

KUALITAS SPERMA DAN KARAKTERISTIK BIOMARKA PROAKAP4 PADA PEJANTAN SAPI BALI (*Bos sondaicus*) DENGAN UMUR BERBEDA

IRMA OCTARIA SARI



**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIS HEWAN
PEMINATAN BIOLOGI REPRODUKSI
SEKOLAH KEDOKTERAN HEWAN DAN BIOMEDIS
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025**



PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Kualitas Sperma dan Karakteristik Biomarka ProAKAP4 pada Pejantan Sapi Bali (*Bos sondaicus*) dengan Umur Berbeda” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada IPB University.

Bogor, Agustus 2025

Irma Octaria Sari
B3501211025

RINGKASAN

IRMA OCTARIA SARI. Kualitas Sperma dan Karakteristik Biomarka ProAKAP4 pada Pejantan Sapi Bali (*Bos sondaicus*) dengan Umur Berbeda. Dibimbing oleh BAMBANG PURWANTARA, MOKHAMAD FAKHRUL ULUM dan HERDIS.

Sapi bali merupakan salah satu plasma nutfah asli Indonesia yang berkontribusi sekitar 27% terhadap populasi sapi potong nasional. Produktivitas sapi bali tergolong paling tinggi dibandingkan dengan sapi lokal lainnya seperti sapi madura, sapi Peranakan Ongole (PO), dan pesisir. Inseminasi buatan (IB) menjadi teknologi reproduksi yang secara masif berperan dalam penyebaran materi genetik dari pejantan unggul di berbagai Balai Inseminasi Buatan (BIB). Keberhasilannya dipengaruhi oleh kesuburan betina, ketepatan deteksi estrus, keterampilan inseminator, serta kualitas semen. Faktor penting yang memengaruhi kualitas semen salah satunya adalah umur pejantan. Pejantan yang berumur >10 tahun dilaporkan pada umumnya memiliki tingkat *freezability* rendah, sehingga tidak layak untuk dibekukan dan digunakan dalam program inseminasi buatan.

Evaluasi kualitas semen secara konvensional belum sepenuhnya mampu memprediksi potensi fertilitas pejantan di lapangan. Analisis berbasis *Computer Assisted Sperm Analysis* (CASA) memungkinkan evaluasi berbagai parameter sperma yang memiliki korelasi positif dengan fertilitas. Perkembangan baru menawarkan pendekatan molekuler seperti analisis multiomics (genomik, transkriptomik, proteomik, dan metabolomik). Pendekatan molekuler dalam seleksi pejantan unggul, termasuk pejantan sapi bali, memainkan peran penting dalam meningkatkan efisiensi reproduksi dan memberikan manfaat ekonomi yang signifikan dalam industri peternakan. ProAKAP4 merupakan proteom yang berperan sebagai salah satu penanda fertilitas sapi jantan dan dianggap penting dalam program pemuliaan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kualitas semen beku pejantan sapi bali berdasarkan perbedaan umur dan kaitannya dengan ekspresi biomarka ProAKAP4.

Enam belas pejantan dibagi menjadi dua kelompok yakni di bawah umur 10 tahun ($n = 8$) dan di atas umur 10 tahun ($n = 8$). Kualitas semen beku sapi bali *post-thawing* dinilai berdasarkan motilitas, viabilitas, abnormalitas morfologi, fragmentasi DNA, dan defisiensi protamin. Motilitas total, motilitas progresif, dan parameter kinematik sperma dianalisis menggunakan CASA. Analisis viabilitas dan abnormalitas morfologi menggunakan pewarnaan eosin-nigrosin, fragmentasi DNA menggunakan Halomax Kit, dan defisiensi protamin menggunakan metode *chromomycin A3* (CMA 3). Kadar ProAKAP4 diukur menggunakan Bull 4MID ELISA Kit.

Parameter kinetik sperma menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kelompok ($P < 0,05$). Kecepatan sperma bergerak lurus maju (*straight-line velocity/VSL*) berkorelasi positif dengan fertilitas, terutama peranannya dalam memfasilitasi transport sperma di dalam saluran reproduksi betina dan proses



penetrasi terhadap sel telur dalam proses pembuahan. Nilai VSL dan kecepatan sperma yang bergerak secara kurvilinear (*curve-line velocity/VCL*) setelah proses *thawing* yang lebih tinggi berkaitan dengan peningkatan motilitas sperma dan potensi untuk membuahi. Tingkat fragmentasi DNA meningkat secara signifikan pada pejantan berumur ≥ 10 tahun, yang kemungkinan diakibatkan oleh perubahan komposisi protein inti, terutama perbandingan antara protamin dan histon. Peningkatan kandungan protamin akan meningkatkan kondensasi kromatin dan menjaga keutuhan DNA. Kadar ProAKAP4 menunjukkan ekspresi yang secara signifikan lebih tinggi pada pejantan berumur di bawah 10 tahun dibandingkan dengan pejantan yang lebih tua ($P < 0.05$). Penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan kualitas pada semen beku dan beberapa parameter kinematika sperma pada sapi Bali berdasarkan kelompok umur.

Kata kunci: sapi bali, ProAKAP4, penanda protein, motilitas sperma, karakteristik semen

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

SUMMARY

IRMA OCTARIA SARI. *Effect of age on molecular characteristics of ProAKAP4 protein and post-thawing sperm quality in Bali bulls (Bos sondaicus)*. Supervised by BAMBANG PURWANTARA, MOKHAMAD FAKHRUL ULUM dan HERDIS.

Bali cattle are one of Indonesia's native genetic resources, contributing around 27% to the national beef cattle population. Their productivity is among the highest compared to other local breeds such as Madura cattle, Peranakan Ongole (PO) cattle, and Pesisir cattle. Artificial insemination (AI) is a reproductive technology that plays a significant role in the widespread distribution of superior sire genetic material through various Artificial Insemination Centers (BIB). Its success is influenced by female fertility, the accuracy of estrus detection, the skill of the inseminator, and semen quality. One important factor affecting semen quality is the age of the sire. Sires over 10 years old are generally reported to have a lower level of freezability, making them unsuitable for freezing and use in artificial insemination programs.

Conventional semen quality evaluation has not yet been able to fully predict the fertility potential of sires in the field. Computer Assisted Sperm Analysis (CASA)-based analysis enables the evaluation of a variety of sperm parameters that have a positive correlation with fertility. Recent advances have offered molecular-based approaches, such as multiomics analysis (genomics, transcriptomics, proteomics, and metabolomics). The molecular approach for selecting superior sires, including Bali cattle sires, plays an important role in improving reproductive efficiency and offers significant economic benefits for the livestock industry. ProAKAP4 is a proteome that serves as a marker for bull fertility and is considered important in breeding programs. This study aims to evaluate the quality of frozen semen from Bali cattle sires based on age differences and their relationship with the expression of the ProAKAP4 biomarker.

Sixteen sires were divided into two groups: under 10 years old ($n = 8$) and over 10 years old ($n = 8$). The quality of the post-thaw Bali cattle frozen semen was assessed based on motility, viability, morphological abnormalities, DNA fragmentation, and protamine deficiency. Total motility, progressive motility, and sperm kinematic parameters were analyzed using CASA. Viability and morphological abnormalities were analyzed using eosin-nigrosin staining, DNA fragmentation using the Halomax Kit, and protamine deficiency using the chromomycin A3 (CMA 3) method. ProAKAP4 levels were measured using the Bull 4MID ELISA Kit.

Sperm kinetic parameters showed significant differences between groups ($P < 0.05$). The straight-line velocity (VSL) of sperm is positively correlated with fertility, especially in its role in facilitating sperm transport within the female reproductive tract and egg penetration during fertilization. Higher VSL values



and curve-line velocity (VCL) post-thaw are associated with increased sperm motility and fertilizing potential. DNA fragmentation levels increased significantly in sires aged ≥ 10 years, possibly due to changes in nuclear protein composition, particularly the ratio of protamine to histone. Increased protamine content enhances chromatin condensation and preserves DNA integrity. ProAKAP4 levels showed significantly higher expression in sires under 10 years old compared to older sires ($P < 0.05$). This study shows that there are significant differences in the quality of frozen semen and several sperm kinematic parameters in Bali cattle based on age groups.

Keywords: Bali cattle, ProAKAP4, protein marker, sperm motility, semen characteristics

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

**KUALITAS SPERMA DAN KARAKTERISTIK BIOMARKA
PROAKAP4 PADA PEJANTAN SAPI BALI (*Bos sondaicus*)
DENGAN UMUR BERBEDA**

IRMA OCTARIA SARI

Tesis
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains pada
Program Studi Ilmu Biomedis Hewan

**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIS HEWAN
PEMINATAN BIOLOGI REPRODUKSI
SEKOLAH KEDOKTERAN HEWAN DAN BIOMEDIS
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025**

Judul Penelitian : Kualitas Sperma dan Karakteristik Biomarka
ProAKAP4 pada Pejantan Sapi Bali (*Bos sondaicus*)
dengan Umur Berbeda
Nama : Irma Octaria Sari
Nim : B3501211025

Disetujui oleh

Pembimbing 1:

Prof. drh. Bambang Purwantara, M.Sc.,Ph.D.



Pembimbing 2:

Drh. Mokhamad Fakhurul Ulum, M.Sc.,Ph.D



Pembimbing 3:

Prof. Dr. drh. Herdis, M.Si.

Diketahui

Ketua Program Studi

Prof. drh. Bambang Pontjo Priosoeryanto,
M.S.,Ph.D.,APVet, DACCM
NIP. 196002281986011001



Dekan Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis

Prof. Dr. drh. Amrozi
NIP. 197007211995121001



Tanggal Ujian: 12 Agustus 2025

Tanggal Lulus:

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “Kualitas Sperma dan Karakteristik Biomarker ProAKAP4 pada Pejantan Sapi Bali (*Bos sondaicus*) dengan Umur Berbeda” Penulisan tesis ini disusun untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Magister Sains pada Peminatan Biologi Reproduksi, Program Studi Ilmu Biomedis Hewan, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, Institut Pertanian Bogor.

Penulis dalam kesempatan ini ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu penulis dalam melaksanakan penelitian, menyusun dan menyelesaikan penulisan tesis ini, yaitu kepada:

1. Prof. drh. Bambang Purwantara, M.Sc.,Ph.D. selaku Ketua Komisi Pembimbing; drh. Mokhamad Fakhrul Ulum, M.Sc.,Ph.D selaku Anggota Komisi Pembimbing 1; Prof. Dr. drh. Herdis, M.Si. selaku Anggota Komisi Pembimbing 2 yang telah memberikan bimbingan, arahan, motivasi dan saran dalam penyelesaian penelitian dan tesis;
2. Prof. Dr. R. Iis Arifiantini, M.Si. selaku Dosen Penguji Luar Komisi yang telah memberikan saran dan gagasan yang bermanfaat untuk melengkapi tesis ini;
3. Prof. drh. Bambang Pontjo Priosoeryanto, MS.,Ph.D.,APVet. selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedis Hewan atas saran dan perbaikannya demi kesempurnaan karya ilmiah ini;
4. Kepala Balai Besar, Kabag Tata Usaha, Ketua Kelompok Layanan Kesesuaian dan Kerja Sama, Ketua Tim Kerja Layanan dan Penilaian Kesesuaian, Ketua Tim Kerja Pendayagunaan Hasil, Ketua Tim Kerja Keuangan dan Barang Milik Negara, Ketua Tim Kerja Tata Usaha dan Rumah Tangga, Ketua Tim Kerja Pengelolaan Sumber Daya Manusia Balai Besar Perakitan dan Modernisasi Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, atas izin belajar sehingga studi pascasarjana dan penelitian ini dapat terlaksana;
5. Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari; Unit Rehabilitasi Reproduksi IPB University; Laboratorium Genomik Badan Riset dan Inovasi Nasional;
6. Orang tua tercinta (Bapak Ekhwan/Bapak Zukni/Ibu Refdawati/dan Ibu Ami Suratmi) dan keluarga tercinta (Irfandi Prayogi, S.Si/Radid Prayoga/dan Wildan Filando) untuk segalanya dan tak pernah henti memberikan doa dan dukungan;
7. Zulham Fatcjri, S.AP suami tercinta atas doa, dukungan dan masukan kepada penulis selama menempuh Pendidikan strata-2 dan penyusunan tesis ini;
8. Dosen, Tenaga Kependidikan Divisi Reproduksi dan Kebidanan,

dan Sekretariat Pascasarjana Ilmu Biomedis Hewan atas semangat dan perhatian;

9. Dr. drh. Berlin Pandapotan Pardede, M.Si, Prof. Dr. drh. Retno Soedjodono, M.Si, Dr. Sustiprijatno, M.Sc, Andika Bakti, S.I.Kom., M.I.Kom, Reni Widyati, A.Md untuk setiap perhatian, dukungan serta semangat yang diberikan;
10. Para teman Pejuang Magister tahun angkatan 2021 (ganjil), teman seperjuangan Peminatan Biologi Reproduksi 2021 atas kebersamaan, semangat dan kerjasama serta perhatian yang diberikan;

Penulis menyadari tesis ini masih jauh dari sempurna. Semoga karya ilmiah ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan bagi para pembacanya.

Bogor, Agustus 2025

Irma Octaria Sari

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	vii
 I PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Sapi Bali (<i>Bos sondaicus</i>)	3
2.2 Kualitas Semen	4
2.3 Pengaruh Umur pada Sistem Reproduksi Jantan	5
2.4 A4 Kinase Anchor Protein (ProAKAP4)	6
III METODE PENELITIAN	8
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	8
3.2 Bahan dan Alat	8
3.3 Prosedur Penelitian	8
3.4 Analisis Data	10
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	11
4.1 Kualitas Semen Beku Sapi Bali Pada Umur Berbeda	11
4.2 Kinematik Semen Beku Sapi Bali <i>Post-thawing</i> Pada Umur Berbeda	14
4.3 Konsentrasi dan Korelasi ProAKAP4 dengan Berbagai Parameter Kualitas Semen Beku Sapi bali Pada umur Berbeda	14
V SIMPULAN DAN SARAN	20
5.1 Simpulan	20
5.2 Saran	20

DAFTAR PUSTAKA	21
LAMPIRAN	28

DAFTAR TABEL

1 Kualitas semen beku sapi bali <i>post-thawing</i> dengan umur berbeda	11
2 Kinematik sperma antara semen beku sapi bali <i>post-thawing</i> dengan umur berbeda	14
3 Kualitas Semen berdasarkan Konsentrasi ProAKAP4	16
4 Koefisien korelasi antara konsentrasi ProAKAP4 dengan berbagai parameter kualitas semen beku sapi bali	17

DAFTAR GAMBAR

1 Pejantan Sapi Bali	3
2 Fragmentasi DNA semen beku sapi bali	13
3 Defisiensi Protamin (CMA3)	13
4 Konsentrasi ProAKAP4 semen beku <i>post-thawing</i>	16

DAFTAR LAMPIRAN

1 Kerangka alir penelitian	27
2 Riwayat Hidup	28