



2022

POLICY BRIEF

Pertanian, Kelautan, dan Biosains Tropika
Vol.4 No.1, 2022

PENGEMBANGAN PENANDA FERTILITAS SEBAGAI ALAT BANTU “AKURAT” DALAM UPAYA OPTIMALISASI SAPI PEJANTAN UNGGUL DALAM PROGRAM INSEMINASI BUATAN

Bambang Puwantara¹⁾, Iis Arifiantini¹⁾, Ni Wayan Kurniani Karja¹⁾, Berlin Pandapotan Pardede¹⁾, Rhesti Indriastuti²⁾, Faisal Amri Satrio²⁾, Erdogan Memili³⁾

¹⁾Department of Veterinary Clinic, Reproduction, and Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, IPB University, Indonesia

²⁾Reproductive Biology Study Program, Graduate School, IPB University, Indonesia

³⁾Department of Animal and Dairy Sciences, Mississippi State University, USA

Email: -

Isu Kunci

- **PENINGKATAN** populasi ternak sapi melalui program inseminasi buatan sebagai implementasi program swasembada daging yang dicanangkan oleh Pemerintah Indonesia.
- **ANGKA** kebuntingan ternak sapi hasil inseminasi buatan di Indonesia masih relatif rendah.
- **FERTILITAS** pejantan merupakan faktor penting sebagai penentu keberhasilan inseminasi buatan di Indonesia.
- **EVALUASI** kualitas spermatozoa dalam semen secara konvensional pada sapi pejantan di Indonesia kurang akurat dalam menduga fertilitas pejantan.
- **GEN** ataupun protein pada spermatozoa dianggap lebih akurat dalam menentukan fertilitas pejantan.

Ringkasan

Peningkatan populasi dan mutu ternak, khususnya sapi dan kerbau dilakukan melalui program inseminasi buatan (IB). Angka kebuntingan hasil IB di Indonesia, relatif masih rendah, salah satunya diduga disebabkan oleh fertilitas pejantan. Program IB di Indonesia menggunakan semen beku yang diproduksi oleh Balai Inseminasi Buatan (BIB). Standar evaluasi semen bagi pejantan yang digunakan sesuai SNI masih mengacu pada konsentrasi, motilitas pra dan pasca thawing serta skor individu. Perkembangan terbaru menunjukkan bahwa parameter uji tersebut tidak lagi memadai. Protein dan gen pada spermatozoa dan seminal plasma pejantan dapat menjadi kandidat alat bantu “akurat” untuk menentukan fertilitas pejantan sesuai keberhasilan IB di lapangan. Policy brief ini diharapkan dapat menjadi bahan pertimbangan bagi Pemerintah dan BIB dalam pengembangan dan pengaplikasian penanda fertilitas berbasis molekuler sebagai alat bantu “akurat” dalam proses seleksi dan kebijakan pengafkiran pejantan sapi yang akan digunakan untuk IB. Dengan demikian, efisiensi penggunaan pejantan unggul di berbagai Balai Inseminasi Buatan, baik Nasional maupun Daerah di Indonesia dapat dioptimalkan.

Pendahuluan

GUNA mendukung program swasembada daging yang dicanangkan oleh Pemerintah agar dapat dicapai pada tahun 2026 mendatang, serta pemenuhan kebutuhan protein hewani masyarakat Indonesia, pemerintah telah mendorong peningkatan populasi sapi melalui berbagai pendekatan. Program Sapi Kerbau Komoditas Andalan Negeri (SIKOMANDAN) merupakan program yang dirancang pada tahun 2020, yang merupakan program lanjutan dari UPSUS SIWAB (Upaya Khusus Sapi Indukan Wajib Bunting) dan GBIB-Gangrep (Gertak Berahi dan Inseminasi Buatan serta Penanganan Gangguan Reproduksi) yang dicanangkan sejak tahun 2015.

Program SIKOMANDAN diwujudkan melalui kegiatan optimalisasi reproduksi, yang diharapkan dapat memperbaiki sistem pelayanan peternakan kepada masyarakat, perbaikan manajemen reproduksi dan produksi ternak serta perbaikan sistem pelaporan dan pendataan reproduksi ternak melalui sistem aplikasi manajemen pengelolaan big data kesehatan hewan yang dikenal sebagai iSIKHNAS. Program SIKOMANDAN tersebut telah menunjukkan hasil yang cukup baik, seperti yang dilansir pada Media Indonesia pada tahun 2020 (<https://mediaindonesia.com/ekonomi/314947/kementan-pandemi-tak-halangi-capaian-program-sikomandan>).

Melalui program UPSUS SIWAB dan GBIB-Gangrep telah dicapai realisasi akseptor sebanyak 1.579.158 ekor atau 63,29% dari target 2.495.007 ekor. Jumlah kebuntingan sapi betina juga mengalami peningkatan, yaitu sebanyak 884.661 ekor atau 50,35% dari target 1.757.130 ekor. Secara menyeluruh, iSIKHNAS merupakan pangkalan data yang telah mampu mengumpulkan status kesehatan reproduksi lebih dari 4 juta sapi betina di Indonesia. Evaluasi fertilitas pejantan di dua BIB nasional telah dilaporkan dengan memanfaatkan pangkalan data iSIKHNAS (Rosyada *et al.* 2020).

Program untuk meningkatkan populasi dan produksi sapi dan kerbau secara

berkelanjutan ini salah satu fokusnya adalah pada pelaksanaan inseminasi buatan (IB). Program IB di Indonesia menggunakan semen beku yang diproduksi oleh dua Balai Inseminasi Buatan nasional (BBIB Singosari, Malang dan BIB Lembang, Bandung) maupun daerah (BIB-D di lima belas provinsi). Produksi semen beku telah mengacu kepada SNI Semen Beku Sapi nomor 4869.1:2017, yang memperhitungkan nilai post thawing motility di atas 40% dengan skor individu lebih dari 2 dan konsentrasi spermatozoa tidak kurang dari 25 juta per dosis. Dengan standar mutu tersebut, angka keberhasilan IB berupa kebuntingan dan kelahiran anak sapi seharusnya cukup tinggi. Fakta di lapangan menunjukkan bahwa angka keberhasilan IB masih relatif rendah (50,35%). Diskin (2014) dan Butler (2014) mengungkapkan bahwa tingkat kebuntingan pada sapi sebagai tolok ukur keberhasilan IB dikategorikan baik, apabila angka konsepsi (conception rate) mencapai 70%, yakni 70% sapi betina mengalami kebuntingan pada inseminasi pertama.

Salah satu faktor utama yang mempengaruhi keberhasilan IB adalah fertilitas pejantan. Pejantan yang ada di BBIB, BIB dan BIB-D merupakan pejantan unggul. Pejantan unggul adalah pejantan yang sudah diseleksi berdasarkan standar mutu bibit (Peraturan Menteri Pertanian Republik Indonesia Nomor 10/Permentan/PK.210/3/2016). Pejantan unggul menurut SNI Semen Beku sapi nomor 4869 tahun 2017 bagian 1 adalah pejantan normal yang sudah diseleksi berdasarkan garis keturunannya (*pedigree/silsilah*), kemampuan produksi dan reproduksi, sehat, dan bebas penyakit menular sesuai perundang-undangan. Kemampuan reproduksi dapat dilihat dari kemampuan kawin (*mating ability*) dan kemampuan melayani betina (*serving capacity*), serta berdasarkan analisis kualitas semen segar yang terdiri atas motilitas spermatozoa, konsentrasi dan abnormalitas spermatozoa. Menurut Dogan *et al.* (2015) fertilitas pejantan berkaitan erat dengan kualitas semen. Kualitas

semen yang digunakan untuk program IB dapat memberikan dampak signifikan pada persentase tingkat konsepsi (kebuntingan) melalui keberhasilan proses fertilisasi. Secara umum, daya fertilisasi spermatozoa dipengaruhi oleh motilitas, viabilitas, morfologi, dan keutuhan kromatin spermatozoa (Morel *et al.* 2009).

Metode evaluasi kualitas semen di BBIB, BIB dan BIB-D di Indonesia, yang juga merupakan syarat penentu pejantanan sapi unggul, umumnya masih dilakukan secara konvensional, meliputi pemeriksaan makro- dan mikroskopis, termasuk analisis terhadap abnormalitas sperma (Purwantara *et al.* 2010). Hal ini dinilai belum cukup akurat untuk menginterpretasikan fertilitas pejantan (Mishra *et al.* 2013). Hal tersebut terbukti dari beberapa kajian yang menunjukkan efisiensi reproduksi yang belum optimal, seperti *service/conception* yang tinggi, calving interval yang panjang, days open yang panjang dan conception rate yang rendah. Keberadaan gen dan protein tertentu dalam spermatozoa dan plasma semen dapat memengaruhi fertilitas spermatozoa. Spermatozoa memiliki beberapa protein fungsional yang dapat memodulasi fungsi penting dari proses-proses reproduksi. Beberapa prasyarat yang mendukung proses reproduksi seperti motilitas spermatozoa, kapasitas, perlindungan sel, reaksi akrosom, aktivasi sel telur, pembuahan, dan perkembangan embrio dapat dipengaruhi oleh protein fungsional dan gen tertentu. Gen ataupun protein fertilitas pada spermatozoa dan seminal plasma dapat digunakan sebagai penanda molekuler potensial pada status reproduksi jantan (Moura dan Memili 2016, Rosyada *et al.* 2020) dan dianggap lebih efektif dalam menentukan fertilitas pejantan sapi (Mishra *et al.* 2013; Pardede *et al.* 2020).

Hasil dan Pembahasan

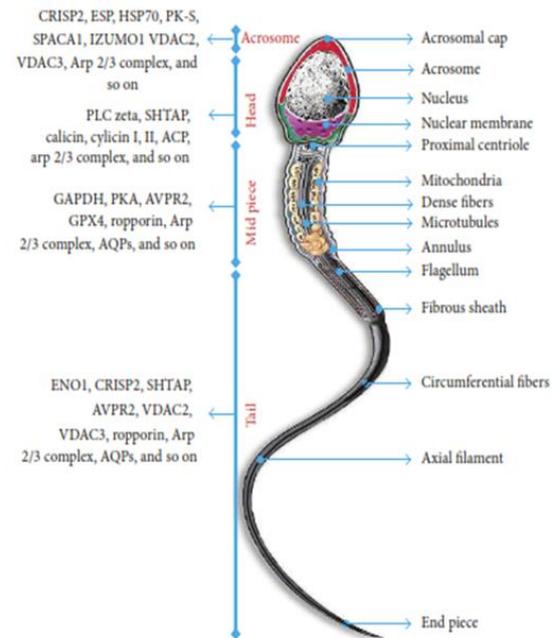
PENGUNAAN gen dan protein dalam spermatozoa dan seminal plasma sebagai

penanda fertilitas melalui berbagai analisis molekuler telah banyak dilaporkan dan dianggap lebih efektif dan akurat (Feugang *et al.* 2010; Westfalewicz *et al.* 2017). Gen dan protein tersebut secara spesifik berperan penting dalam fungsi normal spermatozoa yang akhirnya memengaruhi keberhasilan fertilisasi. Kualitas spermatozoa merupakan faktor kunci penentu keberhasilan fertilisasi, yang mana spermatozoa tersebut harus sehat dan fertil dan mampu mencapai tempat pembuahan (fertilisasi), mengikat dan membuahi oosit, dan berkontribusi baik untuk inisiasi perkembangan awal embrio. Penelitian terbaru mengungkapkan bahwa "*healthy (viable) spermatozoa*" secara utuh tidak hanya dinilai berdasarkan proses evaluasi secara konvensional seperti morfologi dan motilitas saja, tetapi juga melibatkan berbagai komponen yang membentuk fungsi normal spermatozoa, termasuk membran plasma, akrosom, mitokondria, hingga tingkat kerusakan DNA spermatozoa (Alves *et al.* 2020). Semakin tinggi persentase "*healthy (viable) spermatozoa*" dalam semen, semakin tinggi peluang spermatozoa untuk mampu melakukan penetrasi zona pelusida dan fusi dengan membran plasma oosit. Penelitian terbaru tersebut juga menyatakan bahwa meskipun evaluasi berbagai parameter kualitas spermatozoa tersebut penting dalam penentuan fertilitas pejantan, namun berdasarkan data dari berbagai penelitian mengungkapkan bahwa sekitar 30% sampel spermatozoa yang menunjukkan persentase "*healthy (viable) spermatozoa*" yang tinggi, ternyata masih tidak dapat membuahi oosit ataupun memicu perkembangan awal embrio. Molekul mRNA (gen) dan/atau protein pada spermatozoa dianggap merupakan salah satu komponen penting yang harus dipertimbangkan dalam pemenuhan kriteria "*healthy (viable) spermatozoa*" secara utuh dalam penentuan fertilitas pejantan.

Penilaian kualitas spermatozoa dalam semen yang digunakan untuk IB di Indonesia

masih berdasarkan evaluasi secara konvensional, yakni berupa konsentrasi, motilitas pra dan pasca thawing serta skor individu. Mengacu pada konsep "healthy (viable) spermatozoa" pada uraian sebelumnya, wajar apabila angka kebuntingan sapi hasil IB di Indonesia masih relatif rendah. Penambahan aspek evaluasi kualitas spermatozoa, khususnya pada tingkat molekuler, seperti gen dan/atau protein pada spermatozoa yang potensial sebagai penentu fertilitas pejantan tentunya perlu dipertimbangkan dan dikembangkan kedepannya, guna pencapaian angka kebuntingan sapi hasil IB yang maksimal.

Berbagai gen dan/atau protein pada spermatozoa maupun seminal plasma telah banyak dilaporkan dari berbagai penelitian yang sangat berpotensi sebagai penanda fertilitas sapi pejantan. Namun demikian, laporan tersebut masih sangat minim pada sapi pejantan yang digunakan untuk IB di Indonesia. Salah satu protein yang dilaporkan berpotensi sebagai kandidat penanda fertilitas tersebut adalah PRM1. Protein dari PRM1 ini dilaporkan memiliki potensi yang besar bukan hanya sebagai penanda fertilitas pejantan, melainkan juga sebagai penanda kualitas dan produksi semen (Pardede *et al.* 2021) pada berbagai rumpun sapi pejantan IB di Indonesia, seperti Limousine, Friesian Holstein, Peranakan Ongole, dan Aceh. Hasil penelitian lain mendukung hasil kajian pada sapi pejantan IB di Indonesia tersebut. Feugang *et al.* (2010) melaporkan bahwa gen PRM1 secara signifikan terekspresi tinggi pada kelompok sapi pejantan dengan fertilitas tinggi, dan mengalami penurunan pada kelompok sapi pejantan dengan fertilitas rendah. Pada tingkat protein juga dilaporkan, bahwa kelimpahan protein PRM1 secara signifikan lebih rendah pada kelompok sapi pejantan dengan tingkat konsepsi (conception rate) dibandingkan dengan kelompok sapi pejantan dengan conception rate tinggi.



Gambar 1. Berbagai protein pada setiap bagian spermatozoa matang yang berperan penting dalam fungsi normal spermatozoa dan berkaitan dengan fertilitas pejantan (Rahman *et al.* 2013).

Potensi PRM1 sebagai salah satu kandidat penanda fertilitas pejantan juga diperkuat dari penelitian lain yang dilaporkan oleh Aoki dan Carrel (2003), yang mana disebutkan bahwa ekspresi gen PRM1 yang rendah berdampak pada infertilitas, perkembangan embrio yang terhambat, kegagalan implantasi, serta gagalnya kebuntingan. STRING yang merupakan database berbasis web yang memuat protein-protein dan fungsinya dalam metabolisme tubuh makhluk hidup menyatakan bahwa setidaknya terdapat 290 gen ataupun protein yang terlibat dalam proses reproduksi dan 182 gen dalam sexual reproduction. Grzmil *et al.* (2008) menyatakan bahwa fungsi normal spermatozoa tidak hanya dikontrol oleh satu gen atau protein saja, melainkan lebih dari satu dan merupakan suatu proses yang kompleks. Adanya gangguan pada masing-masing gen ataupun protein tersebut akan berdampak pada penurunan fertilitas

pejantan. Rahman *et al.* (2013) menyatakan masing-masing bagian dari spermatozoa tersusun atas berbagai protein yang menyandi fungsi spesifik spermatozoa dan kaitannya dengan fertilitas pejantan (Gambar 1).

Masih minimnya informasi terkait kajian berbagai gen ataupun protein potensial pada spermatozoa yang dapat dijadikan penanda fertilitas sapi pejantan mendorong tim riset Biologi Reproduksi, Fakultas Kedokteran Hewan, IPB University untuk dapat mengembangkan riset terkait hal ini. Selain PRM1 pada tingkat protein dan gen pada spermatozoa sapi pejantan Limousine, Friesian Holstein, Peranakan Ongole, dan Aceh, saat ini juga sedang berjalan riset terkait gen ataupun protein yang berpotensi sebagai kandidat penanda fertilitas lainnya. Adapun riset tersebut yakni gen PRM1 dan HSP70 pada spermatozoa sapi pejantan Bali dan Madura; gen Osteopontin pada spermatozoa sapi pejantan Madura; dan berbagai protein penyandi fungsi reproduksi pada spermatozoa sapi pejantan Simental berbagai umur.

Hasil riset-riset ini tentunya diharapkan dapat memperkuat hipotesa dari berbagai kajian yang sebelumnya pernah dilakukan pada penelitian sejenis pada rumpun sapi pejantan lain di luar Indonesia. Sehingga diharapkan juga akan ditemukan berbagai gen ataupun protein potensial lainnya yang dapat dijadikan kandidat penanda fertilitas pejantan. Tentunya, berbagai kajian ataupun riset yang lebih komprehensif terkait gen ataupun protein potensial lainnya sebagai penanda fertilitas sapi pejantan akan sangat membantu dalam pengembangan penanda fertilitas sebagai alat bantu “akurat” dalam optimalisasi sapi pejantan unggul di Indonesia. Dengan mengadopsi cara baru dalam menentukan penduga fertilitas pejantan melalui kajian molekuler ini, seleksi dan kebijakan pengafkiran pejantan unggul pada berbagai BIB di Indonesia diharapkan dapat dilakukan secara lebih akurat, terukur dan efisien.

Kesimpulan dan Rekomendasi

Berdasarkan pemetaan berbagai persoalan terkait pentingnya optimalisasi sapi pejantan unggul di Indonesia guna memaksimalkan keberhasilan inseminasi buatan (IB) yang berdampak pada peningkatan populasi ternak, berikut sejumlah rekomendasi yang bisa ditawarkan:

1. Dukungan penuh pemerintah terkait pengembangan penanda fertilitas sapi pejantan berbasis molekuler berupa gen ataupun protein pada spermatozoa maupun seminal plasma pada pejantan-pejantan sapi di Indonesia. Berbagai riset secara komprehensif terkait penanda fertilitas sapi pejantan diharapkan dapat dikembangkan dan dapat menemukan berbagai gen ataupun protein lainnya yang berpotensi sebagai penanda fertilitas sapi pejantan. Gen ataupun protein tersebut diharapkan dapat dikaji lebih mendalam dan dibuktikan dalam pengujian secara *in vivo* dan *in vitro*, serta pada berbagai tingkatan umur sapi pejantan. Hal tersebut diharapkan bukan hanya menemukan gen ataupun protein yang berpotensi, namun juga “standar” yang dapat dipakai untuk menentukan fertilitas seekor sapi pejantan, serta rentang umur terbaik untuk seekor sapi pejantan produktif.
2. Aplikasi penanda fertilitas sapi pejantan sebagai alat bantu “akurat” dalam optimalisasi sapi pejantan unggul dalam upaya peningkatan populasi ternak di Indonesia. Hasil pengembangan penanda fertilitas sapi pejantan pada poin (1) diharapkan dapat menemukan kandidat gen ataupun protein terbaik sebagai penanda fertilitas sapi pejantan. Hasil tersebut diharapkan dapat di aplikasikan sebagai alat bantu “akurat” dalam proses seleksi sapi pejantan unggul yang digunakan untuk IB di Indonesia. Penanda fertilitas sapi pejantan terbaik tersebut diharapkan dapat diaplikasikan tidak hanya pada calon bakalan pejantan, tetapi juga sebagai “quality

control” dari pejantan-pejantan yang ada di Balai-Balai Inseminasi Buatan di Indonesia.

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.
- Butler S. 2014. Dairy Cow Reproduction. Grange (Irlandia) Teagasc Agriculture and Food Development Authority.
- Diskin MG. 2014. Achieving high reproductive performance in beef herds. Grange (Irlandia) Teagasc Agriculture and Food Development Authority.
- 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.
- Grzmil P, Boinska D, Kleene K C, Adham I, Schlüter G, Kämper M, Buyandelger B, Meinhardt A, Wolf S, Engel W. 2008. PRM3, the fourth gene in the mouse protamine gene cluster, encodes a conserved acidic protein that affects sperm motility. *Biol Reprod.* 78(6):958-967.
- Mishra C, Palai TK, Sarangi LN, Prusty BR, Maharana BR. 2013. Candidate gene markers for sperm quality and fertility in bulls. *Vet World.* 6:905-910.
- Morrel JM, Rodrigu ez-Martinez H. 2009. Biomimetic techniques for improving sperm quality in animal breeding: A review. *The Open Andrology Journal.* 1: 1-9.
- Moura AA, Memili E. 2016. Functional aspect of seminal plasma and sperm proteins and their potential as molecular markers of fertility. *Anim Reprod.* 13(3): 191-199.
- 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. *Veterinary 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.
- Purwantara B, Arifiantini I, Riyadhi M. 2010. Sperm morphological assessments of friesian holstein bull semen collected from three artificial insemination centers in Indonesia. *J.Indonesian Trop.Anim.Agric.* 35(2): 90-94.
- Rahman MS, Lee J, Kwon W, Pang M. 2013. Sperm proteomics: road to male fertility and contraception. *Int J Endocrinol.* 2013:360986.
- Rosyada ZNA, Tumbelaka LI, Ulum MF, Herwiyanti E, Memili E, Purwantara B. 2020. Evaluation of Friesian Holstein Bulls Fertility in Lembang and Singosari Artificial Insemination Center Using West Java ISIKHNAS Data. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science.* 478(1): 1-6.
- Rosyada ZNA, Ulum MF, Tumbelaka LITA, Purwantara B. 2020. Sperm Protein markers for Holstein bull fertility at national artificial insemination center in Indonesia. *Vetworld.* 13(5):947-955.
- Westfalewicz B, Dietrich MA, Mostek A, Partyka A, Bielas W, Nizanski W, Ciereszko A. 2017. Identification and functional analysis of bull

(Bos taurus) cauda epididymal fluid
proteome. *J Dairy Sci.* 24:30527-30521.



**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.

Penyunting

Eva Anggraini
Alfian Helmi

Tata letak:

Rizal Gusdinar
Bintang Aditia Tri Wibowo

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>

