

A. **Judul Penelitian**
Produksi Semen Beku Dan Pengembangan Teknik Inse-Minasi Buatan Pada Badak Sumatra Untuk Konservasi Plasma Nutfah Dan Keanekaragaman Hayati

B. **Ketua Peneliti**

- a. Nama Lengkap : Drh. Muhammad Agil, M.Sc.Agr
b. Jenis Kefamin : Laki-laki
c. Pangkat/Golongan/NIP : III/b/ 132 006 129
d. Bidang Keahlian : Comparative Reproductive Endocrinology
e. Fakultas/Jurusan : Fakultas Kedokteran Hewan/Bagian Reproduksi dan Kebidanan
f. Perguruan Tinggi : Institut Pertanian Bogor (IPB)

C. **Tim Peneliti**

No	Nama dan Gelar Akademik	Bidang Keahlian	Fakultas/Jurusan	Perguruan Tinggi
1.	Dr. Iman Supriatna	Biologi Reproduksi	FKH/Jurusan Reproduksi dan Kebidanan	IPB
2.	Dr. Bambang Purwantara, M.Sc	Fisiologi dan Biotek Reproduksi	FKH/Jurusan Reproduksi dan Kebidanan	IPB
3.	Drh. Marcellus Adi C.T. Riyanto	Kurator Badak Sumatra	SRS Way-Kambas	Yayasan SRS

D. **Pendanaan dan Jangka waktu penelitian**

- Jangka waktu penelitian yang diusulkan : 3 tahun
Biaya total yang diusulkan : Rp. 110.000.000,-
Biaya yang disetujui tahun 2002 : Rp. 37.500.000,-

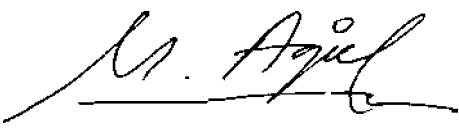
Bogor, 17 Oktober 2002

Ketua Peneliti,

Mengetahui,
A.n. Dekan Fakultas Kedokteran Hewan




Drh. Purnani Paridjo
NIP. 130 350 053

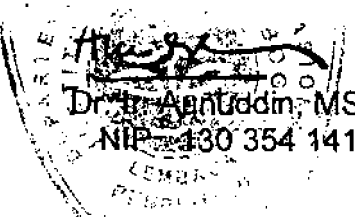


Drh. Muhammad Agil, MSc.Agr
NIP. 132 006 129

Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian



Dr. Annuddin, MSc.
NIP. 130 354 141



SUMMARY

THE FROZEN SEMEN PRODUCTION AND DEVELOPMENT OF ARTIFICIAL INSEMINATION IN THE SUMATRAN RHINO FOR CONSERVATION GERMINAL PLASM AND THE BIODIVERSITY (Muhammad Agil, Iman Supriatna, Bambang Purwantara dan Marcellus Adi C. Triyanto, 2002, viii+25 pages)

Breeding program of the Sumatran rhino does not success, neither in the natural habitat nor in the captivity. Population numbers in their habitat always decline due to the **habitat destruction, illegal hunting and also** because of slow breeding. The only one **born in captivity is "Andalas" from Cincinnati Zoo, USA (born on 13th of September 2001) since the beginning of captive breeding program started in 1985.** Breeding failure is **probably** caused by a) pathological formation in the utery of the **female rhino, b) difficulty in detection of mating time, and c) fertility of the male rhino in captivity is not yet know well.** Therefore, semen collection, freezing and artificial insemination is a new **hope approach** in propagation and conservation of the Sumatran rhino.

Objectives of the second year research programme are including a) the establishment of an appropriate semen collection, freezing and artificial insemination, b) the development of non-invasive monitoring reproductive status in the rhino. Research method is use an explorative method to compare the first year semen collection method with the open artificial vagina (Hannover type). The assessed variables were a) **successful of the semen collection and quality of ejaculate, b) changes and growth of reproductive organ activity. Penile erection was better in the morning stimulation compare to the afternoon.**

Semen collected was same whether it was collected in **the morning or in the afternoon, ejaculation has been obtained about 60% (6/10) and 60% (3/5) respectively.** Although, full penile erection was obtained 80% in the morning but only 60% obtained in the **afternoon.** Complete semen collection method has performed the **best result in obtaining an ejaculation (85,71%) compare to other combination with less than 40%.** After several collection, there was an **improvement of the semen quality (sperm concentration and mophology).** A number of sperm with **proximal cytoplasmic droplet reduced** from 00% to only 5% after several collection. Although, the ejaculation volume did not increase **to reach the maximum volume as in other rhino, maximum volume reached was only 12.4 ml (oligospermia).**

The female rhino (Bina) had a normal ovarian cycle, with USG detected growing follicle and developed dominant follicle (**O 2,0-2,5 cm) and developed corpus luteum (Ø 2,5-3 cm).** Although, there **was a thickness and persistency of hymen founded which blocked intromission of penis.** The dominant follicle was also **matched with the display of interest between male and female.** The oestradiol 17 β profile also increased when she was in **oestrus.** Whilst, the **testosteron profile was not correlated with the oestrus cycle in the female and also not with the day period.**

PRAKATA

Badak Sumatra (*Dicerorhinus sumatrensis*) merupakan spesies badak yang paling terancam punah, sehingga sangat penting untuk dilindungi keberadaan dan kelangsungan hidupnya untuk mempertahankan keanekaragaman hayati kekayaan bangsa Indonesia. Untuk konservasi keanekaragaman hayati maka perlu tindakan baik konservasi *in-situ* maupun *ex-situ*. Usaha-usaha konservasi membutuhkan teknologi konservasi yang didukung oleh iptek terapan. Salah satu iptek terapan di bidang reproduksi yaitu penampungan, pembekuan semen dan inseminasi buatan, serta monitoring status reproduksi pada satwa. Teknik tersebut telah terbukti dapat dipakai dalam pelestarian plasma nutfah ternak bernilai ekonomis dan satwa liar. Teknologi reproduksi terapan tersebut dapat juga dimanfaatkan sebagai alat bantu atau metoda dalam usaha konservasi badak Sumatra yang terancam punah.

Laporan hasil penelitian tahun 2002 ini merupakan informasi dan data penelitian eksploratif untuk mengetahui fertilitas pejantan dan betina melalui pemeriksaan kualitas semen dan fungsi organ reproduksinya. Aplikasi metoda penampungan semen pada badak sebagai dasar metoda biologis untuk mengatasi masalah reproduksi.

Sehubungan dengan telah terlaksananya penelitian di tahun kedua ini, maka patut disampaikan ucapan terima kasih kepada Pimpinan dan staf Proyek Peningkatan dan Pengabdian Pada Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi dan kepada Ketua Lembaga Penelitian IPB. Ucapan terima kasih disampaikan pula kepada Dekan Fakultas Kedokteran Hewan (FKH) dan Ketua Bagian Reproduksi dan Kebidanan yang telah memberi ijin pelaksanaan penelitian dan mendukung pengembangan iptek. Demikian pula kepada teknisi laboratorium di Bagian Reproduksi dan Kebidanan Saudara Bondan Achrnadi dan mahasiswa FKH Dedi Setiadi yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian baik di lapangan maupun di laboratorium, tim peneliti mengucapkan terima kasih. Tidak lupa ucapan terima kasih disampaikan kepada Ketua Yayasan Suaka Rhino Sumatra dan staf yang telah memberikan ijin melakukan penelitian di SRS Way Kambas. Tanpa dukungan dan kerja sama semua pihak, sangat sulit penelitian ini dapat terlaksana.

Bogor, Oktober 2002

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN.....	ii
RINGKASAN DAN SUMMARY.....	iii
PRAKATA.....	v
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
I. PENDAHULUAN.....	1
II. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN TAHUN KE -2.....	2
III. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
IV. METODA PENELITIAN.....	8
V. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	11
VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	24
VII. RENCANA/PENELITIAN TAHAP SELANJUTNYA.....	25
A. TUJUAN.....	25
B. METODE.....	26
C. JADWAL KERJA.....	28
DAFTAR PUSTAKA.....	29
LAMPIRAN.....	32

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Proses penampungan semen dengan vagina buatan system tertutup.....	15
2.	Ejakulat hasil penampungan dengan vagian buatan.....	17
3.	Mikrofotografi spermatozoa badak Sumatra yang belum matang.....	17
4.	Spermatozoa yang memiliki proximal cytoplasmic droplet	18
5.	Mikrofotografi spermatozoa badak yang telah mengalami kematangan	18
6.	Pemeriksaan organ reproduksi dengan USG pada badak betina	20
7.	Uterus Bina (tidak bunting/normal) berdasarkan pemeriksaan USG	21
8.	Hasil pemeriksaan USG pada ovarium Bina yang menunjukkan adanya folikel dan CL	21
9.	Fotografi dinding vagina Bina hasil pemeriksaan dengan endoskopi	22
10.	Profil oestradiol 17p dan perubahan perilaku seksual dan morfologi alat kelamin.....	23
11.	Saat pertemuan antara jantan dan betina menunjukkan ketertarikan seksual.....	24

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
1.	Publikasi dalam Konferensi Ilmiah Veteriner Nasional VIII.....	32
2.	Publikasi dalam "International Elephant and Rhino Research Symposium".....	33

I. PENDAHULUAN

Teknik penampungan dan pembekuan semen serta inseminasi buatan pada badak **Sumatra** merupakan upaya baru dalam usaha konservasi atau penyelamatan populasi satwa tersebut. Pembiakan secara alami di penangkaran telah mengalami kegagalan sejak pertama kali badak **Sumatra ditangkarkan 100 tahun** yang lalu sedangkan populasi di habitat aslinya terus berkurang menuju kepunahan tinggal 300 ekor di seluruh dunia. Hambatan utama pengembangbiakan di penangkaran dikarenakan terbatasnya jumlah pejantan (tinggal 4 ekor, 2 ekor di Malaysia, 1 ekor di Amerika dan 1 ekor di Indonesia) dan hambatan fisik postur tubuh pejantan lebih kecil dari betinanya.

Target khusus penelitian ini adalah: a) perbaikan dan penyederhanaan teknik penampungan dan pembekuan **semen untuk badak Sumatra**, b) pengembangan metoda non-invasif **penentuan** status reproduksi (**fertilitas**) badak jantan dan **betina** dan c) **pengembangan** teknik inseminasi buatan khusus untuk badak Sumatra. Penelitian tersebut terbagi atas dua tahap (**tahun**).

Pada tahap (tahun) pertama kegiatan penelitian meliputi a) penentuan salah satu teknik penampungan semen, b) pemeriksaan kualitas semen segar hasil penampungan c) penentuan fertilitas pejantan dengan teknik ultrasonografi dan analisa hormon dari urin dan feces (metoda non-invasiv). Pada tahun kedua meliputi a) pengembangan metoda penampungan semen, b) penentuan status reproduksi badak betina dan jantan dengan teknik **USG dan metoda analisa** hormon non-invasiv, c) aplikasi metoda pembekuan semen, d) evaluasi viabilitas spermatozoa pascapencairan (post-thawing) dan e) pengembangbiakan teknik inseminasi buatan badak Sumatra. Sampai tahun kedua tujuan penelitian ini belum terpenuhi mengingat keterbatasan dana (hanya mampu mencoba **pada satu jantan** saja) dan hambatan dalam pembuatan **modifikasi** vagina buatan yang tepat **untuk penampungan semen pada badak** Sumatra. Untuk itu diharapkan untuk dapat diperpanjang waktu penelitian satu tahun lagi mengingat adanya kesempatan untuk mencoba **satu jantan di Malaysia** dan baru diperolehnya satu set **modifikasi vagina buatan terbuka (tipe Hannover)**.

Penelitian dilaksanakan di dua lokasi yaitu 1) di Laboratorium Fisiologi Reproduksi dan IB, Laboratorium Kebidanan dan Kemajiran, Bagian reproduksi dan Kebidanan FKH IPB, 2) di *Sumatran Rhino Sanctuary (SRS) Way Kambas*, Lampung. Pada tahun kedua, sempat dilakukan kunjungan ke *Sumatran Rhino Conservation Centre (SRCC)* di Sungai Dusun, Selangor, Malaysia untuk menajajagi kemungkinan menampung semen dari satu jantan yang ada dan sekaligus melakukan pemeriksaan fisik potensi reproduksinya. Hasil yang diharapkan pada tahun kedua adalah:

1. Pengembangan metoda penampungan semen
2. Penentuan status reproduksi badak betina dan jantan dengan teknik USG dan metoda analisa hormon non-invasiv.
3. Aplikasi metoda pembekuan semen
4. Evaluasi viabilitas spermatozoa pascapencairan (post-thawing)
5. Pengembangan teknik inseminasi buatan badak Sumatra.

II. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN TAHUN KE-2

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Melestarikan plasma nutfah satwa yang hampir punah.
2. Pengembangan teknik penampungan, pembekuan semen dan teknik inseminasi buatan yang tepat untuk badak Sumatra.
3. Pengembangan teknik monitoring status reproduksi secara non-invasiv.

Manfaat penelitian yang telah dilakukan adalah:

1. Memberikan kontribusi pada pengembangbiakan badak Sumatra sebagai alternatif dari kawin alam yang selalu gagal.
2. Mengembangkan teknik penampungan, pembekuan semen dan inseminasi buatan yang merupakan inovasi baru untuk pelestarian badak Sumatra.
3. Mengoptimalkan pelestarian plasma nutfah dan mengatasi keterbatasan dalam pengembangbiakan satwa yang hampir punah.

III. TINJAUAN PUSTAKA

3.1 Program Konservasi Badak Sumatra

Populasi badak Sumatra merupakan yang paling kritis hampir punah dibandingkan dengan spesies badak lainnya, badak hitam Afrika terdapat 2.800 ekor, badak putih Afrika 8.465 ekor dan badak India 2000 ekor. Disamping populasi badak Sumatra sangat terancam mencapai kepunahan dengan populasi kurang dari 300 badak juga tingkat penurunannya sangat drastis \pm 50% populasinya telah berkurang dalam 10 tahun terakhir ini (<http://www.rhinos-irf.org/programs/sumatranprograms.html>). Sementara itu program penangkaran yang telah dimulai sejak 100 tahun (satu abad) yang lalu sampai saat ini dinilai gagal karena baru menghasilkan satu anak badak. Setain itu untuk menghasilkan perkawinan yang diikuti dengan kebuntingan sangat sulit diperoleh. Anak badak yang lahir di Cincinnati Zoo (USA) pada 13 September 2001, berasal dari induk yang telah mengalami 20 kali perkawinan dan sembilan kali kegagalan konsepsi. Selain itu dari hasil pemantauan program breeding, badak jantan Torgamba telah melakukan kopulasi dengan badak betina Bina secara sempurna sebanyak empat kali dari tanggal 23 Februari 2002 sampai sekarang. Akan tetapi dari hasil pemeriksaan USG, belum dihasilkan kebunting-an. Berdasarkan pengalaman di Cincinnati Zoo, keberhasilan pengembangbiakan badak adalah merupakan hasil dari observasi dan penelitian yang intensif dari kedua jenis kelamin badak yang fertil. Sehubungan dengan itu observasi dan evaluasi tingkat fertilitas dari badak di Way Kambas merupakan faktor penentu keberhasilan pengembangbiakan untuk mendukung konservasi spesies tersebut.

Program penangkaran badak Sumatra dianggap telah gagal, hampir 50 % populasi mati sampai sekarang tinggal 17 badak terdiri dari 5 jantan dan 12 betina yang tersebar di Indonesia, Malaysia, Amerika dan Inggris. Berdasarkan pengalaman tersebut maka mulai tahun 1997 telah disepakati untuk mulai mengembalikan badak Sumatra yang berasal dari Sumatra dari kebun binatang dan taman safari di seluruh dunia ke Sumatran Rhino Sanctuary (SRS) Way Kambas, Lampung. Lokasi konservasi tersebut merupakan perpaduan kondisi alami habitat aslinya dan upaya minimal manajemen penangkaran (<http://www.rhinos-irf.org/programs/sumatranprograms.html#waykambas>).

Populasi badak Sumatra di penangkaran juga sangat kecil (17 ekor) dibandingkan dengan badak hitam Afrika yang berjumlah 242 ekor, badak putih Afrika 658 ekor dan badak India 130 ekor. Keberhasilan pengembangbiakan secara alami di penangkaran bagi badak lain juga merupakan cerita yang sukses dalam 2 tahun terakhir ditandai dengan kehadiran anak hasil perkawinan alam di penangkaran berjumlah 32 ekor (<http://www.rhinos-irf.org/SSP-TAG-GASP/ssp-tag-gasp.html#husbandry>).

Program pengembangbiakan badak Sumatra baik di Amerika, Malaysia maupun Indonesia sampai saat ini baru menghasilkan satu anak, bahkan akibat tidak tepatnya menyatukan badak jantan dan betina tidak pada saat optimum untuk kawin telah mengakibatkan satu betina terluka parah dan satu mati karena munculnya tingkah laku ganas dari jantan. Sejak tahun 1997 sampai sekarang beberapa kali proses perkawinan badak Sumatra di SRS Way Kambas, Lampung semuanya tidak diikuti dengan keberhasilan intromisi/penetrasi penis ke dalam vagina. Kegagalan tersebut adalah dikarenakan terbatasnya pejantan (hanya 1 ekor) dan keterbatasan kondisi fisik pejantan lebih kecil atau pendek dari betinanya sehingga tidak mampu menunggangi betinanya secara penuh akibatnya tidak dapat melakukan penetrasi (intromisi) penis ke dalam vagina (Riyanto 1999. Personal komunikasi).

Secara umum kegagalan program pengembangbiakan untuk konservasi badak Sumatra adalah karena sangat terbatasnya pengetahuan tentang biologi reproduksi satwa tersebut (Foose 2002a). Sehubungan dengan hal tersebut para ahli dalam bidang biologi reproduksi untuk konservasi badak Sumatra merekomendasikan penelitian dalam bidang a) pengembangan metoda penilaian fertilitas reproduksi baik pada jantan maupun betina, b) penentuan karakteristik reproduksi normal dan abnormal, c) pengembangan metoda penampungan dan prosesing sperma untuk pembekuan dan/atau inseminasi buatan, d) pengembangan metoda inseminasi buatan dan e) pengembangan metoda monitoring aktivitas ovarium dan waktu ovulasi serta monitoring kebuntingan (Fouraker dan Wagener 1996).

3.2 Pendekatan Baru dalam Program Pengembangbiakan Badak

Kawin buatan/inseminasi buatan (IB) merupakan upaya baru dalam usaha pengembangbiakan badak di penangkaran. Pemanfaatan teknik inseminasi buatan pada satwa liar telah berhasil dilakukan pada chimpanzee dan gorilla (Gould *et al.* 1985), marmoset monkeys (Kuederling *et al.* 1996), Przewalski horse (Stover *et al.* 1981), blackbuck (Holt *et al.* 1988) dan eld's deer (Monfort *et al.* 1993). Sementara itu pemanfaatan teknik inseminasi buatan pada badak Sumatra belum berhasil dilakukan baru pada tahap pengembangan teknik penampungan dan pembekuan saja (Schaffer *et al.* 1990; Roth dan O'Brien 1999).

Menurut Morell (1995), keuntungan dari pemanfaatan teknik inseminasi buatan untuk pengembangbiakan satwa liar adalah: a) membantu dalam pengontrolan keanekaragaman genetik, b) pengembangbiakan satwa pada lokasi yang berbeda, c) sperma dapat dimanfaatkan dari donor yang sudah mati, d) sperma dapat dimanfaatkan sejak generasi masih muda belia, e) dapat digunakan pada pengembangbiakan satwa dengan hambatan abnormalitas fisik, f) mencegah penyebaran penyakit, dan g) mengurangi pemeliharaan pejantan.

Pengembangan teknik inseminasi buatan pada badak Sumatra sangat penting untuk menunjang keberhasilan pengembangbiakan satwa tersebut mengingat sangat terbatasnya jumlah pejantan yang tersedia hanya 4 ekor jantan tersebar di Amerika (1), Malaysia (2) dan Indonesia (1), dan kemungkinan mengatasi hambatan fisik pada kawin alam dimana pejantan lebih kecil dari betinanya (Foose 2002b).

3.3 Metoda Penampungan Semen

Teknik penampungan semen sebagai prasyarat untuk pengembangan metoda inseminasi buatan merupakan faktor yang penting untuk menunjang keberhasilan program IB pada satu spesies. Banyak metoda penampungan semen yang biasa dilakukan baik pada hewan domestik maupun hewan liar. Suatu metoda yang dapat digunakan pada satu spesies belum tentu dapat digunakan pada spesies yang lain tergantung pada besar hewan, bentuk organ kelamin jantan, tingkah laku ereksi dan ejakulasi, dan yang paling penting adalah segi keamanan baik bagi operator maupun donor hewannya.

Diantara metoda penampungan semen yang pernah dilaporkan berhasil dikembangkan pada satwa liar adalah a) metoda pembasuhan (Kuederling *et al.*, 1996), b) metoda pemijatan penis (Besurto-Kuba dan Evans 1981), c) elektroejakulasi (Howard *et al.* 1983; Stover *et al.* 1981), d) vagina buatan (Pickett *et al.* 1987) dan e) kombinasi pemijatan penis dan kelenjar aksesori (Schaffer *et al.* 1990). Berdasarkan hasil penelitian pada badak India, badak hitam Afrika dan badak putih Afrika maka metoda penampungan semen yang memberikan hasil ejakulasi cukup baik adalah dengan metoda kombinasi pemijatan kelenjar aksesori dengan pemijatan penis. Metoda tersebut memberikan jumlah ejakulasi yang cukup banyak, jumlah total spermatozoa terbanyak dengan rata-rata motilitas cukup tinggi 50% (Schaffer *et al.* 1990; Platz *et al.* 1979). Sementara itu pada badak Sumatra pernah dicoba dilakukan penampungan dengan metoda pembasuhan vagina (Roth 1999, personal komunikasi).

3.4 Metoda Pembekuan Semen

Pembekuan semen badak belum banyak dilakukan, sangat sedikit yang pernah dilaporkan dengan hasil motilitas setelah *thawing* sangat rendah antara 20-30% dengan metoda pembekuan dalam *pellet* dan *straw* pada badak hitam Afrika (Platz *et al.* 1979; Peachey 1980). Schaffer *et al.* (1990) telah mampu mengembangkan suatu medium pengawet semen untuk mengatasi masalah dalam pembekuan semen badak.

Perkembangan terbaru dalam upaya pembekuan semen badak telah mampu meningkatkan kualitas semen beku setelah *thawing*, yaitu dengan menggunakan glycerol dan DMSO 5% sebagai *cryoprotectants* dan semen dikemas dalam plastik *midi straw* 0,5 ml menghasilkan kualitas spermatozoa setelah *thawing* masih memiliki kualitas lebih besar dari 70% dari karakteristik spermatozoa sebelum dibekukan (Roth dan O'Brien 1999). Sementara itu Taurin (1999, personal komunikasi) menyebutkan bahwa pada pembekuan semen rusa Jawa (*Cervus timorensis*) dan banteng (*Bos javanicus*) telah berhasil dengan menggunakan bahan pengencer madu dimana secara ekonomis lebih murah dibandingkan dengan bahan pengencer standar.

3.5 Metoda Penentuan Status Reproduksi

Ketidakmampuan dalam menentukan status reproduksi dari betina terutama dalam mendeteksi secara tepat waktu optimum estrus dan/atau ovulasi adalah merupakan pembatas dalam mencapai keberhasilan program pengembangbiakan satwa liar, khususnya badak. Pada badak Sumatra yang bersifat soliter di habitat aslinya dan hanya bersama pasangannya pada saat optimum estrus/waktu optimum kawin, sehingga sangat penting mengetahui waktu yang tepat untuk menggabungkan antara betina dan jantan di penangkaran (Heistermann *et al.* 1998). Tanpa didukung pengetahuan tersebut maka upaya menyatukan badak Sumatra betina dan jantan tidak pada waktu optimum estrus/kawin akan menimbulkan interaksi tingkah laku ganas antara keduanya dan telah mengakibatkan kecelakaan yang serius dan pada satu kejadian betinanya mati (Foose 1995). Disamping untuk mendukung keberhasilan pengembangbiakan dengan kawin alam, maka informasi tentang status reproduksi juga sangat penting apabila teknologi reproduksi akan digunakan untuk program pengembangbiakan badak Sumatra di masa depan.

Monitoring reproduksi pada spesies hewan eksotik seperti badak Sumatra dengan mengukur kadar metabolit oestrogen dan progesteron dalam urin dan feces yang dikoleksi secara non-invasif sangat tepat seperti yang telah dilakukan pada satwa liar lainnya mengingat hewan tersebut sangat mudah stres dan sulit untuk dikendalikan (Lasley dan Kirkpatrick 1991; Heistermann *et al.* 1995; Schwarzenberger *et al.* 1996a). Analisa steroid urin dan feces telah mampu memberikan informasi dasar yang sangat bermanfaat tentang karakteristik hormon selama siklus ovarium dan kebuntingan pada badak India (*Rhinoceros unicornis*) (Kassam dan Lasley 1981; Hodges dan Green 1989), begitu juga pada badak hitam Afrika (*Diceros bicornis*) (Hindle *et al.* 1992); Schwarzenberger *et al.* 1993, 1996b) dan badak putih Afrika (*Ceratotherium simum*) (Hindle *et al.* 1992). Sedangkan pada badak Sumatra baru dapat dipastikan keberadaan metabolit oestrogen dalam urin sebagai oestradiol-17 β dan 5 β -pregnanolone sebagai metabolit progesteron utama dalam feces yang keduanya memberikan peluang dilakukan analisa dengan *enzymeimmunoassay* (EIA) untuk mendapatkan

informasi tentang siklus ovarium dan waktu optimum kawin (Heistermann *et al.* 1998). Penentuan status reproduksi atau fertilitas/fungsi testikular pada jantan juga dapat dilakukan dengan pemeriksaan metabolit androgen dalam urin dan feces secara non-invasif (Hodges 1995).

Metoda monitoring status reproduksi juga dapat dilakukan dengan pemanfaatan teknik ultrasonografi (USG) baik untuk memonitor bentuk anatomi organ kelamin betina maupun jantan. Dengan pemanfaatan USG akan didapat gambaran secara langsung status dari organ kelamin sehingga memungkinkan untuk menentukan kemungkinan adanya kelainan (abnormalitas) dari organ kelamin (Schaffer *et al.* 1994). Dengan mengkombinasikan teknik USG dengan analisa hormon maka akan diperoleh gambaran yang lebih akurat tentang status reproduksi setiap individu (Radcliffe *et al.* 1997).

IV. METODA PENELITIAN

4.1 Pengembangan Metoda Penampungan Semen

Penampungan semen akan dilakukan dengan membandingkan antara metoda vagina buatan, pemijatan penis dan kelenjar asesoris atau kombinasi diantaranya untuk mendapatkan metoda yang paling baik bagi bédak Sumatra. Hasil evaluasi dari metoda penampungan yang terbaik tersebut akan digunakan sebagai metoda standar untuk penampungan semen yang akan dibekukan.

Penampungan semen akan dilakukan dengan menggunakan vagina buatan yang dapat digantungkan pada tubuh badak. Alat ini terdiri atas vagina buatan yang terbuat dari karet, dapat diisi dengan air hangat 45°C dan ditiupkan udara agar dapat memberi rangsangan ketegangan pada penis. Modifikasi vagina buatan tersebut dibungkus dengan sarung kain terpal dan digantung pada tubuh bagian belakang badak. **Jumlah pejantan yang ditampung akan ditambah satu dari Malaysia apabila mendapatkan dukungan dana dari lembaga internasional.** Hal tersebut sesuai dengan saran dari tim evaluasi pada saat pemaparan hasil penelitian pada seminar evaluasi.

Pada perjalanan tahun kedua, tim peneliti mendapat input saran dari para ahli dari Jerman dan Amerika yaitu untuk mengembangkan modifikasi vagina buatan sistem terbuka (tipe Hannover) yang biasa digunakan pada Kuda. Melalui kerja sama dengan Balai Teknologi Karet, Departemen Pertanian maka mulai bulan Agustus 2002 telah dicoba untuk membuat modifikasi bagina buatan sistem terbuka.

4.2 Metoda Pembekuan Semen

Protokol acuan yang akan digunakan untuk dikembangkan sebagai metoda standar pada badak Sumatra adalah protokol yang telah digunakan oleh Roth dan O'Brien (1999). Sementara itu sebagai upaya pengembangan metoda pembekuan semen akan digunakan madu sebagai bahan pengencer pengganti dimana secara ekonomis lebih murah dibandingkan dengan menggunakan bahan pengencer standar.

4.3 Koleksi Sampel Urin dan Feces dan Observasi Perilaku Seksual

Untuk analisa metabolit steroid dari urin dan feces pada badak betina akan dilakukan pengumpulan sampel urin dan feces serta pegamatan perubahan perilaku seksual dan perubahan morfologi organ kelamin luar setiap hari. Koleksi sampel dan pengamatan perilaku seksual akan dilakukan selalu pada waktu yang sama setiap hari untuk mendapatkan nilai akurasi data yang baik.

Sedangkan koleksi sampel urin dan feces dari jantan dilakukan tiga kali dalam seminggu, kecuali pada saat periode estrus betina maka pengambilan sampel dilakukan setiap hari. Waktu koleksi sampel juga dilakukan selalu pada waktu yang sama setiap saat.

Sampel urin dan feces yang telah diperoleh harus segera dibekukan dalam freezer ~ -20°C tanpa pengawet sampai saatnya akan dilakukan analisa. Dalam pengumpulan sampel harus diperhatikan agar sampel tidak terkontaminasi antara keduanya maupun kontaminasi terhadap air, sampah pakan, dan lain-lain.

4.4 Analisa Metabolit Steroid Urin dan Feces

Urin sebelum dianalisa akan dihidrolisa dengan glucuronidase, kemudian diekstraksi dengan diethylether. Hasil ekstraksi dilarutkan dalam ethanol absolut dan dilarutkan dalam assay buffer apabila siap dianalisa dengan oestradiol-17 β assay dengan *enzymeimmunoassay* (EIA).

Feces dikeringbekukan (lyofilisasi), kemudian dihaluskan. Serbuk feces yang sudah siap diekstraksi dalam methanol absolut dengan *vortexing* selama 30 menit. Hasil ekstraksi dilarutkan dalam assay buffer apabila siap untuk dianalisa terhadap 5 β -pregnanolone. Persiapan sampel (hidrolisa dan ekstraksi) dan analisa hormon mengacu pada protokol dari Heistermann *et al.* (1998).

Untuk menghitung konsentrasi hormon secara akurat, maka proses persiapan sampel dihitung efisiensinya dengan menggunakan penanda tritium, untuk urin menggunakan ^3H -oestrone-3-glucuronide dan ^3H -progesteron untuk feces.

Sedangkan analisa metabolit androgen dalam urin dan feces badak jantan dilakukan dengan testosteron assay untuk EIA.

4.5 Pemeriksaan Organ Kelamin dengan Ultrasonografi (USG) dan Palpasi per Rektal

Metoda monitoring status reproduksi dilakukan dengan pemanfaatan teknik ultrasonografi (USG) baik untuk memonitor bentuk anatomi organ kelamin betina maupun jantan. Dengan pemanfaatan USG akan didapat gambaran secara langsung status dari organ kelamin sehingga memungkinkan untuk menentukan kemungkinan adanya kelainan (abnormalitas) dari organ kelamin. Dengan mengkombinasikan teknik USG dengan analisa hormon maka akan diperoleh gambaran yang lebih akurat tentang status reproduksi setiap individu.

Dengan teknik palpasi perrektal maka dimungkinkan untuk dapat melokalisir organ kelamin yang akan diperiksa. Sebelum dilakukan pemeriksaan dengan USG biasanya dilakukan palpasi per rektal untuk membersihkan rektum dari feces dan kemudian dilakukan pemeriksaan awal untuk dapat memastikan posisi organ-organ yang akan diperiksa.

V. HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam penelitian tahap kedua (tahun II) dilakukan pemeriksaan andrologis (ekstragenital dan intragenital), beberapa teknik penampungan semen badak Sumatra, pengkajian karakteristik ereksi dan ejakulasi, pemeriksaan kualitas dan evaluasi semen. Penentuan potensi reproduksi atau fertilitas badak jantan dan betina secara klinis menggunakan USG dan secara laboratoris melalui analisa hormon dalam urin dan feses (secara non invasive) telah dilakukan. Dari bulan Desember 2001 sampai dengan akhir Juni 2002 telah dilaksanakan 15 kali penampungan semen badak di Taman Nasional Way Kambas Lampung dan sekaligus pengkajian karakteristik ereksi dan ejakulasi badak (data terlihat pada Tabel 1 dan 2). Penentuan hormon steroid reproduksi dalam urin dan feses (17β -oestradiol, 5β -pregnanolone dan androgen) sebagian masih dianalisa di laboratorium German Primate Center, Goettingen, Jerman.

Pemantauan yang telah dilakukan adalah berupa seminar yang diselenggarakan di Bagian Reproduksi dan Kebidanan, Fakultas Kedokteran hewan IPB dan presentasi hasil penelitian pada forum "*International Elephant and Rhino research Symposium*" di Vienna, Austria serta presentasi di forum "Konferensi Ilmiah Veteriner Nasional VIII" di Mataram, Lombok pada tanggal 8-9 Oktober 2002. Hambatan yang ditemukan adalah sulitnya memperoleh hewan badak jantan dewasa dipenangkaran. Sampai saat ini untuk penelitian hanya tersedia satu ekor badak Sumatra yang telah berumur sekitar 25 tahun. Untuk mengatasi hal ini diusahakan kerjasama/bantuan kemungkinan melakukan penampungan semen badak Sumatra di "*Sumatran Rhino Conservation Centre*" Sungai Dusun, Negara Bagian Selangor, Malaysia.

5.1 Pengembangan Metoda Penampungan Semen

Keberhasilan penampungan semen dari badak Sumatra di SRS Way Kambas, menggunakan beberapa metoda penampungan dapat dilihat pada Tabel 1, 2 dan 3. Untuk memperoleh ejakulasi diperlukan stimulasi libido yang terlihat dengan adanya ereksi penuh dari penis. Stimulasi yang dilakukan dengan beberapa metoda penampungan pada pagi hari dapat membangkitkan ereksi penis secara penuh 80% (8/10) dan pada sore hari 60% (3/5).

Ereksi penuh dari penis dipagi hari secara empiris lebih tinggi dari sore hari, karena gambaran profil testosteron di pagi hari masih tinggi. Meskipun demikian waktu penampungan yang dilakukan pada pagi maupun sore hari memberikan keberhasilan ejakulasi yang sama yaitu pagi 60% (6/10) dan sore 60% (3/5).

Tabel 1. Karakteristik kualitatif ereksi penis dan ejakulasi pada badak saat penampungan semen

No	Tanggal Penampungan	Metoda Penampungan	Reaksi kopulasi			
			Ereksi penuh	Ereksi tidak penuh	Gerakan ejakulasi	Ejakulasi
1.	9/12/01 pagi	MP	+	-	bbp.kali	+
2.	10/12/01 pagi	VB,MP,MKA	+	-	sering	+
3.	10/12/01 sore	VB,MP,MKA	+	-	sering	+
4.	24/1/02 pagi	VB,MP,MKA	-	+	bbp. kali	-
5.	25/1/02 pagi	VB,MP,MKA	+	-	sering	+
6.	26/1/02 sore	VB,MP,MKA	+	-	sering	+
7.	6/3/02 pagi	VB,MP	-	+	bbp. kali	-
8.	6/3/02 sore	MP	-	+	bbp.kali	-
9.	7/3/02 pagi	VB,MP	+	-	sering	+
10.	5/4/02 sore	MP	-	+	bbp. kali	-
11.	6/4/02 pagi	VB/PLG,MP	+	-	sering	-
12.	26/4/02 pagi	VB/PLG,MP, MKA	+	-	sering	+
13.	27/4/02 pagi	VB,MP	+	-	bbp.kali	-
14.	17/5/02 sore	VB/PLG,MP, MKA	+	-	sering	+
15.	18/5/02 pagi	VB,MP	+	-	bbp.kali	+

Keterangan:

- VB : Vagina buatan (terbuat dari karet)
- VB/PLG: Vagina buatan (modifikasi, terbuat dari *plastic glove*)
- MP : Masase penis
- MKA : Masase kelenjar aksesoris
- +
-

Dalam pelaksanaan penampungan dipakai tiga macam kombinasi metoda penampungan. Kelengkapan stimulasi ejakulasi dapat terlihat dari kombinasi rangsangan yang digunakan dalam suatu metoda penampungan. Semakin lengkap rangsangan baik pada penis, kelenjar aksesoris dan adanya suhu dan tekanan pada vagina buatan akan memberikan hasil ejakulasi yang lebih baik dibandingkan dengan metoda yang kurang lengkap jenis rangsangannya. Hal tersebut terbukti dan dapat terlihat pada Tabel 2 yang menunjukkan bahwa kombinasi rangsangan dapat memberikan ejakulat yang lebih baik daripada metoda yang menggunakan rangsangan kurang lengkap. Metoda rangsangan kombinasi VB atau VB/PLG,MP,MKA memberikan 85,71% ejakulasi. Metoda penampungan lainnya yang menggunakan dua macam rangsangan VB atau VB/PLG,MP memberikan hasil ejakulasi 40%, sedangkan rangsangan tunggal dengan masase penis (MP) hanya menghasilkan ejakulasi 33,33%.

Tabel 2. Korelasi antara metoda penampungan dengan keberhasilan ejakulasi

Metoda Penampungan	Jumlah Penampungan (n)	Keberhasilan ejakulasi (n)	Persentase Ejakulasi (%)	Kualitas Semen
VB atau VB/PLG,MP, MKA	7	6	85,71	oligospermia, oligozoospermia, azoospermia, necrospermia
VB atau VB/PLG,MP	5	2	40,00	oligospermia, azoospermia
MP	3	1	33,33	oligospermia, azoospermia
Total	15	9	60,00	

Keterangan:

- VB : Vagina buatan (terbuat dari karet)
- VB/PLG: Vagina buatan (modifikasi, terbuat dari *plastic glove*)
- MP : Masase penis
- MKA : Masase kelenjar aksesoris

Keberhasilan proses ejakulasi dalam penampungan tampak dipengaruhi oleh munculnya fase berahi dari badak betina. Hal itu dapat dilihat pada Tabel 3. Penampungan yang dilakukan menjelang, selama atau sekitar fase berahi tampak menunjukkan libido yang tinggi dari pejantan dan disertai adanya ereksi yang penuh dan keberhasilan ejakulasi. Pada beberapa perlakuan penampungan yang

dilakukan jauh setelah munculnya gejala berahi maka pejantan menunjukkan libido yang rendah dan ereksi yang tidak penuh (penampungan no. 4,7,8, dan 10 pada Tabel 4).

Tabel 3. Hubungan keberhasilan penampungan semen dengan prediksi fase estrus badak betina

No.	Tanggal penampungan	Tanggal prediksi estrus	Reaksi Kopulasi		
			Ereksi penuh	Ereksi tidak penuh	Ejakulasi
1.	9/12/01 sore	11/12	+	-	-
2.	10/12/01 pagi	11/12	+	-	+
3.	10/12/01 sore	11/12	+	-	+
4.	24/1/02 sore	31/1	-	+	-
5.	25/1/02 pagi	31/1	+	-	+
6.	26/1/02 sore	31/1	+	-	+
7.	6/3/02 pagi	23/3	-	+	-
8.	6/3/02 sore	23/3	-	+	-
9.	7/3/02 pagi	23/3	+	-	+
10.	5/4/02 sore	25/4	-	+	-
11.	6/4/02 pagi	25/4	+	-	-
12.	26/4/02 pagi	25/4	+	-	+
13.	27/4/02 pagi	25/4	+	-	-
14.	17/5/02 sore	17/5	+	-	+
15.	18/5/02 pagi	17/5	+	-	+

Pada Tabel 4 ditampilkan kualitas semen segar hasil penampungan. Secara makroskopis, semen badak yang tertampung memiliki volume yang berkisar dari terkecil 1,0 sampai tertinggi 12,4 ml. Ejakulat yang tertampung dengan volume 7,6 ml; 8,0 ml dan 12,4 ml berwarna jernih sampai keruh dengan

konsistensi kental. Sedangkan ejakulat yang tertampung dengan volume 1,0-2,1 ml berwarna keruh sampai krem dengan konsistensi kental. Volume ini masih sangat rendah karena dari hasil penampungan pada badak Afrika dan badak India dapat mencapai 10,0-60,0 ml (Schaffer *et al.* 1990). Berdasar ukuran volume yang ada hasil penampungan pada badak Sumatra dapat dikategorikan oligospermia. Walaupun masih ada kemungkinan, bahwa sperma yang tertampung merupakan fraksi awal yang keluar sebagai ejakulat. Penampungan semen pada badak memerlukan waktu yang cukup lama, karena secara alamiah badak dapat melakukan kopulasi selama 30 menit secara intensif. Penampungan yang dilakukan untuk mendapat sperma dengan berbagai metoda selain memerlukan waktu yang lama, hewannyapun tidak tenang, selalu bergerak sehingga memerlukan tenaga ekstra yang cukup melelahkan. Operator penampung sering mendapat kesulitan untuk menangani badak yang selalu bergerak dan harus selalu siap menghindari kemungkinan serangan balik dari badak. Untuk itu sudah terencana mengembangkan metoda penampungan dengan menggunakan a) vagina buatan modifikasi vagina buatan untuk kuda (tipe Colorado) yang digantungkan pada tubuh badak itu sendiri dan teknik manipulasi masase dengan menggunakan pompa, b) vagina buatan sistem terbuka (tipe Hannover) yang merupakan modifikasi vagina buatan untuk kuda (Busch, *et al.* 1982)



Gambar 1. Proses penampungan semen dengan vagina buatan system tertutup

Tabel 4. Kualitas semen segar badak hasil penampungan

No	Metoda Penampungan	Makroskopis					Mikroskopis		
		Vol. (ml)	Bau	Warna	Konsistensi	pH	Konsentrasi	Morfologis	Ket.
1.	VB,MP, MKA	8,0	khas	jernih keruh	kental	6,97	-	-	azoospermia
2.	VB,MP, MKA	1,2	khas	krem	kental	6,92	2-3 sel/lap.pandang	+ 80% cytoplas micdrop. prox.	grkn. kedpn. lemah
3.	VB,MP, MKA	1,8	khas	putih keruh	kental	6,93	-	-	azoospermia
4.	VB,MP, MKA	1,0	khas	putih krem	kental	6,90	1-2 sel/lap.pandang	+ 50% cytoplas micdrop. prox.	necrospermia
5.	VB,MP	2,1	khas	krem	kental	6,91	2-3 sel/lap.pandang	+ 30% cytoplas micdrop. prox.& dist.	necrospermia
6.	VB,MP	1,5	khas	krem	kental	6,91	4-5 sel/lap.pandang	+ 5% cytoplas micdrop. prox.& dist.	necrospermia
7.	VB/PLG, MP,MK A	12,4	khas	jernih	kental	6,99	-	-	azoospermia
8.	VB/PLG, MP,MK A	7,6	khas	jernih	kental	6,98	-	-	azoospermia

Keterangan:

VB : Vagina buatan (terbuat dari karet)

VB/PLG : Vagina buatan (modifikasi, terbuat dari *plastic glove*)

MP : Masase penis

MKA : Masase kelenjar aksesoris

+ : ada

- : tidak ada



Gambar 2. Ejakulat hasil penampungan dengan vagina buatan

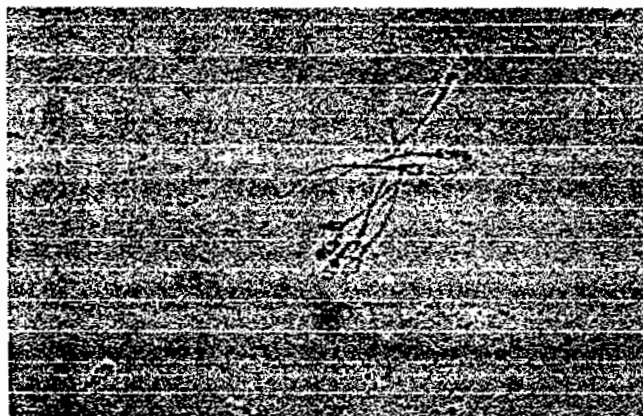
Sperma badak yang tertampung berwarna jernih agak keruh dengan konsistensi kental dan berbau khas. Derajat keasaman (pH) semen berkisar antara 6,90-6,95. Perbandingan pH semen fisiologis yang ada sampai saat ini dengan kerabat terdekat yaitu kuda yaitu sekitar 6,9-7,4 (Hafez, 2000).

Hasil pemeriksaan mikroskopis, di awal pelaksanaan program penampungan semen yang dilakukan pada tanggal 10/12/2001, rata-rata per lapangan pandang terdapat sekitar 1-3 spermatozoa. Motilitas spermatozoa lemah dengan gerakan lambat kedepan. Dari perkiraan kualitatif diperoleh konsentrasi sekitar 50 -150 ribu sel sperma per ml semen. Gambaran morfologi umum menunjukkan masih terlihat adanya *proximal cytoplasmic droplet* pada hampir seluruh spermatozoa (80%). Abnormalitas sperma ditemukan adanya macro- dan microcephalic serta ekor yang putus



Gambar 3. Mikrofotografi spermatozoa badak Sumatra yang belum matang

Gambar 4. Spermatozoa yang memiliki proximal cytoplasmic droplet



Gambar 5. Mikrofotografi spermatozoa badak yang telah mengalami kematangan morfologis

Setelah dilakukan penampungan semen beberapa kali, secara empiris terlihat adanya peningkatan kualitas semen pada parameter konsentrasi dan morfologi spermatozoa. Jumlah sperma meningkat dari rata-rata 1-3 sampai mencapai 4-5 sperma per lapang pandang dengan perkiraan konsentrasi 200-250 ribu sperma per ml. Selain itu ada perbaikan dalam peringkat kematangan sperma. Di awal program masih banyak terlihat sperma yang belum matang yang ditandai dengan adanya sitoplasmik droplet (*proximal cytoplasmic droplet*) sekitar 80% (Gambar 3). Setelah penampungan dilakukan berulang kali, tampak adanya penurunan jumlah

sperma dengan sitoplasmik droplet, dari 80% menjadi 5% dan disertai adanya sperma dengan *distal cytoplasmic droplet* (Gambar 5). Gambaran morfologis ini menunjukkan adanya peningkatan kematangan sperma. Meskipun adanya perbaikan dalam konsentrasi dan morfologi sperma akan tetapi tidak diikuti dengan adanya peningkatan volume ejakulat hasil penampungan. Volume masih bervariasi pada setiap kali penampungan, dari tidak berhasil atau tidak ada ejakulat yang tertampung (aspermia) sampai sekitar 1,0-12,4 ml (volume sedikit, oligospermia).

Analisa kualitas semen tidak dapat dilakukan dengan teknik pewarnaan eosin untuk pengamatan morfologi dan prosentase hidup atau mati. Semen menjadi gel pada saat dicampur dengan eosin untuk pewarnaan. Untuk itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan teknik pewarnaan yang tepat untuk semen badak Sumatra, sehingga evaluasi kualitas semen dapat dilakukan dengan baik.

5.2 Pemeriksaan Organ Reproduksi dengan USG dan Palpasi per Rektal

5.2.1 Pemeriksaan palpasi per rektal alat kelamin jantan bagian dalam (intragenital)

Dalam pemeriksaan bagian dalam alat kelamin badak teraba kelenjar tambahan (*glandulae accesoriae*). Kelenjar ini menghasilkan sekresi yang penting bagi metabolisme spermatozoa. Kelenjar tambahan mengeluarkan sekresi ke dalam urethra dan akan bercampur dengan cairan yang berasal dari testes membentuk plasma semen. Kelenjar tambahan terdiri atas kelenjar ampulla, vesicula seminalis, prostat dan bulbourethralis (cowper). Letak kelenjar ini secara keseluruhan berada di lantai pelvis dalam rongga panggul. Keempat kelenjar tambahan terpalpasi simetri dengan konsistensi kenyal dan elastis.

5.2.2 Pemeriksaan Organ Reproduksi Menggunakan USG

Pemeriksaan organ reproduksi telah dilakukan dengan menggunakan alat ultrasonografi telah banyak dilakukan baik pada hewan domestik maupun satwa liar. Penggunaan USG sebagai alat untuk memonitor fungsi organ kelamin pada badak telah banyak dilakukan pada badak Afrika dan India. Selain digunakan untuk mendiagnosa kebuntingan dini (hari ke 16 atau 20), juga sangat bermanfaat untuk memonitor perkembangan folikel pada ovarium untuk menentukan waktu

yang tepat untuk kawin dan ovulasi. Dengan pemanfaatan alat ini dapat mendukung keberhasilan pengembangbiakan satwa baik dengan kawin alam (untuk menentukan waktu penggabungan antara jantan dan betina) maupun dengan inseminasi buatan (McKinnon, *et al.*, 1988., Roth, *et al.*, 2001 dan Schaeffer, *et al.* 1999).



Gambar 6. Pemeriksaan organ reproduksi dengan USG pada badak betina

Pemeriksaan organ reproduksi dengan USG yang dilakukan menggunakan *transducer (probe)* dengan panjang gelombang 5 MHz (SIUI, China). Pemeriksaan uterus Bina diperoleh gambaran keadaan uterus dalam keadaan normal, tidak terdapat kelainan seperti kista ataupun tumor. Demikian juga pemeriksaan pada ovariumnya diperoleh gambaran adanya aktivitas perkembangan folikel mencapai folikel matang (*follicle de Graaf*) dengan ukuran 2,5 cm dan pembentukan corpus luteum (2,5 cm) dalam siklus reproduksinya. Hal tersebut memberikan harapan bahwa Bina merupakan badak betina yang potensial untuk dapat dikembangbiakan.

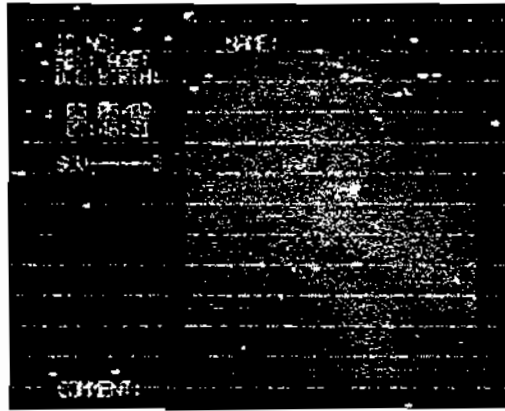


Gambar 7. Uterus Bina (tidak bunting/normal) berdasarkan pemeriksaan USG (cross section)



Gambar 8. Hasil pemeriksaan USG pada ovarium Bina yang menunjukkan adanya folikel (gambar kiri) dan CL(gambar kanan)

Pemeriksaan klinis saluran vagina menggunakan endoskopi dilakukan untuk memastikan ada tidaknya kelainan akibat robeknya selaput dara pada saat perkawinan yang terjadi dengan sempurna untuk pertama kalinya pada tanggal 23 Februari 2002. Dari hasil pemeriksaan ini tampak tidak adanya kelainan yang timbul (lihat Gambar 9), walaupun pada saat perkawinan terjadi perdarahan yang cukup hebat. Hal tersebut menandakan perdarahan tersebut hanya akibat robeknya selaput dara yang cukup tebal, tetapi tidak mengakibatkan kerusakan pada dinding vagina. Dinding vagina terdiri dari lipatan-lipatan berwarna merah muda mengkilap menunjukkan kondisi jaringan vagina dalam keadaan sehat.

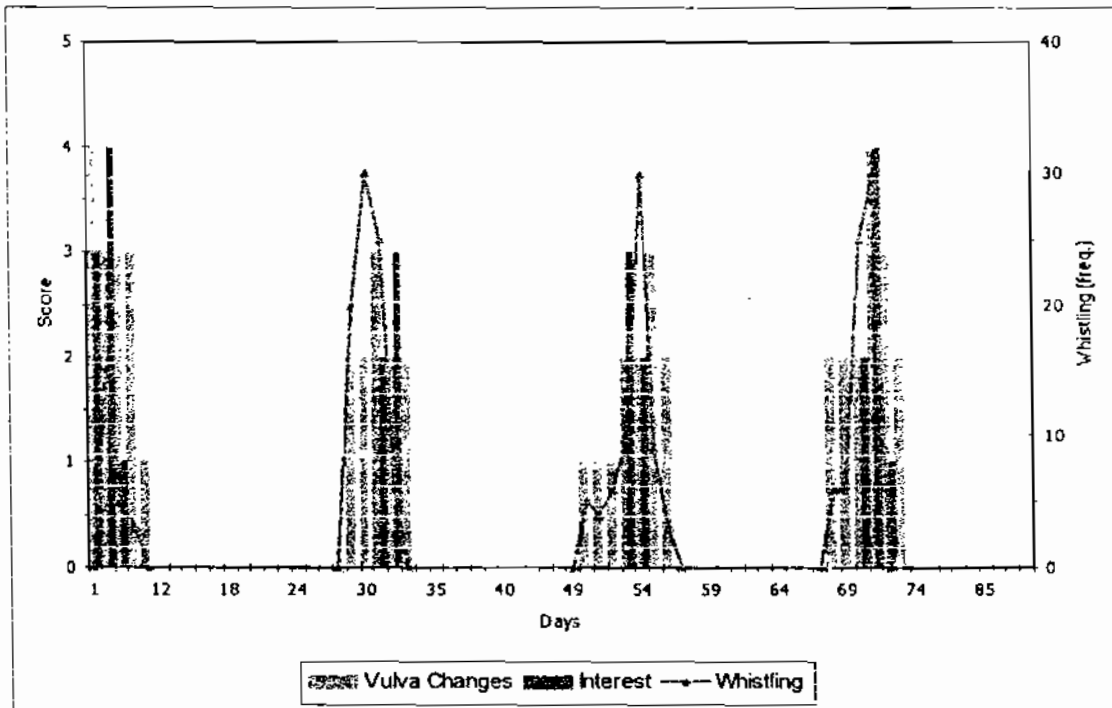
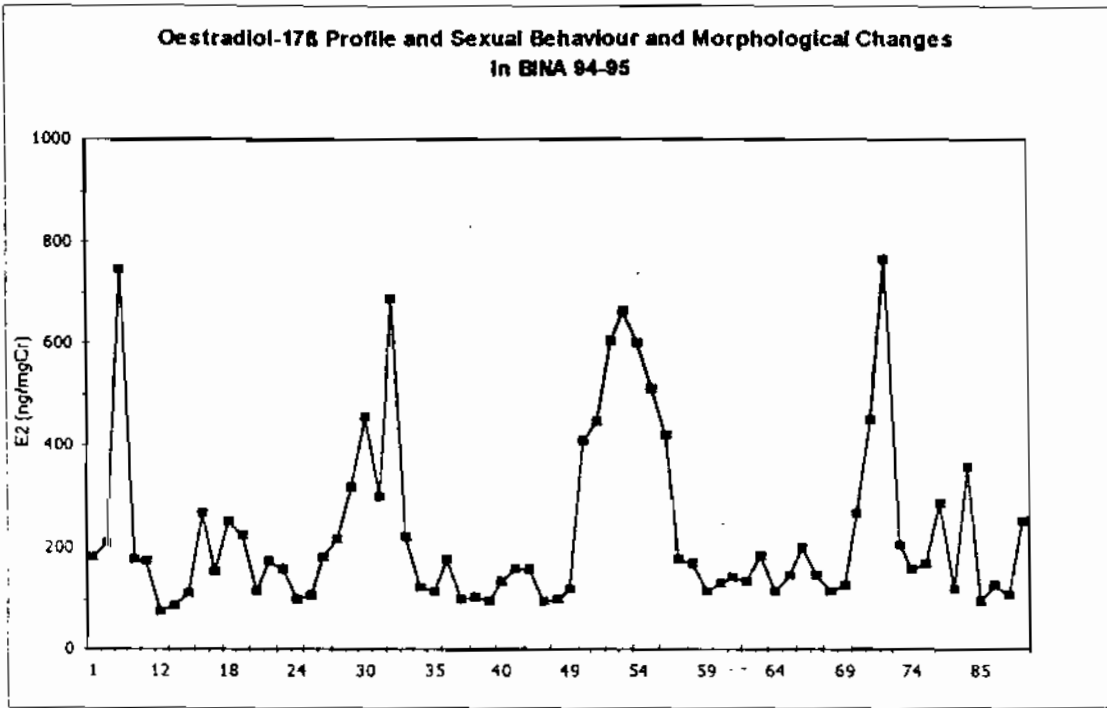


Gambar 9. Fotografis dinding vagina Bina hasil pemeriksaan dengan endoskopi

5.3 Profil Hormon dan Observasi Perubahan Perilaku Seksual

Analisa metabolit steroid telah dilakukan baik untuk sampel dari badak betina maupun jantan. Steroid metabolit yang dianalisa adalah oestradiol 17β dari urin dan pregnanolon dari feces badak betina, sedangkan pada badak jantan telah dianalisa untuk penentuan jenis metabolit androgen baik dari urin dan feces. Tampak dalam sampel baik urin maupun feces metabolit androgen yang dominan adalah testosteron dan epiandrostenedion.

Hasil analisa hormon pada badak betina menunjukkan bahwa siklus estrus berlangsung dengan interval 20 – 25 hari, dan terjadi sepanjang tahun. Konfirmasi dari pengamatan munculnya perilaku seksual (percumbuan dan kawin), tampak bahwa perilaku ketertarikan antara jantan dan betina (lihat Gambar 10 dan 11) lebih tepat dipergunakan sebagai patokan untuk memulai menyatukan antara jantan dan betina untuk kawin. Perilaku ketertarikan jantan dan betina lebih akurat sebagai parameter munculnya oestrus pada betina dibandingkan tanda-tanda yang lain sehingga dapat digunakan sebagai tanda bagi manajemen untuk menghindari munculnya perilaku ganas pada awal percumbuan.



Gambar 10. Profil oestradiol 17 β (atas) dan perubahan perilaku seksual dan morfologi alat kelamin (bawah)



Gambar 11. Saat pertemuan antara jantan dan betina menunjukkan ketertarikan seksual

VI. KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan data terkompilasi dan terbatas hanya dari seekor badak jantan yang dapat digunakan dalam penelitian ini, disimpulkan bahwa:

1. Stimulasi libido badak jantan lebih baik pada pagi dari pada sore hari dan cenderung lebih responsif dilakukan menjelang, selama atau sekitar fase estrus dari badak betina.
2. Penampungan semen yang dilakukan berulang, dalam interval siklus estrus dapat meningkatkan kualitas semen segar pada karakter konsentrasi dan morfologi sperma.
3. Teknik penampungan semen yang dilakukan belum tepat bagi badak Sumatra.
4. Kondisi organ reproduksi badak betina dalam keadaan normal dan memiliki potensi fertilitas yang tinggi.
5. Potensi fertilitas badak jantan belum dapat dipastikan baik secara klinis maupun fisik.

6.2 Saran

Metoda penampungan yang telah dilakukan masih memerlukan pengembangan untuk mendapatkan metoda yang tepat, praktis dan aman bagi operator. Keamanan dan penghematan tenaga operator serta ketenangan dan kenyamanan badak yang akan ditampung merupakan pertimbangan tambahan dalam pengembangan metoda penampungan selain rangsangan. Penggunaan metoda ini akan memberikan durasi penampungan yang lebih lama sesuai dengan kemampuan kopulasi secara alami, sehingga diharapkan dapat memberikan ejakulasi yang sempurna berupa ejakulat yang kaya sperma. Disarankan untuk dapat mengembangkan teknik penampungan semen dengan vagina buatan sistem terbuka (tipe Hannover) dibandingkan vagina buatan sistem tertutup (tipe Colorado).

Pemantauan siklus berahi betina dan potensi fertilitas jantan melalui analisa profil hormonal dan ultrasonografi perlu dilakukan untuk memastikan dan membuktikan waktu terbaik untuk penampungan.

Teknik pewarnaan semen untuk evaluasi kualitas semen perlu dikembangkan sehingga sesuai atau tepat bagi semen badak Sumatra, sehingga diperoleh hasil evaluasi yang tepat dan dapat dipercaya.

VII. RENCANA/PENELITIAN TAHAP SELANJUTNYA

Mengingat adanya kesempatan untuk mendapatkan satu jantan di Malaysia dan tersedianya vagina buatan sistem terbuka (tipe Hannover) maka tim peneliti mengajukan untuk mendapatkan perpanjangan satu tahun sesuai dengan pengajuan proposal awal. Rencana kegiatan penelitian tahun 2003, merupakan rencana kerja yang telah ditargetkan diawal pelaksanaan program dan ditambah dengan kegiatan penelitian yang akan dikerjakan untuk menyelesaikan masalah yang timbul dan berkembang dari penelitian tahun 2002.

A. Tujuan Khusus Penelitian Tahun 2003

1. Mengembangkan metoda penampungan semen yang lebih tepat, praktis dan aman baik bagi operator maupun bagi badak (menguji banding antara teknik penampungan menggunakan vagina buatan sistem terbuka yang merupakan

modifikasi metoda penampungan untuk kuda tipe *Hannover* dengan sistem tertutup untuk kuda tipe *Colorado*)

2. Evaluasi semen segar badak hasil penampungan dengan penekanan pada penentuan metoda pewarnaan sel-sel spermatozoa badak
3. Menentukan status reproduksi badak betina dan jantan dengan teknik USG
4. Penentuan gambar profil hormon reproduksi badak jantan dan betina (metoda *non-invasive*)
5. Menentukan fase estrus badak betina dalam penentuan waktu inseminasi yang tepat.
6. Pengembangan teknik inseminasi buatan badak Sumatra.

B. Metoda Penelitian

1. Pengembangan Metoda Penampungan Semen

Penampungan semen akan dilakukan dengan menggunakan dua metoda yaitu a) vagina buatan system tertutup yang dapat digantungkan pada tubuh badak dan b) vagina buatan dengan system terbuka. Alat ini terdiri atas vagina buatan yang terbuat dari karet, dapat diisi dengan air hangat 45°C. Pada vagina buatan system tertutup dapat ditiupkan udara agar dapat memberi rangsangan ketegangan pada penis. Modifikasi vagina buatan tertutup, dibungkus dengan sarung kain terpal dan digantung pada tubuh bagian belakang badak. Sedangkan vagina buatan sistem terbuka tidak perlu ditiup dan bagian depan penampungan tidak langsung dihubungkan dengan tabung penampung (terbuka).

2. Evaluasi Semen Segar Hasil Penampungan

Semen hasil penampungan segera diperiksa untuk menentukan kualitasnya. Evaluasi semen dilakukan melalui pemeriksaan makro- dan mikroskopis. Parameter kualitas semen yang akan diukur diantaranya secara makroskopis adalah volume, warna, bau, konsistensi dan pH, sedangkan secara mikroskopis yaitu konsentrasi, motilitas, persentase hidup mati dan morfologi sperma.

Dalam pelaksanaan pemeriksaan mikroskopis pada penelitian tahap pertama (tahun 2002) terdapat kesulitan dalam penentuan proporsi antara sperma yang hidup dan mati menggunakan pewarnaan eosin karena semen yang tercampur dengan larutan eosin segera berubah menjadi gel sehingga tidak dapat

diperiksa. Untuk tahap III (tahun 2003) pemeriksaan mikroskopis ditekankan dalam mencari metoda pewarnaan differensial untuk penentuan hidup mati sperma.

3. Koleksi Sampel Urin dan Feces dan Observasi Perilaku Seksual

Untuk analisa metabolit steroid dari urin dan feces pada badak betina akan dilakukan pengumpulan sampel urin dan feces serta pegamatan perubahan perilaku sexual dan perubahan morfologi organ kelamin luar setiap hari. Koleksi sampel dan pengamatan perilaku sexual akan dilakukan selalu pada waktu yang sama setiap hari untuk mendapatkan nilai akurasi data yang baik.

Sedangkan koleksi sampel urin dan feces dari jantan dilakukan tiga kali dalam seminggu, kecuali pada saat periode estrus betina maka pengambilan sampel dilakukan setiap hari. Waktu koleksi sampel juga dilakukan selalu pada waktu yang sama setiap saat.

Sampel urin dan feces yang telah diperoleh harus segera dibekukan dalam freezer ~ -20°C tanpa pengawet sampai saatnya akan dilakukan analisa. Dalam pengumpulan sampel harus diperhatikan agar sampel tidak terkontaminasi antara keduanya maupun kontaminasi terhadap air, sampah pakan, dan lain-lain.

4. Analisa Metabolit Steroid Urin dan Feces

Urin sebelum dianalisa akan dihydrolisa dengan glucuronidase, kemudian diekstraksi dengan diethylether. Hasil ekstraksi dilarutkan dalam ethanol absolut dan dilarutkan dalam assay buffer apabila siap dianalisa dengan oestradiol-17 β assay dengan *enzymeimmunoassay* (EIA).

Feces dikeringbekukan (lyofilisasi), kemudian dihaluskan. Serbuk feces yang sudah siap diekstraksi dalam methanol absolut dengan *vortexing* selama 30 menit. Hasil ekstraksi dilarutkan dalam assay buffer apabila siap untuk dianalisa terhadap 5 β -pregnanolone. Persiapan sampel (hydrolisa dan ekstraksi) dan analisa hormon mengacu pada protokol dari Heistermann *et al* (1998). Untuk menghitung konsentrasi hormon secara akurat, maka proses persiapan sampel dihitung efisiensinya dengan menggunakan penanda tritium, untuk urin menggunakan ³H-oestrone-3-glucuronide dan ³H-progesteron untuk feces.

Sedangkan analisa metabolit androgen dalam urin dan feces badak jantan dilakukan dengan testosteron assay untuk EIA

5. Ultrasonografi (USG)

Metoda monitoring status reproduksi dilakukan dengan pemanfaatan teknik ultrasonografi (USG) baik untuk memonitor bentuk anatomi organ kelamin betina maupun jantan. Dengan pemanfaatan USG akan didapat gambaran secara langsung status dari organ kelamin sehingga memungkinkan untuk menentukan kemungkinan adanya kelainan (abnormalitas) dari organ kelamin. Dengan mengkombinasikan teknik USG dengan analisa hormon maka akan diperoleh gambaran yang lebih akurat tentang status reproduksi setiap individu.

C. Jadwal Kerja

Tabel 7. Uraian kegiatan dan waktu pelaksanaan penelitian

No	Kegiatan	Bulan ke-									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1.	Pencarian literature	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
2.	Penentuan fase estrus	x	x	x	x	x	x	x	x		
3.	Pengambilan sample	x	x	x	x	x	x	x	x		
4.	Analisa hormon		x	x	x	x	x	x	x	x	
5.	USG		x	x	x	x	x	x	x	x	
6.	Pengembangan metoda penampungan	x	x	x	x						
7.	Aplikasi penampungan terbaik (tertutup vs terbuka)					x	x	x	x	x	
8.	Evaluasi semen (pewarnaan diferensial)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
9.	Pengembangan inseminasi						x	x	x	x	
10.	Evaluasi dan analisis data									x	x
11.	Penyusunan dan penggandaan laporan									x	x
12.	Seminar										x

DAFTAR PUSTAKA

- Agil, M. 1995. The Sumatran rhinoceros (*Dicerorhinus sumatrensis*) reproductive biology and methods of assessing reproductive status. Thesis. University of Goettingen, Germany.
- Agil, M., B. Purwantara, M.A.C.T. Riyanto and N.E. Schaffer. 1999. Preliminary reproductive assessment on the Sumatran rhinoceros in SRS Way Kambas, Lampung. (unpublish).
- Basurto-Kuba, V.M. and L.E. Evans. 1981. Comparison of boar semen collected by electroejaculation and the gloved hand technique. *JAVMA*, 178:985-986.
- Busch, W., K. Loehle and W. Peter. 1982. *Kuenstliche Besamung bei Nutztieren*. Ferdinand Enke Verlag. Stuttgart.
- Foose, T.J. 1995. Asian rhinos. Newsletter of the IUCN SSC Asian rhino specialist group. No.1.
- Foose, T.J. 2002a. Website international rhino foundation. <http://www.rhinos-irf.org/programs/sumatranprograms.html>.
- Foose, T.J. 2002b. Website international rhino foundation. <http://www.rhinos-irf.org/programs/sumatranprograms.html#waykambas>.
- Fouraker, M. and T. Wagener. 1997. Website international rhino foundation. <http://www.rhinos-irf.org/SSP-TAG-GASP/ssp-tag-gasp.html#>. husbandry.
- Fouraker, M. and T. Wagener. 1996. *Rhinoceros Husbandry. Resource Manual*. Fort Worth Zoological Park. USA.
- Gould, K.G., D.E. Martin and H. Warner. 1985. Improved method for artificial insemination in the great apes. *Am. J. Primat.* 8:61-67.
- Hafez, E.S.E. 2000. *Reproduction In Farm Animals*. 7th Ed. Lea & Febiger. Philadelphia.
- Heistermann, M., M. Agil, A. Buthe and J.K. Hodges. 1998. Metabolism and excretion of oestradiol-17 β and progesterone in the Sumatran rhinoceros (*Dicerorhinus sumatrensis*). *Anim. Reprod. Sci.* 53:157-172.
- Hodges, J.K. 1995. Reproductive biology and captive propagation: An overview. In: *Research and captive propagation*. Filander Verlag GmbH. Koln.
- Holt, W.V., H.D.M. Moore, R.D. North, T.D., Hartman and J.K. Hodges. 1988. Hormonal and behavioural detection of oestrus in Blackbuck (*Antelope cervicapra*) and successful artificial insemination with fresh and frozen semen. *J. Reprod. Fertil.* 82:717-725.
- Howard, J.G., M. Bush, L. Colby, V. de Vos and D.E. Wildt. 1983. Electro-ejaculation techniques and semen evaluation in rhinoceroses. *AAZPA Proceedings*, 74-75.
- Kuederling, I., J.M. Morrell and P.L. Nayudu. 1996. Collection of semen from marmoset monkeys (*Callithrix jacchus*) for experiment use by vaginal washing. *Laboratory Animals*. 30:260-266.
- McKinnon, A.O., E.L. Squires and R.K. Shideler. 1988. Diagnostic ultrasonography of the mare's reproductive tract. *Equine. Vet. Sci.* 8:329-333.
- Monfort, S.L., G.W. Asher, D.E. Wild, T.C. Wood, M.C. Schiewe, L.R. Williamson, M. Bush and W.F. Rall. 1993. Successful intrauterine insemination of Eld's

- deer (*Cervus eldi thamin*) with frozen-thawed spermatozoa. *J. Reprod. Fert.* 99:459-465.
- Morrell, J.M. 1995. Artificial insemination in non-human primates. In: Gansloser, U., J.K. Hodges and W. Kaufmanns. (eds.). *Research and Captive Propagation*. Filander Verlag GmbH. Koln.
- Peachey, H. 1980. Transport and long-term preservation of semen: A proposal. *AAZPA Proceedings*. 294-301.
- Pickett, B.W., E.L. Squire and A.O. McKinnon. 1987. Physical facilities for stallions, seminal collection, evaluation and insemination of mares. In: *Procedures for Collection, Evaluation and Utilization of Stallion Semen for Artificial Insemination*. Animal Reproduction Laboratory Bulletin, 3. Colorado State University.
- Platz, C., S.W.J., Seager and M. Bush. 1979. Collection and analysis of semen from a black rhinoceros. *JAVMA*. 175(9):1002-1004.
- Radcliffe, R.W., N.M. Czekala and S.A. Osofsky. 1997. Combined serial ultrasonography and fecal progesterin analysis for reproductive evaluation of the female white rhinoceros (*Ceratotherium simum simum*): Preliminary results. *Zoo Biol.* 16:445-456.
- Riyanto, M.A.C.T. 1999. Personal communications. SRS Way Kambas, Lampung.
- Roth, T.L. 1999. Personal communications. Cincinnati Zoo, USA. terri.roth@cincyzoo.org.
- Roth, T.L. and K. O'Brien. 2000. Postcoital semen collection and cryopreservation in the endangered rhinoceros. *Biol. Reprod.*
- Roth, T.L., J.K. O'Brien, M.A. Mc Rae, A.C. Bellen, S.J. Romo, J.L. Kroll., and J.L. Brown. 2001. Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian cycle and early pregnancy in the Sumatran rhinoceros, *Dicerorhinus sumatrensis*. *J. Reprod. Fert.* 121:139-149.
- Schaffer, N.E. and B. Beehler. 1998. Overview of procedures and results of semen collection from ambulatory rhinoceroses. In: *AAZPA Annual Conference Proceedings*. Milwaukee, Wisconsin.
- Schaffer, N.E., B. Beehler, R.S. Jeyendran and B. Balke. 1990. Methods of semen collection in an ambulatory greater one-horned rhinoceros (*Rhinoceros unicornis*). *Zoo Biol.* 9:211-221.
- Schaffer, N.E., Z. Zainal-Zahari, M.S.M. Suri, M.R. Jainudeen and R.S. Jeyendran. 1994. Ultrasonography of the reproductive anatomy in the Sumatran rhinoceros (*Dicerorhinus sumatrensis*). *J. Zoo Wild. Med.* 25(3):337-348.
- Schwarzenberger, F., R. Francke and R. Goeltenboth. 1993. Concentration of faecal progesterin metabolites during the oestrous cycle and pregnancy in the black rhinoceros (*Diceros bicornis michaeli*). *J. Reprod. Fert.* 98:285-291.
- Schwarzenberger, F., E. Moestl., R. Palme and E. Bamberg. 1996a. Faecal steroid analysis for non-invasive monitoring of reproductive status in farm, wild and zoo animals. *Anim. Reprod. Sci.* 42: 515-526.
- Schwarzenberger, F., K. Tomasova, D. Holeckova, B. Matern and E. Moestl. 1996b. Measurement of faecal steroids in the black rhinoceros (*Diceros bicornis*) using group-specific enzyme immunoassays for 20-oxo-pregnanes. *Zoo Biol.* 15:160-171.

- Stover, J., S.W.J. Seager and E.P. Dolensek. 1981. Electroejaculation and semen evaluation of the Przewalski horse (*Equus przewalski*). AAZV Proceedings. 144-145.
- Taurin, M.B. 1999. Personal communication. Division of Reproduction and Obstetrics. FKH IPB. Bogor.

**PRESERVASI SPERMA DAN EVALUASI KESUBURAN BADAK SUMATRA
(*Dicerorhinus sumatrensis*, FISCHER 1814) UNTUK Mendukung
PENGEMBANGBIAKAN DALAM UPAYA PELESTARIAN
KEANEKARAGAMAN HAYATI**

Muhammad Agil, Iman Supriatna, Bambang Purwantara

Bagian Reproduksi dan Kebidanan, Fakultas Kedokteran Hewan-IPB, Jl. Agatis, Kampus IPB Darmaga,
Bogor 16680, INDONESIA, e-mail: rhinogil@indo.net.id

ABSTRAK

Teknik penampungan dan pembekuan semen serta inseminasi buatan pada badak Sumatra merupakan upaya baru dalam usaha konservasi atau penyelamatan populasi satwa tersebut. Metoda penelitian secara eksploratif, dalam menentukan fertilitas badak dan membandingkan tiga macam metoda penampungan yaitu a) kombinasi stimulasi VB atau VB/PLG, MP dan MKA, b) VB atau VB/PLG, MP, c) MP. Parameter yang diukur adalah a) tingkat keberhasilan ejakulasi dan b) karakteristik kualitas semen (makro- dan mikroskopis). Keberhasilan penampungan semen juga ditentukan ada tidaknya korelasi dengan status reproduksi antara badak jantan dengan yang betina. Data dievaluasi dengan metoda analisa deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa badak jantan memiliki alat kelamin lengkap, libido tinggi dan mampu melakukan kopulasi. Metoda penampungan kombinasi stimulasi VB atau VB/PLG, MP dan MKA memberikan hasil terbaik dengan peringkat ejakulasi 85,71%, diikuti secara berurutan metoda VB atau VB/PLG, MP (40%), dan MP (33,33%). Stimulasi yang dilakukan dengan beberapa metoda penampungan pada pagi hari dapat membangkitkan ereksi penis secara penuh 80% (8/10) dan pada sore hari 60% (3/5). Meskipun demikian waktu penampungan yang dilakukan pada pagi maupun sore hari memberikan keberhasilan ejakulasi yang sama yaitu pagi 60% (6/10) dan sore 60% (3/5). Karakteristik semen badak yang dapat tertampung memiliki volume 1-12,4 ml, berwarna jernih kekeruhan sampai keruh-krem, berbau khas dengan konsistensi kental, pH berkisar 6,90-6,99. Secara mikroskopis terlihat 1-3 sperma per lapang pandang (konsentrasi semi kuantitatif sekitar 50-150 ribu sel sperma per ml), motilitas lemah dengan pergerakan lambat kedepan, morfologis sekitar 80% *immature* (*prox. cytoplasmic droplet*) spermatozoa, dengan beberapa abnormalitas di kepala (*macro-, microcephalic*) dan ekor (ekor putus). Kualitas semen meningkat setelah badak mengalami beberapa kali penampungan. Parameter kualitas semen yang meningkat adalah konsentrasi dengan rata-rata sperma per lapang pandang menjadi 4-5 sperma (sekitar 200-250 ribu sperma per ml) dan adanya perbaikan morfologis berupa penurunan peringkat *immature* sperma menjadi 5%.

Kata kunci: badak sumatra, semen, penampungan, konservasi, plasma nutfah

A Program of Managed Breeding for the Sumatran Rhinoceros at the Sumatran Rhino Sanctuary, Way Kambas National Park, Indonesia

Muhammad Agil¹⁾, Marcellus Adi C.T. Riyanto²⁾, Tony Sumampau³⁾ J. Keith Hodges⁴⁾
and Nico J. Van Strien⁵⁾

¹Centre for Life Sciences Study and Faculty of Veterinary Medicine, IPB,
Bogor, Indonesia

²Sumatran Rhino Sanctuary Way Kambas-Lampung, Yayasan Suaka Rhino Sumatera,
Indonesia

³Taman Safari Indonesia (TSI), Bogor, Indonesia

⁴German Primate Centre, Goettingen, Germany

⁵Asian Rhino Specialist Group, International Rhino Foundation
(rhinogil@indo.net.id)

The Sumatran rhinoceros is the most critically endangered of the rhinoceros species with less than 300 individuals estimated to remain in the wild, a decline of more than 50% of the total alive 10 years ago. Furthermore the international effort to establish a managed breeding population for future re-introductions, has had limited success. Since its start in 1985 almost three-quarters of the animals have died and pairing and breeding has been problematic, with only one advanced pregnancy to date (Cincinnati, USA). As part of an effort to improve the chances for propagation by providing a more natural environment and social structure, the Way Kambas Sumatran Rhino Sanctuary (SRS) was founded in 1995. The sanctuary comprises 100 ha of mature secondary rain forest, located within the 125,000 ha Way Kambas National Park, Sumatra, Indonesia. The SRS provides a minimum of 20 Ha of native habitat for each individual and allows mixing and separation of animals as required. The founder animals, 2 females from Indonesian zoos and a male from the UK, arrived in 1998. Recently one of the females, an old and un-reproductive animal, died. The remaining pair is in prime condition and has breeding potential. Animals are monitored continuously during daylight hours, and full-time during the breeding periods, and extensive data on activity patterns, feeding and reproductive behaviour have been collected over the past 3 years. Morphological parameters and faecal and urinary hormone excretion patterns have been used to determine reproductive status of the females. For the latter purposes, a hormone assay laboratory has recently been established at the Centre for Life Sciences Study, Bogor Agricultural University. Initial attempts at non-invasive semen collection have also been carried out. This poster presents the results of 3 years of research and briefly discusses the contribution of the SRS to the conservation efforts for the Sumatran rhino.