lektor
 5. **Kesatuan / Perguruan Tinggi** : Universitas Airlangga
 6. **Alamat Kantor** : FKH Kampus C Unair, Mulyorejo,
 Surabaya 60115
 Telp. (031) 5993016, 5992785
 E-mail : vetunair@sby.centin.net.id.

7. Riwayat Pendidikan

(dalam dan luar negeri)

No.	Macam Pendidikan	Tempat	Tahun		Bidang Spesialis	Titel/Ijasah
			Dari	Sampai		
1	Strata 1	FKH Unair	1978	1988	Kedokteran Hewan	Ijasah
2	Strata 2	Unair	1995	1997	Biologi Reproduksi	Ijasah


8. Pengalaman Penelitian

No.	Tahun	Judul Penelitian	Biaya / Sponsor	Keterangan
1	1995	Daya fertilisasi spermatozoa ayam dalam pengencer sari buah pisang sitrat terhadap telur ayam buras	OPF	Ketua
2	1996	Keberhasilan inseminasi buatan pada kambing dengan penggunaan cairan mukosa serviks dari limbah alat kelamin yang di potong dari RPH Pegirian Surabaya	OPF	Ketua
3	1999	Pengaruh heparin dalam media kapasitasi terhadap persentase hidup, motilitas spermatozoa dan pembelahan embrio pada pembuahan <i>in vitro</i> sapi perah	Dosen Muda	Ketua
4	2000	Peranan kombinasi heparin hipotaurin dalam media kapasitasi terhadap persentase hidup, motilitas spermatozoa dan pembelahan embrio pada pembuahan <i>in vitro</i> sapi perah	OPF	Anggota

9. Daftar Publikasi

1. Pengaruh pemberian berbagai variasi dosis superovulasi hormon PMSG dan HCG terhadap jumlah embrio marmot. Media Kedokteran Hewan. 1995.
2. Pengaruh pemberian hormon MPA (Medroxy Progesteron Asetat) intra vagina sponges terhadap birahi dan ovulasi kambing kacang. Majalah Kedokteran Hewan. 1996.

Surabaya, 13 Maret 2003



(Tatik Hernawati, MSi, Drh.)

NIP. 131 653 459

Lampiran 5. NAMA MAHASISWA DAN JUDUL SKRIPSI YANG AKAN DITELITI

NO.	N A M A	N I M	JUDUL SKRIPSI
1.	Sri Endah Pusporini	069912630	Profil Transformasi Kromosom Oosit dari berbagai Ukuran Folikel pada Proses maturasi In Vitro
2.	Anton Paraitody	069912700	Tingkat maturasi In vitro Oosit Domba dari Berbagai Ukuran Folikel
3.	Rina Pujiastuti	069912629	Tingkat Fertilisasi Invitro Oosit Domba dari berbagai Ukuran Folikel dan Gambaran Morfologi Sigot
4.	Kurnia Candra W.	069912696	Seleksi Diameter Folikel Domba Terhadap Perkembangan Embrio In vitro Tahap Blastosis