

## Distribusi Karbohidrat Asam dan Netral pada Epididimis Sapi Sumba Ongole (*Bos indicus*)

(*Distribution of Acid and Neutral Carbohydrates in the Epididymis of Sumba Ongole Cattle (Bos indicus)*)

Teresia Yoanista W. Ranus<sup>1\*</sup>, Filphin A. Amalo<sup>1</sup>, Ingrid T. Maha<sup>1</sup>, Heny Nitbani<sup>1</sup> dan Yulfia N. Selan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departemen Anatomi, Fisiologi, Farmakologi, dan Biokimia, Fakultas Kedokteran dan Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana, Kupang

\*Penulis Korespondensi: wendyranus4@gmail.com

### Abstract

This study aims to determine the distribution of mucopolysaccharide compounds, namely acidic carbohydrates and neutral carbohydrates in the epididymis of Sumba Ongole cattle (*Bos indicus*). The research samples used were 3 epididymal organs collected from 3 Sumba Ongole cattle slaughtered at the East Sumba District Slaughterhouse with a slaughter weight range of 200-300 kg and an age range of 1-3 years. Samples were fixed in 10% formalin and tissue processing was carried out. The distribution of acidic and neutral carbohydrates in the epididymis was detected by Alcian Blue (AB) and Periodic Acid Schiff (PAS) methods. The results showed that acidic carbohydrates and neutral carbohydrates were distributed in 3 parts of the epididymis, namely the caput, corpus, and cauda. AB staining at pH 2.5 showed a weak positive reaction (+) in the smooth muscle layer, connective tissue (tunica submucosa), and tunica albuginea, and showed a moderate positive reaction (++) in stereocilia, lamina epithelium, and lamina propria. Weak intensity (+) for PAS staining was seen in the connective tissue and tunica albuginea. Stereocilia, lamina epithelium, lamina propria, and smooth muscle layer showed moderate intensity (++) for PAS staining. The occurrence of variations in the distribution of acidic and neutral carbohydrates in the epididymis of Sumba Ongole cattle is thought to be caused by the proliferation of various cell types and cell biosynthetic activity in the epididymis.

Keywords: *Sumba Ongole cattle; Epididymis; acidic carbohydrates; neutral carbohydrates*

### Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sebaran senyawa mukopolisakarida yaitu karbohidrat asam dan karbohidrat netral pada epididimis sapi sumba ongole (*Bos indicus*). Sampel penelitian yang digunakan sebanyak 3 organ epididimis yang dikoleksi dari 3 ekor sapi sumba ongole yang dipotong di Rumah Potong Hewan Kabupaten Sumba Timur dengan kisaran berat potong 200-300 kg dan kisaran umur 1-3 tahun. Sampel difiksasi dalam formalin 10% dan dilakukan pemrosesan jaringan. Sebaran karbohidrat asam dan netral pada epididimis dideteksi dengan metode pewarnaan *Alcian Blue* (AB) dan *Periodic Acid Schiff* (PAS). Hasil penelitian menunjukkan karbohidrat asam dan karbohidrat netral terdistribusi pada 3 bagian epididimis, yakni caput, corpus, dan cauda. Pewarnaan AB pH 2,5 menunjukkan reaksi positif lemah (+) pada lapisan otot polos, jaringan ikat (tunika submukosa), tunika albuginea, dan menunjukkan reaksi positif sedang (++) pada stereosilia, lamina epitel, dan lamina propria. Intensitas yang lemah (+) untuk pewarnaan PAS terlihat pada jaringan ikat dan tunika albuginea. Stereosilia, lamina epitel, lamina propria, dan lapisan otot polos menunjukkan intensitas sedang (++) terhadap pewarnaan PAS. Terjadinya variasi distribusi karbohidrat asam dan netral pada epididimis sapi sumba ongole diduga disebabkan oleh proliferasi berbagai jenis sel dan aktivitas biosintetik sel pada epididimis.

Kata kunci: *Sapi sumba ongole, epididimis, karbohidrat asam, karbohidrat netral*

### PENDAHULUAN

Sapi sumba ongole (SO) adalah salah satu sapi ras lokal Indonesia. Sapi sumba ongole termasuk dalam golongan sapi berpunuk. Sapi SO perlu dilindungi dan dilestarikan karena merupakan sumber daya genetik ternak Indonesia

memiliki keragaman bentuk fisik yang khas dibandingkan sapi asli dan sapi lokal lainnya (Kementan, 2014). Kelestarian sapi sumba ongole merupakan hasil dari keberhasilan manajemen berbagai faktor pendukung salah satunya adalah faktor reproduksi.

Organ-organ reproduksi merupakan organ yang memiliki peran penting dalam mempertahankan eksistensi hewan. Epididimis adalah saluran reproduksi jantan yang berperan penting pada sistem reproduksi jantan yaitu menjadi tempat transportasi, konsentrasi semen, pematangan serta penyimpanan spermatozoa (Akmal *et al.*, 2015).

Salah satu unsur yang dihasilkan oleh sperma dan sel sertoli adalah karbohidrat. Karbohidrat pada epididimis membantu dalam pematangan sel spermatozoa, dimana interaksi karbohidrat-protein akan bertanggung jawab atas pengikatan sperma-oosit (James *et al.*, 2020). Menurut Harris *et al.*, (2007), keberhasilan proses fertilisasi khususnya mekanisme pengikatan sel sperma dan sel telur dipengaruhi oleh karbohidrat. Distribusi karbohidrat dalam suatu organ dapat diketahui dengan pewarnaan histokimia *Alcian Blue* (AB) yang digunakan untuk mendeteksi karbohidrat asam dan *Periodic Acid Schiff* (PAS) yang digunakan untuk mendeteksi karbohidrat netral (Kiernan, 1990). Karbohidrat asam merupakan jenis karbohidrat yang memiliki gugus sulfat atau karboksilat yang terionisasi pada pH rendah, sedangkan karbohidrat netral merupakan jenis karbohidrat yang tidak memiliki gugus sulfat atau karboksilat yang terionisasi pada pH rendah (Wibawa, 2017).

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengetahui sebaran senyawa mukopolisakarida yaitu karbohidrat asam dan karbohidrat netral pada epididimis sapi sumba ongole (*Bos indicus*). Penelitian ini diharapkan menjadi informasi mengenai sebaran senyawa mukopolisakarida yaitu karbohidrat asam dan karbohidrat netral pada epididimis sapi sumba ongole, membantu dalam mempelajari fungsi fisiologis sel-sel tubuh sapi sumba ongole (*Bos indicus*), serta dapat membantu penelitian-penelitian lainnya di bidang terkait.

## BAHAN DAN METODE

Sampel yang digunakan pada penelitian ini berupa tiga organ epididimis sapi sumba ongole (*Bos indicus*), pewarna *Alcian Blue* (AB) pH 2,5 dan pewarna *Periodic Acid Schiff* (PAS). Masing-masing sampel dipotong dengan ketebalan  $\pm 1 \text{ cm}^3$  dan difiksasi dalam formalin 10%. Selanjutnya dilakukan pembuatan preparat histologi dan pewarnaan AB pH 2,5 dan PAS. Lalu dilakukan pengamatan mikroskopik dengan menggunakan mikroskop cahaya olympus CX21. Pengamatan

pada distribusi karbohidrat asam dan karbohidrat netral didasarkan pada kekuatan respons warna yang dihasilkan oleh setiap pewarnaan, yaitu negatif (-), lemah (+), sedang (++) , dan kuat (+++). Reaksi positif pewarnaan AB ditandai dengan warna biru dan pewarnaan PAS ditandai dengan warna magenta (merah keungu-unguan).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

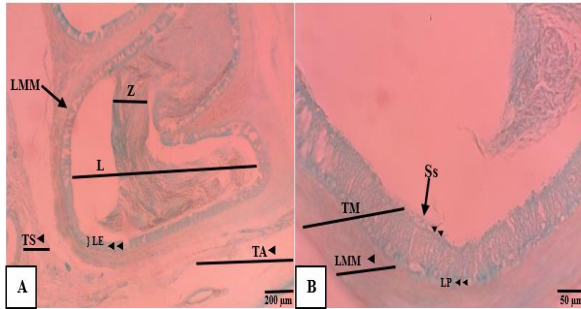
### Sebaran Karbohidrat Asam dan Netral pada Caput Epididimis Sapi Sumba Ongole (*Bos indicus*)

Sebaran karbohidrat asam menggunakan pewarnaan *Alcian Blue* (AB) dan karbohidrat netral menggunakan pewarnaan *Periodic Acid Schiff* (PAS) pada caput epididimis sapi sumba ongole (*Bos indicus*) dapat dilihat pada tabel 1. Reaksi positif sedang (++) pada pewarnaan AB terdapat pada stereosilia, lamina epitel, lamina propria dan reaksi positif lemah (+) terdapat pada lamina muskularis mukosa (lapisan otot polos), tunika submukosa (jaringan ikat), dan tunika albuginea (Gambar 1). Reaksi positif sedang (++) terhadap pewarnaan PAS terdapat pada stereosilia, lamina epitel, lamina propsia, lamina muskularis mukosa dan reaksi positif lemah (+) terdapat pada tunika submukosa (jaringan ikat) dan tunika albuginea (Gambar 2).

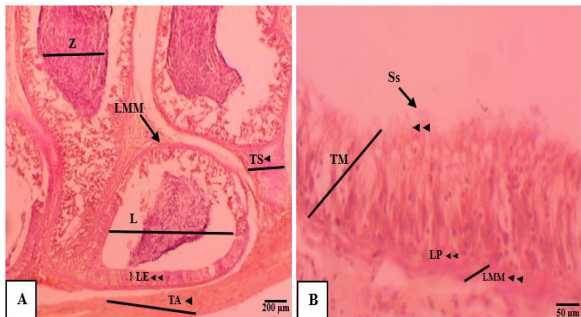
**Tabel 1.** Sebaran dan intensitas reaksi AB dan PAS pada caput epididimis sapi sumba ongole (*Bos indicus*)

Lapisan	Reaksi AB	Reaksi PAS
Tunika Mukosa		
• Stereosilia	++	++
• Lamina Epitel	++	++
• Lamina Propria	++	++
• Lamina Muskularis Mukosa (Lapisan otot polos)	+	++
Tunika Submukosa (Jaringan Ikat)	+	+
Tunika Albuginea	+	+

Keterangan: (-) = negatif, (+) = lemah, (++) = sedang, (+++) = kuat



**Gambar 1.** Mikrofotografi caput epididimis sapi sumba ongole (*Bos indicus*). L: lumen, Z: spermatozoa, Ss: stereosilia, LE: Lamina Epitel, LP: lamina propria, LMM: lamina muskularis mukosa (lapisan otot polos), TM: tunika mukosa, TS: tunika submukosa, TA: tunika albuginea. Pewarnaan AB. Intensitas sedang (panah dua) dan intensitas lemah (panah satu). Perbesaran A = 10x, B = 40x.



**Gambar 2.** Mikrofotografi caput epididimis sapi sumba ongole (*Bos indicus*). L: lumen, Z: spermatozoa, Ss: stereosilia, LE: Lamina Epitel, LP: lamina propria, LMM: lamina muskularis mukosa (lapisan otot polos), TM: tunika mukosa, TS: tunika submukosa, TA: tunika albuginea. Pewarnaan PAS. Intensitas sedang (panah dua) dan intensitas lemah (panah satu). Perbesaran A = 10x, B = 40x.

Penelitian yang dilakukan pada babi lokal (Singh *et al.*, 2019), kerbau pada masa prenatal (Sharma *et al.*, 2021), dan kuda charmuti (Shukla dan Rajput, 2019) juga menunjukkan bahwa stereosilia memiliki reaksi dengan intensitas sedang (++) terhadap pewarnaan AB dan PAS. Stereosilia pada sel-sel epitel epididimis memiliki fungsi untuk menyerap kelebihan cairan dari testis dan memberi nutrisi pada sperma yang matang. Nutrisi yang diteruskan pada sperma mengandung glikoprotein, lemak, vitamin, dan mineral (Johnson *et al.*, 2010). Adanya kandungan glikoprotein sebagai salah satu nutrisi di dalam stereosilia menyebabkan stereosilia memiliki

reaksi positif sedang (++) terhadap pewarnaan PAS.

Penelitian pada babi lokal (Singh *et al.*, 2019) dan domba gaddi (Shukla dan Rajput, 2021), juga menunjukkan bahwa lamina epitel dan lamina propria memiliki reaksi positif dengan intensitas sedang terhadap pewarnaan AB dan PAS. Hal ini menunjukkan bahwa pada bagian tersebut terdapat karbohidrat netral dan karbohidrat asam. Menurut Rajani *et al.*, (2002), reaksi positif AB dan PAS dapat menunjukkan sumber energi yang tersedia untuk aktivitas sekresi sel.

Penelitian yang dilakukan oleh Bansal *et al* (2018) pada epididimis kerbau pasca kelahiran melaporkan bahwa lapisan otot polos memiliki reaksi positif kuat (+++) terhadap pewarnaan AB, sedangkan pada pewarnaan PAS memiliki reaksi positif sedang (++) . Pada lapisan otot polos terdapat glikogen yang merupakan bentuk simpanan dari glukosa (Baynes, 2005). Selain itu, lapisan otot polos juga berfungsi untuk mendorong spermatozoa ke duktus deferens dengan berkontraksi. Hal ini menyebabkan di dalam otot polos terdapat substansi karbohidrat yang berasal dari spermatozoa (Elfgen *et al.*, 2018).

Menurut Johnson *et al.*, (2010), mukopolisakarida meningkatkan kapasitas pemupukan spermatozoa sehingga mukopolisakarida terdapat di dalam setiap lapisan epididimis walaupun memiliki jumlah dan distribusi yang berbeda-beda. Di dalam jaringan ikat terdapat beberapa mukopolisakarida asam seperti kondroitin sulfat dan asam hialuronat (Sodhi dan Panitch, 2021). Selain itu, intensitas pewarnaan PAS dapat menunjukkan tingkat akumulasi atau transformasi karbohidrat netral melalui aktivitas biosintetik sel pada epididimis (Bansal *et al.*, 2018).

### Sebaran Karbohidrat Asam dan Netral pada Corpus Epididimis Sapi Sumba Ongole (*Bos indicus*)

Sebaran karbohidrat asam menggunakan pewarnaan AB dan karbohidrat netral menggunakan pewarnaan PAS pada corpus epididimis sapi sumba ongole (*Bos indicus*) dapat dilihat pada tabel 2. Reaksi positif sedang (++) pada pewarnaan AB terdapat pada stereosilia, lamina epitel, lamina propria dan reaksi positif lemah (+) terdapat pada lamina muskularis

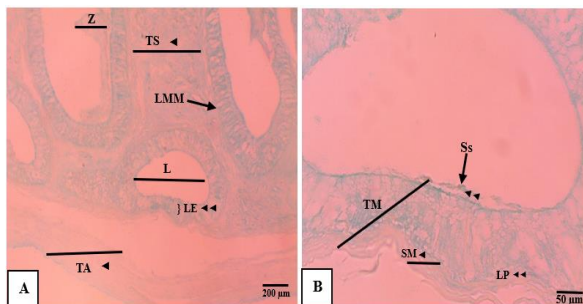
mukosa (lapisan otot polos), tunika submukosa (jaringan ikat), dan tunika albuginea (Gambar 3). Reaksi positif sedang (++) terhadap pewarnaan PAS terdapat pada stereosilia, lamina epitel, lamina propria, lamina muskularis mukosa dan reaksi positif lemah (+) terdapat pada tunika submukosa (jaringan ikat) dan tunika albuginea (Gambar 4).

Bansal *et al.*, (2018) juga menerangkan bahwa stereosilia corpus epididimis kerbau memiliki reaksi positif sedang (++) terhadap pewarnaan AB dan juga memiliki reaksi positif sedang (++) terhadap pewarnaan PAS pada stereosilia, lamina epitel, lamina propria dan lapisan otot polos. Penelitian yang dilakukan oleh Kaur *et al.*, (2022) menyatakan bahwa terdapat mukopolisakarida asam di atas permukaan lamina epitel dan lamina propria di epididimis gajah dengan intensitas sedang. Selain itu, terdapat reaksi positif lemah terhadap pewarnaan AB pada lapisan otot polos corpus epididimis kerbau.

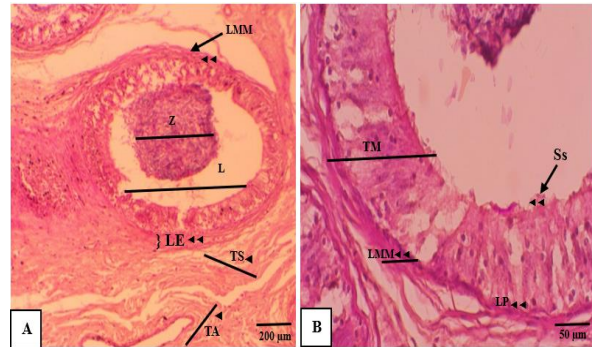
**Tabel 2.** Sebaran dan intensitas reaksi AB dan PAS pada corpus epididimis sapi sumba ongole (*Bos indicus*)

Lapisan	Reaksi AB	Reaksi PAS
Tunika Mukosa		
• Stereosilia	++	++
• Lamina Epitel	++	++
• Lamina Propria	++	++
• Lamina Muskularis Mukosa (Lapisan otot polos)	+	++
Tunika Submukosa (Jaringan Ikat)	+	+
Tunika Albuginea	+	+

Keterangan: (-) = negatif, (+) = lemah, (++) = sedang, (++++) = kuat



**Gambar 3.** Mikrofotografi corpus epididimis sapi sumba ongole (*Bos indicus*). L: lumen, Z: spermatozoa, Ss: stereosilia, LE: Lamina Epitel, LP: lamina propria, LMM: lamina muskularis mukosa (lapisan otot polos), TM: tunika mukosa, TS: tunika submukosa, TA: tunika albuginea. Pewarnaan AB. Intensitas sedang (panah dua) dan intensitas lemah (panah satu). Perbesaran A = 10x, B = 40x.



**Gambar 4.** Mikrofotografi corpus epididimis sapi sumba ongole (*Bos indicus*). L: lumen, Z: spermatozoa, Ss: stereosilia, LE: Lamina Epitel, LP: lamina propria, LMM: lamina muskularis mukosa (lapisan otot polos), TM: tunika mukosa, TA: tunika submukosa, TA: tunika albuginea. Pewarnaan PAS. Intensitas sedang (panah dua) dan intensitas lemah (panah satu). Perbesaran A = 10x, B = 40x.

Kaur *et al* (2008) menjelaskan bahwa karbohidrat yang terdapat pada stereosilia, lamina epitel, lamina propria dan lapisan otot polos bertanggung jawab untuk aktivitas morfogenik pada epididimis. Menurut Scocco *et al.*, (2002), adanya reaksi positif terhadap pewarnaan AB dan PAS terjadi karena adanya kandungan mukopolisakarida. Namun, pewarnaan AB dan PAS hanya dapat mendeteksi karbohidrat asam dan karbohidrat netral secara umum sehingga tidak dapat diketahui jenis karbohidrat asam dan karbohidrat netral secara spesifik.

Tunika submukosa dan tunika albuginea memiliki reaksi positif lemah (+) terhadap pewarnaan AB dan PAS. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Archana *et al.*, (2009) pada epididimis kambing pra pubertas dan pasca pubertas yang memperlihatkan reaksi positif lemah (+) dari pewarnaan alcian blue. Penelitian yang dilakukan Bansal *et al.*, (2018) pada corpus

epididimis kerbau juga menyatakan bahwa tunika submukosa (jaringan ikat) dan tunika albuginea memiliki intensitas pewarnaan PAS yang lemah (+). Kedua tunika tersebut memiliki jumlah karbohidrat asam dan karbohidrat netral yang sedikit karena banyak tersusun dari komponen penyusun jaringan ikat, muskulus, dan pembuluh darah yang dimana memiliki sedikit karbohidrat sesuai dengan aktivitas fungsional selnya yang sedikit (Kaur *et al.*, 2008).

**Sebaran Karbohidrat Asam dan Netral pada Cauda Epididimis Sapi Sumba Ongole (*Bos indicus*)**

Sebaran karbohidrat asam dan karbohidrat netral pada cauda epididimis sapi sumba ongole (*Bos indicus*) dengan pewarnaan AB dan PAS dapat dilihat pada tabel 3. Pewarnaan histokimia menggunakan AB pH 2,5 memperlihatkan reaksi positif sedang (++) pada stereosilia, lamina epitel dan lamina propria dan reaksi positif lemah (+) pada lapisan otot polos, jaringan ikat (tunika submukosa), dan tunika albuginea (Gambar 5). Sedangkan pada pewarnaan PAS memiliki reaksi positif sedang (++) pada tunika mukosa dan reaksi positif lemah pada tunika submukosa dan tunika albuginea (Gambar 6).

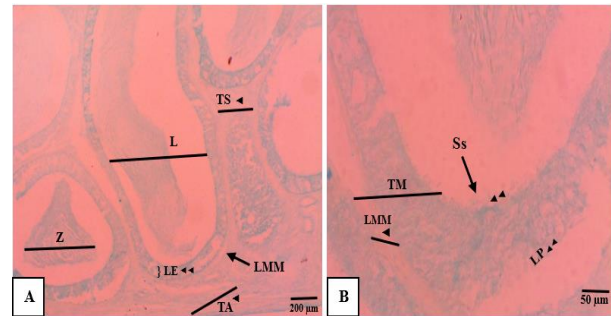
Penelitian yang dilakukan oleh Bansal *et al.*, (2003), Singh *et al.*, (2019) dan Sharma *et al.*, (2021) juga melaporkan bahwa stereosilia, lamina epitel, lamina propria, dan lapisan otot polos juga menunjukkan reaksi positif terhadap pewarnaan AB dengan intensitas lemah hingga sedang. Penelitian pada domba gaddi yang dilakukan oleh Shukla dan Rajput (2021) juga memiliki reaksi positif pada tunika mukosa sedang terhadap pewarnaan PAS yang menunjukkan adanya karbohidrat netral. Fayed *et al.*, (2004) mencatat bahwa adanya kompleks golgi yang berkembang dengan baik di *principal cell* saluran epididimis mendukung kemampuan *principal cell* untuk mensintesis dan mensekresikan protein/glikoprotein di bagian tersebut.

**Tabel 3.** Sebaran dan intensitas reaksi AB dan PAS pada cauda epididimis sapi sumba ongole (*Bos indicus*)

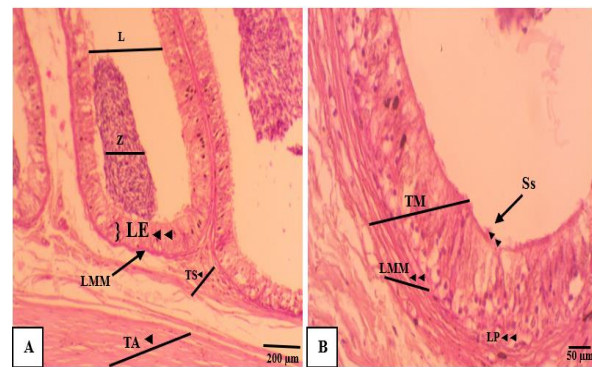
Lapisan	Reaksi AB	Reaksi PAS
Tunika Mukosa		
• Stereosilia	++	++
• Lamina Epitel	++	++

• Lamina Propria	++	++
• Lamina Muskularis Mukosa (Lapisan otot polos)	+	++
Tunika Submukosa (Jaringan Ikat)	+	+
Tunika Albuginea	+	+

Keterangan: (-) = negatif, (+) = lemah, (++) = sedang, (++++) = kuat



**Gambar 5.** Mikrofotografi cauda epididimis sapi sumba ongole (*Bos indicus*). L: lumen, Z: spermatozoa, Ss: stereosilia, LE: Lamina Epitel, LP: lamina propria, LMM: lamina muskularis mukosa (lapisan otot polos), TM: tunika mukosa, TS: tunika submukosa, TA: tunika albuginea. Pewarnaan PAS. Intensitas sedang (panah dua) dan intensitas lemah (panah satu). Perbesaran A = 10x, B = 40x.



**Gambar 6.** Mikrofotografi cauda epididimis sapi sumba ongole (*Bos indicus*). L: lumen, Z: spermatozoa, Ss: stereosilia, LE: Lamina Epitel, LP: lamina propria, LMM: lamina muskularis mukosa (lapisan otot polos), TM: tunika mukosa, TS: tunika submukosa, TA: tunika albuginea. Pewarnaan PAS. Intensitas sedang (panah dua) dan intensitas lemah (panah satu). Perbesaran A = 10x, B = 40x.

Terjadinya variasi distribusi karbohidrat asam dan netral diduga disebabkan oleh proliferasi

berbagai jenis sel yang berkaitan dengan komposisi sel penyusun caput, corpus dan cauda sesuai dengan fungsinya sebagai organ penyalur, pematang, dan penyimpan spermatozoa (Kaur *et al.*, 2008). Selain itu, variasi distribusi karbohidrat asam dan karbohidrat netral tidak dipengaruhi oleh lama fiksasi organ epididimis (Rahmadani, 2018).

#### KESIMPULAN

Sebaran karbohidrat asam pada epididimis sapi sumba ongole (*Bos indicus*) menunjukkan intensitas yang bervariasi. Reaksi positif lemah (+) terhadap pewarnaan AB pH 2,5 terlihat pada lapisan otot polos, jaringan ikat (tunika submukosa), dan tunika albuginea, sedangkan reaksi positif sedang (++) terlihat pada stereosilia, lamina epitel, dan lamina propria.

Sebaran karbohidrat netral pada epididimis sapi sumba ongole (*Bos indicus*) menunjukkan intensitas dari lemah hingga sedang. Reaksi positif lemah (+) terhadap pewarnaan PAS terlihat pada jaringan ikat dan tunika albuginea. Pada lapisan tunika mukosa yaitu stereosilia, lamina epitel, lamina propria, dan lamina muskularis mukosa (lapisan otot polos) menunjukkan reaksi PAS yang sedang (++) . Terjadinya variasi distribusi karbohidrat asam dan netral pada epididimis sapi sumba ongole diduga disebabkan oleh proliferasi berbagai jenis sel dan aktivitas biosintetik sel pada epididimis.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada semua pihak atas arahan dan bantuan selama penelitian berlangsung hingga dapat diselesaikan dengan baik.

#### DAFTAR PUSTAKA

Akmal, M., Siregar, T. N., Wahyuni, S., Hambal, M., Sugito, Amiruddin, Syafruddin, Roslizawaty, Zainuddin, Adam, M., Gholib, Iskandar, C. D., Rinidar, Asmilia, N., Hamny, Joharsyah, dan Suriadi. 2015. Pemberian ekstrak epididimis berpotensi meningkatkan =kualitas spermatozoa kambing jantan lokal. *Jurnal Kedokteran Hewan* 9 (2): 168-173. <https://doi.org/10.21157/j.ked.hewan.v9i2.2839>.

- Archana, Katiyar, R.S., Sharma, D.N. and Farooqui, M.M. 2009. Gerontological studies on the epididymis of Gaddi goat (*Capra hircus*). *Indian Journal of Veterinary Research* 18: 26-32. <https://doi.org/10.4067/s0717-95022009000100002>.
- Bansal, N., Uppal, V. and Roy, K.S. 2003. Histomorphological and micrometrical studies on the epididymis of Indian donkeys. *J. Centaur* 20(2): 36-40.
- Bansal, N., Gupta, A., Virk, V., and Uppal, V. 2018. Seasonal Variation in Distribution of Mucopolysaccharides, Proteins and Lipids in Buffalo Corpus Epididymis Seasonal Variation in Distribution of Mucopolysaccharides, Proteins and Lipids in Buffalo Corpus Epididymis. *Indian Journal of Veterinary Anatomy* 30(2), 126–128. <https://epubs.icar.org.in/index.php/IJVA/article/view/85696>
- Baynes J. W. 2005. Carbohydrate storage and synthesis in liver and muscle. In: Baynes JW, Dominiczak MH, Editor. *Medical Biochemistry*. 2<sup>nd</sup> Philadelphia. Elsevier Mosby, Hlm:157-174.
- Calkins, E., Soodak, M. and Bauer, W. 2015. 'Metabolism and Clinical Significance of the Carbohydrate Components of Connective Tissue'. DOI: 10.1056/NEJM195511172532006
- Elfgren, V., Mietens, A., Mewe, M., Hau, T., and Middendorff, R. 2018. Contractility of the epididymal duct: Function, regulation and potential drug effects. *J. Reproduction*, 156(4), R125–R141. <https://doi.org/10.1530/REP-17-0754>
- Fayed, M. H., Ali, M. A., & Atif, H. 2004. Histological and Histochemical Studies on the Histogenesis of. *Kafr El-Sheikh Vet Med Journal*, 2(2), 129–140.
- Harris S. E., Adriaens I., Leese H. J., Gosden R. G., Picton, H. M. 2007. Carbohydrate metabolism by murine ovarian follicles and oocytes grown in vitro. *Society for Reproduction and Fertility. J. Reprod* 134: 415-424. DOI: 10.1530/REP-07-0061
- James, E. R., Carrell, D. T., Aston, K. I., Jenkins, T. G., Yeste, M., & Salas-Huetos, A. 2020. The role of the epididymis and the contribution of epididymosomes to mammalian reproduction. *International*

- Journal of Molecular Sciences, 21(15), 1–17.  
<https://doi.org/10.3390/ijms21155377>
- Johnson, L., Welsh, T. H., Curley, K. O., Johnston, C. E. 2010. Anatomy and Physiology of the Male Reproductive System and Potential Targets of Toxicants. *Comprehensive Toxicology*, 2nd, 11, pp. 5–59. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-046884-6.01102-7>
- Kaur, M., Bansal, N. and Uppal, V. 2008. Histochemical studies on the testis of buffalo during prenatal life. *Indian Journal of Animal Sciences* 78: 457-460.
- Kaur, V., Uppal, V., Bansal, N., & Gupta, A. 2022. Comparative Seasonal Histomorphochemical Study on Caput and Cauda Epididymis of Buffalo. 34(June), 1–4.
- Kementerian Pertanian Republik Indonesia. 2014. Keputusan Menteri Pertanian Republik Indonesia Nomor 427 Tahun 2014 tentang Penetapan Rumpun Sapi Ongole. Jakarta: Kementrian Pertanian.
- Kiernan, JA. 1990. *Histological and Histochemical Method*. 2nd Edition. Pergamon Press, England.
- Mohamed, A. 2005. Glycohistochemical, Immunohistochemical and Ultrastructural Studies of the Bovine Epididymis.
- Rahmadani, A.F. 2018. 'Pengaruh Lama Fiksasi BNF 10% Dan Metanol Terhadap Gambaran Mikroskopis Jaringan Dengan Pewarnaan HE (Hematoxylin-Eosin)', Universitas Muhammadiyah Semarang, pp. 1–6.
- Rajani, C. V., Ramesh, G. and Vijayaragavan, C. 2002. Histochemical study of the epididymis in rats. 36(2), pp. 106–109.
- Scocco, P., Fgioli O., Ceccarelli, P. and Pedini V., 2002. From conventional to modern histochemistry: way for the fine characterization of secretion glycoconjugates. *J. Embryol.* 107; 3: 43-54.
- Sharma, A., Bansal, N., and Uppal, V. 2021. Histochemical Study on Ductus Epididymidis of Buffalo during Prenatal Life. *Indian Journal of Veterinary Anatomy*, 33(1), 74–76.
- Shukla, P. and Rajput, R. 2019. Histochemical Studies on the Testis and Epididymis of Chamurthi Horse. 58(2), pp. 224–227.
- Shukla, P. and Rajput, R. 2021. Histochemical Studies on the Epididymis of Gaddi Sheep Foetii. *Indian Journal of Small Ruminants*, 27(1), pp. 142–145.  
<http://dx.doi.org/10.5958/0973-9718.2021.00009.x>
- Singh, T. S., Kalita, P. C., Choudhary, O. P., Doley, P. J., and Kalita, A. 2019. Gross Morphological, Histological and Histochemical Studies on the Epididymis of Local Pig (Zovawk) of Mizoram. *Journal of Animal Research* 9(6), 855–861.  
<https://doi.org/10.30954/2277-940x.06.2019.9>
- Sodhi, H., & Panitch, A. 2021. Glycosaminoglycans in tissue engineering: A review. *J. Biomolecules*, 11(1), 1–22.  
<https://doi.org/10.3390/biom11010029>
- Wibawa, A. A. P. P. (2017). Mata Kuliah Biokimia Karbohidrat. Universitas Udayana, 1–51.