

## LAMPIRAN

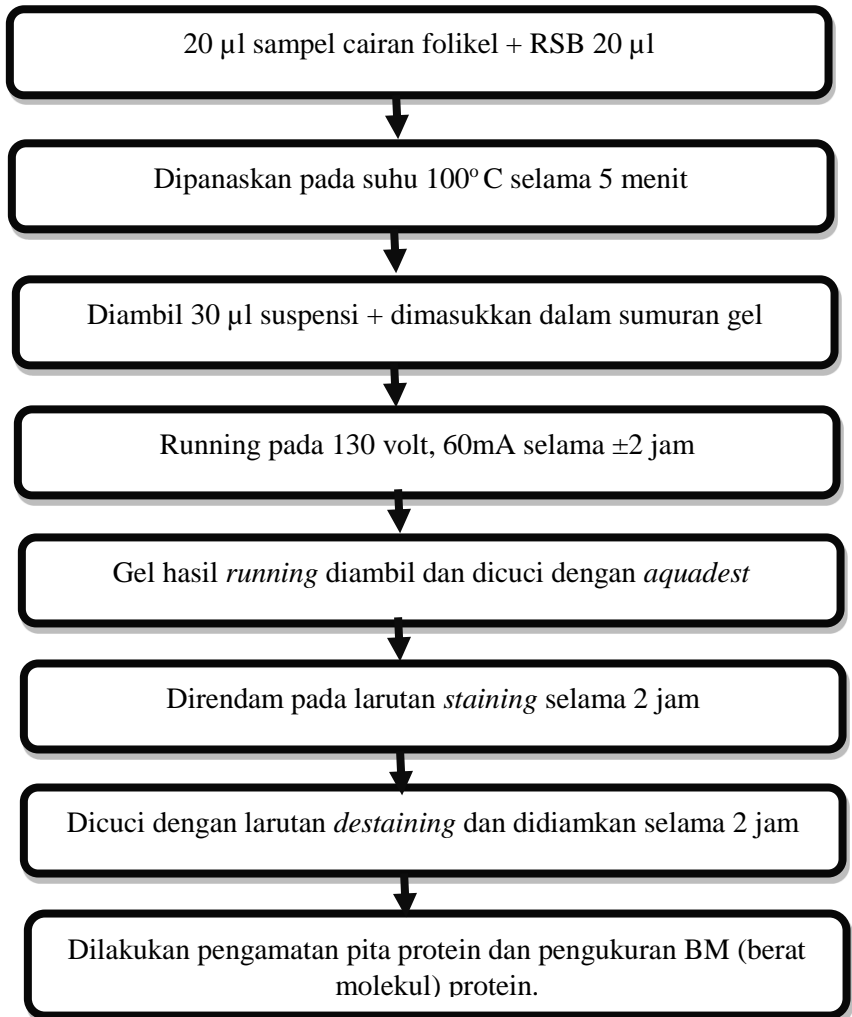
### Lampiran 1. Pembuatan Larutan NaCl

1. NaCl ditimbang sebanyak 9 gr,
2. Dimasukan dalam Erlenmeyer 1000 ml dan ditambahkan aquadest sebanyak 1000 ml
3. Dihomogenkan dengan menggunakan strirrer agar larutan menjadi homogen.
4. Larutan fisiologis dimasukkan ke dalam botol jam, masing-masing 100 ml dan ditutup dengan *aluminium foil*.
5. Botol jam yang berisi larutan NaCl fisiologis disterilkan di dalam autoklaf.
6. Botol dikeluarkan dari autoklaf dan disimpan dalam lemari, jika akan digunakan untuk pengambilan ovarium ditambahkan *penicillin* 0,006 g/100ml dan *streptomycin* 0,01 g/100 ml.

## Lampiran 2. 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 3. Langkah-langkah Elektroforesis



#### Lampiran 4. Bahan SDS-PAGE

##### LT 4. Bahan *Separating gel* 12,5%

Nama Bahan	Jumlah
Poliakrilamid	2300 $\mu$ l
Tris-Hcl pH 8,8 1M	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 5. Bahan *Stacking gel* 5%

Nama Bahan	Jumlah
Poliakrilamid 30%	450 $\mu$ l
Tris-Hcl pH 6,8 1M	380 $\mu$ l
dH <sub>2</sub> O	2100 $\mu$ l
APS	30 $\mu$ l
SDS 10%	30 $\mu$ l
TEMED	5 $\mu$ l

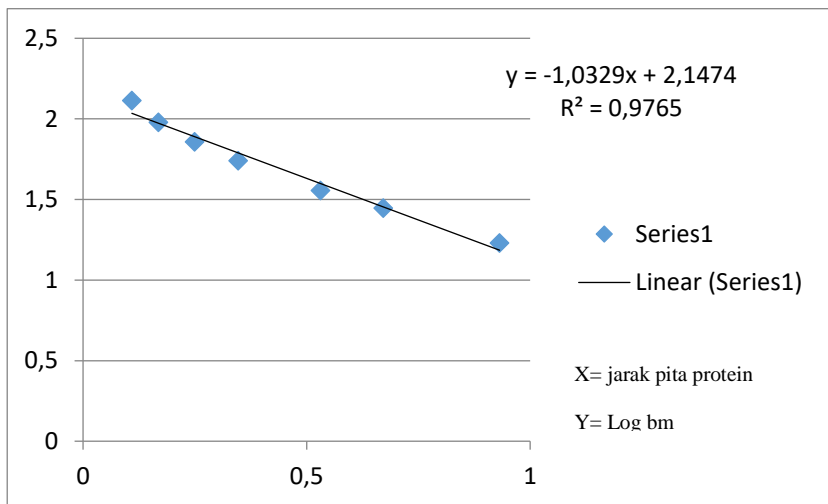
## Lampiran 5. Pembuatan Kurva Berat Molekul

Penentuan berat molekul Cairan Folikel Kecil Sapi dengan bantuan protein standart. Menentukan berat molekul dilakukan dengan menghitung Rf (Retardation Factor) dari masing-masing pita menggunakan rumus (Bilqis, 2013) :

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

LT 6. Nilai Rf dan berat molekul protein standart

Rf marker	A	B	rf = a/b	bm	log bm
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



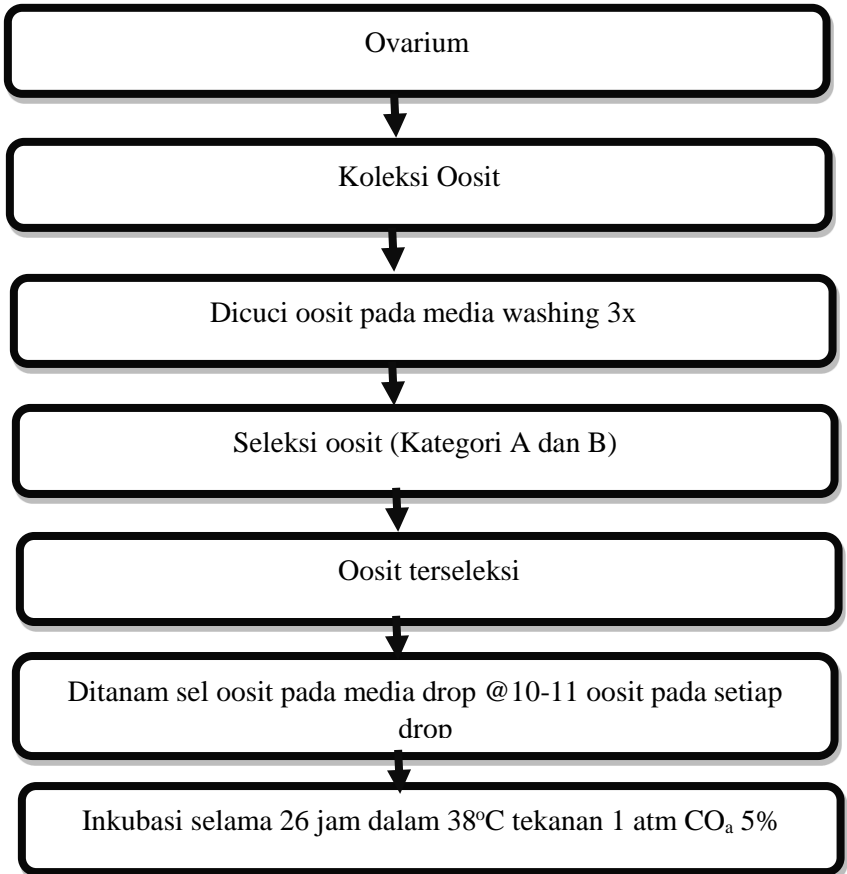
Maka  $y = -1,0329x + 2,1474$

LG 9. Grafik nilai Rf dan berat molekul protein standart

LT 7. Nilai Rf dan berat molekul protein cairan folikel

<b>Sampel</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>rf</b>	<b>log bm</b>	<b>Bm</b>
pita 1	0,093	2,133	0,043601	2,102004	126,4749
pita 2	0,193	2,133	0,090483	2,053622	113,1414
pita 3	0,267	2,133	0,125176	2,017819	104,1882
pita 4	0,367	2,133	0,172058	1,969436	93,20431
pita 5	0,640	2,133	0,300047	1,837352	68,76249
pita 6	0,787	2,133	0,368964	1,766229	58,37532
pita 7	0,920	2,133	0,431317	1,70188	50,3362
pita 8	1,060	2,133	0,496953	1,634145	43,06702
pita 9	1,313	2,133	0,615565	1,511737	32,48905
pita 10	1,567	2,133	0,734646	1,388845	24,48191

## Lampiran 6. Teknik Maturasi *in vitro*



## Lampiran 7. Perhitungan Pembuatan Media Maturasi *in vitro*

### LT 8. Bahan TCM-199

Nama bahan	Jumlah
TCM 199	1,9 gr
NaHCO <sub>3</sub>	0,44 gr
<i>DI water</i>	200 ml

### LT 9. Bahan Media Maturasi Kontrol

Nama bahan	Jumlah
TCM 199	8 ml
FBS 10%	1 ml
LH	35 µl
FSH	15 µl
Penstrep	1 ml

### LT 10. Bahan Media Maturasi Perlakuan

Nama bahan	Jumlah
TCM 199	7 ml
CF 20%	2 ml
LH	35 µl
FSH	15 µl
Penstrep	1 ml



LT 11. Bahan Media *Washing*

Nama bahan	Jumlah
TCM 199	9 ml
Penstrep	1 ml

**Lampiran 8.** Analisis statistik uji T maturasi oosit terhadap ekspansi kumulus menggunakan SPSS

LT 12. Data Tingkat Ekspansi Kumulus

Jenis Medium	Jumlah Oosit	Level Ekspansi Sel Kumulus		
		1	2	3
TCM199+10%FBS	55	3,6±0,547	14,54±0,894	81,81±1,224
TCM199+20%CF	51	3,9±0,547	39,21±1,414	52,72±1,788

LT 13. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Perlakuan	EK_1	EK_2	EK_3
N		10	10	10	10
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	1.50	.40	2.80	7.40
	Std.Deviation	.527	.516	1.687	2.221
	Absolute Positive	.329	.381	.204	.164
	Negative	-.329	-.277	-.204	-.164
Kolmogorov-Smirnov Z		1.039	1.204	.645	.520
Asymp. Sig. (2-tailed)		.230	.110	.800	.950

LT 14. Uji T maturasi oosit terhadap ekspansi sempurna

		Perlakuan	N	Mean	Std.Deviation	Std. Error Mean
Ek.Sempurna	FBS 10%	5	.40	.548	.245	
	CF 20%	5	.40	.548	.245	

		Lavene's Test for Equality of Variance		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	T	df	Sig. (2-tailed)
EK SEMPURNA	Equal variance assumed	.000	1.000	.000	8	1.000
	Equal variances not assumed			.000	8.000	1.000

### LT 15. Uji T maturasi oosit terhadap ekspansi sebagian

	Perlakuan	N	Mean	Std.Deviation	Std. Error Mean
Ek.Sebagian	FBS 10%	5	1.60	.894	.400
	CF 20%	5	4.00	1.414	.632

		Lavene's Test for Equality of Variance		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	T	df	Sig. (2-tailed)
Ek. sebagian	Equal variance assumed	3.273	0.108	-3.207	8	0.12
	Equal variances not assumed			-3.207	6.759	.016

### LT 16. Uji T Maturasi Oosit terhadap tidak ekspansi

	Perlakuan	N	Mean	Std.Deviation	Std. Error Mean
Tidak Ek.	FBS 10%	5	9.00	1.225	.548
	CF 20%	5	5.80	1.789	.800

		Lavene's Test for Equality of Variance		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	T	df	Sig. (2-tailed)
Tidak Ek.	Equal variance assumed	1.566	.246	3.301	8	0.11
	Equal variances not assumed			3.301	7.074	.013

