



2022

POLICY BRIEF

Pertanian, Kelautan, dan Biosains Tropika

Vol.4 No.4, 2022

Pengembangan Uji Berbasis Molekuler *Protamine-1 (Prm1)* Sebagai Penentu Tingkat Fertilitas Untuk Proses Seleksi Dan Kebijakan Pengafkiran Sapi Pejantan Unggul Di Indonesia

B Purwantara^{1*}, BP Pardede^{1*}, M Agil¹, I Supriatna¹, NWK Karja¹, RI Arifiantini¹, C Sumantri²

¹ Departemen Klinik, Reproduksi, dan Patologi, Sekolah Kedokteran Hewan, IPB University

² Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, IPB University

*Email: purwantara@apps.ipb.ac.id; berlin_dvm@apps.ipb.ac.id

Isu Kunci

- **INSEMINASI BUATAN** sebagai upaya peningkatan populasi dan mutu ternak sapi di Indonesia dalam rangka pemenuhan kebutuhan protein hewani masyarakat Indonesia angka keberhasilannya masih belum maksimal.
- **FERTILITAS** sapi pejantan yang merupakan salah satu faktor kunci keberhasilan inseminasi buatan tidak lagi dapat ditentukan hanya berdasarkan kualitas (fisiologis dan biologis) semen.
- **UJI MOLEKULER** pada spermatozoa terbukti lebih akurat dalam ikut serta menentukan fertilitas sapi pejantan.

Ringkasan

Standar kualitas semen yang berperan penting dalam keberhasilan inseminasi buatan (IB) sebagai upaya peningkatan populasi dan mutu ternak sapi di Indonesia terbukti tidak sepenuhnya mampu menentukan tingkat fertilitas sapi pejantan di Indonesia. Studi terbaru membuktikan bahwa meskipun sudah memenuhi standar kualitas semen yang sudah ditetapkan, namun tiga dari enam ekor sapi pejantan di Indonesia masih tergolong fertilitas rendah (<60%). Potamine-1 (PRM1) merupakan molekul pada inti spermatozoa yang telah terbukti memiliki hubungan erat dengan fungsi fertilitas dan kualitas spermatozoa pada berbagai sapi pejantan di Indonesia. Hal tersebut mendasari usulan pengembangan uji berbasis molekul PRM1 sebagai penentu tingkat fertilitas yang diharapkan dapat digunakan untuk proses seleksi dan kebijakan pengafkiran sapi pejantan unggul di Indonesia. Melalui policy brief ini diharapkan usulan pengembangan uji tersebut dapat lebih tersampaikan dengan segala solusi yang diberikan, termasuk terkait pendekatan uji berbasis molekul yang paling tepat digunakan, kajian-kajian lanjutan, dan berbagai harapan dukungan dari segala pihak demi terwujudnya pengembangan uji PRM1.

Pendahuluan

Peningkatan populasi sapi di Indonesia, khususnya sapi potong merupakan salah satu program yang dicanangkan oleh pemerintah Indonesia dalam upaya untuk mengurangi ketergantungan pada impor daging sapi dan sapi bakalan. Hal ini diharapkan akan berdampak pada pemenuhan ketersediaan daging sapi yang sehat dengan harga yang terjangkau, sehingga kebutuhan protein hewani masyarakat Indonesia dapat terpenuhi. Peningkatan populasi sapi di Indonesia tersebut merupakan tujuan utama dari program Swasembada Daging Sapi pada tahun 2026 yang menjadi visi jangka panjang pemerintah Indonesia sejak tahun 2016. Program Upaya Khusus Sapi Induk Wajib Bunting (UPSUS SIWAB) yang telah berubah nama menjadi Sapi Kerbau Komoditas Andalan Negeri (SIKOMANDAN) didukung dengan penerapan program IB diyakini oleh pemerintah mampu mewujudkan program swasembada daging tersebut.

Fakta di lapangan menunjukkan bahwa angka keberhasilan IB masih relatif rendah. Hasil temuan riset kami yang terbaru (Pardede *et al.* 2022) melaporkan masih ditemukannya 3 dari 6 ekor sapi pejantan Limousin, Friesian Holstein, dan Peranakan Ongole di Indonesia memiliki tingkat fertilitas yang masih relatif rendah (<60%). Temuan riset kami lainnya pada tahun 2020, juga melaporkan masih adanya *conception rate* <30% pada sapi-sapi pejantan Friesian Holstein di Indonesia (Rosyada *et al.* 2020). Padahal, sapi-sapi pejantan dengan fertilitas yang masih relatif rendah tersebut merupakan sapi pejantan unggul yang sebelumnya sudah diseleksi sesuai dengan prosedur yang berlaku, terutama dengan sudah terpenuhinya kualitas semen berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) (motilitas spermatozoa post-thawing $\geq 40\%$).

Hingga pada saat ini, selain penilaian fisik dan libido, seleksi sapi pejantan unggul di Balai-Balai IB di Indonesia difokuskan pada nilai kualitas semen dengan standar nilai yang sudah ditetapkan, yakni motilitas spermatozoa post-thawing pada semen beku harus memenuhi $\geq 40\%$. Hal ini dinilai belum cukup akurat untuk menginterpretasikan fertilitas pejantan. Alves *et al.* (2020) mengungkapkan untuk mencapai keberhasilan fertilisasi yang maksimal, penilaian

kualitas semen dari struktur dan morfo-fungsional spermatozoa saja tidaklah cukup. Data dari klinik fertilitas menunjukkan bahwa sekitar 30% sampel spermatozoa yang menunjukkan persentase tinggi dari aspek struktur dan morfo-fungsional tersebut, masih tidak dapat membuahi sel telur (oosit) ataupun memicu perkembangan awal embrio. Penelitian pada sapi pejantan di Indonesia juga menunjukkan hal yang sama, yang mana meskipun kualitas semen telah memenuhi SNI semen beku, namun tingkat fertilitas di lapangan masih belum mencapai angka konsepsi yang baik (Pardede *et al.* 2022; Rosyada *et al.* 2020; Pardede *et al.* 2020). Kemajuan berbagai teknologi terbaru dalam analisis konten molekuler dan sub seluler spermatozoa menunjukkan bahwa faktor intrinsik dasar pembentuk spermatozoa berperan penting dalam perkembangan awal embrio dan sangat berpotensi sebagai evaluasi penentu fertilitas (Alves *et al.* 2020). Selain DNA paternal, spermatozoa mengandung banyak molekul dan organel, yang telah dikembangkan dalam penelitian fundamental. Adapun molekul-molekul intrinsik dasar pembentuk spermatozoa tersebut antara lain seperti molekul DNA, RNA, dan protein spermatozoa, yang secara molekuler dan seluler berperan penting mengatur berbagai fungsi normal spermatozoa hingga proses pasca-fertilisasi (Boerke *et al.* 2007).

Protamine (PRM) spermatozoa merupakan protein utama pengikat DNA paternal dalam nukleus spermatozoa yang mengemas DNA spermatozoa secara optimal dan melindungi integritas genetik genom paternal dari berbagai faktor yang dapat merusak DNA (Olivia 2006). PRM spermatozoa bervariasi dari spesies ke spesies, manusia (Corzett *et al.* 2002), tikus dan hamster (Bower *et al.* 1987), ada dua jenis gen PRM yang berperan dalam fungsi normal spermatozoa, yakni gen PRM1 dan PRM2. Sedangkan pada sapi (Beletti *et al.* 2005) dan babi (Maier *et al.* 1990), gen PRM1 merupakan jenis PRM yang paling penting dalam fungsi normal spermatozoa, meskipun PRM2 dan PRM3 juga dilaporkan terekspresi pada testis sapi (Pardede *et al.* 2021). Spermatozoa yang mengalami defisiensi PRM akan menyebabkan kerusakan DNA yang kan berakibat pada kegagalan fertilisasi, terhambatnya perkembangan embrio,

penurunan kemampuan implantasi, kegagalan kebuntingan, sehingga akan memperpanjang *calving interval* (Seli *et al.* 2004; Virro *et al.* 2004).

Berbagai dampak negatif lainnya sebagai akibat rendahnya kandungan ataupun absennya keberadaan PRM pada spermatozoa dan kaitannya dengan fertilitas juga telah banyak dilaporkan. Pada tingkat DNA, gen PRM ditemukan memiliki perubahan genotipe yang lebih tinggi pada manusia dengan kondisi asthenozoospermia. Pada tingkat RNA, rendahnya ekspresi gen PRM dilaporkan berkaitan dengan infertilitas, yang diikuti dengan penurunan kualitas semen, seperti konsentrasi, penurunan motilitas, peningkatan morfologi abnormal, dan kerusakan DNA spermatozoa (Aoki dan Carrell 2003). Penurunan kualitas semen berupa kerusakan akrosom, DNA, membran plasma, dan penurunan motilitas spermatozoa juga dilaporkan sebagai akibat ekspresi abnormal gen PRM pada tikus (Schneider *et al.* 2016). Takeda *et al.* (2016) juga melaporkan adanya kerusakan membran mitokondria yang penting untuk pergerakan flagella dan motilitas spermatozoa pada tikus dengan defisiensi PRM. Rendahnya kandungan PRM1 pada spermatozoa, pada tingkat RNA dan protein berhubungan dengan rendahnya tingkat fertilitas di lapangan pada berbagai sapi pejantan di Indonesia juga telah dilaporkan baru-baru ini (Pardede *et al.* 2022). Temuan pada sapi pejantan, sebelumnya juga telah dilaporkan oleh Dogan *et al.* (2015) yang mana ekspresi protein PRM1 pada spermatozoa mengalami penurunan pada sapi pejantan dengan tingkat fertilitas yang rendah. Berbagai hasil penelitian sejauh ini menunjukkan bahwa molekul PRM spermatozoa memiliki peranan penting dalam mengatur fungsi normal spermatozoa dan berpotensi sebagai penanda molekuler pada status reproduksi pejantan. Pengembangan uji berbasis molekuler PRM1 diharapkan akan sangat efektif dan akurat dalam menentukan fertilitas pejantan sapi dan akan sangat berguna dalam proses seleksi ataupun kebijakan pengafkiran sapi pejantan unggul di Indonesia.

Pembahasan

PRM1 merupakan jenis PRM pada spermatozoa sapi yang paling berperan penting

dalam mengatur berbagai fungsi normal spermatozoa (Beletti *et al.* 2005). Secara umum PRM merupakan protein utama di dalam inti spermatozoa yang terbentuk pada fase spermiogenesis (Depa-Martynow *et al.* 2011). Pada fase spermiogenesis terjadi proses pergantian protein dalam inti spermatozoa, yang semula didominasi oleh histon, kemudian digantikan oleh PRM melalui proses kompleks seperti metilasi, fosforilasi ataupun ubiquitinasi (Pardede *et al.* 2020). PRM akan mengemas DNA spermatozoa secara optimal sehingga terjadi peningkatan kondensasi kromatin yang akan melindungi integritas genetik genom paternal dari enzim nuklease, mutagen, dan faktor lain yang dapat merusak DNA (Olivia 2006).

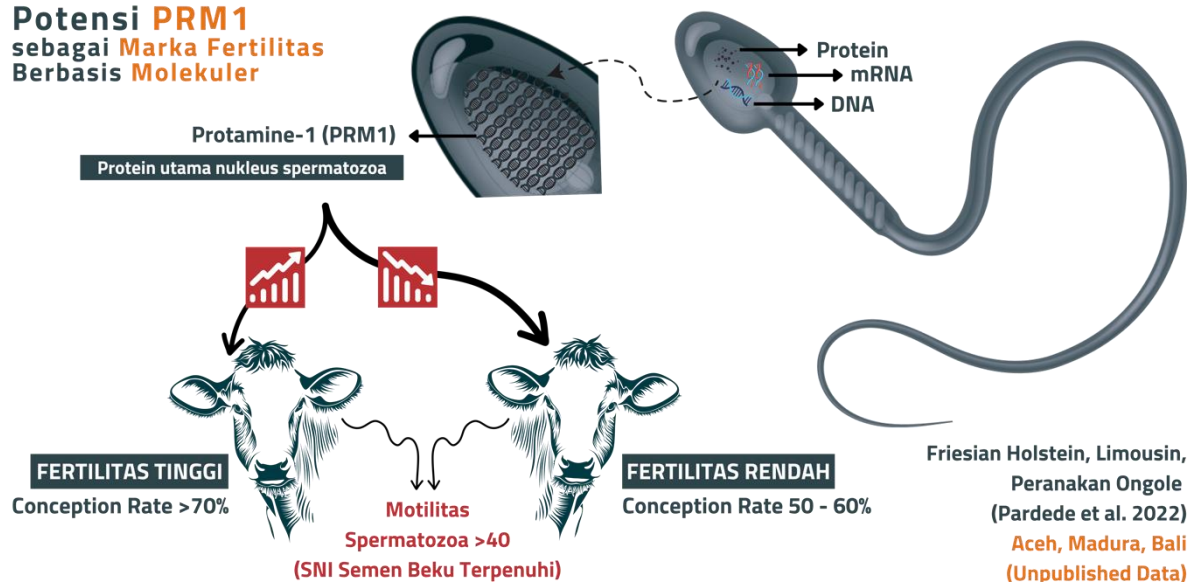
Pengujian berbasis molekuler PRM1 telah dilaporkan berhasil dan terbukti berpotensi menjadi penanda fertilitas sapi pejantan di Indonesia. Penelitian terbaru kami yang termuat dalam Pardede *et al.* (2022) melaporkan bahwa PRM1 yang telah diekspresikan dengan cara transkripsi menjadi mRNA, hingga ditranslasikan menjadi protein, terbukti memiliki hubungan yang sangat erat dengan tingkat fertilitas sapi pejantan di lapangan (Gambar 1). Rendahnya kandungan PRM1, pada tingkat mRNA dan protein tersebut ditemukan pada sapi pejantan Limousin, Fresian Holstein, dan Peranakan Ongole dengan tingkat fertilitas rendah (<60%). Hal tersebut juga diikuti dengan penurunan kualitas semen seperti penurunan motilitas progresif, viabilitas, integritas membran, peningkatan kerusakan DNA dan tingginya defisiensi PRM. Perlu diketahui bahwasanya sampel semen beku yang digunakan dalam penelitian tersebut berasal dari sapi pejantan unggul dengan status produktif dan telah melewati batas kualitas minimum dari semen beku sapi di Indonesia, yakni motilitas progresif $\geq 40\%$. Tentu hal ini semakin memperkuat hipotesis mengenai ketidakmampuan metode pemeriksaan kualitas semen konvensional dalam menentukan fertilitas pejantan sapi.

Kajian terkait pengujian berbasis molekuler PRM1 pada rumpun sapi pejantan lainnya di Indonesia saat ini juga masih sedang berjalan, dengan temuan sementara menunjukkan hasil yang serupa (Gambar 1). Temuan tersebut juga menunjukkan PRM1 terbukti dapat dijadikan penanda molekuler penentu fertilitas sapi pejantan pada rumpun

sapi pejantan Aceh, Madura, dan Bali (*unpublished data*). Pada tingkat protein, kandungan PRM1 pada spermatozoa sapi Aceh berkaitan erat dengan berbagai parameter kualitas semen dan tingkat produksi semen beku juga telah kami laporkan sebelumnya (Pardede *et al.* 2021).

yang kemudian dikonfirmasi dengan teknik *quantitative real-time* PCR. Ganguly *et al.* (2013) melalui pendekatan RNA juga melakukan uji PRM1 pada spermatozoa dan kaitannya dengan penurunan motilitas spermatozoa sapi silangan Frieswal (Fresian Holstein X Sahiwal) dengan menggunakan teknik *quantitative real-time* PCR.

Potensi PRM1 sebagai Marka Fertilitas Berbasis Molekuler



Gambar 1. Perkembangan kajian potensi PRM1 sebagai marka molekuler akurat penentu fertilitas sapi pejantan di Indonesia.

Beberapa hasil penelitian tersebut telah menunjukkan potensi PRM1 sebagai penanda fertilitas yang akurat pada berbagai sapi pejantan di Indonesia. Meskipun masih terdapat beberapa rumpun sapi pejantan lainnya yang juga harus di kaji terkait potensi PRM1 sebagai penanda fertilitas, tetapi temuan sejauh ini sudah cukup merepresentasikan beberapa kelompok rumpun sapi, seperti sapi potong lokal (Peranakan Ongole, Aceh, Bali, dan Madura), sapi potong eksotik (Limousin), dan sapi perah (Fresian Holstein).

Uji berbasis molekuler PRM1 pada spermatozoa sapi pejantan dapat dilakukan dengan berbagai pendekatan seperti DNA, RNA, dan protein. Hingga saat ini, pengujian dengan pendekatan RNA/mRNA dan protein merupakan pengujian PRM1 yang paling banyak dilakukan dan digunakan, khususnya pada spermatozoa sapi pejantan. Feugang *et al.* (2010) mengkaji PRM1 pada spermatozoa dan kaitannya dengan fertilitas pejantan sapi Fresian Holstein melalui pendekatan RNA dengan metode *microarray*

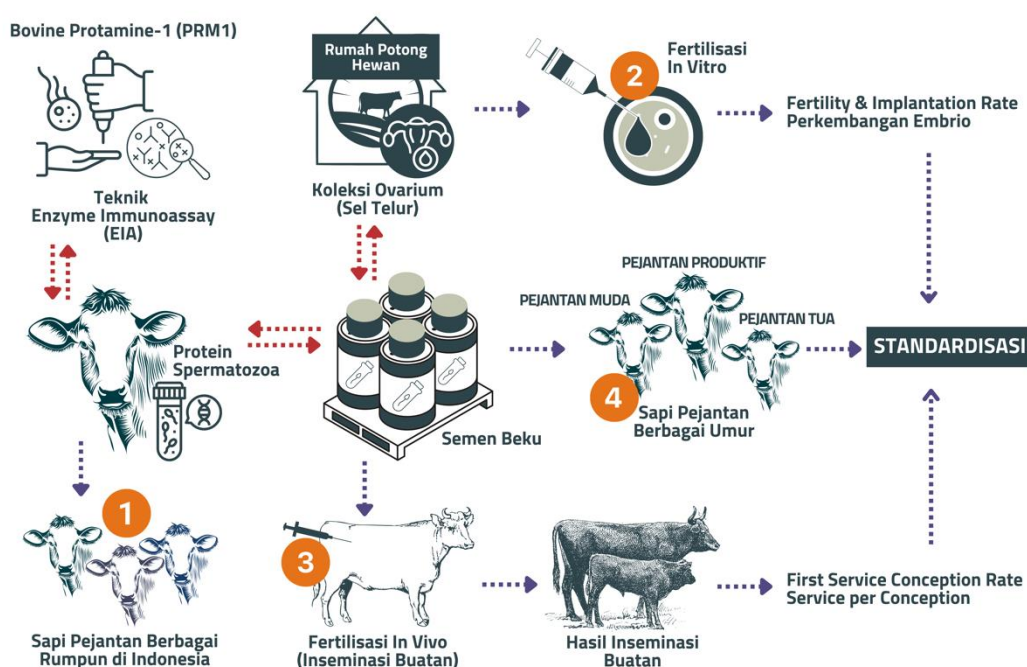
Penggunaan teknik *quantitative real-time* PCR juga dilakukan oleh Hamilton *et al.* (2019) untuk mendeteksi PRM1 pada spermatozoa epididimis dan jaringan testis sapi pejantan. Prakash *et al.* (2020) melaporkan bahwa penggunaan teknik RNA-Seq yang divalidasi dengan teknik *quantitative real-time* PCR juga dapat dilakukan untuk mendeteksi mRNA pada spermatozoa sapi pejantan. Pengujian PRM1 pada tingkat mRNA dengan teknik *quantitative real-time* PCR pada sapi pejantan di Indonesia juga telah dibuktikan dan berhasil mendeteksi keberadaan PRM1 pada spermatozoa (Pardede *et al.* 2022).

Protein, sebagai hasil translasi RNA merupakan salah satu pendekatan analisis yang paling banyak dilakukan, khususnya dalam pengujian PRM1 pada spermatozoa sapi pejantan. Dogan *et al.* (2015) mendeteksi protein PRM1 pada sapi pejantan dengan tingkat fertilitas yang berbeda dengan menggunakan teknik *western blot*. Selain dengan menggunakan teknik *western blot*, pengujian PRM1 pada

spermatozoa sapi pejantan juga dapat dilakukan dengan teknik *enzyme immunoassay* (EIA) menggunakan KIT protein spesifik PRM1 pada sapi (*bovine protamine-1*). Secara keseluruhan, berbagai teknik yang digunakan dalam pengujian PRM1 pada spermatozoa sapi pejantan memiliki keunggulan dan kekurangannya masing-masing, baik ditinjau dari proses pengerjaan mulai dari *sampling* hingga proses kuantifikasi hasil analisisnya, efisiensi waktu, hingga ditinjau dari biaya yang dihabiskan.

pada sapi-sapi pejantan yang akan digunakan sebagai pejantan unggul untuk program IB di Indonesia yang jumlahnya cukup banyak. Selain itu tentunya akan dapat diaplikasikan pada sapi-sapi pejantan produktif digunakan di Balai-Balai IB untuk dapat dilakukan pengafkiran sapi pejantan pada individu-individu yang ternyata terbukti memiliki daya fertilitas rendah.

Apabila ditinjau dari sisi teknis, khususnya terkait metode pengujian terbaik yang bisa dilakukan untuk mendeteksi PRM1



Gambar 2. Berbagai kajian lanjutan yang diperlukan dalam pengembangan uji berbasis molekuler PRM1 sebagai penentu tingkat fertilitas sapi pejantan di Indonesia.

Apabila dibandingkan satu dengan yang lain, pengujian PRM1 dengan pendekatan protein menggunakan teknik *enzyme immunoassay* (EIA) merupakan teknik pengujian yang paling direkomendasikan. Selain harga yang dihabiskan lebih murah dibandingkan dengan teknik pengujian lainnya, proses pengujiannya juga sudah terstruktur dengan baik dalam protokol pengerjaan yang termuat dalam KIT yang sudah divalidasi sesuai dengan spesies yang digunakan. Pengujian PRM1 dengan KIT EIA tersebut juga dapat digunakan untuk sampel dengan jumlah populasi yang banyak, tergantung jumlah sumuran (*well*) dari KIT yang dipakai, 48 (40 untuk sampel, dan 8 untuk kontrol) atau 96 (80 untuk sampel dan 16 untuk kontrol) sumuran. Hal ini tentunya akan sangat sesuai apabila akan melakukan pengujian PRM1

pada spermatozoa sapi pejantan di Indonesia, metode EIA merupakan pilihan metode terbaik yang bisa diaplikasikan di masa mendatang untuk proses seleksi dan kebijakan pengafkiran sapi pejantan. Tetapi apabila ditinjau dari sisi kesiapan pengaplikasian secara utuh, metode EIA tersebut masih memerlukan beberapa kajian lanjutan. Hal tersebut perlu dilakukan dengan tujuan untuk memastikan uji berbasis molekuler PRM1 ini benar-benar “siap” secara utuh dan dapat digunakan sebagai uji penentu fertilitas sapi pejantan.

Adapun beberapa kajian lebih lanjut tersebut seperti yang termuat pada Gambar 2. Meskipun temuan sebelumnya sudah cukup mewakili setiap kelompok sapi (potong lokal dan eksotik, dan perah), namun kajian pembuktian pada beberapa rumpun lainnya untuk lebih

memperkuat hipotesis potensi PRM1 akan sangat membantu. Selanjutnya, kajian lebih lanjut terkait asosiasi PRM1 dengan kemampuan daya fertilisasi yang dikaji secara *in vitro* dan *in vivo* juga akan sangat berguna dalam memperkuat hipotesis PRM1 sebagai marka penentu fertilitas.

Kajian secara *in vitro* dapat dilakukan dengan melakukan beberapa riset fertilisasi secara *in vitro* dengan menggunakan spermatozoa pasca *thawing* dari masing-masing sapi pejantan berbagai rumpun yang kemudian dikondisikan pada medium fertilisasi tertentu yang sudah dilengkapi dengan oosit matang, yang kemudian diukur daya fertilisasinya (*fertility rate*) hingga perkembangan embrio. Kajian secara *in vivo* dapat dilakukan dengan melakukan IB menggunakan semen beku masing-masing sapi pejantan berbagai rumpun pada suatu *breeding* sapi dengan kondisi lingkungan dan manajemen yang baik dan terkontrol. Hal tersebut untuk meminimalkan berbagai faktor yang mungkin dapat mempengaruhi hasil inseminasi, termasuk faktor kemampuan inseminator, waktu IB, serta faktor kesehatan reproduksi sapi betina resipien. Kajian selanjutnya yang dapat dilakukan adalah mengukur kandungan PRM1 pada sapi pejantan dengan berbagai tingkatan umur (muda non produktif, produktif, dan tua). Hal ini bertujuan untuk melihat apakah ada perbedaan kandungan PRM1 pada masing-masing kelompok umur tersebut, khususnya melihat seberapa besar perbedaan kandungan PRM1 antara sapi muda (calon pejantan) yang masih belum termasuk umur produktif dan juga sapi pejantan produktif. Sedangkan kajian untuk umur yang tua bertujuan untuk memetakan sejauh apa sapi pejantan yang nantinya akan digunakan dalam program IB dapat digunakan apabila ditinjau dari segi umur.

Dari berbagai kajian tersebut, diharapkan akan ditemukan seberapa besar kandungan PRM1 yang terkandung pada sapi-sapi pejantan untuk dapat dikategorikan sebagai pejantan sapi unggul dengan fertilitas tinggi. Setelah semua kajian lanjutan tersebut dilakukan dan menunjukkan hasil yang positif dan sesuai dengan yang diharapkan, maka uji berbasis molekuler PRM1 dapat diaplikasikan secara menyeluruh. Dengan demikian, uji berbasis molekuler PRM1 dapat digunakan dan

diaplikasikan dalam proses seleksi dan kebijakan pengafkiran sapi pejantan unggul di berbagai Balai IB di Indonesia.

Kesimpulan dan Rekomendasi Kebijakan

Berdasarkan pemetaan berbagai persoalan, ulasan, kajian yang sudah ditemukan terkait besarnya potensi uji berbasis molekuler PRM1 pada spermatozoa dalam menentukan tingkat fertilitas sapi pejantan di Indonesia, berikut sejumlah rekomendasi yang bisa ditawarkan:

1. Metode terbaik dan paling direkomendasikan untuk dikembangkan lebih lanjut dalam kaitannya untuk mendeteksi dan mengukur kandungan PRM1 pada spermatozoa sapi pejantan sebagai penentu tingkat fertilitas adalah menggunakan teknik *enzyme immunoassay* (EIA).
2. Dukungan penuh pemerintah dalam pengembangan uji berbasis molekuler PRM1 sebagai penentu tingkat fertilitas untuk proses seleksi sapi pejantan unggul di Indonesia. Perwujudan dari dukungan tersebut adalah penyediaan ruang lingkup riset yang cukup termasuk perihal pendanaan untuk menampung dan memfasilitasi setiap riset lanjutan yang diperlukan seperti yang sudah diulas sebelumnya hingga tahapan finalisasi uji PRM1 sebagai uji penentu fertilitas sapi pejantan, yakni ditemukan standar kandungan PRM1 pada spermatozoa sapi pejantan dengan fertilitas tinggi.
3. Berbagai riset kolaborasi antara institusi pendidikan, lembaga penelitian terkait (swasta dan pemerintahan) dan berbagai industri terkait (dalam hal ini Balai IB dan industri *breeding* sapi) untuk bersama-sama saling bersinergi dalam riset lanjutan. Hal ini dimaksudkan untuk pengembangan uji berbasis molekuler PRM1 sebagai penentu tingkat fertilitas sapi pejantan. Hal ini diharapkan akan semakin mempercepat proses finalisasi uji ini dan dapat segera diaplikasikan di lapangan.

Daftar Pustaka

- Alves MBR, Celeghini ECC, Belleannée C. 2020. From sperm motility to sperm-borne microRNA signatures: new approaches to predict male fertility potential. *Front Cell Dev Biol.* 8:791.
- Aoki VW, Carrell DT. 2003. Human protamines and the developing spermatid: their structure, function, expression and relationship with male infertility. *Asian J Androl.* 5:315–324.
- Beletti ME, Costa LF, Guardieiro MM. 2005. Morphometric features and chromatin condensation abnormalities evaluated by toluidine blue staining in bull spermatozoa. *Braz J Morphol Sci.* 22.
- Boerke A, Dieleman SJ, Gadella BM. 2007. A possible role for sperm RNA in early embryo development. *Theriogenology.* 68(Suppl.1): S147–S155.
- Bower PA, Yelick PC, Hecht NB. 1987. Both P1 and P2 protamine genes are expressed in mouse, hamster, and rat. *Biol Reprod.* 37:479–488.
- Corzett M, Mazrimas J, Balhorn R. 2002. Protamine 1: protamine 2 stoichiometry in the sperm of eutherian mammals. *Mol Reprod Dev.* 61:519–527.
- Depa-Martynow M, Kempisty B, Jagodzinski PP, Pawelzyk L, Jedrzejczak P. 2011. Impact of protamine transcripts and their proteins on the quality and fertilization ability of sperm and the development of preimplantation embryos. *Reprod Biol.* 12:57-72.
- Dogan S, Vargovic P, Oliveira R, Belser LE, Kaya A, Moura A, Sutovsky P, Parrish J, Topper E, Memili E. 2015. Sperm protamine-status correlates to the fertility of breeding bulls. *Biol Reprod.* 1(4):1-9.
- Feugang JM, Rodriguez-Osorio N, Kaya A, Wang H, Page G, Ostermeier GC, Topper EK, Memili E. 2010. Transcriptome analysis of bull spermatozoa: implications for male fertility. *Reprod Biomed Online.* 21:312–324.
- Ganguly I, Gaur GK, Kumar S, Mandal DK, Kumar M, Singh U, Kumar S, Sharma A. 2013. Differential expression of protamine 1 and 2 genes in mature spermatozoa of normal and motility impaired semen producing crossbred Frieswal (HF x Sahiwal) bulls. *Res Vet Sci.* 94:245-62.
- Hamilton TRS, Simoes R, Mendes CM, Goissis MD, Nakajima E, Martins EAL, Vicintin JA, Assumpcao MEOA. 2019. Detection of protamine 2 in bovine spermatozoa and testicles. *Andrology.* 7:373-381.
- Maier WM, Nussbaum G, Domenjoud L, Klemm U, Engel W. 1990. The lack of protamine 2 (P2) in boar and bull spermatozoa is due to mutations within the P2 gene. *Nucleic Acids Res.* 18:1249–1254.
- Olivia R. 2006. Protamines and male infertility. *Hum Herod Update.* 12(4):417-35.
- Pardede BP, Agil M, Karja NWK, Sumantri C, Supriatna I, Purwantara B. 2022. PRM1 gene expression and its protein abundance in frozen-thawed spermatozoa as potential fertility markers in breeding bulls. *Vet Sci.* 9(3):111.
- Pardede BP, Maulana T, Kaiin EM, Agil M, Karja NWK, Sumantri C, Supriatna I. 2021. The potential of sperm bovine protamine as a protein marker of semen production and quality at the National Artificial Insemination Center of Indonesia. *Vet World.* 14(9):2473-2481.
- Pardede BP, Supriatna I, Agil M. 2020. Protamine and other proteins in sperm and seminal plasma as molecular markers of bull fertility. *Vet World.* 13:556-562.
- Pardede BP, Supriatna I, Yudi Y, Agil M. 2020. Relationship of frozen-thawed semen

quality with the fertility rate after being distributed in the Brahman Cross Breeding Program. *Vet World*. 13:2649-2657.

Prakash MA, Kumaresan A, Sinha MK, Kamaraj E, Mohanty TK, Datta TK, Morrell JM. 2020. RNA-Seq analysis reveals functionally relevant coding and non-coding RNAs in crossbred bull spermatozoa. *Anim Reprod Sci*. 222:106621.

Rosyada ZNA, Ulum MF, Tumbelaka LITA, Purwantara B. 2020. Sperm protein markers for Holstein bull fertility at National Artificial Insemination Centers in Indonesia. *Vet World*. 13(5):947-955.

Schneider S, Balbach M, Jikeli JF, Fietz D, Nettersheim D, Jostes S, Schmidt R, Kressin M, Bergmann M, Wachten D, Steger K, Schorle H. 2016. Re-visiting the protamine-2 locus: deletion, but not haploinsufficiency, renders male mice infertile. *Sci Rep*. 6:36764.

Seli E, Gardner DK, Schoolcraft WB, Moffatt O, Sakkas D. 2004. Extent of nuclear DNA damage in ejaculated spermatozoa impacts on blastocyst development after in vitro fertilization. *Fer Ster*. (82): 378-383.

Takeda N, Yoshinaga K, Furushima K, Takamune K, Li Z, Abe S, Aizawa S, Yamamura K. 2016. Viable offspring obtained from Prm1-deficient sperm in mice. *Sci Rep*. 6:27409.

Virro MR, Larson-Cook KL, Evenson DP. 2004. Sperm chromatin structure assay (SCSA) parameters are related to fertilization, blastocyst development, and on going pregnancy in vitro fertilization and intra cytoplasmic sperm injection cycles. *Fertil Steril*. (81):1289-1295.



**Direktorat
Publikasi Ilmiah
dan Informasi Strategis**

Direktorat Publikasi Ilmiah dan Informasi Strategis IPB (DPIS IPB) melaksanakan tugas dalam mengkaji dan mengelola informasi terkait isu-isu strategis untuk meningkatkan peran IPB dalam kebijakan pertanian, kelautan dan biosains tropika, serta mendorong peningkatan publikasi ilmiah untuk mendukung IPB menjadi World Class University.

Direktorat Publikasi Ilmiah dan Informasi Strategis (DPIS), IPB University
Gedung LSI Lantai 1, Jl. Kamper, Kampus IPB Dramaga, Bogor - Indonesia 16680
Website: <https://dpis.ipb.ac.id>

