

Inisiasi penetrasi spermatozoa dengan zona pelusida akan mengaktifkan respon akrosom dan menyebabkan pelepasan dan aktivasi enzim akrosom sehingga spermatozoa dapat masuk ke dalam zona pelusida (Miranda *et al.*, 2009). Sejalan dengan itu, pada sapi Bali tidak bertanduk teridentifikasi protein ZPBP yang berperan mengikat sperma pada zona pelusida dan terindikasi berhubungan dengan integritas akrosom pada sapi Bali tidak bertanduk lebih tinggi dari pada sapi Bali bertanduk sehingga sapi Bali tidak bertanduk diindikasikan memiliki tingkat fertilitas yang lebih baik. McLeskey *et al.* (1998) menyatakan bahwa ZPBP adalah salah satu dari sekian banyak protein yang berperan dalam pengikatan sekunder antara sperma yang bereaksi akrosom dengan matriks ekstraselular spesifik telur, yaitu zona pelusida. ZPBP juga terletak di matriks akrosom, terlibat dalam pengikatan pertama akrosom sperma ke zona pelusida, dan meningkat pesat selama kematangan seksual (Song *et al.*, 2010).

Lin *et al.* (2007) melaporkan ZPBP pada tikus. Hilangnya ZPBP mengakibatkan infertilitas jantan dengan morfologi sperma kepala bulat yang menyimpang dan tidak ada motilitas sperma ke depan. Tidak adanya ZPBP menghambat pematangan akrosom yang benar, yang menyebabkan fragmentasi akrosom dan gangguan persimpangan Sertoli-spermatid. Pejantan yang kekurangan ZPBP adalah *sub-fertile*, dengan invaginasi membran akrosom yang tidak teratur, dan menghasilkan sperma dismorfik dengan kapasitas terbatas untuk menembus zona pelusida. ZPBP berevolusi untuk melayani fungsi kooperatif selama spermiogenesis.

4.6 Kesimpulan

Plasma semen sapi Bali tidak bertanduk ditemukan protein ZPBP (*Zona Pelusida Binding Protein*) terkait dengan fungsi reproduksi yang belum dilaporkan pada sapi Bali bertanduk dan pada *Bos taurus*. Fungsi reproduksi ZPBP terindikasi pada status akrosom sapi Bali tidak bertanduk yang berhubungan dengan sifat fertilitas.

4.7 Daftar Pustaka

- Amann RP and Waberski D (2014). Computer- assisted sperm analysis (CASA): Capabilities and potential developments. *Theriogenology*. 81(1): 5-17.
- Anggraeni A, Herawati T, Praharani L, Utami D, and Argis (2016). Conception rates of holstein-friesian cows inseminated artificially with reducing frozen semen doses. *Journal of Animal Science and Technology*. 39(2):75-1.
- Baco S, Zulkarnaim, Malaka R, and Moekti GR (2020). Polled Bali Cattle and Potentials for the Development of Breeding Industry in Indonesia. Hasanuddin

- Journal of Animal Science. 2(1): 23-33.
- Baharun (2021). Kajian Karakteristik Semen Pejantan Unggul Sapi Simental Berbasis Proteome Terhadap Kualitas Semen dan Penanda Fertilitas Spermatozoa. PhD Thesis. Post Graduate School, IPB University, Bogor.
- Bernecic NC, Donnellan E, O'Callaghan E, Kupisiewicz K, O'Meara C, Weldon K, Lonergan P, Kenny DA, Fair S (2021). Comprehensive functional analysis reveals that acrosome integrity and viability are key variables distinguishing artificial insemination bulls of varying fertility. *Journal Dairy Science*. 104(10):11226-11241.
- Boe-Hansen GB, Rego JPA, Crisp JM, Moura AA, Nouwens AS, Li Y, Venus B, Burns BM and McGowan MR (2015). Seminal plasma proteins and their relationship with percentage of morphologically normal sperm in 2-year-old Brahman (*Bos indicus*) bulls. *Animal Reproduction Sciences*. 5268:1-11.
- Brockmann GA, Martin J, Friedrich T, and Manfred S (2000). Marker controlled inheritance of the Polled locus in Simmental Cattle. *Archives Animal Breeding*. 43(3): 207-212.
- Broekhuijse ML, Sostaric E, Feitsma H, Gadella BM (2012). Application of computer assisted semen analysis to explain variations in pig fertility. *Journal Animal Sciences*. 90(3): 779-789.
- Byrne CJ, Fair S, English AM, Cirot M, Staub C, Lonergan P, and Kenny DA (2018). Plane of nutrition before and after 6 months of age in Holstein-Friesian bulls: I. Effects on performance, body composition, age at puberty, and postpubertal semen production. *Journal Dairy Sciences*. 101(4):3447-3459.
- Crapster JA, Rack PG, Hellmann ZJ, Le AD, Adams CM, Leib RD, Elias JE, Perrino J, Behr B, Li Y, Lin J, Zeng H, and Chen JK (2020). HIPK4 is essential for murine spermiogenesis. *Elife*. 9:e50209.
- Diansyah AM, Yusuf M, Kaiin EM (2020). The Quality of Sperm Post-Immobilization at Some Parts of FH Sperm Using Laser Diodes. The 2nd International Conference of Animal Science and Technology. IOP Conferences. Series: Earth Environmental Science. 492 (2020) 012074.
- Diansyah AM, Yusuf M, Toleng AL, and Dagong MIA (2022^a). Characteristic and kinematics of Bali-polled bull sperms. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 10(8):1787-1796.
- Diansyah AM, Yusuf M, Toleng AL, Dagong MIA, and Maulana T (2022^b). The Expression of Plasma Protein in Bali-polled Bulls Using 1D-SDS-PAGE. *World Veterinary Journal*. 12 (3): 316-322.
- El-Bahrawy KA (2017). The influence of caffeine supplementation and concerted utilization of enzymatic and mechanical semen liquefaction on freezability of dromedary camel sperms. *International Journal Veterinary Medical*. 5: 121-127.
- Feugang JM, Liao SF, Willard ST, and Ryan PL (2018). In-depth proteomic analysis of boar spermatozoa through shotgun and gel-based methods. *BMC Genomics*. 19(1):62.
- Gaudet P, Livstone MS, Lewis SE, and Thomas PD (2011). Phylogenetic-based propagation of functional annotations within the Gene Ontology consortium. *Briefings in Bioinformatics*. 12(5):449-62.
- Gomes FB, Park R, Viana AG, Fernandez-Costa C, Topper E, Kaya A, Memili E, Yates JR and Moura AA (2020). Protein signatures of seminal plasma from

- bulls with contrasting frozen-thawed sperm viability. *Nature*. 10(1):14661-14675.
- Harayama H, Nishijima K, Murase T, Sakase M, and Fukushima M (2010). Relationship of protein tyrosine phosphorylation state with tolerance to frozen storage and the potential to undergo cyclic AMP-dependent hyperactivation in the spermatozoa of Japanese Black bulls. *Molecular Reproduction and Development*. 77: 910– 921.
- Ickowicz D, Finkelstein M, and Breitbart H (2012). Mechanism of sperm capacitation and the acrosome reaction: Role of protein kinases. *Asian Journal Andrology*. 14:816–821.
- Islam MT, Bhuiyan JS, Juyena NS, and Bhuiyan MM (2019). Post artificial insemination conception rate of a Brahman bull in selected areas of Bangladesh. *Bangladesh Journal Veterinary Medicine*. 17(1): 61-69.
- Kasimanickam VR, Kasimanickam RK, Kastelic JP and Stevenson JS (2013). Associations of adiponectin and fertility estimates in Holstein bulls. *Theriogenology*. 79(5):766-777.
- Kastelic JP (2013). Male involvement in fertility and factors affecting semen quality in bulls. *Animal Frontiers*. 3(4): 165-172.
- Kathiravan P, Kalatharan J, Edwin MJ, and Veerapandian C (2008). Computer automated motion analysis of crossbred bull spermatozoa and its relationship with *in vitro* fertility in zona-free hamster oocytes. *Animal Reproduction Sciences*. 104(1): 9-17.
- Khalil WA, El-Harairy MA, Zeidan AEB, Hassan MAE, and Mohey-Elsaeed O (2018). Evaluation of bull spermatozoa during and after cryopreservation: Structural and ultrastructural insights. *International Journal Veterinary Science Medicine*. 6:S49–S56.
- Krízková J, Ěoudková V, and Maršálek M (2017). Computer- assisted sperm analysis of head morphometry and kinematic parameters in warmblood stallions spermatozoa. *Journal Equine Veterinary Sciences*. 57: 8-17.
- Kumaresan A, Johannisson A, Al-essawe EM, and Morrell JM (2017). Sperm viability, reactive oxygen species, and DNA fragmentation index combined can discriminate between above-and below-average fertility bulls. *Journal Dairy Sciences*. 100(7):5824–5836.
- Kutchy NA, Menezes ESB, Ugur MR, Ul-Husna A, El- Debaky H, Evans HC, Beaty E, Santos FC, Tan W, Wills RW, Topper E, Kaya A, Moura AA, and Memili E (2019). Sperm cellular and nuclear dynamics associated with bull fertility. *Anim. Reprod. Sci*. 211:106203.
- Lin YN, Roy A, Yan W, Burns KH, and Matzuk MM (2007). Loss of zona pellucida binding proteins in the acrosomal matrix disrupts acrosome biogenesis and sperm morphogenesis. *Molecular and Cellular Biology*. 27(19):6794-805.
- Long C, and Gregory K (1978). Inheritance of the horned, scurred, and polled condition in cattle. *Journal of Heredity*. 69, 395–400.
- López-Gatiús F (2012). Factors of a non-infectious nature affecting fertility after artificial insemination in lactating dairy cows: a review. *Theriogenology*. 77:1029-1041.
- Madrid-Bury N, Pérez-Gutiérrez JF, Pérez-Garnelo S, Moreira P, Sanjuanbenito BP, Gutiérrez-Adán A, dan Martínez JDF (2005). Relationship between non-return rate and chromatin condensation of deep frozen bull spermatozoa.

- Theriogenology. 64:232-241.
- McLeskey SB, Dowds C, Carballada R, White RR, and Saling PM (1998). Molecules involved in mammalian sperm-egg interaction. *International Review Cytology*. 177: 57-113.
- Miranda PV, Allaire A, Sosnik J, and Visconti PE (2009). Localization of low-density detergent-resistant membrane proteins in intact and acrosome reacted mouse sperm. *Biology Reproduction* 80: 897-904.
- Moura AA, Memili E, Portela AMR, Viana AG, Velho ALC, Bezerra MJB, and Vasconcelos FR (2018). Seminal plasma protein and metabolites: effects on sperm function and potential as fertility markers. *Animal Reproduction*. 15(1):691-702.
- Mueller ML, Cole JB, Connors NK, Johnston DJ, Randhawa IAS, and Van Eenennaam AL (2021). Comparison of Gene Editing Versus Conventional Breeding to Introgress the POLLED Allele Into the Tropically Adapted Australian Beef Cattle Population. *Frontiers in Genetic*. 12:593154.
- Mukhopadhyay CS, Gupta AK, Yadav BR, Chauhan IS, Gupta A, Mohanty TK, and Raina VS (2011). Effect of cryopreservation on sperm chromatin integrity and fertilizing potential in bovine semen. *Livestock Science*. 136:114–121
- Netherton JK, Hetherington L, Ogle RA, Velkov T and Baker MA (2018). Proteomic analysis of good-and poor-quality human sperm demonstrates that several proteins are routinely aberrantly regulated. *Biology Reproduction*. 99(2):395-408.
- Nolte W, Thaller G, and Kuehn C (2019). Selection signatures in four German warmblood horse breeds: Tracing breeding history in the modern sport horse. *PLoS One*. 14(4):e0215913.
- Pardede BP, Agil M, Yudi Y and Supriatna I (2020). Relationship of frozen-thawed semen quality with the fertility rate after being distributed in the Brahman Cross Breeding Program. *Veterinary World*. 13(12): 2649-2657.
- Perreault SD (2002). Smart use of computer-aided sperm analysis (CASA) to characterize sperm motion. In: Robaire B, Hinton BT, editors. *The Epididymis: From Molecules to Clinical Practice*. Springer, Boston MA.
- Purdy PH (2006). A review on goat sperm cryopreservation. *Small Ruminant Research*, 63(3): 215-225.
- Raafi M, Yusuf M, Toleng AL, Diansyah AM, Surahman and Sahiruddin (2021). Movement patterns of sperms at different bull breeds using computer-assisted sperm analysis (CASA). *The 3rd International Conference of Animal Science and Technology*. IOP Conferences. Series: Earth Environmental Science. 708 (2021) 012137.
- Ratnawati D, Isnaini N and Susilawati T (2019). Factors affecting spermatozoa motility analysis using CASA. *Indonesian Bulletin of Animal and Veterinary Sciences*. 29: 145–52.
- Ratnawati D, Luthfi M, Pamungkas D, and Affandhy L (2020). Motility characterization of albumin sexed spermatozoa in two different diluents and additional antioxidant. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*. 45(4): 277-286.
- Richardson MF, Munyard K, Croft LJ, Allnutt TR, Jackling F, Alshanbari F, Jevit M, Wright GA, Cransberg R, Tibary A, Perelman P, Appleton B, and Raudsepp T (2019). Chromosome-Level Alpaca Reference Genome *VicPac3.1* Improves

- Genomic Insight Into the Biology of New World Camelids. *Front Genet.* 10:586.
- Rosyada ZNA, Tumbelaka LI, Ulum MF, Solohin DD, Kaiin EM, Gunawan M, Harsi T, Suharto K, and Purwantara B (2021). Meta data analysis of conception rate in relation to sperm motility in Madura superior bulls. *The 1st International Conference on Livestock in Tropical Environment. IOP Conferences. Series: Earth Environmental Science.* 902 (2021) 012048.
- Said S (2020). Perbibitan sapi potong lokal Indonesia berbasis bioteknologi reproduksi mendorong percepatan swasembada daging nasional. *Pusat penelitian bioteknologi. Lembaga ilmu pengetahuan. LIPI Press., Indonesia, Jakarta.* 79(10): 653-1.
- Said S dan Putra WPB (2018). Short Communication: Novel Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) in the 5'UTR of Bovine Heat Shock Protein 70 (bHSP70) Gene and its association with Service per Conception (S/C) of Pasundan cattle. *Biodiversitas.* 19(5):1622-1625.
- Sari C, Hartono M, dan Suharyati S (2016). Faktor- Faktor Yang Memengaruhi Service Per Conception Sapi Perah Pada Peternakan Rakyat Di Provinsi Lampung. *Jurnal Ilmiah Peternakan terppadu.* 4(4):313-318.
- Sharma V, Verma AK, Sharma P, Pandey D and Sharma M (2022) Differential proteomic profile of X- and Y- sorted Sahiwal bull semen. *Research in Veterinary Science.* 144:181-189.
- Shojaei H, Kroetsch T, Wilde R, Blondin P, Kastelic JP, and Thundathil JC (2012). Moribund sperm in frozen-thawed semen, and sperm motion end points post-thaw and post-swim-up, are related to fertility in Holstein AI bulls. *Theriogenology.* 77(5):940-951.
- Simonik O, Sichtar J, Krejcarkova A, Rajmon R, Stadnik L, Beran J, Dolezalova M, and Biniova Z (2015). Computer assisted sperm analysis – the relationship to bull field fertility, possible errors and their impact on outputs: A review. *Indian Journal of Animal Sciences.* 85(1):3-11.
- Song C, Zhou H, Gao B, Sun L, Wu H, Wang X, Cgeb G, and Mao J (2010). Molecular cloning of pig ZBP2 and mRNA expression of ZBP1 and ZBP2 in reproductive tracts of boars. *Animal Reproduction Science.* 122(3-4):229-235.
- Suarez SS and Ho HC (2003). Hyperactivated motility in sperm. *Reproduction Domestication Animal.* 38(2):119-24.
- Sun W, Li Y, Su J, Bao X, Ding R, Zhao G, Cao G, Hu S, Wang J, Sun Q, Yu H, and Li X (2021). Correlation between in vitro fertilization and artificial insemination in Holstein bulls. *Animal Bio Science.* 34(12):1879-1885.
- Suzuki K, Geshi M, Yamaguchi N, and Nagai T (2003). Functional Changes and Motility Characteristic of Japanese Black Bull Sperms Separated by Percoll. *Animal Reproduction Sciences.* 77:157- 172.
- Syarifuddin NA, Toleng AL, Rahrnja DP and Ismartoyo (2018). Computerized-Assisted Semen Analysis (CASA) to Predict Sperm Fertility of Bali Bulls. *Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah.* 3(1):80-85.
- Szklarczyk D, Franceschini A, Wyder S, Forslund K, Heller D, Huerta-Cepas J (2015). STRING v.10: Protein-protein interaction networks, integrated over the tree of life. *Nucleic Acids Research.* 43:447-452.
- Thundathil J, Gil J, Januskauskas A, Larsson B, Soderquist L, Mapletoft R, and Rodriguez-Martinez H (1999). Relationship between the proportion of

- capacitated spermatozoa present in frozen-thawed bull semen and fertility with artificial insemination. *International Journal Andrology*. 22:366–373.
- Thundathil, JC, Dance AL, and Kastelic JP (2016). Fertility management of bulls to improve beef cattle productivity. *Theriogenology*. 86(1):397-405.
- Wang X, Yang C, Guo F, Zhang Y, Ju Z, Jiang Q, Zhao X, Liu Y, Zhao H, Wang J, Sun Y, Wang C, Zhu H and Huang J (2019). Integrated analysis of mRNAs and long noncoding RNAs in the semen from Holstein bulls with high and low sperm motility. *Nature*. 9:2092.
- Yániz JL, Palacín I, Silvestre MA, Hidalgo CO, Tamargo C, and Santolaria P (2021). Ability of the ISAS3Fun Method to Detect Sperm Acrosome Integrity and Its Potential to Discriminate between High and Low Field Fertility Bulls. *Biology*. 10(11):1135.
- Zhang T, Wu J, Liao C, Ni Z, Zheng J, and Yu F (2018). System analysis of teratozoospermia mRNA profile based on integrated bioinformatics tools. *Molecular Medicine Reports*. 18(2):1297-1304.

BAB V

PEMBAHASAN UMUM

Pengembangan sapi Bali saat ini mengarah pada pengembangan sapi Bali tanpa tanduk (*Polled*). Berdasarkan definisinya, sapi *Polled* adalah ternak sapi yang tanduknya tidak tumbuh secara alami (Zulkarnaim, 2017). Terdapat beberapa keuntungan pada sapi *polled*, seperti mengurangi resiko terluka yang sering terjadi pada peternak yang disebabkan oleh tanduk, dapat mencegah memar pada karkas dan kerusakan pada kulit (Glatzer et al., 2013). Sehingga, seleksi terhadap sapi *polled* menjadi sangat penting terutama pada manajemen budidaya ternak yang modern (Brockmann, 2000).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa BCS, lingkaran skrotum, dan libido sapi Bali bertanduk dan tidak bertanduk masuk dalam kategori memuaskan. Pejantan yang baik tidak boleh terlalu gemuk dan tidak boleh kurus (Permadi, et al. 2013). *Body Condition Score* (BCS) ideal untuk sapi pejantan menurut Permadi et al. (2013) adalah antara 5-7 dalam skala 1-9. Pejantan dengan libido tinggi memiliki nilai minimal +1 (Hoflack et al., 2006).

Kualitas semen segar maupun beku sapi Bali bertanduk dan tidak bertanduk sesuai dengan Peraturan Menteri Pertanian RI Nomor: 10/Permentan/PK.210/3/2016 dan Standarisasi Nasional Indonesia 4868.1:2007 untuk semen beku sapi (Baharun, et al., 2021), kualitas semen segar dapat diproses sebagai semen beku dengan nilai motilitas sperma >70% dan nilai abnormalitas sperma <20%. Serta kinematika semen segar maupun beku sapi Bali tidak bertanduk memiliki kategori yang cepat. Nilai VCL dapat dibagi menjadi: cepat (>90 $\mu\text{m/s}$), sedang (45-90 $\mu\text{m/s}$), lambat (10-45 $\mu\text{m/s}$), dan statis atau tidak bergerak (<10 $\mu\text{m/s}$). Nilai VAP > 25,0 $\mu\text{m/s}$ merupakan prediktor yang baik terhadap kemampuan fertilisasi in vitro (Suzuki et al., 2003). Tingkat fertilitas berkorelasi dengan VSL yang memberikan kontribusi penting terhadap karakteristik sperma (Shibahara et al., 2003).

Kaya dan Memili (2016), menyatakan bahwa tingkat fertilitas pejantan dalam program pemuliaan bukan saja ditentukan oleh kuantitas maupun kualitas semen, namun terdapat perbedaan variasi tingkat fertilitas yang signifikan diantara sapi jantan yang dapat membatasi efisiensi reproduksi. Pada ternak sapi potensi fungsi *genomic* dalam bentuk biomarkers penentu fertilitas pejantan dapat

dilakukan melalui identifikasi kandungan plasma semen termasuk protein plasma. Komponen biokimia dalam plasma semen termasuk protein dan peptida berfungsi sebagai regulasi dalam melindungi spermatozoa, spermatogenesis, kapasitas, fertilisasi melalui interaksi dengan berbagai jenis ligan spermatozoa (Rodriguez-Villamil, *et al.*, 2016). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekspresi protein plasma semen menggunakan 1D-SDS-PAGE pada sapi Bali bertanduk dan tidak bertanduk memiliki kandidat berupa IGF-1, AKAP 3, AKAP 4, arylsulfatase-a, N-acetyl- β -guicosaminidase, BSP A1/A2, BSP-A3, dan BSP-30 (BSP1, BSP3, dan BSP5) dan asFP yang terkait dengan tingkat reproduksi yang tinggi. Namun untuk mengoptimalkan hasil tersebut, maka profil protein perlu dikonfirmasi lebih lanjut menggunakan metode *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LCMS/MS).

Hasil analisis LCMS/MS berupa komposisi profil protein plasma semen sapi Bali bertanduk dan tidak bertanduk dengan berat molekul 12-65 kDa. menunjukkan bahwa profil protein plasma semen sapi Bali bertanduk dan tidak bertanduk ditemukan 206 total profil protein. Profil protein plasma semen sapi Bali bertanduk dan tidak bertanduk ditemukan 154 profil protein yang sama. Pada sapi Bali bertanduk ditemukan 24 profil protein yang tidak ditemukan sapi Bali tidak bertanduk. Sedangkan pada sapi Bali tidak bertanduk ditemukan 28 profil protein yang tidak ditemukan sapi Bali bertanduk.

Protein plasma semen sapi Bali tidak bertanduk diidentifikasi 178 profil protein. Beberapa protein ini memiliki fungsi reproduksi seperti motilitas sperma, sinyal aktivitas reseptor, rekognisi sperma-telur, respons terhadap stres oksidatif, perlindungan sperma, kapasitas sperma, kemampuan pembekuan, sinyal aktivitas caspase dan aktivitas faktor pertumbuhan.

Protein yang berperan dalam fungsi reproduksi pada sapi Bali bertanduk dan tidak bertanduk adalah TEXT101, FLOR3 (*Folate Receptor Alpha 3*), FLOR1 (*Folate Receptor Alpha 1*), BSP1, BSP3, BSP5 (*Binder Sperm Protein*), SPADH2 (*Spermadhesin 2*), PRSS55 (*Serine Protease 55*), ELSBPB1 (*Epididymal Sperm Binding Protein 1*), CRISP1 (*Cysteine-Rich Secretory Protein 1*), GPX3 (*Glutathione Peroxidase 3*), RNASE4 (*Ribonuclease 4*) dan NGF (*Beta-Nerve Growth Factor*). Pada penelitian ini menemukan ekspresi protein ZBPB (*Binding sperm to zona pellucida*) pada sapi Bali tidak bertanduk yang tidak ditemukan pada sapi Bali bertanduk. Protein tersebut memiliki nomor aksesori F1N369 dengan nama protein ZBPB (*Zona Pellucida Binding Protein*). Protein ZBPB (F1N369) memiliki

jumlah asam amino 325aa. Namun, belum ada informasi atau laporan yang ditemukan mengenai ekspresi ZPBP (F1N369) pada sapi Bali tidak bertanduk.

gen ontologi protein ZPBP (F1N369) ditemukan klasifikasi menurut fungsi komponen seluler dan proses biologis. Protein ZPBP (F1N369) diekspresikan dalam komponen seluler yang berfungsi dalam mediasi sperma dengan zona pelusida sedangkan dalam proses biologis diekspresikan dalam fungsi pembentukan akrosom dan pengikatan sperma di zona pelusida (Gaudet *et al.*, 2011). Protein yang terlibat dalam metabolisme dan motilitas sperma, reorganisasi dan fungsi membran, perlindungan terhadap *reactive oxidative species* dan respon imun, kapasitas, dan reaksi akrosom diekspresikan dalam cairan yang mengelilingi sel sperma dalam semen (Moura *et al.*, 2018). Banyak protein pengikat sperma dalam plasma semen mengubah bentuk dan fungsi membran sperma. Menurut penelitian, fungsi protein plasma semen dalam mengatur fungsi sperma rumit dan terekspresikan sendiri selama beberapa proses molekuler. Sejumlah penelitian menawarkan bukti nyata bahwa protein plasma semen menempel pada permukaan sperma dan berdampak pada fungsi (Purdy, 2006).

McLeskey *et al.* (1998) menyatakan bahwa ZPBP adalah salah satu dari sekian banyak protein yang berperan dalam pengikatan sekunder antara sperma yang bereaksi pada akrosom dengan zona pelusida. Hal ini menunjukkan bahwa protein yang ditemukan pada sapi Bali tidak bertanduk berhubungan dengan fungsi reproduksi. Integritas akrosom sangat penting untuk keberhasilan fertilitas, dimana membran plasma dan akrosom menyebabkan pelepasan enzim litik baik sebelum atau setelah penetrasi dengan zona pelusida (Ickowicz *et al.*, 2012). Oleh karena itu, jika akrosom bereaksi secara prematur atau rusak selama kriopreservasi atau setelah inseminasi, potensi spermatozoa untuk berhasil membuahi akan berkurang (Thundathil *et al.*, 1999). Namun, beberapa analisis tambahan diperlukan untuk memprediksi tingkat fertilitas seekor sapi pejantan. Yaniz *et al.* (2021) melaporkan pejantan dengan fertilitas tinggi memiliki 46% integritas akrosom. Akrosom memainkan peran penting dalam proses fertilisasi. Sejalan dengan hasil penelitian ini yang menunjukkan bahwa sapi Bali tidak bertanduk memiliki fertilitas yang baik disertai angka kebuntingan dengan nilai NRR sebesar 74%, CR sebesar 56%, dan S/C sebesar 1,52. Sejalan dengan pendapat Rosita *et al.* (2014) NRR dengan kategori baik memiliki nilai >50%. Menurut pendapat Susilawati (2011) dan Janudeen dan Hafez (20001) bahwa S/C

normal adalah 1,6-2,1 dan semakin rendah nilainya maka semakin tinggi pula tingkat fertilitasnya.

Lin *et al.* (2007) melaporkan ZBPB pada tikus. Hilangnya ZBPB mengakibatkan infertilitas jantan dengan morfologi sperma kepala bulat yang menyimpang dan tidak ada motilitas sperma ke depan. Tidak adanya ZBPB menghambat pematangan akrosom yang benar, yang menyebabkan fragmentasi akrosom dan gangguan persimpangan Sertoli-spermatid. Pejantan yang kekurangan ZBPB adalah *sub-fertile*, dengan invaginasi membran akrosom yang tidak teratur, dan menghasilkan sperma dismorfik dengan kapasitas terbatas untuk menembus zona pelusida. ZBPB berevolusi untuk melayani fungsi kooperatif selama spermiogenesis.

Implikasi ditemukannya protein spesifik ZBPB pada sapi Bali tidak bertanduk yang memiliki asosiasi dengan status akrosom yang berperan dalam pengikatan sperma dengan zona pelusida. Hal ini menunjukkan protein ZBPB dapat dijadikan penanda tambahan dalam seleksi tambahan pejantan di BIB. Pada penelitian ini sapi Bali bertanduk dan tidak bertanduk menunjukkan kriteria yang baik dan tidak berbeda secara *in vivo*. Hal ini diduga disebabkan oleh status akseptor yang beragam sesuai dengan kondisi peternakan rakyat. Sehingga diperlukan akseptor dengan kondisi terkontrol agar hasil lebih optimal.

5.1 Daftar Pustaka

- Baharun A, Arifiantini I, Karja NWK, and Said S (2021). Seminal plasma protein profile based on molecular weight and their correlation with semen quality of Simmental bull. *Journal of The Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 46(1):20-28.
- Brockmann GA, Martin J, Friedrich T, and Manfred S (2000). Marker controlled inheritance of the Polled locus in Simmental Cattle. *Archives Animal Breeding*, 43(3): 207-212.
- Glatzer, S., Merten, N.J., Dierks, C., Wöhlke, A., Philipp, U., and Distl, O. 2013. A Single Nucleotide Polymorphism within the Interferon Gamma Receptor 2 Gene Perfectly Coincides with Polledness in Holstein Cattle. *PloS one*, 8(6), 1–7.
- Hoflack G, Van Soom A, Maes D, Dekruif A, Opsomer G, Duchateau L. 2006. Breeding soundness and libido examination of Belgian Blue and Holstein Friesian artificial insemination bulls in Belgium and The Netherlands. *Theriogenology* 66(2): 207- 216.
- Ickowicz D, Finkelstein M, and Breitbart H (2012). Mechanism of sperm capacitation and the acrosome reaction: Role of protein kinases. *Asian Journal Andrology*. 14:816–821.
- Jainudeen, M.R. and Hafez, E.S.E. 2000. Cattle And Buffalo dalam Reproduction In Farm Animals. 7th Edition. Edited by Hafez E. S. E. Lippincott Williams & Wilkins. Maryland. USA.

- Kaya, A. and E, Memili. 2016. Sperm macromolecules associated with bull fertility. *Anim Reprod Sci.* 5370: 1-7.
- Lin YN, Roy A, Yan W, Burns KH, and Matzuk MM (2007). Loss of zona pellucida binding proteins in the acrosomal matrix disrupts acrosome biogenesis and sperm morphogenesis. *Molecular and Cellular Biology.* 27(19):6794-805.
- McLeskey SB, Dowds C, Carballada R, White RR, and Saling PM (1998). Molecules involved in mammalian sperm-egg interaction. *International Review Cytology.* 177: 57-113.
- Permadi DS, Tagama TR, Yuwono P. 2013. Produksi semen segar dan semen beku sapi pejantan dengan body condition score (BCS) yang berbeda di balai inseminasi buatan lembang. *Jurnal Ilmiah Peternakan.* 1(3): 759-767.
- Rodriguez-Villamil P, Hoyos-Marulanda V, Martins JA, Oliveira AN, Aguiar LH, Moreno FB, Velho AL, Monteiro-Moreira AC, Moreira RA, Vasconcelos IM, Bertolini M, Moura AA. 2016. Purification of binder of sperm protein 1 (BSP1) and its effects on bovine in vitro embryo development after fertilization with ejaculated and epididymal sperm. *Theriogenology.* 85: 540-554.
- Rosita EA, Susilawati T, dan Wahyuningsih S (2014). Keberhasilan IB menggunakan semen beku hasil sexing dengan metode sedimentasi putih telur pada sapi PO cross. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan.* 24(1): 72 – 76.
- Shibahara, H., H. Obara, K. Kikuchi, S. Yamanaka, Y. Hirano, T. Suzuki, S. Takamizawa, and M. Suzuki, 2003. Prediction of Human Sperm Fertilizing Ability by Hiperactivated Motility Pattern. *J.Mamm.OvaRes.* Vol 20, 29-33.
- Susilawati T. 2011. *Spermatologi.* UB Press. Brawijaya University
- Suzuki, K., M. Geshi, N. Yamaguchi and T. Nagai, 2003. Functional Changes and Motility Characteristic of Japanese Black Bull Sperms Separated by Percoll. *Animal Reprod. Science* 77: 157-172.
- Thundathil J, Gil J, Januskauskas A, Larsson B, Soderquist L, Mapletoft R, and Rodriguez-Martinez H. 1999. Relationship between the proportion of capacitated spermatozoa present in frozen-thawed bull semen and fertility with artificial insemination. *International Journal Andrology.* 22:366–373.
- Yániz JL, Palacín I, Silvestre MA, Hidalgo CO, Tamargo C, and Santolaria P .2021. Ability of the ISAS3Fun Method to Detect Sperm Acrosome Integrity and Its Potential to Discriminate between High and Low Field Fertility Bulls. *Biology.* 10(11):1135.
- Zulkarnaim. 2017. *Studi Karakteristik Sapi Bali Polled Sebagai Sapi Lokal Di Sulawesi Selatan.* Sekolah Pascasarjana. Universitas Hasanuddin. *Disertasi.*

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Kesimpulan pada penelitian ini secara umum adalah kinerja reproduksi dan daya fertilitas sapi Bali bertanduk dan tidak bertanduk (*polled*) dapat digunakan dalam upaya identifikasi sapi Bali tidak bertanduk sebagai calon galur sapi potong Indonesia. Secara khusus kesimpulan pada penelitian yaitu:

1. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa sapi Bali tidak bertanduk memiliki standar BSE yang memuaskan, dan karakteristik semen yang baik sesuai SNI 01-4869.1-2017. Serta kinematika sperma termasuk kategori baik sehingga sapi Bali tidak bertanduk berpotensi menjadi penjamin unggul.
2. Analisis protein menggunakan 1D-SDS-PAGE berdasarkan berat molekul dapat digunakan sebagai penanda awal kualitas semen pada sapi Bali tidak bertanduk. Semen sapi Bali bertanduk dan tidak bertanduk mengandung kadindat protein yang sama yaitu IGF-1, AKAP 3, AKAP 4, arylsulfatase-a, N-acetyl- β -glucosaminidase, BSP A1/A2, BSP-A3, dan BSP-30 (BSP1, BSP3, and BSP5) dan asFP yang terkait dengan sifat reproduksi.
3. Plasma semen sapi Bali tidak bertanduk ditemukan protein ZBPB (*Zona Pelucida Binding Protein*) terkait dengan fungsi reproduksi yang belum dilaporkan pada sapi Bali bertanduk dan pada *Bos taurus*. Fungsi reproduksi ZBPB terindikasi pada status akrosom sapi Bali tidak bertanduk yang berhubungan dengan sifat fertilitas.
4. Protein spesifik ZBPB pada penelitian ini tidak memperlihatkan asosiasi dengan kinerja reproduksi secara *in vivo*, namun berasosiasi dengan status akrosom pada semen sapi Bali tidak bertanduk.

6.2 Saran

Analisis lebih lanjut pada tingkat molekuler pada spermatozoa dibutuhkan untuk melihat hubungan secara langsung antara kualitas dan protein sperma dengan jumlah sampel yang lebih banyak.

CURRICULUM VITAE

A. Identitas Diri

1	Nama	Athhar Manabi Diansyah
2	Jenis Kelamin	Laki-laki
3	Agama	Islam
4	TTL	Palopo, 13 November 1997
5	Alamat	Jl. PMR No. 3 Taman Yasmin 6, Kota Bogor
6	E-mail	Athhar.md13@gmail.com
7	No. Telpn	+62087812212993

B. Riwayat Pendidikan

No	Strata	Institusi	Fakultas/ Jurusan	Tahun Lulus	Judul Penelitian	Supervisor
1	SMA	SMAN 1 Kota Bogor	IPA	2015	-	-
2	S1	Universitas Hasanuddin	Peternakan	2019	Kinerja Reproduksi dan Daya Fertilitas Sapi Bali Bertanduk dan Tidak Bertanduk (<i>Polled</i>)	Prof. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., Ph.D., IPU
3	S2	Universitas Hasanuddin	Sistem- sistem Petanian	2020	Kinerja Reproduksi dan Daya Fertilitas Sapi Bali Bertanduk dan Tidak Bertanduk (<i>Polled</i>)	Prof. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., Ph.D., IPU
4	S3	Universitas Hasanuddin	Ilmu Pertanian	2023	Kinerja Reproduksi dan Daya Fertilitas Sapi Bali Bertanduk dan Tidak Bertanduk (<i>Polled</i>)	Prof. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., Ph.D., IPU

C. Pengalaman Penelitian 5 Tahun Terakhir

No	Tahun	Judul Penelitian	Pendanaan	
			Sumber	Pendanaan
1	2019	Kualitas Spermatozoa Pasca Imobilisasi Beberapa Bagian Spermaozoa Sapi Fh Menggunakan Laser Dioda	-	-
2	2020	Kinerja Reproduksi dan Daya Fertilitas Sapi Bali Bertanduk dan Tidak Bertanduk (<i>Polled</i>)	Hibah PMDSU-DIKTI	Rp. 60.000.000
3	2021	Kinerja Reproduksi dan Daya Fertilitas Sapi Bali Bertanduk dan Tidak Bertanduk (<i>Polled</i>)	Hibah PMDSU-DIKTI	Rp. 59.420.000
4	2022	Kinerja Reproduksi dan Daya Fertilitas Sapi Bali Bertanduk dan Tidak Bertanduk (<i>Polled</i>)	Hibah PMDSU-DIKTI	Rp. 53.190.000

D. Seminar Internasional

No	Nama Kegiatan	Penyelenggara	Tahun	Judul Artikel	Sebagai
1	The 2 nd International Conference of Animal Science and Technology (ICAST)	Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin	2019	The quality of sperm post-immobilization at some parts of FH sperm using laser diodes	Presenter
2	The 3 rd International Conference of Animal Science and Technology (ICAST)	Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin	2020	The quality of intact plasma membrane of bull frozen sperm in different breeds	Presenter
3	The 4 th International Conference of Animal Science and Technology (ICAST)	Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin	2021	The effect of thawing duration on Bali bull polled	Presenter

E. Publikasi Artikel Ilmiah dalam Jurnal 5 Tahun Terakhir

No	Tahun	Judul Artikel	Nama Jurnal	Volume/ Nomor/Halaman	Keterangan
1	2022	Characteristic and Kinematics of Bali-Polled Bull Sperms	Advances in Animal and Veterinary Sciences	10(8): 1787-1796.	First Author
2	2022	The Expression of Plasma Protein in Bali-polled Bulls Using 1D-SDS-PAGE	World's Veterinary Journal	12(3): 316-322.	First Author
3	2023	The Sperms Post-Thawing Quality and Proteomic Seminal Plasma on Fertility Performance of Bali-Polled Bull	Advances in Animal and Veterinary Sciences	11(4): 517-525.	First Author

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Makassar, 25 Maret 2023



Athhar Manabi Diansyah