

## PEMBERIAN EKSTRAK EPIDIDIMIS BERPOTENSI MENINGKATKAN KUALITAS SPERMATOZOA KAMBING JANTAN LOKAL

### *Epididymis Extract Has potency to Increase the Sperm Quality of Local Male Goat*

Muslim Akmal<sup>1</sup>, Tongku Nizwan Siregar<sup>2</sup>, Sri Wahyuni<sup>3</sup>, Muhammad Hambal<sup>4</sup>, Sugito<sup>5</sup>, Amiruddin<sup>5</sup>, Syafruddin<sup>5</sup>, Roslizawaty<sup>5</sup>, Zainuddin<sup>1</sup>, Mulyadi Adam<sup>6</sup>, Gholib<sup>6</sup>, Cut Dahlia Iskandar<sup>1</sup>, Rinidar<sup>7</sup>, Nuzul Asmilia<sup>5</sup>, Hamny<sup>3</sup>, Joharsyah<sup>8</sup>, dan Suriadi<sup>9</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Embriologi dan Histologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

<sup>2</sup>Laboratorium Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

<sup>3</sup>Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

<sup>4</sup>Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

<sup>5</sup>Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

<sup>6</sup>Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

<sup>7</sup>Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

<sup>8</sup>Program Studi Kesmavet Program Pascasarjana Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

<sup>9</sup>Dinas Peternakan Kabupaten Aceh Besar Propinsi Aceh, Banda Aceh

E-mail: muslim\_akmal70@yahoo.com

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian ekstrak epididimis (EE) terhadap peningkatan kualitas spermatozoa kambing jantan lokal. Dalam penelitian ini digunakan 12 ekor kambing jantan lokal, berumur 1,5 tahun dengan bobot badan 10-15 kg dan dibagi atas empat kelompok (K0, KP1, KP2, dan KP3). Kelompok K0, hanya diinjeksi dengan NaCl fisiologis sedangkan kelompok KP1, KP2, dan KP3 diinjeksi EE masing-masing 1, 2, dan 3 ml/ekor selama 13 hari berturut-turut. Pada hari ke-14, dilakukan pengambilan semen kambing dengan elektroejakulator dan selanjutnya dilakukan pemeriksaan kualitas spermatozoa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian EE dengan dosis 1 dan 3 ml/ekor EE selama 13 hari berturut-turut menyebabkan peningkatan kualitas spermatozoa dibanding kelompok kontrol. Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa EE berpotensi meningkatkan kualitas spermatozoa pada kambing jantan lokal.

Kata kunci: ekstrak epididimis, kualitas spermatozoa, spermatogenesis, kambing jantan lokal

### ABSTRACT

This study aims to know the potency of epididymis extract (EE) to increase the sperm quality of local male goat. This study used 12 local goats, aged 1-1.5 years weighing between 10-15 kg and divided into 4 groups (K0, K1, K2, and K3). Control group were injected with NaCl 0.9%. K1, K2, and K3 groups were injected with 1, 2, and 3 ml EE each for 13 consecutive days. Fourteen days after the treatment, semen from the local male goats was collected using electroejaculator and quality of sperm evaluated. The result showed that the injection of 1 and 3 ml EE/goat for 13 consecutive days tended to increase sperm quality. It can be concluded that EE administration has the potency to increase the sperm quality of local male goats.

Key words: epididymis extract, quality of sperm, spermatogenesis, local male goat

### PENDAHULUAN

Secara klasik, epididimis bertanggung jawab terhadap transportasi, konsentrasi, penyimpanan, dan pematangan spermatozoa. Spermatozoa yang ada di dalam testis bersifat non-fungsional dan belum mampu bergerak secara progresif (Cornwall, 2009), sedangkan spermatozoa di dalam epididimis telah mampu bergerak secara progresif (Rutllant dan Meyers, 2001). Hal tersebut terjadi di dalam lingkungan yang unik dari lumen epididimis yang dibentuk oleh sekretori spesifik dan aktivitas absorpsi dari sel-sel epitelial epididimis (Guyonnet *et al.*, 2011). Gerakan progresif spermatozoa sangat diperlukan dalam memfertilisasi oosit (Zhan *et al.*, 2012).

Cairan epididimis merupakan campuran yang kompleks dari sejumlah ion, protein, dan molekul-molekul organik lain (Cornwall, 2009). Sampai saat ini diketahui bahwa komponen-komponen tersebut berperan penting dalam meningkatkan protein-protein permukaan spermatozoa yang dibutuhkan untuk

pematangan dan penyimpanan spermatozoa (Polpramool *et al.*, 2011). Hasil penelitian Da Silva *et al.* (2006) menunjukkan bahwa gerakan air yang terdapat di sekeliling epitel epididimis berperan penting dalam meningkatkan fungsi spermatozoa.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa di dalam epididimis terdapat sejumlah protein atau molekul yang memengaruhi pematangan spermatozoa (*epididymal sperm maturation*). Protein-protein tersebut adalah *cysteine-rich secretory proteins 1* (CRISP1), *human sperm-associated antigen 11* (SPAG11e), *beta-defensin 126* (DEFB126), *carbonyl reductase P34H*, CD52 (Sipilä *et al.*, 2009), dan *human epididymal protein 6* (HE6) atau GPR64 (Davies *et al.*, 2004; Sipilä *et al.*, 2009). Protein CRISP1 berperan penting pada interaksi spermatozoa-zona pelusida (Busso *et al.*, 2007); SPAG11e, menginduksi motilitas spermatozoa yang progresif (Zhou *et al.*, 2004); DEFB126, penetrasi spermatozoa melewati mukus serviks (Tollner *et al.*, 2008) dan pengenalan spermatozoa-zona pelusida (Tollner *et al.*, 2004); *carbonyl reductase P34H*,

pengikatan spermatozoa-zona pelusida (Boue' *et al.*, 1994); CD52, pada pengikatan spermatozoa-zona pelusida (Koyama *et al.*, 2007); dan GPR64 berperan penting pada pematangan spermatozoa (Sipilä *et al.*, 2009).

Berdasarkan hal tersebut, pemberian ekstrak epididimis (EE) diprediksi akan mampu meningkatkan kualitas spermatozoa kambing jantan lokal. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian EE terhadap peningkatan kualitas spermatozoa kambing jantan lokal. Hasil dari penelitian ini diharapkan EE dapat dijadikan sebagai bahan alternatif dalam upaya meningkatkan penampilan reproduksi kambing jantan lokal.

## MATERI DAN METODE

Penelitian ini menggunakan 12 ekor kambing jantan lokal, berumur 1,5 tahun dengan bobot badan 10-15 kg dan dibagi atas empat kelompok yakni K0, KP1, KP2, dan KP3. Kelompok K0, hanya diinjeksi dengan NaCl fisiologis sedangkan kelompok KP1, KP2, dan KP3 diinjeksi EE dengan dosis 1, 2, dan 3 ml/ekor selama 13 hari berturut-turut (Akmal *et al.*, 2014). Pada akhir perlakuan (hari ke-14), dilakukan pengambilan semen dengan menggunakan elektroejakulator untuk pemeriksaan kualitas spermatozoa yang meliputi, motilitas massa, motilitas individu, konsentrasi, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa.

### Pembuatan Ekstrak Epididimis (EE)

Pembuatan EE pada penelitian ini berpedoman pada metode yang dikembangkan oleh Siregar dan Akmal *et al.* (2013). Testis kambing jantan lokal yang diperoleh dari Rumah Potong Hewan (RPH) Kota Banda Aceh dibawa ke Laboratorium Histologi lalu disimpan ke dalam kulkas (*freezer*) hingga jumlahnya mencukupi. Testis kambing yang telah terkumpul direndam di dalam air agar mudah memisahkan antara testis dengan epididimis. Epididimis yang telah terkumpul diiris-iris hingga berukuran kecil. Kemudian epididimis ditimbang dan dihaluskan, dan ditambahkan larutan *aquabidest* dengan perbandingan 1 g epididimis : 10 ml *aquabidest*, lalu disaring dengan kertas saring. Larutan EE yang telah diperoleh lalu disentrifuga dengan kecepatan 3.000 *rpm* selama 20 menit kemudian supernatannya diambil dan disimpan dalam *freezer* sebelum diberikan pada hewan coba.

### Pemeriksaan Kualitas Spermatozoa

#### Pemeriksaan motilitas spermatozoa

Penilaian motilitas spermatozoa meliputi penilaian motilitas massa dan individu dilakukan berdasarkan metode yang diterapkan oleh Husin *et al.* (2007). Motilitas massa spermatozoa diamati dengan cara meneteskan semen di atas gelas obyek kemudian diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 10x10, sedangkan motilitas individu dilakukan dengan cara spermatozoa diteteskan pada gelas obyek kemudian diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 40x10 kali. Metode penilaian skor disajikan pada Tabel 1 dan Tabel 2.

#### Pemeriksaan viabilitas spermatozoa

Pemeriksaan persentase spermatozoa hidup dilakukan dengan metode Toelihere (1981). Semen diletakkan pada gelas obyek dan ditambahkan satu tetes pewarna eosin, kemudian dicampur dan ditutup dengan gelas obyek, lalu diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 40x10. Persentase hidup dan mati spermatozoa dihitung hingga 200 spermatozoa. Penentuan persentase spermatozoa yang hidup digunakan rumus yang diterapkan oleh WHO (1999), yakni:

$$\% \text{ hidup} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa hidup}}{\text{Jumlah spermatozoa hidup dan mati}} \times 100 \%$$

#### Pemeriksaan Konsentrasi Spermatozoa

Pemeriksaan konsentrasi spermatozoa dilakukan sesuai standar baku dari Balai Inseminasi Buatan (BIB) Singosari (Zenichero *et al.*, 2002). Konsentrasi spermatozoa dihitung dengan menggunakan metode perhitungan langsung dari *hemocytometer improved Neubauer* di bawah mikroskop elektrik biokuler. Teknik yang digunakan yaitu dengan cara menghisap semen menggunakan pipet eritrosit sampai tanda 0,5 kemudian larutan 3% NaCl diisap sampai tanda 101 pada pipet, campuran tersebut dihomogenkan selama 2-3 menit, kemudian diambil satu tetes dan ditempatkan di bawah gelas penutup pada hemocytometer.

Sebelum melakukan pencacahan, tetesan tersebut didiamkan selama 5 menit dalam kamar yang lembab untuk mengurangi kekeringan. *Hemocytometer* digunakan untuk mencacah dan dihitung jumlahnya dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 10x40. Pencacahan dilakukan pada lima

**Tabel 1.** Skor motilitas massa spermatozoa

No	Skor	Kriteria	Penilaian	Keterangan
1	0	Kosong	N	Tidak ada gerakan
2	1	Jelek	+	Terlihat gelombang lemah (hampir tidak terlihat)
3	2	Sedang	++	Terlihat gerakan gelombang sedang
4	3	Baik	+++	Terlihat gerakan gelombang cepat dan banyak

**Tabel 2.** Skor motilitas individu spermatozoa

No	Skor	Kriteria	Penilaian	Keterangan
1	0	Kosong	N	Tidak ada gerakan spermatozoa
2	1	Jelek	+	Terlihat progresif bergerak di tempat
3	2	Sedang	++	Terlihat pergerakan progresif sedang
4	3	Baik	+++	Terlihat pergerakan progresif cepat

kamar menurut arah diagonal. Setiap kamar mempunyai 80 ruang kecil per lima kamar. Jumlah konsentrasi spermatozoa dihitung menggunakan rumus yang diterapkan Dethan (2010) sebagai berikut:

$$Y \times 10.000/mm^3 = Y \times 10 \text{ juta/ml}$$

**Pemeriksaan Abnormalitas Spermatozoa**

Pemeriksaan abnormalitas spermatozoa dilakukan dengan menggunakan pewarnaan diferensial eosin-negrosin, dan spermatozoa dinilai berdasarkan normal tidaknya spermatozoa. Abnormalitas primer adalah abnormalitas pada bagian kepala, sedangkan abnormalitas pada bagian leher dan ekor disebut abnormalitas sekunder. Spermatozoa yang diamati minimal berjumlah 200 sel dari satu lapang pandang dengan menggunakan mikroskop pembesaran 10x40.

Penghitungan abnormalitas spermatozoa dilakukan menurut metode yang dikembangkan oleh Ridwan (2009), yaitu dengan cara membuat preparat ulas dengan mencampurkan semen, larutan eosin 1%, dan nigrosin 10% masing-masing satu tetes di atas gelas obyek menggunakan tusuk gigi, lalu diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 10x40. Spermatozoa yang abnormal dihitung dari 200 spermatozoa yang terhitung.

**Analisis Data**

Data yang diperoleh dari hasil pemeriksaan bobot badan dan kualitas spermatozoa (viabilitas, konsentrasi, dan abnormalitas spermatozoa) dianalisis dengan menggunakan rancangan varian satu arah, sedangkan data motilitas massa dan individu spermatozoa dianalisis secara deskriptif.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Kualitas Spermatozoa**

Data pengamatan terhadap motilitas massa dan individu spermatozoa secara deskriptif disajikan pada Tabel 3, sedangkan hasil pemeriksaan viabilitas, konsentrasi, dan abnormalitas spermatozoa disajikan pada Tabel 4.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian EE ternyata dapat menginduksi peningkatan motilitas massa dan individu spermatozoa. Dari Tabel 3 terlihat bahwa pemberian EE dengan dosis 1 dan 3 ml/ekor menyebabkan peningkatan motilitas massa dan individu spermatozoa lebih baik dibandingkan dengan kelompok kontrol dengan kriteria gelombang gerakan cepat (+++) banding gelombang progresif sedang (++).

Salah satu indikator penting dalam menentukan kualitas spermatozoa hasil ejakulasi baik secara *in vitro* maupun *in vivo* adalah motilitas spermatozoa (Elzanaty dan Malm, 2007). Motilitas merupakan gerak progresif spermatozoa yang sangat dibutuhkan dalam upaya mencapai tempat fertilisasi (Hafez, 1993). Motilitas merupakan sarana spermatozoa dalam upaya melalui saluran kelamin hewan betina (Hafez, 2000). Selain itu, motilitas spermatozoa merupakan faktor penting dalam mengevaluasi potensi fertilisasi spermatozoa terhadap sel telur (Bongso *et al.*, 1989). Selanjutnya Hafez (2000) menyatakan bahwa terdapat sejumlah faktor yang memengaruhi motilitas spermatozoa, yaitu umur dan pematangan spermatozoa, kecukupan *adenosine triphosphate* (ATP), cairan suspensi, rangsangan hambatan, agen aktif, biofisik, dan fisiologik.

Peningkatan motilitas massa dan individu spermatozoa akibat pemberian EE pada penelitian ini adalah akibat terjadinya induksi ekspresi sejumlah protein (molekul) yang berperan penting pada peningkatan motilitas spermatozoa. Data menunjukkan bahwa di dalam epididimis terdapat protein SPAG11e yang berperan penting pada kualitas spermatozoa (Sipila *et al.*, 2009). Protein SPAG11e atau dikenal juga dengan nama Bin 1b (tikus), EP2 atau *epididymal protein 2* (monyet), dan HE2 atau *human epididymis 2* (manusia) terekspresi di dalam kaput epididimis dan bertanggung jawab terhadap motilitas spermatozoa (Cao *et al.*, 2010). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian *lipopolysaccharide* (LPS) dapat menyebabkan epididimitis sehingga menurunkan ekspresi SPAG11e yang akhirnya menurunkan motilitas spermatozoa (Cao *et al.*, 2010). Hasil penelitian lain melaporkan bahwa SPAG11e menginduksi motilitas spermatozoa yang progresif

**Tabel 3.** Rataan motilitas spermatozoa kambing jantan lokal setelah pemberian ekstrak epididimis

Kelompok	Kriteria	Penilaian	Gerakan massa	Gerakan individu
K0	++	Sedang	Gelombang gerakan sedang	Gelombang progresif sedang
KP1	+++	Baik	Gelombang gerakan cepat	Gelombang progresif cepat
KP2	++	Sedang	Gelombang gerakan sedang	Gelombang progresif sedang
KP3	+++	Baik	Gelombang gerakan cepat	Gelombang progresif cepat

K0= Diinjeksi dengan NaCl fisiologis, K1= Diinjeksi dengan 1 ml/ekor EE selama 13 hari berturut-turut, K2= Diinjeksi dengan 2 ml/ekor EE selama 13 hari berturut-turut, K3= Diinjeksi dengan 3 ml/ekor EE selama 13 hari berturut-turut.

**Tabel 4.** Rataan viabilitas, konsentrasi, dan abnormalitas spermatozoa kambing jantan lokal setelah pemberian ekstrak epididimis

Kelompok	Viabilitas spermatozoa (%)	Konsentrasi spermatozoa (juta/ml)	Abnormalitas spermatozoa (%)
K0	79,39±1,62 <sup>a</sup>	2901,00±672,05 <sup>a</sup>	19,47±3,24 <sup>a</sup>
KP1	83,79±10,53 <sup>a</sup>	4173,67±1677,29 <sup>a</sup>	16,77±7,23 <sup>a</sup>
KP2	82,76±4,38 <sup>a</sup>	2626,67±1790,60 <sup>a</sup>	18,94±3,76 <sup>a</sup>
KP3	80,78±3,13 <sup>a</sup>	3193,33±2008,09 <sup>a</sup>	20,02±8,71 <sup>a</sup>

K0= Diinjeksi dengan NaCl fisiologis, K1= Diinjeksi dengan 1 ml/ekor EE selama 13 hari berturut-turut, K2= Diinjeksi dengan 2 ml/ekor EE selama 13 hari berturut-turut, K3= Diinjeksi dengan 3 ml/ekor EE selama 13 hari berturut-turut.

dengan cara meningkatkan *uptake* kalsium oleh spermatozoa (Zhou *et al.*, 2004).

Rataan viabilitas spermatozoa tertinggi terlihat pada KP1 dan terendah terlihat pada K0 (Tabel 4). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian EE dengan dosis 1ml/ekor selama 13 hari berturut-turut cenderung berpotensi meningkatkan viabilitas spermatozoa meskipun secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P>0,05$ ). Salah satu indikator penting pada kualitas semen dalam meningkatkan fertilisasi adalah viabilitas spermatozoa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat kaitan yang sangat erat antara viabilitas spermatozoa dengan kemampuan fertilisasi. Oleh karena itu, dapat dipahami bahwa viabilitas spermatozoa memegang peranan penting dalam menentukan keberhasilan fertilisasi (Simmons dan Fitzpatrick, 2012).

Rataan konsentrasi spermatozoa pada penelitian ini tertinggi pada KP1 dan terendah terlihat pada K0 (Tabel 4). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian EE dengan dosis 1 ml/ekor selama 13 hari berturut-turut cenderung mampu meningkatkan konsentrasi spermatozoa meskipun secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P>0,05$ ). Salah satu faktor penting dalam menentukan tingkat keberhasilan fertilisasi adalah tingginya konsentrasi spermatozoa (Brackett dan Oliphant, 1975). Keberhasilan fertilisasi sangat tergantung pada kualitas dan konsentrasi spermatozoa (Partodihardjo, 1992). Konsentrasi spermatozoa berkorelasi positif dengan tingkat kekentalan semen. Hal tersebut mengindikasikan bahwa semakin tinggi tingkat kekentalan semen maka semakin tinggi tingkat konsentrasi spermatozoa (Evans dan Maxwell, 1987). Ditambahkan oleh Evans dan Maxwell (1987) bahwa semen kambing dengan kualitas baik adalah semen kambing yang memiliki konsentrasi spermatozoa 2500-500 juta/ml. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa konsentrasi spermatozoa pada kelompok K0 adalah  $2901,00\pm 672,05$  juta/ml (termasuk kategori baik), sedangkan pemberian EE dengan dosis 1 ml/ekor mampu meningkatkan konsentrasi spermatozoa  $4173,67\pm 1677,29$ . Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat selisih sekitar 1272 juta/ml antara K0 dengan KP1. Oleh karena itu, dapat dipahami bahwa pemberian EE dengan dosis 1 ml/ekor selama 13 hari berturut-turut mampu meningkatkan konsentrasi spermatozoa.

Rataan abnormalitas spermatozoa pada penelitian ini terendah terlihat pada kelompok KP1 sedangkan tertinggi terlihat pada K0 (Tabel 4). Hal tersebut mengindikasikan bahwa pemberian EE dengan dosis 1 ml/ekor selama 13 hari berturut-turut berpotensi menurunkan abnormalitas spermatozoa meskipun secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P>0,05$ ). Salah satu parameter penting dalam penilaian kualitas spermatozoa adalah pemeriksaan terhadap morfologi (abnormalitas spermatozoa). Adanya abnormalitas spermatozoa akan mengganggu proses fertilisasi (Dada *et al.*, 2001). Tingginya

persentase abnormalitas spermatozoa menyebabkan kegagalan spermatozoa mencapai sel telur sehingga menyebabkan kegagalan proses fertilisasi (Chenoweth, 2005; Saacke, 2008). Menurut Yulnawati *et al.* (2013), potensi fertilisasi sel telur oleh spermatozoa dan infertilitas pada berbagai spesies sangat dipengaruhi oleh tingkat abnormalitas spermatozoa. Struktur spermatozoa yang abnormal dapat memengaruhi proses fertilisasi, implantasi, dan kebuntingan.

Secara umum hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian EE dapat menginduksi peningkatan kualitas spermatozoa. Hal tersebut disebabkan karena di dalam EE terdapat sejumlah molekul yang berperan penting dalam menginduksi kualitas dan pematangan spermatozoa, seperti CRISP1, SPAG11e, DEFB126, *carbonyl reductase* P34H, CD52, dan GPR64 (Sipilä *et al.*, 2009). Hasil penelitian menunjukkan bahwa CRISP1 berperan penting bukan hanya pada fusi spermatozoa-sel telur, namun juga berperan penting pada tahap awal interaksi antara spermatozoa-sel telur (Busso *et al.*, 2007). Molekul SPAG11e diketahui berperan penting pada pematangan dan fungsi spermatozoa (Rao *et al.*, 2003). Molekul SPAG 11 juga diketahui berperan penting dalam menginduksi motilitas spermatozoa (Zhou *et al.*, 2004) dan pengenalan zona pelusida oleh spermatozoa pada proses fertilisasi (Tollner *et al.*, 2004). Molekul DEFB126, yang juga dikenal sebagai *epididymal secretory protein 13.2* (ESP13.2) merupakan molekul yang berperan penting dalam melindungi permukaan spermatozoa dari pengenalan sistem imun betina ketika spermatozoa memasuki alat kelamin betina (Yudin *et al.*, 2005). Oleh karena itu, dapat dipahami bahwa ketiadaan ekspresi molekul DEFB126 pada permukaan spermatozoa menyebabkan spermatozoa akan difagosit oleh sistem pertahanan tubuh betina sehingga proses fertilisasi tidak terjadi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa molekul *carbonyl reductase* P34H dikenal sebagai *marker* pematangan spermatozoa di epididimis (*epididymal sperm maturation*) pada manusia (Legare *et al.*, 2009). Hasil penelitian menunjukkan bahwa, *carbonyl reductase* P34H menginduksi reaksi akrosom atau fusi membran plasma spermatozoa-sel telur (Boue *et al.*, 1994). Oleh karena itu, dapat diduga bahwa baiknya viabilitas dan morfologi spermatozoa pada penelitian bila dibanding dengan K0 adalah akibat adanya molekul *carbonyl reductase* P34H di dalam EE.

Molekul CD52 atau HE5 (Yeung *et al.*, 2001) merupakan *glycosylphosphatidylinositol-anchored glycoprotein* yang disekresikan oleh epididimis ke dalam membran spermatozoa (Yeung *et al.*, 1997). Hasil penelitian menunjukkan bahwa CD52 berperan penting dalam menjaga pematangan fungsi spermatozoa (Yeung *et al.*, 1997) serta motilitas spermatozoa (Yeung *et al.*, 1997). Molekul GPR64 atau HE6 (Kirchoff *et al.*, 2008) merupakan sub famili dari *G-protein-coupled receptors* yang berperan penting dalam mengontrol keseimbangan air dan reabsorpsi cairan di dalam duktus *excurrent* pria (Davies *et al.*,

2004). Hasil penelitian menunjukkan bahwa gangguan ekspresi GPR64/HE6 akan menyebabkan infertilitas pria oleh karena adanya stasis spermatozoa dan *fluid back-up* di dalam rete testis (Davies *et al.*, 2004).

### KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian EE berpotensi meningkatkan kualitas spermatozoa khususnya motilitas dan konsentrasi spermatozoa kambing jantan lokal.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dirjen Pendidikan Tinggi, Rektor, dan Ketua Lembaga Penelitian Universitas Syiah Kuala atas kepercayaan yang diberikan kepada penulis melalui Hibah Penelitian Tim Pascasarjana dengan Surat Perjanjian Penugasan Pelaksanaan Penelitian Hibah Pascasarjana Tahun Anggaran 2014 Nomor: 129/UN11.2/LT/SP3/2014 tanggal 15 Juli 2014 sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada drh. Zul Azmi atas bantuannya selama penelitian ini berlangsung.

### DAFTAR PUSTAKA

- Akmal, M., T.N. Siregar, dan S. Wahyuni. 2014. Eksplorasi Potensi Ekstrak Ductus Epididymis Sebagai Induktor Peningkatan Kualitas Spermatozoa: Upaya Meningkatkan Populasi dan Mutu Genetik Kambing Lokal. **Laporan Penelitian Hibah Pascasarjana Tahun I**. Lembaga Penelitian Universitas Syiah Kuala Darussalam, Banda Aceh.
- Bongso, T.A., Ng S.C., H. Mok, M.N. Lim, H.L. Teo, P.C. Wong, and S.S. Ratnam. 1989. Effect of sperm motility on human in vitro fertilization. **Arch. Androl.** 22:185-190.
- Boué, F., B. Be rubé, E. De Lamirande, C. Gagnon, and R. Sullivan. 1994. Human sperm-zona pellucida interaction is inhibited by an antibody against a hamster sperm protein. **Biol. Reprod.** 51:577-587.
- Brackett, B.G. and G. Oliphant. 1975. Capacitation of rabbit spermatozoa *in vitro*. **J. Biol. Reprod.** 12:260-274.
- Busso, D., D.J. Cohen, J.A. Maldera, A. Dematteis, and P.S. Cuasnicu. 2007. A novel function for CRISP1 in rodent fertilization: Involvement in sperm-zona pellucida interaction. **Biol. Reprod.** 77:848-854.
- Cao, D., L. Yidong, R. Yang, Y. Wang, Y. Zhou, H. Diao, Y. Zhao, Y. Zhang, and J. Lu. 2010. Lipopolysaccharide-induced epididymitis disrupts epididymal beta-defensin expression and inhibits sperm motility in rats. **Biol. Reprod.** 83:1064-1070.
- Chenoweth, P.J. 2005. Genetic sperm defect. **Theriogenol.** 64:457-468.
- Cornwall, G.A. 2009. New insights into epididymal biology and function. **Human Reproduction Update.** 15(2):213-227.
- Da Silva, N., C. Pietrement, D. Brown, and S. Breton. 2006. Segmental and cellular expression of aquaporins in the male excurrent duct. **BBA-Biomembranes.** 1758:1025-1033.
- Dada, R., N.P. Gupta, and K. Kucheria. 2001. Deterioration of sperm morphology in men exposed to high temperature. **J. Anat. Soc. India.** 50(2):107-111.
- Davies, B., C. Baumann, C. Kirchoff, R. Ivell, R. Nubbemeyer, H. Ursula-Friederike, F. Theuring, and U. Gottwald. 2004. Targeted deletion of the epididymal receptor he6 results in fluid dysregulation and male infertility. **Molecular and Cellular Biology.** 24:8642-8648.
- Dethan, A.A., Kustono, dan H. Hartadi. 2010. Kualitas dan kuantitas sperma kambing bligon jantan yang diberikan pakan rumput gajah dengan suplementasi tepung darah. **Buletin Pet.** 34(3):145-153.
- Elzanaty, S. and J. Malm. 2007. Effects of ejaculation-to-analysis delay on levels of markers of epididymal ad accessory sex gland functions and sperm motility. **J. Androl.** 28(6):847-852.
- Evan, G. and W.M.C. Maxwell. 1987. **Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goat**. Butterworths, Sydney.
- Guyonnet, B., F. Dacheux, J.L. Dacheux, and J.L. Gatti. 2011. The epididymal transcriptome and proteome provide some insights into new epididymal regulations. **J. Androl.** 32:651-664.
- Hafez, E.S.E. 1993. **Reproduction in Farm Animals**. 5<sup>th</sup> ed. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Hafez, E.S.E. and B. Hafez. 2000. Semen Evaluation. In **Reproduction In Farm Animals**. Hafez, E.S.E. and B. Hafez (Eds.). 7<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams and Wilkins, Maryland, USA.
- Husin, N. Suteky, dan T. Kusuyah. 2007. Uji kualitas semen kambing nubian dan peranaknya (Kambing Nubian X PE) serta kambing Boer berdasarkan lama penyimpanan. **J. Sains Pet. Indo.** 2(2):17-61.
- Kirchoff, C., C. Osterhoff, and A. Samalecos. 2008. HE6/GPR64 adhesion receptor co-localizes with apical and subapical F-actin scaffold in male excurrent duct epithelia. **Reprod.** 136:235-245.
- Koyama, K., K. Ito, dan A. Hasegawa. 2007. Role of male reproductive tract CD52 (mrt-CD52) in reproduction. **Soc. Reproduc. Fertil.** 63:103-110.
- Legare, C., C. Gaudreault, S. ST-Jacques, and R. Sullivan. 1999. P34H Sperm protein is preferentially expressed by the human corpus epididymidis. **Endocrinol.** 140: 3318-3327.
- Partodihardjo, S. 1992. **Ilmu Reproduksi Hewan**. Edisi ke-3. Mutiara Sumber Widya, Jakarta.
- Pholpramool, C., S. Borwornpinyo, and A. Dinudo. 2011. Role of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger 3 in the acidification of the male reproductive tract and male fertility. **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.** 38:353-359.
- Rao, J., J.C. Herr, P.P. Reddi, M.J. Wolkowicz, L.A. Bush, N.E. Sherman, M. Black, and C.J. Flickinger. 2003. Cloning and characterization of a novel sperm-associated isoantigen (E-3) with defensin- and lectin-like motifs expressed in rat epididymis. **Biol. Reprod.** 68:290-301.
- Ridwan. 2009. Pengaruh pengencer semen terhadap abnormalitas dan daya tahan hidup spermatozoa kambing lokal pada penyimpanan suhu 5° C. **J. Agroland.** 16(2):187-192.
- Rutlant, J. and S.A. Meyers. 2001. Posttranslational processing of PH-20 during epididymal sperm maturation in the horse. **Biol. Reprod.** 65:1324-1331.
- Saacke, R.G. 2008. Sperm morphology: Its relevance to compensable and uncompressible traits in semen. **Theriogenol.** 70:473-478.
- Simmons, L.W. and J.L. Fitzpatrick. 2012. Sperm wars and the evolution of male fertility. **Reprod.** 144:519-534.
- Sipila, P., J. Jalkanen, I.T. Huhtaniemi, and M. Poutanen. 2009. Novel epididymal proteins as targets for the development of post-testicular male contraception. **Reprod.** 137:379-389.
- Siregar, T.N. dan M. Akmal. 2013. Optimalisasi Produksi Semen Beku Melalui Pemberian Ekstrak Vesikula Seminalis sebagai Upaya Meningkatkan Kualitas Spermatozoa Sapi Aceh. **Laporan Penelitian Hibah Pascasarjana**. Lembaga Penelitian Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.
- Toelihere, M.R. 1981. **Inseminasi Buatan pada Ternak**. Angkasa, Bandung.
- Tollner, T.L., A.I. Yudin, C.A. Treece, J.W. Overstreet, and G.N. Cherr. 2004. Macaque sperm release ESP13.2 and PSP94 during capacitation: The absence of ESP13.2 is linked to sperm-zona recognition and binding. **Mol. Reprod. Developm.** 69: 325-337.
- Tollner, T.L., A.I. Yudin, C.A. Treece, J.W. Overstreet, and G.N. Cherr. 2008. Macaque sperm coating protein DEFB126 facilitates sperm penetration of cervical mucus. **Human Reprod.** 23:2523-2534.
- WHO. 1999. **Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-cervical Mucus Interaction**. 4<sup>th</sup> ed. Cambridge University Press, England.
- Yeung, C.H., F. Perez-Sanchez, S. Schroter, C. Kirchoff, and T.G. Chooper. 2001. Changes of major sperm-maturation-associated

- epididymal protein HE5 (CD52) on human ejaculated spermatozoa during incubation in capacitation conditions. **Mol. Hum. Reprod.** 7(7):617-624.
- Yeung, C.H., T.G. Cooper, and E. Nieschlag. 1997. Human epididymal secreted protein CD52 on ejaculated spermatozoa: correlations with semen characteristics and the effect of its antibody. **Mol. Hum. Reprod.** 3(12):1045-1051.
- Yudin, A.I., S.E. Generao, T.L. Tollner, C.A. Treece, J.W. Overstreet, and G.N. Cherr. 2005. Beta-defensin 126 on the cell surface protects sperm from immunorecognition and binding of anti-sperm antibodies. **Biol. Reprod.** 73:1243-1252.
- Zenichero, K., Herlantien, dan Sarastina. 2002. **Instruksi Praktis Teknologi Prosesing Semen Beku pada Sapi**. JICA-BIB Singosari, Malang.
- Zhan, X., C. Wang, A. Liu, Q. Liu, and Y. Zhang. 2012. Region-specific localization of IMDS-60 protein in mouse epididymis and its relationship with sperm maturation. **Acta Biochem. Biophys. Sin.** 44:924-930.
- Zhou, C.X., Y.L. Zhang, L. Xiao, M. Zheng, K.M. Leung, M.Y. Chan, P.S. Lo, L.L. Tsang, H.Y. Wong, and L.S. Hol. 2004. An epididymis-specific betadefensin is important for the initiation of sperm maturation. **Nature Cell Biol.** 6:458-464.