



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

**TINGKAT FERTILISASI IN VITRO MENGGUNAKAN SEMEN BEKU
DARI BALAI ISEMINASI BUATAN (BIB) SINGOSARI, TUAH
SAKATO DAN LEMBANG**

SKRIPSI



**ZOLA ASYUNI
07161018**

**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG 2011**

**TINGKAT FERTILISASI *IN VITRO* MENGGUNAKAN SEMEN BEKU
DARI BALAI INSEMINASI BUATAN (BIB) SINGOSARI,
TUAH SAKATO DAN LEMBANG**

Zola Asyuni, di bawah bimbingan
Prof. Dr. Ir. Zaituni Udin, M.Sc. dan Dr. Ir. Jaswandi, MS
Jurusan Produksi Ternak Fakultas Peternakan
Universitas Andalas Padang 2011

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui persentase fertilisasi *in vitro* oosit sapi dan persentase embrio *cleavage* menggunakan semen beku dari tiga sumber Balai Inseminasi Buatan (BIB) Singosari, Buah Sakato dan Lembang.

Oosit yang digunakan diperoleh dari ovarium sapi yang dipotong di Rumah Potong Hewan (RPH) Payakumbuh. Oosit dimatangkan dalam Tissue Culture Medium-199 (TCM-199) selama 24 jam, pada suhu 38.5°C menggunakan inkubator CO₂ 5%. Fertilisasi *in vitro* dilakukan dalam media TALP menggunakan semen beku sapi bangsa Simental dari BIBD Buah Sakato, BIB Singosari dan BIB Lembang selama 24 jam. Embrio di kultur dalam TCM-199 disuplementasi dengan 10% serum dan gentamicin 10µl/ml tanpa FSH, penggantian medium setiap 48 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase fertilisasi oosit sapi dari tiga sumber BIB terdapat perbedaan yang sangat nyata ($P < 0.01$). Persentase tertinggi perkembangan embrio *cleavage* dari tahap 2 sel, 4 sel dan 8 sel hasil *in vitro* terdapat pada BIB Singosari dengan persentase 2 sel (33.6%), 4 sel (18.66%) dan 8 sel (11%).

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan bahwa penggunaan semen beku dari tiga sumber BIB, persentase fertilisasi dan embrio *cleavage* tertinggi didapatkan pada semen beku dari BIB Singosari.

Kata kunci: *in vitro*, oosit sapi, semen beku, *cleavage*



KATA PENGANTAR

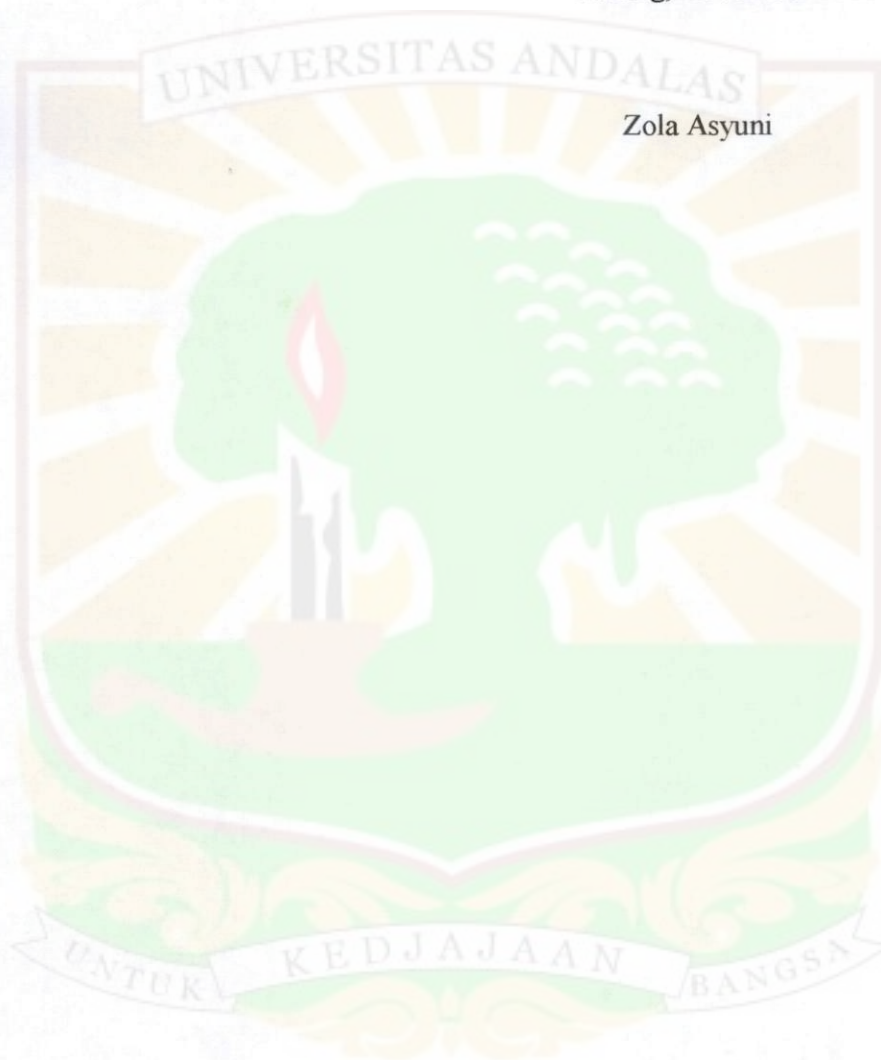
Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul “ Tingkat fertilisasi *in vitro* Menggunakan Semen Beku Dari Balai Inseminasi Buatan (BIB) Singosari, Tuah Sakato dan Lembang”. Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan studi sarjana pada Fakultas Peternakan Universitas Andalas Padang.

Dengan segala ketulusan penulis ucapkan terima kasih kepada Ibu Prof. Dr. Ir. Zaituni Udin, M.Sc selaku pembimbing I (satu) dan Bapak Dr. Ir. H. Jaswandi, MS selaku pembimbing II (dua) yang telah memberikan pengarahan, bimbingan dan informasi yang sangat berharga dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini, kepada Bapak Prof. Dr. Ir. H. Suardi MS, MS, Ibu Prof. Dr. Ir. Hj. Zesfin BP, MS dan Bapak Dr. Ir. Sarbaini anwar, M.Sc selaku penguji yang telah memberikan masukan, kritik dan saran dalam penyelesaian skripsi ini.

Kepada Ayahanda Asnawir, M dan Ibunda Yusna beserta seluruh keluarga besar yang tercinta yang tiada henti-hentinya memberikan semangat, motivasi dukungan moral maupun materil dalam penyelesaian skripsi ini, selanjutnya terima kasih Ibu Ir. Hj. Tinda Afriani, MP yang telah memberikan dorongan, semangat dan perhatiannya sehingga penelitian ini dapat diselesaikan, terakhir pada teman-teman dan semua pihak yang telah membantu dan memberikan dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan-kekurangan, untuk itu kritik dan saran dari semua pihak sangat di harapkan demi kesempurnaannya.

Padang, November 2011



DAFTAR ISI

	<u>Halaman</u>
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
E. Hipotesis penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Organ Reproduksi Sapi Jantan Sebagai Penghasil semen..	4
B. Kualitas Semen	5
C. Semen Beku	6
D. Organ Reproduksi Sapi Betina	7
E. Perkembangan Oosit	8
F. Koleksi dan Evaluasi Oosit	10
G. Pematangan Oosit In Vitro	12
H. Kapasitas Spermatozoa	14
I. Fertlisasi <i>In Vitro</i>	15

III. MATERI DAN METODA PENELITIAN	17
A. Materi Penelitian.....	17
B. Metode Penelitian	17
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	23
A. Tingkat fertilisasi oosit sapi pada masing-masing Perlakuan berdasarkan pembentukan polar bodi II dan zygote (ovum yang dibuahi) secara <i>in vitro</i>	23
B. Persentase perkembangan embrio cleavage(membelah) dari tahap 2 sel, 4 sel dan sampai 8 sel hasil fertilisasi <i>in vitro</i>	28
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	32
A. Kesimpulan.....	32
B. Saran.....	32
DAFTAR PUSTAKA.....	33
LAMPIRAN.....	37
RIWAYAT HIDUP.....	57



DAFTAR TABEL

Tabel	Teks	Halaman
1.	Analisis Keragaman Rancangan Acak Kelompok (RAK)	18
2.	Persentase fertilisasi <i>in vitro</i> oosit sapi dari tiga sumber semen beku.....	23
3.	Persentase embrio cleavage hasil fertilisasi <i>in vitro</i> dari tahap 2 sel, 4 sel dan 8 sel.....	29



DAFTAR GAMBAR

Tabel	Teks	Halaman
1.	Oosit yang mempunyai kualitas A dan B.....	11
2.	Oosit dengan dua polar bodi (terfertilisasi).....	27
3.	Perkembangan embrio sapi tahap 2 sel, 4 sel dan 8 sel hasil fertilisasi <i>in vitro</i> dari.....	31



DAFTAR LAMPIRAN

Tabel	Teks	Halaman
1.	Komposisi Media Koleksi (PBS).....	37
2.	Komposisi Media Pematangan TCM-199.....	38
3.	Komposisi Media Fertilisasi (TALP).....	39
4.	Persentase fertilisasi oosit menggunakan semen beku BIB.....	40
5.	Analisis Statistik Rancangan Acak Kelompok (RAK) Dan Uji Lanjut Duncan's Multiple Range Test (DMRT) Persentase Fertilisasi Oosit Sapi dalam Berbagai Perlakuan.....	41
6.	Analisis Statistik Rancangan Acak Kelompok (RAK) Dan Uji Lanjut Duncan's Multiple Range Test (DMRT) Persentase embrio cleavage dari 2 sel.....	44
7.	Analisis Statistik Rancangan Acak Kelompok (RAK) Dan Uji Lanjut Duncan's Multiple Range Test (DMRT) Persentase embrio cleavage dari 4 sel.....	47
8.	Analisis Statistik Rancangan Acak Kelompok (RAK) Dan Uji Lanjut Duncan's Multiple Range Test (DMRT) Persentase embrio cleavage dari 8 sel.....	50
9.	Persentase embrio cleavage dari 2 sel 4 sel dan 8 sel.....	53
10.	Analisis Statistik Rancangan Acak Kelompok (RAK) Dan Uji Lanjut Duncan's Multiple Range Test (DMRT) Persentase Motilitas Spermatozoa dari Masing-Masing Semen Beku.....	54

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Krisis ekonomi yang melanda Indonesia pada tahun 1997 menyebabkan impor sapi terhenti dan terjadi peningkatan pemotongan sapi lokal, termasuk sapi betina produktif. Sebagai akibatnya dalam waktu singkat persediaan ternak di dalam negeri semakin menipis dan Indonesia akan tergantung pada produk ternak dari luar negeri. Salah satu usaha yang dilakukan untuk pemenuhan kebutuhan protein hewani adalah meningkatkan populasi dan produksi sapi potong.

Penelitian dan pengembangan dalam bidang bioteknologi reproduksi yang bertujuan untuk meningkatkan populasi dan mutu genetik ternak kini menjadi salah satu prioritas utama dalam pembangunan peternakan Indonesia. Belakangan ini telah dikembangkan teknologi Inseminasi Buatan (IB), transfer embrio dan fertilisasi *in vitro* (FIV). Transfer embrio dan fertilisasi *in vitro* dapat menghasilkan anak sapi dalam jumlah banyak dibandingkan dengan perkawinan secara alami, bahkan dengan fertilisasi *in vitro* seekor betina yang sudah mati masih dapat menghasilkan embrio.

Dalam melaksanakan Inseminasi Buatan (IB), transfer embrio dan fertilisasi *in vitro* membutuhkan semen sebagai faktor penentu agar terjadinya fertilisasi (pembuahan) untuk menghasilkan individu baru. Semen yang digunakan dapat berupa semen cair, semen epididimis atau semen beku. Semen beku adalah semen yang berasal dari pejantan terpilih yang diencerkan sesuai prosedur, dibekukan dan disimpan pada suhu -196°C . Sebenarnya pengetahuan tentang pengawetan semen dan pembekuan semen telah dicatat sejak penemuan oleh fisiolog Italia terkenal, Lazaro

Spallanzani, pada tahun 1803. Pembekuan disini dimaksud untuk menyimpan spermatozoa dalam jangka waktu lama, untuk mempermudah distribusi spermatozoa sapi dari pejantan-pejantan unggul tanpa terhalang oleh perbedaan waktu dan lokasi.

Untuk memperoleh semen beku yang berkualitas baik dan layak digunakan, maka dalam proses pembuatannya ditambahkan beberapa zat untuk mempertahankan dan sebagai sumber nutrisi bagi spermatozoa selama pembekuan. Semen beku yang beredar di daerah Sumatera Barat berasal dari beberapa Balai Inseminasi Buatan (BIB) seperti Buah Sakato, Lembang, Singosari. Asumsi masyarakat tentang kualitas semen beku dari ketiga Balai Inseminasi Buatan (BIB) tersebut berbeda-beda karena semen beku yang digunakan untuk kegiatan Inseminasi Buatan masih dihadapkan pada masalah yang dihadapi dilapangan, yaitu hasil Inseminasi Buatan dari semen beku yang digunakan kurang memuaskan, sehingga banyak dari ternak yang diiseminasi tidak berhasil dan semua penyebab itu belum diketahui secara jelas. Salah satu pengujian dari kualitas semen beku tersebut dapat dilakukan dengan fertilisasi *in vitro*.

Fertilisasi *in vitro* (FIV) merupakan gabungan dua gamet, restorasi jumlah kromosom somatik dan mengawali pertumbuhan individu baru (Gordon, 1994). Fertilisasi *in vitro* ini terdiri dari koleksi oosit, pematangan, fertilisasi dan kultur embrio. Teknologi fertilisasi secara *in vitro* (FIV) pada ternak, khususnya sapi merupakan salah satu usaha memanfaatkan limbah ovarium dari induk sapi betina yang dipotong di Rumah Potong Hewan. FIV ini diharapkan dapat memproduksi embrio sapi dalam jumlah banyak untuk dititipkan pada induk resipien, sehingga dapat

diperoleh ternak dalam jumlah banyak untuk meningkatkan populasi ternak di Indonesia.

Berdasarkan uraian diatas mendorong penulis untuk melakukan penelitian yang berjudul “ **Tingkat Fertilisasi *In Vitro* Menggunakan Semen Beku Dari Balai Inseminasi Buatan (BIB) Singosari, Tuah Sakato Dan Lembang**”

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu apakah terdapat perbedaan tingkat fertilisasi *in vitro* pada semen beku dari Balai Inseminasi Buatan (BIB) Singosari, Tuah Sakato Dan Lembang.

C. Tujuan Penelitian

1. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat fertilisasi *in vitro* menggunakan semen beku dari Balai Inseminasi Buatan (BIB) Singosari, Tuah Sakato Dan Lembang.
2. Untuk mendapatkan semen beku yang baik dalam fertilisasi *in vitro*.

D. Manfaat Penelitian

Untuk meningkatkan efisiensi produksi embrio *in vitro* pada sapi dan sebagai sumber informasi ilmiah mengenai semen beku yang terbaik untuk fertilisasi *in vitro*.

E. Hipotesis penelitian

Terdapat perbedaan tingkat fertilisasi *in vitro* semen beku dari Balai Inseminasi Buatan (BIB) Singosari, Tuah Sakato Dan Lembang.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Organ Reproduksi Sapi Jantan Sebagai Penghasil Semen

Secara anatomi, alat kelamin jantan dapat dibagi menjadi tiga bagian besar yaitu : (a) Gonad atau testes (kelenjer benih) merupakan bagian alat kelamin yang utama. (b) Saluran-saluran reproduksi terdiri atas: *epididymis*, *vasdeverens* dan *urethra*; sedangkan kelenjer-kelenjer mani terdiri atas: kelenjer vesikularis, kelenjer prostat dan kelenjer bulbouretralis atau kelenjer couper. (c) Alat kelamin bagian luar yaitu penis dan merupakan alat kopulasi penyalur mani dan *urine* dan alat pelindung yang terdiri dari skrotum dan preputium. Organ kelamin primer berjumlah dua buah pada ternak mamalia secara normal terdapat di luar kantong skrotum dan pada keadaan normal kedua testes adalah sama besar, mempunyai konsistensi ketat tetapi tidak keras dan dapat dengan bebas bergerak ke atas dan ke bawah di dalam skrotum (Toelihere, 1985).

Testes membentuk bulat panjang dengan sumbu memanjangnya ke arah vertikal, berat testes sapi kira-kira 500 gr tergantung spesies, umur dan kondisi makanannya (Taurin, *et al*, 2000). Testes mempunyai dua fungsi penting untuk menghasilkan spermatozoa dan hormon-hormon jantan androgen (Partodihardjo, 1992). Spermatozoa dihasilkan dalam testes yaitu di dalam *tubuli seminiferi* melalui proses spermatogonia yang terdiri dari dua fase utama yaitu: (a) Fase perkembangan awal sel spermatogonia secara pembelahan mitosis dari jumlah sel menjadi dua kali (*fase spermatocytogenesis*). (b) Fase spermiogenesis yaitu spermatid mengalami

metamorphosis dan berubah bentuknya dan menghasilkan spermatozoa sempurna (Salisbury dan VanDemark, 1985).

B. Kualitas Semen

Untuk keberhasilan perkawinan atau IB, semen harus diproduksi dalam jumlah dan kualitas yang tinggi. Pemeriksaan dan evaluasi meliputi keadaan umum semen, volume, konsentrasi dan motilitas atau daya geraknya. Observasi ini perlu untuk penentuan kualitas semen dan daya reproduksi pejantan (Toelihere, 1993).

Salisbury dan VanDemark (1985), menyatakan bahwa kriteria mengenai penilaian semen bertujuan untuk mendapatkan suatu cara pendugaan tidak langsung mengenai potensi semen untuk memperlihatkan fungsi fertilisasinya.

Pemeriksaan dan evaluasi semen penting dilakukan untuk menentukan kualitas semen dan daya reproduksi pejantan, khususnya untuk menentukan kadar pengencer, karakteristik semen dapat digunakan sebagai indikator dari fertilitas (Toelihere, 1985). Berdasarkan gerakan individual, dilakukan penilaian sebagai berikut: 0. Spermatozoa immotil atau tidak bergerak, 1. Gerak berputar ditempat, 2. Gerak berayun atau melingkar, kurang dari 50 bergerak progresif atau tidak ada gelombang, 3. Antara 50 sampai 80% spermatozoa bergerak progresif dan menghasilkan gerakan massa, 4. Pergerakan progresif gesit dan segera membentuk gelombang dengan 90% sel spermatozoa motil, 5. Gerakan sangat progresif, gelombang sangat cepat bergerak, 100% motil aktif (Toelihere, 1985).

Sedangkan penilaian gerakan massa, kualitas semen dapat ditentukan sebagai berikut : (a) Sangat baik (+ + +), terlihat gelombang-gelombang besar, banyak, gelap, tebal dan aktif bagaikan gumpalan awan hitam dekat waktu hujan yang bergerak

cepat berpindah-pindah tempat. (b) baik (+ +), bila terlihat gelombang-gelombang kecil, tipis, jarang, kualitas jelas dan bergerak lamban. (c) lumayan (+), jika tidak terlihat gelombang melainkan hanya gerakan-gerakan individual aktif progresif. (d) buruk (N, necrospermia atau O), bisa hanya sedikit atau tidak ada gerakan-gerakan individual (Toelihere, 1985).

C. Semen Beku

Impor semen beku mulai dilakukan pada Tahun 1973 dalam kemasan straw yang berasal dari Inggris, USA, New Zealand dan Australia. Pada Tahun 1976 dengan bantuan Pemerintah New Zealand didirikan Balai Inseminasi Buatan (IB) di Lembang Bandung dan kemudian tahun 1982 di dirikan di Singosari, Malang.

Di Indonesia saat ini terdapat 2 (dua) Balai IB Nasional yakni Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari dan BIB Lembang serta beberapa BIB daerah antara lain BIBD Sumatera Barat, Lampung, Jawa Tengah, Bali dan NTB. Dengan dimilikinya dua balai inseminasi buatan berskala Nasional dan beberapa balai-balai IB daerah, seyogyanya pelaksanaan IB dapat lebih ditingkatkan.

Semen beku adalah semen yang berasal dari pejantan terpilih yang diencerkan sesuai prosedur, dibekukan dan disimpan pada suhu -196°C dalam container. Proses pembekuan spermatozoa pada hewan yang meliputi kecepatan pendinginan, pembekuan dan pencairan kembali serta bahan krioprotektan dan konsentrasinya telah banyak dilakukan (Ismaya dan Sunardi, dalam Ismaya, 2006).

Semen beku mempunyai kelebihan karena dapat disimpan lebih lama, sehingga memungkinkan dilakukan perkawinan yang selektif dimana saja dan setiap waktu. Selama ini pelaksanaan teknologi IB di lapangan masih mengalami beberapa

hambatan, antara lain $S/C > 2$ dan angka kebuntingan $\leq 60\%$ (Affandhy, Dikman dan Aryogi, 2007), sehingga untuk meningkatkan populasi dan mutu sapi potong serta guna memperluas penyebaran bakalan sapi potong, diperlukan suatu petunjuk praktis tentang manajemen IB menggunakan semen beku mulai dari penanganan ketika straw beku dalam kontener hingga akan diinseminasikan ke sapi induk, termasuk cara dan waktu IB dengan harapan dapat memperbaiki manajemen perkawinan melalui pelaksanaan IB yang selama ini sering menimbulkan permasalahan di tingkat peternak maupun inseminator.

Standar yang harus diikuti oleh produsen semen beku di Indonesia adalah dengan konsentrasi minimal 25 juta sel spermatozoa/0,25 ml atau 10 juta sel spermatozoa yang motil dan PTM 40%.

D. Organ Reproduksi Sapi Betina

Reproduksi adalah suatu kemewahan fungsi tubuh yang secara fisiologik tidak vital bagi kehidupan individual tetapi sangat penting bagi kelanjutan keturunan suatu jenis atau bangsa hewan. Reproduksi meliputi banyak tingkatan yaitu : Pembentukan sel-sel kelamin yang sehat dan normal, pelepasan gamet, perkawinan, fertilisasi, pertumbuhan, diferensiasi dan perkembangan zigot sampai kelahiran normal (Toelihere, 1985).

Hafez (1980) menyatakan bahwa organ reproduksi betina terdiri dari ovarium, oviduct, uterus, servik, vagina dan alat kelamin luar. Ovarium merupakan alat reproduksi primer yang berfungsi sebagai penghasil sel telur dan hormone, salah satunya hormone progesterone yang berperan penting dalam menyiapkan alat-alat

reproduksi untuk kebuntingan dan memelihara kandungan sampai melahirkan anak (Salisbury dan VanDemark, 1985).

Menurut Toelihere (1985) ovarium sapi berbentuk oval, mempunyai berat 10-20 gram dan umumnya bagian kanan lebih besar dari pada kiri karena secara fisiologik yang kanan lebih aktif. Besar ovarium bertambah sesuai dengan bertambahnya umur maupun banyaknya anak yang di lahirkan (Hardjopranjoto, 1995).

Salisbury dan VanDemark (1985) menyatakan bahwa ovarium mempunyai panjang 32-42 mm, lebar 19-32 mm dan tebal 13-19 mm. Ovarium merupakan organ reproduksi primer karena ovarium menghasilkan gamet betina (ovum) dan hormon sex betina (estrogen dan progesterone) (Bearden dan Fuquay, 1980). Ovarium mempunyai dua fungsi yaitu: menghasilkan ova dan menghasilkan suatu keseimbangan dari hormon steroid untuk memelihara perkembangan saluran reproduksi dan memberikan fasilitas kepada embrio yang masih muda serta melancarkan proses implantasi dan perkembangan embrio didalam uterus (Hafez, 1980).

E. Perkembangan Oosit

Ovum merupakan sel khas yang sanggup dibuahi dan selanjutnya dapat mengalami perkembangan embrional. Ovum yang ada dalam ovarium terjadi melalui proses oogenesis atau ovigenesis dan pembentukan folikel atau folliculogenesis. Oosit adalah hasil dari perbanyakan oogenia secara mitosis I, pada saat ini disebut dengan oosit primer dan oosit ini terdapat di dalam folikel-folikel primer dan oosit tidak

dibentuk lagi tetapi berkurang jumlahnya selama hidup ternak tersebut (Toelihere, 1985).

Biasanya ovum dihasilkan dalam tiap-tiap folikel, beribu-ribu sel yang di kandung dalam tiap folikel membantu perkembangan ovum tersebut folikel mencapai kematangannya melalui tingkatan perkembangan folikel-folikel primer, sekunder, tertier (yang sedang tumbuh) dan folikel De Graaf (yang matang) (Toelihere, 1985).

Menurut Hafez (1980) bahwa dibagian cortex ovarium sapi betina yang telah dewasa terdapat sebagai ukuran folikel yang sedang berkembang melalui oogenium, folikel primer, sekunder dan tertier serta folikel de graaf. Ovarium terdiri dari bagian medulla dan cortex, sedangkan ovum serta hormone dibentuk dibagian cortex ditambahkan (Toelihere, 1985)

Toelihere (1985) menyatakan Ovum atau ova merupakan sel yang khas yang sanggup dibuahi dan selanjutnya dapat mengalami perkembangan embrional. Ova yang ada dalam ovarium terjadi melalui proses oogenesis atau ovigenesis dan pembentukan folikel atau folikulogenesis oosit adalah hasil dari perbanyakan oogenia secara mitosis I, pada saat ini disebut dengan oosit primer dan oosit ini terdapat pada folikel primer. Folikel primer terdiri dari satu bakat sel telur yang pada fase ini disebut oogenium dan selapis folikuler kecil. Folikel primer terjadi tepat dibawah tunika albugenia dan terdiri dari dari sebuah oosit (sel besar) yang ditutupi oleh selapis sel folikel pipih.

Folikel primer berkurang jadi folikel sekunder yang telah mempunyai pembungkus tipis yang disebut membrane viteline. Sedangkan folikel sekunder yang telah memiliki satu lapis membrane yang lebih tebal disebut juga zona pellucida.

Folikel tertier memiliki oosit yang dikelilingi oleh beberapa lapis sel-sel granulosa sehingga folikel dari sekunder menjadi tertier berlangsung pada saat hewan telah dewasa dan berlanjut pada saat sapi mengalami siklus berahi (Partodihardjo, 1992).

Oosit yang telah selesai berkembang dikelilingi oleh suatu lapisan folikel yang kompak untuk membentuk kompleks kumulus oosit/*cumulus oocyte complex* (COC). Selama pra ovulasi, sel cumulus mensintesis dan menimbun suatu matriks intraseluler yang diperkaya dengan asam hialuronat. Fenomena ini ditujukan sebagai ekspansi cumulus yang memfasilitasi pelepasan oosit dari dinding folikel dan pengeluarannya saat ovulasi serta penangkapan oosit oleh fimbria. Selanjutnya peluasan cumulus juga dapat mempengaruhi keragaman perkembangan baik oosit maupun sperma yang diperlukan untuk keberhasilan pembentukan zigot (Chen dan Zuelke, 1993).

F. Koleksi dan Evaluasi Oosit

Koleksi oosit dari ovarium dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu: aspirasi dan penyayatan (*slincing*), namun dengan teknik penyayatan (*slicing*) merupakan cara sederhana dan efisien. Metode koleksi oosit dengan aspirasi menghasilkan kualitas oosit yang sama dengan metode sayatan (Mundana dan Jaswandi, 2001). Dalam penelitian lain dinyatakan bahwa metode sayatan menghasilkan lebih banyak oosit dengan sel cumulus kompak (Pashwe, Totey dan Jain, 1994).

Menurut Carolan, et al., yang dikutip Gordon (1994) bahwa ada perbedaan penemuan oosit dengan aspirasi dan *slincing*, dimana ada tiga kali lipat peningkatan dari jumlah oosit yang didapat menggunakan metode *slincing*. Keberhasilan fertilisasi invitro sangat ditentukan oleh seleksi oosit yang digunakan. Seleksi oosit yang

dilakukan berdasarkan kualitas dan kuantitas morfologik seperti kekompakan sel cumulus yang mengelilinginya. Menurut Jaswandi et, al.,(1994) ovarium sebagai sumber oosit yang layak digunakan untuk produksi embrio *in vitro* adalah 5,22 oosit.

Oosit dapat dikelompokkan atas empat kategori kualitas (A, B, C dan D). Oosit dikategorikan kualitas (A) jika oosit dikelilingi multi lapisan cumulus yang kompak, ooplasma homogen, secara keseluruhan terlihat lebih terang dan transparan. Kualitas (B) oosit yang dikelilingi oleh multi lapisan sel-sel kumulus, sitoplasma kompak, yang kurang homogen atau agak kasar dan bagian tepi agak hitam. Kualitas (C) oosit dikelilingi oleh sel-sel cumulus yang kurang kompak, ooplasma tidak beraturan dengan bercak-bercak hitam dan kompleks oosit kumulusnya lebih gelap lagi dari kelompok A dan B. kualitas (D) jika oosit mempunyai sel cumulus yang mengelilingi oosit mengembang dan terpecah-pecah membentuk gumpalan-gumpalan gelap yang kental, ooplasma tidak beraturan membentuk gumpalan-gumpalan berwarna gelap dan kompleks oosit kumulusnya secara keseluruhan menghitam dan tidak teratur (Loos et al, 1998).

Oosit yang di maturasi hanya oosit yang mempunyai kualitas A dan B.



Gambar 1. Klasifikasi Oosit

Sumber : Saito (1994)

Gambar 1. Oosit yang mempunyai kualitas A dan B.

Kuantitas dan kualitas oosit yang diperoleh dari suatu ovarium dipengaruhi oleh banyak faktor antara lain bangsa ternak (Champion " Robards dan Lonergan) status nutrisi (Garcia-Bojoli), status ovarium (Hendri) dan teknik koleksi oosit (Pawshe) dalam Jaswandi, (1994)

G. Pematangan Oosit *In Vitro*

Maturasi adalah suatu proses perubahan oosit primer menjadi oosit sekunder yang siap difertilisasi (Tornel et al.,1991) peristiwa tersebut merupakan proses pembelahan miosis I ke metaphase pada miosis II. Sirard dan Lambert (1986) menyatakan bahwa morfologi oosit yang baik setelah maturasi (pematangan) *in vivo* adalah oosit dengan sel-sel cumulus yang kompak dan transparan.

Pada sapi dengan ovulasi biasa, *germinal viscele breakdown* (GVBD) berlangsung 4-8 jam setelah puncak LH (Kruip et al., 1983) sedangkan pada superovulasi *germinal viscele breadown* (GsVBD) berlangsung 6-12 jam setelah awal maturasi. Oosit dari hewan dengan proses maturasi yang relative lambat (sapi, domba dan babi) membutuhkan sintesis protein aktif untuk pembelahan meosisnya (Hunter dan Moor, 1987).

Oosit harus mengalami pematangan inti maupun sitoplasma supaya dapat dibuahi oleh spermatozoa. Pematangan oosit bertujuan untuk menghasilkan sebuah sekunder haploid yang di lengkapi dengan berbagai kebutuhan biologis yang diperlukan untuk keberhasilan perkembangan embrio berikutnya. Pematangan oosit merupakan proses pembelahan miosis pada oosit yakni perkembangan dari miosis I ke metaphase II (Gordon, 1994)

Maturasi sitoplasma di tandai dengan oosit yang dikelilingi oleh sel-sel cumulus yang mengalami perluasan dan tampak jernih (Sirard dan Lambert, 1986). Salah satu medium untuk maturasi yang paling banyak digunakan adalah *tissue culture medium* -199 (TCM-199) yang berisi garam-garam Earle's dan berisi penyangga Hepes dan sodium bikarbonat dan ditambah dengan piruvat, laktat, asam-asam amino, vitamin, purin dan beberapa zat yang umumnya terkandung dalam serum (Gordon, 1994).

Menurut Hafez (1980), maturasi (pematangan) oosit mamalia terdiri dari dua tingkatan (fase) yaitu periode pertumbuhan dan periode penyelesaian nuclear dan persiapan sitoplasma sebagai syarat untuk fertilisasi dan perkembangan yang normal. Pertumbuhan oosit ditandai oleh perbesaran sitoplasma karena penumpukan granula-granula deutoplasma (kuning telur) dalam berbagai ukuran, pembentukan zona pellucida dan poliferasi (memperbanyak diri) mitosis epitel folikuler kira-kira pada waktu pertumbuhan antrum dimulai dalam folikel (Toelihere, 1985).

Menurut Sirrad dan Lambert dalam (Hendri, Udin dan Jaswandi, 2004) Pematangan oosit sapi *in vitro* memerlukan waktu 18 sampai 24 jam. Fase germinal vesicle (GV) terlihat jelas dari nol sampai 6.6 jam, GVBD muncul dari 6.6 sampai 8.0 jam, kondensasi kromatin pada 8.0 sampai 10.3 jam, metefase I pada 10.3 sampai 15.4 jam, anaphase I pada 15.4 sampai 16.6 jam, telofase I pada 16.6 sampai 18.0 jam dan metaphase II pada 18.0 sampai 24.0 jam semenjak awal pematangan oosit *in vitro*.

Periode pematangan 24 jam menghasilkan angka pematangan dan angka cleavage yang hampir sama dengan periode pematangan oosit 18 jam, tetapi angka

blastosis pada hari ketujuh dan kesembilan pada periode pematangan oosit 24 jam nyata lebih tinggi (Gordon, 1994).

H. Kapasitas Spermatozoa

Dalam proses *in vivo*, oosit yang dilepaskan folikel akan masuk kedalam tuba falopii, yaitu tempat terjadinya proses pembuahan atau fertilisasi. Hanya spermatozoa yang mengalami kapasitas yang akan dapat memasuki oosit, sedangkan spermatozoa yang tidak mengalami kapasitas akan tetap menempel pada permukaan oosit.

Kapasitasi sperma adalah suatu proses yang melibatkan sperma dalam suatu rangkaian kompleks reaksi biokimia dan fisiologi. Tahap awal dari kapasitas sperma adalah pengeluaran dan perubahan bahan-bahan yang berasal dari tubulus seminiferus, epididimis dan vas deferens serta plasma seminal yang diserap oleh membrane sperma. Selama bergerak dari testis melewati epididimis sperma diubah sel fertil yang matang, untuk disimpan di ekor epididimis sampai di lepaskan pada saat ejakulasi atau bercampur urine (Gordon, 1994).

Kapasitasi spermatozoa dan reaksi akrosom merupakan kejadian fisiologis yang penting sehingga memungkinkan spermatozoa melakukan penetrasi zona pellucid dari oosit untuk memulai proses fertilisasi (Yanagimachi dalam Asmairicen, S., 2010).

Kapasitasi spermatozoa melibatkan perubahan biokimia pada bagian luar membrane plasma. Sedangkan reaksi akrosom meliputi fusi dan pecahnya plasma spermatozoa. Sedangkan reaksi akrosom berlanjut dengan eksositosis yang memungkinkan pelepasan enzim. Kejadian ini bersamaan dengan hiperaktifitas

motilitas spermatozoa dan secara normal terjadi dekat atau di dalam zona pellucid (Brackett dan Zuelke dalam Asmairicen, S., 2010).

Konsentrasi spermatozoa untuk fertilisasi *in vitro* umumnya bervariasi dari 0,5 sampai 5,0 sampai 10 / ml (Gordon, 1994). Oosit sapi biasanya di inseminasi dengan 1,0 sampai 10 x 10 spermatozoa/ml setelah suatu periode kapasitas yang pendek (15 menit) didalam medium modified Tyrodes (TALP) atau medium Brackett-Oliphant (BO) yang mengandung 10 µg heparin/ml. Plasma semen dipisahkan cara sentrifugasi atau cara lain, menurut Trounson dalam (Hendri, Udin dan Jaswandi, 2004).

Menurut Seidel dan Elsdon dalam (Hendri, Udin dan Jaswandi, 2004) menyatakan bahwa spermatozoa dari semen yang di bekukan lebih mudah berkapasitas dibanding dengan semen segar. Daya tahan hidup dan reaksi akrosom pada spermatozoa sapi berkurang pada suhu 40°C. suhu yang lebih rendah dari 35°C tidak mempertinggi reaksi akrosom. Suhu optimal untuk reaksi akrosom adalah 35°C, 37°C dan 39°C, sedangkan 41°C menyebabkan suatu penurunan yang nyata.

I. Fertilisasi *In Vitro*

Fertilisasi merupakan suatu proses yang kompleks yang menghasilkan penggabungan dua gamet, restorasi jumlah kromosom somatik yang mulainya perkembangan suatu individu baru (Gordon 1994). Keberhasilan fertilisasi *in vitro* memerlukan kesiapan yang memadai dari oosit dan spermatozoa secara biologis dan kondisi kultur yang mendukung efektivitas metabolisme dari gamet jantan dan betina. Berbagai aspek kondisi kultur seperti medium, kapasitas spermatozoa, system kultur

terus diidentifikasi untuk meningkatkan keberhasilan fertilisasi *in vitro* (Brackett, 1975).

Faktor lain yang mempengaruhi proses fertilisasi *in vitro* dan hasilnya adalah keadaan lingkungan, media biakan yang digunakan, perlakuan oosit saat maturasi, perlakuan spermatozoa saat kapasitas, dan pemeliharaan embrio pasca fertilisasi menurut Mahaputra, dkk dalam (Suprihatin, 2008).

Fertilisasi *in vitro* dapat dilakukan dalam beberapa media diantaranya *tissue culture medium* 199 (TCM-199) salah satu media kompleks yang paling banyak digunakan untuk pematangan oosit *in vitro* (Gordon, 1994).

Jaswandi (2002) menyatakan bahwa untuk di buahi oleh spermatozoa, oosit harus mengalami pematangan inti maupun sitoplasma. Tujuan pematangan oosit adalah untuk menghasilkan sebuah oosit sekunder haploid yang dilengkapi dengan berbagai kebutuhan biologis yang diperlukan untuk keberhasilan perkembangan embrio berikutnya (Hyttell et, al., dalam Asmairicen, S, 2010).

Menurut Chian et, al. (dalam Hendri, Udin dan Jaswandi, 2004) Walaupun spermatozoa diinseminasi dengan spermatozoa selama 8.0 jam, masih dapat mempenetrasi oosit sampai 24 jam setelah inseminasi, tetapi peningkatan angka fertilisasi (dari 86% sampai 94% menjadi 94% sampai 100%) tidak banyak berarti karena adanya peningkatan kejadian polispermia yang cukup tinggi (dari 22% sampai 45% menjadi 53% sampai 78%). Oosit yang mengalami penuaan (aging) tidak mampu membelah (cleavage) setelah fertilisasi monospermia.

III. MATERI DAN METODE PENELITIAN

A. Materi Penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah oosit yang diperoleh dari ovarium sapi dari Rumah Potong Hewan (RPH) Payakumbuh dan semen dari tiga Balai Inseminasi Buatan (BIB) yaitu: BIB Lembang, BIB Singosari dan BIB Tuah Sakato Payakumbuh.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: Ovarium ternak sapi sebagai sumber oosit yang diambil dari Rumah Potong Hewan (RPH), 18 straw semen beku bangsa sapi Simental dari 3 BIB, larutan NaCl fisiologis (NaCl 0,9%), medium koleksi oosit Phosphate Buffer Saline (PBS) yang disuplementasi dengan Gentamicin, Serum (Sigma), medium maturasi oosit Tissue Culture Medium (sigma, TCM -199, M-4015), medium fertilisasi (larutan TALP).

Alat-alat yang akan digunakan: inkubator, mikroskop, timbangan elektrik, gelas ukur, cawan petri, pinset, gunting, spuit, pisau silet, tissue, aluminium foil, objek gelas, pipet faktor, mikrocup, gelas piala, sendok, parafilm, tabung reaksi.

B. Metode Penelitian

1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimen laboratorium dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 3 perlakuan semen beku, yaitu sumber semen bangsa sapi Simental BIBD Tuah Sakato, BIB Lembang, BIB Singosari dan 6 ulangan (banyaknya pengambilan ovarium).

Model matematis Rancangan Acak Kelompok (RAK) menurut Steel and Torrie (1994) adalah sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan :

Y_{ij} = nilai pengamatan dari oosit ulangan (kelompok) ke j dari perlakuan ke i

μ = nilai tengah umum

τ_i = pengaruh perlakuan ke i

β_j = pengaruh kelompok ke j

ε_{ij} = pengaruh sisa (galat) pada satuan percobaan yang mendapat perlakuan ke i pada ulangan (kelompok) ke j.

Data yang diperoleh dianalisa secara stitistik dengan menggunakan sidik ragam (*analysis of Variance/ANOVA*), seperti pada tabel berikut :

Tabel 1. Analisis Keragaman Rancangan Acak Kelompok (RAK)

SK	db	JK	KT	F hitung	F tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	a-1	JKP	JKP/a-1	KTP/KTS	3.33	5.54
Kelompok	b-1	JKK	JKK/b-1	KTK/KTS	4.10	7.56S
Sisa	(a-1)(b-1)	JKS	JKS/5			
Total	(ab-1)	JKT				

Keterangan:

SK = Sumber keragaman

F. Hitung < F.Tabel 5% (berbeda tidak nyata)

F. Hitung > F.Tabel 5% (berbeda nyata)

F. Hitung > F.Tabel 1% (berbeda sangat nyata)

Jika hasil F Hitung berbeda nyata dan sangat nyata, maka analisis dilanjutkan dengan uji DMRT (Duncan's Multiple Range Test) Steel and Torrie, 1994).

2. Prosedur Kerja

a. Persiapan alat dan bahan

Sebelum memulai penelitian semua alat yang akan digunakan sudah steril, inkubator dihidupkan beberapa jam sebelum digunakan agar suhunya stabil. Alat dan bahan yang digunakan adalah mikroskop, gelas ukur, aluminium foil, sendok, timbangan analitik, pinset, Bunsen, pipet faktor, silet, cawan petri, fara film, NaCl 0,9%, aquades, medium FBS, gentamicin, serum, NaHCO_3 , TCM bubuk, FSH dan mineral oil. Media yang di gunakan di panaskan terlebih dahulu dalam inkubator minimal 1 jam dengan tujuan untuk menstabilkan suhu.

b. Koleksi Oosit

Ovarium sapi di peroleh dari Rumah Potong Hewan (RPH) Payakumbuh dan dibawa ke laboratorium dalam media NaCl fisiologis 0,9 % pada temperature 37-38°C. Sesampai di laboratorium ovarium di cuci kembali dengan NaCl 0,9% sambil di buang lendir-lendir yang melekat pada ovarium. Kemudian oosit dikoleksi dengan cara slicing (menyayat) dalam cawan petri yang berisi medium PBS (komposisi lampiran 1) yang disuplementasi dengan 10% serum dan Gentamicin 10 µg/ml. Oosit yang terkoleksi dari ovarium langsung diamati di bawah mikroskop, oosit yang digunakan dalam pematangan adalah oosit yang dikelilingi oleh sel cumulus yang kompleks dan mempunyai sitoplasma yang homogen.

c. Pematangan oosit

Oosit yang yang diperoleh dicuci dua kali dalam media PBS dan dilanjutkan dalam media pematangan. Media pematangan oosit yang digunakan adalah TCM-199 (komposisi Lampiran 2), media TCM-199 disuplementasi dengan FSH 10 μ l/ml dan Gentamicin 10 μ l/ml. Oosit yang terkoleksi dicuci kembali dalam media pematangan kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi media pematangan TCM-199 yang telah dilapisi dengan mineral oil cawan petri tersebut dimasukkan dalam inkubator CO_2 5% dimatangkan selama 24 jam dengan suhu 38,5°C.

d. Fertilisasi *In Vitro*

Untuk fertilisasi *in vitro* digunakan semen beku bangsa sapi Simental yang berasal dari tiga BIB yaitu Tuah Sakato, Lembang dan Singosari. Semen beku di thawing dalam air hangat 37°C selama \pm 30 detik, spermatozoa dimasukkan dalam tabung sentrifus ditambah 1 ml media TALP (komposisi Lampiran 3) dan dimasukkan dalam incubator CO_2 5% selama 1 jam untuk proses *swim-up* guna mendapatkan spermatozoa yang motil. Oosit yang telah mengalami pematangan selama 24 jam dicuci dalam media TALP. Oosit yang matang dibagi menjadi tiga drop, setelah preinkubasi 1 jam bagian atas dari media diambil sebanyak 100 μ l dan dimasukkan dalam masing-masing petridis yang berisi oosit dalam media TALP yang telah dilapisi mineral oil untuk proses fertilisasi selama 18 jam.

e. Evaluasi oosit

Evaluasi oosit yang terfertilisasi dengan cara menghitung persentase oosit yang mempunyai dua polar bodi, setelah oosit dicuci terlebih dahulu dalam media kultur.

f. Kultur Embrio

Zigot hasil fertilisasi perlu perkembangan berikutnya sebelum ditransfer atau dibekukan. Kultur embrio mamalia secara *in vitro* membutuhkan lingkungan yang cocok sehingga memungkinkan zigot mengalami pembelahan (cleavage) dan berkembang pada tahap blastosis (Peters, 1992)

Dalam penelitian ini kultur embrio dilakukan dengan cara menempatkan oosit yang telah terfertilisasi ke dalam 100 µl medium TCM-199 yang disuplementasi dengan serum 10% dan gentamicin 10 µl/ml tanpa menggunakan FSH. Penggantian medium yang digunakan setiap 48 jam. Embrio *cleavage* dilihat berdasarkan embrio yang mengalami pembelahan tahap 2 sel, 4 sel dan 8 sel.

3. Peubah yang Diamati

1. Persentase fertilisasi oosit sapi pada masing-masing perlakuan berdasarkan pembentukan polar bodi II secara *in vitro*. Hal ini sesuai dengan pendapat Harjanti dan Ayu, D, (2002) yang menyatakan sel telur yang telah dibuahi atau telah mengalami fertilisasi jika ditemukan dekondensasi kepala spermatozoa atau 2 PN (pronukleus) atau lebih dalam sitoplasma sel telur.
2. Persentase perkembangan embrio cleavage (membelah) dari tahap 2 sel, 4 sel dan 8 sel secara *in vitro*.

4. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fisiologi Reproduksi Ternak, Fakultas Peternakan Universitas Andalas dari tanggal 13 Juni sampai tanggal 22 Juli 2011.



IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Persentase fertilisasi oosit sapi pada masing-masing perlakuan berdasarkan pembentukan polar bodi II secara *in vitro*

Hasil penelitian yang dilakukan memperlihatkan bahwa persentase tertinggi oosit yang terfertilisasi berdasarkan pembentukan polar bodi II pada masing-masing perlakuan semen beku BIB Buah Sakato, BIB Lembang dan BIB Singosari adalah semen beku yang berasal dari BIB Singosari. Persentase fertilisasi oosit secara *in vitro* dari masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2. Persentase fertilisasi *in vitro* oosit sapi dari tiga sumber semen beku

Ulangan	Persentase Oosit Sapi Terfertilisasi (%)		
	Tuah Sakato	Singosari	Lembang
1.	30	50	40
2.	32	52	40
3.	44	68	40
4.	24	48	24
5.	36	40	32
6.	24	40	28
Jumlah	190	298	204
Rata-rata	31.66 ± 7.633^a	49.66 ± 10.308^b	34 ± 7.0422^a

Keterangan : Superskrip dengan huruf kecil yang berbeda menunjukkan berbeda sangat nyata ($P < 0.01$)

Pada Tabel 2. Terlihat bahwa rata-rata persentase fertilisasi *in vitro* pada masing-masing perlakuan A, B dan C adalah 31.66%, 49.66% dan 34%. Pada perlakuan dengan menggunakan semen beku yang berasal dari BIB Singosari (B) didapatkan persentase fertilisasi paling tinggi, diikuti dengan yang menggunakan

semen beku dari BIB Lembang (C) dan perlakuan dengan menggunakan semen beku dari BIB Buah Sakato didapatkan persentase fertilisasi terendah. Kualitas semen beku pada setiap Balai Inseminasi Buatan (BIB) tidak sama, karena metodologi produksi semen dari berbagai produsen semen beku dapat menimbulkan variasi seperti tata cara penanganan, proses pembuatan, jenis pengencer, bangsa pejantan pemacek, proses pembekuan, proses distribusinya dan penggunaan semen beku. Penggunaan bahan kroprotektan pada berbagai jenis semen juga menghasilkan variasi kualitas semen. Balai Inseminasi Buatan Singosari dan BIB Buah Sakato menggunakan jenis pengencer dari kuning telur, sedangkan pada BIB Lembang menggunakan susu.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa tingkat fertilisasi *in vitro* oosit sapi dari tiga macam semen beku terdapat perbedaan yang sangat nyata ($P < 0.01$). Adanya pengaruh yang berbeda pada masing-masing perlakuan terhadap persentase fertilisasi *in vitro* sangat ditentukan oleh kesempurnaan kematangan oosit, karena oosit yang siap difertilisasi hanya oosit yang mengalami kesempurnaan pematangan inti dan sitoplasma, namun semua itu juga tidak terlepas dari kualitas spermatozoa semen beku yang digunakan. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Morell dalam Sujoko, Setiadi dan Boediono, (2009) bahwa keberhasilan fertilisasi *in vitro* salah satunya dipengaruhi oleh kualitas spermatozoa. Kualitas semen beku menyangkut aspek konsentrasi, hidup/mati, morfologi dan hidup mati spermatozoa. Pada penelitian ini sebelum dilakukan perlakuan spermatozoa yang berasal dari semen

beku di evaluasi dengan melihat angka motilitas yang mana persentase motilitas dari masing-masing BIB terlihat pada Lampiran 9.

Persentase tertinggi motilitas dari ketiga BIB tersebut terdapat pada BIB Singosari yaitu 67.83%. Menurut standar yang harus diikuti oleh produsen semen beku di Indonesia adalah dengan konsentrasi minimal 25 juta sel spermatozoa/0,25 ml atau 10 juta sel spermatozoa yang motil dan PTM 40%. Banyak cara yang digunakan untuk mempertahankan kualitas semen, misalnya dengan pengenceran pendinginan dan pembekuan. Pengolahan semen yang berupa pendinginan pada 5°C dan pembekuan pada -196°C merupakan cara yang dapat memperpanjang daya tahan hidup spermatozoa, namun ternyata juga merupakan penyebab utama kerusakan spermatozoa karena dapat menimbulkan efek cold shock terhadap sel. Menurut Widjiati (2007) tingkat fertilisasi *in vitro* sangat tergantung pada ukuran folikel ovarium sebagai sumber oosit yang digunakan, keadaan lingkungan, media biakan yang digunakan dan perlakuan oosit yang digunakan.

Menurut Toelihere, (1993) selama proses pembekuan sebanyak 20%-80% spermatozoa akan mati. Rendahnya persentase sel hidup akan memperkecil peluang spermatozoa untuk dapat memfertilisasi oosit. Penurunan motilitas setelah proses kriopreservasi spermatozoa sebesar 50% merupakan hal yang umum terjadi pada proses pembekuan spermatozoa mamalia.

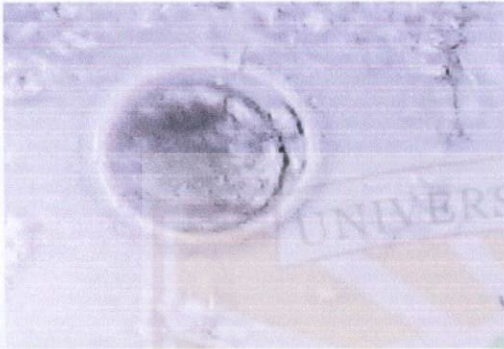
Hidayat, (2001) menyatakan bahwa factor konsentrasi kuning telur tidak berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa. Penggunaan preparasi TKT dalam

pembuatan pengencer semen beku dianggap lebih praktis dalam pembuatannya dan memberikan proteksi yang cukup optimal terhadap kualitas spermatozoa.

Spermatozoa beku telah banyak digunakan secara komersial dalam peternakan sapi dengan hasil yang baik, namun demikian fertilitas spermatozoa beku masih rendah terhadap ternak lain. Inseminasi buatan dengan metode cervical insemination pada babi dan domba dengan menggunakan spermatozoa beku menghasilkan angka kebuntingan dan jumlah anak sekelahiran yang kecil. Hal tersebut diduga spermatozoa tidak mempunyai kemampuan yang baik untuk mencapai tempat fertilisasi atau membuahi sel telur. Spermatozoa yang telah dibekukan dan dicairkan kembali (*thawing*) akan menghasilkan spermatozoa yang sebagian telah mengalami kapasitas sehingga daya hidupnya rendah dan motilitasnya tidak seprogresif sebagaimana spermatozoa yang masih segar. Spermatozoa yang telah mengalami kapasitas bergerak hiperaktif namun gerakannya kurang progresif, oleh karena itu kapasitas yang ideal terjadi di dalam oviduk agar mampu membuahi sel telur dengan baik (Ismaya, 2006)

Fertilisasi oosit sapi dalam penelitian ini menggunakan spermatozoa semen beku yang berasal dari tiga Balai Inseminasi Buatan. Setelah semen beku dithawing spermatozoa dimasukkan dalam tabung sentrifus ditambah 1 ml media TALP dan dimasukkan dalam inkubator CO₂5% selama 1 jam untuk proses *swim-up* guna mendapatkan spermatozoa yang motil. Setelah proses kapasitas selesai, maka spermatozoa dimasukkan dalam media fertilisasi yang berisi oosit sapi dalam incubator CO₂5% selama 18 jam.

Evaluasi tingkat fertilisasi dari oosit sapi dalam penelitian ini dilakukan setelah diinkubasi 18 jam dan ditandai dengan terbentuknya dua buah polar bodi seperti yang terlihat pada gambar 1.



Gambar 2. Oosit dengan dua polar bodi (terfertilisasi)

Pada penelitian ini sel telur dapat dikatakan telah terfertilisasi setelah 18 jam di inkubasi dengan sel spermatozoa dan telah mengalami perkembangan 2 PN (pronukleus) dapat dilihat pada gambar 2. Hal ini sesuai dengan pendapat Harjanti dan Ayu, D, (2002) yang menyatakan sel telur yang telah dibuahi atau telah mengalami fertilisasi jika ditemukan dekondensasi kepala spermatozoa atau 2 PN (pronukleus) atau lebih dalam sitoplasma sel telur.

Menurut Gordon (1994) inkubasi oosit dan spermatozoa yang terlalu lama dapat mengurangi kemampuan oosit berkembang karena spermatozoa mempunyai potensi untuk melepaskan *enzim hidrolitik* kedalam medium fertilisasi. Tingkat fertilisasi tertinggi diperoleh pada oosit yang dimatangkan selama 22-24 jam dan difertilisasi dengan spermatozoa delapan jam (Cian et,al. dalam Jaswandi, 2002). Menurut Dode et, al., (2002) selama tiga jam pertama hanya 26,5% oosit yang terbuahi dengan tingkat *cleavage* 13.1%. Tingkat fertilisasi dan *cleavage* secara

progresif meningkat dari 6-12 jam inkubasi. Beberapa peneliti lain mendapatkan waktu optimal fertilisasi 18-20 jam (Long et al, 1993 dan Ward et, al. 2002 atau Rehman et al. 1994 dalam Jaswandi, 2002).

Angka fertilisasi *in vitro* yang lebih rendah pada penggunaan semen beku disebabkan karena pembekuan semen dapat menurunkan viabilitas dan motilitas spermatozoa. Penurunan viabilitas dan motilitas spermatozoa yang berasal dari semen beku disebabkan oleh disintegrasinya membran plasma spermatozoa baik intraseluler ataupun selubung lipoprotein dinding sel spermatozoa (termasuk protein-protein akrosomal) yang terjadi secara drastis selama proses pembekuan dan pencairan kembali (Hendri, 1997)

B. Persentase perkembangan embrio cleavage (membelah) dari tahap 2 sel, 4 sel dan sampai 8 sel hasil fertilisasi *in vitro*

Hasil penelitian yang dilakukan memperlihatkan bahwa persentase tertinggi dari hasil perkembangan oosit yang mengalami cleavage dari tahap 2 sel, 4 sel dan 8 sel dari ketiga Balai Inseminasi Buatan (BIB) adalah terdapat pada BIB Singosari dengan persentase 2 sel (33.66%), 4 sel (18.33%), 8 sel (11%) dan persentase terendah terdapat pada BIB Tuah Sakato yaitu 2 sel (12.33%), 4 sel (7.3%) dan 8 sel (2.66%). Perkembangan embrio *cleavage* pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 3 .

Tabel 3. Persentase embrio cleavage hasil fertilisasi *in vitro* dari tahap 2 sel, 4 sel dan 8 sel

Sumber Semen (BIB)	Angka cleavage (%)		
	2 sel	4 sel	8 sel
Tuah Sakato	12.33 ± 5.988 ^a	7.3 ± 7.339 ^a	2.66 ± 4.844 ^a
Singosari	33.65 ± 10.764 ^a	18.33 ± 6.501 ^b	11 ± 5.899 ^a
Lembang	14.33 ± 8.04 1 ^a	9 ± 6.418 ^a	4.33 ± 5.498 ^a

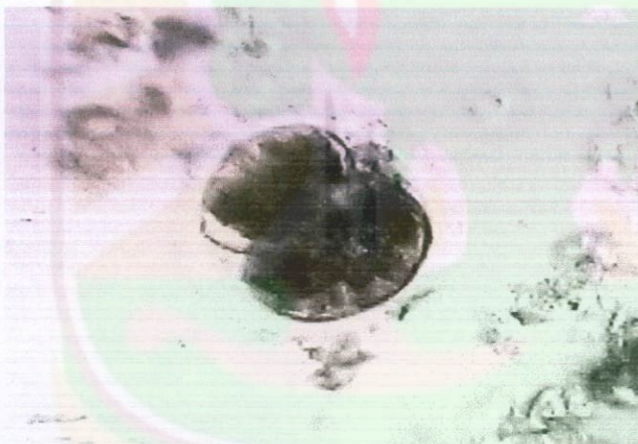
Keterangan : Superskrip dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0.01$)

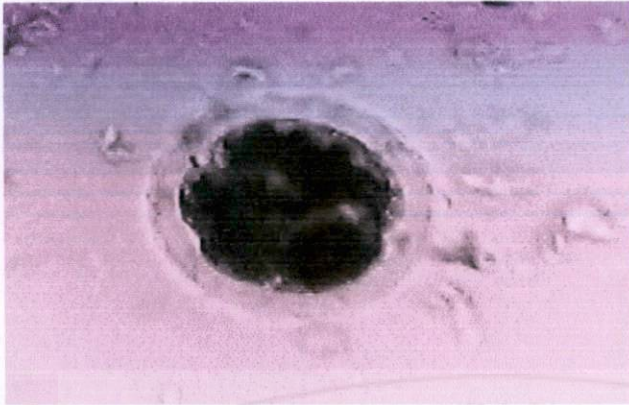
Perkembangan embrio hasil fertilisasi *in vitro* dari tiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 3. Hasil ini sejalan dengan persentase oosit sapi yang mengalami perkembangan polar bodi II pada proses fertilisasi persentase tertinggi terdapat pada fertilisasi *in vitro* semen beku BIB Singosari. Hal ini menandakan bahwa perkembangan embrio selanjutnya tergantung pada kualitas spermatozoa dan media kultur yang digunakan. Dalam penelitian ini kultur embrio dilakukan dengan cara menempatkan oosit yang telah terfertilisasi ke dalam 100 µl medium TCM-199 yang disuplementasi dengan serum 10% dan gentamicin 10 µl/ml. Penggantian medium yang digunakan setiap 48 jam dengan menggunakan media TCM-199 tanpa menggunakan FSH yang diperlukan untuk mencegah akumulasi toksik ammonium yang dihasilkan dari degradasi asam amino (Gordon, 1994).

Evaluasi perkembangan embrio *cleavage* hasil fertilisasi *in vitro* dari tahap 2 sel, 4 sel dan 8 sel dalam penelitian ini terlihat pada hari kedua setelah ferilisasi *in vitro* sampai hari kelima setelah fertilisasi seperti terlihat pada gambar 3.

Pada Tabel 2. Terlihat bahwa perkembangan embrio semakin menurun dari tahap 2 sel, 4 sel dan 8 sel, hal ini memperlihatkan hambatan pada embrio *cleavage*.

Menurut (Kato dan Iritani, dalam Fibrianto, Y, H dan Gustari, S., 2001) pada umumnya perkembangan embrio sapi pada stadium 1-2 sel secara *in vitro* akan terhenti pada stadium 8-16 sel yang dikenal dengan blok 8 sel. Kejadian blok ini terjadi akibat adanya transisi control dari induk ke embrio sehingga periode ini merupakan periode kritis dari pembelahan embrio. Secara *in vivo* sel-sel induk menyediakan lingkungan dan komponen-komponen yang diperlukan untuk perkembangan embrio tahap awal seperti protein (glikoprotein) dan faktor-faktor pertumbuhan yang akan bergabung dengan messenger ribonucleid acid (m- RNA) yang tersimpan dalam embrio untuk melakukan proses transkripsi yang dimulai dari stadium 4 sel akhir sampai stadium 8 sel awal.





Gambar 3. Perkembangan embrio sapi tahap 2 sel, 4 sel dan 8 sel hasil fertilisasi *in vitro*.

Dewasa ini salah satu faktor yang diperkirakan mempunyai dampak negatif terhadap perkembangan embrio *in vitro* yang diduga sebagai blok perkembangan adalah stress akibat adanya gangguan keseimbangan prooksidan-antioksidan dalam sel terhadap oksidan oleh adanya sebuah jenis oksigen reaktif, dimana embrio yang dikultur secara *in vitro* memperoleh tingkat oksigen yang lebih tinggi dari pada konsentrasi oksigen pada keadaan fisiologisnya yang menyebabkan timbulnya stress oksidatif. Penggunaan spermatozoa hasil pemisahan dalam fertilisasi *in vitro* masih mampu memfertilisasi oosit dan menghasilkan embrio tahap 2 sel. Proses perkembangan embrio pada tahap 2 sel mencapai tahap morula dan blastosis lebih banyak dipengaruhi oleh proses kultur embrio (Kaiin, Said dan Tappa, 2008). Boediono dan Suzuki, (1996) melaporkan bahwa kemampuan perkembangan embrio yang dikultur secara *in vitro* mencapai blastosis berbeda untuk setiap jenis hewan.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Persentase fertilisasi oosit sapi pada tiga BIB yaitu BIB Singosari, BIB Lembang dan BIB Tuah Sakato berdasarkan pembentukan polar bodi II secara *in vitro* yang tertinggi didapatkan pada penggunaan semen beku dari BIB Singosari dengan persentase 49.66%.
2. Persentase tertinggi perkembangan embrio cleavage (membelah) dari tahap 2 sel, 4 sel dan 8 sel hasil fertilisasi *in vitro* terdapat pada semen beku dari BIB Tuah Sakato dengan persentase 33.66%, 18.33% dan 11%.

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat dikemukakan saran yaitu semen beku yang baik untuk digunakan dalam proses fertilisasi *in vitro* atau dalam Inseminasi Buatan (IB) adalah semen beku yang berasal dari BIB Singosari.

DAFTAR PUSTAKA

- Affandhy, L. , Dikman, D. M. dan Aryogi. 2007. Petunjuk Teknis Manajemen Perkawinan Sapi Potong. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan. Grati Pasuruan.
- Asmairicen. S. 2010. Pengaruh Waktu Pelapisan Spermatozoa Sapi Pada Media TALP yang di Suplementasi 4% bovine serum albumin (BSA) Terhadap Perbandingan Jenis Kelamin Embrio In Vitro. Tesis Program Pasca Sarjana, Unversitas Andalas. Padang.
- Bearden, H. J. and J. W. Fuguay. 1980. Applied Animal Reproduction. Reston Publishing Company, Inc. A. Printice Hall Company, Reston. Virginia.
- Boediono A. and T. Suzuki. 1996. *In vitro* development of Holstein and Japanese black breeds embryo. Media Veteriner, 3 : 3 – 15.
- Breackett, B. G. Oliphant. 1975. Capacitation of rabbit spermatozoa *in vitro* production of bovine embryos. Theriogenology 39 : 43-64.
- Chen, B. G. and K. A. Zuelke. 1993. Analisis of rabbit spermatozoa *in vitro*. Biol Reprod 12; 260-274.
- Chian, R. C., H. Nakahara, K. Niwa and H. Funahashi. 1992. Fertilization and early cleavage *in vitro* of aging bovine oocytes after maturation in culture. Theriogenology 37 : 666-672.
- Dode, M. A. N., N. C. Rodvalho, V. G. Ueno and C.E. Fernandes. 2002. The effect of sperm preparation and co-incubation time on *in vitro* fertilization of bos Indicus oocytes. Anim. Reprod. Sci. 69 : 15-23.
- Fibrianto, Y. H., dan Gustari, S. 2001. Pengaruh pemberian β -merkaptotanol pada media maturasi terhadap angka fertilisasi oosit peranakan ongole (PO) *in vitro*. J. sain Vet. Vol. XIX No, 2.
- Gordon, I. 1994. Laboratory Production of Cattle Embryos. Bioteknologi in Agricultural Series CAB. International.
- Hafes, E. S. E. 1980. Reproduksi in Farm Animal. Thirth Edition Lea and Fibiger, Philadelpia.
- Hardjopranjoto, S. 1995. Ilmu kemajiran pada Ternak. Airlangga University Press. Surabaya.

- Harjanti dan Ayu, D. 2002. Perkembangan Sel Telur dan sperma Pasca Fertilisasi *in vivo* dan *in vitro*. Institute Pertanian Bogor.
- Hendri. 1997. Efektivitas Penambahan Berbagai Jenis Dan Konsentrasi Serum Serta Kokultur Sel-Sel Tuba Fallopii Dan Kumulus Pada TCM-199 Dalam Produksi Embrio Sapi In Vitro. Disertasi Pasca Sarjana IPB. Bogor.
- Hendri., Z. Udin dan Jaswandi. 2004. Bioteknologi Reproduksi Ternak. Buku ajar mata kuliah. Fakultas Peternakan Universitas Andalas, Padang.
- Hidayat, C. R 2001. Kualiatas Spermatozoa Setelah Pembekuan pada Konsentrasi Kuning Telur Tinggi dan Fraksinya. Skripsi. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hunter, A. E and R. Moor. 1987. Stage-dependent effect of inhibiting rinonucleic acid and protein syntesis on meiotic baturation of bovine oocytes *in vitro*. Gamate Reseach 8;29-47.
- Hunter, R. H. F. 1995. Fisiologi dan Teknologi Reproduksi Hewan Betina Domestik (penerjemah Harya Putra). ITB. Bandung.
- Ismaya. 2006. Konservasi Spermatozoa Perkembangan Hasil dan Potensi Dimasa Datang. Pidato Pengukuhan Guru Besar. Universitas gadjah mada. Yogyakarta.
- Jaswandi. M. A Setiadi. A. Boediono. M. R. Toelihere dan Y. Sukra. 1994. Potensi ovarium domba yang dipotong untuk produksi embrio *in vitro*. Med. Pet. Vol. 24 No. 2.
- Jaswandi. 2002. Penggunaan hepes dan butiran efervesen, dalam sistim inkubasi pada produksi embrio domba secara *in vitro*. Disertasi Pasca Sarjana IPB. Bogor.
- Kaiin, E.M., S. Said & B. Tappa. 2008. Kelahiran anak sapi hasil fertilisasi secara *in vitro* dengan sperma hasil pemisahan. Media Peternakan, hlm. 22-28. Vol. 31 No. 1.
- Kruip, Th. A. M., Cran, D. E., Beneden, T.H and Dielemen S.J. 1983. Structural changes in bovine oocytes during final maturation *in vitro*. Gamate Research 8: 29-47.
- Loos, de F.,C. van Fillet, P. van Maurick and T.H, A.M. Kruip. 1998. Morphology of mature oocyte. Gemete res. 24:197-204.
- Mundana, M dan Jaswandi. 2001. Potensi dan viabilitas oosit sapi Pesisir untuk produksi embrio in vitro. Laporan penelitian Dosen Muda. BBI Dikti.

- Partodihardjo, S. 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. Cetakan Ketiga. Mutiara Sumber Widya. Jakarta.
- Paswhe, C. H., S. M. Totey and S.K Jain. 1994. A Comparison of three metods of recovery of goat for *in vitro* maturation and fertilization. *Threriogenology*. 42:117-125.
- Peters. 1992. Embryo development *in vitro* to the blastosysts in cattle, pigs and sheep. *Anim. Reprod. Sci*.
- Salisbury, G. W. dan N. L. VanDemark. 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. Terjemahan R. Djanuar. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Sirard, M. A and R. D. Lambert. 1986. Birth of calves after *in vitro* fertilization using laparoscopy and rabbit oviduct incubation of zygot. In: I. Gordon (Ed). *Laboratory Production of Cattle Embryos*. Cambridge Unversity Press., Cambridge.
- Sujoko. H, H Setiadi. M. A, Boediono.A, 2009. Seleksi spermatozoa domba Garut dengan metode sentrifugasi gradient densitas percoll. *Jurnal Veteriner*. Vol 10 No ; 125 – 132.
- Suprihatin, T. 2008. Korelasi antra oosit domba yang dikorelasi dari rumah pemotongan hewan dengan tingkat fertiilsasi setelah fertilisasi *in vitro*. *Buletin Anatomi dan Fisiologi* Vol. XVI. No 2.
- Steel, R. G. D. and J. H. Torrie.1994. Prinsip dan Prosedur Statistik. Suatu Pendekatan Biometrik (diterjemahkan oleh : B. Soemantri). Gramedia, Jakarta.
- Taurin, B., S. Dewiki dan S.Y.P.K. Hardini. 2000. Materi Pokok Inseminasi Buatan. Universitas Terbuka, Jakarta.
- _____. 1981. Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa, Bandung.
- Tornell, J., H. Billig and T. Hillensjo. 1991. Regulation of maturation by changes in ovarian levels of cyclic nucleotides. In: I. Gordon (Ed). *Laboratory Production of Cattle Embryos*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Toelihere, M. R. 1985. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Cetakan Ketiga. Angkasa, Bandung.
- _____. 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak. Cetakan Ketiga. Angkasa, Bandung.

Widjiati. 2007. Induksi Maturasi Oosit Secara *In Vitro* oleh TGF- β asal Oosit Komulus Komplek, [disertasi]. Universitas Brawijaya. Malang.



Lampiran 1. Komposisi Media Koleksi (PBS)

No.	Bahan	Jumlah (gr/ml) 500 ml
1.	NaCl	4.00 g
2.	KCl	0.10 g
3.	CaCl	0.05 g
4.	MgCl	0.023 g
5.	KH_2PO_4	0.10 g
6.	Na_2PO_4	0.575 g
7.	Glukosa	0.50 g
8.	Piruvat Acyd	0.018 g
9.	Serum	10 %
10.	Gentamicin	10 $\mu\text{l/ml}$



Lampiran 2. Komposisi Media Pematangan TCM-199

Tissue Culture Medium (TCM)-199 (20 ml)

Bahan	komposisi
TCM – 199 Powder	0.18 g
NaHCO ₃	0.044
Serum	1 ml
FSH (Sigma, USA)	40 µl
Gentamicin (sigma, USA)	40 µl



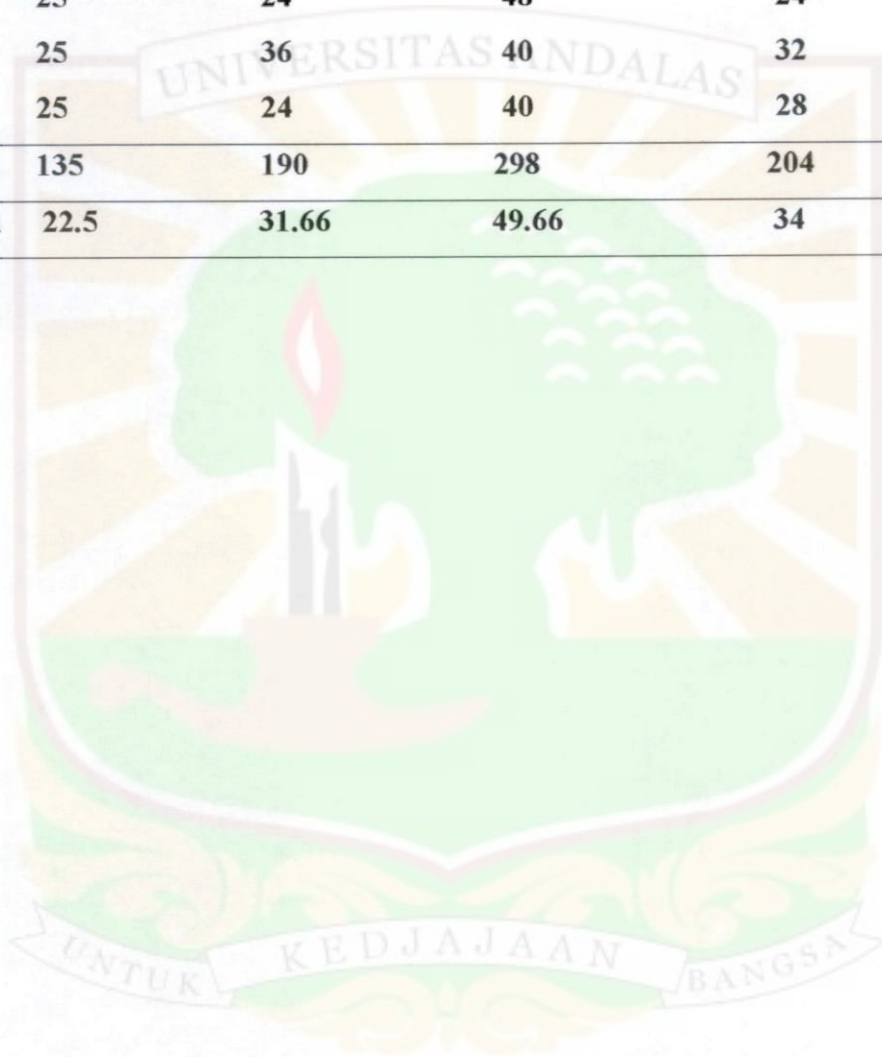
Lampiran 3. Komposisi Media Fertilisasi (TALP)

No.	Bahan	Jumlah (gr/ml) 500 ml
1.	NaCl	2.91 g
2.	KCl	0.115 g
3.	CaCl	0.145 g
4.	MgCl	0.155 g
5.	NaH ₂ PO ₄	0.02 g
6.	NaHCO ₃	1.045 g
7.	Asam Laktat	1.90 g
8.	Hepes	1.19 g
9.	Piruvat acyd	0.55 g
10.	Serum	10%
11.	Gentamicin	10µl/ml
12.	Caffein	0.485 g



Lampiran 4. persentase fertilisasi oosit menggunakan semen beku BIB

No.	pematangan dan fertilisasi oosit menggunakan semen beku BIB(%)			
	Jumlah Oosit	Tuah Sakato	Singosari	Lembang
7.	10	30	50	40
8.	25	32	52	40
9.	25	44	68	40
10.	25	24	48	24
11.	25	36	40	32
12.	25	24	40	28
Jumlah	135	190	298	204
Rata-rata	22.5	31.66	49.66	34



Lampiran 5. Analisis Statistik Rancangan Acak Kelompok (RAK) Dan Uji Lanjut Duncan's Multiple Range Test (DMRT) Persentase Fertilisasi Oosit Sapi Dalam Berbagai Perlakuan

Ulangan	Perlakuan			Total	Rataan
	A	B	C		
1.	30	50	40	120	40
2.	32	52	40	124	41.33
3.	44	68	40	152	50.66
4.	24	48	24	96	32
5.	36	40	32	108	36
6.	24	40	28	92	30.66
Jumlah	190	298	204	692	-
Rata-rata	31.66	49.66	34	-	38.44
Standar Deviasi	7.633	10.308	7.042		

$$\begin{aligned}
 FK &= (Y)^2 : n \\
 &= (692)^2 : 18 \\
 &= 478864 : 18 \\
 &= 26603.55
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK P &= \frac{190^2}{6} + \frac{298^2}{6} + \frac{240^2}{6} - FK \\
 &= 6016.67 + 14800.67 + 6936 - 26603.55 \\
 &= 27753.34 - 26603.55 \\
 &= 1149.79
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK K &= \frac{120^2}{3} + \frac{124^2}{3} + \frac{152^2}{3} + \frac{96^2}{3} + \frac{180^2}{3} + \frac{92^2}{3} - FK \\
 &= 4800 + 5125.33 + 7701.33 + 3072 + 3888 + 2821.33 - 26603.55 \\
 &= 27407.99 - 26603.55 \\
 &= 804.44
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK T &= 30^2 + 50^2 + \dots + 28^2 \\
 &= 28884 - 26603,55 \\
 &= 2280.45
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK S &= JK T - (JK P + JK K) \\
 &= 2280.45 - 1954.23 \\
 &= 326.22
 \end{aligned}$$

Analisis Keragaman

SK	Db	JK	KT	F hitung	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	2	1149.79	574.895	17.633**	4.10	7.56
Kelompok	5	804.44	160.888			
Sisa	10	326.22	32.622			
Total	17	2280.45				

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata ($P < 0.01$)

Uji lanjut

$$R(p, v, \alpha) = \sqrt{\frac{KTS}{r}} = \sqrt{\frac{32,622}{6}} = 2,233$$

Perlakuan	SE	SSR (5%)		LSR (1%)	
		0.05	0.01	0.05	0.01
2	2.233	3.15	4.48	7.345	10.00
3	2.233	3.30	4.73	7.698	10.56

Urutan rataan perlakuan :

A	B	C
31.66	49.66	34

Perbandingan nilai beda nyata

Perlakuan	Selisih	LSR		keterangan
		0.05	0.01	
B - C	15.66	7.45	10.00	**
B - A	18.00	7.698	10.56	**
C - A	2.34	7.45	10.00	ns

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata ($P < 0.01$)

ns = berbeda tidak nyata ($P > 0.05$)

A = 31.66^a

B = 49.66^b

C = 34^a



Lampiran 6. Analisis Statistik Rancangan Acak Kelompok (RAK) Dan Uji Lanjut Duncan's Multiple Range Test (DMRT) Persentase Perkembangan Embrio Cleavage Tahap 2 Sel.

Ulangan	Perlakuan			Total	Rataan
	A	B	C		
1.	10	10	10	50	16.66
2.	8	20	24	52	17.33
3.	16	52	4	72	24
4.	4	36	12	52	17.33
5.	20	36	24	80	26.66
6.	16	28	12	56	18.66
Jumlah	74	202	86	362	-
Rata-rata	12.33	33.66	14.33	-	25.55
Standar deviasi	5.988	10.764	8.041		

$$\begin{aligned}
 FK &= (Y)^2 : n \\
 &= (362)^2 : 18 \\
 &= 131044 : 18 \\
 &= 7280,22
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK P &= \frac{74^2}{6} + \frac{202^2}{6} + \frac{86^2}{6} - FK \\
 &= 912.66 + 6800.66 + 1232.66 - FK \\
 &= 8945.98 - 7280.22 \\
 &= 1665.76
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK K &= \frac{50^2}{3} + \frac{52^2}{3} + \frac{72^2}{3} + \frac{52^2}{3} + \frac{180^2}{3} + \frac{56^2}{3} - FK \\
 &= 833.33 + 901.33 + 1728 + 901.33 + 2133.33 + 1045.33 - 7280.22 \\
 &= 7542.65 - 7280.22 \\
 &= 262.43
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK T &= 10^2 + 30^2 + \dots + 12^2 - FK \\
 &= 10028 - 7280.22 \\
 &= 2747.78
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK S &= JK T - (JK P + JK K) \\
 &= 2747.78 - (1665.76 + 262.43) \\
 &= 2747.78 - 1928.19 \\
 &= 819.59
 \end{aligned}$$

Analisis Keragaman

SK	Db	JK	KT	F hitung	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	2	1665.76	832.88	10.162**	4.10	7.56
Kelompok	5	262.43	52.486			
Sisa	10	819.59	81.959			
Total	17	2747.78				

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata ($P < 0.01$)

Uji lanjut

$$S_y = \sqrt{\frac{KTS}{r}} = \sqrt{\frac{81.959}{6}} = 3.695$$

Perlakuan	SE	SSR (5%)		LSR (1%)	
		0.05	0.01	0.05	0.01
2	3.695	3.15	4.48	11.639	16.55
3	3.695	3.30	4.73	12.193	17.477

A	B	C
12.33	33.66	14.33

Perbandingan nilai beda nyata

Perlakuan	Selisih	LSR		keterangan
		0.05	0.01	
A - B	21.33	11.639	16.55	**
A - C	2	12.193	17.477	ns
B - C	19.33	11.639	16.55	**

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata ($P < 0.01$)

ns = berbeda tidak nyata ($P > 0.05$)

A = 12.33^a

B = 33.66^b

C = 14.33^a



Lampiran 7. Analisis Statistik Rancangan Acak Kelompok (RAK) Dan Uji Lanjut Duncan's Multiple Range Test (DMRT) Persentase Perkembangan Embrio Cleavage Tahap 4 Sel.

Ulangan	Perlakuan			Total	Rataan
	A	B	C		
1.	0	10	10	20	6.66
2.	0	12	16	32	10.66
3.	16	24	4	44	14.66
4.	8	24	8	40	13.33
5.	16	24	16	56	18.66
6.	25	4	16	0	20
Jumlah	44	110	54	212	-
Rata-rata	7.3	18.33	9	-	70.63
Standar Deviasi	7.339	6.051	6.481		

$$\begin{aligned}
 FK &= (Y)^2 : n \\
 &= (212)^2 : 18 \\
 &= 44944 : 18 \\
 &= 2496.88
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK P &= \frac{44^2}{6} + \frac{110^2}{6} + \frac{54^2}{6} - FK \\
 &= 322.66 + 2016.66 + 486 - 2496.88 \\
 &= 2825.32 - 2496.88 \\
 &= 328.44
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK K &= \frac{20^2}{3} + \frac{32^2}{3} + \frac{44^2}{3} + \frac{40^2}{3} + \frac{56^2}{3} + \frac{20^2}{3} - FK \\
 &= 133.33 + 341.33 + 645.33 + 533.33 + 1045.33 + 133.33 - FK \\
 &= 2831.98 - 2496.88
 \end{aligned}$$

$$= 335.1$$

$$JK T = 0^2 + 10^2 + \dots + 0^2 - FK$$

$$= 3512 - 2496.88$$

$$= 1015.12$$

$$JK S = JK T - (JK P + JK K)$$

$$= 1015.12 - (328.44 - 335.1)$$

$$= 1015.12 - 663.54$$

$$= 351.58$$

Analisis Keragaman

SK	Db	JK	KT	Fhitung	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	2	328.44	164.22	4.67*	4.10	7.56
Kelompok	5	335.1	67.02			
Sisa	10	351.58	35.16			
Total	17	1015.12				

Keterangan : * = Berbeda nyata ($P < 0.05$)

Uji lanjut

$$S_y = \sqrt{\frac{KTS}{r}} = \sqrt{\frac{35.16}{6}} = 2.42$$

Perlakuan	SE	SSR (5%)		LSR (1%)	
		0.05	0.01	0.05	0.01
2	2.42	3.15	4.48	7.62	10.84
3	2.42	3.30	4.73	7.98	11.45

Urutan perlakuan

A	B	C
7.3	18.33	9

Perbandingan nilai beda nyata

Perlakuan	Selisih	LSR		keterangan
		0.05	0.01	
A - B	9.33	7.62	10.84	**
A - C	11.03	7.98	11.45	ns
B - C	1.7	7.62	10.84	**

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata ($P < 0.01$)

ns = berbeda tidak nyata ($P > 0.05$)

A = 7.3^a

B = 18.3^b

C = 9^a



Lampiran 8. Analisis Statistik Rancangan Acak Kelompok (RAK) Dan Uji Lanjut Duncan's Multiple Range Test (DMRT) Persentase Perkembangan embrio cleavage tahap 8 sel.

Ulangan	Perlakuan			Total	Rataan
	A	B	C		
1.	0	10	10	20	6.66
2.	0	4	0	4	1.33
3.	0	16	0	16	5.33
4.	4	8	4	16	5.33
5.	12	20	12	44	14.66
6.	0	8	0	8	2.66
Jumlah	16	66	26	108	-
Rata-rata	2.66	11	4.33	-	5.995
Standar Deviasi	4.844	5.899	5.498		

$$FK = (Y)^2 : n$$

$$= (108)^2 : 18$$

$$= 11664 : 18$$

$$= 648$$

$$JKP = \frac{16^2}{6} + \frac{66^2}{6} + \frac{26^2}{6} - FK$$

$$= 42.66 + 726 + 112.66 - 648$$

$$= 881.32 - 648$$

$$= 233.32$$

$$JK K = \frac{20^2}{3} + \frac{4^2}{3} + \frac{16^2}{3} + \frac{16^2}{3} + \frac{44^2}{3} + \frac{8^2}{3} - FK$$

$$= 133.33 + 5.33 + 85.33 + 85.33 + 645.33 + 21.33 - FK$$

$$= 975.98 - 648$$

$$= 327.98$$

$$\begin{aligned}
 JK T &= 0^2 + 10^2 + \dots + 0^2 - FK \\
 &= 1320 - 648 \\
 &= 672
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK S &= JK T - (JK P + JK K) \\
 &= 672 - (233.32 + 327.98) \\
 &= 672 - 561.3 \\
 &= 110.7
 \end{aligned}$$

Analisis Keragaman

SK	Db	JK	KT	Fhitung	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	2	233.32	116.66	10.53**	4.10	7.56
Kelompok	5	327.98	65.59			
Sisa	10	110.7	11.07			
Total	17	672				

Keterangan : ** = Berbeda nyata ($P < 0.05$)

Uji lanjut

$$Sy = \sqrt{\frac{KTS}{r}} = \sqrt{\frac{11,07}{6}} = 1.36$$

Perlakuan	SE	SSR (5%)		LSR (1%)	
		0.05	0.01	0.05	0.01
2	1.36	3.15	4.48	4.28	6.09
3	1.36	3.30	4.73	4.48	6.43

Urutan Perlakuan

A	B	C
2.66	11	4.33

Perbandingan nilai beda nyata

Perlakuan	Selisih	LSR		keterangan
		0.05	0.01	
A - B	8.34	4.28	6.09	**
A - C	1.67	4.48	6.43	ns
B - C	6.67	4.28	6.09	**

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata ($P < 0.01$)

ns = berbeda tidak nyata ($P > 0.05$)

A = 2.66^a

B = 11^b

C = 4.33^a



Lampiran 9. Persentase embrio cleavage hasil fertilisasi *in vitro* dari tahap 2 sel, 4 sel dan 8 sel.

Sumber Semen (BIB)	Angka cleavage (%)		
	2 sel	4 sel	8 sel
Tuah Sakato	(12,33) ^a	(7.3) ^a	(2.66) ^a
Singosari	(33.66) ^b	(18.33) ^b	(11) ^b
Lembang	(14.33) ^a	(9) ^a	(4.33) ^a



Lampiran 10. Analisis Statistik Rancangan Acak Kelompok (RAK) Dan Uji Lanjut Duncan's Multiple Range Test (DMRT) Persentase Motilitas Spermatozoa dari Masing-Masing Semen Beku.

Ulangan	Sumber Semen Beku			Total	Rataan
	Tuah Sakato	Singosari	Lembang		
1.	55	70	55	180	60
2.	58	70	57	185	61.66
3.	55	69	58	182	60.66
4.	55	68	49	172	57.33
5.	50	65	55	170	56.66
6.	50	65	50	165	55
Jumlah	323	407	324	1054	-
Rata-rata	53.83	67.83	54	-	58.55
Standar Deviasi	3.188	2.316	3.687		

$$FK = (Y)^2 : n$$

$$= (1054)^2 : 18$$

$$= 1110916 : 18$$

$$= 61717.55$$

$$JKP = \frac{323^2}{6} + \frac{407^2}{6} + \frac{324^2}{6} - FK$$

$$= 17388.16 + 27608.16 + 17496 - 61717.55$$

$$= 62492.32 - 61717.55$$

$$= 774.77$$

$$JK K = \frac{180^2}{3} + \frac{185^2}{3} + \frac{182^2}{3} + \frac{172^2}{3} + \frac{170^2}{3} + \frac{162^2}{3} - FK$$

$$= 10800 + 11408.33 + 11041.33 + 9861.33 + 9633.33 + 9075 - 61717.55$$

$$= 61819.32 - 61717.55$$

$$= 101.77$$

$$JK T = 55^2 + 70^2 + \dots + 50^2 - FK$$

$$= 62638 - 61717.55$$

$$= 920.45$$

$$JK S = JK T - (JK P + JK K)$$

$$= 920.45 - (774.77 + 101.77)$$

$$= 920.45 - 876.54$$

$$= 43.91$$

Analisis Keragaman

SK	Db	JK	KT	Fhitung	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	2	774.77	387.38	88.24**	4.10	7.56
Kelompok	5	101.77	20.34			
Sisa	10	110.7	4.39			
Total	17	9020.45				

Keterangan : ** = Berbeda nyata ($P < 0.05$)

Uji lanjut

$$S_y = \sqrt{\frac{KTS}{r}} = \sqrt{\frac{4.39}{6}} = 0.85$$

Perlakuan	SE	SSR (5%)		LSR (1%)	
		0.05	0.01	0.05	0.01
2	0.85	3.15	4.48	2.67	3.80
3	0.85	3.30	4.73	2.80	4.02

Urutan Perlakuan

A	B	C
53.83	67.83	54

Perbandingan nilai beda nyata

Perlakuan	Selisih	LSR		keterangan
		0.05	0.01	
A - B	14	2.67	3.80	**
A - C	1.67	2.80	4.02	ns
B - C	6.67	2.67	3.80	**

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata ($P < 0.01$)

ns = berbeda tidak nyata ($P > 0.05$)

A = 53.83^a

B = 67^b

C = 54^a



MILIK
UPT PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS ANDALAS

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Pilubang Kecamatan Harau Kabupaten Lima Puluh Kota pada tanggal 27 Desember 1988. Anak pertama dari lima bersaudara, dari pasangan Ayahanda Asnawir dan Ibunda Yusna. Pendidikan formal yang pernah Penulis tempuh, pada Tahun 2001 Penulis menamatkan pendidikan Sekolah Dasar di SD Negeri 14 Pilubang Kecamatan Harau Kabupaten Lima Puluh Kota, pada Tahun 2004 Penulis menamatkan pendidikan Sekolah Lanjutan Tingkat Pertama di SLTP Negeri 2 Harau Kecamatan Harau Kabupaten Lima Puluh Kota, pada Tahun 2007 Penulis menyelesaikan Sekolah Menengah Atas di SPP Negeri Padang Mengatas Kabupaten Lima Puluh Kota. Sejak Tahun 2007 Penulis tercatat sebagai mahasiswi di Fakultas Peternakan Jurusan Produksi Ternak Program Studi Produksi Ternak yang diterima melalui jalur PMDK.

Pada bulan Juni penulis melaksanakan KKN selama lebih kurang dua bulan mulai dari tanggal 12 Juni sampai dengan 24 Agustus 2010, dan pada tanggal 28 September 2010 Penulis melaksanakan Farm Experience di Fakultas Peternakan sampai tanggal 19 Februari 2011. Penulis melaksanakan penelitian di Laboratorium Reproduksi Ternak Fakultas Peternakan, mulai dari tanggal 13 Juni sampai dengan tanggal 22 Juli 2011. Kemudian menamatkan pendidikan Sarjana Peternakan tanggal 01 November 2011.

Penulis

Zola Asyuni