

FUNGSI DAN EKSPRESI *HEAT SHOCK PROTEIN 70-2 (HSP70-2)*, *A-KINASE ANCHOR PROTEIN 4 (AKAP4)*, DAN *SPERM ADHESION MOLECULE 1 (SPAM1)* DALAM SPERMATOGENESIS, PEMBENTUKAN FLAGELUM, DAN FERTILITAS PEJANTAN KERBAU (*BUBALUS BUBALIS*)

Faiz Alqurni Akbar¹, Rini Elisia¹

¹Program Studi Peternakan, Departemen Agroindustri, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang

Email korespondensi: faizalqurniakbar@gmail.com

ABSTRAK

Fertilitas pejantan kerbau (*Bubalus bubalis*) sangat dipengaruhi oleh kualitas spermatozoa, terutama motilitas dan kemampuan berinteraksi dengan oosit. Kajian ini bertujuan untuk merangkum fungsi dan ekspresi *heat shock protein 70-2 (HSP70-2/HSPA2)*, *A-kinase anchor protein 4 (AKAP4)*, dan *sperm adhesion molecule 1 (SPAM1)* dalam spermatogenesis, pembentukan flagelum, dan fertilitas pejantan kerbau. Metode yang digunakan adalah kajian pustaka terhadap artikel ilmiah yang telah melalui proses *peer review* dari basis data PubMed, ScienceDirect, SpringerLink, dan Google Scholar. Hasil kajian menunjukkan bahwa HSP70-2 merupakan *chaperone* spesifik sel germinal jantan yang diperlukan untuk menyelesaikan meiosis serta berperan dalam pematangan sperma dan pembentukan kompleks reseptor permukaan sperma bersama SPAM1. AKAP4 merupakan protein penyusun utama *fibrous sheath* yang mengikat Protein Kinase A (PKA); hilangnya AKAP4 menyebabkan *fibrous sheath* tidak terbentuk sempurna dan sperma kehilangan motilitas. SPAM1 (PH-20) merupakan protein membran plasma sperma dengan aktivitas hialuronidase yang memungkinkan sperma menembus lapisan sel kumulus. Ketiga protein tersebut telah terdeteksi pada proteom spermatozoa kerbau, dan protein yang terkait motilitas flagela serta pengenalan sperma-oosit dilaporkan menurun pada pejantan berfertilitas rendah. Dengan demikian, HSP70-2, AKAP4, dan SPAM1 berpotensi dikembangkan sebagai kandidat biomarker fertilitas pejantan kerbau, meskipun validasi kuantitatif pada populasi kerbau, termasuk kerbau lokal Indonesia, masih diperlukan.

Kata kunci: AKAP4, fertilitas, flagelum, HSP70-2, kerbau, SPAM1

ABSTRACT

The fertility of buffalo bulls (Bubalus bubalis) is strongly influenced by sperm quality, particularly motility and the ability to interact with the oocyte. This review aimed to summarize the function and expression of heat shock protein 70-2 (HSP70-2/HSPA2), A-kinase anchor protein 4 (AKAP4), and sperm adhesion molecule 1 (SPAM1) in spermatogenesis, flagellum formation, and buffalo bull fertility. A literature review was conducted on peer-reviewed articles retrieved from PubMed, ScienceDirect, SpringerLink, and Google Scholar. HSP70-2 is a male germ cell-specific chaperone required for the completion of meiosis and is involved in sperm maturation and in the assembly of sperm surface receptor complexes together with SPAM1. AKAP4 is the major structural protein of the fibrous sheath and anchors protein kinase A (PKA); loss of AKAP4 results in incomplete fibrous sheath formation and immotile sperm. SPAM1 (PH-20) is a sperm plasma membrane protein with hyaluronidase activity that enables sperm to penetrate the cumulus cell layer. All three proteins have been detected in the buffalo sperm proteome, and proteins related to flagellar motility and sperm-oocyte recognition are reported to be reduced in low-fertile bulls. Therefore, HSP70-2, AKAP4, and SPAM1 are potential candidate biomarkers of buffalo bull fertility, although quantitative validation in buffalo populations, including Indonesian local buffalo, is still required.

Keywords: AKAP4, buffalo, fertility, flagellum, HSP70-2, SPAM1

PENDAHULUAN

Kerbau (*Bubalus bubalis*) merupakan ternak penting penghasil susu, daging, dan tenaga kerja, terutama di Asia yang memiliki sekitar 96,8% populasi kerbau dunia (Kumaresan *et al.*, 2023). Meskipun demikian, kerbau secara tradisional dianggap memiliki efisiensi reproduksi yang rendah karena membutuhkan lebih banyak inseminasi untuk menghasilkan kebuntingan. Pada program inseminasi buatan, peran pejantan menjadi sangat besar karena semen dari satu pejantan digunakan untuk menginseminasi ribuan betina, sehingga penggunaan pejantan berfertilitas rendah dapat menimbulkan kerugian yang signifikan (Kumaresan *et al.*, 2023).

Kualitas spermatozoa ditentukan oleh spermatogenesis yang normal, pembentukan flagelum yang sempurna, dan kemampuan sperma mengenali serta menembus lapisan pelindung oosit. Flagelum sperma mamalia tersusun atas aksonema serta struktur aksesori, seperti *outer dense fiber*, selubung mitokondria, dan *fibrous sheath*. Gangguan pada pembentukan struktur tersebut merupakan penyebab utama defek motilitas sperma (Lehti & Sironen, 2017).

Salah satu protein penting dalam spermatogenesis adalah *heat shock protein 70-2* (HSP70-2), yang pada manusia dikenal sebagai HSPA2. Protein ini disintesis secara khusus oleh sel spermatogenik selama meiosis, dan penghilangan gen *Hsp70-2* pada mencit jantan menyebabkan kegagalan meiosis, apoptosis sel germinal, dan infertilitas (Dix *et al.*, 1996). Pada manusia, HSPA2 digunakan sebagai penanda kematangan sperma (Huszar *et al.*, 2000), dan ekspresinya lebih rendah pada individu infertil (Motiei *et al.*, 2013).

AKAP4 merupakan protein paling melimpah pada *fibrous sheath* flagelum sperma yang berfungsi sebagai jangkar Protein Kinase A (PKA) dan berperan dalam regulasi motilitas (Pereira *et al.*, 2017). Mencit tanpa gen *Akap4* menghasilkan sperma dengan *fibrous sheath* yang tidak terbentuk sempurna, flagelum yang lebih pendek, dan sperma yang tidak motil (Miki *et al.*, 2002). Sementara itu, SPAM1 atau PH-20 merupakan protein membran plasma sperma yang memiliki aktivitas hialuronidase sehingga memungkinkan sperma menembus lapisan sel kumulus di sekitar oosit (Lin *et al.*, 1994). HSPA2 juga ditemukan membentuk kompleks dengan SPAM1 dan arilsulfatase A (ARSA) pada sperma manusia, yang berperan dalam pengenalan sperma–oosit (Redgrove *et al.*, 2012).

Pada kerbau, analisis proteomik telah mendeteksi HSPA2, AKAP4, dan SPAM1 pada spermatozoa, serta menunjukkan bahwa protein yang terlibat dalam motilitas flagela dan pengenalan sperma–oosit menurun pada pejantan berfertilitas rendah (Kumaresan *et al.*, 2023). Namun, kajian yang membahas ketiga protein tersebut secara terpadu dalam konteks fertilitas pejantan kerbau masih terbatas. Oleh karena itu, artikel ini bertujuan untuk merangkum fungsi dan ekspresi HSP70-2, AKAP4, dan SPAM1 dalam spermatogenesis, pembentukan flagelum, dan fertilisasi, serta potensinya sebagai biomarker fertilitas pejantan kerbau.

METODE

Kajian ini menggunakan metode kajian pustaka (*literature review*) dengan pendekatan deskriptif-komparatif. Pendekatan ini dipilih karena data eksperimental mengenai ekspresi HSP70-2, AKAP4, dan SPAM1 pada kerbau masih terbatas, sehingga hasil penelitian pada kerbau dilengkapi dengan hasil penelitian pada sapi, manusia, dan hewan model.

Sumber data berupa artikel ilmiah yang diperoleh dari basis data PubMed, ScienceDirect, SpringerLink, dan Google Scholar dengan kata kunci “HSPA2”, “HSP70-2”, “AKAP4”, “proAKAP4”, “SPAM1”, “PH-20”, “sperm flagellum”, “sperm motility”, dan “buffalo bull fertility”. Artikel yang dipilih adalah artikel penelitian atau ulasan yang

telah melalui proses *peer review* dan membahas ekspresi, lokalisasi, atau fungsi protein tersebut dalam spermatogenesis, struktur flagelum, motilitas sperma, atau interaksi sperma–oosit. Artikel tanpa data eksperimen yang jelas, tulisan populer, dan publikasi tanpa *peer review* tidak digunakan.

Data dari setiap artikel yang terpilih diekstraksi, meliputi spesies, jaringan atau lokasi ekspresi, metode analisis (misalnya *knockout* gen, proteomik, ELISA, atau imunolokalisasi), fungsi molekuler, serta hubungannya dengan motilitas sperma dan fertilitas. Fungsi protein diverifikasi menggunakan basis data UniProt dan NCBI Gene. Hasil ekstraksi kemudian disintesis secara naratif dan dirangkum dalam bentuk tabel untuk menggambarkan peran ketiga protein dalam mendukung fertilitas pejantan kerbau.

HASIL DAN PEMBAHASAN

HSP70-2 (HSPA2) dalam Spermatogenesis dan Pematangan Sperma

HSP70-2 merupakan anggota keluarga protein kejut panas 70 kDa yang diekspresikan khusus pada sel germinal jantan. Pada mencit, HSP70-2 disintesis selama meiosis dan berasosiasi dengan kompleks sinaptonemal. Mencit jantan tanpa gen *Hsp70-2* mengalami kegagalan meiosis, peningkatan apoptosis spermatosit, dan infertilitas, sedangkan fertilitas betina tidak terpengaruh (Dix *et al.*, 1996). Hal ini menunjukkan bahwa peran utama HSP70-2 adalah memastikan spermatogenesis berlangsung normal sehingga spermatid dapat berkembang menjadi spermatozoa berflagela.

Selain dalam meiosis, HSPA2 berperan dalam pematangan sperma. Huszar *et al.* (2000) mengidentifikasi bahwa protein yang sebelumnya dikenal sebagai isoform M kreatin kinase pada sperma manusia sebenarnya adalah HSPA2, yang kemudian digunakan sebagai penanda kematangan sperma. Ekspresi HSPA2 dilaporkan lebih rendah pada individu infertil dibandingkan individu fertil (Motiei *et al.*, 2013). Pada kerbau, HSPA2 terdeteksi melimpah dalam proteom spermatozoa dan termasuk dalam kelompok protein yang berkaitan dengan spermatogenesis dan perkembangan spermatid (Kumaresan *et al.*, 2023). Dengan demikian, peran HSP70-2 terhadap flagelum bersifat tidak langsung, yaitu melalui keberhasilan spermatogenesis dan pematangan sperma.

AKAP4 dalam Pembentukan *Fibrous Sheath* dan Motilitas Sperma

AKAP4 merupakan protein penyusun utama *fibrous sheath*, yaitu struktur sitoskeleton yang mengelilingi aksonema pada bagian *principal piece* flagelum. Protein ini mengikat subunit regulator PKA sehingga sinyal cAMP–PKA dapat terlokalisasi pada flagelum untuk mengatur motilitas dan hiperaktivasi sperma (Pereira *et al.*, 2017). Peran struktural AKAP4 dibuktikan oleh Miki *et al.* (2002), yang melaporkan bahwa mencit tanpa gen *Akap4* menghasilkan sperma dengan *fibrous sheath* yang tidak berkembang sempurna, flagelum yang lebih pendek, dan sperma yang tidak motil sehingga jantan menjadi infertil.

Pada sapi, konsentrasi prekursor AKAP4 (proAKAP4) dalam semen beku berkorelasi positif dengan motilitas total dan progresif setelah uji termoresistensi, serta berkorelasi negatif dengan persentase sperma berekor abnormal (Bastan & Akçay, 2021). Pada kerbau, AKAP4 terdeteksi melimpah dalam proteom spermatozoa dan termasuk dalam kelompok protein yang berperan pada motilitas flagela; proses motilitas flagela ini juga termasuk proses yang terganggu pada pejantan berfertilitas rendah (Kumaresan *et al.*, 2023). Temuan tersebut menunjukkan bahwa di antara ketiga protein yang dikaji, AKAP4 merupakan protein yang paling berkaitan langsung dengan pembentukan flagelum.

SPAM1 (PH-20) dalam Interaksi Sperma–Oosit

SPAM1 atau PH-20 merupakan protein membran plasma sperma yang memiliki aktivitas hialuronidase. Aktivitas ini memungkinkan sperma menembus lapisan sel kumulus yang kaya asam hialuronat sebelum mencapai zona pelusida (Lin *et al.*, 1994).

Dengan demikian, SPAM1 tidak berperan langsung dalam pembentukan flagelum, tetapi berperan pada tahap fertilisasi setelah sperma yang motil mencapai oosit.

Pada sperma manusia, SPAM1 ditemukan dalam kompleks multimerik bersama HSPA2 dan ARSA, dan penurunan HSPA2 pada pasien infertil berkaitan dengan kegagalan pengenalan sperma–oosit (Redgrove *et al.*, 2012). Kompleks tersebut mengalami translokasi selama kapasitas yang menempatkan ARSA pada bagian apikal kepala sperma, sedangkan SPAM1 diduga lebih berperan dalam dispersi matriks kumulus (Redgrove *et al.*, 2013). Pada kerbau, SPAM1 terdeteksi pada proteom spermatozoa dan termasuk dalam kelompok protein yang berperan pada fusi sperma dengan membran plasma oosit (Kumaresan *et al.*, 2023).

Keterkaitan Fungsional dan Potensi sebagai Biomarker Fertilitas

Ketiga protein bekerja pada tahap yang berbeda namun saling berkaitan (Tabel 1). HSP70-2 menjamin keberhasilan spermatogenesis dan pematangan sperma, AKAP4 membentuk *fibrous sheath* dan mengatur motilitas flagelum, sedangkan SPAM1 memungkinkan sperma menembus lapisan kumulus. Keterkaitan langsung antara HSPA2 dan SPAM1 melalui kompleks reseptor permukaan sperma menunjukkan bahwa gangguan pada HSP70-2 tidak hanya memengaruhi spermatogenesis, tetapi juga kemampuan sperma mengenali oosit (Redgrove *et al.*, 2012).

Tabel 1. Ringkasan fungsi dan bukti ekspresi HSP70-2, AKAP4, dan SPAM1 terkait fertilitas pejantan

Gen/protein utama	Lokasi ekspresi utama	Fungsi molekuler	Bukti utama	Referensi
HSP70-2 (HSPA2)	Spermatosit (meiosis), spermatid, dan sperma matang	<i>Chaperone</i> spesifik sel germinal jantan; pembentukan kompleks reseptor permukaan sperma	<i>Knockout</i> pada mencit menyebabkan kegagalan meiosis dan infertilitas; ekspresi lebih rendah pada individu infertil; terdeteksi pada sperma kerbau	Dix <i>et al.</i> (1996); Motiei <i>et al.</i> (2013); Kumaresan <i>et al.</i> (2023)
AKAP4	<i>Fibrous sheath</i> pada <i>principal piece</i> flagelum	Komponen struktural <i>fibrous sheath</i> ; jangkar PKA	<i>Knockout</i> menyebabkan <i>fibrous sheath</i> tidak terbentuk sempurna dan sperma tidak motil; proAKAP4 berkorelasi dengan motilitas semen beku sapi; melimpah pada sperma kerbau	Miki <i>et al.</i> (2002); Bastan & Akçay (2021); Kumaresan <i>et al.</i> (2023)
SPAM1 (PH-20)	Membran plasma kepala sperma	Hialuronidase untuk penetrasi lapisan kumulus; bagian kompleks HSPA2–SPAM1–ARSA	Aktivitas hialuronidase memungkinkan penetrasi kumulus; terdeteksi pada sperma kerbau	Lin <i>et al.</i> (1994); Redgrove <i>et al.</i> (2012); Kumaresan <i>et al.</i> (2023)

Pada kerbau, protein yang terkait motilitas flagela, pengenalan sperma–oosit, dan fusi sperma–oosit dilaporkan menurun pada pejantan berfertilitas rendah dibandingkan pejantan berfertilitas tinggi, sehingga variasi proteom sperma berpotensi digunakan sebagai penanda seleksi pejantan (Kumaresan *et al.*, 2023). Di antara ketiga protein yang dikaji, AKAP4 dalam bentuk proAKAP4 paling siap diaplikasikan karena telah tersedia metode kuantifikasi berbasis ELISA yang telah diuji pada semen beku sapi (Bastan & Akçay, 2021). Sebaliknya, data kuantitatif yang menghubungkan tingkat ekspresi HSP70-2 dan SPAM1 dengan angka kebuntingan pada kerbau masih sangat terbatas.

Oleh karena itu, penelitian lanjutan perlu mengukur ekspresi ketiga protein secara kuantitatif, misalnya menggunakan qPCR, *Western blot*, atau ELISA, pada pejantan kerbau dengan data fertilitas lapangan yang jelas, termasuk kerbau lokal Indonesia. Data tersebut diperlukan sebelum ketiga protein dapat digunakan sebagai biomarker dalam seleksi pejantan unggul maupun dalam evaluasi kualitas semen beku untuk inseminasi buatan.

SIMPULAN

HSP70-2, AKAP4, dan SPAM1 berperan pada tahap yang berbeda namun saling melengkapi dalam menentukan fertilitas pejantan. HSP70-2 (HSPA2) diperlukan untuk keberhasilan meiosis dan pematangan sperma serta berperan dalam pembentukan kompleks reseptor permukaan sperma bersama SPAM1. AKAP4 merupakan komponen utama *fibrous sheath* yang menentukan pembentukan flagelum dan motilitas sperma, sedangkan SPAM1 memungkinkan sperma menembus lapisan kumulus oosit. Ketiga protein telah terdeteksi pada spermatozoa kerbau sehingga berpotensi dikembangkan sebagai kandidat biomarker fertilitas pejantan kerbau. Namun, validasi kuantitatif yang menghubungkan ekspresi ketiga protein dengan fertilitas lapangan pada kerbau, termasuk kerbau lokal Indonesia, masih perlu dilakukan sebelum diterapkan dalam program seleksi pejantan dan inseminasi buatan.

DAFTAR PUSTAKA

- Bastan, I., & Akçay, E. (2021). Quality assessment of frozen bull semen with the precursor A-kinase anchor protein 4 biomarker. *Andrologia*, 53(9), e14164. <https://doi.org/10.1111/and.14164>
- Dix, D. J., Allen, J. W., Collins, B. W., Mori, C., Nakamura, N., Poorman-Allen, P., Goulding, E. H., & Eddy, E. M. (1996). Targeted gene disruption of Hsp70-2 results in failed meiosis, germ cell apoptosis, and male infertility. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(8), 3264–3268. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.8.3264>
- Huszar, G., Stone, K., Dix, D., & Vigue, L. (2000). Putative creatine kinase M-isoform in human sperm is identified as the 70-kilodalton heat shock protein HspA2. *Biology of Reproduction*, 63(3), 925–932. <https://doi.org/10.1095/biolreprod63.3.925>
- Kumaresan, A., Sinha, M. K., Paul, N., Nag, P., Ebenezer Samuel King, J. P., Kumar, R., & Datta, T. K. (2023). Establishment of a repertoire of fertility associated sperm proteins and their differential abundance in buffalo bulls (*Bubalus bubalis*) with contrasting fertility. *Scientific Reports*, 13, 2272. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-29529-5>
- Lehti, M. S., & Sironen, A. (2017). Formation and function of sperm tail structures in association with sperm motility defects. *Biology of Reproduction*, 97(4), 522–536. <https://doi.org/10.1093/biolre/iox096>
- Lin, Y., Mahan, K., Lathrop, W. F., Myles, D. G., & Primakoff, P. (1994). A hyaluronidase activity of the sperm plasma membrane protein PH-20 enables sperm to penetrate the cumulus cell layer surrounding the egg. *Journal of Cell Biology*, 125(5), 1157–1163. <https://doi.org/10.1083/jcb.125.5.1157>
- Miki, K., Willis, W. D., Brown, P. R., Goulding, E. H., Fulcher, K. D., & Eddy, E. M. (2002). Targeted disruption of the *Akap4* gene causes defects in sperm flagellum and motility. *Developmental Biology*, 248(2), 331–342. <https://doi.org/10.1006/dbio.2002.0728>

- Motiei, M., Tavalae, M., Rabiei, F., Hajihosseini, R., & Nasr-Esfahani, M. H. (2013). Evaluation of HSPA2 in fertile and infertile individuals. *Andrologia*, 45(1), 66–72. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.2012.01315.x>
- Pereira, R., Sá, R., Barros, A., & Sousa, M. (2017). Major regulatory mechanisms involved in sperm motility. *Asian Journal of Andrology*, 19(1), 5–14. <https://doi.org/10.4103/1008-682X.167716>
- Redgrove, K. A., Nixon, B., Baker, M. A., Hetherington, L., Baker, G., Liu, D.-Y., & Aitken, R. J. (2012). The molecular chaperone HSPA2 plays a key role in regulating the expression of sperm surface receptors that mediate sperm-egg recognition. *PLoS ONE*, 7(11), e50851. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050851>
- Redgrove, K. A., Anderson, A. L., McLaughlin, E. A., O'Bryan, M. K., Aitken, R. J., & Nixon, B. (2013). Investigation of the mechanisms by which the molecular chaperone HSPA2 regulates the expression of sperm surface receptors involved in human sperm–oocyte recognition. *Molecular Human Reproduction*, 19(3), 120–135.