

Identification and Distribution of Carbohydrates on Sex Accessories Glands of Male Aceh Cattle

Muhammad Jalaluddin¹, Mustafa Sabri^{1*}, Herlina Yuliani², Fadli A Gani¹, Hamny¹, Sri Wahyuni¹

¹Laboratorium Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

*Corresponding Author

E-mail : Herlinayuliani94@gmail.com

ABSTRACT

This study aimed to determine the content and distribution of carbohydrate in the sex accessory glands of Aceh cattle. The sex accessory glands of Aceh cattle that were used consisted of a vesicular gland, prostate gland and bulbourethral gland. The entire gland was processed into histological preparation. The content of neutral carbohydrate distribution was observed with periodic acid Schiff (PAS) staining while acid carbohydrates using alcian blue (AB) staining pH 2,5. The results showed that the content and distribution patterns of carbohydrate acid and neutral carbohydrate were different on every sex accessory glands of Aceh cattle. The content of acid-carbohydrate with the intensity of reaction with moderate (++) to strong (+++) intensity was found on the prostate gland and bulbourethral gland. Meanwhile, the neutral carbohydrate with low intensity (+) was found in the vesicular gland, prostate gland and bulbourethral gland. The content of acid carbohydrate was scattered throughout the prostate gland and bulbourethral gland of Aceh cattle, a carbohydrate with high concentrations (+++) was found in the bulbourethral gland.

Key Words: Carbohydrate acid, Carbohydrate neutral, accessory sex glands, aceh cattle

PENDAHULUAN

Indonesia mempunyai kekayaan dan potensi sumber daya genetik ternak sapi potong nasional, yang telah dimanfaatkan sebagai sumber pangan, tenaga kerja, energi dan pupuk (Riady, 2004). Sapi aceh merupakan sapi potong lokal yang diduga berasal dari persilangan antara turunan *Bos sondaicus* dengan sapi turunan zebu dari India yaitu *Bos indicus* yang terjadi ratusan tahun lalu (Basri, 2006).

Penyebaran sapi aceh menurut laporan FAO (1996) terdapat di Aceh dan Sumatera Utara dengan jumlah yang tidak diketahui sampai saat ini. Namun, dari survei yang sudah dilakukan menunjukkan populasi sapi tersebut berada pada posisi yang mengkhawatirkan dan mengalami kecenderungan penurunan tidak hanya

dalam jumlah populasi tetapi juga dalam mutu genetik. Selain itu, kasus penyakit serta tata laksana program inseminasi buatan (IB) yang kurang terencana dan terkontrol secara baik diduga juga merupakan salah satu faktor yang menyebabkan penurunan populasi sapi (Anwar, 2004).

Mohamad dkk. (2001) menyatakan bahwa kelenjar asesoris berperan penting pada proses reproduksi, kelenjar ini menghasilkan sekreta yang merupakan bagian dari plasma semen, berfungsi sebagai nutrisi dan media transpor untuk spermatozoa, perlindungan terhadap berbagai kuman infeksi, dan pembilas saluran uretra terhadap sisa urin.

Ross dkk. (1995) menyatakan sekreta yang dihasilkan kelenjar asesoris kelamin jantan mengandung kation-kation, larutan penyangga (*buffer*), ion bikarbonat, asam

amino bebas, asam lemak, vitamin, enzim, dan karbohidrat kompleks.

Karbohidrat merupakan satu dari beberapa unsur komponen utama yang dihasilkan oleh sel-sel epitel kelenjar asesoris. Pola sebaran karbohidrat pada masing-masing kelenjar asesoris dapat dideteksi dengan metode histokimia spesifik *Alcian Blue-Periodic Acid Schiff* (AB-PAS). Pewarnaan AB dengan pH 2,5 dapat mewarnai kelompok karbohidrat asam, sedangkan pewarnaan PAS dapat mewarnai kelompok karbohidrat netral (Brancott, 1967).

Sebaran kandungan karbohidrat selain dapat menunjukkan jenis karbohidrat yang disekresikan juga dapat menunjukkan implikasi fisiologi seperti fase sintesis derajat kematangan, proses diferensiasi, interaksi antar sel serta perkembangan dari fungsi kelenjar tersebut. Pembentukan dan perkembangan kelenjar asesoris organ reproduksi jantan, baik morfologi maupun fisiologi diatur sepenuhnya oleh hormon testosteron (Mohamad dkk., 2001).

Sampai saat ini sebaran karbohidrat asam dan netral pada kelenjar asesoris kelamin sapi aceh jantan belum dilaporkan.

MATERI DAN METODE

Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas objek, gelas penutup, mikrotom, pisau mikrotom, *slide warmer* 37°C, *waterbath*, oven 60°C, mikroskop cahaya (Olympus CX31), mikroskopuler (*micrometer eye piece*), kertas label, botol untuk menyimpan sampel, skalpel dan pinset

Bahan – bahan yang digunakan adalah *buffered neutral formalin* (BNF) 10%, akuades, xilol, alkohol dengan konsentrasi bertingkat (70%, 80%, 90%, 95%, dan

absolut), NaCl fisiologis 0,95%, parafin (Merck), Entellan, Pewarna *alcian blue* (AB) seperti akuades, asam asetat, nuclar fast red, *alcian blue* dan *periodic acid Schiff* (PAS) seperti akuades, periodic acid, shiff reagent, mayer hematoksilin dan air sulfit.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif. Untuk mendeteksi kandungan karbohidrat asam dan netral pada kelenjar asesoris sapi aceh jantan yang diambil dari Rumah Potong Hewan (RPH) kota Banda aceh, sebanyak 3 ekor sapi aceh jantan. Selanjutnya diproses menjadi preparat histologi. Preparat histologi akan diwarnai dengan pewarnaan AB dan PAS.

Pengambilan sampel

Penelitian ini menggunakan tiga ekor sapi aceh (*Bos indicus*) jantan dewasa yang diperoleh dari Rumah Potong Hewan (RPH) Banda Aceh, Provinsi Aceh. Setelah hewan disembelih, kelenjar prostat, kelenjar vesikularis, dan kelenjar bulbouretralis, segera dipisahkan dari organ reproduksi lainnya. Kelenjar tersebut diambil setebal 0,5 cm, kemudian dimasukkan ke dalam larutan BNF, selanjutnya dilakukan pemrosesan jaringan untuk pengamatan mikroskopis.

Pembuatan preparat histologi

Pembuatan preparat histologis mengacu pada metode Kiernan (1990) yang telah dimodifikasi. Meliputi proses fiksasi, dehidrasi, *clearing*, infiltrasi, *embedding*, dan *sectioning*. Untuk membuat preparat histologi, masing-masing kelenjar asesoris yang telah difiksasi dengan larutan BNF, dimasukkan kedalam larutan alkohol 70% sebagai *stopping point*.

Proses penarikan air dari jaringan (dehidrasi) dilakukan menggunakan alkohol dengan konsentrasi bertingkat (80% dan 90%) masing-masing selama 12 jam, alkohol 95% selama 6 jam, selanjutnya alkohol absolut I, dan II, masing-masing selama 3 jam dan alkohol absolut III selama 2 jam. selanjutnya dilakukan penjernihan (*clearing*) dengan xilol I selama 2 jam, selanjutnya II dan III masing-masing selama 1 jam kemudian dilakukan infiltrasi jaringan dalam parafin cair sebanyak 3 (tiga) kali ulangan masing-masing selama 1 jam pada suhu 60°C. Selanjutnya dilakukan dengan penanaman (*embedding*) dalam parafin sehingga menjadi blok parafin. Kemudian blok parafin dipotong (*sectioning*) menggunakan mikrotom dengan ketebalan 3 µm sebanyak 2 *slide* dari masing-masing kelenjar tersebut. Selanjutnya preparat tersebut dilekatkan pada gelas objek, kemudian disimpan didalam *slide warmer* 37°C selama 24 jam.

Pewarnaan alcian blue (AB) pH 2,5

Pewarnaan AB bertujuan untuk melihat kelompok karbohidrat asam yang ada pada jaringan. Deparafinisasi jaringan dilakukan menggunakan xilol dan alkohol dengan konsentrasi menurun (95%, 90%, 80%,70%). Dicuci dengan asam asetat 3% selama 5 menit. Lalu direndam dalam AB pH selama 25-30 menit. Selanjutnya dilakukan kembali pencucian dengan menggunakan 3% asam asetat selama 5 menit. Kemudian dimasukan ke dalam aquades selama 5 menit. Langkah berikutnya adalah *counterstain* dengan nuclear fast red sambil diamati di mikroskop. Tahap selanjutnya adalah dehidrasi, *clearing*, *mounting*. Pengamatan terhadap ada tidaknya sebaran karbohidrat asam dilakukan dengan mikroskop cahaya.

Reaksi positif pada jaringan ditandai dengan adanya warna hijau-kebiruan.

Pewarnaan periodic acid Schiff (PAS)

Pewarnaan PAS bertujuan untuk melihat adanya kelompok karbohidrat netral. Deparafinisasi jaringan dilakukan menggunakan xilol dan alkohol dengan konsentrasi menurun (95%, 90%, 80%,70%). Selanjutnya dilakukan oksidasi jaringan dalam larutan 0,5-1% *periodic acid* selama 5 menit, diikuti selanjutnya pembilasan dengan aquades. Jaringan kemudian dimasukan ke dalam larutan *Schiff* reagent selama 15 menit dilakukan pembilasan dengan air sulfit selama 5 menit. Dilakukan kembali pembilasan dengan aquades selama 5 menit. Langkah berikutnya adalah *counterstain* dengan *Meyer's* hematoksin, untuk mewarnai latar jaringan, selanjutnya dilakukan dehidrasi, *clearing* dan *mounting*. Reaksi positif pada pewarnaan PAS ditandai dengan adanya warna magenta–merah pada jaringan yang diperiksa.

Analisis Data

Data hasil pengamatan terhadap sebaran karbohidrat asam dan netral pada ketiga kelenjar asesoris sapi aceh jantan dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap identifikasi dan distribusi karbohidrat pada kelenjar asesoris sapi aceh jantan dengan pewarnaan AB dan PAS diketahui bahwa terdapat perbedaan intensitas dan konsentrasi pola sebaran karbohidrat netral dan karbohidrat asam dari masing-masing kelenjar asesoris sapi aceh jantan. Adapun sebaran kedua tipe karbohidrat tersebut pada kelenjar

vesikularis, kelenjar prostat dan kelenjar bulbouretralis sapi aceh dapat dilihat pada Tabel 1.

Kelenjar Vesikularis

Hasil pewarnaan terhadap kelenjar vesikularis pada bagian sekreta kelenjar dan septum interlobular reaksi yang terlihat menunjukkan intensitas rendah dengan konsentrasi lemah (+) terhadap pewarnaan PAS dan memperlihatkan reaksi negatif (-) terhadap pewarnaan AB. Hal tersebut menunjukkan bahwa kelenjar vesikularis mengandung karbohidrat netral dengan konsentrasi rendah. Pola sebaran karbohidrat pada kelenjar vesikularis sapi aceh tersebut diduga berbeda dengan sebaran karbohidrat pada kelenjar vesikularis hewan lain, seperti yang pernah dilaporkan pada muncak (Wahyuni dkk., 2014) menyatakan pada kelenjar vesikularis bagian sitoplasma sel, sekreta lumen, dan tunika muskularis menunjukkan intensitas reaksi sedang sampai kuat terhadap pewarnaan PAS. Beberapa peneliti telah melaporkan bahwa sitoplasma sel kelenjar vesikularis mengandung karbohidrat netral dan karbohidrat asam dengan konsentrasi rendah (+) sampai kuat (+++). Adapun struktur histologi dan kandungan karbohidrat kelenjar vesikularis sapi aceh dapat dilihat pada Gambar 1.

Struktur histologi kelenjar vesikularis muncak secara umum sama dengan struktur histologi kelenjar vesikularis domba, yaitu terdiri dari otot polos yang membungkus kelenjar sekretori. Bagian histologi dari ampula terdiri atas tunika muskularis, fibrosit, sekreta, lumen, sitoplasma, epitel kolumnar, dan trabekuli. Kelenjar tersebut terbagi dalam beberapa lobulus dan tiap lobulus dipisahkan oleh jaringan ikat yang terdiri atas otot polos (Wahyuni dkk., 2013).

Sekret yang dihasilkan kelenjar vesikularis sapi berupa gelatin, berwarna

putih atau kekuningan, serta volume yang dikeluarkan sebanyak 25-30% setiap kali ejakulasi. Sekret tersebut banyak mengandung fruktosa yang berperan sebagai sumber energi bagi spermatozoa yang akan diejakulat (Dellmann dan Brown, 1992).

Sekret kelenjar vesikularis ini bersifat basa sehingga berguna untuk menetralkan pH asam pada cairan sperma, karena suasana asam pada saluran reproduksi betina dapat menyebabkan kematian dan menghambat perkembangan spermatozoa (Tenzer, 1996). Sekret yang dihasilkan kelenjar tersebut juga mengandung fruktosa yang berperan penting dalam mempertahankan viabilitas sperma dan sebagai sumber energi untuk motilitas spermatozoa (Miller dkk., 1977).

Kelenjar Prostat

Sitoplasma sel dan sekreta pada kelenjar prostat sapi aceh menunjukkan intensitas reaksi sedang (++) terhadap pewarnaan AB, pada septum interlobular intensitas reaksi rendah (+) terhadap pewarnaan PAS. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada kelenjar prostat sapi aceh terdapat kandungan karbohidrat asam yang ditandai dengan konsentrasi sedang, sedangkan pada karbohidrat netral menunjukkan konsentrasi rendah. Kandungan karbohidrat kelenjar prostat sapi aceh berbeda dengan kandungan karbohidrat kelenjar prostat tikus yang pernah dilaporkan (Tsukise dan Yamada, 1981) bahwa kandungan karbohidrat netralnya lebih tinggi dibandingkan dengan karbohidrat asam. Struktur histologi dan kandungan karbohidrat kelenjar prostat sapi aceh dapat dilihat pada Gambar 2.

Kelenjar prostat berfungsi untuk mengumpulkan cairan yang berasal dari kelenjar vesikularis, cairan tersebut berguna sebagai penyumbat vagina setelah kopulasi.

Sumbatan vagina pada *orificium vaginae* bertujuan untuk mencegah masuknya sperma hewan lain ke dalam saluran reproduksi betina (Wahyuni dkk., 2014). Fungsi lain dari kelenjar prostat adalah untuk menetralkan plasma semen, dengan membuatnya menjadi asam dengan mengakumulasi metabolit karbondioksida dan asam laktat, dan juga untuk meningkatkan gerakan spermatozoa ketika ejakulat. Jumlah sekreta yang dihasilkan kelenjar prostat terhadap volume total setiap ejakulasi sangat bervariasi, tergantung pada spesies. Pada ruminansia jantan, sekreta yang dihasilkan berkisar 4-6%, kuda jantan 25-30%, dan babi jantan 35-60% (Dellmann dan Brown, 1992).

Kandungan karbohidrat asam yang terdapat lobulus-lobulus kelenjar vesikularis sangat bervariasi, yang terdapat reaksi negatif sampai positif dengan konsentrasi rendah (+), hal ini menandakan adanya perbedaan derajat keaktifan proses sintesis karbohidrat asam di kelenjar tersebut. Adanya kandungan karbohidrat asam dan karbohidrat netral pada kelenjar prostat diperkirakan karena sel-sel kelenjar tersebut dalam fase mensintesis karbohidrat.

Kelenjar Bulbouretralis

Pada hasil pengamatan terlihat bahwa sitoplasma sel dan sekreta kelenjar bulbouretralis sapi aceh menunjukkan intensitas reaksi sedang (++) sampai kuat (+++) sedangkan sekreta kelenjar bereaksi negatif (-) terhadap perwarnaan AB. Pada sekreta intensitas reaksi menunjukkan hasil rendah (+) terhadap perwarnaan PAS. Hal ini menunjukkan bahwa kelenjar bulbouretralis mengandung karbohidrat asam dengan konsentrasi yang tinggi (+++), namun mengandung karbohidrat netral dengan konsentrasi rendah (+). Keadaan ini berbeda dengan konsentrasi karbohidrat

pada kelenjar bulbouretralis di beberapa hewan yang pernah dilaporkan, seperti pada tupai memperlihatkan kandungan karbohidrat asam dan karbohidrat netral dengan intensitas tinggi dengan konsentrasi tinggi (Desiani dkk., 2000). Struktur histologi dan kandungan karbohidrat kelenjar bulbouretralis sapi aceh dapat dilihat pada Gambar 3.

Struktur histologi kelenjar bulbouretralis sapi aceh terdiri atas sekreta, lumen, sitoplasma, badan basal, dan sel epitel. Epitel kelenjar bulbouretralis, merupakan epitel silindris banyak baris dengan inti terletak di basal. Kelenjar bulbouretralis terdapat pada semua hewan baik ruminansia maupun karnivora, tetapi kelenjar ini tidak ditemukan pada anjing (Dellmann dan Brown, 1992).

Kelenjar bulbouretralis menghasilkan sekresi yang bersifat mukus dan mirip protein, pada ruminansia sekret ini diproses saat ejakulat. Kelenjar ini berperan untuk menetralkan lingkungan urethra dan melumasi urethra serta vagina saat ejakulasi. Pada babi jantan, hasil sekresi mukous (15-30%), yang kaya akan asam sialik (*sialik acid*) merupakan sebagian dari ejakulat (Dellmann dan Brown, 1992).

Secara fungsional kelenjar vesikularis dan kelenjar prostat lebih berperan penting pada proses reproduksi sebagai sumber plasma semen, sedangkan kelenjar bulbouretralis berperan ganda sebagai penghasil plasma semen dan juga sebagai pembilas saluran urethra (Desiani dkk., 2000).

Kelenjar vesikularis dan kelenjar prostat, pada kebanyakan mamalia umumnya mengandung karbohidrat netral dengan konsentrasi yang bervariasi dan mengandung, karbohidrat asam dengan konsentrasi rendah sampai tidak ada, sedangkan kelenjar bulbouretralis mengandung karbohidrat asam yang lebih

tinggi. Pada sapi, kandungan karbohidrat netral yang tinggi pada kelenjar prostat kemungkinan menunjukkan bahwa kelenjar prostat tersebut berfungsi lebih dominan dalam aspek reproduksi dibanding kelenjar yang lain.

KESIMPULAN

Kandungan karbohidrat asam ditemukan pada kelenjar asesoris sapi aceh jantan, dengan konsentrasi sedang (++) sampai tinggi (+++) yang ditemukan pada kelenjar bulbouretralis. Kandungan karbohidrat netral ditemukan pada kelenjar vesikularis, kelenjar prostat dan kelenjar bulbouretralis sapi aceh dengan konsentrasi rendah (+).

DAFTAR PUSTAKA

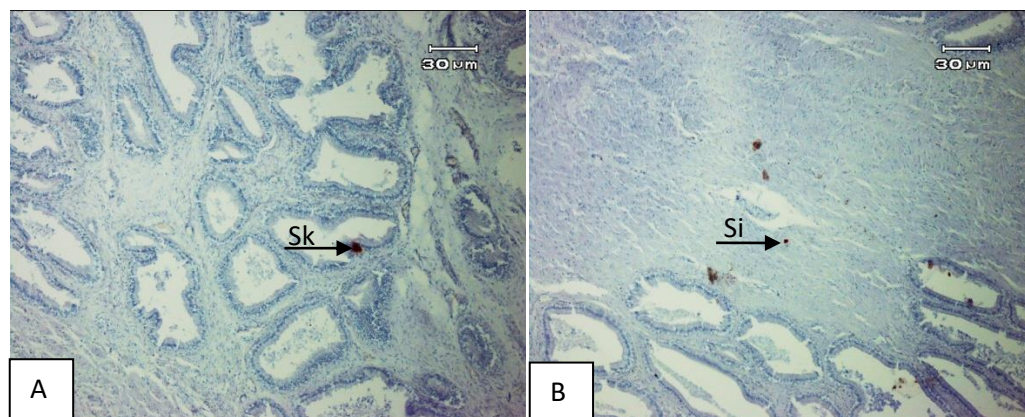
- Anwar, S. 2004. Kajian Keragaman Karakter Eksternal dan DNA Mikrosatelit Sapi Pesisir Sumatera Barat. **Disertasi**. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Basri, H. 2006. **Penelusuran Arah Pembibitan Sapi Aceh**. Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Syiah Kuala Darussalam, Banda Aceh.
- Brancoft, D.J. 1967. **An Introduction to Histochemical Technique**. Division of Meredith. London
- Dellmann, H.D., dan E.M Brown. 1992. **Buku Teks Histologi Veteriner II**. Edisi ketiga. Fakultas Peternakan UGM. Yogyakarta
- Desiani, H., K. Mohamad, I.K.M. Adnyane, dan S. Agungpriyono. 2000. Studi morfologi kelenjar asesoris kelamin jantan tupai (*Tupaia glis*) dengan tinjauan khusus pada sebaran karbohidrat. **Media Veteriner**. 7(4):6-10.
- FAO. 1996. **The Management of Global Animal Genetic Resources** FAO. proceeding and FAO Expert Consultation, Roma.
- Kiernan, J.A. 1990. **Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice**. 2nd ed. Pergamon Press, England.
- Miller, A.M., A.B. Drakontides, and L.C. Leavell. 1977. **Anatomy and physiology**. Macmillan Publishing Co. Inc., New York.
- Mohamad, K., N. Savitri, I.K.M. Adnyane, dan S. Agungpriyono. 2001. Morfologi dan kandungan karbohidrat kelenjar aksesori organ reproduksi tikus jantan pada umur sebelum dan setelah pubertas. **Hayati**. 4(1):91-97.
- Riady, M. 2004. Tantangan dan peluang peningkatan produksi sapi potong menuju 2020. **Prosiding Lokakarya Nasional Sapi Potong**. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Yogyakarta.
- Ross, M. H., L.J. Romrell, and G.I. Kaye. 1995. **Histology: A Text and Atlas**. Williams and Wilkins. A Waverly Company. USA.
- Tenzer, A. 1996. Peranan kelenjar seks asesoris dalam menentukan fertilitas mamalia jantan. **Tesis**. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. IKIP, Malang.
- Tsukise, A. and K. Yamada. 1981. The histochemistry of complex carbohydrates in the epihelium lining the ventral prostate of the rat. **J. Histochemistry**. 72 (2): 215-227
- Wahyuni, S., B. Anggara, M. Akmal, Hamny, dan M. Sabri. 2014. Pola sebaran karbohidrat pada kelenjar asesoris kelamin muncak jantan. **Jurnal Medika Veterinaria**. 8(2):141-146
- Wahyuni, S., L.E.M. Manik., S. Agungpriyono, M. Agil, T.L. Yusuf, Hamny, dan I. K. M. Adnyane. 2013. Morfologi kelenjar aksesori kelamin muncak (*Muntiacus muntjak muntjak*) jantan. **Acta Veterinaria Indonesiana**. (1):81-90

LAMPIRAN

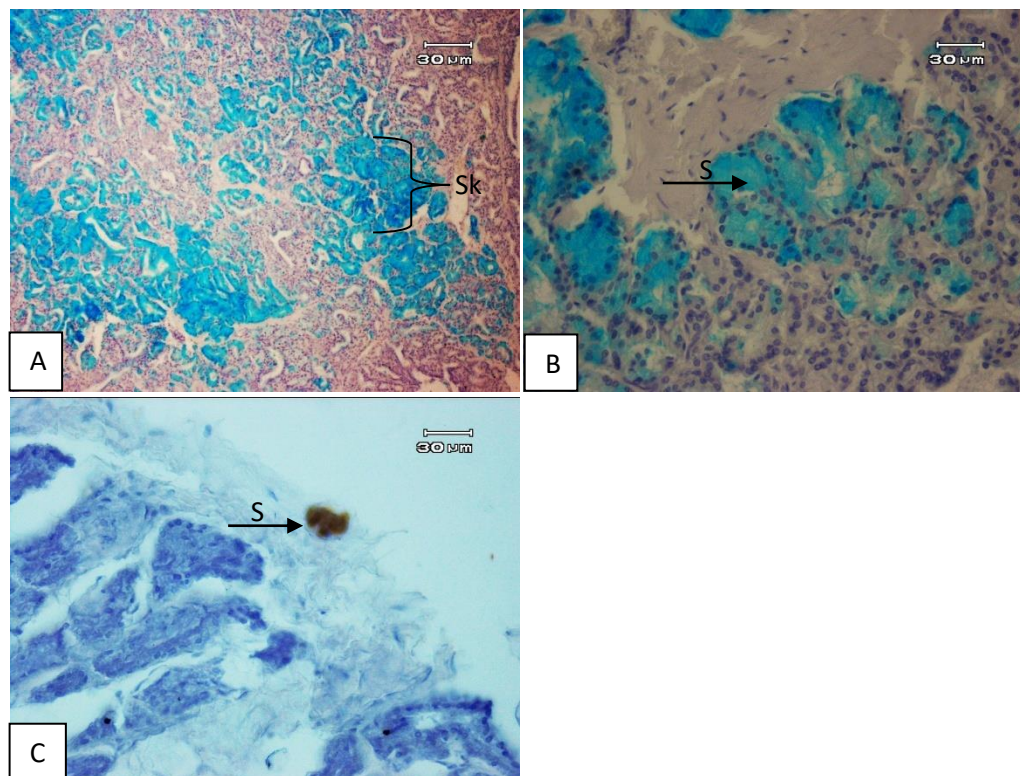
Tabel 1. Identifikasi dan distribusi karbohidrat pada kelenjar asesoris sapi aceh jantan

Kelenjar asesoris	Sapi 1		Sapi 2		Sapi 3	
	AB	PAS	AB	PAS	AB	PAS
Kelenjar vesikularis						
a. Sitoplasma sel	-	-	-	-	-	-
b. Sekreta kelenjar	-	-	-	-	-	+
c. Septum interlobular	-	-	-	+	-	+
Kelenjar prostat						
a. Sitoplasma sel	++	+	++	-	++	-
b. Sekreta kelenjar	++	-	++	-	++	-
c. Septum interlobular	-	+	-	-	-	-
Kelenjar bulbouretralis						
a. Sitoplasma sel	+++	-	+++	-	+++	-
b. Sekreta kelenjar	+++	+	+++	-	+++	+

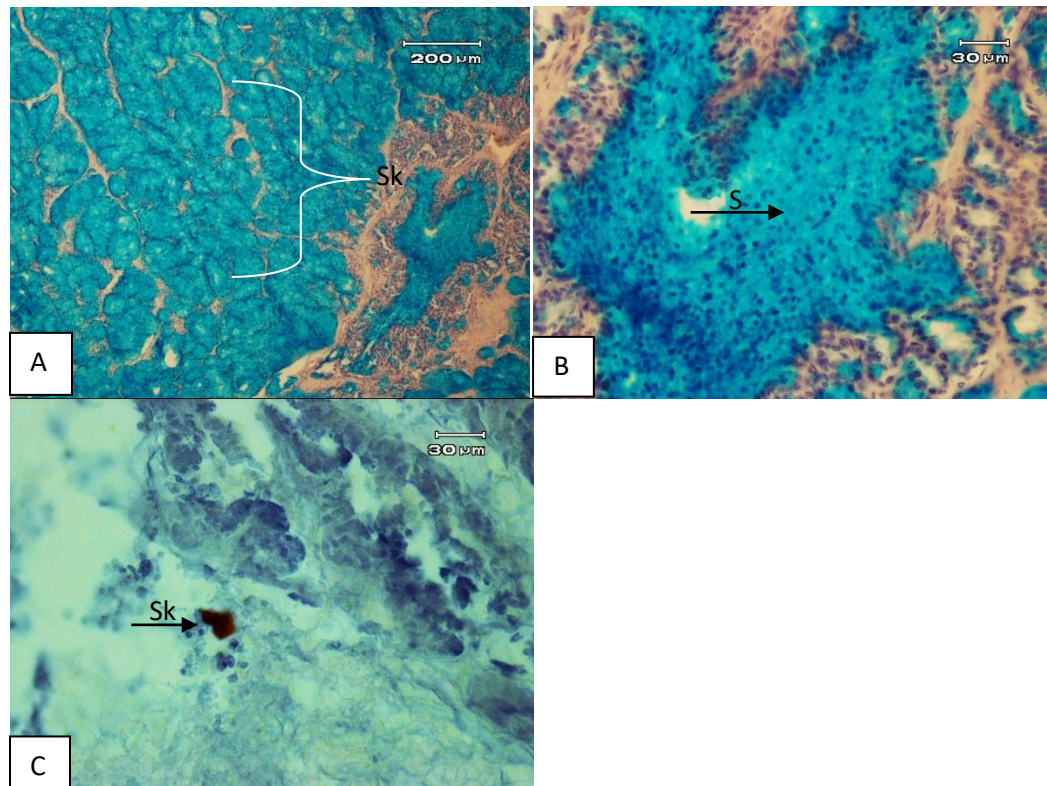
Keterangan: Intensitas reaksi kelenjar asesoris terhadap pewarnaan AB dan PAS yang, mengindikasikan adanya kandungan karbohidrat asam dan basa secara kualitatif. Negatif (-), intensitas lemah dan konsentrasi rendah (+), intensitas sedang dan konsentrasi sedang (++), intensitas kuat dan konsentrasi tinggi (+++)



Gambar 1. Kandungan karbohidrat pada kelenjar vesikularis sapi aceh jantan. A. Kandungan karbohidrat netral pada sekreta kelenjar (Sk), dan B. Kandungan karbohidrat netral pada septum interlobular (Si)



Gambar 2. Kandungan sebaran karbohidrat kelenjar prostat sapi aceh. A. Kandungan karbohidrat asam pada sekreta kelenjar (Sk), B. Kandungan karbohidrat asam pada sitoplasma sel kelenjar prostat (S), reaksi positif terhadap pewarnaan AB (warna hijau- kebiruan), C. Karbohidrat netral pada sitoplasma sel (S) menunjukkan reaksi positif terhadap PAS (warna magenta)



Gambar 3. Kandungan sebaran karbohidrat pada kelenjar bulbouretralis sapi aceh jantan A. Kandungan karbohidrat asam pada glandula (Sk), dan B. Sebaran karbohidrat asam pada sitoplasma (S) menunjukkan reaksi positif terhadap pewarnaan AB, dan C. sebaran karbohidrat netral pada sekreta (Sk) menunjukkan reaksi positif terhadap pewarnaan PAS.