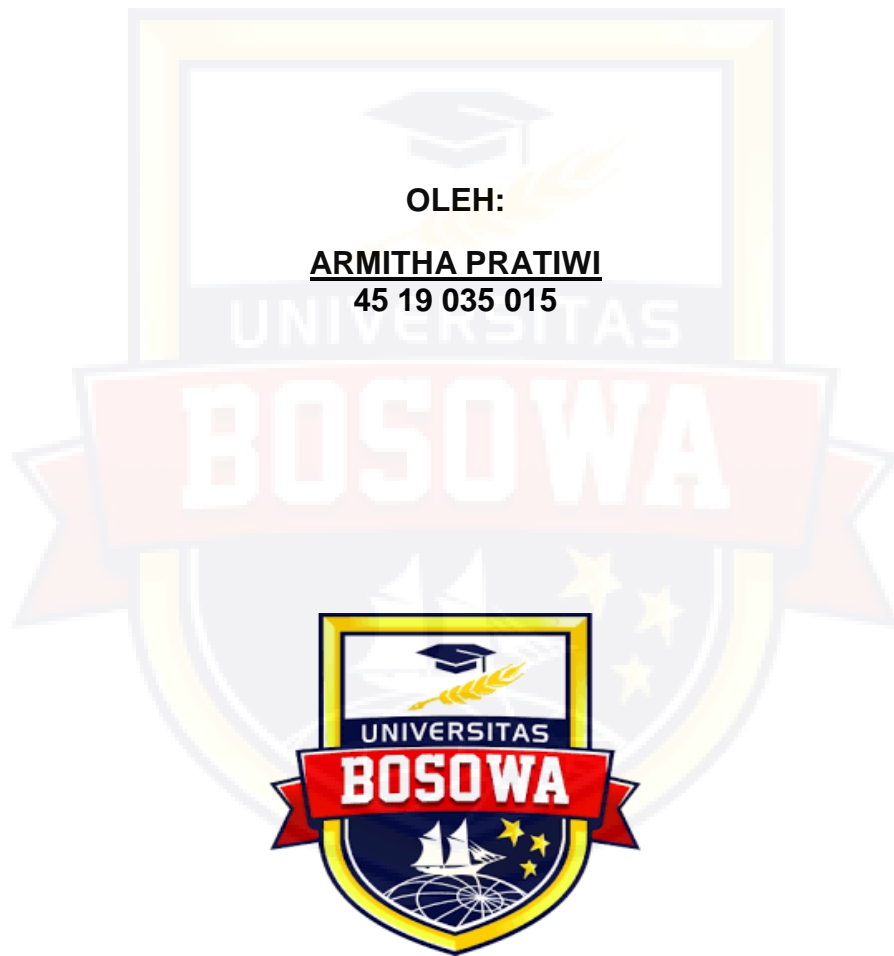


**TINGKAT MATURASI OOSIT SAPI BALI DENGAN SUPLEMENTASI
GSH PADA MEDIA MATURASI**

SKRIPSI

OLEH:

ARMITHA PRATIWI
45 19 035 015



**JURUSAN PETERNAKAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS BOSOWA
MAKASSAR**

2023

**TINGKAT MATURASI OOSIT SAPI BALI DENGAN SUPLEMENTASI
GSH PADA MEDIA MATURASI**

SKRIPSI

OLEH:

ARMITHA PRATIWI

45 19 035 015

Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana
Pada Program Studi Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Bosowa
Makassar

**JURUSAN PETERNAKAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS BOSOWA
MAKASSAR**

2023

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Tingkat maturasi oosit sapi Bali dengan suplementasi GSH pada media maturasi

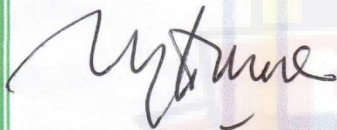
Nama : Armitha Pratiwi

Stambuk : 4519035015

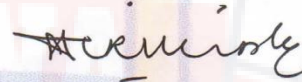
Program Studi : Peternakan

Fakultas : Pertanian

Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui :



Ir. Muhammad Idrus, MP
Pembimbing I



Dr. Ir. Sri Firmiaty, MP
Pembimbing II

Mengetahui:



Ir. Andi Tetti Fitriyah, M. Si, Ph.D
Dekan Fakultas Pertanian



Dr. Ir. Tati Murniati, MP
Ketua Jurusan

Tanggal Lulus : 07 September 2023

PERNYATAAN KEORISINILAN SKRIPSI

Nama Mahasiswa : Armitha Pratiwi

Stambuk : 45 19 035 015

Program Studi : Peternakan

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul "Tingkat Maturasi Oosit Sapi Bali Dengan Suplementasi GSH Pada Media Maturasi". Merupakan karya tulis seluruh ide yang ada dalam skripsi ini, kecuali yang saya nyatakan sebagai kutipan merupakan ide yang saya susun sendiri. Selain itu, tidak ada bagian dari skripsi ini yang telah digunakan sebelumnya untuk memperoleh gelar atau sertifikat akademik.

Jika pernyataan di atas terbukti sebaliknya, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah diterapkan oleh Fakultas Pertanian Universitas Bosowa Makassar.

Makassar, 07 September 2023



Armitha Pratiwi

RINGKASAN

Tingkat maturasi oosit sapi Bali dengan suplementasi GSH pada media maturasi (di bawah bimbingan Muhammad Idrus sebagai pembimbing utama dan Sri Firmiaty sebagai pembimbing anggota).

Proses maturasi oosit merupakan salah satu tahap penting dalam pelaksanaan *in vitro* maturation (IVM), yang selanjutnya digunakan dalam pelaksanaan *in vitro* fertilisasi (IVF). Proses maturasi oosit secara *in Vitro* sangat ditentukan oleh jenis suplemen, kualitas oosit dan media maturasi yang digunakan. Maturasi oosit dapat menyebabkan *reactive oxygen species* (ROS) seperti radikal bebas. Radikal bebas merupakan kelompok molekul kimia yang tidak stabil yang dapat menyebabkan kerusakan sel, sehingga dibutuhkan suatu bahan antioksidan yaitu *Glutathione* (GSH) dalam media maturasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat maturasi oosit sapi Bali dengan suplementasi GSH pada media maturasi.

Penelitian dilaksanakan bulan Maret-Mei 2023, menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 perlakuan penambahan *glutathion sulfhidryl* (GSH) pada media adaptasi yaitu P0 (kontrol), P1 (0,5mM), P2 (1mM), P3 (1,5mM) dengan 6 kali ulangan.

Parameter penelitian adalah Tingkat maturasi, meliputi fase, fase germinal vesicle (GV), fase germinal vesicle breaking down (GVBD), fase metaphase I (M-I) dan fase metaphase II (M-II). Data dianalisis menggunakan ANOVA dibantu program software SPSS v16, jika terdapat perbedaan nyata, maka dilanjutkan dengan uji Duncan.

Hasil penelitian menunjukkan ada pengaruh penambahan GSH terhadap oosit metaphase II (M-II) P0, P1, P2, dan P3 berturut-turut 61,22^a, 69,30^{ab}, 75,56^b, dan 79,01^b (P<.05). Persentase oosit yang matang M II pada perlakuan GSH nyata lebih tinggi (P<0,05) dibanding kontrol. Glutathione bekerja dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas baru dan mengubah radikal bebas yang sudah ada menjadi bentuk molekul yang lebih stabil dan kurang berbahaya. Adapun pada fase germinal vesicle (GV) (P0, P1, P2 dan P3 berturut-turut 8,27^a, 2,50^a, 1,11^a, 2,71^a), Oosit yang GVBD (P0, P1, P2, dan P3 berturut-turut 7,68^a, 9,72^a, 7,26^a, 7,80^a) dan Oosit metaphase I (M-I) (P0, P1, P2, dan P3 berturut-turut 20,45^a, 18,47^a, 16,07^a, 8,10^a) tidak menunjukkan pengaruh (P>.05). Disimpulkan bahwa suplementasi antioksidan GSH pada media maturasi dengan konsentrasi 1,5 mM menunjukkan hasil yang terbaik yaitu oosit yang matang sebesar 79,01%.

Kata Kunci : Tingkat kematangan, Oosit, Sapi Bali, Antioksidan

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Alhamdulillah, dengan mengucapkan puji dan syukur, penulis panjatkan kehadiran Allah SWT, karena dengan izin, karunia, dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyusun skripsi ini dengan judul “Tingkat Maturasi Oosit Sapi Bali Dengan Suplementasi GSH Pada Media Maturasi” yang telah dilaksanakan di Laboratorium Produksi Embrio *in Vitro*, Gedung Lembaga dan Pengabdian Masyarakat (LPPM), Universitas Hasanuddin. Shalawat dan taslim tak lupa dihanturkan untuk Rasulullah muhammad SAW sebagai Rahmatanlilalamin bagi ummat manusia.

Melalui kesempatan ini dengan kerendahan hati perkenankan penulis menghanturkan terima kasih yang sebesar-besarnya, serta ucapan terima kasih kepada:

1. Rektor Universitas Bosowa serta jajarannya.
2. Dekan Fakultas Pertanian serta jajarannya.
3. Ketua Program Studi Peternakan Fakultas Pertanian serta jajarannya.
4. Bpk Ir. Muhammad Idrus, MP sebagai pembimbing utama dan ibu Dr.Ir. Sri Fimiaty, MP sebagai pembimbing anggota. Dengan ketulusan hati telah membimbing, memberikan petunjuk dan masukan-masukan yang sangat berguna bagi peneliti selama penelitian sampai selesainya penulisan skripsi ini.

5. Bapak Dr. Ir. Syarifudin, S.Pt., MP dan bapak Ahmad Muchlis, S.Pt, M.Si selaku penguji yang banyak memberikan masukan dan wawasan pengetahuan ilmu peternakan.
6. Prof. Dr. H. Herry Sonjaya, DEA.DES, selaku Kepala Lab Produksi Embryo In Vitro Universitas Hasanuddin Makassar yang telah memberikan motivasi, arahan dan ilmu yang bermanfaat.
7. Dr. Erni Damayanti, S.Pt, MP. Yang telah mengajarkan teknik mengkultur oosit sapi Bali secara *in vitro* dan membantu penulis dalam penelitian ini.
8. Ayahanda Asdar, S.P dan ibunda Juhenia, S.P yang selalu mendukung penulis baik secara moril maupun materil serta keluarga yang telah memberikan doa, kasih sayang, dorongan, semangat dan motivasi kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
9. Seluruh dosen dan staf yang tidak sempat penulis sebutkan satu persatu dalam lingkungan Jurusan Peternakan khususnya dan Fakultas Pertanian pada umumnya.
10. Teman penelitian saudari Andi Megawati, Taufik Hidayat, dan Kana Ary terima kasih atas kerja samanya selama penelitian.
11. Keluarga Besar Himpunan Mahasiswa Peternakan (HIMAPET) sebagai wadah membina talenta kepemimpinan penulis.
12. Teman-teman Peternakan Angkatan 2019 atas dukungan, bantuan dan sarannya.

Semoga segala bantuan dan bimbingan semua pihak dalam penyusunan skripsi ini mendapat imbalan dari Allah SWT, Aamiin.

Wassalamualaikum Wr.Wb.

Makassar, September 2023

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEORSINILAN SKRIPS	iv
RINGKASAN.....	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
 BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Penelitian	3
C. Manfaat Penelitian.....	3
D. Hipotesis	4
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Ovarium	5
B. Folikulogenesis dan Oogenesis.....	6
C. Maturasi Oosit <i>In Vitro</i>	9
D. Antioksidan <i>Glutathione</i>	10
E. Peranan Medium Maturasi	12
 BAB III METODE	
A. Waktu dan tempat penelitian	14
B. Bahan dan Alat.....	14
C. Rancangan Penelitian	14
D. Prosedur Penelitian	15
E. Pengamatan dan Analisis Data	16
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Tingkat Maturasi Oosit <i>In Vitro</i>	17

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan	21
B. Saran	22

DAFTAR PUSTAKA**LAMPIRAN**

DAFTAR TABEL

Thabel	Halaman
	<i>Teks</i>
1. Pengamatan oosit sapi Bali setelah maturasi in vitro	18



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Teks	Halaman
1.	Tingkat maturasi oosit sapi Bali	17



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Peningkatan jumlah penduduk sejalan dengan peningkatan kebutuhan protein hewani terutama daging sapi di Indonesia. Hal ini juga harus sejalan dengan peningkatan populasi sapi agar terjadi keseimbangan antara permintaan dan ketersediaan. Tingginya permintaan daging sapi mengakibatkan terjadinya peningkatan angka pemotongan sapi di Indonesia.

Peningkatan angka pemotongan sapi di Indonesia pada tahun 2016 sebanyak 1.163.459 ekor meningkat menjadi 1.429.202 ekor pada tahun 2018 (Direktorat Jendral Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian, 2018) dan sebesar 22.278 ekor sapi yang dipotong adalah sapi betina (Badan Pusat Statistik, 2019). Tingkat pemotongan sapi berbanding lurus dengan hasil limbah yang dihasilkan di Rumah Potong Hewan (RPH). Limbah yang dihasilkan dari RPH dapat dimanfaatkan sebagai sumber materi genetik sehingga dapat meningkatkan nilai gunanya (Febretrisiana dan Pamungkas, 2017). Upaya yang dapat dilakukan dalam memanfaatkan limbah dari RPH tersebut adalah dengan penerapan bioteknologi reproduksi PEIV (Produksi Embrio secara in Vitro).

Teknologi dalam bidang reproduksi telah banyak dikembangkan untuk meningkatkan kualitas maupun kuantitas ternak, salah satunya

dengan teknik *in Vitro* Fertilization (IVF) yang memerlukan oosit matang. *in Vitro* Maturation (IVM) merupakan salah satu tahapan penting dalam proses IVF, karena keberhasilannya sangat tergantung dari kualitas oosit yang dimatursi (Harissatria, 2012). Tingkat maturasi oosit dinilai berdasarkan dua kriteria yaitu pada tingkat maturasi inti (nuclear maturation) dan maturasi sitoplasma (cytoplasmic maturation) (Nurchahyo dkk., 2013).

Proses maturasi nukleus erat kaitannya dengan aktivitas RNA yaitu ditandai dengan perubahan nukleus dari fase diplotene ke metaphase II (Yulnawati, 2006). Indikator keberhasilan maturasi oosit ditandai dengan adanya ekspansi kumulus oophorus (Ciptadi dkk., 2011). Keberhasilan proses maturasi atau pematangan oosit secara *in Vitro* sangat ditentukan oleh jenis suplemen, kualitas oosit, dan media maturasi yang digunakan (Wattimena, 2011; Daoed dkk., 2013). Diameter folikel sebagai tolak ukur keberhasilan IVM (Sayuti dkk., 2007). Kemampuan maturasi oosit secara *in Vitro* lebih rendah daripada *in vivo* (Adifa dkk., 2010). Sehingga medium maturasi oosit pada produksi embrio *in Vitro* sering ditambahkan berbagai komponen, antara lain hormon gonadotropin, serum, dan antioksidan. Proses maturasi oosit akan terjadi metabolisme sel yang menghasilkan oksidan (radikal bebas) yang dapat menyebabkan kematian sel oleh karenanya penambahan antioksidan pada medium maturasi merupakan hal yang sangat penting (Bintara dkk., 2015; Argawal dkk., 2005).

Secara *in vivo*, kerusakan seluler akibat paparan radikal bebas dapat dicegah menggunakan endogenous antioksidan yang dimiliki oleh sel, contohnya enzim superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) dan *glutathione* (GSH) (Gupta dkk., 2008). Penambahan insulin transferrin selenium (ITS) ke dalam medium maturase oosit kambing efektif meningkatkan kematangan inti sel oosit pada *ivm* (Firmiaty, dkk., 2014).

Glutathione (GSH) mempunyai peranan yang penting dalam pematangan oosit. Proses dari pematangan sitoplasma oosit melibatkan sejumlah peristiwa molekuler, termasuk dalam sintesis komponen-komponen biokimia, protein phosphorilasi dan pengaktifan lintasan-lintasan metabolisme tertentu (Fausiah, 2014). Fungsi GSH (*Glutathione*) di dalam oosit sebagian besar berhubungan dengan antioksidan dan perlindungan terhadap aktivitas ROS (*Reactive Oxygen Species*). Hasil penelitian Fausiah (2014) menunjukkan bahwa penambahan GSH pada medium maturasi tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap tingkat pematangan inti oosit sapi Bali yang mencapai tahap metaphase II.

Berdasarkan uraian di atas maka dilakukan penelitian tentang tingkat maturasi oosit sapi Bali dengan suplementasi GSH pada media maturasi.

B . Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat maturasi oosit sapi Bali dengan suplementasi GSH pada media maturasi.

C. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah :

1. Pengembangan ilmu khususnya dibidang bioteknologi reproduksi dan salah satu upaya untuk meningkatkan populasi ternak sapi melalui produksi oosit berkualitas.
2. Sumber informasi bagi mahasiswa, peneliti, dosen dan instansi terkait tentang pemanfaatan antioksidan GSH sebagai upaya tingkat maturasi oosit sapi Bali pada media maturasi.

D. Hipotesis

Penambahan antioksidan GSH pada media maturasi dapat meningkatkan kualitas oosit sapi Bali.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Ovarium

Ovarium merupakan organ reproduksi utama pada ternak betina. Bentuk dan ukuran ovarium berbeda-beda berdasarkan spesies hewan, umur, dan status reproduksi struktur yang berada didalamnya, pada sapi ovarium berbentuk oval dan bervariasi dalam ukuran, panjang dan lebar. Ovarium sapi terbagi atas dua yaitu ovarium kiri dan ovarium kanan. Ovarium kanan dan kiri memiliki perbedaan aktivitas (Nuryadi, 2014).

Secara normal ovarium terletak di perbatasan kranial ligamentum lata uteri pada rantai ventrolateral pelvis dekat gerbang dalam pelvis. Ovarium terletak pada kantong yang dibentuk oleh ligament utero-ovarica dan mesovarium yang disebut bursa ovary. Umumnya ovarium bertaut pada mesovarium dan bagian ovarium yang tidak bertaut pada mesovarium menonjol pada cavum abdomen dan di permukaan inilah folikel menonjol keluar (Ismudiono dkk., 2010).

Ovarium mengandung folikel-folikel yang didalamnya terdapat masing-masing satu ovum. Pembentukan dan pertumbuhan folikel ini dipengaruhi oleh hormon FSH (*Folicle stimulating hormone*) yang dihasilkan oleh kelenjar *adenohipofise*. Folikel di dalam ovarium terdiri dari beberapa tahap yaitu folikel primer, terbentuk sejak masih dalam kandungan dan mengandung oogonium yang dikelilingi oleh satu lapis sel

folikuler kecil; folikel sekunder, terbentuk setelah hewan lahir dan sel folikulernya lebih banyak; folikel tertier, terbentuk pada saat hewan mencapai dewasa dan mulai mengalami siklus berahi; dan yang terakhir adalah folikel de Graaf, merupakan folikel terbesar pada ovarium pada waktu hewan betina menjelang berahi (Astuti, 2018).

Ovarium menghasilkan oogonia melalui pembelahan mitosis. Sekitar 1 (satu) juta oosit berkembang setelah fetus di lahirkan namun hanya beberapa ratus oosit yang akan diovulasikan. Umumnya oosit akan berkurang karena mengalami degenerasi dan atresia (Schatten, and Gheorghe, 2007).

B. Folikulogenesis Dan Oogenesis

Folikulogenesis merupakan suatu proses pematangan folikel pada korteks ovarium yang mencakup beberapa proses yaitu rekrutmen, seleksi, pertumbuhan, pematangan dan ovulasi. Peran utama pematangan folikel adalah untuk menghasilkan sejumlah oosit melalui proses oogenesis (Ridwan, 2020).

Proses pertumbuhan folikel, ovulasi dan pembentukan corpus luteum (CL) sangat dipengaruhi oleh sirkulasi hormon reproduksi dalam tubuh. Gonadotrophin releasing hormone (GnRH) yang dihasilkan oleh hypothalamus berfungsi menstimulasi pengeluaran *folicle stimulating hormone* (FSH) dan *luteinizing hormone* (LH) oleh hipofisa anterior sebagai respons terhadap estrogen atau progesteron. Ketika proses pertumbuhan folikel kecil (recruitment) berlangsung, mRNA meningkat.

Pada saat seleksi morfologis, folikel dominan mengandung estrogen dengan konsentrasi tinggi dalam cairan folikel dan segera setelah proses seleksi berakhir, maka folikel dominan banyak mengandung mRNA untuk reseptor gonadotrophin dan hormon steroid (Mutmainna, 2014).

Pada ovarium terdapat sejumlah folikel primordial imatur yang mengandung oosit primer yang juga imatur. Folikel primordial mengalami perubahan karakter histologis dan fisiologis akan terbentuk baik folikel tersier maupun folikel antral. Proses ini bergantung pada berbagai jenis hormon yang menyebabkan kecepatan folikulogenesis dan oogenesis yang berakhir adanya ovulasi atau sebaliknya atresia folikel (Pusfita, 2017).

Perkembangan folikel ovarium pada sapi ditandai dengan adanya gelombang pertumbuhan folikel ovarium. Satu gelombang didefinisikan sebagai suatu proses pertumbuhan folikel yang sinkron dari beberapa folikel kecil. Kelompok folikel kecil tersebut, salah satu diantaranya akan terseleksi dan tumbuh menjadi folikel dominan, sedangkan folikel lainnya akan terhenti pertumbuhannya dan menuju atresi. Setelah mencapai ukuran maksimal, folikel dominan juga akan mengalami atresi dan regresi. Atresi dari folikel dominan akan menyebabkan pertumbuhan gelombang folikel baru. Selama periode siklus estrus terjadi dua sampai tiga gelombang folikel. Pada gelombang yang kedua folikel dominannya 5 akan menjadi folikel ovulatori sedangkan folikel dominan dari gelombang ketiga akan mengalami ovulasi. Gelombang pertumbuhan folikel terjadi

bukan hanya selama siklus estrus, namun juga telah terjadi sebelum pubertas, selama kebuntingan dan selama periode *post partus* (Rasbi dan Vinton, 2001).

Pengelompokan folikel berdasarkan ukuran diameternya terbagi menjadi tiga kelompok yaitu dilakukan oleh tiga kelompok folikel tersebut adalah folikel ukuran kecil (2-3 mm), folikel ukuran sedang (3,1-5 mm), folikel ukuran besar (>5 mm) (Syamsuddin, 2017).

Oogenesis adalah suatu proses pembentukan, pertumbuhan dan pematangan dari gamet betina. Dimulai sejak embrional sampai setelah dilahirkan dan mencapai puncaknya pada saat ovulasi (Mutmainna, 2014).

Proses oogenesis terdiri dari beberapa tahap yaitu oogonium mengalami pembelahan mitosis berubah menjadi oosit primer. Oosit primer melakukan meiosis (tahap I), yang menghasilkan dua sel anak yang ukurannya tidak sama. Sel anak yang lebih besar adalah oosit sekunder yang bersifat haploid (n). Ukurannya lebih besar dari yang lain karena berisi lebih banyak sitoplasma dari oosit primer lain. Sel anak yang lebih kecil disebut badan kutub (polar body) pertama yang kemudian membelah lagi (Ridwan, 2020).

Ovum atau gamet hasil oogenesis mengandung semua materi yang diperlukan untuk metabolisme, inisiasi, untuk perkembangan awal embrio. Oleh karena itu, oogenesis selain memproduksi nucleus haploid juga memproduksi sejumlah simpanan protein dan enzim sitoplasma, mRNA, organel, dan substrak metabolic (Harmiatusun, 2017).

C. Maturasi Oosit *In Vitro*

Maturasi oosit secara *in Vitro* merupakan pematangan oosit yang dilakukan menggunakan medium di luar tubuh ternak. Oosit yang matang ditandai dengan keadaan oosit dengan sel kumulus yang sudah mengembang dan oosit telah sulit untuk dipisahkan (Ridwan, 2020). Pematangan *in Vitro* (IVM) oosit adalah teknik baru yang memungkinkan oosit yang belum matang diambil dari betina untuk mencapai kedewasaan oosit di media buatan di luar kondisi alam. Bisa diterapkan baik dalam siklus ovarium alami atau terstimulasi (Silvia, 2015).

Maturasi *in Vitro* merupakan tahapan krusial pada fertilisasi secara *in Vitro*, karena pada tahap ini oosit akan melanjutkan perkembangan sampai tahap metaphase II sehingga dapat difertilisasi dan mampu berkembang ke tahap lebih lanjut (Widyastuti dkk., 2015). Maturasi oosit *in Vitro* dimaksudkan agar oosit primer dapat berkembang menjadi oosit sekunder yang akan melakukan proses pembelahan meiosis dengan normal dan sempurna sehingga menghasilkan sel telur yang siap untuk dibuahi.

Sel-sel kumulus berperan penting dalam proses pematangan oosit secara *in Vitro*. Sel-sel kumulus dilepaskan sebelum maturasi, maka akan terjadi kelambatan dalam proses pematangan oosit atau bahkan tidak terjadi pematangan (Setiadi, 2002). Oosit yang memiliki sel-sel kumulus menunjukkan perkembangan yang lebih baik dibandingkan dengan oosit

yang telah dihilangkan sel kumulusnya terlebih dahulu (Bilodeau-Goeseels dan Panich, 2002).

Pematangan oosit meliputi pematangan sitoplasma dan inti (Rahman dkk., 2001) yang merupakan proses yang sangat penting dalam mendukung keberhasilan fertilisasi dan perkembangan embrio selanjutnya. Tingkat kematangan inti dilakukan dengan membersihkan sel kumulus dari oosit dan selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap inti oosit. Tingkat kematangan inti yang dapat diamati adalah *germinal vesicle* (GV), *germinal vesicle breakdown* (GVBD), metafase I dan metafase II (MII) (Vodkova dkk., 2008; Davachi dkk., 2014).

Oosit yang telah mengalami GVBD selanjutnya akan mencapai tahap metafase I. Metafase I (M-I) terjadi setelah 12-14 jam inkubasi dan diikuti oleh tahap anafase (A-I) dan telofase (T-I) yang berlangsung relatif sangat rendah dan berbeda nyata dengan kelompok lainnya. Hambatan terhadap perkembangan folikel yang dihasilkan oleh folikel dominan juga mempengaruhi kualitas oosit yang dihasilkan. Guna menghasilkan oosit berkualitas sehingga dapat digunakan sebagai bahan pembuatan embrio beku, dapat ditambahkan bahan antioksidan yaitu *Glutathione* (GSH).

D. Antioksidan *Glutathione* (GSH)

Glutathione merupakan salah satu antioksidan primer yang bekerja dengan cara mencegah pembentukan radikal bebas baru dan mengubah radikal bebas ada menjadi molekul yang kurang berbahaya sebelum

radikal bebas tersebut mempunyai kesempatan untuk bereaksi (Werdhany, 1999).

Glutathione peroksidase adalah enzim yang mengandung selenium sebagai komponen dasarnya, sehingga digolongkan dalam selenoprotein. Enzim *glutathione* peroksidase terdiri dari 4 atom selenium yang terikat sebagai *selenocystein*. *Glutathione peroksidase* dapat membentuk pertahanan terhadap oksidan atau radikal bebas di dalam tubuh dan mencegah kerusakan sel dengan cara mengkatalisa peroksida menjadi air dan oksigen. Enzim *glutathione peroksidase* banyak terdapat di hepar, ginjal otot, dan plasma, terutama pada sitosol dan mitokondria (Murray dkk., 2009).

Glutathione aktif di dalam fungsi oosit, termasuk dalam memelihara morfologi meiotik spidel. *Glutathione* melindungi spidel terhadap kerusakan oksidatif dan berperan dalam mendukung pembentukan zigot yang normal (Zuelke dkk., 2003) Konsentrasi GSH (*Glutathione*) di dalam oosit meningkat selama proses metaphase II (M-II).

Secara umum konsentrasi GSH (*Glutathione*) di dalam oosit yang diovulasikan (M-II) adalah dua kali lebih tinggi dibandingkan dalam oosit pada tahap germinal *vesicle* (GV). Konsentrasi GSH dari 1,0 pmol/oosit pada tahap GV menjadi 1,62 oosit pada tahap M-II (Zuelke dkk., 2003).

Penambahan GSH pada medium maturasi tidak secara nyata dapat meningkatkan jumlah oosit yang mencapai tahap M-II dan penambahan GSH dalam medium maturasi lebih optimal meningkatkan jumlah oosit

yang teraktivitas dibandingkan dengan penambahan pada medium kultur (Hasbi dkk., 2012).

E. Peranan Medium Maturasi

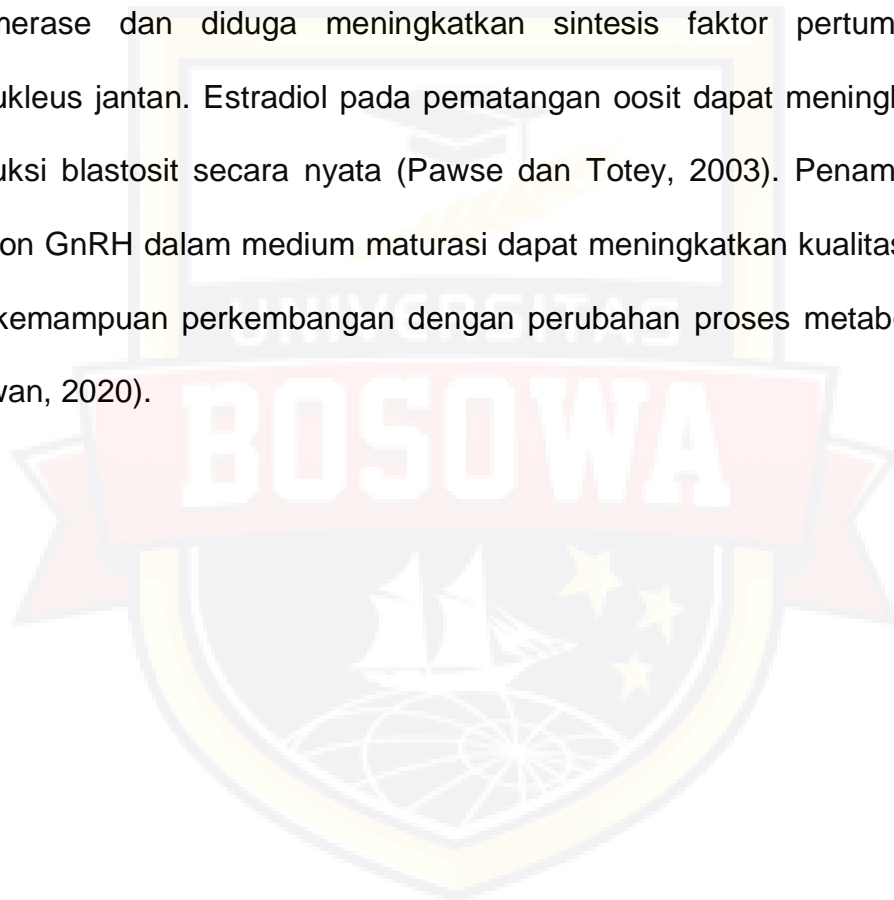
Pada proses pematangan oosit secara *in vitro* dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain yaitu medium dan lingkungan penyimpanan (incubator) medium maturasi. Tidak hanya berpengaruh terhadap proses pematangan tetapi berpengaruh juga terhadap pembuahan dan perkembangan embrio. Metode pematangan oosit telah diaplikasikan dengan penambahan berbagai hormon serta aplikasi sistem kultur pada medium (Setiadi, 2002).

TCM-199 merupakan medium kompleks yang banyak digunakan untuk pematangan *in Vitro*. Medium ini terdiri dari garam *earl*, buffer, sodium bikarbonat, disuplementasi dengan piruvat, laktat, asam amino, vitamin, purin, serum, estradiol, hormone GnRH (FSH dan LH), mineral dan glukosa yang dapat membantu proses transformasi inti. TCM-199 umumnya digunakan untuk pematangan oosit sapi secara *in vitro*, karena mengandung glutamin dan glukosa (Calder dkk., 2013).

Medium yang digunakan untuk pematangan oosit dapat memberikan pengaruh terhadap proses pematangan oosit dan perkembangan embrio. Berdasarkan komposisi bahan penyusunan medium yang biasa digunakan untuk proses produksi embrio *in vitro* dapat dibedakan menjadi medium sederhana seperti *whitten* medium, *brinster* medium, *whitten* dan *biggers*,

human tubal fluid (HTF), *chatot ziomex and bavister* (CZB), dan potassium (Hartoyo dan Febriandany, 2019).

Hormon gonadotropin merupakan regulator utama untuk pematangan inti oosit hewan mamalia secara *in vitro* estradiol mungkin terlibat dalam pematangan sitoplasma dengan menstimulasi DNA polymerase dan diduga meningkatkan sintesis faktor pertumbuhan pronukleus jantan. Estradiol pada pematangan oosit dapat meningkatkan produksi blastosit secara nyata (Pawse dan Totey, 2003). Penambahan hormon GnRH dalam medium maturasi dapat meningkatkan kualitas oosit dan kemampuan perkembangan dengan perubahan proses metabolisme (Ridwan, 2020).



BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Maret-Mei 2023. Bertempat di Laboratorium Produksi Embrio *in Vitro*, Gedung Lembaga dan Pengabdian Masyarakat (LPPM), Universitas Hasanuddin.

B. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan antara lain *ovarium*, alcohol 70 %, mineral oil (Sigma Chemical Co. St. Louis MO, USA), *glutathione*, NaCL, aquades, pen-strip (100 IU/ml), phospat-buffered saline (PBS), FBS/serum, TCM-199, PMSG, hCG, FSH, gentamycin.

Alat yang digunakan adalah incubator, mikroskop (ZEISS, image A2 : Axio Cam HRc), Syringe (10 ml), scalpel, petri dish, gelas kimia, labu enlemeyer, freezer, timbangan analitik, kaca objek, kaca penutup, pipet tetes, mikropipet, cawan petri, tissue dan gunting bedah.

C. Rancangan Penelitian

Penelitian menggunakan metode eksperimental laboratorium berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 6 ulangan dengan susunan sebagai berikut :

P0 : Kontrol

P1 : Medium maturasi dengan penambahan GSH (*Glutathione*) 0,5 mM.

P2 : Medium maturasi dengan penambahan GSH (*Glutathione*) 1 mM.

P3 : Medium maturasi dengan penambahan GSH (*Glutathione*) 1,5 mM.

D. Prosedur Penelitian

1) Pembuatan Media

a) Medium Transportasi

9 gram NaCl (Natrium Clorida) + aquades hingga mencapai volume akhir 1 liter, kemudian ditambahkan 500 µl pen-strep (100 IU/ml).

b) Medium Koleksi

48,75 ml phosphate-buffered saline (PBS) + 1,25 ml FBS/serum (2,5%) + µl pen-strep (100 IU/ml).

c) Medium Maturasi

- 1800 µl larutan TCM-199
- 200 µl FBS (10%)
- 20 µl FSH (10 IU/ml)
- 20 µl Hcg (10 IU/ml)
- 4 µl gentamycin (50 µg/ml)

2) Koleksi dan Seleksi Oosit

Ovarium sapi diperoleh dari rumah potong hewan (RPH) dan dibawa ke laboratorium dengan media transport (larutan 0,9% NaCl). Koleksi oosit dilakukan dengan metode *slicing*. Selanjutnya oosit diseleksi menggunakan mikroskop *Olympus SZ51* japan (hanya oosit grade A dan B yang dikoleksi untuk dimaturasi). Oosit grade A dan B ditandai dengan beberapa lapis sel kumulus yang kompak serta sitoplasma yang terlihat homogen.

3) Maturasi Oosit

Oosit yang telah diseleksi dan telah melalui tiga kali pencucian dengan media koleksi selanjutnya dimatangkan di medium maturasi. Maturasi dilakukan dalam bentuk drop ($\mu\text{L}/\text{drop}$) dengan jumlah oosit 10-15/drop dan ditutup dengan mineral oil (Sigma Chemical Co. St. Louis MO, USA). Maturasi dilakukan di inkubator 5% CO_2 dengan temperatur 38,5 °C selama 24 jam (Hasbih dkk., 2017).

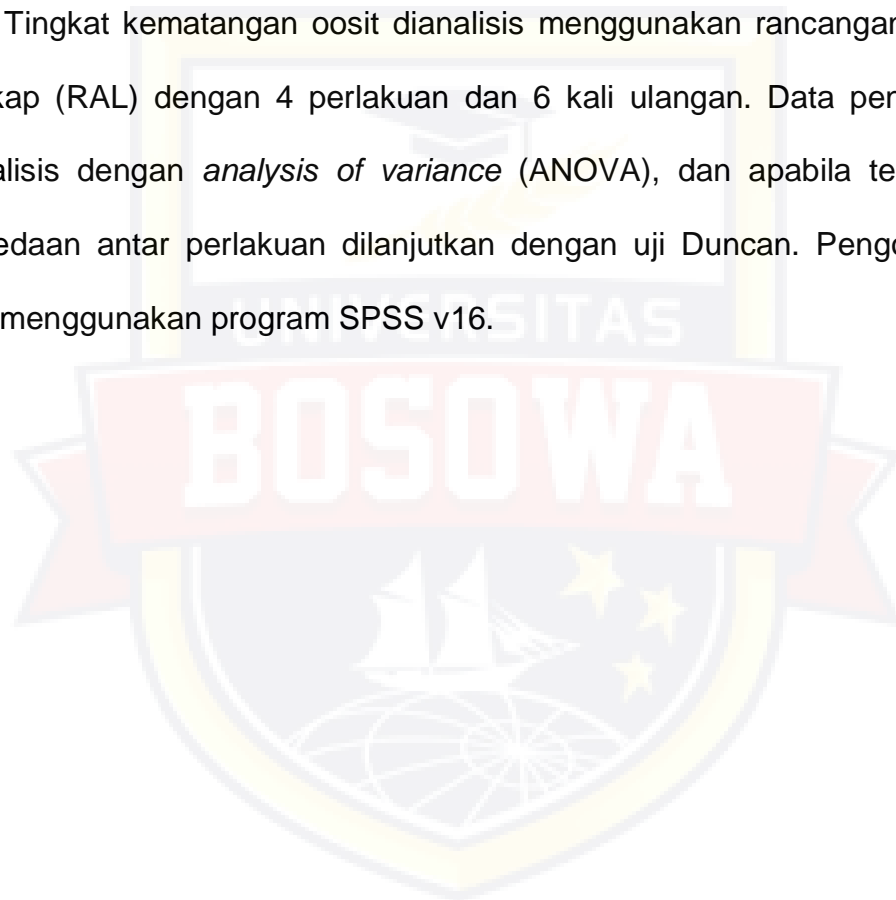
4) Evaluasi Tingkat Kematangan Inti Oosit

Oosit yang telah dimaturasi dibersihkan dari sel-sel kumulusnya (denude) dengan bantuan enzim *hyaluronidase* (Sigma, USA) 0,25% dengan cara dipipet berulang-ulang menggunakan pipet berdiameter yang sesuai dengan ukuran oosit. Oosit yang telah bebas dari sel kumulusnya dipindahkan pada kaca objek yang telah diberi vaselin pada keempat sudutnya, lalu ditutup dengan kaca penutup. Preparat oosit yang telah jadi, direndam pada ethanol dan asetat dengan perbandingan (3:1) selama 5-7 hari pada temperatur kamar. Setelah direndam pada etanol dan asetat preparat direndam dalam larutan ethanol absolute selama satu jam. Preparat dikeringkan menggunakan tissue dan diwarnai dengan acetoorcein 2% selama 2 menit. Kemudian zat pewarna dibersihkan dengan asam asetat 25% dan selanjutnya dilakukan pengamatan di bawah mikroskop Axio cam.

E. Pengamatan dan Analisis Data

Parameter yang diamati adalah tingkat kematangan oosit dari setiap tahap perkembangan meiosis meliputi fase germinal *vesicle* (GV), fase germinal *vesicle breaking down* (GVBD), fase metaphase I (M-I) dan fase metaphase II (M-II).

Tingkat kematangan oosit dianalisis menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 6 kali ulangan. Data penelitian dianalisis dengan *analysis of variance* (ANOVA), dan apabila terdapat perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan uji Duncan. Pengolahan data menggunakan program SPSS v16.



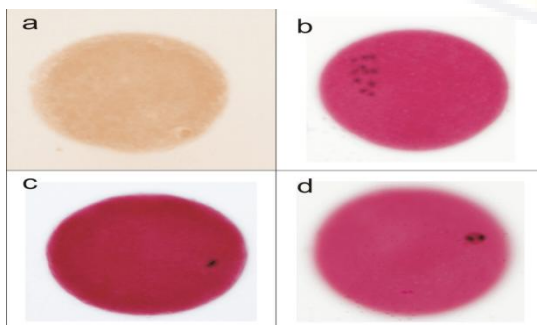
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Tingkat maturasi Oosit *In Vitro*

Proses maturasi oosit merupakan salah satu tahap penting dalam pelaksanaan *in vitro* maturation (IVM), yang selanjutnya digunakan dalam pelaksanaan *in vitro* fertilisasi (IVF). Penambah GSH pada media maturasi diharapkan dapat menyediakan oosit sapi Bali yang berkualitas yang dilihat dari tingkat kematangan oosit setelah proses maturasi.

Tingkat kematangan oosit setelah maturasi meliputi fase germinal vesicle (GV) ditandai dengan adanya membrane inti dan nucleolus terlihat jelas di tepi, fase germinal vesicle breaking down (GVBD) ditandai dengan robeknya membran inti sehingga nukleus tidak terlihat jelas, fasemetaphase -I (M-I) ditandai dengan adanya kromosom homolog yang berpasangan dan berderet di bidang equator, pada fase metaphase-II (M-II) ditandai adanya badan kutub I dan susunan kromosom yang sama dengan tahap M-I.



Gambar 1: Tingkat maturasi oosit sapi Bali

Ket: a. GV (*Germinal Vesicle*), c. M-I (*Metaphase I*),

b. GVBD (*Germinal Vesicle Breakdown*) d. M-II (*Metaphase II*) (Firmiaty, 2014).

Hasil observasi persentase oosit setelah maturasi secara in vitro disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengamatan oosit sapi Bali setelah maturasi in vitro

Perlakuan	N	Tingkat maturasi			
		GV N (%±SD)	GVBD N (%±SD)	MI N (%±SD)	MII N (%±SD)
P0	60	5(8.27±7.70) ^a	6(7.68±9.62) ^a	14(20.45±10.32) ^a	33(61.22±9.09) ^a
P1	59	2(2.50±4.18) ^a	6(9.72±8.04) ^a	11(18.47±9.72) ^a	40(69.30±13.58) ^{ab}
P2	67	1(1.11±2.72) ^a	7(7.26±8.20) ^a	10(16.07±12.81) ^a	49(75.56±8.40) ^b
P3	53	2(2.71±4.36) ^a	5(7.80±6.25) ^a	4(8.10±6.56) ^a	41(79.01±11.33) ^b
Total	243	10(3.65±5.50)	24(8.11±7.63)	39(15.77±10.57)	136(71.28±12.22)

Keterangan: huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan terdapat perbedaan ($P < 0.05$).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada penambahan Glutathione berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap metaphase II, tingkat kematangan oosit M-II pada perlakuan 0,5mM, 1mM, dan 1,5mM nyata lebih tinggi ($P < 0,05$) dibanding dengan Kontrol (tanpa GSH) tetapi antara P1, P2 dan P3 tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) demikian juga antara P0 dan P1 tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Perlakuan dengan menggunakan 1,5mM diperoleh presentase oosit yang mencapai metaphase II yang lebih tinggi yaitu 79,01% disajikan pada Thabel 1 Hal ini disebabkan karena Glutathione bekerja dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas baru dan mengubah radikal bebas yang sudah ada menjadi bentuk molekul yang lebih stabil dan kurang berbahaya. Dengan adanya Glutathione, radikal bebas yang dapat merusak sel diubah menjadi bentuk yang lebih aman sebelum radikal bebas memiliki kesempatan untuk merusak sel dengan reaksi berantai yang merugikan (Werdhany, 1999).

Glutathione (γ -L-glutamyl-L-cysteinyl-glycine) juga merupakan tripeptida yang terdiri atas asam amino glisin, asam glutamate dan sistein dengan ikatan gamma peptida yang menghubungkan antara gugus amina sistein (yang melekat dengan ikatan peptida pada glisin) dengan gugus karboksil pada rantai samping glutamat. *Glutathione* umumnya disingkat GSH, karena adanya gugus sulfhidril (-SH) yang terdapat pada sistein senyawa tersebut, juga merupakan bagian molekul *glutathione* yang berperan aktif (Yuniastuti, 2016).

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa pengaruh perlakuan terhadap GV, GVBD dan M-I tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) disajikan pada Tabel 1. Perlakuan pemberian GSH menunjukkan yang lebih baik daripada tanpa penambahan GSH pada variabel GV, GVBD, dan M-I, hal ini disebabkan karena *Glutathione* akan menjaga rantai DNA dan RNA pada inti sel agar tidak mengalami penguraian dan melindungi inti sel dari radikal bebas, GSH mengikat zat yang tidak diinginkan dan membawanya keluar melalui urin dan empedu (Sugiyanto, 2008).

Hasil secara keseluruhan menunjukkan bahwa penambahan 1,5mM GSH memberikan hasil yang lebih baik dibanding dengan tidak menggunakan GSH pada media maturasi. Hal ini pada tingkat kematangan oosit yang nyata lebih tinggi pada perlakuan P3 dibanding dengan P0, P1 dan P2, yaitu 79,01% ($P < 0,05$). Hasil penelitian terdahulu menunjukkan hasil yang sama yaitu seiring meningkatnya konsentrasi

GSH menunjukkan kecendrungan peningkatan presentase oosit yang matang pada oosit sapi Bali (Fausiah, 2014).

Hasil penelitian terdahulu tahap menunjukkan bahwa kontrol dan penambahan 0,25, 0,5, dan 1 mM GSH dalam medium maturasi tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap jumlah oosit yang mencapai tahap metaphase II (MII), berturut-turut adalah 79,71%, 79,07%, 80,95%, dan 84,13% (Hasbi dkk., 2012).

Tingkat maturasi oosit sapi Bali dengan suplementasi GSH pada media maturasi juga sangat dipengaruhi oleh kualitas oosit yang digunakan. Pada penelitian ini oosit yang digunakan diseleksi berdasarkan keadaan sitoplasma yang homogen dan sel-sel kumulus yang kompak, sehingga oosit yang digunakan diusahakan seragam dan dianggap mempunyai kompetensi perkembangan yang sama.

BAB V

KESIMPULAN dan SARAN

A. Kesimpulan

Penambahan antioksidan *glutathione* pada media maturasi menunjukkan peningkatan kematangan oosit sapi Bali. Kematangan oosit menunjukkan peningkatan seiring dengan peningkatan konsentrasi GSH 0,5 mM, 1 mM, dan 1,5 mM yaitu masing-masing 69,30%, 75,56%, 79,01%.

B. Saran

Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut penambahan antioksidan dengan GSH (*Glutathione*) konsentrasi yang lebih tinggi dengan harapan dapat diperoleh presentase oosit matang yang lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

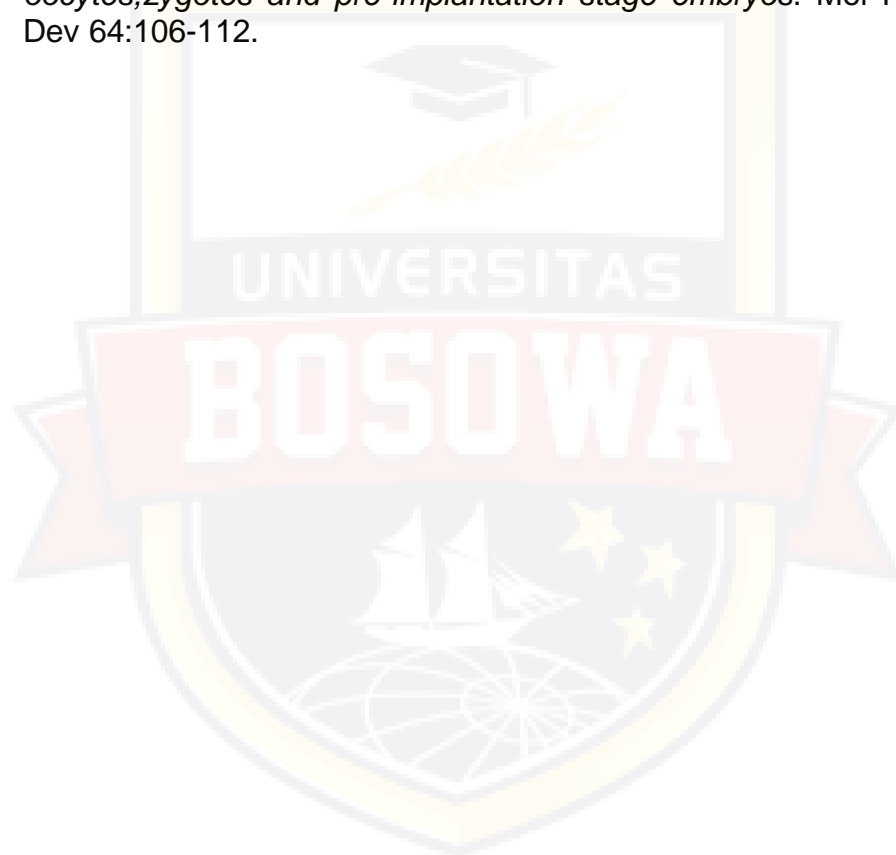
- Adifa NS, Astuti P, Widayanti DT. 2010. *Pengaruh penambahan chorionic gonadotropin pada medium maturasi terhadap kemampuan maturasi, fertilisasi, dan perkembangan embrio secara in Vitro kambing peranakan etawa*. *Bul. Peternakan*. 34(1): 8-15.
- Agarwal A, S Gupta, RK. Sharma. 2005. Role of oxidative stress in femalereproduction. *Reprod. Biol. Endocrinol*. 3: 28.
- Astiti, N. M., Ayu G. R., 2018. Sapi Bali dan pemasarannya. *Warmadewa University*. https://repository.warmadewa.ac.id/461/1/buku%20sapi%20bali%20dan%20pemasarannya_.pdf
- Badan Pusat Statistik. 2019. Angka pemotongan sapi di Indonesia. <http://www.bps.go.id>. (20 September 2019).
- Bilodeau-Goeseels, S. and Panich P., 2002. Effects of oocyte quality on development and transcriptional activity in early bovine embryos. *Anim. Reprod. Sci*. 71 (3-4):143-155
- Bintara OA, Setiadi MA, Karja NWK. 2015. *Tingkat maturasi dan fertilisasi oosit domba yang dimaturasi dalam media dengan imbuhan bmercaptoethanol secara in Vitro*. *J. Vet*. 16(4): 585-591.
- Calder, M.D., A.N. Caveney, L.C., Smith and A.J., Watson. 2003. Responsiveness of bovine cumulus-oocyte complexes (COC) to porcine and recombinant human FSH, and the effect of COC quality on gonadotrophin receptor and Cx43 marker gene mRNA during maturation in Vitro. *Reprod. Biol, Endoc.*, 1:1-12
- Ciptadi G, Susilawati T, Siswanto B, Karima HN. 2011. *Efektifitas penambah hormon gonadotropin pada medium maturasi mSOF terhadap tingkat maturasi oosit*. *J. Ternak Trop*. 12(1): 108-115.
- Davachi ND, A Z Shahneh, H Kohram, M Zhandi, S Dashti, H Shamsi, R Moghadam. 2014. In Vitro ovine embryo production: the study of seasonal and oocyte recovery method effects. *Iran Red. Crescent. Med. J*. 16(9): e20749.
- Direktorat Jendral Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementrian Pertanian. 2018. Pengendalian Pemotongan Betina Produktif UPSUS SIWAB.
- Davachi ND, A Z Shahneh, H Kohram, M Zhandi, S Dashti, H Shamsi, R Moghadam. 2014. In Vitro ovine embryo production: the study of seasonal and oocyte recovery method effects. *Iran Red. Crescent. Med. J*. 16(9): e20749.

- Down, S. M. 1993. Factors Effecting The Resumption of meiotic Maturation in Mammals Oocytes. *Theriogenol.* 39;65-79.
- Febretrisiana dan F. A. Pamungkas. 2017. Pemanfaatan ovarium yang berasal dari rumah potong hewan sebagai sumber materi genetic. *Wartazoa.* 27(4): 159- 166.
- Fausiah, A. 2014. (*Glutathione*) Terhadap Tingkat Pematangan Oosit Sapi Bali Secara *in Vitro* Andi Fausiah Pengaruh Penambahan Antioksidan Gsh (*Glutathione*) Terhadap Tingkat Pematangan [Universitas Hasanuddin]. <http://digilib.unhas.ac.id/opac/detail-opac?id=10763>.
- Gordon, I., 2003. *Laboratory production of cattle embryos*. Dublin: CABInternational. pp 30-142; 277-290.
- Gupta S, Malhotora N, Sharma D, Chandra A, Agarwal A. 2008. Oxidative stress and its role in female infertility and assisted reproduction: clinical implication. *J. Fertil. Steril.* 2(4): 147- 164.
- Harmiatus, Y. 2017. Oogenesis dan Spermatogenesis Pada Mamalia. *Maj Kedok FK UKI*, 25(2), 77–85. <https://doi.org/10.33541/mkvol34iss2pp60>.
- Hartoyo, Febriandany, R. 2019. *Uji Kriopreservasi Telur Terhadap Keberhasilan Fertilisasi Ikan Lele Dengan Menggunakan DmsO Dan Sukrosa*. <http://repository.ub.ac.id/id/eprint/177493/>
- Hasbi, Gustina, S., Setiadi, M. A., Supriatna, I. 2012. Tingkat Pematangan Inti Oosit Domba dan Pembentukan Pronukleus Setelah Parthenogenesis dengan Penambahan Glutathione. *Jurnal Veteriner*, 13(4), 445–452. <file:///C:/Users/ASUS/Downloads/6038-1-9853-1-10-20130721.pdf>.
- Hasbi, H., Gustinab, S., Karjab, K, Supriatnab, I., dan Setiadib, A., 2017. Insulin-Like Growth Factor-I Concentration in the Follicular Fluid of Bali Cattle and its Role in the Oocyte Nuclear Maturatoin and Fertilization Rate. *Media peternakan*. Universitas Hasanuddin.
- Harissatria. 2012. *Persentase kematangan oosit kerbau dengan penambahan sel folikel kerbau dan sapi secara in Vitro*. *J. Ilmiah Tambua.* 1s1(3): 342-348.
- Ismudiono, P. Srianto, H. Anwar, A.P. Madyawati, A. Samik, dan E. Safitri. 2010. *Fisiologi Reproduksi pada ternak*. Airlangga University Press. Surabaya.

- Izquierdo, D.P., Villamediana, M.T., Paramio. 1999 Effect of kulture media on embryo development from prepubertal goat IVM-IVF oocytes. *theriogenology* 52:847-861.
- Miclea I, N Pacala, A Hettiq, M Zahan, V Miclea. 2012. Alpha-Tacopherol and ascorbic acid combination influence the maturation of sheep oocytes. *Anim. Sci. Biotechnol.* 45(1).
- Mutmainna, A. 2014. *Potensi Oosit Berdasarkan Status Aktivitas* [Universitas hasanuddin].
<https://core.ac.uk/download/pdf/25495887.pdf>
- Nuryadi, 2014. Ilmu Produksi Ternak. UB press. Malang
- Nurchahyo H, Ciptono. 2013. *Maturasi oosit dan fertilisasi in Vitro menggunakan kultur sel granulosa folikel ovarium*. Laporan Tahunan Hibah Bersaing. Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta..
- Pusfita, A. 2017. Kemampuan perkembangan embrio sapi bali hasil kriopreservasi dengan penggunaan krioprotektan etilen glikol [Universitas Hasanuddin]. In *Skripsi thesis, FaPet Universitas Hasanuddin*. <https://core.ac.uk/download/pdf/89565742.pdf>
- Rahman, Anma, R.B., Abdulla, W.E., Wan Khadijah, 2008. *Goat embryo development following in Vitro maturation and intracytoplasmic sperm injection accordding to oocyte grading*. Proceeding of 11 th Biological Sciences Grauate Conference; Bangkok, Thailand. 15-17 Des 2006, pp:143- 143
- Rahman, N.U., M. Sarwar, H.A. Samad. 2001. In Vitro production of bovine embryos -a review. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 14: 1342-1351.
- Ridwan, N. A. 2020. Tingkat Fertilisasi Oosit Sapi Bali Yang Dibekukan Menggunakan Krioprotektan Berbeda [Universitas Hasanuddin]. In *Kaos GL Dergisi* (Vol. 8, Issue 75).
<https://doi.org/10.1016/j.jnc.2020.125798%0Ahttps://doi.org/10.1016/j.smr.2020.02.002%0Ahttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/810049%0Ahttp://doi.wiley.com/10.1002/anie.197505391%0Ahttp://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780857090409500205%0Ahttp://>
- Schatten, H., and M. Gheorghe. 2007. *Comparative Reproduction Biology*. Iowa,USA: Blaswell Pub.
- Syamsuddin, R. 2017. Pengaruh Diameter Oosit Sapi Bali Terhadap [UNIVERSITAS HASANUDDIN]. In *Skripsi*.
<https://core.ac.uk/download/pdf/25495967.pdf>.

- Silvia, R. 2015. In Vitro Maturation (IVM) of Human Oocytes: Promising Potential, Challenges and Chances for Improvement. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 4(2). <https://doi.org/10.25077/jka.v4i2.305>
- Sayuti A, TN Siregar, M Akmal, Hamdan, Hamdani. 2007. *Pengaruh ukuran dan jumlah folikel per ovarium terhadap kualitas oosit kambing lokal*. J. Ked. Hewan. 1(1): 36-42.
- Sugiyanto. 2008. Peran glutathione sebagai master antioksidan. *Biomedis*;1(1):48-53.
- Setiadi M.A., 2001. *Tinjauan mekanisme pematangan sel-sel kumulus oosit pada kondisi in vivo dan in Vitro: suatu review*. Media veteriner 8(3):66-69.
- Setiadi M.A., 2002. Effect of co-culture with follicle shell on cumulus expansion and nuclear maturation porcine oocytes in Vitro. *Reprotech* 1 (2): 87-91.
- Firmiaty, Sri. 2014. Studi Peranan Insulin Transferin Selenium Dan Growth Differentiation Factor-9 Pada Pematangan Oosit Kambing In Vitro. Doctor thesis. Universitas Brawijaya.
- Vadková, R Rajmon, J Petr, P Klabanová, F Jílek. 2008. Effect of genistein and genistin on in Vitro maturation of pig oocytes. *Czech J. Anim. Sci.* 53(1): 1-8.
- Wang ZG, SD, Yu, ZR, Xu. 2007. *Effect of collection methods on recovery efficiency, maturation rate and subsequent embryonic developmental competence of oocytes of oocytes in holstein cow*. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 20(4): 496-500.
- Wattimena J. 2011. *Pematangan oosit domba secara in Vitro dalam berbagai jenis serum*. J. Agrinimal. 1: 22-27.
- Widyastuti R., Setiawan R., dan Rasad S. D., 2015. Perbandingan tingkat kematangan inti oosit sapi pasca pematangan in vitro dengan penambahan serum buatan 10 % dan fetal bovine serum 10 %.
- Werdhany, W.I . 1999 . Efektivitas Penambahan a-Tokoferol Di Dalam Pengencer Tris dan Susu Skim Terhadap Kualitas Semen Kambing Peranakan Etawah. Thesis Pascasarjana IPB-Bogor.
- Yang Z, Wang W, Yu S, 2008. Effects of different activation protocols on preimplantation development, apoptosis and ploidy of bovine parthenogenetic embryos. *Anim Reprod Sci* 105:292- 301

- Yuniastuti, A. 2016. Dasar Molekuler Glutation Dan Peranannya Sebagai Antioksidan. FMIPA Unnes. http://lib.unnes.ac.id/27_043/3/MONOGRAF_DASAR_MOLEKULER_GLUTATION.pdf
- Yulhawati. 2006. Optimalisasi produksi embrio domba secara in Vitro: penggunaan medium cr1aa dan pengaruh status reproduksi ovarium. Tesis. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Zuelke K.A., S.C. Jeffay, R.M., Zucker, S.D., Perreault, 2003. *Glutathione (GSH) concentrations vary with the cell cycle in maturing hamster oocytes, zygotes and pre-implantation stage embryos*. Mol Reprod Dev 64:106-112.



LAMPIRAN

Perlakuan	N	Tingkat maturasi			
		GV	GVBD	MI	MII
P0	60	5(8.27±7.70) ^a	6(7.68±9.62) ^a	14(20.45±10.32) ^a	33(61.220±9.09485) ^a
P1	59	2(2.50±4.18) ^a	6(9.72±8.04) ^a	11(18.47±9.72) ^a	40(69.3050±13.58559) ^{ab}
P2	67	1(1.11±2.72) ^a	7(7.26±8.20) ^a	10(16.07±12.81) ^a	49(75.5683±8.40743) ^b
P3	53	2(2.71±4.36) ^a	5(7.80±6.25) ^a	4(8.10±6.56) ^a	41(79.0183±11.33729) ^b
Total	243	10(3.65±5.50)	24(8.11±7.63)	39(15.77±10.57)	136(71.28±12.22)

Superscript ab menunjukkan perbedaan nyata antar perlakuan ($P < 0.05$)

Lampiran 1. Analisis Data

Lampiran 1.a Tingkat Maturasi (GV)

Between-Subjects Factors

		N
Penambahan GSH pada media Maturasi	P0	6
	P1	6
	P2	6
	P3	6

Descriptive Statistics

Dependent Variable:GV

Penambahan GSH pada media Maturasi	Mean	Std. Deviation	N
P0	8.2733	7.70119	6
P1	2.5000	4.18330	6
P2	1.1117	2.72302	6
P3	2.7083	4.36009	6
Total	3.6483	5.50230	24

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:GV

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	180.165 ^a	3	60.055	2.327	.105
Intercept	319.448	1	319.448	12.378	.002
Perlakuan	180.165	3	60.055	2.327	.105
Error	516.168	20	25.808		
Total	1015.781	24			
Corrected Total	696.333	23			

a. R Squared = .259 (Adjusted R Squared = .148)

Lampiran 1.b Tingkat Maturasi (GVBD)

Descriptive Statistics

Dependent Variable:GVBD

Penambahan GSH pada media Maturasi	Mean	Std. Deviation	N
P0	7.6783	9.62012	6
P1	9.7217	8.03896	6
P2	7.2567	8.19517	6
P3	7.7983	6.25412	6
Total	8.1138	7.62971	24

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:GVBD

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	21.654 ^a	3	7.218	.110	.953
Intercept	1579.991	1	1579.991	23.990	.000
Perlakuan	21.654	3	7.218	.110	.953
Error	1317.232	20	65.862		
Total	2918.876	24			
Corrected Total	1338.886	23			

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:GVBD

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	21.654 ^a	3	7.218	.110	.953
Intercept	1579.991	1	1579.991	23.990	.000
Perlakuan	21.654	3	7.218	.110	.953
Error	1317.232	20	65.862		
Total	2918.876	24			

a. R Squared = .016 (Adjusted R Squared = -.131)

Lampiran 1c. Tingkat maturasi (MI)

Descriptive Statistics

Dependent Variable:MI

Penambahan GSH pada media Maturasi	Mean	Std. Deviation	N
P0	20.4467	10.32265	6
P1	18.4733	9.72464	6
P2	16.0650	12.81493	6
P3	8.0967	6.55854	6
Total	15.7704	10.57209	24

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:MI

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	528.878 ^a	3	176.293	1.727	.194
Intercept	5968.945	1	5968.945	58.467	.000
Perlakuan	528.878	3	176.293	1.727	.194
Error	2041.813	20	102.091		
Total	8539.636	24			
Corrected Total	2570.691	23			

a. R Squared = .206 (Adjusted R Squared = .087)

Lampiran 1.d Tingkat Maturasi (MII)

Descriptive Statistics

Dependent Variable: MII

Penambahan GSH pada media Maturasi	Mean	Std. Deviation	N
P0	61.2200	9.09485	6
P1	69.3050	13.58559	6
P2	75.5683	8.40743	6
P3	79.0183	11.33729	6
Total	71.2779	12.21683	24

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: MII

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1100.255 ^a	3	366.752	3.145	.048
Intercept	121932.994	1	121932.994	1.046E3	.000
Perlakuan	1100.255	3	366.752	3.145	.048
Error	2332.517	20	116.626		
Total	125365.766	24			
Corrected Total	3432.772	23			

a. R Squared = .321 (Adjusted R Squared = .219)

Homogeneous test

MII

Duncan

Penambahan GSH pada media Maturasi	N	Subset	
		1	2
P0	6	61.2200	
P1	6	69.3050	69.3050
P2	6		75.5683
P3	6		79.0183
Sig.		.209	.155

RIWAYAT HIDUP



Penulis tesis ini bernama Armitha Pratiwi, lahir di Mario pada tanggal 23 Juni 2001. Putri ke-2 dari pasangan bapak Asdar, S.P dan Juhenia, S.P. Penulis menempuh pendidikan di SDN 036 palandan tahun 2008 dan selesai pada tahun 2013. Tahun yang sama penulis melanjutkan pendidikan di SMPN 8 Baebunta dan selesai pada tahun 2016. Tahun yang sama penulis melanjutkan pendidikan di SMK-PP Negeri Rappang dan selesai pada tahun 2019. Penulis melanjutkan pendidikan disalah satu perguruan tinggi tepatnya di Universitas Bosowa Makassar pada tahun 2019 dan diterima di Fakultas Pertanian, Jurusan Peternakan, dan Alhamdulillah selesai pada tahun 2023

Pengalaman organisasi:

1. Koordinator Bidang organisasi dan kader Himpunan Mahasiswa Peternakan (HIMAPET) Periode 2022-2023
2. Himpunan Mahasiswa Islam (HMI)

Akhir kata penulis mengucapkan rasa syukur yang sebesar-besarnya atas terselesaikannya skripsi yang berjudul “Tingkat Maturasi Oosit Sapi Bali Dengan Suplementasi GSH Pada Media Maturasi”