

PEMANFAATAN SPERMATOZOA EPIDIDIMIS DALAM TEKNOLOGI REPRODUKSI

MUHAMMAD RIZAL¹ dan NASRULLAH²

¹Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Pattimura, Jl. Ir. M. Putuhena, Kampus Poka, Ambon 97233

²Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sulawesi Selatan, Jl. Perintis Kemerdekaan Km 17,5, Makassar

ABSTRAK

Spermatozoa yang dikoleksi dari *cauda* epididimis dapat digunakan sebagai salah satu alternatif sumber gamet jantan untuk keperluan aplikasi teknologi reproduksi, karena spermatozoa *cauda* epididimis telah memiliki kemampuan bergerak (motil) dan dapat membuahi oosit. Spermatozoa epididimis dapat dikoleksi dari hewan yang masih hidup atau yang telah mati, kemudian dapat diolah dalam bentuk semen cair atau beku. Epididimis hewan yang telah mati juga dapat disimpan pada suhu 5°C beberapa hari sebelum spermatozoa dikoleksi dan diolah. Spermatozoa *cauda* epididimis yang telah diolah dan memiliki motilitas sebesar paling sedikit 40% dapat digunakan dalam program inseminasi buatan (IB) atau fertilisasi *in vitro* (FIV).

Kata kunci: Spermatozoa *cauda* epididimis, IB, FIV

ABSTRACT

UTILIZATION OF EPIDIDYMAL SPERM IN REPRODUCTIVE TECHNOLOGY

Cauda epididymal sperm could be used as an alternative of male gamete source for application in reproductive technology, because the sperm is motile and has ability for fertilizing oocyte. This sperm could be collected from life or death animal, then it might be processed for chilling or freezing. Epididymis from death animal could also be preserved at 5°C for several days before collecting and processing. Cauda epididymal sperm which has motility more than 40% can be applied for artificial insemination (AI) or *in vitro* fertilization (IVF) programs.

Key words: Cauda epididymal spermatozoa, AI, IVF

PENDAHULUAN

Penerapan teknologi reproduksi khususnya inseminasi buatan (IB) dan fertilisasi *in vitro* (FIV) hingga saat ini masih populer dengan menggunakan spermatozoa dalam bentuk semen cair dan beku yang diolah dari hasil koleksi semen melalui ejakulasi. Sumber spermatozoa yang lain seperti epididimis dari ternak atau hewan yang telah dipotong belum banyak mendapat perhatian, sehingga biasanya terbuang begitu saja. Padahal spermatozoa yang berasal dari bagian *cauda* epididimis memiliki kemampuan membuahi oosit yang sama baiknya dengan spermatozoa hasil ejakulasi (HAFEZ dan HAFEZ, 2000). Hal ini disebabkan karena spermatozoa yang ada di bagian *cauda* epididimis telah melewati proses pematangan di bagian *caput* dan *corpus* epididimis serta sudah memiliki kemampuan bergerak (motilitas) yang sama dengan spermatozoa hasil ejakulasi (AXNER *et al.*, 1999).

Upaya pengolahan spermatozoa yang dikoleksi dari epididimis dalam bentuk semen cair atau beku untuk keperluan aplikasi berbagai teknologi reproduksi, menjadi metode alternatif yang dapat diterapkan pada ternak atau hewan yang memiliki kualitas genetik yang unggul tetapi tidak dapat ditampung semennya karena

berbagai alasan, seperti tidak bersedia melayani vagina buatan, tidak memberikan respons terhadap elektroejakulator dan masase, pincang, atau sebab-sebab lain yang menyebabkan hewan tersebut tidak bisa kawin. Metode ini juga akan sangat membantu dalam upaya menyelamatkan plasma nutfah ternak atau hewan jantan yang mati secara mendadak, serta terhadap hewan-hewan langka, buas atau liar yang sedang ditangkarkan tetapi tidak bersedia kawin secara normal karena kondisi tempat penangkaran yang tidak sesuai dengan kondisi habitat aslinya.

Tujuan penulisan makalah ini adalah untuk memberikan wawasan bahwa epididimis baik dari hewan yang masih hidup atau yang telah mati, dapat menjadi salah satu alternatif sumber spermatozoa untuk keperluan aplikasi berbagai jenis teknologi reproduksi dalam upaya meningkatkan produktivitas ternak atau penyelamatan plasma nutfah hewan-hewan langka, liar, dan buas dari ancaman kepunahan.

PENGOLAHAN DAN PEMANFAATAN SPERMATOZOA EPIDIDIMIS

Upaya pengolahan spermatozoa epididimis sebagai sumber gamet jantan dalam teknologi

reproduksi dapat dilakukan dengan cara mengoleksi spermatozoa langsung dari hewan atau ternak yang masih hidup atau dari epididimis hewan yang telah mati atau dipotong. Koleksi spermatozoa dari hewan yang telah mati dapat dilakukan segera atau sekitar 24 jam setelah hewan tersebut mati (SONGSASEN *et al.*, 1998), atau setelah epididimis disimpan selama 3–8 hari pada suhu rendah (4–5°C) (YU dan LEIBO, 2002; SOLER *et al.*, 2003; NAZLIE, 2004) karena berbagai alasan. Pada hewan-hewan buas atau liar, koleksi spermatozoa dapat dilakukan dengan metode aspirasi menggunakan spuit jarum suntik langsung dari *cauda* epididimis hewan hidup yang sebelumnya telah dianestesi, seperti yang dilakukan pada monyet ekor panjang (FERADIS *et al.*, 2001).

Epididimis dan kehidupan spermatozoa di dalamnya

Spermatozoa yang diproduksi di dalam tubuli seminiferi akan dialirkan ke dalam epididimis untuk menjalani proses pematangan akhir sebelum memiliki kemampuan bergerak (motil) dan membuahi oosit. Proses pematangan yang terjadi adalah berpindahnya lokasi butiran sitoplasma dari daerah proksimal ke arah distal ekor atau hilang sama sekali dari ekor spermatozoa yang berlangsung di *caput* dan *corpus* epididimis (TOELIHERE, 1993; BEARDEN dan FUQUAY, 1997; SENER, 1999; HAFEZ dan HAFEZ, 2000). Selanjutnya dinyatakan bahwa *cauda* epididimis merupakan tempat penyimpanan sementara spermatozoa yang sudah matang sebelum diejakulasikan. NOLAN dan HAMMERSTEDT (1997) menyatakan bahwa selama proses pematangan spermatozoa di dalam epididimis, juga terjadi perubahan susunan komponen senyawa-senyawa penyusun membran plasma sel spermatozoa. Membran plasma sel spermatozoa akan kehilangan sebagian kolesterol, sehingga terjadi peningkatan nisbah antara asam lemak tak jenuh dan kolesterol. Hal ini menyebabkan membran plasma menjadi lebih “rapuh” (*fragile*). Kondisi membran plasma yang demikian ini secara fisiologis memang dibutuhkan untuk memudahkan spermatozoa menjalani proses kapasitasi di dalam uterus dan pada waktu fusi dengan membran plasma oosit saat terjadi fertilisasi.

Menurut SENER (1999) selama proses pematangan spermatozoa di dalam epididimis, juga terjadi absorpsi cairan yang dibawa dari testis sehingga konsentrasi spermatozoa meningkat. Dinyatakan bahwa di *caput* epididimis memiliki konsentrasi spermatozoa sebesar 8–25 x 10⁹ serta belum memiliki motilitas dan kemampuan membuahi oosit. Di *corpus* epididimis, konsentrasi spermatozoa sekitar 8–25 x 10⁹ serta sebagian spermatozoa mampu bergerak setelah diencerkan dan memiliki kemampuan membuahi oosit, walaupun kemampuan tersebut masih rendah

dibandingkan dengan spermatozoa *cauda* epididimis dan hasil ejakulasi. Konsentrasi spermatozoa akan semakin meningkat setelah memasuki *cauda* epididimis, yakni sebesar 10–50 x 10⁹ serta memiliki motilitas dan kemampuan membuahi oosit yang kurang lebih sama dengan spermatozoa hasil ejakulasi.

Menurut TOMES *et al.* (1979) kandungan natrium dan klorida cairan *cauda* epididimis domba lebih rendah daripada *retetestis*, tetapi kandungan kalium, fosfat, dan protein lebih tinggi. Kandungan gliserilfosforilkolin (GPC) dan karnitin juga tinggi. Menurut BEARDEN dan FUQUAY (1997) kondisi optimum *cauda* epididimis karena pH rendah, viskositas tinggi, CO₂ tinggi, nisbah antara ion K dan Na tinggi, adanya pengaruh testosteron (testosteron berpengaruh positif terhadap fungsi epididimis). Kombinasi dari keadaan di atas dan faktor-faktor lain yang belum dipahami sepenuhnya menyebabkan rendahnya metabolisme, sehingga dapat memperpanjang daya tahan hidup spermatozoa. Selanjutnya dinyatakan kondisi seperti ini sangat sulit diciptakan di luar epididimis. Dengan kondisi yang sangat ideal ini, menyebabkan spermatozoa dapat bertahan hidup hingga 60 hari di dalam *cauda* epididimis. BEARDEN dan FUQUAY (1997) menyatakan bahwa kondisi ideal yang terjadi di dalam *cauda* epididimis pada hewan yang masih hidup merupakan perpaduan dari hasil kerja sekian banyak mekanisme yang kompleks, yang belum mungkin untuk dapat dipenuhi pada perlakuan penyimpanan epididimis secara *in vitro* saat sekarang.

Daya hidup spermatozoa di dalam epididimis hewan yang telah mati akan mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya waktu dan suhu lingkungan. Menurut SOLER *et al.* (2003) daya hidup sel-sel gamet dipengaruhi oleh periode waktu dan suhu tempat hewan tersebut mati sebelum gamet dikoleksi. Walaupun menurut GARDE *et al.* (1998) spermatozoa *cauda* epididimis rusa merah masih memiliki daya hidup yang baik setelah rusa tersebut mati dan dibiarkan pada suhu ruang (sekitar 20°C) selama 24 jam. Spermatozoa *cauda* epididimis rusa merah yang telah dibekukan, juga masih memiliki kemampuan membuahi oosit, walaupun spermatozoa tersebut dikoleksi setelah rusa mati dan dibiarkan pada suhu ruang selama 10–20 jam (SOLER *et al.*, 2003). Lebih lanjut dilaporkan bahwa spermatozoa epididimis domba *mouflon* yang dikoleksi dari hewan yang telah mati selama 40 jam masih memiliki kemampuan membuahi oosit secara *in vivo* (GARDE *et al.*, 1995).

Terjadinya penurunan kualitas spermatozoa seiring dengan bertambahnya waktu penyimpanan epididimis sebelum spermatozoa dikoleksi diduga disebabkan karena kondisi lingkungan mikro epididimis mengalami perubahan dari kondisi alami seperti yang terjadi pada hewan hidup. Semakin tinggi

suhu tempat hewan tersebut mati akan semakin mempercepat kerusakan sel-sel yang menyusun epididimis. Menurut NAZLIE (2004) semakin lama penyimpanan epididimis semakin meluas kerusakan pada sel-sel penyusun epididimis, yang berakibat menurunnya daya preservasi epididimis terhadap spermatozoa yang terkandung di dalamnya.

Pengolahan spermatozoa epididimis hasil koleksi dari hewan hidup atau segera setelah hewan mati

Telah banyak penelitian dilakukan sebagai upaya memanfaatkan spermatozoa epididimis dalam berbagai teknologi reproduksi. Spermatozoa dikoleksi dari bagian *cauda* epididimis berbagai jenis hewan dan ternak, baik yang masih hidup maupun yang telah mati atau dipotong, mulai dari hewan laboratorium hingga hewan liar dan/atau hewan langka.

Hasil penelitian beberapa peneliti (Tabel 1) menunjukkan bahwa spermatozoa yang dikoleksi dari *cauda* epididimis hewan hidup atau segera setelah mati dan telah diolah baik dalam bentuk cair maupun beku,

memenuhi syarat kualitas untuk digunakan sebagai sumber gamet jantan dalam penerapan teknologi reproduksi seperti IB dan FIV. Hal ini karena spermatozoa yang dikoleksi dari *cauda* epididimis masih memiliki motilitas yang baik. Hasil beberapa penelitian dilaporkan bahwa persentase motilitas spermatozoa *cauda* epididimis badak setelah diencerkan sebesar 70–75% (LUBBE *et al.*, 1999), 38–77% pada kuda (SQUIRES *et al.*, 2000), rata-rata 64% (FERADIS *et al.*, 2001) dan 70–75% (INDRASARI, 2003) pada monyet ekor panjang, rata-rata 57,6% pada rusa merah (SOLER *et al.*, 2003), 70–75% pada domba Priangan/Garut (RIZAL *et al.*, 2003a), dan rata-rata 67,5% pada kucing (NAZLIE, 2004).

Aplikasi spermatozoa epididimis yang telah diolah dalam teknologi reproduksi juga telah memberikan hasil yang positif. Hal ini ditunjukkan dari keberhasilan menumbuhkan embrio hingga mencapai tahap blastosis dengan metode FIV menggunakan spermatozoa *cauda* epididimis yang telah dibekukan (TOLLNER *et al.*, 1990; SANKAI *et al.*, 1994) dan spermatozoa *cauda* epididimis segar pada monyet ekor panjang

Tabel 1. Pengolahan dan pemanfaatan spermatozoa *cauda* epididimis

Jenis hewan	Metode aspirasi	Kualitas spermatozoa	Aplikasi	Sumber
Monyet	Aspirasi dari hewan hidup (anastesi)	Baik (beku)	FIV	TOLINER <i>et al.</i> (1990)
		Baik (beku)	FIV	SANKAI <i>et al.</i> (1994)
		%M: 64% (segar)		FERADIS <i>et al.</i> (2001)
		57% (prabeku)		
		32,7% (beku)		
		%M: 70-75%	FIV	INDRASARI (2003)
Babi	Hewan mati	Baik (segar)	FIV	KIKUCHI <i>et al.</i> (1998)
Beruang	Hewan mati	%M: 30% (prabeku)	-	ANEL <i>et al.</i> (1999)
		15% (beku)		
Badak putih	Hewan mati	%M: 70% (segar)	-	LUBBE <i>et al.</i> (1999)
		43% (beku)		
Llama dan Alpaca	Hewan mati	Baik (beku)	IB (37,5%)	BRAVO <i>et al.</i> (2000)
Rusa merah Iberian	Hewan mati	%M: 45–53% (beku)	-	GARDE <i>et al.</i> (2000)
		%M: 44,1% (4 hari 5°C, chilled)		SOLER <i>et al.</i> (2003)
Kuda	Hewan dikastrasi	%M: 66% (segar)	-	SQUIRES <i>et al.</i> (2000)
		44% (prabeku)		
		12% (beku)		
Domba Garut	Hewan mati	%M: 70–75% (segar)	IB	RIZAL (2003a)
		58,33% (prabeku)	(44,4%)	
		45% (beku)		
Kucing	Hewan dikastrasi	%M: 67,5% (segar)	-	NAZLIE (2004)

%M = persentase motilitas; FIV = fertilisasi *in vitro*; IB = inseminasi buatan

(INDRASARI, 2003) dan spermatozoa *cauda* epididimis yang telah dibekukan pada babi (KIKUCHI *et al.*, 1998). Sedangkan aplikasi dengan IB secara *transcervical* telah dilaporkan angka kebuntingan pada pemeriksaan 21 hari setelah IB sebesar 37,5% pada *llama* dan *alpaca* (BRAVO *et al.*, 2000) dan 44,4% pada domba Priangan/Garut pada pemeriksaan dengan ultrasonografi (USG) saat kebuntingan 120 hari setelah IB (RIZAL, 2003a) yang diinseminasi dengan spermatozoa *cauda* epididimis yang telah dibekukan.

Standar kualitas spermatozoa epididimis sebagai syarat minimal untuk dapat digunakan dalam program IB atau FIV adalah sama dengan yang dipersyaratkan pada semen hasil ejakulasi, yakni memiliki motilitas paling sedikit 40%. Menurut TOELIHERE (1993) semen yang layak digunakan dalam program IB harus memiliki motilitas paling sedikit 40%. Aplikasi teknologi IB dapat menggunakan metode *transcervical* atau *intrauterine* dengan tingkat keberhasilan kebuntingan yang berbeda. Umumnya aplikasi IB yang menggunakan metode *intrauterine*, menghasilkan angka kebuntingan yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode *transcervical*. Hal ini terjadi karena tempat deposisi semen pada metode *intrauterine* adalah di tanduk uterus atau di *tuba fallopii*, sehingga spermatozoa tidak mengalami proses seleksi yang ketat di dalam saluran *cervix* seperti yang terjadi pada metode *transcervical*. Akan tetapi aplikasi IB secara *intrauterine* ini kurang aplikatif untuk skala lapang dengan jumlah hewan betina yang banyak, karena hewan harus dibedah atau dengan memakai alat bantu berupa endoskopi. Menurut TOELIHERE (1993) seleksi yang terjadi di dalam *cervix* menyebabkan banyak spermatozoa yang terperangkap di dalam lipatan-lipatan *cervix*, sehingga hanya sedikit (hanya sekitar ratusan spermatozoa dari jutaan yang diinseminasikan) yang mampu mencapai lokasi tempat fertilisasi.

Pengolahan spermatozoa epididimis hasil koleksi dari epididimis yang telah disimpan terlebih dahulu pada suhu rendah

Pada metode koleksi spermatozoa seperti ini, umumnya epididimis disimpan di dalam lemari es pada suhu 4-5°C hingga delapan hari sebelum spermatozoanya dikoleksi. Ini dimaksudkan sebagai model untukantisipasi di daerah-daerah terpencil yang tidak memungkinkan dilakukan pengolahan semen, sehingga epididimis harus ditranspor ke tempat pengolahan yang mungkin membutuhkan waktu beberapa hari.

Penyimpanan epididimis selama tiga hingga delapan hari pada suhu 4-5°C sebelum spermatozoa dikoleksi serta masih dapat dipertahankan motilitas dan kemampuan fertilitasnya telah dilaporkan pada mencit (JISHAGE *et al.*, 1997; SONGSASEN *et al.*, 1998; AN *et*

al., 1999; KISHIKAWA *et al.*, 1999; SANKAI *et al.*, 2001), kucing (YU dan LEIBO, 2002; NAZLIE, 2004), rusa merah Iberian (SOLER *et al.*, 2003), dan domba Priangan/Garut (RIZAL, 2003a). KIKUCHI *et al.* (1998) melaporkan berhasil menumbuhkan embrio hingga mencapai tahap blastosis hasil FIV menggunakan spermatozoa yang telah dibekukan dan dikoleksi dari *cauda* epididimis babi setelah disimpan pada suhu 5°C selama tiga hari.

Hasil penelitian pada domba Priangan (Garut) menunjukkan bahwa spermatozoa *cauda* epididimis layak digunakan dalam program IB dan FIV baik dalam bentuk segar maupun yang telah diencerkan dan disimpan selama dua hari pada suhu 5°C dan yang telah dibekukan, karena masih memiliki motilitas lebih dari 40% (Tabel 2), walaupun nilainya lebih rendah daripada spermatozoa hasil ejakulasi. Sebagai perbandingan, motilitas spermatozoa semen segar domba Garut sebesar 76,67% (RIZAL *et al.*, 2002; YULNAWATI, 2002), motilitas spermatozoa semen cair domba Garut yang disimpan pada suhu 5°C pada hari ketiga sebesar 55% (RIZAL, 2003b), dan motilitas spermatozoa semen domba Garut yang telah dibekukan sebesar 52,78% (RIZAL *et al.*, 2003b). Fenomena rendahnya kualitas spermatozoa yang dikoleksi dari bagian *cauda* epididimis dan telah dibekukan dibandingkan dengan spermatozoa hasil ejakulasi juga dilaporkan oleh peneliti sebelumnya. GARDE *et al.* (2000) melaporkan persentase motilitas dan akrosom utuh spermatozoa hasil ejakulasi rusa merah Iberian sebesar 51,70% dan 50% lebih tinggi dibandingkan dengan spermatozoa epididimis yang hanya sebesar 45% dan 49%. Hasil serupa juga dilaporkan SQUIRES *et al.* (2000) bahwa persentase motilitas spermatozoa kuda setelah *thawing* adalah 5% dan 23% masing-masing untuk spermatozoa epididimis dan hasil ejakulasi.

Secara umum terjadi penurunan kualitas spermatozoa seiring dengan bertambahnya waktu penyimpanan epididimis. Hal ini diduga karena kondisi epididimis selama penyimpanan yang tidak sebaik kondisi lingkungan mikro (fisiologis) epididimis hewan hidup. Kondisi mikro yang dimaksud tidak hanya menyangkut suhu, tetapi seluruh kondisi fisiologis, yang akan mengalami perubahan selama penyimpanan epididimis pada suhu 5°C. Semakin lama epididimis disimpan akan semakin menurunkan kualitas senyawa-senyawa yang terkandung di dalam epididimis yang pada akhirnya akan berpengaruh buruk terhadap kualitas spermatozoa yang ada di dalamnya. Hasil penelitian NAZLIE (2004) menunjukkan bahwa kerusakan sel-sel yang menyusun *cauda* epididimis kucing terjadi mulai dari hari kedua selama penyimpanan epididimis pada suhu 4°C. Kerusakan sel-sel tersebut semakin meluas seiring dengan bertambahnya waktu penyimpanan. Hal ini juga

mengindikasikan bahwa kualitas senyawa-senyawa kimia yang terdapat di dalam *cauda* epididimis menurun seiring dengan bertambahnya waktu penyimpanan, sehingga kemampuan senyawa-senyawa tersebut dalam mempreservasi spermatozoa juga mengalami penurunan, yang berakibat menurunnya kualitas spermatozoa.

Tabel 2. Rata-rata persentase motilitas spermatozoa *cauda* epididimis domba Priangan (Garut)

Tahap pengolahan spermatozoa	Perlakuan			
	H-0	H-1	H-2	H-3
Segar (%) ^{*)}	71,25 ^c	70,00 ^c	61,25 ^b	51,67 ^a
Penyimpanan dingin 5°C (%) ^{**)}				
Satu hari	60,00 ^d	52,50 ^c	46,67 ^b	38,75 ^a
Dua hari	47,50 ^b	43,75 ^b	36,67 ^b	33,75 ^a
Tiga hari	36,25 ^b	30,00 ^a	26,67 ^a	28,75 ^a
Beku (%) ^{***)}	45,00 ^c	36,67 ^b	20,83 ^a	20,00 ^a

H-0 = penyimpanan epididimis pada suhu ruang selama 3 jam

H-1 = penyimpanan epididimis pada suhu 5°C selama satu hari

H-2 = penyimpanan epididimis pada suhu 5°C selama dua hari

H-3 = penyimpanan epididimis pada suhu 5°C selama tiga hari

Huruf superskrip yang berbeda dalam baris yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$)

^{*)}RIZAL *et al.* (2003a); ^{**)}RIZAL *et al.* (2003c); ^{***)}RIZAL (2003a)

Rendahnya kualitas spermatozoa epididimis yang telah diolah dibandingkan dengan spermatozoa hasil ejakulasi diduga disebabkan karena tidak seperti pada spermatozoa hasil ejakulasi, membran plasma sel spermatozoa *cauda* epididimis tidak mendapatkan perlindungan berupa glikoprotein yang disintesis oleh kelenjar vesikularis hewan jantan dan disekresikan ke dalam plasma semen. Glikoprotein ini sangat penting dalam melindungi membran plasma sel spermatozoa dari kerusakan akibat pengaruh kejutan dingin dan serangan radikal bebas akibat kontak dengan oksigen saat spermatozoa dikoleksi (NOLAN dan HAMMERSTEDT, 1997). Hal ini menyebabkan menurunnya daya hidup spermatozoa dan meningkatnya persentase reaksi akrosom yang prematur akibat rusaknya membran plasma sel.

Kualitas spermatozoa *cauda* epididimis yang akan diolah sebenarnya dapat ditingkatkan dengan berbagai cara. Salah satu cara yang dapat ditempuh adalah

dengan meningkatkan kemampuan pengencer dalam melindungi spermatozoa dari kerusakan akibat berbagai sebab selama proses pengolahan berlangsung dengan menambahkan senyawa-senyawa aditif di dalam pengencer, seperti krioprotektan ekstraseluler berupa gula, antioksidan, fosfolipida, dan lain-lain. Metode lain yang dapat dilakukan adalah dengan menambahkan plasma semen sebelum spermatozoa diolah. SQUIRES *et al.* (2000) melaporkan motilitas spermatozoa *cauda* epididimis kuda meningkat dari 53% menjadi 61% dengan cara menambahkan plasma semen di dalam spermatozoa sebelum diolah. RIZAL *et al.* (1999) melaporkan bahwa semen beku kerbau lumpur dapat ditingkatkan kualitasnya dengan cara mengganti plasma semennya dengan plasma semen sapi *Friesian Holstein* (FH). Dilaporkan bahwa motilitas spermatozoa kerbau Lumpur yang telah dibekukan hanya sebesar rata-rata 41,43%, meningkat menjadi rata-rata 55,71% setelah plasma semennya diganti dengan plasma semen sapi FH. Peningkatan kualitas semen beku diduga disebabkan karena kandungan protein dan asam askorbat (vitamin C) plasma semen sapi FH lebih tinggi dibandingkan dengan plasma semen kerbau Lumpur. Plasma semen yang ditambahkan dapat dikoleksi dari hewan jantan yang berbeda spesies atau sejenis dari hewan-hewan jantan yang tidak digunakan sebagai pemacek karena secara genetik tidak unggul. Plasma semen dapat dikumpulkan dalam jumlah banyak dan disimpan dalam keadaan beku atau kering beku serta dicairkan kembali pada saat akan digunakan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil-hasil penelitian yang telah diuraikan, dapat disimpulkan bahwa spermatozoa *cauda* epididimis layak digunakan dalam program IB dan FIV baik dalam bentuk segar maupun *chilled* dan setelah dibekukan.

DAFTAR PUSTAKA

- AN, T.Z., S. WADA, K. EDASHGE, T. SAKURAI and M. KASAI. 1999. Viable spermatozoa can be recovered from refrigerated mice up to 7 days after death. *Cryobiology* 38: 27-34.
- ANEL, L., F. MARTINEZ, M. ALVAREZ, E. ANEL, J.C. BOIXO, M. KAABI, P. DE PAZ, C. CHAMORRO and P. HERRAEZ. 1999. Post-mortem spermatozoa recovery and freezing in a cantabric brown bear (*Ursus arctos*): A preliminary report. *Theriogenology* 51 (1): 277.
- AXNER, E., C.L. FORSBERG and S. EINARSSON. 1999. Morphology and motility of spermatozoa from different region of the epididymal duct in the domestic cat. *Theriogenology* 45: 767-777.

- BEARDEN H.J. and J.W. FUQUAY. 1997. The male reproduction system. In: *Applied Animal Reproduction* 4th Edition. Prentice Hall, New Jersey. pp. 19-32.
- BRAVO, P.W., V. ALARCON and R.H. BONDURANT. 2000. Epididymal spermatozoa characteristics and its use on artificial insemination of llamas and alpacas. Proceeding 14th International Congress on Animal Reproduction. Stockholm, 2-6 July 2000. Abstracts Vol. 2, 15: 18.
- FERADIS, D. PAWITRI, I.K. SUATHA, M. RIZAL AMIN, T.L. YUSUF, D. SAJUTHI, I.N. BUDIARSA and E.S. HAYES. 2001. Cryopreservation of epididymal spermatozoa collected by needle biopsy from cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *J. Med. Primatol.* 30: 100-106.
- GARDE, J.J., S. PEREZ, M.J. AGUADO, E. AYLON, D. GARRIDO and V. MONTORO. 1995. Live birth of hybrid (*O. Musimon X O. Aries*) lambs following intrauterine insemination in domestic sheep with mouflon semen obtained 40 hours post-mortem. *Theriogenology* 43: 218.
- GARDE, J.J., N. ORTIZ, A. GARCIA, L. GALLEGO, T. LANDETE-CASTILLEJOS and A. LOPEZ. 1998. Post-mortem assessment of sperm characteristics of the red deer during the breeding season. *Arch. Andrology* 41: 195-202.
- GARDE, J.J., E. ANEL, A. GARCIA-DIAZ, J.C. BOIXO, A. SOLER, P. DE PAZ, A. LOPEZ-SAEZ, C. GUERRA and L. ANEL. 2000. Evaluation of two glycerol concentrations in freezing of electroejaculated and epididymal spermatozoa from Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*). Proceeding 14th International Congress on Animal Reproduction. Stockholm, 2-6 July 2000. Abstracts 2, 17: 14.
- HAFEZ, E.S.E. and B. HAFEZ. 2000. Anatomy of male reproduction, In: *Reproduction in Farm Animals* 7th Edition. Lippicott Williams & Wilkins, Baltimore. pp. 3-12.
- INDRASARI, W. 2003. Penggunaan hormon 17 β -estradiol dan progesteron pada medium TCM-199 dan D-MEM untuk fertilisasi *in vitro* *Macaca fascicularis*. Tesis. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- JISHAGE, K., O. UEDA and H. SUZUKI. 1997. Fertility of mouse spermatozoa from cauda epididymis preserved in paraffin oil at 4°C. *J. Mamm. Ova. Res.* 14: 45-48.
- KIKUCHI, K., T. NAGAI, N. KASHIWAZAKI, H. IKEDA, J. NOGUCHI, A. SHIMADA, E. SOLOY and H. KANEKO. 1998. Cryopreservation and ensuing *in vitro* fertilization ability of boar spermatozoa from epididymides stored at 4°C. *Theriogenology* 50: 615-623.
- KISHIKAWA, H., H. TATENO and R. YANAGIMACHI. 1999. Fertility of mouse spermatozoa retrieved from cadavers and maintained at 4°C. *J. Reprod. Fertil.* 116: 217-222.
- LUBBE, K., R.L. SMITH, P. BARTELS and R.A. GODKE. 1999. Freezing epididymal sperm from white rhinoceros (*Ceratotherium simum*) treated with different cryodiluents. *Theriogenology* 51: 288.
- NAZLIE, C.S. 2004. Kajian kualitas spermatozoa kucing asal epididimis dan ductus deferens setelah proses preservasi pada suhu 4°C. Tesis. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- NOLAN, J.P. and R.H. HAMMERSTEDT. 1997. Regulation of membrane stability and the acrosome reaction in mammalian sperm. *FASEB J.* 11: 670-682.
- RIZAL, M. 2003a. Penyimpanan epididimis pada suhu 5°C selama tiga hari: pengaruhnya terhadap kualitas spermatozoa yang telah dibekukan. *Media Kedokteran Hewan.* 20: 57-61.
- RIZAL, M. 2003b. Pengaruh penambahan glutation ke dalam pengencer Tris terhadap kualitas semen cair domba Garut. *Buletin Peternakan* 27:63-72.
- RIZAL, M., M.R. TOELIHERE, T.L. YUSUF dan P. SITUMORANG. 1999. Pengaruh plasma semen sapi terhadap kualitas semen beku kerbau lumpur (*Bubalus bubalis*). *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 4: 143-147.
- RIZAL, M., M.R. TOELIHERE, T.L. YUSUF, B. PURWANTARA dan P. SITUMORANG. 2002. Kualitas semen beku domba garut dalam berbagai konsentrasi gliserol. *JITV* 7: 194-199.
- RIZAL, M., M.R. TOELIHERE, T.L. YUSUF, B. PURWANTARA dan P. SITUMORANG. 2003a. Pengaruh lama penyimpanan epididimis domba pada suhu 5°C terhadap kualitas spermatozoa epididimis. Seminar Nasional dan Gelar Produk "Pengelolaan dan Pemanfaatan Keanekaragaman Hayati dalam Kerangka Pembangunan Berkelanjutan". Pusat Studi Ilmu Hayati, Lembaga Penelitian, Institut Pertanian Bogor. Bogor, 4 September 2003.
- RIZAL, M., M.R. TOELIHERE, T.L. YUSUF, B. PURWANTARA dan P. Situmorang. 2003b. Efektivitas berbagai konsentrasi glutation terhadap kualitas semen yang telah dibekukan pada domba Garut. *Jurnal Biosains*. Pusat Antar Universitas, Institut Teknologi Bandung. *Unpublish*.
- RIZAL, M., HERDIS dan A. BOEDIONO. 2003c. Daya hidup sperm epididimis domba setelah disimpan pada suhu rendah (5°C). *Jurnal Animal Production.* 6: 30-36.
- SANKAI, T., K. TERAOKA, R. YANAGIMACHI, F. CHO and Y. YOSHIKAWA. 1994. Cryopreservation of epididymal spermatozoa from cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *J. Reprod. Fertil.* 101: 273-278.
- SANKAI, T., H. TSUCHIYA and N. Ogonuki. 2001. Short-term non-frozen storage of mouse epididymal spermatozoa. *Theriogenology* 55: 1759-1768.
- SENGER P.L. 1999. The organization and function of the male reproduction system. In: *Pathways to Pregnancy and Parturition*. Current Conceptions, Inc., Pullman. pp. 32-57.

- SOLER, A.J., M.D. PEREZ-GUZMAN and J.J. GARDE. 2003. Storage of red deer epididymides for four days at 5°C: effects on sperm motility, viability, and morphology integrity. *J. Exp. Zool.* 295A: 188-199.
- SONGSASEN, N., J. TONG and S.P. LEIBO. 1998. Birth of live mice derived by in vitro fertilization with spermatozoa retrieved up to twenty-four hours after death. *J. Exp. Zool.* 280: 189-196.
- SQUIRES, E.L., C. GOMEZ-CUETARA and J.K. GRAHAM. 2000. Effect of seminal plasma on cryopreserving epididymal and ejaculated stallion spermatozoa. Proceeding 14th International Congress on Animal Reproduction. Stockholm, 2-6 July 2000. Abstracts vol. 2, 17: 38.
- TOELIHERE, M.R. 1993. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Angkasa, Bandung.
- TOLLNER, T.L., C.A. VAN DE VOORT, J.W. OVERSTREET and E.Z. DROBNIS. 1990. Cryopreservation of epididymal spermatozoa from cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *J. Reprod. Fertil.* 90:347-352.
- TOMES G.L., D.E. ROBERTSON and LIGHTFOOT. 1979. *Sheep Breeding*, 2nd Edition. Butterworths, London.
- YU, I. and S.P. LEIBO. 2002. Recovery of motile, membrane intact spermatozoa from canine epididymides stored for 8 days at 4°C. *Theriogenology* 57: 1179-1190.
- YULNAWATI. 2002. *Pemanfaatan sari buah melon dan sari wortel sebagai pengencer alternatif semen cair domba Garut*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.