

Karakteristik dan komposisi semen kancil (*Tragulus javanicus*) yang dikoleksi dengan elektroejakulator

Wahono Esthi Prasetyaningtyas¹, Mohamad Agus Setiadi² Mokhamad Fahrudin¹, Abdul Wahid Haron³, Srihadi Agungpriyono^{1,4*}

¹Departemen Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi, ²Departemen Klinik Reproduksi dan Kebidanan, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor

³Department of Clinical Studies, ⁴Department of Preclinical Veterinary Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Putra Malaysia, 43400 UPM Serdang, Selangor, Malaysia

ABSTRACT

The ejaculates were taken by electroejaculation from four apparently healthy young adult male lesser mouse deer (*Tragulus javanicus*). The animals were anesthetized with a combination of xylazine and ketamine followed by ether per inhalation anesthesia. The semen was white, yellowish, or creamy in color. The semen had a pH of 7.63 ± 0.22 . The mean values for volume was $19.44 \pm 6.8 \mu\text{l}$, sperm concentration was $47.44 \pm 4.9 \times 10^6$ sperm/ml, percentage of sperm motility was $36.43 \pm 1.1 \%$, percentage of live sperm was $53.11 \pm 3.0 \%$, percentage of abnormal spermatozoa was $21.03 \pm 1.05 \%$ and percentage of intact acrosome was $52.28 \pm 2.7 \%$, respectively. These values were relatively low when compared to other domestic ruminants and suggested to be related with age and sexual maturity of the animal. The seminal plasma contained 10.2–11.5 mg/100ml fructose, 22.07–24.5 mg/100ml citric acid, 65 mg/100ml proteins, 22.07–24.5 mg/100ml sorbitol, 91.1–94.72 mg/100ml sodium, 0.1 mg/100ml potassium, 12.8 mg/100ml calcium, 0.8 mg/100ml magnesium and 10.72–11.2 chloride. By SDS PAGE, eleven proteins with different molecular weight were determined in the seminal plasma. Among them, the proteins with 64.77 kDa and 71.72 kDa were particularly prominent.

Keyword: semen, spermatozoa, ruminansia, reproduksi, *Tragulidae*

PENDAHULUAN

Kancil (*Tragulus javanicus*), merupakan ungulata terkecil di Asia¹. Di Indonesia, kancil merupakan satwa yang dilindungi. Walaupun belum terancam punah tetapi terjadi kecenderungan penurunan populasi karena perusakan habitat dan perburuan serta dimangsa predator.

Upaya konservasi dilakukan baik secara *in situ* di kawasan hutan lindung dan *ex situ* di kebun binatang. Perkembangbiakan kancil di kandang tidak menunjukkan hasil yang baik, hal ini disebabkan karena sifat kancil yang mudah stres juga karena belum banyak diketahui fisiologi reproduksi pada kancil baik jantan maupun betina. Kancil jantan dan betina mencapai kematangan seksual pada umur 5-6 bulan². Kancil yang dipelihara di kandang tidak menunjukkan musim kawin dan dapat beranak sepanjang tahun. Kancil jantan memiliki penis tipe

fibroelastik dengan dua sigmoidea dan mempunyai kelenjar asesori yang relatif kecil³. Kancil betina diketahui mempunyai estrus post partus yang cepat dan coitus dapat terjadi 85 menit setelah betina melahirkan anak⁴. Perilaku seksual kancil di kandang meliputi menjilat urin (*licking*), menandai (*marking*) dan mengeluarkan suara mencicit (*squeaking*)⁴. Untuk memprediksi fertilitas dari kancil jantan dapat dilihat dari kualitas semen yang meliputi nilai-nilai volume, motilitas spermatozoa, konsentrasi dan morfologi⁵. Evaluasi kualitas semen kancil yang diperoleh dengan elektroejakulator telah dilaporkan³, namun penelitian tersebut tidak menganalisa kandungan bahan-bahan dalam semen. Pada penelitian ini dilakukan evaluasi terhadap kualitas semen kancil yang didapatkan dengan elektroejakulator dan analisa terhadap kandungan bahan-bahan yang ada di dalam semen.

BAHAN DAN METODE

Hewan Penelitian

Penelitian ini menggunakan empat ekor kancil (*T. javanicus*) jantan dewasa yang ditandai dengan adanya gigi taring yang memanjang keluar. Kancil ditempatkan pada kandang individual berukuran 115 x 180 x 120 cm³ lalu kandang tersebut ditempatkan pada kandang besar dengan ukuran 1 x 2 m². Pemberian makan dilakukan dua kali per hari dengan berat basah makanan antara 564.11 – 571.56g/hari⁶ berupa irisan kangkung, kacang panjang, wortel, jagung, ubi, selada, bengkoang, kentang, jamur, terong, apel dan pisang. Air minum diberikan secara *ad libitum*.

Penampungan Semen

Semen ditampung dua minggu sekali dengan menggunakan elektroejakulator (Electric Stimulator, Fujihiro Industri Co, Ltd). Penampungan dilakukan pada kancil dalam keadaan teranestesi. Anestesi dilakukan dengan menggunakan kombinasi xylazin (Xylazyl 100®, Troy Lab Pty, Ltd, NSW, Australia; 0,1 mg/kgBB) dan ketamin (Ketavet 100®, Delvet Pty Ltd, NSW, Australia; 11 mg/kgBB) diikuti dengan penggunaan ether (anestesia per inhalasi) untuk menjaga agar hewan tetap teranestesi saat koleksi. Stimulasi listrik dengan voltase rendah diaplikasikan berulang untuk menstimulasi syaraf yang menginervasi organ reproduksi⁷. Pada penelitian ini stimulasi listrik yang digunakan antara 5 – 15 volt selama 5 detik dan dilakukan secara berulang. Semen langsung ditampung pada tube yang telah berisi pengencer karena volume semen yang sangat sedikit sehingga perlu diencerkan sebelum dievaluasi⁷.

Evaluasi Semen

Evaluasi kualitas semen meliputi pengamatan dan pengukuran terhadap volume, pH, warna dan densitas serta pengamatan mikroskopik untuk menentukan konsentrasi, motilitas dan viabilitas. Pengukuran volume semen dilakukan dengan mengambil kembali bahan pengencer sebanyak yang ditambahkan lalu sisanya diukur menggunakan mikropipet. Derajat keasaman (pH) diukur menggunakan kertas pH indikator yang langsung ditempelkan pada uretra bila semen telah keluar. Pengamatan terhadap warna dilakukan langsung pada waktu penampungan sebelum semen dimasukkan ke dalam tabung penampungan dan densitas ditentukan pada saat pengambilan semen menggunakan mikropipet.

Pengamatan secara mikroskopis dilakukan setelah pengenceran. Pengamatan terhadap gerakan individual dilakukan untuk melihat aktivitas gerak progresif spermatozoa per individu. Pengamatan dilakukan dengan cara meneteskan satu tetes semen yang telah diencerkan, kemudian ditutup dengan gelas penutup, lalu diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 40 X. Pengamatan terhadap spermatozoa yang bergerak progresif dilakukan secara subyektif pada sepuluh lapang pandang yang berbeda. Angka yang diberikan berkisar antara 0 sampai 100% dengan skala 5 %⁸.

Penghitungan konsentrasi spermatozoa dilakukan dengan menggunakan hemositometer dengan kamar hitung *Neubauer*. Semen hasil penampungan diambil menggunakan mikropipet, lalu ujung/tip mikropipet yang berisi semen disentuhkan pada sisi gelas penutup dan cairan tersebut dibiarkan mengalir di bawah gelas penutup sampai kamar hitung terisi. Penghitungan pada kamar hitung dilakukan pada 5 kotak. Konsentrasi spermatozoa adalah jumlah spermatozoa yang didapat dikalikan dengan faktor pengenceran dan faktor hemositometer.

$$\text{Konsentrasi} = \text{faktor pengenceran} \times 50.000 \times N \text{ sel/ml.}$$

Penghitungan persentase spermatozoa hidup dan spermatozoa abnormal dilakukan dengan menggunakan pewarnaan eosin 2%⁸ dan sediaan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 40 X. Spermatozoa yang hidup tidak akan menyerap warna sedangkan yang mati akan menunjukkan warna eosin. Beberapa preparat ulas diwarnai dengan metode periodic acid Schiff (PAS) dan Giemsa masing-masing untuk melihat karbohidrat di akrosom dan abnormalitas spermatozoa. Persentase abnormalitas ditentukan dengan cara menghitung spermatozoa yang memiliki bentuk-bentuk yang abnormal. Perhitungan dilakukan sampai 200 sel.

Analisa komposisi kimia plasma semen

Untuk menentukan komposisi kimia plasma semen, yang meliputi kandungan fruktosa, sorbitol dan asam sitrat digunakan metode High Performance Liquid Chromatography (HPLC), sedangkan untuk penentuan kandungan protein, natrium, kalsium, kalium, magnesium dan khlorida digunakan metode Analytical Absorption Spectrophotometry (AAS). Semua uji kimia ini dilakukan di Laboratorium Pengujian Balai Besar Penelitian Pasca Panen Pertanian, Bogor. Untuk menentukan jenis protein

pada plasma semen digunakan metode elektroforesis (SDS PAGE) dan uji dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Biokimia, PAU Hayati Institut Pertanian Bogor

Analisis Data

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksploratif. Data dianalisa secara deskriptif dan konfirmatif dengan variabel yang diukur adalah rata-rata yang didapat dari setiap variabel yang diukur. Hasil yang didapatkan disajikan dengan rata-rata \pm standar deviasi.

HASIL

Metode elektroejakulator dapat digunakan untuk penampungan semen pada kancil namun harus dilakukan pada saat kancil dalam keadaan teranestesi Pada penelitian ini digunakan tegangan listrik antara 5-15 volt dan stimulasi dilakukan secara berulang, sampai terjadi reaksi. Reaksi kancil yang terstimulasi adalah penis yang keluar/ereksi sampai

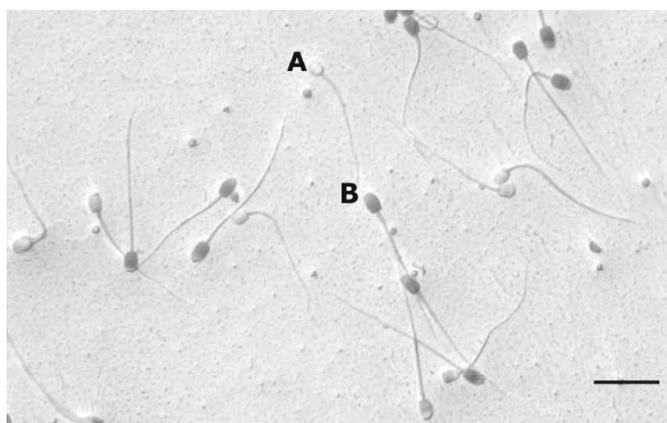
keluarnya semen. Penampungan pada kancil membutuhkan waktu yang berbeda-beda tergantung individu dengan kisaran 10-30 menit. Dari 17 kali penampungan yang dilakukan, ejakulasi terjadi 10 kali. Tiga kali diantara itu diperoleh semen dengan konsentrasi spermatozoa yang sangat rendah sehingga tidak dievaluasi lebih lanjut. Pada beberapa kasus yang lain, rangsangan menghasilkan ereksi namun tidak terjadi ejakulasi.

Semen yang didapatkan memiliki densitas yang kental, dengan warna bervariasi antara putih, krem dan kuning serta mempunyai pH 7.63 ± 0.22 . Volume semen yang didapatkan adalah $19.44 \pm 6.8 \mu\text{l}$ dengan kisaran antara 10 – 30 μl . Konsentrasi spermatozoa sebesar $47.44 \pm 4.9 \times 10^6$ sel/ml, persentase motilitas sebesar $36.43 \pm 1.1 \%$, persentase spermatozoa hidup (Gambar 1) $53.11 \pm 3.0 \%$, persentase abnormalitas (Gambar 2) sebesar $21.03 \pm 1.05 \%$. Hasil evaluasi semen kancil diringkas pada Tabel 1.

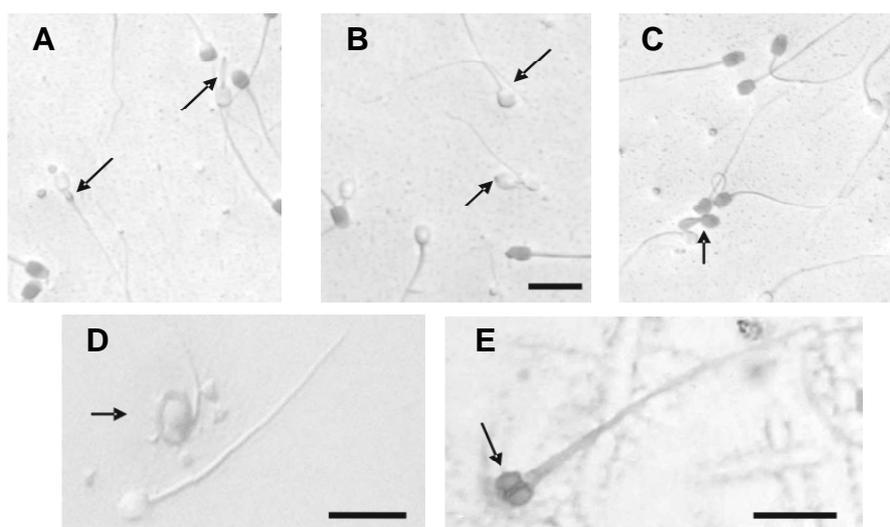
Pada kancil yang merupakan mamalia kecil mempunyai volume plasma semen yang relatif

Tabel 1. Karakteristik semen kancil yang dikoleksi dengan elektroejakutor

No	Karakteristik	Hasil penelitian ini	Haron <i>et al.</i> , 1999
1.	Volume (μl)	19.44 ± 6.8	23.37 ± 2.5
2.	Warna	krem, putih, kuning	Krem, putih, kuning
3.	Derajat keasaman (pH)	7.63 ± 0.22	7-8
4.	Konsistensi	kental	Encer
5.	Konsentrasi (spermatozoa/ml)	$47.44 \pm 4.9 \times 10^6$	$366.9 \pm 127.8 \times 10^6$
6.	Spermatozoa hidup (%)	53.11 ± 3.0	59.6 ± 2.1
7.	Motilitas (%)	36.43 ± 1.1	40.0 ± 3.1
8.	Abnormalitas (%)	21.03 ± 1.05	28.6 ± 8.4



Gambar 1. Sediaan ulas semen kancil memperlihatkan A. spermatozoa hidup yang tidak menyerap warna merah eosin dan B. Spermatozoa mati



Gambar 2. Beberapa bentuk spermatozoa abnormal yang ditemukan pada penelitian ini, A. Spermatozoa dengan ekor yang melingkar dan *sitoplasmic droplet* di proksimal, B. Kepala tanpa ekor dan ekor tanpa kepala, C. Ekor melengkung (*coiled*), D. Ekor melengkung (*coiled*), E. Kepala ganda. A,B,C pewarnaan Eosin 2%, D pewarnaan giemsa, E pewarnaan PAS. Garis skala 10 μ m.

sedikit dibandingkan dengan mamalia besar. Begitu juga dengan konsentrasi komposisi plasma semen dalam jumlah kecil dibandingkan dengan hewan lain (Tabel 2).

Dengan menggunakan metode elektroforesis SDS-PAGE (Gambar 3) dapat diketahui jenis protein yang ditemukan pada plasma semen berdasarkan berat molekulnya (BM). Protein plasma

Tabel 2. Komposisi kimia plasma semen kancil (penelitian ini) dan beberapa hewan (modifikasi dari Garner & Hafez 2000)

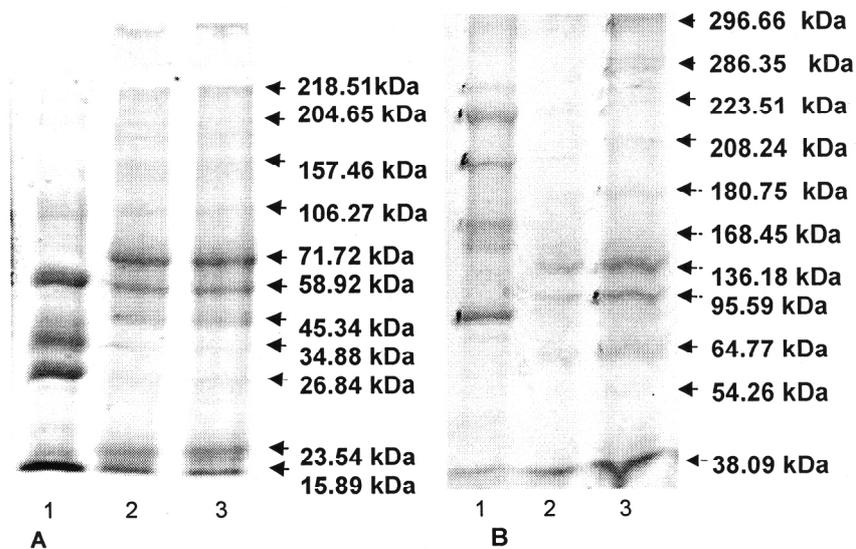
Karakteristik komponen	Kancil	Domba	babi	Kuda	Sapi
	----- mg/100ml -----				
Protein	65	500	370	100	680
Fruktosa	10.2 - 11.5	250	9	2	460-600
Sorbitol	22.07 - 24.5	26-170	6-18	20-60	10-140
Asam sitrat	35.03 -40.12	110-260	173	8-53	620-802
Natrium	91.1 – 94.72	178±11	587	257	225±13
Kalium	0.1	89±4	197	103	155±6
Kalsium	12.8	6±2	6	26	40±2
Magnesium	0.8	6±0.8	5-14	9	8±0.3
Khlorida	10.17 - 11.2	86	260-430	448	174-320

semen kancil yang dipisahkan dengan metode ini dengan menggunakan marker LMW (Low Marker Weight) ditemukan 11 protein dengan kisaran berat molekul antara 15 – 218 kDa, yaitu pada 15.89 kDa, 23.54 kDa, 26.84 kDa, 34.88 kDa, 45.34 kDa, 58.92 kDa, 71.72 kDa, 106.27 kDa, 157.46 kDa, 204.65 kDa dan 218.51 kDa. *Band* terjelas dengan marker ini adalah 71.72 kDa. Dengan Marker HMW (High Marker Weight) juga ditemukan 11 protein dengan berat molekul berkisar antara 38 - 296 kDa, yaitu 38.09 kDa, 54.26 kDa, 64.77 kDa, 95.59 kDa, 136.18 kDa, 180.75 kDa, 168.45 kDa, 296.66 kDa, 208.24

kDa, 223.51 kDa dan 286.35 kDa. *Band* terjelas dengan marker ini adalah 64.77 kDa.

PEMBAHASAN

Koleksi semen dengan elektroejakulator biasa digunakan pada hewan liar dan dilakukan pada hewan dalam keadaan teranestesi. Metode ini dianggap aman dan efektif untuk koleksi semen pada hewan liar⁹. Prinsip pada metode ini adalah melakukan stimulasi listrik dengan voltase rendah dan dilakukan secara berulang pada syaraf yang menginervasi organ reproduksi^{7,10}. Meskipun



Gambar 3. Protein plasma semen yang dipisahkan dengan SDS-PAGE, yang diwarnai dengan commasie blue. A. Marker LMW, B. Marker HMW. Kolom 1: marker LMW dan HMW. Kolom selanjutnya (2,3) plasma semen dengan perbedaan volume yang dielektroforesis

penanganan (restrain) yang relatif susah namun metode ini berhasil dilakukan pada kancil, baik pada penelitian sebelumnya³ maupun pada penelitian ini.

Kualitas semen yang diamati dan dievaluasi dimaksudkan untuk memprediksi fertilitas dari individu. Kualitas semen dipengaruhi oleh spesies, kematangan seksual, diet, manajemen, kemampuan adaptasi pada metode penampungan yang digunakan dan faktor lingkungan yang tepat. Untuk hasil yang optimal faktor lingkungan harus dipersiapkan termasuk diet yang baik, stres yang minimal, menghindari perubahan temperatur dan kelembaban yang ekstrim serta prosedur koleksi yang tepat⁹.

Warna semen yang diperoleh adalah krem, putih dan kuning. Warna semen yang lebih gelap dan semen yang lebih keruh biasanya menunjukkan konsentrasi spermatozoa yang makin bertambah. Sedangkan warna kuning karena adanya pigmen riboflavin namun hal ini tidak mempengaruhi fertilitas⁸ atau juga disebabkan oleh voltase yang terlalu tinggi pada saat koleksi semen dengan elektroejakulator⁷.

Derajat keasaman (pH) sangat mempengaruhi daya hidup spermatozoa. Pada umumnya spermatozoa sangat aktif dan tahan hidup lebih lama pada pH sekitar 7.0⁸. Semen yang ditampung dengan menggunakan elektroejakulator biasanya memiliki pH yang lebih tinggi daripada semen yang ditampung dengan vagina buatan. Hal ini disebabkan antara lain oleh kontaminasi urin atau semen tanpa spermatozoa. Konsistensi atau kekentalan spermatozoa yang

ditampung dengan elektroejakulator dapat bervariasi, encer atau kental. Hal ini kemungkinan karena terjadinya stimulasi pada kelenjar asesoris yang berbeda. Kelenjar bulbouretralis akan mensekresikan produk yang lebih kental sehingga meningkatkan konsistensi semen, sedangkan kelenjar vesikularis mensekresikan lebih banyak air sehingga semen akan lebih encer¹¹.

Volume semen berbeda-beda tergantung individu, spesies, umur, musim, serta frekuensi dan prosedur penampungan¹². Volume semen kancil pada penelitian ini ($19.44 \pm 6.8 \mu\text{l}$) relatif sedikit jika dibandingkan dengan hewan lain seperti sapi (5-8 ml), domba (0.8-1 ml), kuda (60-100 ml), babi (150-200 ml)¹³. Kemungkinan hal ini berhubungan dengan ukuran tubuh kancil yang kecil dan hasil ini mirip dengan penelitian sebelumnya³. Belum diketahui dengan pasti apakah volume yang sedikit ini merupakan salah satu karakteristik semen kancil. Komposisi terbesar dari volume semen berasal dari sekresi kelenjar asesoris kelamin, terutama kelenjar vesikularis¹⁴. Paris *et al.*¹⁵ menyatakan terdapat kaitan yang erat antara volume semen dengan ukuran kelenjar prostat. Kancil memiliki kelenjar asesoris kelamin yang relatif kecil³, namun apakah ini berpengaruh pada volume semen yang diperoleh pada penelitian ini masih perlu dibuktikan pada penelitian selanjutnya. Volume semen yang sedikit dapat ditentukan dengan menggunakan mikropipet⁷.

Dari data yang dirangkum pada Tabel 1, hasil pada penelitian ini, kecuali pada konsentrasi sper-

matozoa, kurang lebih mirip dengan hasil penelitian sebelumnya³. Konsentrasi yang didapatkan pada penelitian ini lebih rendah. Hal ini mungkin disebabkan oleh perbedaan pada usia atau tingkat kematangan seksual hewan yang digunakan, nutrisi, musim dan waktu penampungan. Kancil dikatakan mencapai matang seksual pada umur 5-6 bulan². Kancil yang digunakan pada penelitian ini tidak diketahui umurnya secara pasti tetapi telah memiliki gigi taring yang merupakan ciri kedewasaan dari kancil jantan. Namun dibandingkan dengan kancil yang menunjukkan kematangan seksual gigi taring ini tidak terlalu panjang sehingga mungkin kancil yang digunakan ini masih muda walaupun telah mencapai pubertas. Secara umum, nilai konsentrasi spermatozoa pada kancil lebih rendah dibanding dengan beberapa hewan ruminansia seperti sapi ($800-1.000 \times 10^6$), domba ($2.000-3.000 \times 10^6$), babi ($200-300 \times 10^6$) dan kuda ($150-300 \times 10^6$)¹³.

Kancil diketahui bersifat nokturnal, namun penelitian pada kancil yang dipasang *radiotracking*¹⁶ di habitatnya di hutan Kabili-Sepilok, Sabah (Malaysia), menunjukkan bahwa individu aktif makan dan bergerak sepanjang hari dan inaktif/istirahat pada malam hari. Kancil yang digunakan pada penelitian ini dipelihara di kandang dan menunjukkan lebih aktif makan dan bergerak pada malam hari dibandingkan siang hari. Kemungkinan waktu penampungan yang berbeda akan memberikan hasil yang berbeda. Pada sapi, libido dipengaruhi oleh waktu penampungan¹⁷, penampungan pada malam hari menunjukkan aktivitas seksual dan libido yang lebih baik, sehingga penampungan di malam hari memperoleh hasil lebih baik. Walaupun dari penelitian sebelumnya³ sifat nokturnal tidak mempengaruhi kualitas semen, namun kemampuan adaptasi dari individu berbeda. Penanganan kancil pada waktu penampungan yang menyebabkan stres juga bisa mempengaruhi konsentrasi spermatozoa. Dilaporkan bahwa sapi dapat menjadi steril untuk beberapa minggu karena penanganan yang salah pada waktu penampungan¹⁸.

Pengamatan terhadap motilitas individual spermatozoa didapatkan hasil $36.43 \pm 1.1\%$. Motilitas spermatozoa biasanya digunakan sebagai indikator viabilitas sel, integritas membran dan fungsi metabolisme intrasel. Rendahnya nilai motilitas selain dipicu oleh faktor internal hewan dan tingkat kematangan seksual, juga bisa disebabkan oleh penanganan semen yang salah, misal penurunan suhu yang cepat atau pemanasan hingga suhu 50°C ³. Tidak ada motilitas mungkin berhubungan dengan kerusakan membran atau gangguan metabolisme sel¹⁹. Persentase spermatozoa hidup adalah $53.11 \pm 3.0\%$. Motilitas yang menurun pada spermatozoa yang

hidup berasosiasi dengan menurunnya konsentrasi cAMP intraseluler¹⁹.

Nilai abnormalitas ditentukan berdasarkan jumlah spermatozoa dengan bentuk yang tidak normal. Nilai abnormalitas pada kancil adalah $21.03 \pm 1.05\%$. Nilai ini termasuk rendah dan menunjukkan bahwa lebih banyak spermatozoa dengan bentuk normal pada semen kancil yang diteliti. Spermatozoa yang abnormal dalam konsentrasi tinggi akan mempengaruhi fertilitas²⁰. Berbagai bentuk abnormal yang ditemukan pada semen kancil adalah *sitoplasmic droplets* baik pada proksimal maupun distal, ekor yang bergelung, ekor dan kepala ganda serta kepala atau ekor yang terlepas. Abnormalitas pada sitoplasma dengan *sitoplasmic droplet* berhubungan dengan ketidakseimbangan maturasi spermatozoa atau disfungsi epididimis²⁰ namun *distal droplets* tidak menjadi masalah serius untuk fertilitas normal. Ekor yang bergelung dan ekor ganda merupakan hasil dari proses spermiogenesis²¹. Spermatozoa tanpa kepala atau ekor biasanya terjadi sesudah spermatozoa meninggalkan tubuli seminiferi menuju saluran epididimis saat proses ejakulasi atau dapat juga akibat proses manipulasi ejakulasi termasuk pemanasan atau pendinginan yang terlalu cepat, kontaminasi dengan air atau urin dan sebagainya⁸.

Secara umum, hasil observasi terhadap semen menunjukkan nilai (volume, konsentrasi, persentase spermatozoa hidup, motilitas dan abnormalitas) yang relatif lebih rendah dibandingkan pada hewan ruminansia lain seperti sapi, kambing dan domba. Hal ini kemungkinan adalah khas pada kancil. Namun demikian diduga juga berkaitan erat dengan usia dan kematangan seksual hewan yang digunakan.

Plasma semen tidak dibutuhkan pada saat fertilisasi tapi penting untuk perkawinan alami dimana plasma dibutuhkan sebagai cairan pembawa spermatozoa. Selain sebagai media pembawa (media transport), plasma semen juga menyediakan nutrisi (misalnya fruktosa dan sorbitol) dan faktor pelindung (buffer) untuk menjaga agar semen tetap alkalis selama berada pada cairan vagina yang asam. Plasma semen penting untuk menjaga motilitas spermatozoa sapi dan domba, untuk memperbaiki viabilitas spermatozoa domba dan untuk meningkatkan resistensi spermatozoa babi dari kerusakan membran karena *cold shock*²². Konsentrasi fruktosa pada plasma semen kancil $10.2 - 11.5 \text{ mg}/100\text{ml}$. Dibandingkan dengan sapi dan domba, jumlah ini jauh lebih kecil namun dibandingkan dengan babi dan kuda jumlahnya masih relatif lebih besar. Fruktosa digunakan sebagai sumber energi yang penting pada kondisi anaerob¹³. Selain fruktosa, sorbitol juga digunakan pada kondisi

anaerob. Kandungan sorbitol pada plasma semen kancil 22.07 - 24.5 mg/100ml. Kandungan asam sitrat pada kancil adalah 35.03 - 40.12 mg/100ml. Asam sitrat pada plasma semen diketahui berfungsi sebagai penyanggah (buffer)¹⁸. Kandungan asam sitrat pada sapi, domba dan babi lebih besar sehingga mempunyai kemampuan penyanggah yang lebih baik. Sedangkan pada kuda kandungan asam sitratnya lebih rendah dibandingkan sapi, domba dan babi sehingga kuda tidak mempunyai kemampuan penyanggah yang baik¹⁸. Jumlah asam sitrat pada kancil hampir sama dengan kuda sehingga kemampuan penyanggah plasma semen kancil diduga mirip dengan kuda.

Natrium dan kalsium merupakan unsur mineral anorganik dalam plasma dan berbentuk sebagai kation-kation dalam plasma. Kandungan natrium pada kancil adalah 91.10 – 94.72 mg/100ml dan kalsium 12.8 mg/100ml. Konsentrasi ion klorida adalah 10.17 - 11.2 mg/100ml. Kation ini mungkin berperan dalam metabolisme spermatozoa dan mempertahankan keseimbangan konsentrasi elektrolit–elektrolit¹⁸. Kandungan mineral magnesium adalah 0.8 mg/100ml. Biasanya unsur mineral ini terdapat dalam jumlah yang relatif rendah. Bentuk dan kegunaan belum banyak diketahui, namun mineral ini diduga terlibat sebagai bahan pembentuk enzim¹⁸.

Kandungan protein pada kancil sebesar 65 mg/100ml. Dibandingkan dengan hewan lain jumlah ini relatif lebih kecil. Multi-fungsi protein plasma semen difasilitasi oleh struktur dan mekanisme molekuler²³. Protein dari plasma semen diserap spermatozoa tidak hanya untuk fungsi fertilisasi saja tetapi juga untuk menjaga viabilitas sel. Protein dengan berat molekul 12 – 20 kDa kemungkinan adalah protein dalam kelompok spermadhesin²³. Pada plasma semen kancil dengan menggunakan marker LMW terdapat protein dengan berat 15.89 kDa. Pada plasma semen babi yang memiliki protein dengan berat 26 kDa dan 55 kDa dengan konsentrasi tinggi antara keduanya akan meningkatkan jumlah anak yang lahir (lebih dari 11)²³. Protein dengan berat molekul antara 47 - 57 kDa merupakan β -L-fucosidase pada beberapa organ, pada plasma semen protein ini mempunyai berat 54 kDa²⁴. Protein plasma semen kambing dengan berat molekul kurang lebih 20 kDa akan memperbaiki permeabilitas membran spermatozoa hidup²². *Band* terjelas dengan marker LMW adalah 71.72 kDa sedangkan dengan marker HMW 64.77 kDa. Protein dengan kisaran antara 18 – 95 kDa diidentifikasi oleh Pardesi *et al.*²⁵ sebagai proakrosin/akrosin yang diduga berperan sebagai kunci pada lisisnya zona pelusida.

Pada plasma semen sapi (*Bovine Seminal Plasma* = BSP) protein dengan BM 28-30 kDa berperan dalam kapasitas dimana protein ini akan menginduksi *efluks* (pengeluaran) kolesterol yang menyebabkan hilangnya kolesterol sehingga akan mengurangi fluiditas membran plasma spermatozoa yang merupakan sinyal awal terjadinya kapasitas²⁶. Protein dengan BM ini ini tidak ditemukan pada plasma semen kancil. Sedangkan BSP dengan BM 15-16.5 kDa disekresikan oleh kelenjar vesikularis dan berikatan dengan spermatozoa serta berperan dalam proses kapasitas. Pada plasma semen kancil juga ditemukan protein dengan BM 15.89 kDa. Namun apakah protein ini mempunyai peranan yang sama seperti yang dilaporkan pada sapi masih harus diteliti lebih lanjut. Untuk penentuan jenis protein yang ada plasma semen kancil masih diperlukan penelitian lanjutan misalnya dengan prosedur immunobloting.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dibiayai oleh proyek Hibah Bersaing XII (No : 010/ P4T/ DPPM/ PHBXII/ III/2004) dari Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional untuk SA.

KEPUSTAKAAN

1. Lekagul B, McNelly JA. Mammals of Thailand. The Association for the Conservation of Wild Life. Bangkok 1977.
2. Strawder N. *Tragulus javanicus* (lesser mouse-deer). The University of Michigan of Zoology 2004.
3. Haron AW, Yong M, Zainudin ZZ. Evaluation of Semen Collected by Electroejaculation from Captive lesser Mouse Deer Malay Chevrotain (*Tragulus javanicus*). J of Zoo and Wild Med 1999; 31(2) : 164-167.
4. Ralls K, Barasch C, Minkowski K. Behavior of Captive Mouse Deer, *Tragulus napu*. Z. Tierpsychol 1975; 37:356-378.
5. Durrant BS. Semen Collection, Evaluation and Cryopreservation in Exotic Animal Species: Maximizing Reproductive Potensial. ILAR. J. 1990; 32(1).
6. Jumaliah N. Pola Perilaku, Estimasi Kuantitatif Konsumsi dan Daya Cerna Kancil (*Tragulus javanicus*) terhadap Pakan di Kebun Binatang Ragunan Jakarta, (Tesis) Bogor : Program Pascasarjana, IPB. 1999.
7. Axner E, Linde-Forsbeg C. Semen Collection and Assesment, and Artificial Inseminatin in the Cat. Recent Advances in Small Animal Reproduction 2002. www.ivis.org.
8. Toelihere MR. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Angkasa. Bandung. 1979.
9. Valle RR, Guimarães MABV, Muniz JAPC, Barnabe RC, Vale WG. Collection and Evaluation of Semen

- from Captive Howler Monkey (*Aloutta caraya*). *Theriogenology* 2004; 62:131-138.
10. Watson PF. A Review of Techniques of Semen Collection in Mammals. *Symp. Zoo. Soc. Lond.* 1978; 43: 97-126.
 11. Kitiyanant Y, Schmidt MJ, Pavasuthipaisit K. Evaluation of Sperm Acrosome Reaction in the Asiatic Elephant. *Theriogenology* 2000; 888-896.
 12. Takahashi T. Artificial Insemination Manual for Cattle, Part II. Association of Livestock Technology. 1992.
 13. Garner DL, Hafez ESE. Spermatozoa and Seminal Plasma. In : Hafez B, Hafez ESE, editors. *Reproduction in Farm Animals*. Ed ke-7. South Carolina : Lippincott Williams & Wilkins, 2000; 96-109.
 14. Senger PL. *Pathways to Pregnancy and Parturition*. Washington: Current Conception, Inc. 1997.
 15. Paris DB, Taggart DA, Shaw G, Temple-Smith PD, Renfree MB. Changes in the Semen Quality and Morphology of Reproductive Tract of the Male Tammar Wallaby Parallel Seasonal Breeding Activity in the Female. *Reproduction* 2005; 130:367-378.
 16. Matsubayashi H, Bosi E, Kohshima S. Activity and Habitat Use of Lesser Mouse Deer (*Tragulus javanicus*). *J Mammal* 2002.; 84(1) : 234-242.
 17. Yates JH, Chandler JE, Anita LC, Paul JB. The Effect of Nocturnal Sampling on Semen Quality and the Efficiency of Collection in Bovine Species. *Theriogenology* 2003; 60:1665-1677.
 18. Salisbury GW, VanDemark NL. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi*. R. Djanuar, Penerjemah. Yogyakarta : Gadjah Mada University Pr. 1985.
 19. Althouse GC, Hopkins SM. Assessment of Boar sperm Viability Using Combination of Two Fluorophores. *Theriogenology* 1995; 43:595-603.
 20. Roca J, Martinez E, Sanches-Valverde MA, Ruiz S, JM Vasquez. Seasonal Variation of Semen Quality in Male Goats: Study of Sperm Abnormalities. *Theriogenology* 1992; 38:115-125.
 21. Johnston MD, McGowan MR, Carrick FN, Cameron RDA, Tribe A. Seminal Characteristic and Spermatozoa Morphology of Captive Queensland Koalas (*Phascolaretos cinereus adustus*). *Theriogenology* 1994; 47: 501-561.
 22. Barrios B, Pérez-Pé R, Gallego M, Tato A, Osada J, Muiño-Blanco T, Cerebian- Pérez JA. Seminal Plasma Proteins Revert the Cold-Shock Damage on Ram Sperm Membrane. *Biol Reprod* 2000; 63:531-1537.
 23. Strzezek J, Saiz-Cidnha F, Wysocki P, Tyszkiewicz A, Jastrzebski M. Seminal Plasma Protein as Marker of Biological Value of Boar Semen. *Anim Sci Papers and Reports* 2002; 20:255-266.
 24. Khunsook S, Alhadeff JA, Bean BS. Purification and Characterization of Human Seminal Plasma α -L-Fucosidase. *Mol Hum Reprod* 2002; 8:221-227.
 25. Pardesi SR, Dandekar SP, Jamdar SN, Harikumar P. Identification and Purification of an Aspartic Proteinase from Human Semen. *Indian J of Clinical Biochem* 2004; 19:84-92.
 26. Thérien I, Moreau R, Manjunath P. Major Protein of Bovine Seminal Plasma and High-Density Lipoprotein Induce Cholesterol Efflux from Epididymal Sperm. *Biol Reprod* 1998; 59:768-776.