

B A B IV

PENYIMPANAN EMBRIO SAPI

Setelah embrio diambil dari sapi donor, kemudian didiperiksa dan di-identifikasi dengan mikroskop stereoskopis; maka embrio yang baik dan normal dapat langsung dipindahkan pada sapi resipien yang sudah disiapkan. Bila dikehendaki penundaan pemindahan embrio karena sapi resipien belum dalam keadaan siap atau karena sapi resipien tempatnya berjauhan dengan sapi donor, maka embrio embrio ini dapat disimpan untuk sementara waktu menunggu sapi resipien disiapkan.

4.1. Penyimpanan Embrio Sapi In Vivo.

Tempat yang paling baik dan lingkungan yang paling sesuai bagi embrio sudah barang tentu adalah uterus induknya sendiri. Suatu penelitian telah dilaporkan bahwa kelinci mampu bertindak sebagai induk sementara, karena tuba fallopiinya dapat dipakai untuk menyimpan embrio sapi. (7,11,13,18,23,27,30). Meskipun penyimpanan embrio sapi dalam uterus kelinci tidak tergantung pada fase folikuler maupun fase luteal dari siklus birahinya (30), tetapi yang sering dilakukan adalah ketika kelinci sedang birahi atau bunting suri. (13,32).

Embrio sapi tersebut bertahan sebagai morula sampai blastosis (29), dan dapat hidup antara dua sampai lima hari serta menghasilkan fetus sapi yang normal. (7,11,22,30).

4.2. Penyimpanan Embrio Sapi In Vitro.

Untuk lebih menyempurnakan cara penyimpanan embrio agar lebih mempermudah pengangkutan dalam rangka pemindahan embrio pada sapi resipien yang berada jauh dari sapi donor, maka penyimpanan embrio secara in vitro akan terasa lebih praktis bila dibanding dengan penyimpanan in vivo. Usaha untuk menyimpan embrio in vitro ini pada dasarnya adalah menempatkan embrio dalam suatu media, agar tetap hidup; sementara perkembangannya dipertahankan pada stadium tertentu. (14,29,30,32,40,49).

4.2.1. Penyimpanan embrio sapi dalam media biakan.

Embrio dalam cairan flushing yang sudah di-identifikasi dengan pemeriksaan mikroskop stereoskopis, diambil dengan pipet mikro lalu dipindahkan kedalam media biakan.

Suatu media biakan sederhana yang terbuat dari larutan garam faali ditambah dengan α -keto glutarat sebagai sumber karbohidrat, berkonsentrasi antara 0,01 - 1 mM telah dilaporkan sangat efektif untuk menyimpan embrio sapi stadium 16 sel.

Setelah embrio tersebut ditempatkan kedalam media biakan, kemudian dialiri campuran gas yang terdiri dari 5% CO_2 dan 95% O_2 selama kurang lebih 20 detik; selanjutnya ditutup dengan solusio minyak parafin steril dan Kreb's Ringer. Solutio ini dibuat dengan menyampurkan 20 ml larutan Kreb's Ringer kedalam satu liter minyak parafin. Langkah berikutnya adalah menyimpan media biakan yang berisi embrio tersebut kedalam in-

inokulator 37°C bertekanan $0,022$ atmosfer. (14,29). Media biakan yang kompleks selain berisi sumber karbohidrat, juga mengandung protein, vitamin, mineral dan antibiotika. Sebagai sumber protein umumnya adalah serum fetus sapi atau cairan folikuler. (14).

4.2.2. Penyimpanan embrio sapi dalam suhu rendah.

Suatu laporan penelitian mengatakan bahwa embrio sapi stadium blastosis telah berhasil disimpan pada suhu rendah didalam media dimethyl sulphoxide/DMSO. (30,43,48). Embrio di equilibrasi pada suhu kamar dalam petri dish yang berisi campuran DMSO, PBS (Phosphat Buffered Saline) dan serum darah fetus sapi selama kurang lebih 10 menit. Kemudian embrio dimasukkan kedalam ampul glass steril yang berisi tiga mililiter DMSO dengan konsentrasi $1,5$ M. Ampul didinginkan pada temperatur -6°C selama 5-10 menit dan segera ditutup dengan pembakar oxyacethylene serta dilakukan freezing dengan kecepatan yang dapat diatur secara otomatis. Freezing dilakukan secara bertahap dengan kecepatan 3°C tiap menit dari suhu -6°C sampai dengan suhu -80°C dan kecepatan 1°C tiap menit untuk suhu -80°C sampai dengan suhu -100°C . Selanjutnya ampul yang berisi embrio tersebut dimasukkan kedalam kontainer yang berisi nitrogen cair dengan suhu -196°C . Bila embrio akan digunakan untuk dipindahkan pada sapi resipien, harus diadakan thawing dahulu dengan kecepatan $6-8^{\circ}\text{C}$ tiap menit sampai suhu mencapai 10°C , lalu dimasukkan kedalam water bath yang bersuhu 30°C . (43,48).