

FERTELISASI *IN VITRO* DAN MIKROINJEKSI SPERMA TUNGGAL SEBAGAI TEKNOLOGI ALTERNATIF KONSERVASI SATWA LANGKA

*Arief Boediono*¹⁾
*Gunanti*²⁾, *Sony Heru Sumarsono*²⁾

Konservasi satwa langka merupakan salah satu upaya melestarikan satwa asli Indonesia sebagai kekayaan keragaman hayati yang tidak dimiliki negara lain. Kematian satwa langka akan memutuskan upaya pelestarian bila kematian dianggap sebagai akhir dari suatu kehidupan. Kemajuan di bidang bioteknologi reproduksi menawarkan alternatif pemecahan masalah dengan pemanfaatan sel gamet secara optimum. Pada penelitian ini teknologi fertilisasi *in vitro* dan fertilisasi mikroinjeksi sperma tunggal dikembangkan dengan memanfaatkan sperma yang dikoleksi dari hewan hidup atau yang sudah mati untuk produksi embrio.

Penelitian ini dilakukan sebagai suatu rangkaian penelitian yang dibagi dalam tiga tahap. Pada tahap pertama dilakukan penelitian mengenai metoda pengambilan/koleksi sel gamet (spermatozoa dan sel telur) dari hewan yang baru mati atau dari hewan hidup setelah proses bedah kasus sterilisasi (kastrasi dan *ovariuhytectomy*), serta evaluasi sel gamet hasil koleksi pada kondisi *in vitro*. Pada tahap kedua, penelitian dititik beratkan pada metode pengawetan (preservasi) testis dan reproduksi embrio secara *in vitro*. Metode preservasi dilakukan dengan penyimpanan sementara testis pada suhu dingin (4°C).

Evaluasi ditujukan pada viabilitas spermatozoa yang dikoleksi dari testis setelah perlakuan preservasi. Produksi embrio secara *in vitro* dilakukan dengan inkubasi sel telur dan spermatozoa yang telah mengalami pematangan dan kapasitas *in vitro*. Tahap ketiga sebagai tahap akhir penelitian dikembangkan dengan penerapan teknologi fertilisasi mikroinjeksi sperma tunggal (*single sperm injection*) dengan metode *intracytoplasmic sperm injection* (ICSI). Keberhasilan teknik fertilisasi mikroinjeksi sperma tunggal dilihat dari tingkat fertelisasi dan perkembangan embrio pada kondisi *in vitro* dan *in vivo* setelah transfer embrio.

Rata-rata jumlah sel telur dengan diameter 13 mm per ovarium setelah induksi hormonal dengan kombinasi FSH + hCG (27,87) relatif lebih banyak dibandingkan dengan PMSG + hCG (17,18), walaupun secara statistik berbeda nyata $P > 0,05$). Jumlah sel telur kualitas A dan B cenderung lebih banyak dikoleksi dari ovarium pada fase luteal (18 sel telur per ovari) dibandingkan dengan fase folikuler (17 sel telur per ovari) walaupun secara statistik dan menunjukkan perbedaan nyata ($P > 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa koleksi sel telur kucing dapat dilakukan baik pada fase folikuler maupun fase luteal dengan kualitas yang tidak

1) *Ketua Peneliti (Staf Pengajar Departemen Anatomi FKJH-IPB)*; 2) *Anggota Peneliti*

berbeda. Pada penyimpanan ovarium pada suhu dingin (4°C) selama 24 jam didapatkan sel telur yang mampu berkembang mencapai tahap metafase II setelah inkubasi secara *in vitro* sebanyak 28,43 % dan pada periode penyimpanan 48 jam sebanyak 21,98 %.

Hal ini menunjukkan bahwa sel telur yang dikoleksi dari ovari setelah preservasi sampai 48 jam masih mempunyai kemampuan untuk berkembang mencapai tahap metafase II untuk selanjutnya dapat dimanfaatkan dalam program produksi embrio secara *in vitro*. Pada biopsi jaringan testis kucing lokal dapat ditemukan adanya spermatozoa (18%), spermatisit (41%) dan spermatid (41%), serta sedikit sel Sertoli dan sel Leydig. Motilitas spermatozoa kucing yang dikoleksi dari jaringan testis setelah penyimpanan pada suhu 4°C sampai hari ke-7 masih didapatkan sekitar 12 % spermatozoa motil nonprogresif. Hal ini menunjukkan bahwa spermatozoa yang ada dalam testis hewan ini masih mempunyai potensi untuk digunakan dalam proses produksi embrio secara *in vitro*, namun demikian diperlukan introduksi teknologi berupa mikroinjeksi sperma tunggal karena keterbatasan jumlah spermatozoa motil progresif.

Secara *in vitro* pada kucing dapat dilakukan dalam medium maturasi, fertilisasi dan kultur sampai pada tahap perkembangan morula/blastosis masing-masing 13 % dan 11 % bila disuplementasi FBS 5% atau CS 5%. Keberhasilan fertilisasi *in vitro* dengan metoda mikroinjeksi sperma tunggal menunjukkan bahwa tingkat fertilisasi *in vitro* melalui metoda mikroinjeksi sperma tunggal (67%, 21/32) lebih tinggi dibandingkan dengan metoda fertilisasi konvensional (55%, 21/38) dengan mencampurkan sel telur kedalam spermatozoa dengan konsentrasi 5×10^0 spermatozoa/ml. Tingkat perkembangan embrio secara *in vitro* mencapai tahap pembelahan (49% dan 41% dan morula/blastosis (29% dan 32% pada zigot hasil mikroinjeksi sperma tunggal tidak berbeda dibandingkan zigot hasil fertilisasi *in vitro* secara konvensional. Transfer embrio pada induk 6 resipien menghasilkan 2 induk teridentifikasi bunting berdasarkan pemeriksaan klinis menggunakan ultra sonografi pada minggu ke 4. Namun belum mencapai kelahiran karena terjadi aborsi. Secara keseluruhan, bahwa penyelamatan satwa langka dari kepunahan dapat dilakukan pendekatan dengan introduksi bioteknologi reproduksi melalui produksi embrio secara *in vitro* dengan metoda mikroinjeksi spermatunggal.