

Deteksi Umur Pubertas Muncak (*Muntiacus muntjak muntjak*) Betina Berdasarkan Analisis Metabolit Estrogen dan Progesteron pada Feses

(THE AGE OF PUBERTY DETECTION IN FEMALE BARKING DEER (MUNTIACUS MUNTJAC MUNTJAC) BASED ON FAECAL ESTROGEN AND PROGESTERONE ANALYSIS)

**Asri Pudjirahaju¹, Iman Supriatna²,
Srihadi Agungpriyono³, Muhammad Agil²**

¹Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Palangka Raya
Jl. Yos Sudarso, Palangka Raya, Kalimantan Tengah 73112
Telp. 085204088686, E-mail: yayukhanipan@gmail.com

²Laboratorium Reproduksi dan Kebidanan, Departemen Klinik, Reproduksi, dan Patologi,

³Laboratorium Histologi, Departemen Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi,
Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor
Jl. Agatis, Kampus IPB Dramaga, Bogor, Jawa Barat, 16680

ABSTRAK

Pengetahuan dan informasi tentang umur pubertas pada muncak (*Muntiacus muntjak muntjak*) betina sangat diperlukan untuk kepentingan perkembangan biakan dalam upaya konservasi. Penelitian ini bertujuan mengetahui umur pubertas dan umur muncak betina pertama kali dikawinkan pada di penangkaran melalui analisis metabolit estrogen dan progesteron dalam feses. Penelitian ini menggunakan 155 sampel feses yang dikoleksi dari tiga ekor anak muncak betina. Koleksi sampel dimulai ketika muncak berumur tiga bulan, empat bulan, dan enam bulan. Sampel feses dikoleksi setiap 2-4 hari sebanyak 10-20 g. Analisis metabolit estrogen dan progesteron dalam feses dilakukan menggunakan metode *enzyme immunoassay* (EIA) dan antibodi spesifik. Penentuan umur pubertas muncak berdasarkan waktu munculnya estrus dan ovulasi pertama kali, yang ditunjukkan oleh munculnya sekresi estrogen tertinggi (puncak) pertama kali pada profil metabolit hormon. Data hasil analisis ditabulasikan dalam rata-rata dan standar deviasi, disajikan dengan grafik dan dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa deteksi umur pubertas berdasarkan analisis profil metabolit estrogen dan progesteron dalam feses memungkinkan diterapkan pada muncak. Muncak betina yang dipelihara di penangkaran rata-rata pubertas dicapai pada umur 5±1 bulan (kisaran 4–6 bulan). Perkawinan pertama pada muncak betina disarankan minimal setelah mengalami estrus dua kali atau telah mencapai umur enam bulan.

Kata-kata kunci: *M. m. muntjak*, pubertas, estrogen total, pg-diols

ABSTRACT

Knowledge and information about the age of puberty in muntjac (*Muntiacus muntjak muntjak*) is indispensable to the interests of females breeding in conservation efforts. The aims of this study were to determine the age of puberty and age at first mated females muntjac kept in captivity through the analysis of estrogen and progesterone metabolites in feces. This study used 155 fecal samples that were collected from three female muntjacs. Sample collection was began when muntjac aged three months, four months and six months. Total of 10-20 g fecal samples were collected every 2-4 days. Analysis of steroid hormone metabolites was performed by using enzyme immunoassay (EIA) method with specific antibodies. Determination of the age of puberty was based on the appearance of the first time estrus and ovulation, which was indicated by the appearance of the highest estrogens secretion, on hormone metabolites profile. Hormone metabolites data then were tabulated in the average and standard deviations were presented with graphs and analyzed descriptively. The results showed that the age of puberty detection based on analysis of the estrogens and progesterone metabolite in the feces can be applied in muntjac. Muntjac females kept in captivity flats reached puberty at age 5±1 month or 4-6 months range. It is recommended the first mated in the muntjac is at least after the female experienced two period of oestrous or has reached at age of six months.

Key words: *M. m. muntjak*, puberty, total estrogen, Pg-diols

PENDAHULUAN

Muncak (*Muntiacus muntjak muntjak*), atau kijang dikenal dengan sebutan *barking deer* dengan suara spesifiknya yang tersebar pada sebagian besar kepulauan di Indonesia. Satwa endemik ini merupakan satwa yang dilindungi. Berdasarkan *International Union for Conservation of Nature and Natural Resources* (IUCN), dari beberapa spesies muncak di dunia yang berstatus *vulnerable* adalah *Muntiacus crinifrons* (muncak hitam) yang berasal dari China. Sedangkan spesies muncak lainnya masih memiliki status *low risk*.

Keberadaan populasi muncak di habitat alaminya tidak diketahui secara pasti dan kecenderungannya adalah menurun (IUCN 2010). Penurunan populasi kemungkinan disebabkan oleh faktor reproduksinya yang menghasilkan satu ekor anak dengan lama kebuntingan tujuh bulan dan tingkat kematian sebelum sapih yang cukup tinggi serta adanya predator, sehingga perkembangan populasinya menjadi lambat. Semiadi (2001) melaporkan bahwa tingkat reproduksi rusa rendah, yaitu jumlah anak yang dilahirkan dari jumlah induk potensial tersedia, hanya mencapai $48,80\% \pm 16,24\%$ dengan kematian anak prasapih sebesar $11,90\%$. Pada betina cervidae (beberapa spesies tropis) adalah *polyoestrous* dan hewan yang tidak bunting mampu menunjukkan siklus estrus yang terus berulang (Asher 2011).

Oleh karena itu, diperlukan suatu cara perkembangbiakan muncak di luar habitat alaminya atau penangkaran. Namun, perkembangbiakan muncak di penangkaran tingkat keberhasilannya masih tergolong rendah. Hal tersebut kemungkinan akibat minimnya pengetahuan dan informasi tentang reproduksinya, dan salah satunya adalah umur pubertas muncak. Umur pubertas penting diketahui sebab pubertas merupakan awal dari kehidupan reproduksi, sehingga kita dapat menetapkan saat muncak betina pertama kali dikawinkan.

Sampai saat ini, informasi tentang pemantauan status reproduksi muncak, terutama berdasarkan metabolit estrogen dan progesteron dalam feses, masih sangat terbatas. Penelitian mengenai fisiologi reproduksi dasar dapat dilakukan dengan menggunakan metodologi endokrinologis yang memungkinkan untuk pemantauan parameter fisiologi melalui matriks biologi, seperti darah, urin, saliva, dan feses. Muncak adalah hewan yang sangat mudah stres, sehingga metode yang dianjurkan adalah non invasif (Krepschi *et al.*, 2013). Pengukuran

metabolit hormon steroid dalam feses banyak digunakan untuk penelitian satwa liar, karena metode non invasif ini, tidak menyebabkan stres, praktis, ekonomis dan memungkinkan untuk pengambilan sampel dalam jangka panjang (Kumar 2013). Rute ekskresi metabolit hormon bervariasi antara spesies serta antara steroid dalam spesies yang sama, sebagai contoh, pada domba 77% metabolit progesteron diekskresikan melalui feses (Palme *et al.* 1996), sedangkan pada kucing domestik adalah 97% (Kumar 2013). Metabolit hormon yang diidentifikasi dalam feses berasal dari konjugasi hepar dan ekskresi enterik hormon plasma, dan prosesnya memerlukan waktu selama 12-24 jam pada ruminansia (Kapke *et al.*, 1999; Schwarzenberger *et al.*, 1996). Penelitian tentang profil hormon metabolit estrogen dan progesteron dalam feses telah dilakukan pada beberapa hewan domestik dan satwa liar, seperti kambing perah (Jack 2012) dan satwa liar seperti badak sumatera (Agil 2007), rusa sika (Hamasaki *et al.*, 2001; rusa Pe're David's (Li *et al.*, 2001), *Hydropotes inermis* (Mauget *et al.*, 2007), *Ozotoceros bezoarticus* (Pereira *et al.*, 2005), *Mazama gouazoubira* (Pereira *et al.*, 2006).

Pada satwa liar seperti muncak pengukuran kadar hormon dalam darah sangat sulit dilakukan karena satwa tersebut sulit dikendalikan dan mudah tercekam (Schwarzenberger *et al.*, 1996) dan metode tersebut sedikit berisiko karena harus melalui prosedur pembiusan dan perlakuan secara fisik (Hamasaki *et al.*, 2001), sehingga pendekatan non invasif dengan memanfaatkan feses merupakan cara yang paling memungkinkan diterapkan pada satwa liar tersebut (Schwarzenberger *et al.*, 1996). Hormon steroid yang diekskresikan melalui feses dapat digunakan sebagai material yang dianalisis untuk memantau status reproduksi, karena dalam feses mengandung hormon (dalam bentuk metabolit) yang merupakan substansi dari hormon yang disekresikan oleh kelenjar endokrin, sehingga profil hormon dalam feses tetap sesuai dengan profil hormon aslinya dalam darah. Oleh karena itu, konsentrasi metabolit hormon dalam feses dapat diukur dan dapat dipergunakan untuk deteksi awal pubertas.

Pada kebanyakan rusa betina pubertas terjadi pada umur 15-18 bulan, tetapi hal ini sangat dipengaruhi oleh berat badan dan ketersediaan pakan (Semiadi 2006). Asher (2011), juga menyatakan hal yang sama, bahwa pematangan seksual dari famili *cervidae* terjadi pada umur lebih dari satu tahun. Pada kelompok rusa yang berbadan kecil, seperti muncak

india (*Muntiacus muntjak*), ovulasi pertama kali terdeteksi pada umur di bawah 12 bulan (Semiadi 2006) sedangkan umur pubertas pada muncak di Indonesia belum diketahui, sehingga perlu dilakukan penelitian. Penelitian ini bertujuan mengetahui umur pubertas dan umur muncak betina yang dipelihara di penangkaran pertama kali dikawinkan, melalui analisis profil metabolit hormon steroid dalam feses.

METODE PENELITIAN

Sampel Hewan

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tiga ekor anak muncak, berjenis kelamin betina, hasil penangkaran di Kandang Percobaan, Unit Rehabilitasi Reproduksi, FKH IPB. Data muncak yang digunakan disajikan pada Tabel 1. Muncak yang digunakan dalam kondisi tubuh sehat, tidak cacat, dan dapat dikendalikan dengan baik. Penggunaan muncak sebagai materi penelitian telah mendapat ijin Kepala BKSDA Propinsi Jawa Tengah.

Masing-masing anak muncak dipelihara bersama induknya sejak lahir dalam kandang individu berukuran 1 x 2 m² dan area *exercise* seluas 6 x 7 m². Setelah bisa hidup mandiri (\pm 3 bulan) anak muncak dipisahkan dari induknya dan dimasukkan dalam kandang individu tersendiri yang berukuran 1 x 2 m² untuk diambil sampel fesesnya. Dinding kandang terbuat dari kawat ram, berlantai semen, dan alas untuk tempat tidur dari papan dibuat lebih tinggi \pm 10 cm. Kandang dilengkapi dua buah ember kecil sebagai tempat pakan dan air minum. Pembersihan kandang dilakukan setiap hari dan setiap 2-3 hari sekali muncak dilepaskan bersama induknya di area *exercise*. Pakan yang diberikan, terdiri dari: wortel 0,5-1,0 kg/hari, rumput muda 2 kg/hari dan konsentrat komersial 150 g/hari (jumlah pakan ditingkatkan, sesuai pertambahan umurnya).

Pakan diberikan tiga kali/hari, yaitu pagi pukul 06.00, siang pukul 12.00, dan sore pukul 17.00 WIB, sedangkan air minum diberikan secara *ad-libitum* dan setiap empat bulan muncak diberi obat cacing *oxfendazole*.

Jumlah sampel feses yang dikoleksi dari tiga ekor anak muncak betina adalah sebanyak 155, yakni 42 sampel dari individu ML-1; 64 sampel dari individu MN-2; dan 49 sampel dari individu MW-3. Antibodi yang digunakan berasal dari kelinci, untuk metabolit progesteron adalah 20-oxo-pregnanes (20-oxo-P) (antibodi: 5 α -pregnane-3 β -ol-20-one 3HS:BSA; Schwarzenberger *et al.*, 1996) dan 20 α -OH-pregnanes (20-OH-P) (5 β -pregnane-3 α ,20 α -diol 3HS:BSA, dengan nama trivial pregnanediol: Schwarzenberger *et al.*, (1993; 2000).

Koleksi, Pengeringan, dan Penghalusan Sampel Feses

Sampel feses segar dikoleksi setiap 2-4 hari sekali antara pukul 06.00-07.00 WIB sebanyak 10-20 g per tabung film, kemudian disimpan dalam suhu -20°C. Koleksi sampel dimulai ketika muncak berumur tiga bulan, empat bulan, dan enam bulan. Tabung film kemudian diberi label, dicatat nama betina, tanggal dan waktu koleksi, dan nama kolektor. Setelah sampel terkumpul, selanjutnya dilakukan pengeringan dan penghalusan berdasarkan prosedur Heistermann *et al.*, (1993). Sampel feses dikeringkan menggunakan mesin pengering beku lyophilizer (*freeze dryer*, Christ®, Gamma 1-20) selama 3-4 hari pada suhu -20°C dan tekanan vakum 1.030-0.630 mbar. Sampel yang telah dikeringkan selanjutnya dihaluskan menggunakan *mortar* dan disaring dengan saringan nirkarat (*stainless steel*) untuk memisahkan serbuk feses dari bahan berserat. Akhirnya, serbuk feses dimasukkan ke dalam tabung film seluloid dan disimpan pada suhu -20°C hingga dilakukan tahap ekstraksi dan analisis hormon.

Tabel 1 Data kelahiran, periode koleksi sampel feses, dan umur muncak yang digunakan dalam penelitian

Nama muncak (Kode)	Tanggal lahir sampel feses	Periode tanggal koleksi sampel(bulan, hari)	Jumlah sampel	Umur muncak selama periode koleksi
Melati (ML-1)	17-1-2010	1-5-2010 s/d 26-7- 2010	42	3,15-6,11
Manis (MN-2)	10-8-2009	19-12-2009 s/d 29-4-2010	64	4,90-8,19
Mawar (MW-3)	28-10-2008	1-5-2009 s/d 7-2-2010	49	6,30-15,14

Ekstraksi dan Analisis Hormon

Protokol ekstraksi sampel feses dan analisis EIA mengacu pada Schwarzenberger *et al.*, (2000). Sebanyak 0,5 g sampel ditambahkan 4 mL methanol 100% dan 1 mL aquabidest. Selanjutnya divortek selama 30 menit, lalu disentrifugasi selama 15 menit, suhu 5°C dengan kecepatan 3800 rpm. Sebanyak 1 mL dari supernatan yang dihasilkan ditambahkan 5 mL diethylether dan 250 µL 5% NaHCO₃, lalu divortex selama satu menit. Selanjutnya disentrifugasi kembali selama 15 menit, suhu 5°C dengan kecepatan 3800 rpm, kemudian disimpan dalam freezer suhu -20°C selama satu malam. Tahapan berikutnya adalah melakukan evaporasi sampel dengan menggunakan alat *heating plate*, suhu 40°C dengan gas N₂ selama satu jam. Apabila sampel telah kering, kemudian ditambahkan 500 µL *buffer assay* dan divortex selama satu menit. Selanjutnya sampel dimasukkan ke dalam *microtubes* 1,2 mL dan disimpan dalam freezer pada suhu -20°C hingga dilakukan analisis hormon.

Analisis hormon dilakukan menggunakan metode EIA untuk immunoreaktif metabolit estrogen dan progesteron. Secara singkat, antibodi yang digunakan berasal dari kelinci, untuk metabolit progesteron adalah 20-oxo-pregnanes (20-oxo-P) (antibodi:5α-pregnane-3β-ol-20-one 3HS:BSA ; Schwarzenberger *et al.*, 1996) dan 20α-OH-pregnanes (20-OH-P) (5β-

pregnane-3α,20α-diol 3HS:BSA, dengan nama trivial pregnanediol: Schwarzenberger *et al.* (1993) (Steraloids Ltd, Wilton,NH, or Sigma Ltd, St Louis, MO) dan metabolit estrogen adalah estrogen total (estradiol-17α-OH-17-HS:BSA); Schwarzenberger *et al.*, (2000). Uji validasi *parallelism* antara kurva standar dan serial pengenceran ekstrak feses menunjukkan variasi koefisien *intra* dan *inter assay* masing-masing adalah 10% dan 15%.

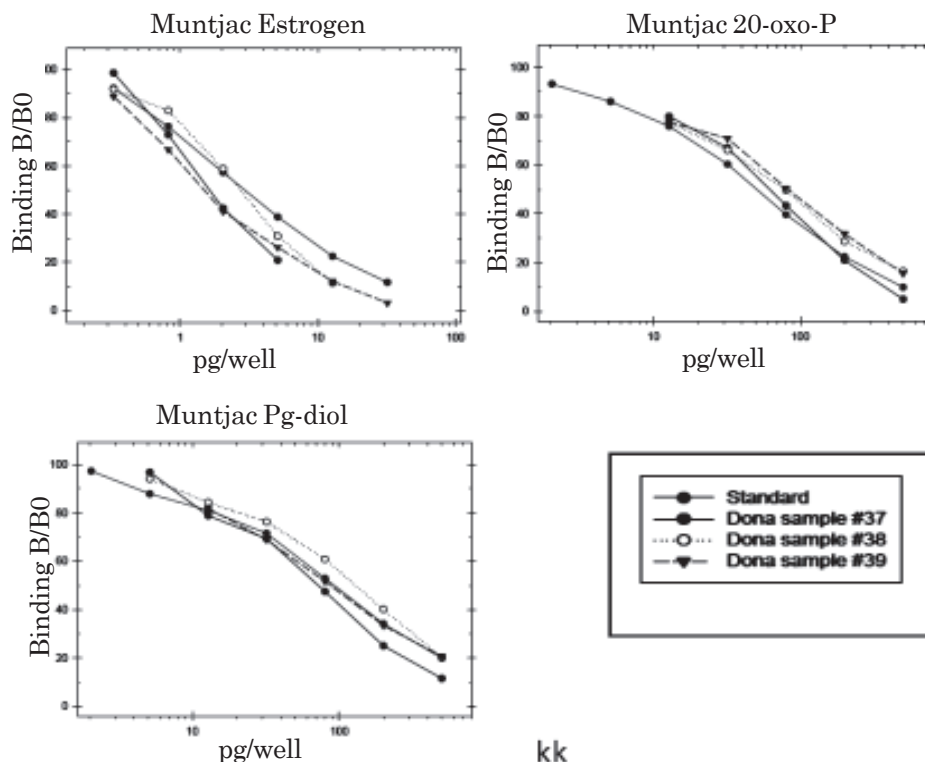
Analisis Data

Data rata-rata, konsentrasi metabolit hormon disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Satuan data konsentrasi metabolit estrogen dalam ng/g feses kering dan progesteron dalam µg/g feses kering. Analisis data dilakukan secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Validasi

Uji *parallelism* terhadap metabolit estrogen dan progesteron pada muncak betina menunjukkan hasil kurva sampel feses yang paralel dengan kurva standar, yaitu metabolit estrogen adalah estrogen total dan progesteron adalah 20-oxo-pregnanes (20-oxo-P) dan Pregnanediol (Pg-diol) (Gambar 1).



Gambar 1 Hasil uji paralelism metabolit estrogen dan progesteron dari feses muncak betina

Hasil penelitian ini berbeda dengan apa yang ditemukan pada *lesser mouse deer* (*Tragulus javanicus*), bahwa metabolit progesteron *immunoreactive* dalam feses dengan metode *High performance liquid chromatography* (HPLC) adalah 1: progesterone, 2: 5 β -pregnan-3 α -ol-20-one, 3: 5 β -pregnan-3 α -ol-20-one, 4: 5 β -pregnan-3 β -ol-20-one, 5: 5 α -pregnan-3 α -ol-20-one, dan 6: 5 α -pregnan-3,20-dione (Kusudaa *et al.*, 2013). Hasil yang berbeda juga dilaporkan pada owa jawa (*Hylobates moloch* Audebert, 1797), bahwa tipe metabolit estrogen dan progesteron dalam feses dengan metode ELISA dan Kit yang diproduksi oleh Mostl, Vienna adalah *estrone conjugate* (E₁C) dan *pregnanediol glucuronide* (PdG) (Maheshwari 2007). Menurut Schwarzenberger *et al.*, (1996), bahwa tipe metabolit estrogen yang terdapat dalam feses terutama terdiri dari estron dan estradiol-17 α atau estradiol-17 β . Tipe metabolit steroid feses pada sapi didominasi oleh estradiol 17- α , sedangkan pada kuda dan babi yang utama adalah estradiol 17- β dan estron (Kumar 2013). Perbedaan ini kemungkinan lebih disebabkan sampel yang digunakan berasal dari spesies hewan yang berbeda. Hal ini disebabkan tipe metabolit hormon bersifat spesifik spesies.

Menurut Jurke *et al.*, (2000), tipe metabolit estrogen maupun progesteron yang dihasilkan tergantung pada keberadaan enzim yang diperlukan untuk pembentukan metabolit tersebut dan juga ekskresinya. Di dalam metabolisme estrogen, tidak terjadi proses reduksi lanjut sehingga produk yang dihasilkan tetap berupa steroid yang mengandung C-18. Lain halnya dengan progesteron, di dalam metabolismenya mengalami beberapa proses reduksi seperti reduksi pada C-20 oleh enzim 20 α - dan 20 β -CHSD menghasilkan 20 α - dan 20 β -dihidroprogesteron. Selain itu proses reduksi juga terjadi pada struktur cincin A oleh enzim 4-ene-5 α/β -reduktase menghasilkan 5 α/β -Pregnane-3,40 dione. Proses reduksi ketiga terjadi pada C-3 oleh enzim 3 α/α -OHSD menghasilkan 5 α/β -Pregnane-3 α/β -ol-20one, serta reduksi pada C-3, C-20 dan di struktur cincin A akan menghasilkan pregnanediol.

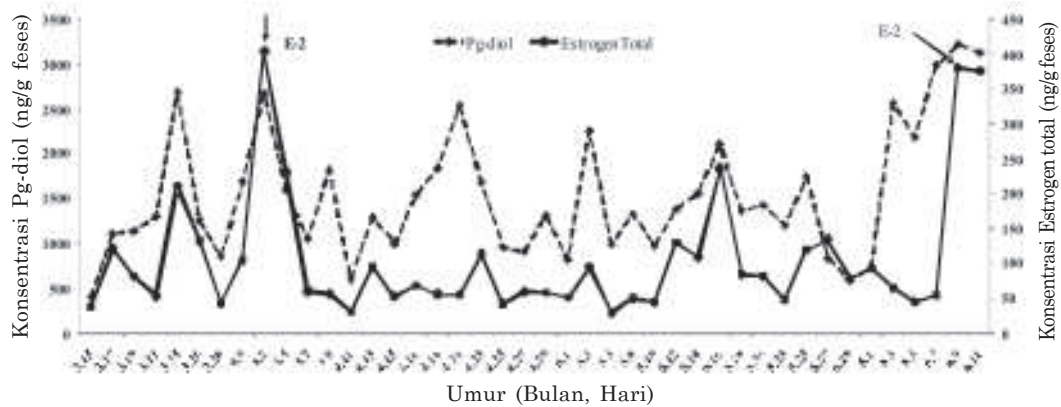
Menurut Hodges dan Heistermann (2003), hormon steroid yang terdapat di sirkulasi darah akan mengalami perubahan metabolik sebelum dieliminasi oleh tubuh. Perubahan yang terjadi secara alami bervariasi di antara spesies hewan, baik dari jenis metabolit maupun jalur ekskresinya. Informasi yang diperoleh dari variasi tersebut, pada tahap berikutnya akan

bermanfaat untuk memilih teknik pengukuran metabolit hormon steroid dan interpretasi hasil yang akurat Selanjutnya dijelaskan bahwa metabolisme hormon steroid seperti androgen sebagian besar berlangsung di hati. Namun, beberapa aktivitas katabolik juga berlangsung di ginjal. Metabolit steroid yang dihasilkan akan diekskresikan oleh ginjal melalui urin, sedangkan sistem empedu mengekskresikan metabolit melalui feses (Amaral *et al.*, 2009). Teknik ini dikenal sejak satu dekade yang lalu dan telah diaplikasikan pada berbagai spesies satwa liar, seperti rusa baik secara *in-situ* maupun *ex-situ* (Mauget *et al.*, 2007). Penggunaan teknik non invasif pada satwa liar seperti muncak menjadi pilihan utama, karena tidak menimbulkan stres pada satwa tersebut. Teknik tersebut telah terbukti bermanfaat untuk memantau fungsi gonad dalam berbagai spesies *cervidae*, seperti pada *white tailed deer* (Kapke *et al. et al.*, 1999), *tule elk* (Stoops *et al.*, 1999), *pudu*: Blanvillain *et al.* 1999), *pudu* (Blanvillain *et al.*, 1997) sika deer: Hamasaki *et al.* 1997), *sika deer* (Hamasaki *et al.*, 2001), *Pe're David's deer* (Li *et al.*, 2001) *pampas deer* (Pereira *et al.*, 2005).

Deteksi Umur Pubertas Muncak Betina

Pubertas pada betina didefinisikan sebagai suatu fase saat hewan telah mampu bereproduksi secara seksual yang ditandai dengan tiga kejadian utama, yaitu estrus, ovulasi, dan tingkah laku kawin yang terjadi dalam waktu bersamaan (Senger 1999). Secara hormonal, indikator hewan sedang estrus adalah kondisi saat konsentrasi estrogen mencapai maksimum. Pada periode estrus, konsentrasi estrogen semakin meningkat sesuai dengan pertumbuhan folikel de Graaf. Folikel de Graaf akan terus membesar dan menjadi matang sehingga produksi hormon estrogen mencapai konsentrasi maksimal. Adanya peningkatan konsentrasi estrogen pada saat terjadinya estrus seperti disajikan pada Gambar 2, 3, dan 4.

Berdasarkan profil metabolit estrogen dan progesteron feses pada individu ML-1 (Gambar 2), diketahui munculnya sekresi estrogen tertinggi (puncak) pertama kali, dicapai pada umur empat bulan dua hari (122 hari), dengan konsentrasi 404,6 ng/g dibandingkan konsentrasi sebelum mencapai umur tersebut hanya 98,3 \pm 58,1 ng/g (kisaran, 38,7-211,7 ng/g). Kemudian puncak estrogen ke dua berulang pada saat mencapai umur enam bulan sembilan hari atau 189 hari dengan kadar estrogen 379,6

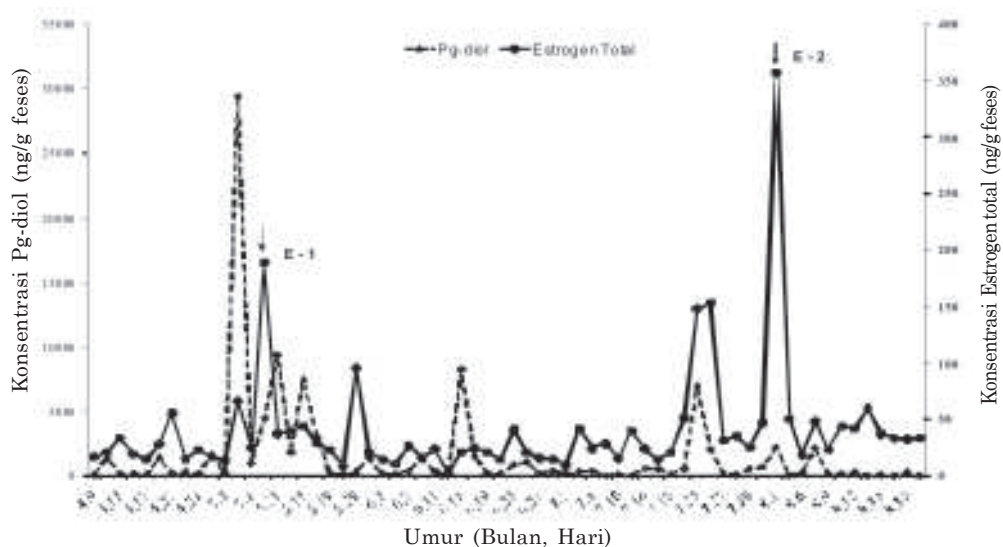


Gambar 2 Profil metabolit estrogen dan progesteron feses pada individu ML-1 (E-1: Estrus pertama; E-2: Estrus kedua).

ng/g. Tingginya sekresi estrogen pertama kali pada saat mencapai umur empat bulan dua hari tersebut menunjukkan individu ML-1 telah pubertas yaitu mengalami estrus dan ovulasi pertama kali atau aktivitas seksual individu telah dimulai. Menurut Varlinskaya *et al.*, (2013) peristiwa perubahan perkembangan individu ke arah pubertas antara lain terjadinya peningkatan kadar steroid pertama kalinya, yang berarti organ-organ reproduksi individu mulai berfungsi dan mampu bereproduksi secara seksual. Setelah mencapai puncak, konsentrasi estrogen perlahan menurun sampai individu ML-1 mencapai umur enam bulan tujuh hari (187 hari) pada konsentrasi estrogen 81,4±49,4 ng/g (kisaran 29,4-236,1 ng/g) dan selanjutnya konsentrasi estrogen meningkat lagi hingga mencapai puncak ke dua saat mencapai umur enam bulan sembilan hari dengan konsentrasi

379,6 ng/g.

Berdasarkan profil metabolit estrogen dan progesteron feses pada individu MN-2 (Gambar 3), diketahui munculnya sekresi estrogen tertinggi (puncak) pertama kali, dicapai pada umur lima bulan sembilan hari (159 hari) dengan konsentrasi estrogen sebesar 188,6 ng/g dibandingkan konsentrasi sebelum mencapai umur tersebut hanya 26,7±16,1 (kisaran 13,4-65,6) ng/g. Kemudian puncak estrogen berulang kembali berturut-turut pada umur lima bulan 29 hari (95,5 ng/g); tujuh bulan 26 hari (152,7 ng/g); dan delapan bulan satu hari (356,8 ng/g). Tingginya sekresi estrogen pertama kali pada saat mencapai umur lima bulan 29 hari tersebut menunjukkan individu MN-2 telah pubertas yaitu mengalami estrus dan ovulasi pertama kali atau aktivitas seksual individu telah dimulai.

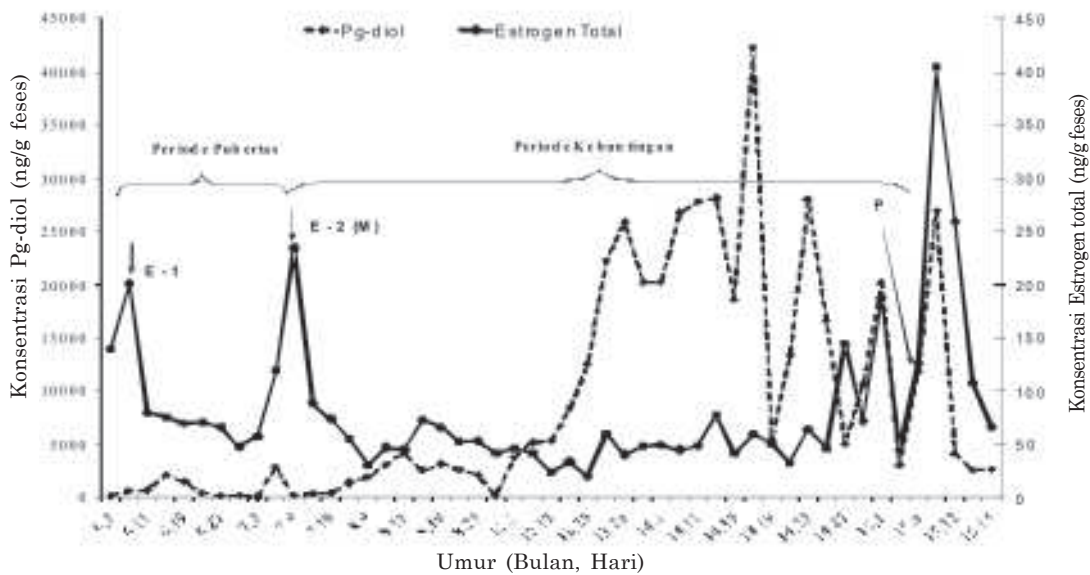


Gambar 3 Profil metabolit estrogen dan progesteron feses pada individu MN-2 (E-1: Estrus pertama; E-2: Estrus kedua).

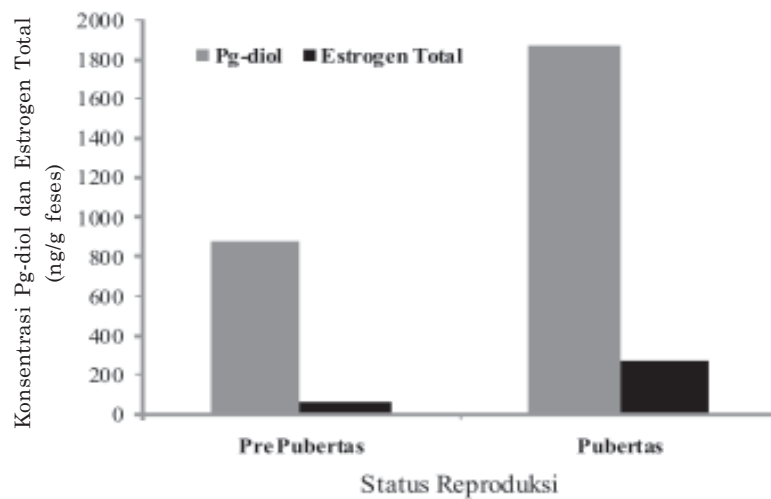
Berdasarkan profil metabolit estrogen dan progesteron feses pada individu MW-3 (Gambar 4), diketahui munculnya sekresi estrogen tertinggi (puncak) pertama kali, dicapai pada umur enam bulan sembilan hari (189 hari) dengan konsentrasi 201,0 ng/g dibandingkan konsentrasi sebelum mencapai umur tersebut hanya 139,5 ng/g. Kemudian puncak estrogen ke dua berulang pada saat mencapai umur tujuh bulan sembilan hari atau 219 hari dengan kadar estrogen 234,6 ng/g. Setelah itu konsentrasi estrogen menurun drastis, karena individu MW-3 memasuki periode kebuntingan. Hal ini dibuktikan setelah individu MW-3 dikawinkan

pada estrus pertama dan ditunggu beberapa waktu diketahui bunting, dan selang waktu tujuh bulan 26 hari atau pada saat individu MW-3 mencapai umur 15 bulan lima hari individu MW-3 partus pertama kali. Tingginya sekresi estrogen pertama kali pada saat mencapai umur enam bulan sembilan hari tersebut menunjukkan individu MW-3 telah pubertas yaitu mengalami estrus dan ovulasi pertama kali atau aktivitas seksual individu telah dimulai.

Berdasarkan peningkatan konsentrasi estrogen pertama kali dari ketiga individu tersebut disimpulkan bahwa umur pubertas muncak betina pada penelitian ini dicapai pada



Gambar 4. Profil metabolit estrogen dan progesteron feses pada individu MW-3 (E-1:Estrus pertama; E-2:Estrus kedua; M:Mating; P:Partus).



Gambar 5 Metabolit estrogen dan progesteron feses berdasarkan status reproduksi muncak betina (N=3)

saat umur empat bulan dua hari (individu ML-1); lima bulan sembilan hari (individu MN-2); dan enam bulan sembilan hari (individu MW-3) atau rata-rata 5 ± 1 bulan (kisaran, 4–6 bulan). Umur pubertas muncak betina pada penelitian ini lebih cepat dibandingkan dengan jenis muncak lainnya seperti pada muncak reevesi (*M. reevesi*) umur kawin pertama 5-7 bulan sedangkan muncak hitam (*M. crinifrons*) awal pubertas dicapai pada umur 10 bulan. Namun, masih berada di bawah kisaran muncak india (*M. muntjak*) yaitu kurang dari 12 bulan (Semiadi 2006). Sementara itu Asher (2011) menyatakan bahwa, famili *cervidae* memiliki potensi reproduksi yang lebih rendah yang meliputi fekunditas rendah (kelahiran tunggal) dan pematangan seksual di atas satu tahun. Sejalan dengan pernyataan Asher (2011), bahwa pada spesies rusa yang lain, umur pubertas dicapai paling rendah 12 bulan. Semiadi (2006), juga melaporkan hal yang sama, bahwa kebanyakan rusa betina pubertas terjadi pada umur 15-18 bulan, tetapi hal ini sangat dipengaruhi oleh bobot badan dan ketersediaan pakan. Rusa sambar (*C. unicolor*) di Selandia Baru mengalami pubertas pada umur 7-19 bulan (Asher *et al.*, 1997). Perkawinan yang dilakukan pada saat pubertas, menyebabkan induk sulit melahirkan, bahkan anak yang dilahirkan cenderung lemah, kurang sehat, bobot lahir rendah, dan pertumbuhan induk akan kerdil karena organ reproduksi belum berkembang secara sempurna (Asher 2011). Gambaran konsentrasi metabolit estrogen total dan pregnanediol berdasarkan status reproduksi muncak betina, disajikan pada Gambar 5.

Profil metabolit estrogen dan progesteron berdasarkan status reproduksi muncak (Gambar 5) menunjukkan bahwa periode prepubertas pada muncak betina mulai umur tiga bulan dengan konsentrasi metabolit progesteron adalah $880,3 \pm 599,2$ ng/g (kisaran 456,6-1304,0 ng/g). Konsentrasi metabolit estrogen adalah $62,6 \pm 50,4$ ng/g (kisaran 27,0-98,3 ng/g). Periode pubertas mulai pada umur 4-6 bulan dengan konsentrasi metabolit progesteron adalah $1869,8 \pm 1283,4$ ng/g (kisaran 449,2-2945,5 ng/g). Konsentrasi metabolit estrogen adalah $269,4 \pm 106,7$ ng/g (kisaran 198,4-392,1 ng/g). Hasil tersebut juga menunjukkan bahwa terjadi peningkatan 4,3 kali lipat konsentrasi metabolit estrogen dari periode pre pubertas sampai mencapai pubertas.

Umur pubertas pada muncak lebih cepat dibanding spesies rusa lainnya, kemungkinan disebabkan oleh perbedaan spesies atau bobot

badan. Muncak betina termasuk spesies rusa paling kecil, yaitu dengan bobot badan 20 kg, lebih ringan dibandingkan jenis rusa lainnya, sehingga mengalami estrus dan ovulasi lebih awal (Barrette 2004). *Onset* pubertas sangat dipengaruhi oleh bobot badan dibandingkan dengan umur. Pubertas dapat terjadi lebih awal atau lebih lambat tergantung pada genetik, nutrisi, lingkungan fisik, fotoperiod, umur, temperatur lingkungan, bobot badan, musim, dan sosial (Senger 1999). Pengembangan muncak di penangkaran, hendaknya memerhatikan kualitas dan kuantitas pakan yang diberikan, agar tidak menghambat perkembangan seksual dan pubertas. Menurut Asher (2011) nutrisi merupakan salah satu faktor penting yang mengatur saat terjadinya pubertas pada ternak. Kekurangan nutrisi, terutama energi berpengaruh langsung terhadap pertumbuhan badan dan fungsi endokrin.

SIMPULAN

Deteksi umur pubertas berdasarkan hasil analisis metabolit estrogen dan progesteron dalam feses sangat mungkin diterapkan pada muncak. Rataan pubertas muncak betina di penangkaran, dicapai pada umur 5 ± 1 bulan atau kisaran 4–6 bulan.

SARAN

Pengembangan muncak di penangkaran, hendaknya memperhatikan kualitas dan kuantitas pakan yang diberikan, agar tidak menghambat perkembangan seksual dan pubertas. Kekurangan nutrisi, terutama energi berpengaruh langsung terhadap pertumbuhan badan dan fungsi endokrin. Perkawinan pertama pada muncak betina disarankan minimal setelah mengalami estrus dua kali atau telah mencapai umur enam bulan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada Prof Dr DVM Franz Schwazemberger *Department of Biomedical Sciences-Biochemistry, Faculty of Veterinary Medicine, Vienna Austria* yang telah membimbing, menyediakan sarana dan prasarana untuk analisis hormon dan Direktorat Jenderal

Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia yang telah memberikan beasiswa melalui Program *Sandwich-like* Tahun 2012, sehingga penelitian dapat diselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Agil M. 2007. Reproductive Biologi of the Sumatran Rhinoceros *Dicerorhinus sumatrensis* (FISHER 1814). [dissertation] Bogor (ID). Bogor Agricultural University.
- Amaral RS, Rosas FCW, Viau P, d’Affonseca N, Silva VMF, Oliveira CA. 2009. Noninvasive monitoring of androgens in male Amazonian manatee (*Trichechus inunguis*): biologic validation. *J Zoo and Wildlife Med* 40: 458-465.
- Asher GW, Muir PD, Semiadi G, O’Neill KT, Scott IC, Barry TN. 1997. Seasonal patterns of luteal cyclicity in young red deer (*Cervus elaphus*) and sambar deer (*Cervus unicolor*). *J Reprod Fertil Dev* 9: 87–96.
- Asher GW. 2011. Reproductive cycles of deer. *J Anim Reprod Sci* 124: 170–175.
- Barrette C. 2004. Barking Deer or Muntjac (*Muntiacus muntjac* Zimmermann, 1780). *ENVIS Bulletin (Wildlife Institute of India, Dehra Dun)* 7: 17–28.
- Blanvillain C, Berthier JL, Bomsel-Demontoy MC, Sempe’re’ AJ, Olbricht G. 1997. Analysis of reproductive data and measurement of fecal progesterone metabolites to monitor the ovarian function in the Pudu, Pudu pada Artiodactyla, Cervidae. *J Mammalia* 61: 589–602.
- Hamasaki SI, Yamauchi K, Ohki T, Murakami M, Takahara Y, Takeuchi Y, Mod Y. 2001. Comparison of various reproductive status in sika deer (*Cervus nippon*) using fecal steroid analysis. *J Vet Med Sci* 63 (2): 195-198.
- Heistermann M, Tari S, Hodges JK. 1993. Measurement of fecal steroids for monitoring ovarian function in New-World Primates, Callitrichidae. *J Reprod Fertil* 99: 243–251
- Hodges JK, Heistermann M. 2003. Non-invasive assessment of reproductive function in primata. *J Evol Antropho. Suppl* (1): 180-182.
- IUCN] 2010. *Muntiacus muntjac*. (<http://www.iucnredlist.org/apps/redlist/details/42190/0> 2010
- Jack AMM, Chang CC, Peh HC, Chan JPW. 2012. Fecal progesterone analysis for monitoring reproductive status in dairy goats. *Turk J Vet Anim Sci* 36 (5): 566-57.
- Jurke MH, Hagey LR, Jurke S, Czekale NM. 2000. Monitoring Hormones in Urine and Feces of Captive Bonobos (*Pan paniscus*). *J Primates* 41 (3): 311-319.
- Kapke CA, Arcese P, Ziegler TE, Scheffler GR. 1999. Estradiol and progesterone metabolite concentration in white tailed deer (*Odocoileus virginianus*) feces. *J Zoo Wildl Med* 30 (3): 361–371.
- Krepeschi VG, Polegato BF, Zanetti ES, Duarte JMB. 2013. Fecal progestins during pregnancy and postpartum periods of captive red brocket deer (*Mazama americana*). *J Anim Reprod Sci* 137(1): 62–68.
- Kumar A, Mehrotra S, Dangi SS, Singh G, Chand S, Singh L, Mahla AS, Kumar S, Nehra K. 2013. Review : Faecal steroid metabolites assay as a non-invasive monitoring of reproductive status in animals. *J Vet world* 6 (1): 59-63.
- Kusudaa S, Itsuki A, Koh F, Masato N, Noriko AH, Nozomi G, Sayaka F, Osamu D. 2013. Reproductive characteristics of female lesser mouse deers (*Tragulus javanicus*) based on fecal progestagens and breeding records. *J Anim Reprod Sci* 137: 69–73.
- Li C, Jiang Z, Jiang G, Fang J. 2001 ; pampas deer: 2001. Seasonal changes of reproductive and fecal steroid concentrations in Pere David’s deer. *J Horm Behav* 40 (1): 198-215.
- Maheshwari H, Luthfirda S, Pudji A, Bambang P, Hadi SA, Dondin S, Reviany W. 2010. Fecal Steroid Profile of Female Javan Gibbons (*Hylobates moloch*) Maintained in Pairing-Typed Cage. *HAYATI Journal of Biosciences* 17(1): 43-49
- Mauget R, Mauget C, Dubost G, Charron F. 2007. Non-invasive assessment of reproductive status in Chinese water deer (*Hydropotes inermis*): correlation with sexual behavior. *J Mamm Biol* 72: 14-26.

- Pereira RJG, Duarte JMB, Negrão JA. 2005. Seasonal changes in fecal testosterone concentrations and their relationship to the reproductive behavior, antler cycle and grouping patterns in free-ranging male Pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus bezoarticus*). *Theriogenology* 63: 2113–2125.
- Pereira RJG, Polegato BF, Souza S, Negrão JA, Duarte JMB., 2006. Monitoring ovarian cycles and pregnancy in brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*) by measurement of fecal progesterone metabolites. *Theriogenology* 65: 387–399.
- Schwarzenberger et al. zenberger F, Francke R, Goltenboth. 1993. Concentration of faecal immunoreactive progestagen metabolites during the oestrous cycle and pregnancy in the black rhinoceros (*Diceros bicornis michaeli*). *J Reprod and Fert* 98: 285-291.
- Schwarzenberger F, Möstl E, Palme R, Bamberg E. 1996. Faecal steroid analysis for noninvasive monitoring of reproductive status in farm, wild and zoo animals. *J Anim Reprod Sci* 42: 515–526.
- Schwarzenberger F, Rietschel W, Vahala J, Holeckova D, Thomas P, Maltzan J, Baumgartner K, Schaftenaa W. 2000. Fecal progesterone, estrogen, and androgen metabolites for noninvasive monitoring of reproductive function in the female Indian Rhinoceros, *Rhinoceros unicornis*. *J Gen and Comp Endocrin* 119: 300-307.
- Semiadi G. 2001. Potensi pengembangan peternakan rusa sambar di Kabupaten Paser. (Laporan hasil penelitian dan pembinaan Fase 1. Lokakarya Pengembangan Bioteknologi Budidaya Rusa Sambar di Kalimantan Timur. Samarinda 6 Nopember 2001.
- Semiadi G. 2006. *Biologi Rusa Tropis*. Cetakan 1. Cibinong (ID). Penerbit Pusat Penelitian Biologi. LIPI. ISBN 979-579. Hlm: 63-85.
- Senger PL. 1999. *The Onset of Puberty*. Chapter 6. In: *Pathways to Pregnancy and Parturation*. Pullman: Current Conception. Inc. P: 101-114.
- Stoops MA, Anderson GB, Lasley BL, Shideler SE. 1999. Use of fecal steroid metabolites to estimate the pregnancy rate of a Fecal sexual steroids in water deer 25 free-ranging herd of tule elk. *J Wildl Manage* 63: 561–569.
- Varlinskaya EI, Vetter-O'Hagen CS, Spear LP. 2013. Puberty and gonadal hormones: Role in adolescent-typical behavioral alterations. *J Horm and Behav* 64: 343–349.