

lamp. III  
2.4

80X100CM



## APLIKASI JARINGAN MATERNAL PADA PERKEMBANGAN EMBRIO SAPI BALI HASIL FERTILISASI *IN VITRO* DENGAN SPERMATOZOA *SEXING*

Enny Yuliani <sup>1)</sup>, Yufika Dewi Muksin <sup>1)</sup>, I Wayan Lanus Sumadisa <sup>2)</sup> dan Lukman HY <sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Laboratorium Imunobiologi Universitas Mataram, HP.087865661120, email ennyyuliani@hotmail.com

<sup>2)</sup>Laboratorium Reproduksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Mataram (0370) 633603

### Pendahuluan

Embrio siap transfer dengan kualitas baik masih sangat terbatas. Tidak semua embrio yang dihasilkan secara *in vitro* mempunyai potensi penuh untuk berkembang menjadi blastosis. Walaupun pada stadium sensitif ini embrio berhasil berkembang, tidak menjamin kebuntingan akan berlanjut setelah Transfer Embrio. Fenomena perkembangan embrio *in vitro* selalu terdapat *developmental block* yang bersifat genetik dan umum terjadi pada beberapa spesies dan mengakibatkan embrio mati. Untuk menanggulangi hal tersebut perlu dikembangkan suatu sistem yang dapat meniru fenomena alam yang mirip bahkan lebih baik. Tujuan penelitian ini adalah mengkaji aplikasi jaringan maternal pada embrio sapi Bali hasil fertilisasi *in vitro* dengan spermatozoa *sexing*.

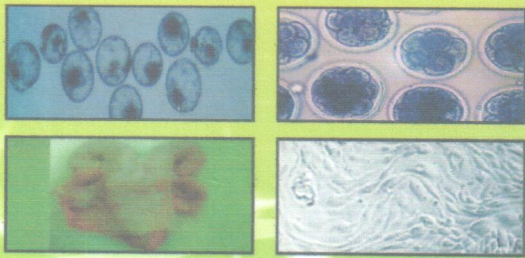
### Materi dan Metode

Materi yang digunakan adalah ovarium dan jaringan maternal yang berasal dari organ reproduksi betina serta semen sapi Bali yang diperoleh dari koleksi pejantan. Embrio hasil fertilisasi *in vitro* dengan spermatozoa *sexing* di kultur dengan 3 sistem *co culture* yaitu sel epitel oviduct, sel epitel cumulus dan sel uterus. Masing-masing dalam media TCM 199 + 10 % Fetal Calf Serum. Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap angka pembelahan (*cleavage*), morula dan blastosis.

### Hasil dan Pembahasan

Tabel 1. Persentase Perkembangan Embrio Sapi Bali Hasil Fertilisasi *in vitro* dengan Spermatozoa *Sexing* pada Berbagai Jaringan Maternal

Sistim kultur	Tahap Perkembangan Embrio (%)					
	Cleavage		Morula		Blastosis	
	Swim Up	Percoll	Swim Up	Percoll	Swim Up	Percoll
Epitel oviduct	63,0±0,4 <sup>a</sup>	50,0±0,5 <sup>a</sup>	49,4±0,5 <sup>a</sup>	48,4±0,4 <sup>a</sup>	39±0,6 <sup>b</sup>	38±0,5 <sup>b</sup>
Sel kumulus	62,5±0,2 <sup>b</sup>	53,8±0,2 <sup>b</sup>	50,3±0,2 <sup>b</sup>	50,5±0,3 <sup>b</sup>	42±0,4 <sup>c</sup>	40±0,4 <sup>c</sup>
Sel uterus	62,9±0,5 <sup>d</sup>	53,8±0,4 <sup>b</sup>	50,2±0,3 <sup>b</sup>	50,3±0,5 <sup>b</sup>	43±0,4 <sup>a</sup>	40±0,5 <sup>b</sup>
Kontrol	34,8±0,2 <sup>b</sup>	30,2±0,5 <sup>b</sup>	24,7±0,2 <sup>d</sup>	22,5±0,4 <sup>d</sup>	23,0±0,3 <sup>d</sup>	22,3±0,4 <sup>d</sup>



Keterangan : nilai dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan beda nyata (P< 0,05)

Jaringan maternal dapat meningkatkan angka *cleavage*, morula dan blastosis. Sel monolayer jaringan maternal sel tuba, sel kumulus dan sel uterus yang dibiakkan diketahui banyak mengandung faktor tumbuh seperti *epithelial growth factor* (EGF), *Transferring growth factor* (TGF dan) atau *Insulin growth factor* (IGF), semua faktor tumbuh ini diduga diperlukan dalam perkembangan embrio. Faktor penumbuh telah ada dalam awal perkembangan embrio di dalam saluran reproduksi dan diketahui bahwa sekresi uterus (*histotrophe*) berfungsi untuk mengatur kelengkapan, implantasi, nutrisi dan pertumbuhan konseptus. Selanjutnya diketahui bahwa lingkungan uterus dengan kapasitas sebagai sumber nutrisi dapat menyediakan faktor penumbuh dan protein secara teratur pada pertumbuhan kritis dan kelangsungan hidup konseptus preimplantasi. Peran jaringan maternal dapat memberikan kontribusi terhadap perkembangan embrio dengan menghilangkan komponen embrio toksik dari medium dasar dengan mensekresi faktor embrio tropik dari tahap 8-16 sel sampai tahap blastosis.

### Kesimpulan

Jaringan maternal bertindak secara sinergis memberikan lingkungan yang optimum untuk menunjang kelangsungan hidup embrio. Jaringan maternal sebagai tempat persediaan nutrisi untuk proses metabolisme, proliferasi sel dan diferensiasi sel embrio preimplantasi. *Developmental block* akibat lingkungan perkembangan embrio yang tidak serasi dan faktor spesifik saluran reproduksi dapat teratasi





# APLIKASI JARINGAN MATERNAL PADAPERKEMBANGAN EMBRIO SAPI BALI HASIL FERTILISASI *IN VITRO* DENGAN SPERMATOZOASEXING

Enny Yuliani <sup>1)</sup>, Yufika Dewi Muksin <sup>1)</sup>, I Wayan Lanus  
Sumadiasa <sup>2)</sup> dan Lukman HY <sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Laboratorium Imunobiologi Universitas Mataram,  
HP.087865661120, email ennyyuliani@hotmail.com

<sup>2,3)</sup>Laboratorium Reproduksi Ternak Fakultas Peternakan  
Universitas Mataram(0370) 633603

## ABSTRAK

Tujuan penelitian adalah untuk mengkaji aplikasi jaringan maternal pada embrio hasil fertilisasi *in vitro* dengan spermatozoa *sexing* pada sapi Bali. Desain penelitian yang digunakan adalah *The Posttest-Only Control Group Design*. Data kemampuan perkembangan embrio *in vitro* setelah pembekuan dan *thawing* dianalisis dengan Khi-Kuadrat. Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa oosit yang dikultur dalam jaringan maternal (48 jam setelah inseminasi dengan metode *Swim Up*) menghasilkan persentase embrio tahap *cleavage* pada sel epitel oviduct, sel kumulus, sel uterus dan berturut-turut adalah 63,0%, 62,5 %, dan 62,9 %. Perkembangan embrio pada tahap *cleavage* dengan metode *Sentrifugasi gradien densitas percoll* pada sel epitel oviduct, sel kumulus dan sel uterus berturut-turut adalah 50,0%, 53,8 %, dan 53,8 %. Perkembangan embrio tahap morula dengan metode *Swim Up* diperoleh 49,4 %, 50,3 %, dan 50,2 % pada sistim media tumbuh sel oviduct, sel kumulus, dan sel uterus, sedangkan pada metode *Sentrifugasi gradien densitas percoll* pada sistim kultur sel oviduct, sel cumulus dan sel uterus berturut-turut adalah 48,4 %, 50,5 %, 50,3 %. Sedangkan perolehan blastosis dalam penelitian ini pada sistim kultur sel oviduct, sel kumulus, sel uterus dengan metode *Swim Up* berturut-turut adalah 39,4 %, 42,5 %, 43,2 % dan pada metode *Sentrifugasi gradien densitas percoll* berturut-turut sebagai berikut 38,6 %, 40,7 % dan 40,9 %. Jaringan maternal memberikan dukungan yang positif terhadap perkembangan embrio sapi Bali, mulai dari tahap *cleavage* sampai mencapai tahap blastosis. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa fenomena *developmental block* akibat lingkungan perkembangan embrio yang tidak serasi dan faktor spesifik saluran reproduksi dapat teratasi. Berdasarkan hasil yang diperoleh nampak bahwa jaringan maternal bertindak secara sinergis untuk menunjang kelangsungan hidup embrio.

Kata Kunci : Jaringan maternal, embrio, sapi Bali, sperma *sexing*

## PENDAHULUAN

Bioteknologi yang efektif dan efisien dalam meningkatkan populasi dan mutu genetik dengan waktu yang relatif singkat adalah Inseminasi Buatan dan Transfer Embrio. Kedua teknologi tersebut dapat ditingkatkan nilainya jika disertai dengan teknologi *sexing* spermatozoa dan fertilisasi *in vitro*, sehingga dihasilkan produksi ternak yang maksimal dari jenis kelamin yang dibutuhkan (Yulianiet al., 2013). Sampai saat ini pelaksanaan Transfer Embrio dengan menggunakan embrio beku dilapangan masih banyak ditemukan kendala, diantaranya ketersediaan embrio beku yang siap transfer dengan kualitas baik masih sangat terbatas dan tidak semua embrio yang dihasilkan secara *in vitro* mempunyai potensi penuh untuk berkembang sampai tahap blastosis. Walaupun pada stadium sensitif ini embrio berhasil berkembang, hal ini tidak dapat menjamin kebuntingan akan berlanjut setelah Transfer Embrio (Yuliani & Sumadisa, 2005; Parikh et al., 2006; Duszewka et al., 2012).

Suatu fenomena dalam perkembangan embrio secara *in vitro* selalu terdapat "*developmental block*" yang bersifat genetik dan umum terjadi pada beberapa spesies serta akan mengakibatkan embrio muda tidak dapat berkembang ke tahap lebih lanjut sampai pada tahap morula atau blastosis (Donnay et al., 1997; Yuliani, 2003; Camargo et al., 2006). *Developmental block* yang terjadi pada perkembangan embrio akan merupakan suatu kerugian yang sangat bermakna, sehingga keberhasilan *Fertilisasi in vitro* (FIV) menjadi sangat rendah (Swanson et al, 1996; Yuliani, 2003; Quinn, 2004). Untuk menanggulangi hal tersebut perlu dikembangkan suatu sistem yang dapat meniru fenomena alam (kondisi fisiologis oviduct) sedemikian rupa sehingga mirip bahkan lebih baik. *Co-culture* dengan jaringan maternal dari berbagai jenis sel somatik (sel epitel oviduct, sel granulosa atau sel kumulus dan sel uterus) yang dibiakan diketahui banyak mengandung faktor penumbuh dalam oviduct dan semua faktor tumbuh ini diduga diperlukan dalam perkembangan



embrio dengan memberikan lingkungan yang optimum dan sebagai tempat persediaan nutrisi yang diperlukan untuk proses metabolisme dan diferensiasi sel (Parikh *et al*, 2006; Farha & Marcela, 2010). Namun dalam perkembangan atau pemeliharaan sel tumbuh sangat dipengaruhi oleh terbentuknya zat radikal bebas (Iwata *et al*, 1998). Penambahan bahan antioksidan ke dalam media biakan dapat meningkatkan perkembangan embrio sampai pada tahap blastosis.

Kondisi krisis dalam perkembangan embrio terjadi pada saat akan implantasi (preimplantasi), nampaknya terdapat berbagai faktor yang bertindak secara sinergis untuk menunjang kelangsungan hidup embrio. Jaringan induk dan embrionik saling berinteraksi dalam suatu periode kebuntingan membentuk sinyal protein pada reaksi endometrium hingga kebuntingan dapat dipertahankan. Besarnya tingkat kematian embrio disebabkan kurangnya interaksi secara biokimiawi antara konseptus dengan sistem maternalnya di dalam lingkungan uterus (Wolf. *et al*, 2003; Vigneault. *et al*, 2004; Klein. *et al*, 2006).

Tujuan yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah aplikasi jaringan maternal pada embrio hasil fertilisasi *in vitro* dengan spermatozoa *sexing* pada sapi Bali.

## MATERI DAN METODE

Alat penelitian yang digunakan terdiri dari: Laminar flow (ESCO, Cawan petri ukuran 35 mm, Filter steril 0,22  $\mu$ m, incubator, Hot plate-magnetic stirer (Labinco, Holland), Autoklaf (Tommy), Mikroskop Bisecting (Meiji), Mikroskop Inverted (Meiji) dan Mikroskop Inverted (Olympus, Japan), Centrifugator (EBA-3S, Hettich), Neraca listrik (Electronic Balance, Chyo JP2-160), Freezer (Sharp, Japan) dan refrigerator (Sharp, Japan), 1 set mikro pipet (Eppendorf, Gmn), Waterbath (Memmert), Oven (Heraeus), Nanopure (Barnstead), Kontainer N<sub>2</sub> cair (Locator Jr), PH meter (Beckman), Vortex mixer



(Eydam), Warm plate (Cole parmer), Objek glass, Cover glass dan thoma.

Bahan penelitian yang digunakan adalah berupa bahan baku untuk proses fertilisasi *in vitro* dan jaringan maternal didapatkan sebagai berikut:

- Organ reproduksi betina sapi Bali yang diperoleh dari rumah potong hewan di Lombok Barat.
- Semen sapi Bali yang diperoleh dari koleksi semen dari epididimys testes (organ reproduksi jantan).

Bahan habis yang diperlukan untuk *sexing* sperma, maturasi *in vitro*, fertilisasi *in vitro* dan *co culture* adalah : Percoll (Sigma), Eosin, Sitrat, NaCl fisiologis steril, fruktosa, Foetal Bovine Serum/FBS (Sigma), BSA (Sigma), Pyruvat (Sigma), Earle's Ballanced Salt Solution/EBSS (Sigma), JT Baker, Tissue Culture Medium 199/TCM 199 (Sigma), FAF Free (Sigma), Penicillin (Sigma), Gentamycin (Sigma), Streptomycin Sulfat (Sigma), Lactic Acid (Sigma), BME Amino Acid (Sigma), Hepes (Sigma), MEM Non Essential (Sigma), Amino Acid Solution (Sigma), L Glutamin (Sigma), NaHCO<sub>3</sub> (Sigma), CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O (Sigma), Gas CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> Cair, Etilen glycol (Sigma), Glucosa (Sigma), Millipore 0,22 µm dan 0,45 µm (Sartorius-Minisart), CR 1 aa (Sigma), vitamin E, Buffer Fosfat Saline dulbecco's (Sigma), Eosin negrosin, Enzim trypsin, Minyak mineral, Disposable culture bottle (sigma), Disposable poly prophylyene petri dish dengan diameter 35 mm dan 65 mm (Sigma), Disposable spuit plastik dengan ukuran 1ml, 2,5 ml, 5 ml., 20 ml, dan 50 ml (Nipro), dan Jarum suntik ukuran 18 G.

Rancangan penelitian yang diterapkan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Pengaruh sel-sel embrio sapi Bali pada jaringan maternal terhadap perkembangan embrio diketahui melalui kultur embrio hasil fertilisasi *in vitro* dengan spermatozoa *sexing* dengan 2 metode yaitu *Sentrifugasi gradien percoll* dan *Swim uppada* 3 sistem biakan(sel epitel oviduct, sel epitel kumulus, sel uterus) masing-masing dalam media TCM

199 yang telah dilengkapi dengan 10 % *Fetal Calf Serum* (FCS). Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap angka pembelahan (*cleavage*), jumlah embrio yang mencapai tahap morula dan blastosis.

### **1. Koleksi Semen dan Sexing Spermatozoa**

Semen sapi adalah semen segar yang diperoleh dari koleksi sperma yang berasal dari epididymis. Testis beserta epididymis diperoleh dari Rumah Potong Hewan (RPH) tradisional di Mataram. Epididymis dipisahkan dari testis kemudian dibersihkan dan dimasukkan ke dalam tabung gelas yang diisi dengan larutan NaCl fisiologis (0,9% NaCl) dan dibawa ke laboratorium. Setelah tiba di laboratorium, bagian epididymis dikoleksi spermatozoanya dari bagian cauda dengan kombinasi teknik *slicing*, pembilasan dan penekanan pada setiap jaringan cauda menggunakan larutan pengencer semen. Kriteria penilaian kualitas yang digunakan dalam penelitian ini adalah motilitas spermatozoa setelah dikoleksi > 70%.

Teknologi yang digunakan untuk *sexing* sperma adalah dengan menggunakan metode *Sentrifugasi gradien densitas percoll* dan metode *Swim up*.

**Sexing Sperma dengan Sentrifugasi gradien densitas percoll.** Sampel semen yang berada di dasar tabung berdiameter 120 mm dengan dasar berbentuk kerucut berisi 2 lapis larutan percoll (Sigma, P-1644) yang telah disiapkan sebelumnya dalam inkubator 38,5° C. Lapisan yang berada di dasar tabung adalah larutan Percoll dengan konsentrasi 90 % sebanyak 3 ml sedang lapisan di atasnya adalah larutan Percoll dengan konsentrasi 45 % sebanyak 3 ml. Selanjutnya sentrifugasi 750 x g selama 20 menit. Pellet spermatozoa di dasar tabung dicuci dalam *Earle's Balanced Salt Solution* (EBSS, Sigma E-6132) yang mengandung 1,5 % *Bovine Serum Albumin* (BSA, FAF free, Sigma A-60003). Selanjutnya dilakukan pemeriksaan motilitas, spermatozoa hidup dan morfologi spermatozoa.



**SexingSperma dengan Metode Swim up.** Pemisahan sperma dengan *Swim up* dengan modifikasi sebagai berikut : (a) pellet yang berada di dasar tabung sekitar 100 ul setelah pencucian ditambahkan media EBSS sebanyak 3 ml secara perlahan pada bagian atas spermatozoa. Tabung diletakkan tegak lurus pada rak dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar di dalam laminar flow. (b) sebanyak 200 ul semen diambil dengan mikropipet 2 mm dari lapisan atas media. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan motilitas, spermatozoa hidup dan morfologi spermatozoa.

## **2. Koleksi Ovarium, Aspirasi dan Maturasi Oosit**

Ovarium yang berasal dari RPH dimasukkan ke dalam larutan NaCl fisiologis pada suhu 37°C. Oosit diaspirasi dengan menggunakan alat suntik plastik berukuran 10 ml yang dilengkapi dengan jarum suntik 18 G yang sudah diisi dengan 2 ml larutan pencuci oosit (*Oosit Washing Solution*) yang mengandung TL HEPES (Sigma Co. USA) + gentamisin (Sigma Co. USA) + BSA fraction V (Sigma Co. USA). Setiap folikel yang berpenampang 2-5 mm diaspirasi melalui jaringan ovarium. Cairan folikel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan di simpan dalam penangas air dengan suhu 37° C selama 10 menit sampai oosit mengendap. Setelah pencucian oosit diseleksi dengan menggunakan mikroskop stereo pembesaran 100 X. Oosit yang digunakan dalam penelitian ini adalah oosit yang mempunyai kumulus lengkap. Maturasi dilakukan dalam 100 µl TCM 199 yang dilengkapi dengan 10 % serum sapi Bali berahi berisi 10-12 oosit yang ditutup dengan *mineral oil* (Sigma) dalam cawan petri plastik berpenampang 36 mm disposable (Nunclon, Denmark). Pengeraman dilakukan selama 24 jam di dalam inkubator 5% CO<sub>2</sub> dengan suhu 38,5°C kelembaban 95-99%.

### 3. Fertilisasi *in vitro*

Bentukan *rosset* dibuat dalam petri steril dengan volume 100  $\mu$ l media EBSS untuk tetes besar pada bagian tengah dan 25  $\mu$ l untuk tetes kecil sebanyak 6 buah yang mengelilingi tetes besar. Masing-masing tetes kecil dihubungkan ke tetes besar dengan menggunakan ujung pipet. Selanjutnya *rosset* ditutup dengan minyak parafin dan diekuilibrasikan selama 2 jam sebelum spermatozoa dimasukkan.

Sebelum waktu 30 menit tercapai pada proses *swim up*, oosit yang telah didewasakan dicuci 2 kali dalam media pencuci oosit (OWS) dan sekali ke dalam media EBSS lalu dimasukkan ke dalam tetes media kecil *rosset*, masing-masing berisi 8-10 buah oosit. Proses fertilisasi dilakukan dengan cara memasukkan suspensi spermatozoa pada bagian tengah tetes sebanyak 50  $\mu$ l. Observasi oosit yang telah dibuahi dilakukan setelah 24 jam fertilisasi.

Embrio hasil fertilisasi *in vitro* dengan spermatozoa *sexing* di kultur dengan 3 sistem *co culture* (sel epitel oviduct, sel epitel kumulus, sel uterus) masing-masing dalam media TCM 199 yang telah dilengkapi dengan 10 % Fetal Calf Serum (FCS). Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap angka pembelahan (*cleavage*), jumlah embrio yang mencapai tahap morula dan blastosis. Setiap perlakuan terdiri dari 10 kali ulangan.

Pergantian media dilakukan setiap 72 jam, namun setiap 24 jam biakan sel digoyang perlahan. Suhu inkubator CO<sub>2</sub> tetap pada kisaran 37°C – 38,5°C dengan kelembaban 95-99%. Embrio dibekukan pada tahap morula dan blastosis. Angka pembelahan (*cleavage*) adalah jumlah zigot yang membelah setelah 48 jam dibuahi oleh spermatozoa dalam medium pembuahan (EBSS) yang diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5 %, dengan suhu 38,5°C, dibandingkan dengan jumlah seluruh oosit yang dimatangkan. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali. Persentase Morula dan Blastosis adalah



banyaknya embrio yang mencapai tahap morula dan blastosis dibandingkan dengan jumlah seluruh oosit yang dimatangkan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Perkembangan embrio *in vitro* dibutuhkan media yang mampu memberikan lingkungan yang optimum dan sebagai tempat persediaan nutrisi yang diperlukan untuk metabolisme dan diferensiasi sel embrio. Keberhasilan sistem biakan harus menyediakan segala sesuatu yang diperlukan untuk embrio dalam menjalani pembelahan awal. Interaksi sel-sel embrio sapi Bali dengan jaringan maternal (sel epitel oviduct, sel epitel kumulus dan sel uterus) dalam media TCM 199 dapat diketahui berdasarkan perkembangan embrio *in vitro*. Diperoleh angka pembelahan (*cleavage*) dengan menghitung jumlah zigot yang membelah setelah 48 jam dibuahi oleh spermatozoa *sexing* dalam medium pembuahan (EBSS). Konsep dasar interaksi ini adalah interaksi proliferasi sel monolayer pada sel epitel oviduct, sel endometrium, dan sel kumulus sebagai sel "feeder" dan sel "helper" yang akan menstimulasi perkembangan embrio melalui penghilangan pengaruh toksin pada medium, menambah faktor penumbuh dan beberapa pengaruh yang menguntungkan.

Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa oosit yang dikultur dalam jaringan maternal (48 jam setelah inseminasi dengan metode *Swim up*) menghasilkan persentase embrio tahap *cleavage* pada sel epitel oviduct, sel kumulus, sel uterus dan berturut-turut adalah 63,0%, 62,5 %, dan 62,9 %. Perkembangan embrio pada tahap *cleavage* dengan metode *Sentrifugasi gradien densitas percoll* pada sel epitel oviduct, sel kumulus, sel uterus dan berturut-turut adalah 50,0%, 53,8 %, dan 53,8 %. Perkembangan embrio tahap morula dengan metode *Swim up* diperoleh 49,4 %, 50,3 %, dan 50,2 % pada sistem media tumbuh sel oviduct, sel kumulus, dan sel uterus, sedangkan pada metode *Sentrifugasi gradien densitas percoll* pada sistem kultur sel oviduct, sel kumulus, sel

uterus berturut-turut adalah 48,4 %, 50,5 %, 50,3 %. Sedangkan perolehan blastosis dalam penelitian ini pada sistem kultur sel oviduct, sel kumulus, sel uterus dengan metode *Swim up* berturut-turut adalah 39,4 %, 42,5 %, 43,2 % dan pada metode *Sentrifugasi gradien densitas percoll* berturut-turut sebagai berikut 38,6 %, 40,7 % dan 40,9 %.

Persentase embrio tahap *cleavage* tanpa jaringan maternal pada metode *Swim up* dan *Sentrifugasi gradien densitas percoll* berturut-turut adalah  $34,8 \pm 0,2$  % dan  $30,2 \pm 0,5$  %. Perkembangan embrio tahap morula tanpa jaringan maternal dengan metode *Swim up* dan metode *Sentrifugasi gradien densitas percoll* berturut-turut adalah  $24,7 \pm 0,2$  % dan  $22,5 \pm 0,4$  %. Sedangkan perolehan blastosis pada metode *Swim up* dan pada metode *Sentrifugasi gradien densitas percoll* berturut-turut sebagai berikut  $23,0 \pm 0,3$  % dan  $22,3 \pm 0,4$  %.

Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jaringan maternal dapat meningkatkan angka *cleavage*, morula dan blastosis. Sel monolayer jaringan maternal sel tuba, sel kumulus dan sel uterus yang dibiakkan diketahui banyak mengandung faktor tumbuh seperti *epithelial growth factor* (EGF), *Transferring growth factor* (TGF  $\alpha$  dan  $\beta$ ) atau *Insulin growth factor* (IGF), semua faktor tumbuh ini diduga diperlukan dalam perkembangan embrio (Keefer *et al.*, 1999; Camargo *et al.*, 2006)). Hasil perkembangan *cleavage in vitro* menjadi morula ini tidak jauh berbeda dengan hasil laporan Lonergan & Fair, 2008. Perolehan embrio dalam hasil penelitian tersebut yang mencapai tahap morula sebanyak 44 %, sebelumnya di dalam media biakan ditambahkan suplemen *Bovine Follicle Fluid* sebesar 10 %. Hasil biakan embrio dini di dalam sel monolayer baik sel oviduct, sel kumulus dan sel uterus memberikan harapan yang baik hingga menjadi morula (16-32 sel).

Perolehan blastosis dalam media *biakan bovine epithel cell* (BOEC) adalah 23-25 % dan sedikit meningkat menjadi 30 % jika dibiakkan hingga 8 hari (Donnay *et al.*, 1997; Pegoraro *et al.*, 2005). Namun hasil penelitian ini lebih rendah jika dibandingkan dengan



angka blastosis yang dicapai hingga 45 % dengan memakai media epitel tuba hingga 7 hari perkembangannya (Lonergan *et al.*, 2006). Sedangkan dengan pemakaian media sintetis (SOF) pada embrio sapi diperoleh embrio hingga stadium blastosis dalam kurun waktu 7 hari adalah 27,5 % (Louschova, 2003).

Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa persentase perkembangan embrio dalam jaringan maternal menunjukkan hasil yang lebih tinggi pada ke dua metode *sexing*, jika dibandingkan kontrol. Hal tersebut dapat dijelaskan sebagai berikut: secara *in vivo*, yaitu pada awal preimplantasi embrio dalam oviduct telah mencapai tahap 8-16 sel, namun pada preimplantasi akhir (embrio pada tahap morula dan blastosis) berada dalam uterus. Pada tahap tersebut sangat tergantung pada faktor lingkungan yang kompleks. Kondisi inipun tercermin dalam media biakan *in vitro*, saat ini sangat diperlukan media kultur yang lebih kompleks (Leese, 2005; Yuliani & Sumadisa, 2005). Di samping itu, saat ini terjadi fenomena *cell block*, seperti pada embrio sapi terjadi pada tingkat 8-16 sel. Untuk mengatasi *cell block* digunakan sel-sel somatik dalam media kultur. Peran jaringan maternal dapat memberikan kontribusi terhadap perkembangan embrio dengan menghilangkan komponen embriotoksik dari medium dasar dengan mensekresi faktor embriotropik. Beberapa komponen yang dapat merusak seperti hypoxantine, nicotinamide, glucosa dan phosphat dapat dihilangkan atau diaktivasi oleh sel (Pinyopummintr dan Bavister, 1991; Trounson *et al.*, 2003).

Embrio dikembangkan di atas satu lapisan (*monolayer*) kultur sel-sel saluran reproduksi betina (sel kumulus, tuba Fallopii atau endometrium) untuk meniru kondisi alamiah. Mekanisme sistem tersebut dalam program fertilisasi *in vitro* memberikan efek positif, diduga melalui mekanisme pengeluaran faktor-faktor penting dalam pengembangan embrio. Di antaranya asam amino (terutama glisin) dan faktor-faktor pertumbuhan spesifik lainnya seperti *epidermal growth factor* (EGF), *transforming growth factor*, serta kemampuan detoksifikasi untuk

menghilangkan faktor yang tidak menguntungkan embrio dalam medium kultur.

Jaringan maternal dapat mempengaruhi perkembangan embrio sapi yang dibiakan dalam 2 cara yaitu (1) dapat memperbaiki angka perkembangan dari tahap 8-16 sel sampai tahap blastosis dan (2) dapat meningkatkan pertumbuhan ukuran embrio sejak tahap 5-8 sel. Dalam medium biakan terdapat kombinasi sekresi faktor-faktor yang bertanggung jawab terhadap pengaruh positif terhadap embrio yang dikultur dalam kelompok atau dalam sel somatik. Di samping itu faktor penumbuh telah ada dalam awal perkembangan embrio di dalam saluran reproduksi. Telah diketahui bahwa sekresi uterus (*histotrophe*) berfungsi untuk mengatur kelengkapan, implantasi, nutrisi dan pertumbuhan konseptus (Lauschova, 2003; Rizos *et al.*, 2008). Selanjutnya diungkap pula bahwa lingkungan uterus dengan kapasitas sebagai sumber nutrisi dapat menyediakan faktor penumbuh dan protein secara teratur pada pertumbuhan kritis dan kelangsungan hidup konseptus preimplantasi. Keterlibatan peptida dan polipeptida faktor penumbuh menjadi suatu kenyataan yang mengontrol proliferasi sel dan diferensiasi fungsional sel embrio preimplantasi. Secara fisiologis peran faktor penumbuh sebagai pengatur perkembangan normal, mempertahankan homeostasis, pemeliharaan dan regenerasi.

Beberapa peneliti telah melaporkan bahwa faktor penumbuh dapat berfungsi sebagai mitogen dalam satu keadaan dan dapat meningkatkan diferensiasi sel yang lainnya. Faktor penumbuh dapat mengatur ekspresi gen dalam sel target. Pada awalnya terjadi aksi faktor penumbuh sebagai ikatan reseptor spesifik dalam sel embrional (Tomioka *et al.*, 2007; Popova *et al.*, 2009; Gadella *et al.*, 2011). Hal ini akan meningkatkan afinitas reseptor yang terentang pada bagian luar sel membran. Secara umum, reseptor adalah tyrosine-specific protein kinase, selanjutnya dikatakan ikatan faktor penumbuh oleh reseptor menjadi pecah, messengers kedua ini kemungkinan phosphoprotein,



inositol phosphat, diacylglycerol, cyclic nucleotida, ion-ion monovalent atau divalent. Dalam beberapa menit, setelah pembentukkan *growth factor-receptor complex*, perubahan dalam ekspresi gen dapat dideteksi dengan adanya kumpulan gen yang secara cepat melintas batas jaringan sebagai respon pada faktor penumbuh.

Kebutuhan jaringan maternal untuk mendukung perkembangan embrio menjadi morula telah ditunjukkan dalam penelitian ini. Hal ini dapat dihubungkan pada kebutuhan kompleks dan spesifik embrio pada tahap awal perkembangan, khususnya pada saat diferensiasi inisiasi sel menjadi morula kompak (Reischl & Judith, 2005). Keberadaan glukosa dalam media TCM 199 akan mengakibatkan penekanan perkembangan embrio dalam stadium dini ke tahap lebih lanjut. Adanya glukosa dalam media akan memacu meningkatnya aktivitas glikolisis embrio akibatnya akan terjadi bentuk kerapuhan atau *detrimental* karena adanya *Crab tree-like effect* (Lonergan *et al.*, 2006; Lonergan & Fair, 2008; Vajta *et al.*, 2008). Selain itu kehadiran glukosa dalam media biakan mengakibatkan cedera sel akibat adanya banyak radikal bebas terbentuk selama dalam perkembangannya, sehingga akan merusak membran sel. Glukosa meningkatkan produksi oksigen radikal oleh sel. Penghambatan pembelahan embrio awal disebabkan oleh adanya oksigen radikal yang mengakibatkan gangguan perkembangan embrio awal. Hambatan perkembangan kemungkinan dihubungkan dengan potensi toksitas oksigen atau tekanan oksidatif sebagai peningkatan konsentrasi intraseluler embrio *in vitro*. Penambahan antioksidan dapat menurunkan kadar *reactive oxygen species* (ROS) yang merusak membran sel saat fertilisasi *in vitro*. Embrio yang diperoleh dari hasil fertilisasi *in vitro* sering terpapar oleh level oksigen yang lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi fisiologik, hal ini disebabkan oleh stres oksidasi. Beberapa faktor eksogen dan kondisi kultur dapat meningkatkan produksi spesies oksigen reaktif oleh embrio. Spesies oksigen reaktif dapat merubah tipe molekul sel, selanjutnya dapat menginduksi hambatan dan kelambatan

perkembangan embrio. Salah satu pencegahan eksternal terdapat dalam sel pada jaringan maternal (Lanus dan Yuliani, 2006; Elena *et al.*, 2011).

Semakin tinggi stadium embrio diperlukan dukungan protein dan komponen lain seperti faktor penumbuh yang terdapat dalam sel somatik yang penting untuk proses proliferasi dan diferensiasi sel embrio. Pada kondisi ini terjadi penambahan kecepatan metabolisme yang cukup tajam. Hal ini diperkuat oleh hasil penelitian Camargo *et al.*, 2006, dalam tiga hari pertama dari perkembangan embrio terjadi perombakan protein secara tetap dengan struktur protein yang sama. Perubahan diperlukan untuk pembelahan sampai stadium morula, hasilnya setiap sel blastomer masih memiliki struktur protein yang sama. Setelah tiga hari pertama, perkembangan embrio stadium 8 sel membutuhkan energi (Tomioka *et al.*, 2007). Salah satunya adalah dengan mobilitas energi melalui reaksi deaminasi asam amino yang telah digunakan kembali untuk pembentukan protein. Dalam hal ini metabolisme energi serupa dengan metabolisme protein, terutama untuk kebutuhan sintesa protein. Perkembangan embrio dalam proses diferensiasi dan pembelahan sel blastomer (*cleavage*) akan diikuti dengan aktivitas berupa kenaikan dan perubahan pada tahap replikasi, transkripsi dan translasi dalam proses biosintesis protein. Pada perkembangan embrio terjadi peristiwa sintesis protein terutama sintesis mRNA menjadi aktif. Protein yang ada di dalam sel akan disintesa melalui proses biosintesa protein (Rizos *et al.*, 2008).

*Sexing* sperma mempunyai dampak positif terhadap perkembangan embrio *in vitro* dan dapat berpengaruh terhadap keberhasilan prosedur ini. Secara *in vivo*, pada pertengahan siklus mukus servix memisahkan spermatozoa dari seminal plasma ejakulat dan meningkatkan seleksi motil dari non motil dan spermatozoa abnormal. Selanjutnya, mukus diyakini sebagai sumber energi spermatozoa dan untuk memperpanjang kelangsungan hidupnya, dengan demikian bertindak sebagai reservoir yang mensuplai daya hidup spermatozoa menjadi lebih panjang (Hafez, 2000; Galli & Lazzari, 2008;



Bailey, 2010). Secara *in vitro*, *sexing* sperm dapat menyingkirkan seminal plasma, yang mengandung beberapa faktor "dekapasitasi". Spermatozoa kemudian diresuspensi dalam medium kultur yang diperlukan untuk kebutuhan nutrisi untuk mempertahankan daya hidup sperma dan menginduksi kapasitas sperma (Yuliani dan Sumadisa, 2004; Bailey, 2010; Gadella *et al.*, 2010).

*Swim up* berdasarkan kemampuan spermatozoa motil untuk migrasi dari endapan plasma semen menuju ke lapisan atas medium, dengan demikian hanya spermatozoa yang unggul yang dapat bergerak mencapai permukaan media. Setelah *sexing* sperma menunjukkan peningkatan motilitas, hal ini dapat dijelaskan bahwa tujuan *sexingsperma* selain memisahkan spermatozoa X dan Y juga dapat menyeleksi spermatozoa motil dan menginduksi terjadinya kapasitas (Yuliani, 2002; Ikawa *et al.*, 2010). Kapasitas secara *in vivo* merupakan suatu proses persiapan dan perubahan fisiologis spermatozoa di dalam saluran reproduksi betina untuk mempertinggi daya fertilisasi. Efek kapasitas akibat penginkubasian sperma selama 30 menit pada suhu 37°C, dapat menyebabkan terjadinya perubahan motilitas dalam bentuk hiperaktivasi spermatozoa (Cran, 2007; Bailey, 2010). Hiperaktivasi terjadi karena perubahan motilitas yang diakibatkan masuknya ion kalsium ke dalam intra seluler dari spermatozoa. Kalsium intraseluler akan mengaktifkan kalsium dependent adenilat cyclase yang dapat meningkatkan c-AMP, kemudian c-AMP mempercepat gerakan ekor spermatozoa (Pilikan *et al.*, 2001; Tulsiani *et al.*, 2007).

## KESIMPULAN DAN SARAN

Jaringan maternal memberikan dukungan yang positif terhadap perkembangan embrio sapi Bali, mulai dari tahap *cleavage* sampai mencapai tahap blastosis. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa fenomena *developmental block* akibat lingkungan perkembangan embrio yang tidak serasi dan faktor spesifik saluran reproduksi dapat teratasi.

Nampak jaringan maternal berpengaruh positif dan bertindak secara sinergis untuk menunjang kelangsungan hidup embrio hasil fertilisasi *in vitro* dengan spermatozoa *sexing*. Selanjutnya perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengisolasi protein spesifik dan mengukur seberapa besar sekresi protein spesifik embrio yang diperlukan untuk kelangsungan hidupnya.

### DAFTAR PUSTAKA

- Bailey J L. 2010. Factors regulating sperm capacitation. *Syst. Biol. Reprod. Med.* 56, 334-348
- Cran D G. 2007. XY sperm separation and use in artificial insemination and other ARTs. *Soc.Reprod. Fertil. Suppl.* 65, 475-491
- Camargo LSA, Viana JHM, Sá WF, Ferreira AM, Ramos AA dan Vale F. 2006. Factors influencing *in vitro* embryo production. *Anim. Reprod.*, v.3, n.1, p.19-28.
- Camargo LSA, Viana JHM, Sá WF, Ferreira AM dan Vale Filho VR. 2006. *In vitro* embryo production in bovine. *Anim Reprod Sci.* 1: 19-28.
- Camargo LSA, Viana JHM, Sá WF, Ferreira AM dan Vale Filho VR. 2005. Developmental competence of oocytes from prepubertal *Bos indicus* crossbred cattle. *Anim Reprod Sci*, 85:53-59.
- Camargo LSA, Viana JHM, Sá WF, Ferreira AM, Ramos AA, Freitas C dan Vale Filho VR. 2006. Developmental competence of oocytes obtained from *Bos taurus* and *Bos indicus* dairy cows raised in tropical climate. *Reprod Fert Dev*, 18:243-244
- Donnay IA, Van, Langendonck, P, Auquier, B, Grisart, A, Vansteenbrugge, Massip dan F Dessy. 1997. Effect of *co-culture* and embryo number on the *in vitro* development of bovine embryos. *Journal Theriogenology* 47; 1549-1561.
- Donnay I, Van Langendonck A, Auquier P, Grisart B, Vansteenbrugge A dan Massip. 1997. Effects of coculture and embryo number on the *in vitro* development of bovine embryos. *Theriogenology* 47:1549-61.
- Duszevska AM, Trzeciak P, Compa A, Rapala Ł, 2010. Selected issues concerning biotechnology of farm animals breeding - a review. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 28, 295-306
- Duszevska A M, Rapala L, Trzeciak P, Dąbrowski S dan Piliszek. 2012. Obtaining farm animal embryos *in vitro*. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 21:217-233
- Elena, Michael B dan Alexander Krivokharchenko. 2011. Effect of Culture Conditions on Viability of Mouse and Rat Embryos Developed *in vitro*. *Genes* 2, 332-344
- Farha N dan Marcela V. 2010. Optimal *in vitro* Culture Conditions for Sustainable Development of Preimplantation Mouse Embryos during Prolonged Culture *Health and the Environment Journal*. Vol. 1, No. 2.
- Gadella BM. 2010. Interaction of sperm with the zona pellucida during fertilization. *Soc. Reprod. Fertil. Suppl.* 67, 267-287



- Gadella B.M, Evans JP. 2011. Membrane fusions during mammalian fertilization. *Adv. Exp. Med. Biol.* 713, 65-80
- Galli C dan Lazzari G. 2008. The manipulation of gametes and embryos in farm animals. *Reprod. Domest. Anim.* 43, 1-7
- Hafez ESE. 2000. *Reproduction in Farm Animals*. 7 Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 509 p.
- Iwata H S, Akamatsu N, Minami dan M Yamata. 1998. Effects of antioksidants on the development of bovine IVM/IVF embryos in various concentrations of glucose. *Theriogenology* 50 : 365-375.
- Ikawa M, Inoue N, Benham AM, Okabe M. 2010. Fertilization: a sperm's journey to and interaction with the oocyte. *J. Clin. Invest.* 120, 984-94
- Keefer CL, SL Stice dan AM Paprocki. 1999. Effect of follicle stimulating hormon and luteinizing hormon during bovine *in vitro* maturation on development following *in vitro* fertilization and nuclear transfer, *Journal . Mol. Reprod. And Dev.* 36 : 469-474.
- Klein C, Bauersachs S, Ulbrich SE, Einspanier R, Meyer HH, Schmidt SE, Reichenbach HD, Vermehren M, Sinowatz F, Blum H dan Wolf E. 2006. Monozygotic twin model reveals novel embryo-induced transcriptome changes of bovine
- Lauschova. 2003. Secretory Cell and Morphological Manifestation of Secretion in The Mouse Oviduct. *Scripta Medica (Berno)*-76 (4) 203-214.
- Lanus S dan Yuliani E. 2006. Kinerja Jaringan Maternal dan Agen Krioprotektan Terhadap Ekspresi Protein Spesifik Embrio kambing Hasil *Sexing* Sebagai Sinyal Kebuntingan Dini. Dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional
- Lesse H. 2005. Metabolic control during preimplantation mammalian development. *Journal Hum Reproduction* 1:63-72.
- Loneragan P, Fair T. 2008. In vitro-produced bovine embryos: dealing with the warts. *Theriogenology* 69, 17-22
- Loneragan P, Fair T, Corcoran D, Evans AC. 2006. Effect of culture environment on gene expression and developmental characteristics in IVF-derived embryos. *Theriogenology* 65, 137-152
- Parikh FR, Nadkarni, SG, Naik, NJ, Naik DJ dan Uttamchandani, SA. 2006. Cumulus coculture and cumulus-aided embryo transfer increases pregnancy rates in patients undergoing *in vitro* fertilization. *Fertil. Steril.*, 86: 839-847.
- Pegoraro LMC, JMThruad, B Geerin. 2005 Comparison of sex ratio and cell number of IVM-IVF bovine blastocysts *co-cultured* with bovine oviduct epithelial cells or with vero cells. *Theriogenology* 49: 1579-1590.
- Pinyopummintr T dan BD Bavister. 1991. Development of Bovine embryos in a Cell-free culture medium effects of type of serum, timing of its inclusion and heat in activation. *J. Theriogenology* 41 : 1241-1249
- Pilikan S, Adeleine P, JF Guerin dan F Nimouni. 2001. Hyperactivated motility of sperm from fertile donors and asthenozoospermic patient before and after treatment with ionophore. *J. Androl* 14:167-73.
- Popova E, Bader M, Krivokharchenko, A. 2009. Efficient production of nuclear transferred rat embryos by modified methods of reconstruction. *Mol. Reprod. Dev.* 76, 208-216.
- Quinn P. 2004. The development and impact of culture media for assisted reproductive technologies. *FertilSteril*, 81:27-29

- Reischl dan Judith Barbara. 2005. Establishment of a perfusion culture system for bovine oviduct epithelial cells facilitating studies of early embryo-maternal communication
- Swanson WF, TL Roth dan RA Godke. 1996. Persistence of developmental block of *in vitro* fertilized domestic cat embryos to temporal variations in culture conditions. *Journal Mol Reproductio Development* .3: 297-305.
- Rizos D, Clemente M, Bermejo-Alvarez, P de La Fuente, J Lonergan dan P Gutiérrez-A. 2008. A Consequences of *in vitro* culture conditions on embryo development and quality. *Reprod. Domest. Anim.* 43, 44–50.
- Trounson A, Pushett D, Maclellan, Garner DK. 2003. Current status of IVM/IVF and embryo culture in human and farm animals. *Theriogenology* 41:57-66.
- Tomioka I, Mizutani E, Yoshida T, Sugawara A, Inai K, Sasada H, Sato E. 2007. Spindleformation and microtubule organization during first division in reconstructed rat embryos produced by somatic cell nuclear transfer. *J. Reprod. Dev.* 53, 835–842. *Genes* 2011, 2 343
- Tulsiani DR, Zeng HT, Abou-Haila A. 2007. Biology of sperm capacitation: evidence for multiple signalling pathways. *Soc. Reprod. Fertil. Suppl.* 63, 257-272
- Vajta G, Korösi T, Du Y, Nakata K, Ieda S, Kuwayama M, Nagy ZP. 2008. The Well-of-theWell system: an efficient approach to improve embryo development. *Reprod. Biomed.* 17, 73–81.
- Vigneault C, Serge M, Lyne M dan Marc A S. 2004. Transcription factor expression patterns in bovine *In vitro*-derived embryos prior to maternal-zygotic transition. *Biology of Reproduction* 70, 1701–1709.
- Wolf E, Arnold GJ, Bauersachs S, Beier HM, Blum H, Einspanier R dan Fröhlich T. 2003. Embryo-maternal communication in bovine – strategies for deciphering a complex cross-talk *Reproduction in Domestic Animals* Volume 38. 276
- Yuliani. E. 2002. Peningkatan Rasio Spermatozoa Berkromosom Y pada Sapi Bali . *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan* Vol 1 (2) Desember.
- Yuliani. E. 2003. Pengaruh Ko Kultur dan Jumlah oosit Terhadap Perkembangan Embrio Sapi Hasil Fertilisasi *in vitro*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan* Vol . 2(1) Juni.
- Yuliani E. dan Wayan Lanus Sumadiasa. 2004. Efektivitas kinerja Pentoksifilin Terhadap Fungsi Spermatozoa Hasil *Sexing* dan Perkembangan Embrio *in vitro* kambing Lokal. Dibiayai Proyek Penelitian Dasar . Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Jenderal Pendidikan Tinggi Depdiknas.
- Yuliani E, Lukman HY dan Eddy A. 2014. *Ib,IKK Melalui Percepatan Produksi Sapi Bali Bakal Program Ipteks Bagi Inovasi Dan Kreativitas Kampus.* Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Jenderal Pendidikan Tinggi Kemendikbud.
- Yuliani E. dan I Wayan Lanus Sumadiasa. 2005. Kinerja *co culture* Sel Somatik dan Antioksidan sebagai “ Penyelamat” Embrio Kambing Lokal Hasil Fertilisasi *in vitro* dengan Spermatozoa *Sexing*. Dibiayai Proyek Penelitian Dasar Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Jenderal Pendidikan Tinggi Depdiknas.



Nomor : 006 /BIORESOURCESEXPO/VII/2014  
Lampiran : 1 (satu) Berkas  
Perihal : Penerimaan Makalah

Cibinong, 23 Juli 2014

Kepada Yth.  
**Enny Yuliani**  
Lab. Imunobiologi  
Universitas Mataram

Dengan hormat,

Bersama ini kami Panitia Seminar Nasional Bioteknologi Peternakan dalam rangka Bioresources LIPI Expo 2014, memberitahukan bahwa makalah Bapak/Ibu dengan judul **“Aplikasi Jaringan Maternal Pada Perkembangan Embrio Sapi Bali Hasil Fertilisasi *In Vitro* Dengan Spermatozoa Sexing”** diterima.

Untuk diketahui bahwa pada Seminar ini, semua makalah yang diterima dipresentasikan dalam bentuk . Terlampir disampaikan format pembuatan serta makalah seminar dan perbaikan abstrak. Perbaikan abstrak diharapkan dapat kami terima paling lambat tanggal 20 Agustus 2014, sedangkan makalah lengkap paling lambat tanggal 20 September 2014. Untuk kelancaran penyusunan prosiding, kami mohon kerjasamanya untuk menyerahkan makalah sesuai dengan format yang telah ditentukan. Makalah yang tidak mengikuti format penulisan, tidak akan kami terbitkan di dalam prosiding.

Demikian kami sampaikan, atas perhatian dan kerjasamanya kami ucapkan terima kasih.

Ketua Panitia,

Dr. Yantyati Widyastuti

③ sbg penakalah

Nomor : 006 /BIORESOURCESEXPO/VII/2014  
Lampiran : 1 (satu) Berkas  
Perihal : Penerimaan Makalah

Cibinong, 23 Juli 2014

Kepada Yth.  
**Enny Yuliani**  
Lab. Immunobiologi  
Universitas Mataram

Dengan hormat,

Bersama ini kami Panitia Seminar Nasional Bioteknologi Peternakan dalam rangka Bioresources LIPI Expo 2014, memberitahukan bahwa makalah Bapak/Ibu dengan judul "**Aplikasi Jaringan Maternal Pada Perkembangan Embrio Sapi Bali Hasil Fertilisasi *In Vitro* Dengan Spermatozoa Sexing**" diterima.

Untuk diketahui bahwa pada Seminar ini, semua makalah yang diterima dipresentasikan dalam bentuk . Terlampir disampaikan format pembuatan serta makalah seminar dan perbaikan abstrak. Perbaikan abstrak diharapkan dapat kami terima paling lambat tanggal 20 Agustus 2014, sedangkan makalah lengkap paling lambat tanggal 20 September 2014. Untuk kelancaran penyusunan prosiding, kami mohon kerjasamanya untuk menyerahkan makalah sesuai dengan format yang telah ditentukan. Makalah yang tidak mengikuti format penulisan, tidak akan kami terbitkan di dalam prosiding.

Demikian kami sampaikan, atas perhatian dan kerjasamanya kami ucapkan terima kasih.

Ketua Panitia,

Dr. Yantyati Widyastuti





PUSLIT BIOTEKNOLOGI  
LIPI CIBINONG

# FORUM BIOTEKNOLOGI PETERNAKAN LIPI

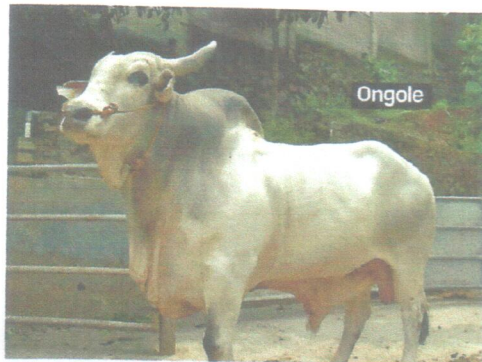
CONFERENCE - SEMINAR - EXPO

BOTANI SQUARE, 17 - 21 SEP 14

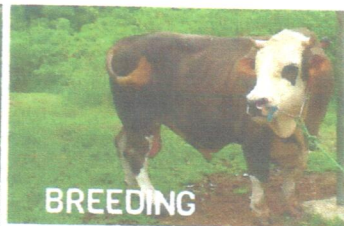
Swasembada daging dan susu menjadi topik hangat dalam beberapa tahun terakhir, berbagai upaya inovasi telah dilakukan untuk meningkatkan produksi dan produktivitas ternak serta meningkatkan populasi dan mutu genetik ternak di Indonesia.

Dalam rangka ulang tahun LIPI, yang sekaligus merupakan agenda tahunan, Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI menyelenggarakan Forum Bioteknologi Peternakan LIPI berskala nasional, yang terdiri dari **conference, seminar dan expo**.

Diharapkan kegiatan akbar ini dapat lebih membuka wawasan dan memberikan solusi bagi masalah swasembada daging dan susu di Indonesia



Ongole



BREEDING



Anak-anak Ongole

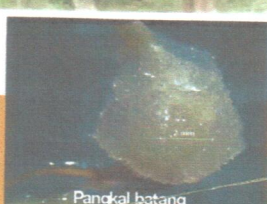


1 mm

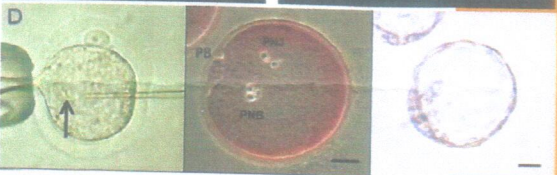
Bulir buah muda



Akar



Pangkal batang



1

## CONFERENCE

Membangun Industri Peternakan Modern di Indonesia

IPB ICC, 17 - 18 SEP 2014

## SEMINAR

Peran IPTEK dalam Peningkatan Populasi & Mutu Genetik Ternak Mendukung Kemandirian Daging & Susu Nasional

2

## PESERTA SEMINAR & CONFERENCE

Target peserta berjumlah **250 orang** dengan sasaran peserta a.l :

- Peneliti dan akademisi
- Swasta dan Industri
- Instansi pemerintah
- Anggota Organisasi & Asosiasi
- Pelajar, mahasiswa dan masyarakat umum

Informasi Seminar  
Ibu WARDI TUHAREA  
021 - 8754625  
021 - 87906903

3

## EXPO

Inovasi Berbasis IPTEK

BOTANI SQUARE  
17 - 21 SEP 2014

Informasi Expo  
Bp. RANGGA YULIANARKO  
021 - 290 30769  
0838 7171 7843

700 m2 EXPO area  
LG & GF Floor  
100 booth stand  
Peserta :  
LIPI, BUMN, Produk Inovasi Indonesia,  
Swasta di bidang Agro, Sponsor, dll

Didukung oleh



Organized by

**mci** management  
property - consultant - entertainment  
021 - 290 30 769  
www.mcimangement.com  
mci.innovation@gmail.com