

Profil Reproduksi Jantan Tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar Stadia Muda, Pradewasa, dan Dewasa

LAKSMINDRA FITRIA*¹, MULYATI¹, CUT M. TIRAYA² DAN ANDREAS S. BUDI²

¹Laboratorium Fisiologi Hewan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada (UGM), Yogyakarta

²Mahasiswa Fakultas Biologi UGM Yogyakarta

Diterima: tanggal 17 Maret 2015 - Disetujui: tanggal 10 April 2015

© 2015 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih

ABSTRACT

Reproductive biology is one of prominent studies in biomedical research. Disruption in reproductive system becomes a major problem both in humans and animals. Preclinical study using animal model is therefore needed to initiate clinical studies and diagnostic purposes. Wistar rats are commonly used for research in male and female reproductive system due to their representation of mammal biological system. For that purpose, their reproductive age must be determined to meet the aim of studies. This research was carried out to provide reproductive profile of normal male Wistar rats from different ages, furthermore categorizing them into three checkpoints: young, subadult, and adult. Variables observed including: body mass, testosterone level, reproductive glands index, spermatogenesis, and sperm analysis. Results demonstrated that body mass, testosterone level, and reproductive glands index increase with age (significant at the age of 6-7 weeks). Spermatogenesis is initiated at the age of 7 weeks, characterized by significant increase in the number of spermatogenic cells which then maintained at subsequent ages. Spermatozoa has been produced at the age of 6 weeks, however still in low concentration, immotile, and not viable. The quantity and quality of sperm also increase with age. At the age of 8-9 weeks, sperm concentration significantly increases, progressive movement occurs, and viability is close to 100 %. In conclusion, rats aged 4-5 weeks can be categorized as young, sexually immature; rats aged 6-7 weeks are subadult, the reproductive system has well-developed (puberty) but spermatozoa are still immotile (infertile); rats aged 8-9 weeks are adult, sexually mature, and ready for mating, thus suitable as animal model for the study of reproductive system.

Key words: Wistar rats, reproductive system, testosterone, spermatogenesis, spermatozoa.

PENDAHULUAN

Biologi reproduksi merupakan topik penting dalam penelitian biomedis. Gangguan fungsi reproduksi menjadi salah satu permasalahan mendasar baik pada manusia maupun hewan. Keberadaan hewan model (hewan coba) sangat dibutuhkan untuk menjawab permasalahan-

permasalahan tersebut melalui penelitian *in vivo* (Hewitt *et al.*, 1989; Iheidioha *et al.*, 2012). Tikus (*Rattus norvegicus*) albino atau yang dikenal sebagai "tikus putih" adalah hewan yang paling sering digunakan sebagai model dalam penelitian biomedis. Oleh karena dapat mewakili sistem biologis mammal, maka hewan ini tepat untuk dijadikan sebagai hewan coba dalam kajian praklinik. Salah satu galur yang paling banyak digunakan adalah tikus Wistar (Wistarat®) yang mulai dikembangkan di *Wistar Institute* sejak 1906 (Sengupta, 2013).

Pemilihan umur hewan coba sangat penting karena menentukan arah penelitian. Umur hewan

* Alamat korespondensi:

Laboratorium Fisiologi Hewan, Fakultas Biologi, UGM
Jl. Teknik Selatan, Sekip Utara, Yogyakarta 55281.
Telp/Faks. (0274) 580839. e-mail: laksmindraf@ugm.ac.id

harus disesuaikan dengan tujuan penelitian. Penentuan umur biologis pada tikus sebagai model untuk dikorelasikan dengan manusia masih menjadi perdebatan. Berat badan jelas tidak dapat digunakan sebagai patokan. Sejumlah penelitian telah dilakukan, antara lain dengan membandingkan berat lensa mata, pertumbuhan gigi geraham, penghitungan lapisan endosteal tibia, pertumbuhan muskulo-skeletal dan penutupan epifisis, dan lain-lain, namun belum diperoleh hasil yang memuaskan (Sengupta, 2013).

Penentuan umur reproduktif pada tikus oleh Sengupta (2013) adalah dengan cara mempelajari fase-fase kehidupan dan perilakunya. Beberapa fase tersebut antara lain adalah: rentang hidup antara 2,0-3,5 tahun, mulai disapih saat umur 3 minggu (21 hari), fase kematangan seksual atau pubertas mulai umur 6 minggu (40-60 hari), fase pradewasa saat umur 63-70 hari, fase kematangan sosial saat umur 5-6 bulan (160-180 hari), dan fase penuaan saat umur 15-24 bulan.

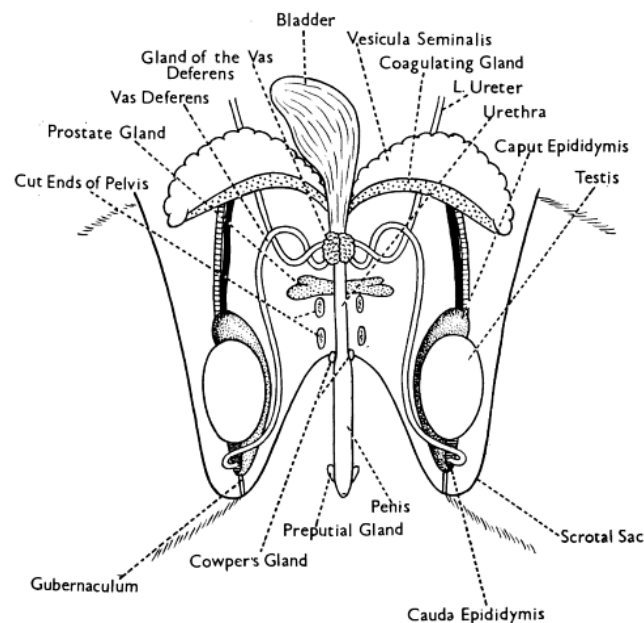
Data biologis yang disajikan oleh suatu *animal house* atau referensi lain seperti buku teks dan jurnal penelitian yang bersifat umum hanya merupakan panduan saja (*guideline*). Faktor pemeliharaan dan faktor lingkungan yang berbeda akan memberikan data yang berbeda pula (Harlan Lab Inc., 2011). Oleh karena itu diperlukan data biologis lokal sesuai dengan tempat hewan coba diperoleh.

Testis merupakan kelenjar utama dalam sistem reproduksi jantan yang bertanggung jawab terhadap produksi gamet jantan atau spermatozoa (spermatogenesis) dan sintesis hormon jantan atau androgen (steroidogenesis). Testis berjumlah sepasang, terletak di inguinal, tersimpan dalam kantung skrotum. Pada mammal, testis turun dan keluar dari rongga abdomen (peritoneal) menuju posisi ekstrakorporeal dan akhirnya masuk ke dalam skrotum (inguinoskrotal). Proses ini dikenal sebagai *descensus testicularum* yang dikendalikan oleh androgen. Dengan posisi ini temperatur testis menjadi lebih rendah daripada temperatur tubuh (sekitar 2-4 °C) yang diperlukan untuk spermatogenesis (Hughes & Acerini, 2008).

Selain testis, terdapat kelenjar-kelenjar kelamin pelengkap (*accessory sex glands*), yaitu:

vesikula seminalis, kelenjar koagulasi, prostat, bulbouretalis (kelenjar Cowper), dan ampula (Gambar 1). Kelenjar-kelenjar ini menghasilkan berbagai sekret yang berperan dalam transportasi spermatozoa, *buffer*, suplai nutrisi dan substrat metabolik untuk kehidupan spermatozoa terutama motilitas dan fertilitas, fungsi pelumasan, dan membentuk *vaginal plug*. Sekret yang dihasilkan *accessory sex glands* bersama-sama dengan spermatozoa dan sekret epididimis disebut semen (Chughtai *et al.*, 2005; Gofur *et al.*, 2014).

Spermatogenesis berlangsung di dalam tubuli seminiferi testis. Spermatogonia, spermatosit, dan spermatid berasosiasi secara spesifik membentuk siklus spermatogenik atau *staging* yang bervariasi antarspecies. Spermatogenesis meliputi beberapa fase, yaitu: mitosis, meiosis, spermiogenesis, golgi, *capping*, *acrosomal*, dan maturasi (Hess & de Franca, 2008). Spermatozoa sebagai produk spermatogenesis mengalami migrasi dari tubuli seminiferi testis menuju epididimis untuk maturasi dan disimpan sementara. Stimulasi menyebabkan sebagian spermatozoa dialirkan melalui vas deferens menuju ampula untuk ditambahkan cairan dari *accessory sex glands* membentuk semen yang siap



Gambar 1. Skematis struktur kelenjar-kelenjar reproduksi pada tikus jantan (Wallis, 1974).

diejakulasikan (OECD, 2008).

Testosteron sebagai androgen utama yang diproduksi oleh sel-sel interstitial Leydig, berperan dalam regulasi spermatogenesis, yaitu memacu pertumbuhan dan diferensiasi sel-sel spermatogenik. Di samping itu testosteron juga berperan dalam menstimulasi pertumbuhan serta memelihara struktur dan fungsi organ-organ reproduksi (termasuk saluran dan kelenjar), serta memunculkan dan mempertahankan ciri kelamin jantan sekunder (Gofur *et al.*, 2014).

Gangguan hormonal sangat berpengaruh terhadap struktur dan fungsi sistem reproduksi, terutama kelenjar-kelenjar reproduksi. Pada kondisi normal, organ-organ tersebut memiliki struktur dan fungsi yang bervariasi. Dalam rangka evaluasi suatu kondisi patologis, peneliti harus dapat membedakan antara perubahan struktur dan fungsi dari variasi normal tersebut (OECD, 2008). Oleh karena itu profil normal sistem reproduksi suatu species harus ditentukan sebagai *baseline*. Penelitian ini bertujuan untuk menyediakan *baseline* profil reproduksi normal tikus Wistar jantan dari berbagai umur, selanjutnya mengelompokkannya menjadi tiga kategori: muda, pradewasa, dan dewasa.

METODE PENELITIAN

Tikus Wistar diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT-UGM Unit IV), Yogyakarta. Pemeliharaan telah diupayakan memenuhi kaidah kesejahteraan hewan coba atau *animal welfare* (Carlsson, 2008). Umur tikus yang dipilih adalah 4-9 minggu, dengan jumlah individu 5 ekor untuk masing-masing kelompok umur. Pemilihan kelompok umur tersebut dengan pertimbangan bahwa anakan mulai disapih (dipisahkan dari induknya) saat umur 3 minggu sehingga hewan muda masih butuh waktu penyesuaian untuk hidup mandiri. Sementara itu, tikus yang berumur lebih dari 9 minggu sudah memiliki status reproduksi yang matang dan stabil (Lanning *et al.*, 2002; Sengupta, 2013). Variabel pengamatan pertumbuhan dan perkembangan sistem re-

produksi jantan meliputi: berat badan, kadar testosteron, indeks kelenjar-kelenjar reproduksi, spermatogenesis, dan analisis spermatozoa.

Tikus dianestesi menggunakan ketamin Ketalar® dosis 50 mg/kg bb yang diinjeksi secara intramuskular kemudian diukur berat badannya menggunakan timbangan hewan digital Ohaus®. Darah diambil dari *sinus retro-orbitalis* kemudian dipisahkan serumnya menggunakan *micro-centrifuge* Costar® dengan kecepatan 10.000 rpm. Serum digunakan untuk mengukur kadar testosteron total menggunakan kit ELISA (DRG® EIA-1559). Tikus kemudian dibedah, testis dan *accessory sex glands* (vesikula seminalis, prostat, dan bulbouretralis) diambil, dibilas dengan larutan garam fisiologis (NaCl 0,9 %). Masing-masing organ kemudian ditimbang beratnya menggunakan timbangan analitik digital Shimadzu® untuk ditentukan indeksnya berdasarkan rumus Barber & Black (2006) yang telah dimodifikasi:

$$\text{Indeks organ} = \frac{\text{Berat organ (g)}}{\text{Berat badan (g)}} \times 100$$

Testis difiksasi dalam larutan Bouin dan diproses untuk pembuatan preparat histologis metode parafin dengan pewarnaan Ehrlich's Hematoxylin & Eosin (McManus & Mowry, 1960). Preparat diiris menggunakan *rotary microtome* dengan tebal irisan 4 µm untuk pengamatan spermatogenesis dengan cara mencacah secara manual spermatogonia, spermatosit, dan spermatid pada tubuli seminiferi *stage VII* (OECD, 2008).

Semen dari vas deferens dikeluarkan dengan *massage* kemudian dihomogenisasi dalam 1-2 mL *Hank's Balanced Salt Solution* (HBSS) bersuhu 34 °C (Kempinas & Lamano-Carvalho, 1988; Kempinas *et al.*, 1998). Konsentrasi dan kecepatan motilitas spermatozoa ditentukan menggunakan bilik hitung *double improved Neubauer*, sesuai dengan Hafez (1993) dan Salisbury *et al.* (1985). Sisa suspensi spermatozoa diwarnai dengan larutan Giemsa 3 % untuk pengamatan morfologi spermatozoa (Soehadi & Arsyad, 1982) dan viabilitas spermatozoa (Partodihardjo, 1982). Data yang diperoleh selanjutnya ditabulasi dan di-

analisis secara statistik berdasarkan ANOVA dan DMRT ($p < 0,05$) menggunakan SPSS® v.16.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa seiring pertambahan umur, terjadi peningkatan berat badan secara nyata (Tabel 1). Umur 4-7 minggu merupakan masa pertumbuhan, di mana terjadi pertambahan berat badan yang pesat. Selanjutnya adalah masa perkembangan, di mana peningkatan berat badan tetap terjadi namun tidak nyata sebagaimana pada masa pertumbuhan. Peningkatan berat badan diikuti dengan peningkatan kadar testosteron yang nyata pula. Berat badan tikus Wistar jantan dan betina pada awal kehidupan sebelum terjadi kematangan seksual atau prapubertas (umur 3-5 minggu) relatif sama. Seiring pertambahan umur, berat badan tikus jantan akan lebih cepat meningkat dibandingkan tikus betina (Harlan Lab Inc., 2011). Hal ini merupakan efek anabolik androgen yang memacu metabolisme dan proses-proses fisiologis tubuh. Produksi testosteron endogen dipengaruhi oleh umur. Hewan muda memproduksi sedikit testosteron yang akan terus meningkat pada fase dewasa dan selanjutnya menurun kembali seiring pertambahan umur dan penuaan (Gofur *et al.*, 2014).

Pengukuran berat badan saja tidak dapat digunakan sebagai patokan untuk menentukan status reproduksi suatu individu meskipun berat badan secara langsung dipengaruhi oleh testosteron (Sengupta, 2013). Pengukuran berat dan indeks organ-organ spesifik jantan yang menjadi target testosteron oleh karena itu diperlukan, yaitu kelenjar-kelenjar reproduksi yang terdiri dari gonad (testis) dan *accessory sex glands*. Perhitungan indeks gonadosomatik (IGS) digunakan untuk menunjukkan pertumbuhan dan perkembangan sistem reproduksi yang berkorelasi dengan tingkat kematangan seksual (Barber & Black, 2006). Perhitungan IGS pada umumnya dilakukan pada ikan, amfibi, unggas, dan hewan-hewan avertebrata yang memiliki musim kawin.

Namun demikian, dapat diterapkan juga pada mammal dalam kaitannya dengan pertambahan umur seperti yang dilakukan pada penelitian ini.

Pengukuran berat dan indeks kelenjar-kelenjar reproduksi menunjukkan pola yang sama dengan hasil pengukuran berat badan. Berat dan indeks sepasang testis (hasil pengukuran untuk testis kanan dan kiri relatif sama), demikian juga berat dan indeks *accessory sex glands* mengalami peningkatan seiring pertambahan umur dan berat badan (peningkatan nyata pada umur 6-7 minggu), kecuali pada bulbouretralis. Pertumbuhan kelenjar bulbouretralis relatif stabil dan konstan seiring pertambahan umur, ditunjukkan dengan peningkatan yang tidak nyata (Tabel 2). Pada rodensia, kelenjar Cowper baru berperan aktif saat terjadi aktivitas seksual. Selain berfungsi untuk lubrikasi uretra sebelum proses ejakulasi, kelenjar ini juga berperan dalam koagulasi semen (Chughtai *et al.*, 2005). Berbeda dari mencit (*Mus musculus*), pada tikus kelenjar ini berukuran kecil dan sulit ditemukan karena terbenam dalam jaringan di sekitarnya.

Dengan demikian dapat diartikan bahwa ada korelasi positif antara berat badan, pertumbuhan kelenjar-kelenjar reproduksi, dan kadar testosteron. Pertumbuhan dan aktivitas kelenjar-kelenjar reproduksi sangat dipengaruhi oleh kadar androgen sehingga morfometri dan aktivitasnya dapat digunakan sebagai indikator perubahan kadar androgen (OECD, 2008; Gofur *et al.*, 2014). Penelitian oleh Gofur *et al.* (2014) pada kambing normal, kambing kastrasi, dan kambing yang diinjeksi testosteron menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada morfometri dan fisio-biokimia vesikula seminalis, prostat, dan bulbouretralis. Penelitian oleh Neves *et al.* (2013) pada domba dan penelitian oleh Raeside *et al.* (1997) pada babi juga memberikan hasil yang sama. Peningkatan berat badan, kadar testosteron, dan pertumbuhan kelenjar-kelenjar reproduksi yang nyata pada kelompok umur 6-7 minggu mengindikasikan bahwa kisaran umur tersebut merupakan awal dari fase kematangan seksual atau dewasa awal (pubertas).

Pengamatan spermatogenesis dengan cara pencacah masing-masing perkembangan sel-sel spermatogenik menunjukkan bahwa terjadi peningkatan nyata spermatogonia pada umur 5 minggu, fluktuatif hingga umur 7 minggu (tidak nyata), dan selanjutnya dipertahankan stabil

Tabel 1. Berat badan, berat dan indeks testis dan *accessory glands*, serta kadar testosteron pada tikus Wistar umur 4–9 minggu.

Umur (minggu)	Berat badan (g)	Sepasang testis		<i>Accessory sex glands</i> *		Kadar testosteron serum (ng/mL)
		Berat (g)	Indeks (%)	Berat (g)	Indeks (%)	
4	62,36 ^a ±3,82	0,51 ^a ±0,08	0,82 ^a ±0,16	0,17 ^a ±0,01	0,27 ^a ±0,15	0,14 ^a ±0,03
5	94,86 ^b ±9,26	0,80 ^b ±0,12	0,84 ^b ±0,13	0,24 ^b ±0,03	0,25 ^b ±0,29	0,35 ^b ±0,05
6	163,50 ^c ±13,09	1,83 ^c ±0,23	1,12 ^c ±0,09	0,80 ^c ±0,10	0,49 ^c ±0,55	1,84 ^c ±0,36
7	185,94 ^d ±10,20	2,21 ^d ±0,18	1,19 ^d ±0,11	1,03 ^d ±0,09	0,55 ^d ±0,46	3,07 ^d ±0,57
8	196,78 ^d ±21,63	2,26 ^d ±0,25	1,15 ^e ±0,07	1,05 ^d ±0,11	0,53 ^e ±0,58	6,07 ^e ±0,26
9	227,22 ^e ±17,90	2,55 ^e ±0,17	1,11 ^f ±0,09	1,51 ^e ±0,12	0,66 ^f ±0,50	7,17 ^f ±0,37

Ket.: Angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan ada beda nyata pada tingkat kepercayaan 95 %

Tabel 2. Berat dan indeks vesikula seminalis, prostat, serta bulbouretralis pada tikus Wistar umur 4–9 minggu.

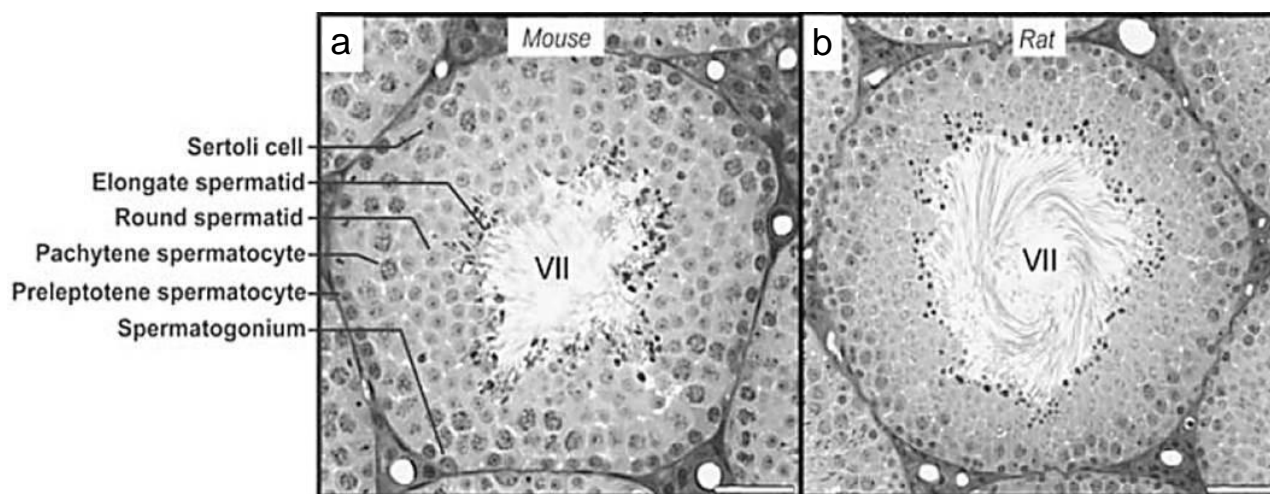
Umur (minggu)	Vesikula seminalis		Prostat		Bulbouretralis	
	Berat (g)	Indeks (%)	Berat (g)	Indeks (%)	Berat (g)	Indeks (%)
4	0,02 ^a ±0,01	0,39 ^a ±0,10	0,07 ^a ±0,01	1,17 ^a ±0,09	0,08 ^a ±0,01	1,22 ^b ±0,25
5	0,05 ^a ±0,02	0,42 ^a ±0,21	0,12 ^{ab} ±0,05	1,19 ^a ±0,41	0,07 ^a ±0,02	0,75 ^a ±0,26
6	0,30 ^b ±0,21	2,10 ^b ±1,10	0,30 ^{bc} ±0,09	1,70 ^{abc} ±0,48	0,20 ^{bc} ±0,01	1,00 ^{ab} ±0,08
7	0,49 ^{bc} ±0,17	2,62 ^{bc} ±0,78	0,37 ^{cd} ±0,05	2,02 ^{bc} ±0,38	0,17 ^{bc} ±0,04	0,93 ^{ab} ±0,22
8	0,58 ^{bcd} ±0,25	2,90 ^{bc} ±1,16	0,31 ^c ±0,05	1,59 ^{ab} ±0,19	0,16 ^b ±0,04	0,87 ^a ±0,38
9	0,72 ^{cd} ±0,12	3,16 ^{bc} ±0,52	0,55 ^d ±0,21	2,38 ^c ±0,77	0,24 ^d ±0,03	1,06 ^{ab} ±0,22

Tabel 3. Analisis spermatogenesis pada tikus Wistar umur 4–9 minggu.

Umur (minggu)	Spermatogonia (sel)	Spermatisit (sel)	Spermatid (sel)	Total sel-sel spermatogenik (sel)	Kadar testosteron serum (ng/mL)
4	47,05 ^a ±7,38	53,75 ^a ±4,33	0,00 ^a ±0,00	100,80 ^a ±10,83	0,14 ^a ±0,03
5	57,40 ^c ±9,21	86,48 ^b ±10,07	84,53 ^b ±16,20	230,80 ^b ±28,84	0,35 ^b ±0,05
6	51,78 ^b ±3,25	69,03 ^c ±5,04	173,03 ^c ±9,52	293,83 ^c ±16,54	1,84 ^c ±0,36
7	60,40 ^{bc} ±3,85	79,35 ^d ±6,14	209,98 ^{cd} ±15,99	347,93 ^{cd} ±18,88	3,07 ^d ±0,57
8	59,90 ^{bc} ±3,82	75,33 ^d ±2,91	223,58 ^d ±14,86	357,81 ^{cd} ±17,06	6,07 ^e ±0,26
9	61,83 ^d ±4,24	75,30 ^d ±3,08	236,83 ^d ±11,37	373,96 ^{cd} ±16,70	7,17 ^f ±0,37

Tabel 4. Analisis spermatozoa pada tikus Wistar umur 4–9 minggu.

Umur (minggu)	Konsentrasi (×10 ⁶ sel/mL)	Kecepatan motilitas (μm/s)	Morfologi normal (%)	Viabilitas (%)	Kadar testosteron serum (ng/mL)
4	0,00 ^a ±0,00	0,00 ^a ±0,00	0,00 ^a ±0,00	0,00 ^a ±0,00	0,14 ^a ±0,03
5	0,00 ^a ±0,00	0,00 ^a ±0,00	0,00 ^a ±0,00	0,00 ^a ±0,00	0,35 ^b ±0,05
6	0,04 ^a ±0,02	0,00 ^a ±0,00	55,00 ^b ±7,07	0,00 ^a ±0,00	1,84 ^c ±0,36
7	0,18 ^b ±0,05	0,00 ^a ±0,00	82,50 ^c ±9,57	67,50 ^b ±9,57	3,07 ^d ±0,57
8	6,42 ^c ±2,27	37,24 ^b ±2,46	98,20 ^d ±1,30	99,20 ^c ±0,84	6,07 ^e ±0,26
9	14,79 ^d ±6,11	35,86 ^b ±4,80	99,00 ^d ±0,71	99,80 ^c ±0,45	7,17 ^f ±0,37



Gambar 2. Fotomikrografi penampang melintang tubulus seminiferus testis *stage* VII pada mencit dan tikus (Hess & de Franca, 2008).

(Tabel 3). Fluktuasi ini terjadi akibat lonjakan testosteron yang kemudian dikendalikan oleh mekanisme umpan balik negatif pada fase pubertas (awal dari fase kematangan seksual). Spermatogonia sebagai *germ cell* jumlahnya senantiasa dipertahankan. Spermatisit menunjukkan pola pertumbuhan yang hampir sama dengan spermatogonia, namun fluktuasi yang terjadi bersifat nyata. Spermatid baru muncul pada umur 5 minggu, jumlahnya terus meningkat secara nyata seiring pertambahan umur (hingga umur 8 minggu). Secara keseluruhan, terjadi peningkatan nyata sel-sel spermatogenik seiring pertambahan umur. Hal ini menjelaskan bahwa aktivitas spermatogenesis dimulai pada umur 7 minggu (fase dewasa awal) dan terus dipertahankan pada umur-umur selanjutnya (fase dewasa).

Pada tikus terdapat empat belas siklus spermatogenesis yang dinyatakan sebagai *stage* I-XIV (Perey, *et al.* 1961 in Hess & de Franca, 2008); Pengamatan spermatogenesis secara lengkap dilakukan pada *stage* VII (awal siklus) dan *stage* XII (akhir siklus) (OECD, 2008). Androgen berpengaruh pada semua siklus spermatogenesis, di mana *stage* VII-VIII adalah yang paling terpengaruh oleh androgen dan FSH (Hess & de Franca, 2008). Gambar 2 memperlihatkan fotomikrografi penampang melintang tubulus seminiferus testis *stage* VII pada mencit dan tikus.

Spermatozoa merupakan produk spermatogenesis, sehingga dengan menganalisis kuantitas dan kualitas spermatozoa dapat mencerminkan proses-proses yang terjadi selama pembentukannya, termasuk melakukan diagnosis apabila terjadi kerusakan atau kelainan pada morfologi spermatozoa (aberasi). Analisis spermatozoa dapat dilakukan menggunakan sampel yang berasal dari kauda epididimis, vas deferens, atau ejakulat. Masing-masing metode memiliki kelebihan dan kekurangan. Pemilihan metode disesuaikan dengan tujuan penelitian.

Spermatozoa tikus dengan kualitas baik (normal) dicirikan dari morfologi dan kelengkapannya, antara lain: bentuk dan ukuran kepala normal, akrosoma masih menempel, *midpiece* lurus/tidak bengkok dan tidak terdapat *residual body*, ekor (flagela) lurus, tidak bengkok, tidak bergelung, keriting, patah, atau terdapat ciri aberasi lainnya. Gerakan atau motilitas spermatozoa dengan kualitas baik (normal) bersifat progresif. Viabilitas atau vitalitas perlu diamati apabila morfologi spermatozoa baik/normal namun bersifat nonmotil (Soehadi & Arsyad, 1982).

Hasil analisis pada Tabel 4 menunjukkan bahwa spermatozoa baru diproduksi pada tikus umur 6 minggu, konsentrasi masih sedikit, belum bergerak, dan tidak *viable*. Pada tikus umur 7

minggu terjadi peningkatan konsentrasi spermatozoa namun tidak nyata. Spermatozoa sudah *viable* namun belum bergerak. Seiring pertambahan umur, terjadi peningkatan nyata pada kualitas morfologi spermatozoa. Pada tikus umur 8–9 minggu konsentrasi spermatozoa meningkat secara nyata, terjadi pergerakan progresif, dan viabilitas mendekati 100 %.

KESIMPULAN

Berdasarkan pengamatan profil reproduksi dengan variabel berat dan indeks testis serta *accessory sex glands*, kadar testosteron serum, jumlah sel-sel spermatogenik, serta kuantitas dan kualitas spermatozoa, maka dapat disimpulkan bahwa tikus umur 4–5 minggu dikategorikan sebagai tikus muda (*young*) yang belum matang seksual (*immature*); tikus umur 6–7 minggu adalah tikus pradewasa atau dewasa awal (*subadult*) yang sistem reproduksinya telah berkembang (*puberty*) namun belum mampu kawin karena spermatozoa belum motil (*infertile*); tikus umur 8–9 minggu merupakan tikus dewasa (*adult*) yang telah matang seksual dan siap kawin (*mature*) sehingga tepat dijadikan sebagai hewan model dalam penelitian sistem reproduksi dewasa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Gadjah Mada (LPPM-UGM), Yogyakarta melalui Hibah Penelitian Dosen Muda dengan Dana DIPA.

DAFTAR PUSTAKA

- Barber, B.J. and N.J. Blake. 2006. Reproductive physiology. *In: Scallops: Biology, ecology, and aquaculture* (S.E. Shumway and G.J. Parsons, Eds.) 2006. Second Ed. Elsevier Science Pub. Florida. pp: 357–416.
- Carlsson, H.E. 2008. *The use of laboratory animals in biomedical studies*. FELASA Category C-Like Course. Pusat Studi Satwa Primata Institut Pertanian Bogor (PSSP-IPB). Bogor.
- Chughtai, B., A. Sawas, R.L. O'Malley, R.R. Naik, S.A. Khan, and S. Pentyala. 2005. A neglected gland: A review of Cowper's gland. *International Journal of Andrology*. 28(2): 74–77.
- Gofur, M.R., K.M.M. Hossain, R. Khaton, and M.R. Hasan. 2014. Effect of testosterone on physio-biochemical parameters and male accessory sex glands of black bengal goat. *IJETAE* 4(9): 456–465.
- Hafez, E.S.E. 1993. Semen evaluation. *In: Reproduction in farm animals* (E.S.E. Hafez, Ed.) 1993. Sixth Ed. Lea & Febiger. Philadelphia. pp: 405–423.
- Harlan Laboratories Inc. 2011. *Wistar rat*. <http://www.harlan.com/>
- Hess, R.A. and L.R. de Franca. 2008. Spermatogenesis and cycle of the seminiferous epithelium. *In: Molecular mechanisms in spermatogenesis* (C.Y. Cheng, Ed.) 2008. Vol. 636. Landes Bioscience and Springer Science+ Business Media. New York. pp: 1–14.
- Hewitt C.D., D.J. Innes, J. Savory and M.R. Willis. 1989. Normal biochemical and hematological values in New Zealand white rabbits. *Clinical Chemistry*. 35(8): 1777–1779.
- Hughes, I.A. and C.L. Acerini. 2008. Factors controlling testis descent. *European Journal of Endocrinology* 159: 575–582.
- Ihedioha J.I., J.I. Ugwuja, O.A.Noel-Uneke, I.J. Udeani and G. Daniel-Igwe. 2012. Reference values for the haematology profile of conventional grade outbred albino mice (*Mus musculus*) in Nsukka, Eastern Nigeria. *ARI*. 9(2): 1601–1612.
- Kempinas, W.D.G. and T.L. Lamano-Carvalho. 1988. A method for estimating the concentration of spermatozoa in the rat cauda epididymis. *Laboratory Animal*. 22: 154–156.
- Kempinas, W.D.G., J.D. Suarez, N.L. Roberts, L. Strader, J. Ferrell, J.M. Goldman, and G.R. Klinefelter. 1998. Rat epididymal sperm quality and transit time after guanethidine-induced sympathectomy. *Biology of Reproduction*. 59: 890–896.
- Lanning, L.L., D.M. Creasy, R.E. Chapin, P.C. Mann, N.J. Barlow, K.S. Regan, and D.G. Goodman. 2002. Recommended approaches for the evaluation of testicular and epididymal toxicity. *Toxicologic Pathology*. 30(4): 507–520.
- McManus, J.F.A. and R.W. Mowry. 1960. *Staining Methods: Histological and Histochemical*. Paul H. Houber Inc. New York.
- Neves, C.C., S.M.B. Artoni, M.R. Pacheco, M.A.R. Feliciano, L. Amoroso, and D.G. Melo. 2013. Morphology and biometric of the vesicular and bulbourethral glands in castrated and non-castrated Santa Ines breed sheep. *J. Morphol. Sci.* 30(2): 115–120.
- OECD. 2008. Male reproductive system. *In: Endocrine disruption: A guidance document for histologic evaluation of endocrine and reproductive tests*. pp: 1–30. European Society of Toxicologic Pathology <http://www.eurotoxpath.org/guidelines/index.php?id=teststrat>.

- Partodihardjo, S. 1982. *Ilmu reproduksi hewan*. Cetakan ke-3. Penerbit Mutiara Sumber Widya. Jakarta.
- Raeside, J.I., R.M. Friendship, and O.E. Vrablic. 1997. Effects of castration on early postnatal development of male accessory sex glands in the domestic pig. *Eur J. Endocrinol.* 137(3): 287-292.
- Salisbury, G.W., N.L. Van Demark, dan R. Djanuar. 1985. *Fisiologi reproduksi dan inseminasi buatan pada sapi*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Sengupta, P. 2013. The laboratory rat: Relating its age with human's. *International Journal of Preventive Medicine* 4(6): 624-630.
- Soehadi dan K.M. Arsyad. 1982. *Analisis sperma*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Wallis, C.J. 1974. *Practical zoology: For advanced level and intermediate students*. Sixth Ed. Butterworth-Heinemann Pub. Oxford. p: 283.