

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Langkah-langkah Sterilisasi Alat

1. Alat-alat yang digunakan dicuci terlebih dahulu dengan air kran sebanyak 5-10 kali.
2. Alat direndam dalam air yang mengandung teapol 1% *overnight*.
3. Alat-alat dibilas sebanyak 10-20 kali.
4. Dibilas dengan air destilasi.
5. Alat-alat dimasukkan oven dengan suhu 60° C sampai kering.
6. Dikeluarkan dari oven dan dibungkus dengan *aluminium foil*.
7. Alat-alat glassware kemudian disterilisasi dengan oven bersuhu 125° C selama 3 jam.
8. Alat-alat plastik dan larutan yang akan digunakan disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121° C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.
9. Alat-alat yang telah steril disimpan dalam lemari.

**Lampiran 2.** Bahan-bahan SDS-PAGE *Separating Gel* dan *Stacking Gel*

LT 3. *Separating Gel* 12,5%

Nama bahan	Jumlah
Poliakrilamid	2300 $\mu$ l
Tris HCl pH 8,8	1300 $\mu$ l
dH <sub>2</sub> O	1600 $\mu$ l
APS	75 $\mu$ l
SDS 10%	75 $\mu$ l
TEMED	5 $\mu$ l

LT 4. *Stacking Gel* 3%

Nama bahan	Jumlah
Poliakrilamid	450 $\mu$ l
Tris HCl pH 6,8	380 $\mu$ l
dH <sub>2</sub> O	2100 $\mu$ l
APS	30 $\mu$ l
SDS 10%	30 $\mu$ l
TEMED	5 $\mu$ l

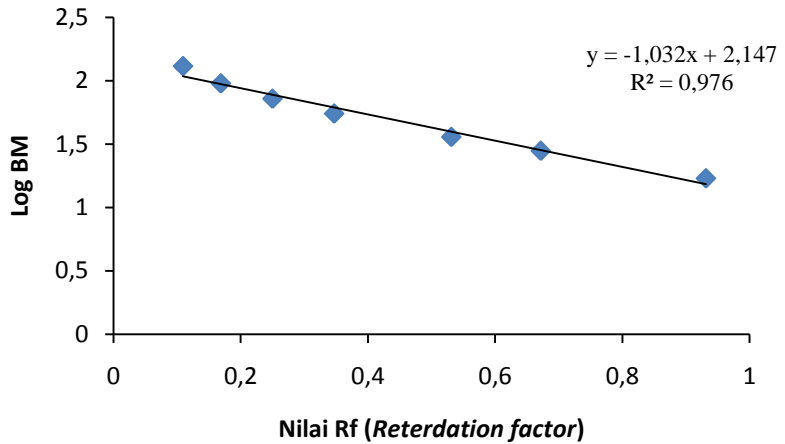
### Lampiran 3. Pembuatan Kurva Berat Molekul Cairan Folikel

Berat molekul cairan folikel dapat ditentukan dengan menggunakan bantuan kurva standar. Pembuatan kurva standar dilakukan dengan menghitung Rf (*Reterdation factor*) dari masing-masing pita dengan menggunakan rumus:

$$Rf = \frac{\text{Jarak pergerakan protein dari tempat awal (cm)}}{\text{Jarak pergerakan warna pelacak dari tempat awal (cm)}}$$

LT 5. Berat molekul dan nilai Rf protein standar

Rf marker	a	b	Rf (x)	BM (kDa)	Log BM (y)
pita 1	0,107	2,133	0,050164	250	2,39794
pita 2	0,233	2,133	0,109236	130	2,113943
pita 3	0,360	2,133	0,168776	95	1,977724
pita 4	0,533	2,133	0,249883	72	1,857332
pita 5	0,740	2,133	0,346929	55	1,740363
pita 6	1,133	2,133	0,531177	36	1,556303
pita 7	1,433	2,133	0,671824	28	1,447158
pita 8	1,987	2,133	0,931552	17	1,230449

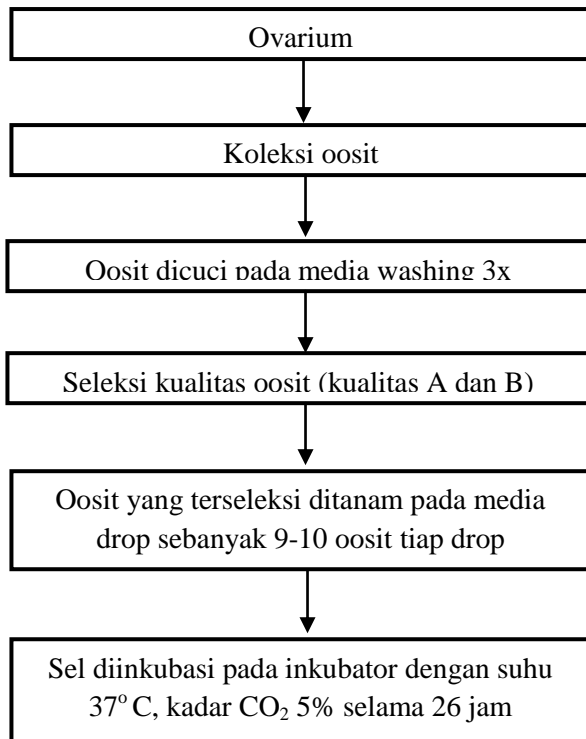


LG 6. Kurva berat molekul standar berdasarkan persamaan regresi linier

LT 6. Berat molekul dan nilai Rf protein cairan folikel

Pita Sampel	a	b	Rf	Log BM	BM (kDa)
1	0,107	2,133	0,0502	2,0952	124,52
2	0,200	2,133	0,0938	2,0502	112,26
3	0,273	2,133	0,1280	2,0149	103,49
4	0,360	2,133	0,1688	1,9728	93,93
5	0,647	2,133	0,3033	1,8340	68,23
6	0,793	2,133	0,3718	1,7633	57,99
7	1,080	2,133	0,5063	1,6245	42,12
8	1,420	2,133	0,6657	1,4600	28,84

**Lampiran 4.** Teknik *In Vitro Maturation* (IVM)



## Lampiran 5. Bahan Pembuatan Media Kultur IVM

### LT 7. Pembuatan media TCM-199 pH 7,4(200 ml)

TCM-199	1,9 g
NaHCO <sub>3</sub>	0,44 g
DI Water	200 ml

### LT 8. Pembuatan media maturasi

Media maturasi kontrol pH 7,6 (10 ml)	
TCM-199	8 ml
Penstrep 10x	1 ml
FBS 10%	1 ml
FSH	15 µl
LH	35 µl

Media maturasi CF besar 20% pH 7,6 (10 ml)	
TCM-199	7 ml
Penstrep 10x	1 ml
CF besar 20%	2 ml
FSH	15 µl
LH	35 µl

### LT 9. Pembuatan media washing

Media Washing IVM pH 7,3-7,4 (10 ml)	
TCM-199	9 ml
Penstrep	1 ml

- Pengenceran Penstrep 10x (100 ml)
  - Penicillin : 5 mg/100 ml
  - Streptomycin : 2 mg/100 ml

**Lampiran 6.** Analisis statistik uji-t maturasi oosit terhadap ekspansi kumulus menggunakan SPSS

LT 10. Analisis data rata-rata ekspansi kumulus

Jenis Medium	Jumlah Oosit	Persentase (%) ekspansi kumulus		
		1	2	3
TCM 199 + FBS 10%	27	3,70±	29,63±	
		0,577	1,528	66,67± 1
TCM 199 + CF 20%	29	24,14±	37,93±	37,93±
		2,517	1,155	2,082

LT 11. Uji normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test					
		Perlakuan	Ek.Sempurna	Ek.Sebagian	Tidak eks
N		6	6	6	6
Normal parameters <sup>a</sup>	Mean	1.50	1.33	3.17	4.83
	Std. Deviation	.548	1.966	1.329	1.941
Post Extreme Differences	Absolute	.319	.251	.283	.226
	Positive	.319	.251	.217	.161
	Negative	-.319	-.249	-.283	-.226
Kolmogorov-Smirnov Z		.782	.615	.694	.554
Asymp. Sig (2-tailed)		.573	.844	.721	.919

a. Test distribution is Normal

LT 12. Uji T maturasi oosit terhadap ekspansi kumulus sempurna

Group Statistics					
	perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std.Error Mean
Ek. Sempurna	FBS 10%	3	.33	.577	.333
	CF 20%	3	2.33	2.517	1.453

		Independent Samples Test				
		Levene's Test for Equality of Variances				
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
Ek. Sempurna	Equal variances assumed	3.273	.145	-1.342	4	.251
	Equal variances not assumed			-1.342	2.210	.301

LT 13. Uji T maturasi oosit terhadap ekspansi kumulus sebagian

Group Statistics					
	Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Ek. Sebagian	FBS 10%	3	2.67	1.528	.882
	CF 20%	3	3.67	1.155	.667

		Independent Samples Test				
		Levene's Test for Equality of Variances				
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
Ek. Sebagian	Equal variances assumed	.235	.653	-.905	4	.417
	Equal variances not assumed			-.905	3.723	.420

LT 14. Uji T maturasi oosit terhadap kumulus tidak ekspansi

Group Statistics					
	Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Tidak Eks	FBS 10%	3	6.00	1.000	.577
	CF 20%	3	3.67	2.082	1.202

		Independent Samples Test				
		Levene's Test for Equality of Variances				
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
Tidak Eks	Equal variances assumed	2.286	.205	1.750	4	.155
	Equal variances not assumed			1.750	2.876	.182



