

**KUALITAS KRIOPRESERVASI SEMEN RUSA BAWEAN
{*Axis kuhlii* (Temminck, 1836)} HASIL PENANGKARAN*
[Quality of Cryopreserved Semen of Captive Bawean Deer
{*Axis kuhlii* (Temminck, 1836)}]**

Wiradateti¹✉, R Taufiq P Nugraha¹, G Semiadi¹, SK Widyastuti² dan Yulianto¹

¹Pusat Penelitian Biologi-LIPI, Jln Raya Jakarta-Bogor KM 46 Cibinong;

²Fakultas Kedokteran Hewan-Universitas Udayana, Bali;

E-mail: teti_mzb@yahoo.com

ABSTRACT

Bawean Deer (*Axis kuhlii* (Temminck, 1836)) is an endemic deer species from Bawean island, Indonesia. Under the National Protection act, the species is listed as protected and in the IUCN is categorized as Critically Endangered. In order to maintain the existence of these species, wildlife conservation of germplasm is needed through development of technique of sperm cryopreservation for Bawean deer semen. The sperm were collected from captive animals in Station for Beef Cattle Research Center, Ministry of Agriculture, at Grati, Pasuruan, which consisted of two adult males and two sub-adult males. The research objective was to determine the quality and quantity of preserved sperm from captive deer Bawean in the form of frozen semen for conservation needs and further usage. Prior to sperm collections, the animal was anesthetized with mixture of xylazine and ketamin. Sperm was then collected by an electroejaculator using a 2-cm probe diameter and 17 cm of length. Extender solution used was tris glycerol. The semen was able to be collected only from two adult stags with sperm motility of 50-60% and sperm concentration was in the range of 500-1140 x 10⁶sel/ml. This study suggested the need for monitoring the development of sperm in relation to antler development.

Key words: Bawean Deer, *Axis kuhlii* (Temminck, 1836), sperm, cryopreservation.

ABSTRAK

Rusa Bawean (*Axis kuhlii* (Temminck, 1836)) adalah jenis rusa endemik untuk Pulau Bawean, dengan status dilindungi dan dalam IUCN termasuk kategori *Critically Endangered*. Guna mempertahankan keberadaan satwa ini perlu dilakukan berbagai upaya konservasi, salah satunya adalah konservasi plasma nutfah melalui pembekuan semen (kryopreservasi). Penelitian kryopreservasi pada rusa Bawean dilakukan di penangkaran rusa di Loka Sapi Potong, Badan Penelitian Pengembangan Pertanian, Kementerian Pertanian, Grati, Pasuruan, menggunakan dua ekor jantan dewasa dan dua ekor jantan remaja. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui kualitas dan kuantitas sperma rusa Bawean hasil penangkaran berdasarkan kelompok umur untuk dapat disimpan dalam bentuk semen beku guna kepentingan konservasi dan pemanfaatan penelitian dimasa datang. Penampungan sperma didahului dengan pembiusan total menggunakan campuran xylazine dan ketamin. Koleksi sperma dilakukan menggunakan alat elektroejakulator dengan ukuran probe diameter 2 cm dan panjang 17 cm. Larutan extender yang digunakan adalah Tris Glucose Egg Yolk. Hasil penelitian hanya memperoleh semen dari dua pejantan dewasa dengan rata-rata motilitas sperma adalah 50-60% dan konsentrasi sperma 500-1140 x 10⁶sel/ml. Hasil studi menyarankan perlunya pemantauan perkembangan sperma sejalan dengan pertumbuhan ranggah.

PENDAHULUAN

Rusa Bawean (*Axis kuhlii* (Temminck, 1836)) merupakan rusa endemik Pulau Bawean, Kabupaten Gresik yang termasuk dilindungi oleh Undang-Undang Republik Indonesia. Dalam catatan IUCN rusa ini diklasifikasikan sebagai Genting, *Critically Endangered* (Semiadi *et al.*, 2013). Selain itu dalam CITES jenis ini masuk dalam Appendix I (CITES, 2013).

Rusa ini merupakan satu-satunya rusa tropis yang mempunyai daerah penyebaran yang sangat terbatas dan sempit (90 km²) (Blouch dan Atmosoedirdjo, 1978) dan sebagian besar habitatnya berada dalam kawasan Suaka Margsatwa P. Bawean seluas 3.831,6 ha. Populasi di alam tampaknya

berada pada tingkat yang stabil, berkisar antara 300-400 ekor (Blouch dan Atmosoedirdjo, 1987). Sedangkan jumlah populasi yang berada di penangkaran milik masyarakat maupun lembaga swasta diperkirakan tidak lebih dari 100 ekor (Semiadi 2012, data tidak dipublikasi). Rendahnya populasi di tingkat penangkaran umumnya dikarenakan pemeliharaan yang sudah tidak terlalu fokus dikarenakan adanya perubahan kepemilikan/perawat yang sering menyebabkan terabaikannya standar pemeliharaan yang terbaik.

Meskipun telah tersedia beberapa penangkaran Rusa Bawean, namun hingga kini upaya ke arah konservasi melalui kryopreservasi belum dilakukan. Pentingnya upaya konservasi ini adalah untuk

*Diterima: 17 September 2013 - Disetujui: 18 November 2013

mengembangkan model penyelamatan melalui koleksi materi biologi seperti sperma untuk penyimpanan jangka waktu yang sangat lama. Namun sebelum sampai pada tujuan tersebut, pengembangan standar larutan extender perlu diuji untuk kesesuaian sifat spesifik sperma sesuai jenis satwanya. Larutan *extender* adalah bahan pengencer yang digunakan di dalam proses kryopreservasi untuk mempertahankan kelangsungan hidup sperma. Bahan pengencer (larutan *cryoprotectant*) terdiri dari tiga bagian yaitu bahan dasar seperti kuning telur, susu skim, glukosa, fruktosa, laktosa sebagai sumber energi; bahan penyanggah seperti tris, asam sitrat, natrium kalium bikarbonat untuk melindungi sperma terhadap kerusakan akibat pendinginan, perubahan pH, mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit; bahan tambahan seperti antibiotika untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Toelihere, 1985; Hafez dan Hafez, 2000). Penggunaan bahan pengencer yang digunakan di dalam pembekuan semen bervariasi diantara species mamalia karena setiap semen hewan memiliki daya toleransi yang berbeda-beda terhadap jenis bahan pengencer seperti semen sapi lebih cocok menggunakan bahan dasar susu skim (Vishwanath dan Shannon, 2000). Sedangkan krioprotektan adalah zat kimia nonelektrolit yang berperan di dalam mengurangi pengaruh mematikan selama pembekuan baik dari larutan maupun adanya pembentukan kristal es sehingga viabilitas sel dapat dipertahankan. Beberapa jenis krioprotektan yang digunakan dalam pembekuan adalah gliserol, DMSO dan propanadiol, manosa dsbnya. Pada pembekuan semen mamalia paling banyak digunakan gliserol. Gliserol dapat berdifusi lebih cepat, melenturkan membrane sel dan mampu merubah Kristal es berukuran besar dan tajam (Supriatna dan Pasaribu, 1992; Amann, 1999).

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui kualitas pembekuan semen hasil kriopreservasi semen Rusa Bawean dengan menggunakan extender *tris glucose egg yolk* (TGEY) dan krioprotektan glycerol. Hasil penelitian ini diharapkan bermanfaat pada pelestarian Rusa Bawean.

BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian dilakukan pada kelompok Rusa Bawean (*Axis kuhlii*) yang berada di Loka Sapi Potong, Kementerian Pertanian, Grati, Pasuruan, di bulan Perbruari 2012. Rusa ditempatkan pada kandang terbuka yang terbagi atas tiga partisi dengan luasan total 150 m², dengan jumlah rusa 4 jantan, 8 anakan dan 14 betina. Pemberian pakan dilakukan pagi hari terdiri dari hijauan campuran antara daun dan dahan muda lamtoro (*Leucaena leucocephala*) dengan rumput gajah muda utuh (*Panicum maximum*). Air minum diberikan secara *ad-libitum*.

Koleksi sperma hanya dilakukan pada dua ekor jantan dewasa dan dua jantan remaja, karena keterbatasan pejantan. Perlakuan pembiusan total dengan cara ditulup (*blow pipe*) perlu dilakukan pada satwa yang masih membawa sifat liar juga untuk menghindari cekaman (*stress*) selama dilakukan penampungan sperma. pembiusan menggunakan campuran xylazine dengan dosis 20 mg/kg BB dan ketamin dengan dosis 1 mg/kg BB, yang diinjeksikan secara intramuscular. Rusa yang terbius kemudian dilakukan penimbangan, pengukuran tubuh dan pengukuran organ testis. Selanjutnya dilakukan koleksi sperma secara elektroejakulasi dan segera setelah kegiatan selesai dilakukan pemberian multivitamin (Hematopan) sebanyak 1 cc/individu secara intramuscular, dan disadarkan melalui pemberian anti sedasi (antidot) yohimbin sebanyak 0,4-0,6 cc/ per individu, secara intramuscular.

Pengukuran tubuh mencakup panjang badan dan leher, diameter leher dan diameter dada (*girth*), menggunakan pita polypropene, pada posisi berbaring. Panjang tubuh diukur dari ujung *os coxae* hingga *os nasal* dengan leher agak diposisikan menengadah. Diameter leher diukur pada bagian tengah leher dan diameter dada diukur tepat dibelakang *os scapula* kaki depan. Pengukuran testis meliputi panjang testis dan diameter ke dua testis dengan pita polypropylene.

Koleksi sperma menggunakan *portable electroejaculator* dengan diameter probe 2 cm dan panjang 17 cm (Bailey Ejaculator, USA). Metode ini

sudah banyak digunakan pada species rusa seperti Rusa Merah (*Cervus elaphus* Linnaeus, 1758). Periode adaptasi dilakukan dengan mengaktifkan im-pulse dengan ritme ON, OFF berkala dengan interval masing-masing 5 detik, sebanyak 3 kali pada voltase 6 Volt, dan dilanjutkan dengan ritme 3 detik ON, 3 detik OFF selama 5 siklus pada voltase 9 volt, dan dilanjutkan dengan 5 detik ON dan 3 detik OFF se-lama 10 siklus pada voltase 12 Volt. Sperma yang keluar langsung ditampung dalam tabung kaca yang tertutup aluminium foil agar terhindar dari terpaan sinar ultraviolet matahari.

Penilaian kualitas semen dilakukan secara makroskopis maupun mikroskopis. Pengamatan se-cara makroskopis meliputi volume, warna, konsis-tensi (kekentalan), dan pH. Pengukuran pH dilaku-kan dengan menggunakan kertas pH pada rentang nilai 6.5 sampai 10. Semen yang berkualitas baik adalah berwarna krem hingga putih susu, dengan konsistensi sedang sampai kental, dan pH 6,8 – 7,2. Sedangkan pengamatan semen secara mikroskopis mencakup gerakan masa, gerakan individu (motilitas), konsentrasi, dan abnormalitas spermato-zoa. Selanjutnya semen dilakukan pembekuan meru-juk pada Marlene (2006).

Pada penelitian ini bahan pengencer yang digunakan adalah Tris buffer yang terdiri dari tris 3,36 g, mono hydrate citrid acid 1,99 g dan Glucosa 0,5 g dalam 100 ml aquades. Ke dalam larutan ex-tender Tris buffer, ditambah 20% *egg yolk* (TGEY), kemudian ditambahkan kryoprotektan glycerol 6% dari total buffer pengencer. Perbandingan semen dengan bahan pengencer dalam kryopreservasi adalah 1:1 (semen : pengencer). Semen yang telah diencerkan dimasukkan ke dalam straw volume 0,25 ml yang telah diberi label dan dilakukan pengema-san menggunakan sumbat (*sealer*). Straw berisi se-men tersebut segera disimpan pada suhu 4°C (rentang 2-5°C) selama minimal 3 jam untuk proses ekuilibrasasi. Uji motilitas perlu dilakukan setelah ekuilibrasasi untuk melihat daya tahan semen terhadap suhu ekuilibrasasi. Selanjutnya dilakukan proses pem-

bekuan semen untuk tujuan penyimpanan jangka panjang dan disimpan di dalam N₂ cair sampai digunakan.

Pada proses pembekuan semen, untuk menghindari kejutan dingin (*cold shock*) maka se-men cair di dalam straw tidak langsung dimasukan ke dalam N₂ cair, tetapi diberi perlakuan awal yaitu dengan menempatkan straw berisi semen cair diatas nitrogen cair pada wadah styrofoam. Nitrogen cair di dalam wadah sekitar 5 cm dari dasar wadah dan tem-patkan besi penyangga straw pada ketinggian 4-6 cm dari ketinggian nitrogen cair. Straw hasil ekuilibrasasi diletakkan di atas penyangga besi dan dibiarkan se-lama 10 menit (suhu sekitar -130°C), selanjutnya straw tersebut dimasukkan ke dalam goblet yang telah berisi nitrogen cair dan segera mungkin dima-sukkan ke dalam container berisi nitrogen cair. Uji motilitas setelah pembekuan dalam N₂ cair -196°C perlu dilakukan untuk mengetahui keberhasilan krio-preservasi sperma.

HASIL

Morfometri

Rataan berat badan dewasa sekitar 30 kg/ekor dan yang muda 21 kg/ekor. Sedangkan tingkat de-wasa kelamin terlihat dari ukuran testis yaitu jantan dewasa rata-rata panjang testis sekitar 7,24 cm dan jantan muda 5,26 cm (Tabel 1).

Koleksi semen

Dari empat ekor jantan rusa yang dibius, hanya dua ekor yang respon terhadap impuls koleksi, yaitu pada kelompok dewasa. Dua ekor pejantan muda tidak bereaksi terhadap koleksi semen tampaknya karena statusnya yang masih sangat muda (< 12 bulan) dan ranggah pertama belum sampai pada fase mengeras. Hasil dari penampungan semen pada ke dua ekor jantan dewasa dalam penelitian ini menun-jukkan kualitas yang kurang bagus (Tabel 2). Motili-tas sperma rendah dari kedua jantan dewasa yaitu 60% dan 50%, sedangkan konsentrasi sperma berk-isar 500 – 1410 juta sel/ml dan konsistensi encer.

Tabel 1. Morfometri Rusa Bawean yang berhasil dibius (cm)

No.	Rusa	BB (kg)	L. leher	L. dada	P. badan	P. testis	D. testis
1.	Jantan 1	28	39	75	90	6,97	1,4
2.	Jantan 2	32	43	76	95	7,51	1,5
	Rataan (SD) dewasa	30 (2,83)	41 (2,83)	75,5 (0,71)	92,5 (3,54)	7,24 (1,22)	1,45 (1,33)
3.	Jantan3	24	33,5	63,2	76,3	5,32	1,4
4.	Jantan4	18	27,8	58,5	73,1	5,21	1,3
	Rataan (SD) muda	21 (4,24)	30,65 (4,03)	60,85 (3,32)	74,7 (2,26)	5,26 (0,08)	1,35 (0,07)

Tabel 2. Karakteristik semen Rusa Bawean (*Axis kuhlii*) yang ditampung dengan elektro ejakulator

Sifat Semen	Ejakulat	
	Rusa 1	Rusa2
Makroskopis		
Volume	1,1 ml	2 ml
Warna	krim	krim
Konsistensi	encer	encer
pH	8,0	8,5
Mikroskopis		
Gerakan Massa	++	+
Motilitas (%)	60	50
Viabilitas (% hidup)	76,36	87,79
Konsentrasi ($10^6/ml$)	1410×10^6	500×10^6

Tabel 3. Motilitas sperma Rusa Bawean setelah pengenceran, penyimpanan 4°C dan pembekuan (*post thawing*)

No.	Species	Bahan pengencer	Pengamatan Motilitas (%)		
			Post pengenceran	Post equilibrasi	Post thawing
1	Rusa 1	Tris glicerol	60	45	35
2	Rusa 2		45	35	-

Kriopreservasi

Jumlah semen beku yang diperoleh dari penelitian ini sebanyak 30 straw semen beku dan disimpan di tabung nitrogen cair. Hasil pemantauan motilitas sperma setelah proses pengenceran, equilibrasi dan pembekuan menunjukkan penurunan menjadi 40% (35-45%) yaitu pada penyimpanan 4°C. Sementara setelah *post thawing* motilitas turun menjadi 35% pada satu individu, dan individu yang lain tidak diamati karena terbatasnya jumlah sampel kriopreservasi (Tabel 3).

PEMBAHASAN

Morfometri

Dimorfisme antara kelompok jantan dewasa dan muda tampak cukup tegas pada semua parameter diukur terkecuali pada diameter testis yang hampir sama ukurannya (Tabel 1). Jantan dewasa cenderung mempunyai berat badan 17,64% lebih tinggi dibandingkan dengan yang muda, demikian pula pada panjang badan dan lingkaran leher yang lebih tinggi 10,64% dan 14,44%. Indikator tingkat kedewasaan kelamin melalui ukuran testes hanya terlihat pada ukuran pan-

jang testes yang 15,84% lebih panjang pada yang dewasa. Pada Rusa Merah dan Rusa Sambar (*Rusa unicolor* (Kerr, 1792)) maupun Rusa Timor (*Rusa timorensis* (de Blainville, 1822)) ada kecenderungan tingginya libido berkaitan dengan semakin membesarnya ukuran lingkaran leher, terlebih pada pejantan alpha (Semiadi, tidak dipublikasi). Demikian pula halnya dengan ukuran testis yang cenderung membesar sejalan dengan pejantan memasuki masa libido tinggi (Gaspar-Lo'pez *et al.*, 2011). Sedangkan hubungannya dengan berat badan, hasil penelitian menunjukkan kecenderungan penurunan sebagai akibat menurunnya aktifitas makan selama masa musim kawin (Frels dan Ott, 2005). Hal ini khususnya tampak jelas pada kelompok rusa daerah dingin dan belum terpantau dpada kelompok rusa tropik.

Koleksi Semen

Beberapa penelitian mengenai semen rusa telah dilakukan bahkan memperoleh hasil yang cukup memuaskan (Dradjat, 1994). Respon koleksi semen pada satwa liar, seperti rusa, memang sangat bervariasi dan tidak menutup kemungkinan walau yang dikoleksi adalah pejantan dominan (alpha), namun karena penanganan awal sebelum koleksi yang cukup membuat satwa tersebut stres dapat menyebabkan tekanan fisiologis berat yang menyebabkan koleksi sperma tidak sukses. Ketidak suksesan ini dapat berupa sedikitnya volume semen yang keluar dan kekentalan yang rendah (Asher, komunikasi pribadi). Umur dewasa kelamin pada Rusa Bawean memang belum diketahui dengan baik. Namun secara umum, dewasa kelamin rusa dapat dilihat dari indikator pejantan telah masuk pada fase ranggah keras, pada Rusa Bawean mencapai pubertas atau dewasa kelamin pada umur 12 bulan sampai 24 bulan (Lincoln, 1971). Umumnya pada rusa berbadan besar seperti Rusa Sambar atau Rusa Timor, fase ranggah keras ke dua telah menunjukkan kondisi dewasa kelamin (Semiadi, data tidak dipublikasi).

Hasil dari penampungan sperma pada ke dua ekor jantan dewasa dalam penelitian ini menunjukkan kualitas yang rendah (Tabel 2). Volume sperma

berkisar antara 1-2 ml (rata-rata 1.5ml), yaitu lebih tinggi daripada Rusa Timor rata-rata 0,68 ml (Dradjat, 2000) dan 1,2 ml (Masyud dan Taurin, 2000) serta pada Rusa Sambar rata-rata 0,91 ml (Semiadi *et al.*, 1998). Pada beberapa ternak domestik seperti sapi, kambing dan domba hasil pengamatan secara makroskopis terutama warna dan konsistensi erat kaitannya dengan kualitas semen. Konsistensi yang kental umumnya berkorelasi positif dengan konsentrasi yang tinggi, akan tetapi hal ini tidak terjadi pada evaluasi semen Rusa Bawean. Standar umum terhadap semen berkualitas baik adalah berwarna krem hingga putih susu, dengan konsistensi sedang sampai kental dengan pH 6,8–7,2 (rata-rata 7,1), (Marlene, 2006). Sedangkan dalam penelitian ini diperoleh nilai pH yang terlalu basa, mencapai nilai pH 8,5. Hal ini kemungkinan berhubungan dengan sifat sekresi dari kelenjar asesoris, yang bersifat seperti jelly di bawah pengaruh hormon dan kondisi siklus ranggah (Marlene, 2006).

Tingginya pH ini ada hubungannya dengan konsistensi semen yang encer. Sifat semen tersebut dipengaruhi oleh masa musim kawin dan kondisi ranggah keras (Umapathy *et al.*, 2007). Standarisasi kualitas semen minimal yang dapat diproses untuk preservasi maupun kriopreservasi semen satwa liar belum banyak dilaporkan. Holt (1994) memberikan standar kelayakan pengolahan semen adalah semen segar harus memiliki persentase spermatozoa motil minimum 70%. Namun mengingat koleksi kali ini dilakukan pada satwaliar dengan jumlah hewan terbatas, maka standar yang digunakan dalam proses kryopreservasi tetap menggunakan nilai spermatozoa motil 50 % ke atas.

Dengan rendahnya kualitas sperma yang terkoleksi, menjadikan gerakan masa sperma Rusa Bawean berkisar antara skor 1 dan 2 artinya gelombang massa sperma tebal tetapi lambat berpindah tempat atau sedang tetapi cepat berpindah tempat (Arifiantini, 2012). Hasil ini lebih rendah dibandingkan pada Rusa Timor yang telah lebih jinak dan berada di penangkaran, dengan nilai skor 2 dan 3 (Marlene, 2006). Demikian pula seperti yang dila-

porkan oleh Dradjat (2000), Masyud dan Taurin (2000) pada Rusa Timor yang mendapatkan rataan gerakan masa semen rata-rata 3,8 (skor 3–4).

Terdapat hubungan yang erat antara saat musim kawin dan kondisi ranggah keras. Pada Rusa Totol (*Axis axis* (Erxleben, 1777)) kisaran konsentrasi sperma hasil elektroejakulasi adalah antara $1 - 571 \times 10^7$ spermatozoa per ml, dengan motilitas spermatozoa 40–70%, bahkan dapat mencapai 80% (Mylrea, 1991). Pada Rusa Timor jantan berumur lima tahun, di musim kawinnya mempunyai kisaran konsentrasi spermatozoa antara 840–1.140 juta sel sperma/ml (Masyud dan Taurin, 2000) sementara Marlene (2006) pada Rusa Timor menunjukkan rataan konsentrasi spermatozoa yang diperoleh rata-rata 842,35 juta sel/ml dengan kisaran antara 593,25 dan 1060,89 juta sel/ml. Hasil penelitian ini pada Rusa Bawean memberikan rataan konsentrasi spermatozoa 955 juta sel/ml atau 500–1410 juta sel/ml. Nilai rataan ini lebih tinggi dari pada Rusa Timor hasil penelitian tersebut diatas tetapi memberikan motilitas yang lebih rendah yaitu 50-60%. Semiadi (1996), melaporkan bahwa semen Rusa Sambar di Selandia Baru yang ditampung selama periode ranggah keras mempunyai rataan volume 0,91 ml (0– 1,6 ml), dengan rataan konsentrasi 365×10^6 /ml (rentang 0 – 1200×10^6 /ml) dan rataan motilitas 38% (0–80%). Rendahnya persentase motilitas pada penelitian ini dimungkinkan penampungan sperma menggunakan ejakulator tidak sebaik menggunakan vagina buatan dan disamping itu Rusa Bawean masih bersifat liar sehingga tingkat stres akan mempengaruhi volume dan motilitas. Nilai ketidak berhasilan koleksi tetap diperoleh walau pada rusa yang sudah dewasa dan dalam posisi ranggah keras sekalipun.

Kryopreservasi

Persentase motilitas sperma Rusa Bawean pada penelitian ini (50%-60%) menunjukkan lebih rendah daripada motilitas sperma Rusa Timor yaitu sebesar 75,83% (60–80%), 66,7%-76,7% (Marlene, 2006, Masyud dan Taurin, 2000) serta dari ternak kambing PE yaitu 73,57% (Tambing, 2004) sampai 78,13%

(Suwarso, 1999) dan domba garut sebesar 76,67% (75–80%) (Rizal *et al.*, 2003). Motilitas setelah equilibrasi pada Rusa Timor yang dilakukan Marlene (2006) pada suhu 3-5°C menunjukkan penurunan motilitas sampai 40% pada hari yang berbeda menggunakan pengencer tris dengan penambahan karbohidrat glukosa, fruktosa dan sukrosa.

Bahan pengencer dalam suatu proses pengencer krioprservasi adalah untuk mempertahankan kualitas semen sampai saat digunakan. Secara garis besar bahan pengencer semen memiliki fungsi mekanik, fisik dan biokimia (Supriatna dan Pasaribu, 1992). Menurut Hafez (1993), bahan pengencer yang baik adalah memiliki fungsi sebagai 1) penyedia nutrisi sebagai sumber energi, 2) melindungi spermatozoa dari kerusakan akibat pendinginan, 3) menyediakan medium yang bersifat penyangga (*buffer*) untuk melindungi spermatozoa dari kerusakan akibat perubahan pH, 4) mengatur keseimbangan osmotik dan keseimbangan elektrolit yang tepat bagi kehidupan spermatozoa, dan 5) menghambat pertumbuhan kuman, meningkatkan volume semen sehingga betina yang dapat diinseminasi lebih banyak.

Bahan pengencer semen untuk rusa yang telah diaplikasikan saat ini masih mengadopsi pengencer yang digunakan pada domba dan kambing, yaitu berupa buffer tris dan sitrat (Paulenz *et al.*, 2002). Tris telah digunakan secara meluas pada preservasi maupun kriopreservasi semen pada berbagai ternak di antaranya pada sapi (Davis *et al.*, 1963; Steinbach and Foote, 1967 dalam Marlene (2006); Anzar and Graham, 1995), kambing (Suwarso, 1999; Tambing, 2001), domba (Hahn, 1972; Salamon and Visser, 1972; Maxwell and Salamon, 1993 dalam Marlene, 2006). Paulenz *et al.*, (2002) pada semen cair domba menggunakan empat macam bahan pengencer dengan dua temperatur yang berbeda yaitu 5°C dan 20°C menunjukkan bahwa pengencer tris lebih mampu melindungi spermatozoa dibandingkan dengan bahan pengencer lainnya. Pada semen rusa, pengencer tris juga telah digunakan oleh beberapa peneliti di antaranya Asher *et al.* (2000) pada Rusa Fallow (*Dama dama* (Linnaeus, 1758)), Dradjat (2000) pada Rusa

Bawean, dan Mylrea (1992) pada Rusa Totol dengan hasil yang cukup memuaskan.

Buffer tris dan sitrat biasanya dikombinasikan dengan glukosa dan kuning telur, seperti pada pengencer semen Rusa Merah yang menggunakan 20% kuning telur dalam buffer sitrat, pada Rusa Fallow menggunakan tris glukosa dengan 2,25% kuning telur, pada Rusa Pere David (*Elaphurus davidianus* Milne-Edwards, 1866) menggunakan 2,9% sodium sitrat dengan 20% kuning telur (Asher *et al.*, 2000). Pada Rusa Totol digunakan tris dan sitrat (Evans dan Maxwell, 1987), pada Rusa Ekor Putih (*Odocoileus virginianus*) digunakan tris dan laktosa (Asher *et al.*, 2000).

Kuning telur sebagai tambahan dalam bahan pengencer sintetik dapat melindungi spermatozoa terhadap cekaman dingin (*cold shock*) karena kandungan fosfolipid yang terdapat didalamnya. Disamping itu kuning telur dilaporkan dapat mengurangi kerusakan enzim dan degenerasi struktur akrosom pada penyimpanan suhu 5 °C (Watson, 1995). Dengan menggunakan bahan pengencer TEYC (*Tris Egg Yolk Citrate Extender*) dan *Triladyl* (biasa digunakan pada sapi), motilitas pasca *thawing* dan setelah dua jam adalah 48% sampai 72% pada Rusa Timor (Dradjat, 1994). Sementara pada Rusa Bawean dari penelitian ini motilitas hanya 35% dengan pengencer TGEY.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penggunaan bahan pengencer Tris dan krioprotektan Glycerol dapat dipergunakan dalam kriopreservasi semen Rusa Bawean, namun hanya layak digunakan pada kualitas semen dengan motilitas yang lebih dari 60%. Kualitas dan kuantitas semen Rusa Bawean tergantung pada kesehatan rusa dan kondisi ranggah. Produksi sperma lebih banyak dihasilkan pada rusa yang telah dewasa tetapi belum begitu banyak pada kelompok umur muda.

SARAN

Terbatasnya jumlah individu yang digunakan di dalam penelitian ini, maka diperlukan penelitian

lanjutan dengan penambahan jumlah individu sehingga dapat dilakukan pengujian dari ekstender dan krioprotektan dalam pembekuan semen untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat. Hasil ini sangat membantu untuk perkembangbiakan Rusa Bawean berstatus endemik di penangkaran dengan populasi terbatas.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifiantini RI. 2012. *Teknik Koleksi dan Evaluasi Semen pada Hewan*, 50-51. IPB Press, Bogor..
- Amann RP. 1999. Cryopreservation of semen. In: *Encyclopedia of Reproduction*. E. Knobil and JD Neill (eds.) Vol. 1, 773-783. Academic Press. London.
- Anzar M and EF Graham. 1995. Role of sperm motility and acrosome integrity in the filtration of bovine semen. *Theriogenology* 43, 513-520.
- Asher GW, DK Berg and G Evans. 2000. Storage of semen and artificial insemination in deer. *Animal Reproduction Science* 62, 195-211.
- Blouch RA and S Atmosoedirdjo. 1978. Preliminary report on the status of the Bawean deer (*Axis kuhli*). In: *Threatened Deer: Proceedings of a Working Meeting of the Deer Specialist Group of the Survival Service Commission*, 49-55. IUCN, Morges, Switzerland.
- Blouch RA and S Atmosoedirdjo. 1987. Biology of the Bawean deer and prospects for its management. In: *Biology and Management of the Cervidae*. CM Wemmer (ed.), 320-327. Smithsonian Institution Press, Washington DC.
- CITES. 2013. *Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Flora and Fauna. List of Appendices I, II and III*. <http://www.cites.org/eng/app/appendices.php>. (Downloaded 12 June 2013).
- Dradjat AS. 1994. *Pengembangan Teknik Perkembangbiakan Buatan pada Rusa Tropik*. Department of Animal Health, The University of Sydney, PMB3 Camden 2570 Australia. (Catatan: Sebuah Laporan ke Institusi sewaktu DAS menjalani studi postgraduate (S3) di Universitas of Sidney).
- Dradjat AS. 2000. Penerapan Teknologi Inseminasi Buatan, Embrio Transfer dan invitro Fertilisasi pada Rusa Indonesia. *Laporan Riset Unggulan Terpadu V Bidang Teknologi Perlindungan Lingkungan*, 92-111. Dewan Riset Nasional. Jakarta.
- Evans G and WMC Maxwell. 1987. *Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats*, 96-109. London: Butterworths
- Frels D and J Ott. 2005. *Comparative Mating Success of Male White-Tailed Deer in Relation to Age and Perceived Quality*. 6th Deer and Elk Workshop, 2005. Texas A & M. Kingsville.
- Gaspar-Lo'pez E, T Landete-Castillejos, JA Estevez, F Ceacero, L Gallego and AJ Garcia. 2011. Seasonal variations in red deer (*Cervus elaphus*) hematology related to antler growth and biometrics measurements. *Journal of Experimental Zoology* 315(4), 242-249.
- Hafez ESE. 1993. Anatomy of Male Reproduction. In: *Reproduction in Farm Animals*, 6th Edition. B. Faez and ESE Hafez (eds.). 3-12. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Hafez ESE and B Hafez. 2000. *Reproduction in Farm Animals*, 172-181. 7th Edition. Lippincott Williams and Wilkins. Baltimore.
- Hahn G. 1972. Contribution to The freezing-preservation of goat-

- buck and ram semen. *World Review of Animal Production* **8**, 80.
- IUCN. 2012.** *IUCN Red List of Threatened Species*. Version 2012.2. <www.iucnredlist.org>. (Downloaded on **28 June 2013**).
- Holt MV. 1994.** *Creative Conservation: Interactive management of wild and captive animals Reproductive Technologies*, 145-166. Chapman and Hall, London.
- Lincoln GA. 1971.** Puberty in seasonally breeding male of the red deer stag (*Cervus elaphus*) by melatonin and its dependent on LHRH. *Journal Reproduction Fertility* **72**, 339-343.
- Marlene MMN. 2006.** Kajian Biologi Reproduksi dan Teknologi Inseminasi Buatan pada Rusa Timor (*Cervus timorensis*). *Disertasi*. Institut Pertanian Bogor.
- Masyud B dan MB Taurin. 2000.** Karakteristik dan pengawetan sperma rusa timor (*Cervus timorensis*). *Media Konservasi* **6(3)**, 105-107.
- Mylrea GE. 1991.** Reproduction in Tropical Species. *Proceeding of a Deer Course for Veterinarians. Deer Branch Course, Sydney* **8**, 249-261.
- Mylrea GE. 1992.** Natural and artificial breeding of farmed chital deer (*Axis axis*) in Australia. *PhD Thesis*. University of Sydney. Sydney.
- Paulenz Ho, L Soderquist, Perez-Pe and KA Berg 2002.** Effect of different extenders and storage temperatures on sperm viability of liquid ram semen. *Theriogenology* **57**, 823-836.
- Rizal M, MR Toeliere MR, TL Yusuf dan B Purwantara, P Situmorang. 2003.** Karakteristik penampilan reproduksi pejantan domba garut. *Jurnal Ilmu Ternak Veteriner* **8**, 134-140.
- Semiadi G, PD Muir, TN Barry dan G Asher. 1998.** Produksi semen rusa sambar jantan dan tanggapan terhadap penyerentakan berahi rusa sambar betina. *Media Veteriner* **5**, 11-16.
- Semiadi G. 1998.** Budidaya Rusa Tropik Sebagai Hewan Ternak. *Masyarakat Zoologi Indonesia*, 35-38.
- Semiadi G, S Pudyatmoko, B Huffman, JW Duckworth and R Timmins. 2013.** *Axis kuhlii*. In: IUCN 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.1. <www.iucnredlist.org>. (Downloaded on **27 August 2013**).
- Supriatna I dan FH Pasaribu 1992.** *In Vitro Fertilisasi, Transfer Embrio dan Pembekuan Embrio*. Pusat Antar-Universitas Bioteknologi-IPB. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Dirjen Pendidikan Tinggi.
- Suwarso. 1999.** Peranan Rafinosa Dalam Pengencer Tris-Sitrat Kuning Telur Terhadap Semen Beku Kambing Peranakan Etawah. *Tesis*. Program Pascasarjana-Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Tambing SN, MR Toelihere, TL Yusuf dan IK Utama. 2001.** Kualitas semen beku kambing Peranakan Etawah setelah ekuilibrasi. *Hayati* **8**, 70-75.
- Tambing SN. 2004.** Optimalisasi pengembangan pengencer semen beku dan teknik inseminasi dalam upaya produksi kambing persilangan Saanen-peranakan Etawah. *Disertasi*. Sekolah Pascasarjana-Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Toelihere MR. 1985.** *Inseminasi Buatan pada Ternak*, 168-195. Angkasa, Bandung.
- Umopathy G, DS Sontakke, A Reddy dan S Shivaji. 2007.** Seasonal variations in semen characteristics, semen cryopreservation, estrus synchronization, and successful artificial insemination in the spotted deer (*Axis axis*). *Theriogenology* **67**, 1371-1378.
- Vishwanath R and P Shannon. 2000.** Storage of bovine semen in liquid frozen state. *Animal Reproduction Science* **62**, 23-53.
- Watson PF. 1995.** Recent Developments and concepts in the cryopreservation of Spermatozoa and the assessment of their post-thawing function. *Reproduction Fertility and Development* **7**, 871-891.