

## Histologi dan Histomorfometri Testis dan Epididimis Muncak (*Muntiacus muntjak muntjak*) pada Periode Ranggah Keras

(HISTOLOGY AND HISTOMORPHOMETRY OF THE TESTIS AND EPIDIDYMIS OF MUNTJAC (*MUNTIACUS MUNTJAK MUNTJAK*) DURING HARD ANTLER PERIOD)

Sri Wahyuni<sup>1</sup>, Srihadi Agungpriyono<sup>2</sup>, Muhammad Agil<sup>3</sup>, Tuty Laswardi Yusuf<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Anatomi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Jl. Tgk. Krueng Kalee No. 4, Darussalam, Banda Aceh 23111, telp. 0651-7551536

<sup>2</sup>Bagian Anatomi, Histologi dan Embriologi, Departemen Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi,

<sup>3</sup>Bagian Reproduksi dan Kebidanan, Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor (IPB), Jl. Agatis Kampus IPB, Dramaga Bogor 16680, telp. 0251-8626368  
E-mail: yuyun.anwar@gmail.com

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari histologi dan histomorfometri testis dan epididimis muncak (*Muntiacus muntjak muntjak*) pada periode ranggah keras. Jaringan testis dan epididimis dari seekor muncak jantan dewasa diproses hingga menjadi sediaan histologi dengan ketebalan sayatan 3-4  $\mu\text{m}$  dan diwarnai dengan pewarnaan hematoksin - eosin (HE). Jaringan parenkim testis muncak yang berada pada periode ranggah keras memperlihatkan tubuli seminiferi dengan lapisan sel epitel germinal: spermatogonia, spermatosit dan spermatid yang berdiferensiasi menjadi spermatozoa. Sel lain yang diamati di antara sel-sel tersebut adalah sel Sertoli. Pada jaringan interstisial terdapat sel Leydig dan sel-sel makrofag yang berada di sekitar buluh darah. Diameter tubuli seminiferi dan tebal lapisan epitel germinal secara berurutan adalah:  $176,60 \pm 7,06 \mu\text{m}$  dan  $50,27 \pm 3,62 \mu\text{m}$ . Duktus epididimidis terbagi atas tiga segmen, yaitu: kaput, korpus dan kauda. Lumen epididimidis ditutupi oleh epitel silindris banyak baris dengan ketebalan yang bervariasi. Diameter duktus epididimidis terbesar ditemukan pada bagian kauda ( $324,26 \pm 25,79 \mu\text{m}$ ), sedangkan lapisan epitel yang paling tebal ( $62,21 \pm 4,21 \mu\text{m}$ ) ditemukan pada kaput epididimidis dan semakin menurun pada korpus ( $49,53 \pm 3,01 \mu\text{m}$ ) dan kauda ( $16,30 \pm 2,27 \mu\text{m}$ ). Kepadatan spermatozoa tertinggi ditemukan di lumen kauda epididimidis. Dapat disimpulkan bahwa terdapat kemiripan struktur histologi dan histomorfometri tubuli seminiferi testis dan duktus epididimidis muncak dengan ruminansia kecil dan *Cervidae* lainnya pada periode ranggah keras.

Kata kunci: muncak, testis, epididimis, histologi, histomorfometri

### ABSTRACT

The objective of this study was to describe the histology and histomorphometry of testis and epididymis of muntjac (*Muntiacus muntjak muntjak*) during hard antler period. The tissues of the testis and epididymis of an adult male muntjac were processed for histological examination and stained with haematoxylin-eosine (HE). The parenchyma of muntjac's testis during hard antler period showed tubuli seminiferi was lined with germinal epithelium: spermatogonia, spermatocyte, spermatid that differentiated into spermatozoa. Sertoli cells were found among the germinal cells. In addition, Leydig cells were found around the blood vessel of interstitial tissue along with macrophages. Diameter of the seminiferous tubule and epithelial thickness were  $176,60 \pm 7,06 \mu\text{m}$  and  $50,27 \pm 3,62 \mu\text{m}$  respectively. The epididymal duct was subdivided into three segments: caput, corpus and cauda. They were lined predominantly with pseudostratified columnar epithelium which was varied in its thickness. The largest diameter of epididymal duct was found in cauda region ( $324,26 \pm 25,79 \mu\text{m}$ ), while caput epididymidis had the thickest of epithelial cell ( $62,21 \pm 4,21 \mu\text{m}$ ) and tended to be thinner in corpus ( $49,53 \pm 3,01 \mu\text{m}$ ) and cauda epididymidis ( $16,30 \pm 2,27 \mu\text{m}$ ). The density of spermatozoa was observed the most in the lumen of cauda region compared to caput and corpus epididymidis. In conclusion, the structure of histology and histomorphometry of the seminiferous tubule of testis and epididymal duct of muntjac were similar with small ruminants and other *Cervidae* during hard antler period.

Keywords: muntjac, testis, epididymis, histology, histomorphometry

## PENDAHULUAN

Muncak (*Muntiacus muntjak muntjak*) dikenal dengan *barking deer*, merupakan salah satu sub spesies *Muntiacus muntjak* atau *Indian Muntjac* tersebar di Pulau Jawa dan Sumatera bagian selatan. Selain *M.m.muntjak*, terdapat lima sub spesies lainnya yang tersebar di sebagian besar kepulauan Indonesia, yaitu: *M.m. bancanus* (Bangka dan Belitung), *M.m. montanus* (Sumatera bagian barat dan utara), *M.m. nainggolani* (Bali dan Lombok), *M.m. pleicharicus* (Kalimantan, Bawal, Matasiri, dan Jawa), dan *M.m. robinsoni* (Kepulauan Riau dan Lingga) (Maryanto *et al.*, 2008). Seluruh sub spesies muncak tersebut telah dilindungi, seperti yang tercantum di dalam Daftar Lampiran Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 7 tahun 1999, sejak tanggal 27 Januari 1999 (PHKA 2004). Walaupun belum ada data pasti mengenai populasi muncak di habitat *in situ* maupun *ex situ*, diduga populasinya di alam semakin menurun, seperti yang terjadi pada spesies satwa liar Indonesia lainnya. Eksploitasi hutan secara berlebihan serta alih fungsi hutan untuk lahan pertanian dan perkebunan mengakibatkan habitat satwa semakin berkurang.

Informasi mengenai biologi reproduksi muncak saat ini masih terbatas pada spesies *Muntiacus reevesi spp.* atau muncak *reeves* (Chapman dan Chapman, 1982; Chapman dan Harris, 1991; Pei *et al.*, 2009). Penelitian pada spesies *M. muntjak* lebih difokuskan pada gambaran kromosom, taksonomi, dan filogenetiknya (Ma *et al.*, 1986; Tanomtong *et al.*, 2005). Keterbatasan informasi mengenai biologi reproduksi pada *M. muntjak*, khususnya sub spesies yang hidup di Indonesia, menjadi alasan penting dilakukannya penelitian ini. Namun demikian, penelitian awal pada sub spesies ini telah dilaporkan, yaitu kajian tentang morfologi dan morfometri pertumbuhan ranggah *velvet* (Wahyuni *et al.*, 2011). Di sisi lain, data yang berhubungan dengan aspek reproduksi pada beberapa spesies rusa famili *Cervidae* yang hidup di Indonesia telah dilaporkan, di antaranya tentang karakteristik ranggah rusa timor (*Cervus timorensis*) (Semiadi, 1997), penentuan masa aktif reproduksi rusa timor jantan (Handarini *et al.*, 2004), dan pertumbuhan ranggah pada rusa bawean (*Axis kuhlii*) (Semiadi *et al.*, 2003).

Secara fungsional testis merupakan organ utama dari sistem reproduksi jantan yang

berperan penting dalam spermatogenesis dan steroidogenesis. Spermatogenesis berlangsung pada lapisan epitel tubuli seminiferi testis untuk menghasilkan spermatozoa, sedangkan steroidogenesis berlangsung di sel-sel Leydig jaringan interstisial testis untuk mensintesis hormon steroid jantan, androgen (Senger, 2005). Ada tiga tipe sel germinal pada lapisan epitel tubuli seminiferi, yaitu: spermatogonia, spermatosit, dan spermatid (França *et al.*, 1999; Wrobel dan Bregmann, 2006).

Epididimis merupakan saluran spermatozoa yang panjang dan berbelit, terbagi atas kaput, korpus, dan kauda epididimidis, melekat erat pada testis dan dipisahkan oleh tunika albuginea (Dyce *et al.*, 1996). Organ tersebut berperan penting pada proses absorpsi cairan yang berasal dari tubuli seminiferi testis, pematangan, penyimpanan dan penyaluran spermatozoa ke duktus deferens sebelum bergabung dengan plasma semen dan diejakulasikan ke dalam saluran reproduksi betina (Wrobel dan Bregmann, 2006). Sejauh ini gambaran histologi testis dan epididimis rusa timor telah dilaporkan oleh Handarini (2006); Moonjit dan Suwanpugdee (2007), namun struktur histologi dan histomorfometri testis dan epididimis pada muncak belum dilaporkan.

Pada *Cervidae* jantan, performa reproduksinya berhubungan erat dengan siklus ranggah. Pertumbuhan ranggah dipengaruhi oleh konsentrasi androgen (testosteron), dengan konsentrasi tertinggi ditemukan pada periode ranggah keras. Pada periode tersebut sebagian besar *Cervidae* menunjukkan peningkatan aktivitas reproduksi seperti spermatogenesis yang dapat diketahui dari jumlah spermatozoa pada kauda epididimidis. Sebaliknya pada periode ranggah *velvet*, terjadi penurunan aktivitas reproduksi akibat rendahnya konsentrasi testosteron. Perbedaan struktur histologi dan histomorfometri jaringan testis dan epididimis juga terjadi pada kedua periode ranggah tersebut (Monfort *et al.*, 1993).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui struktur histologi dan histomorfometri testis dan epididimis muncak yang diamati pada periode ranggah keras, dan selanjutnya dikomparasikan dengan hewan jantan lainnya. Data yang diperoleh digunakan sebagai acuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan struktur histologi dan histomorfometri kedua organ tersebut pada periode ranggah *velvet*. Manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberikan data awal mengenai struktur

histologi dan histomorfometri testis dan epididimis yang dapat digunakan pada penelitian aspek reproduksi muncak berikutnya.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan seekor muncak jantan dewasa berumur 2-4 tahun dengan bobot badan 19 kg dan berada pada periode ranggah keras. Muncak penelitian diperoleh dari Kabupaten Cilacap, Jawa Tengah dengan ijin tangkap berdasarkan Surat Keputusan Menteri Kehutanan Republik Indonesia Nomor: SK. 23/ Menhut-II/2011.

### Pembuatan Preparat Histologi

Setelah proses anestesi dan *exanguinasi*, dilakukan laparotomi untuk mengeluarkan organ testis dan epididimis dari ruang inguinal. Organ tersebut selanjutnya difiksasi dalam larutan paraformaldehid 4% selama 10 hari, kemudian dipindahkan ke alkohol 70% sebagai *stopping point*. Jaringan testis dan epididimis dipotong menjadi beberapa bagian kecil berukuran 1 x 1 x 1 cm<sup>3</sup>, dengan pembagian daerah sampling sebagai berikut: 1) jaringan parenkim testis, 2) kaput epididimidis, 3) korpus epididimidis, dan 4) kauda epididimidis. Tahap berikutnya adalah pembuatan sediaan histologi yang dimulai dengan proses dehidrasi jaringan testis dan epididimis dalam larutan alkohol konsentrasi bertingkat (70%, 80%, 90%, 95%, dan absolut), silol, infiltrasi di dalam parafin cair dan penanaman (*embedding*) jaringan dalam parafin, dilanjutkan dengan *blocking*, *sectioning* dengan ketebalan sayatan 3-4 µm. Hasil sayatan diwarnai dengan pewarna hematoxilin-eosin (HE) (Kiernan, 1990). Sediaan yang telah diwarnai diamati menggunakan mikroskop cahaya yang dilengkapi dengan kamera pada perbesaran objektif 10 kali dan 40 kali.

### Histomorfometri Tubuli Seminiferi dan Epididimis

Pengamatan dan pengukuran histomorfometri tubuli seminiferi dan epididimis dilakukan terhadap beberapa sediaan histologi yang memperlihatkan potongan melintang dari 30 tubuli seminiferi testis dan 10 duktus epididimidis per bagian kaput, korpus dan kauda. Pengamatan dan pengukuran menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran objektif 10 kali. Adapun peubah histomorfometri testis yang diukur meliputi: diameter tubuli

seminiferi dan ketebalan lapisan sel epitel germinal yang diukur dari membran basal sampai *adluminal* tubuli seminiferi testis. Parameter pengukuran untuk duktus epididimidis adalah: diameter duktus dan ketebalan lapisan epitel tanpa stereosilia di kaput, korpus dan kauda epididimidis (Arrighi *et al.*, 2010). Untuk mengukur seluruh parameter tersebut, digunakan program *image analyzer* Image J (Mc Master Biophotonic Facility).

### Analisis Data

Data histologi jaringan testis dan ketiga bagian epididimis dianalisis secara deskriptif, sedangkan data histomorfometri dari beberapa parameter pengukuran tubuli seminiferi dan epididimis ditabulasikan dalam bentuk rataan ± simpangan baku (SB).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Histologi Testis

Struktur histologi jaringan testis muncak pada periode ranggah keras secara umum mirip dengan struktur jaringan testis pada ruminansia lain, seperti kerbau (Arrighi *et al.*, 2010); kambing (França *et al.*, 1999); *eld's deer*, *Cervus eldi thamin* (Monfort *et al.* 1993) dan rusa timor, *Cervus timorensis* (Handarini, 2006; Moonjit dan Suwanpugdee, 2007). Proses pembentukan spermatozoa (spermatogenesis) berlangsung di lapisan epitel germinal yang membentuk beberapa lapis sel mulai dari membran basal tubuli hingga ke bagian *adluminal* tubuli. Proses diferensiasi dan maturasi sel-sel epitel germinal menghasilkan spermatid yang dilepaskan ke lumen tubuli melalui proses spermiasis dalam bentuk spermatozoa (Rosenfeld, 2007). Secara histologi, tubuli seminiferi muncak terdiri atas tiga komponen utama, yaitu: lamina propria, sel Sertoli (sel somatis), dan sel-sel epitel germinal yang terdiri atas: spermatogonia, spermatosit, dan spermatid (Gambar 1). Spermatogonia terletak di membran basal tubuli dengan inti sel bergranul kromatin dengan ukuran bervariasi. Spermatogonia terbagi atas spermatogonia A dan B. Spermatogonia A berinti lebih pucat dengan struktur kromatin tipis dan menyebar, sedangkan spermatogonia B berinti lebih gelap dengan struktur kromatin padat. Pada lapisan berikutnya terdapat sel spermatosit (primer dan sekunder) dengan

jumlah yang lebih banyak, terutama spermatis primer dengan ukuran sel yang lebih besar dibandingkan sel spermatogonia. Namun, keberadaan sel spermatis sekunder jarang ditemukan pada saat pengamatan karena proses diferensiasi sel spermatis primer menjadi sel spermatis sekunder berlangsung cepat (Dreef *et al.*, 2007).

Sel berikutnya adalah sel spermatid yang berbentuk bulat (*round spermatid*) dan memanjang (*elongated spermatid*) dengan struktur kromatin padat yang terwarnai lebih gelap dibandingkan inti sel lainnya. Pada lumen tubuli terdapat sel spermatozoa non motil dan infertil, bercampur dengan cairan testis. Cairan ini mengandung berbagai substansi seperti: glikoprotein, gliserofosforil kolin, *androgen binding protein* (ABP), dan inhibin (Wrobel dan Bregmann, 2006). Proses diferensiasi spermatid menjadi spermatozoa dapat diamati dengan jelas melalui pewarnaan *periodic-acid Schiff* (PAS) yang bermanfaat untuk menentukan jumlah tahapan diferensiasi yang terjadi mulai dari spermatid bulat hingga menjadi spermatid panjang dan akhirnya menjadi spermatozoa (Dreef *et al.*, 2007; Nakai *et al.*, 2004).

Sel Sertoli atau *sustentacular cells* terletak di antara sel-sel epitel germinal, dengan penjuruan sitoplasma mulai dari membran basal sampai mendekati lumen tubuli (*adluminal*) (Gambar 1B). Inti sel Sertoli berbentuk oval dengan anak inti yang terlihat jelas, berwarna lebih pucat dibandingkan inti sel germinal dan terletak di membran basal. Selain itu yang dapat diamati adalah sel peritubular yang termasuk tipe sel kontraktil dan terletak di lamina basalis tubuli seminiferi. Selain itu sel peritubular juga terdapat di lamina basalis rete testis, duktus eferens, dan duktus epididimidis. Kontraksi sel tersebut mengakibatkan spermatozoa berpindah dari tubuli seminiferi menuju duktus epididimidis (Egger dan Witter, 2009).

Jaringan interstisial (intertubuli seminiferi) merupakan jaringan ikat longgar dengan sel fibroblas dan sel fibrosit. Pada jaringan interstisial tersebut juga terdapat sel Leydig dan sel-sel endotel dinding buluh darah. Sel Leydig merupakan sel polimorf yang berkelompok di sekitar buluh darah, dengan inti sel berbentuk polihedral, sedangkan inti sel fibroblas dan fibrosit berbentuk lebih lonjong. Jaringan ikat longgar inter tubuli seminiferi testis muncak diduga tersusun atas serabut retikuler yang sulit dibedakan dengan serabut kolagen pada

pewarnaan histologi standar (HE). Tipe serabut retikuler merupakan serabut kolagen individual (kolagen tipe III) yang dilapisi oleh proteoglikan dan glikoprotein, yang dapat diidentifikasi dengan pewarnaan *periodic acid-Schiff* (PAS), *silver impregnations* tertentu (Wrobel dan Bregmann, 2006) dan pewarnaan histokimia lektin.

### Histomorfometri Tubuli Seminiferi Testis

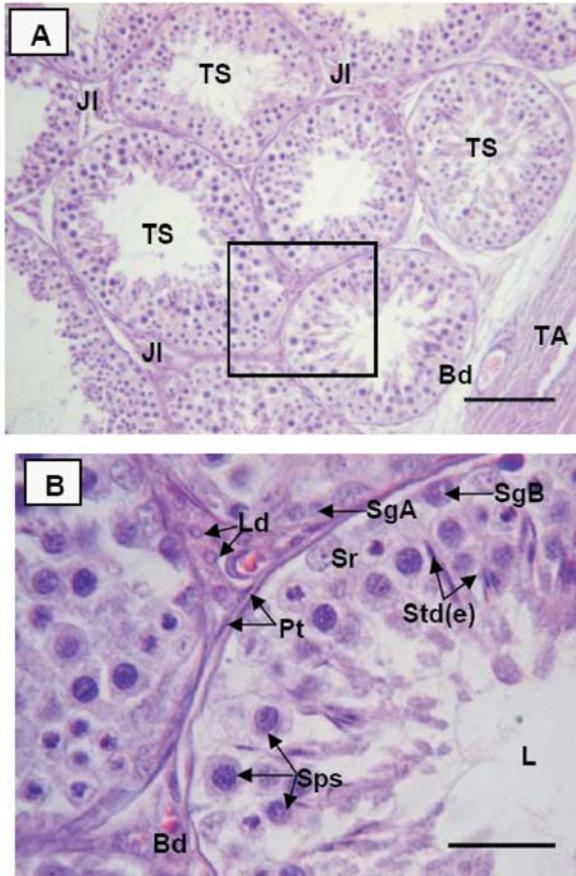
Rataan diameter tubuli seminiferi testis adalah  $176,60 \pm 7,06 \mu\text{m}$ , sedangkan tebal lapisan epitel tubuli adalah  $50,27 \pm 3,62 \mu\text{m}$ . Diameter tubuli seminiferi muncak pada periode ranggah keras lebih kecil dibandingkan diameter tubuli seminiferi dari beberapa spesies *Cervidae* pada periode ranggah yang sama, yaitu pada rusa timor:  $271,12 \pm 9,7 \mu\text{m}$  (Handarini, 2006), *red deer* (*Cervus elaphus*):  $180,0 \pm 8,5 \mu\text{m}$  (Hochereau-de Reviers dan Lincoln, 1978, tetapi lebih besar dibandingkan diameter tubuli seminiferi *fallow deer* (*Dama dama*):  $143,1 \mu\text{m}$  (Massanyi *et al.*, 1999). Perbedaan diameter tubuli antara muncak, rusa timor, dan *red deer* diduga berkaitan dengan perbedaan lingkaran skrotum, volume testis, postur tubuh, dan bobot badan. Bobot rusa timor jantan berada pada kisaran 48,0-86,9 kg, dengan lingkaran skrotum dan volume testis pada periode ranggah keras berturut-turut adalah:  $20,21 \pm 0,91 \text{ cm}$  dan  $187,85 \pm 13,61 \text{ cm}^3$  (Handarini *et al.*, 2004), sedangkan bobot badan *red deer* adalah 91,5-104,6 kg (Hochereau-de Reviers dan Lincoln 1978), namun ukuran lingkaran skrotum dan volume testis tidak dilaporkan. Data tersebut memperlihatkan bobot kedua spesies rusa tersebut jauh di atas bobot muncak jantan dewasa (17,0-19,5 kg).

Peningkatan diameter tubuli seminiferi dari periode ranggah *velvet* ke periode ranggah keras adalah 36,49% pada rusa timor (Handarini, 2006), dan 31,39% pada *red deer* (Hochereau-de Reviers dan Lincoln, 1978). Data tersebut memperlihatkan bahwa perbedaan diameter tubuli pada *Cervidae* tersebut tidak hanya terjadi pada spesies yang hidup di wilayah beriklim sedang, tetapi dilaporkan pula pada rusa timor yang hidup di wilayah beriklim tropis. Perbedaan konsentrasi testosteron pada setiap periode ranggah merupakan faktor yang memengaruhi aktivitas spermatogenesis di tubuli seminiferi testis. Akibatnya, terjadi perbedaan komponen sel germinal tubuli dan histomorfometri jaringan testis pada kedua periode ranggah tersebut (Loudon dan Curlewis

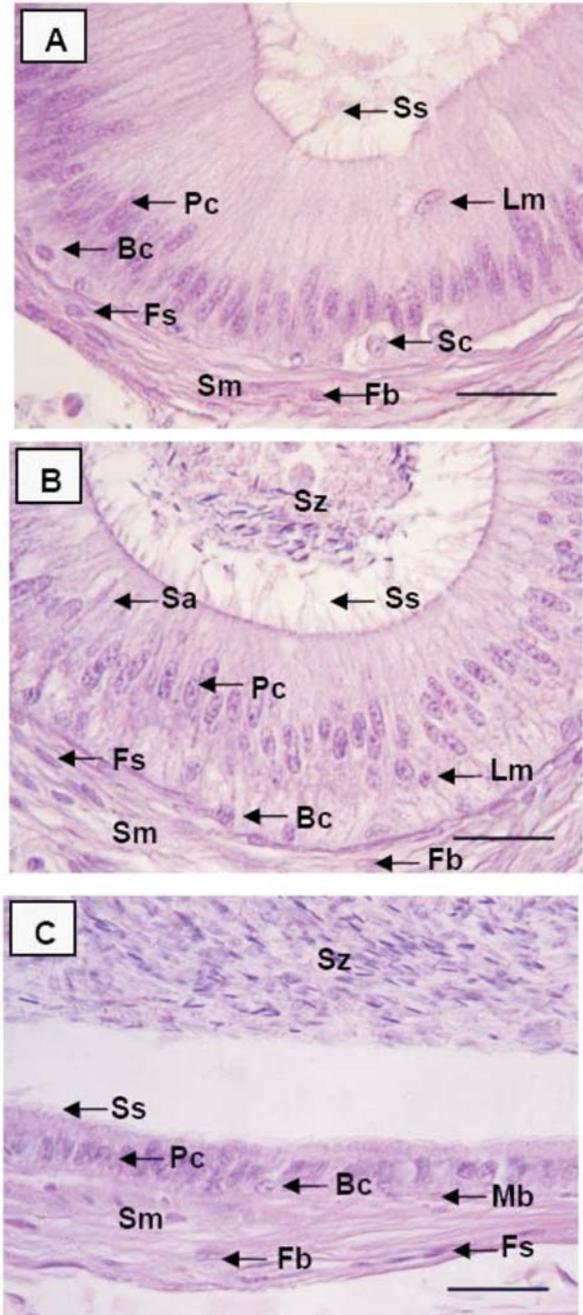
1988). Berbeda dengan *Cervidae*, diameter tubuli seminiferi testis ruminansia dengan pola reproduksi tidak bermusim seperti kambing kacang ( $153,33 \pm 10,07 \mu\text{m}$ ) dan domba lokal ( $155,93 \pm 14,17 \mu\text{m}$ ), tidak mengalami perubahan dengan produksi spermatozoa yang stabil sepanjang tahun (Noviana *et al.*, 2000).

**Histologi Duktus Epididimidis**

Perbedaan struktur histologi antara komponen penyusun kaput, korpus, dan kauda epididimidis yang meliputi ketebalan lapisan epitel, ketebalan lapisan otot polos, dan



Gambar 1. Struktur histologi testis muncak. A. Jaringan parenkim testis terdiri atas: tubuli seminiferi (TS) yang dipisahkan oleh jaringan interstitial (JI) dan dibungkus oleh tunika albugenia (TA) dengan buluh darah (Bd). B. Inset A: lumen tubuli (L), sel-sel epitel tubuli seminiferi testis: spermatogonia A (SgA); spermatogonia B (SgB); spermatosit (Sps); spermatid *elongated* (Std(e)); inti sel Sertoli (Sr) dan sel peritubular (Pt) di membran basal tubuli. Sel Leydig (Ld) di sekitar buluh darah (Bd) tersebar di jaringan interstitial. Skala A: 100  $\mu\text{m}$ ; B: 30  $\mu\text{m}$ .



Gambar 2. Histologi epididimidis muncak. A. Kaput epididimidis; B. korpus epididimidis dan C. kauda epididimidis. Duktus epididimidis dikelilingi oleh serabut otot polos (Sm) dengan fibroblast (Fs) dan fibrosit (Fs). Duktus epididimidis dilapisi oleh sel epitel silindris banyak baris dengan stereosilia (Ss). Sel-sel epitel duktus: *principle cells* (Pc); sel basal (Bc); sel apikal (Sa); limfosit (Lm); sel *clear* (Sc). Pada lumen (L) terdapat spermatozoa (Sz). Skala A, B, dan C: 30  $\mu\text{m}$ .

keberadaan sel-sel limfosit dapat diamati dengan jelas pada penelitian ini (Gambar 2). Kaput epididimidis merupakan bagian proksimal dari duktus epididimidis dan sebagai lanjutan dari duktus eferens. Pada sayatan melintang, duktus epididimidis tersusun atas lapisan epitel silindris banyak baris yang dikelilingi oleh jaringan ikat longgar dan lapisan otot polos sirkular (Gambar 2A). Lumen kaput epididimidis berisi spermatozoa yang berasal dari tubuli seminiferi dan duktus eferens. Beberapa tipe sel ditemukan pada lapisan epitelnya, yaitu *principle cells* (PC) dengan stereosilia, sel basal di bagian membran basal dengan ukuran inti sel yang bervariasi, dan sel-sel limfosit di antara PC. Menurut Primiani *et al.*, (2007), PC berstereosilia merupakan sel dengan populasi terbanyak dibandingkan tipe sel lainnya, hal tersebut juga diamati pada lapisan epitel duktus epididimidis muncak. Selain sel-sel tersebut masih ada beberapa tipe sel lain, yaitu: sel halo, sel *clear*, sel apikal, monosit, dan makrofag (Ahmed *et al.*, 2009). Sel halo merupakan sel imun yang tergolong limfosit atau monosit (Serre dan Robaire, 1999). Namun, pada pewarnaan HE yang digunakan pada penelitian ini, beberapa tipe sel tersebut sulit diidentifikasi, kecuali dengan metode pewarnaan menggunakan *marker* spesifik untuk tipe sel-sel imun, seperti *marker* untuk limfosit T *helper* dan *cytotoxic*, dan limfosit B, selain itu dapat pula digunakan metode pewarnaan *toluidine blue* dan preparasi jaringan epididimidis untuk diamati dengan *transmission electron microscope* (TEM) (Yeung *et al.* 1994; Ahmed *et al.*, 2009). Posisi inti PC pada duktus kaput epididimidis berdekatan dengan sel basal yang terdapat di membran basal. Beberapa ciri khas lainnya yang ditemukan pada kaput epididimidis, adalah: 1) lapisan epitel duktus lebih tebal dengan stereosilia yang lebih panjang dibandingkan dengan korpus dan kauda epididimidis, 2) adanya sel-sel limfosit di antara sel epitel yang bermigrasi dari membran basal ke lumen duktus, 3) spermatozoa masih bercampur dengan substansi yang berasal dari tubuli seminiferi testis yang belum diserap oleh sel epitel duktus eferens, dan 4) lapisan otot polos sirkular yang tipis di sekeliling duktus.

Korpus epididimidis juga dilapisi oleh tipe sel epitel yang sama dengan kaput epididimidis, namun posisi inti PC berada di bagian sentral sitoplasma dengan ukuran stereosilia yang lebih pendek (Gambar 2B). Kemiripan lainnya dengan kaput epididimidis adalah keberadaan limfosit,

dengan jumlah yang lebih banyak, baik yang sedang bermigrasi, maupun yang bercampur dengan spermatozoa di lumen epididimidis. Di sekeliling duktus ditemukan lapisan otot polos sirkular yang lebih tebal dibandingkan lapisan otot pada kaput epididimidis. Pada lumen ditemukan spermatozoa dengan kepadatan yang lebih tinggi dibandingkan kaput.

Karakteristik yang ditemukan pada kauda epididimidis adalah lapisan otot polos sirkular yang paling tebal dibandingkan lapisan otot pada kaput dan kauda epididimidis. Selain itu, ukuran PC dan stereosilianya paling pendek serta masih ditemukannya sel-sel limfosit, namun jumlahnya semakin berkurang. Diameter lumen duktus terbesar ditemukan pada bagian ini dan berisi spermatozoa dengan kepadatan tertinggi untuk disimpan sebelum disalurkan ke duktus deferens (Gambar 2C).

Perbedaan struktur histologi yang diamati pada penelitian ini berkorelasi erat dengan fungsi dari masing-masing bagian epididimidis sebagai organ penyalur, pematang, dan penyimpan spermatozoa. Saat melewati kaput dan korpus epididimidis, spermatozoa mengalami serangkaian perubahan morfologi dan fungsi serta mengalami proses maturasi, sehingga saat mencapai kauda epididimidis, spermatozoa telah motil dan fertil (Wrobel dan Bregmann, 2006). Keberadaan PC dengan jumlah terbesar di sepanjang duktus epididimidis, khususnya pada bagian kaput dan korpus, berperan pada proses absorpsi cairan yang berasal dari tubuli seminiferi testis, serta sintesis dan sekresi substansi yang diperlukan untuk maturasi spermatozoa (Cooper, 1986).

Proses absorpsi dan sekresi oleh PC berlangsung di bagian sel yang berhadapan dengan lumen, bagian lateral dan basal sel di antara ruang interselular. Ruang interselular tersebut berbatasan dengan ruang perivaskular dari kapiler subepitel (Kumar *et al.*, 1982). Setelah melalui proses maturasi di bagian kaput dan korpus, spermatozoa disimpan di lumen kauda epididimidis dengan diameter terbesar dan lapisan epitel paling tipis (Gambar 2C). Struktur demikian sangat sesuai bagi kauda epididimidis sebagai saluran berbentuk kantong untuk menampung dan menyimpan spermatozoa dalam jumlah besar sebelum disalurkan ke duktus deferens menuju ampula.

#### **Histomorfometri Duktus Epididimidis**

Perbedaan histomorfometri ketiga bagian epididimidis yang meliputi diameter duktus dan

Tabel 1. Histomorfometri epididimis muncak pada periode ranggah keras

Ukuran( $\mu\text{m}$ )	Epididimidis		
	Kaput	Korpus	Kauda
Diameter duktus	269,56 $\pm$ 1,88	202,09 $\pm$ 8,36	324,26 $\pm$ 25,79
Tebal lapis epitel	62,21 $\pm$ 4,21	49,53 $\pm$ 3,01	16,30 $\pm$ 2,27

tebal lapisan epitel disajikan pada Tabel 1. Diameter duktus epididimis muncak terbesar yang diamati pada periode ranggah keras, ditemukan pada kauda epididimidis, yaitu: 324,26 $\pm$ 25,79  $\mu\text{m}$ . Ukuran tersebut lebih kecil dibandingkan diameter duktus epididimidis rusa timor (386,52 $\pm$ 21,06  $\mu\text{m}$ ) pada periode ranggah yang sama (Handarini, 2006).

Ketebalan epitel yang melapisi duktus epididimidis pada bagian kaput adalah 62,21 $\pm$ 4,21  $\mu\text{m}$ . Ketebalan tersebut semakin berkurang pada korpus epididimidis, yaitu 49,53 $\pm$ 3,01  $\mu\text{m}$  dan semakin menipis pada kauda epididimidis, yaitu 16,30 $\pm$ 2,27  $\mu\text{m}$ . Perbedaan diameter duktus dan lumen epididimidis serta ketebalan lapis epitelnya juga dilaporkan pada kucing (Axner *et al.*, 1999), *cane rat* (Olukole dan Obayemi, 2010), dan *neotropical bats* (Beguelini *et al.*, 2010). Secara kualitatif, kepadatan spermatozoa yang terdapat di lumen ketiga bagian epididimis juga bervariasi. Kepadatan spermatozoa tertinggi ditemukan pada kauda epididimidis, sedangkan terendah ditemukan di lumen kaput epididimidis. Namun, parameter histomorfometri duktus epididimidis pada rusa timor yang dilaporkan Handarini (2006) hanya terbatas pada kauda epididimidis, sedangkan kedua bagian kaput dan korpus belum dilaporkan.

Histomorfometri epididimis rusa timor menunjukkan perbedaan signifikan antara periode ranggah keras dan *velvet*. Diameter duktus kauda epididimidis rusa timor pada periode ranggah keras, adalah: 386,52 $\pm$ 21,06  $\mu\text{m}$ , sedangkan periode ranggah *velvet* adalah 297,63 $\pm$ 9,52  $\mu\text{m}$ , dengan peningkatan diameter sebesar 29,87% (Handarini, 2006). Diameter tersebut 19,2% lebih besar dibandingkan diameter kauda epididimidis muncak (324,26 $\pm$ 25,79  $\mu\text{m}$ ) pada periode ranggah yang sama. Perbedaan signifikan dari parameter histomorfometri epididimis juga dilaporkan pada kerbau mediterania saat musim kawin dan sebaliknya (Arrighi, 2010). Pada *Cervidae* dan

mamalia lain dengan pola reproduksi musiman, histomorfometri komponen duktus epididimidis memperlihatkan perubahan sesuai periode aktif reproduksinya. Perubahan yang terjadi pada kedua periode ranggah tersebut disebabkan oleh perbedaan konsentrasi androgen (testosteron) dalam sirkulasi darah. Tingginya konsentrasi testosteron yang telah dikonversi oleh 5 $\alpha$ -reduktase menjadi dehidrotestosteron (DHT) pada periode ranggah keras, meningkatkan aktivitas duktus epididimidis yang ditandai dengan meningkatnya ukuran diameter kaput, korpus dan kauda epididimidis. Kondisi yang sama juga terjadi pada tubuli seminiferi testis (Kolasa *et al.*, 2004). Periode aktif reproduksi rusa timor juga ditandai dengan konsentrasi testosteron plasma yang tinggi, dan menurun drastis pada saat lepas ranggah dan ranggah *velvet* (Handarini dan Nalley, 2008). Sejauh mana perbedaan histomorfometri komponen epididimis muncak pada periode ranggah keras dan ranggah *velvet* dapat diketahui dengan melakukan kajian yang sama pada saat muncak berada pada periode ranggah *velvet*.

## SIMPULAN

Secara umum, struktur histologi testis dan duktus epididimidis muncak mirip dengan ruminansia kecil dan *Cervidae* lainnya. Histomorfometri tubuli seminiferi testis dan duktus epididimidis muncak pada ranggah keras mendekati ukuran testis dan duktus epididimidis pada *Cervidae* lainnya pada periode ranggah keras. Perbedaan bobot badan dan ukuran testis berpengaruh terhadap histomorfometri tubuli seminiferi testis dan duktus epididimidis. Untuk mengetahui adanya perbedaan struktur histologi dan histomorfometri antara periode ranggah keras dan ranggah *velvet*, perlu dibuktikan dengan melakukan studi yang sama saat muncak berada pada periode ranggah *velvet*.

## SARAN

Pemanfaatan metode pewarnaan histologi yang lebih spesifik seperti *periodic acid Schiff*, *toluidine blue*, dan histokimia lektin perlu dilakukan pada studi berikutnya untuk mengetahui morfofungsi testis dan duktus epididimidis muncak secara histologi pada periode ranggah keras dan ranggah *velvet*. Pengamatan ultrastruktur menggunakan mikroskop elektron transmisi untuk mengidentifikasi tipe sel dan komponen penyusun kaput, korpus, dan kauda epididimidis perlu dimanfaatkan.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada: 1) Kementerian Kehutanan Republik Indonesia atas pemberian ijin penggunaan muncak untuk penelitian eksplorasi ini, 2) Balai Konservasi Sumber Daya Alam Jawa Tengah, dan 3) Balai Besar Sumber Daya Alam Jawa Barat atas dukungan dan kerjasamanya dalam penyediaan muncak untuk penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed MH, Sabry SM, Zaki SM, El-Sadik AO. 2009. Histological, immunohistochemical and ultrastructural study of the epididymis in the adult albino rat. *Aus J Basc App Sci* 3(3): 2278-2289.
- Arrhigi S, Bosi G, Gropetti D, Cremonesi F. 2010. Morpho- and histometric evaluations on the testis and epididymis in buffalo bulls during the different reproductive season. *Open Anat J* 2: 29-33.
- Axner E, Malmqvist M, Linde-Forsberg C, Rodriguez-Martinez H. 1999. Regional histology of ductus epididymidis in the domestic cat. *J Reprod Dev* 45: 151-160.
- Beguelini MR, Sergio BFS, Leme FLJ, Taboga SR, Morielle-Versute E. 2010. Morphological and morphometric characteristics of the epididymis in the neotropical bats *Eumops glaucinus* and *Molossus molossus* (Chiroptera: Molossidae). *Chiroptera Neotropical* 16(2): 769-779.
- Chapman DI, Chapman NG. 1982. The antler cycle of the adult Reeves' muntjak. *Act Theriol* 27: 107-114.
- Chapman NG, Harris S. 1991. Evidence that seasonal antler cycle of adult Reeves muntjak (*Muntiacus reevesi*) is not associated with reproductive quiescence. *J Reprod Fert* 92: 361-369.
- Cooper TG. 1986. *Epididymis: Sperm Maturation and Fertilisation*. Berlin: Springer-Verlag.
- Dreef. HC, van Esch E, de Rijk EPCT. 2007. Spermatogenesis in cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*): a practical guide for routine morphological staging. *Toxicol Pathol* 35: 395-404.
- Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. 1996. *Text Book of Veterinary Anatomy*. 2<sup>nd</sup> Ed. Philadelphia: WB. Saunders.
- Egger GF, Witter K. 2009. Peritubular contractile cells in testis and epididymis of the dog, *Canis lupus familiaris*. *Act Vet Brno* 78: 3-11.
- França LR, Becker-Silva SC, Chiarini-Garcia H. 1999. The length of the cycle of seminiferous epithelium in goats (*Capra hircus*). *Tissue & Cell* 31(3): 274-280.
- Handarini R, Nalley WMM, Semiadi G, Agungpriyono S, Subandriyo, Purwantara B, Toelihere MR. 2004. Penentuan masa aktif reproduksi rusa timor jantan (*Cervus timorensis*) berdasarkan kualitas semen dan tahap pertumbuhan ranggahnya. Bogor: Puslitbang Peternakan.
- Handarini R. 2006. Dinamika aktivitas reproduksi berkaitan dengan tahap pertumbuhan ranggah rusa timor (*Cervus timorensis*) jantan dewasa [disertasi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Handarini R, Nalley WMM. 2008. Profil hormon testosteron rusa timor (*Cervus timorensis*) jantan dalam satu siklus ranggah. *Med Konserv* 13: 1-7.
- Hochereau-de Reviers MT, Lincoln GA. 1978. Seasonal variation in the histology of the testis of the red deer, *Cervus elaphus*. *J Reprod Fert* 54: 209-213.
- Kiernan JA. 1990. *Histological & Histochemical Methods: Theory & Practice*. 2<sup>nd</sup> Ed. England: Pergamon Pr.
- Kolasa A, Marchlewicz M, Wenda-Rozewicka L, Wiszniewska B. 2004. Morphology of the testis and the epididymis in rats with dihydrotestosterone (DHT) deficiency. *Ann Ac Med Biol Proceed* 49: 117-119.

- Kumar TCA, Prakash A, Prasad MRN. 1982. Ultrastructural features of the principal cell in the epididymis of the rhesus monkey. *J Bio Sci* 4(4): 469-479.
- Loudon ASI, Curlewis JD. 1988. Cycles of antler and testicular growth in an aseasonal tropical deer (*Axis axis*). *J Reprod Fert* 83: 729-738.
- Ma S, Wang Y, Xu L. 1986. Taxonomic and phylogenetic studies on the genus *Muntiacus*. *Act Theriol Sin* 3: 190-209.
- Maryanto I, Achmadi AS, Kartono AP. 2008. *Mamalia dilindungi perundang-undangan Indonesia*. Prijono SN, Noerdjito M (Ed). Cibinong: LIPI Pr.
- Massanyi P, Lukac N, Hluchy S, Slamecka J, Jurcik R, Toman R, Kovacik J. 1999. Seasonal variation in the metric analysis of the testis and epididymis in fallow-deer (*Dama dama*). *Fol Vet* 43: 67-70.
- Monfort SL, Brown JL, Bush M, Wood TC, Wemmer C, Vargas A, Williamson LR, Montali RJ, Wildt DE. 1993. Circannual inter-relationship among reproductive hormones, gross morphometry, behavior, ejaculate characteristic and testicular histology in eld's deer stags (*Cervus eldi thamin*). *J Reprod Fert* 98: 471-480.
- Moonjit P, Suwanpugdee A. 2007. Histological structure of testis and ductus epididymis of rusa deer (*Cervus timorensis*). *Kasetsart J Nat Sci* 41: 86-90.
- Nakai M, Van Cleeff JK, Bahr JM. 2004. Stages and duration of spermatogenesis in the domestic ferret (*Mustela putorius furo*). *Tissue & Cell* 36: 439-446.
- Noviana C, Boediono A, Wresdiyati T. 2000. Morfologi dan histomorfometri testis dan epididimis kambing kacang (*Capra sp*) dan domba lokal (*Ovis sp*). *Med Vet* 7(2): 12-16.
- Olukole SG, Obayemi TS. 2010. Histomorphometry of the testis and epididymis in the domestic adult African great cane rat (*Thryonomys swinderianus*). *Int J Morphol* 28(4): 1251-1254.
- Pei KJ, Foresman K, Liu BT, Hong LH, Yu JYL. 2009. Testosterone levels in male Formosan Reeve's muntjac: uncoupling of the reproduction and antler cycles. *Zool Stud* 48: 120-124.
- [PHKA]. 2004. Peraturan Perundang-undangan Bidang Perlindungan Hutan dan Pelestarian Alam. Jakarta: Sekretariat Dirjen PHKA Departemen Kehutanan.
- Primiani N, Gregory M, Dufresne J, Smith C, Liu YL, Bartles JR, Cyr DG, Hermo LM. 2007. Microvillar size and espin expression in principal cells of the rat epididymis are regulated by androgens. *J Androl* 28: 659-669.
- Rosenfeld CS. 2007. Overview of Male Reproductive Organs. In Schatten H, Constantinescu GM. (Ed). *Comparative Reproductive Biology*. New York: Blackwell.
- Semiadi G. 1997. Karakteristik ranggah pada rusa timorensis (*Cervus timorensis*). *Biota* II: 82-87.
- Semiadi G, Subekti K, Sutarna IK, Masy'ud B, Affandi L. 2003. Antler's growth of endangered and endemic bawean deer (*Axis kuhlii* Muller and Chlegel, 1842). *J Zool Treub* 33: 89-95.
- Senger PL. 2005. *Pathways to Pregnancy and Parturition*. 2<sup>nd</sup> edition. Washington: Current Conception,
- Serre V, Robaire B. 1999. Distribution of immune cells in the epididymis of the ageing brown norway rat is segment-specific and related to the luminal content. *Biol Reprod* 61: 705-714.
- Tanomtong A, Chaveeragh A, Phanjun G, Kaensa W, Khunsook S. 2005. New records of chromosomal features in indian muntjacs (*Muntiacus muntjak*) and fea's muntjacs (*M. feae*) of thailand. *Cytologia* 70(1): 71-77.
- Wahyuni S, Agungpriyono S, Agil M, Yusuf TL. 2011. Morfologi dan morfometri pertumbuhan ranggah velvet muncak jantan (*Muntiacus muntjak muntjak*). *J Ked Hewan* 5(1): 17-22.
- Wrobel KH, Bergmann M. 2006. Male Reproductive System. In Eurell JA, Frappier B. (Ed). *Dellman's Textbook Veterinary Histology*. Iowa: Blackwell.
- Yeung CH, Nashan D, Sorg C, Oberpenning F, Schulze H, Nieschlag E, Cooper TG. 1994. Basal cells of the human epididymis-antigenic and ultrastructural similarities to tissue-fixed macrophages. *Biol Reprod* 50: 917-926.