

## Korelasi Konsentrasi Testosteron Darah terhadap Kualitas Semen Segar Ayam Kampung Unggul Balitbangtan (KUB) dengan Fenotip Berbeda

### *Correlation of Testosterone Blood Concentration with Superior Balitbangtan Chicken's (KUB) Fresh Semen Quality at Different Phenotype*

Magfira<sup>1</sup>, Ni Wayan Kurniani Karja<sup>2\*</sup>, R. Iis Arifiantini<sup>2</sup>, Tike Sartika<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Biologi Reproduksi, Program Doktorat, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University, Bogor, Indonesia

<sup>2</sup>Divisi Reproduksi dan Kebidanan, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University, Bogor, Indonesia

<sup>3</sup>Pusat Riset Peternakan, Organisasi Riset Pertanian dan Pangan, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Jakarta, Indonesia

\*Corresponding author, Email: [karja\\_nwk@apps.ipb.ac.id](mailto:karja_nwk@apps.ipb.ac.id)

Naskah diterima: 4 April 2022, direvisi: 17 Oktober 2023, disetujui: 20 Oktober 2023

#### Abstract

KUB chickens are selection result from Indonesian Research Institute for Animal Production (IRIAP) Ciawi, with different phenotypes such as comb size and plumage. The difference in phenotype affects testosterone concentration and the quality of fresh semen of chickens. This study aims to examine the correlation of testosterone with fresh semen quality and its relationship with male phenotype. 20 KUB chickens aged 1.5 years were divided into four phenotypic groups of 5 each, namely single comb with red cover neck (JTBM), single comb with white cover neck (JTBP), pea comb with red neck (JPBM), and pea comb with white neck (JPBP). The parameters observed were volume, color, pH and consistency, mass motility, viability, abnormality and concentration of ejaculate, testosterone concentration, and spur length. The results showed that males with the JPBM phenotype had the highest ejaculate volume, and JTBM was the lowest ( $P < 0.05$ ). Single combed males have higher pH than pea comb males. JTBM males also had the lowest motility and ejaculate concentration compared to other groups, but semen color, mass movement, viability, and abnormalities were not different. The left spur of the JTBP males was shorter than the other groups ( $P < 0.05$ ). The size of the spur was positively correlated with testosterone concentration with a range of  $r$  values around 0.33-0.56. Testosterone concentration was positively correlated with color ( $r = 0.76$ ), ejaculate concentration ( $r = 0.44$ ), semen consistency ( $r = 0.75$ ) and spermatozoa motility ( $r = 0.46$ ). The conclusion of this study was that the JPBP group had the best semen quality and was supported by the highest testosterone concentration. The size of the spurs can be used to predict testosterone concentrations in roosters.

**Keywords:** comb; KUB chicken; plumage; semen quality; testosterone

#### Abstrak

Ayam KUB adalah ayam hasil seleksi dari Balai Penelitian Ternak Ciawi yang memiliki perbedaan fenotip seperti bentuk jengger dan warna bulu. Perbedaan fenotip berpengaruh terhadap konsentrasi testosteron sehingga memengaruhi kualitas semen segar ayam KUB. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji korelasi testosteron terhadap kualitas semen segar dan hubungannya dengan fenotip pejantan. Sebanyak 20 ekor ayam KUB umur 1,5 tahun terbagi atas 4 kelompok perlakuan fenotip masing-masing 5 ekor yaitu jengger tunggal bulu penutup merah (JTBM), jengger tunggal bulu penutup putih (JTBP), jengger *pea* bulu penutup merah (JPBM), dan jengger *pea* bulu penutup putih (JPBP). Peubah yang diamati adalah volume, warna, pH dan konsistensi, gerakan massa, motilitas, viabilitas, abnormalitas dan konsentrasi ejakulat, konsentrasi testosteron dan panjang taji. Hasil penelitian menunjukkan pejantan dengan fenotip JPBM memiliki volume ejakulat paling

tinggi dan JTBM adalah yang paling rendah ( $P < 0.05$ ). Pejantan berjengger tunggal memiliki pH lebih tinggi dibandingkan pejantan berjengger *pea*. Pejantan JTBM juga memiliki motilitas dan konsentrasi ejakulat paling rendah dibandingkan dengan fenotipe lainnya dan untuk peubah warna semen, gerakan massa, viabilitas dan abnormalitas tidak berbeda pada semua fenotip. Panjang taji kiri pejantan JTBP lebih pendek dibandingkan ketiga pejantan lainnya ( $P < 0.05$ ). Ukuran taji berkorelasi positif dengan konsentrasi testosteron dengan kisaran nilai  $r = 0.33-0.56$ . Konsentrasi testosteron berkorelasi positif dengan warna ( $r = 0.76$ ), konsentrasi ejakulat ( $r = 0.44$ ), konsistensi semen ( $r = 0.75$ ) dan motilitas spermatozoa ( $r = 0.46$ ). Kesimpulan dari penelitian ini adalah kelompok JPBP memiliki kualitas semen paling baik dan didukung dengan konsentrasi testosteron yang juga paling tinggi. Ukuran taji bisa digunakan untuk memprediksi konsentrasi testosteron pada ayam jantan.

**Kata kunci:** ayam KUB; jengger; kualitas semen; testosteron; warna bulu

## Pendahuluan

Ayam kampung unggul Balitbangtan (KUB) adalah ayam hasil seleksi selama enam generasi melalui galur betina yang dikembangkan oleh Balai Penelitian Ternak Ciawi. Pelepasan galur pertama ayam KUB dilakukan pada tahun 2014. Tetua ayam KUB berasal dari empat kabupaten di Jawa Barat yaitu Kabupaten Majalengka, Cianjur, Depok dan Bogor (Sartika, 2013). Ayam KUB memiliki kelebihan berupa produksi telur lebih banyak jika dibandingkan dengan ayam kampung pada umumnya dan dapat menghasilkan karkas 800-1000 gram hanya dalam 10 minggu (Sartika, 2016). Seleksi pada tetua ayam KUB menghasilkan perbedaan fenotip pada turunannya seperti warna paruh, warna *shank*, bentuk jengger maupun warna bulu (Kepmen, 2014).

Merujuk pada Kepmen (2014) tentang pelepasan galur ayam KUB dituliskan bahwa bentuk jengger dari ayam ini ada beberapa tipe yaitu jengger tunggal dan jengger *pea*. Perbedaan bentuk jengger pada ayam dilaporkan terjadi karena adanya misekspresi gen *Sox5* pada saat perkembangan jengger (Immland *et al.*, 2012). Bentuk jengger dilaporkan berhubungan dengan motilitas sperma rendah (Immland *et al.*, 2012) dan produksi GnRH pada ayam (Wragg *et al.*, 2012). Persilangan juga menghasilkan perbedaan panjang tubuh, *shank* (termasuk di dalamnya taji), maupun panjang sayap (Amao, 2020). Taji adalah ornamen pada unggas yang merupakan proyeksi tulang yang berbentuk kerucut pada kaki dan terdapat pada unggas yang sudah dewasa kelamin yang merupakan alat pertahanan diri bagi unggas (Davis *et al.*, 2019). Taji sebagai senjata dihubungkan dengan dominasi pejantan pada status sosialnya dan

berhubungan dengan testosteron (Queiroz dan Cromberg, 2006). Testosteron, kualitas semen dan organ reproduksi sekunder seperti jengger dan panjang taji adalah tiga hal yang tidak dapat dipisahkan dari seleksi pejantan unggul. Testosteron dan dihydrotestosteron mempengaruhi pertumbuhan jengger dengan menstimulasi produksi cairan intraselular oleh fibroblast pada jengger (Leao *et al.*, 2017). Korelasi ukuran jengger dengan kualitas semen ayam masih bervariasi. Makhafola *et al.*, (2012) menyatakan bahwa panjang jengger memberikan korelasi positif dengan motilitas spermatozoa, konsentrasi spermatozoa, pH semen, dan viabilitas spermatozoa. Semen dengan konsentrasi sperma yang tinggi sangat berpengaruh pada jumlah spermatozoa yang mampu mencapai *sperm storage tubulus* (SST) sehingga sangat memengaruhi periode fertil spermatozoa. Meskipun demikian, (Navara *et al.*, 2012) melaporkan bahwa ukuran jengger memiliki korelasi negatif dengan viabilitas spermatozoa.

Selain ukuran jengger dan *shank*, warna bulu juga dilaporkan berkorelasi dengan kualitas spermatozoa. Warna kemerahan pada ayam berhubungan dengan karotenoid. Karotenoid adalah pigmen biologis yang berperan terhadap pembentukan warna merah, orans dan kuning pada sistem integument unggas dan ikan (Aguilera dan Amat, 2007). Karotenoid juga dapat berfungsi sebagai antioksidan untuk mencegah stres oksidatif pada spermatozoa sehingga dapat mempertahankan kualitas spermatozoa. Rowe dan McGarry (2008) melaporkan bahwa ketokarotenoid ditemukan pada semen dan bulu burung *Malurus melanocephalus* yang berfungsi sebagai antioksidan untuk mempertahankan

kualitas spermatozoa. Selanjutnya Rowe *et al.*, (2010) melaporkan bahwa warna bulu yang cerah dapat menjadi indikator motilitas spermatozoa, namun, warna bulu yang cerah memiliki korelasi negatif dengan volume ejakulasi pada burung *Malurus melanocephalus*. Selanjutnya dijelaskan bahwa warna bulu yang cerah pada saat musim kawin juga berasosiasi dengan konsentrasi androgen pada burung *Malurus cyaneus* (Peters *et al.*, 2010).

Testosteron adalah salah satu androgen yang memiliki peran yang sangat penting pada kualitas spermatozoa (Preston *et al.*, 2012) Testosteron dan FSH memelihara spermatogonia dengan menekan kejadian apoptosis pada germinal sel pejection. Testosteron juga berperan dalam pembentukan organ seks sekunder, libido, perilaku melawan terhadap ancaman, perilaku kawin maupun pembentukan kelompok (Quiroz dan Cromberg, 2006). Pentingnya konsentrasi testosteron juga dilaporkan oleh Sun *et al.*, (2019) bahwa rendahnya kadar testosteron menghasilkan motilitas spermatozoa yang rendah yang berhubungan dengan berat testis sehingga sangat mempengaruhi fertilitas pejection. Konsentrasi maksimum testosteron pada ayam jantan yaitu pada umur 1-2 tahun yaitu sekitar 0.23-0.24  $\mu\text{g}/100\text{ mL}$  sedangkan pada umur 5 bulan (22 minggu) berkisar 0.12  $\mu\text{g}/100\text{ mL}$  (Schrocksnadel *et al.*, 1971). Penelitian Tabatabaei *et al.*, (2010) melaporkan bahwa motilitas maksimum sperma ayam adalah pada umur 26 minggu dan menurun pada umur 34 minggu serta terus menurun hingga umur 45 minggu. Penurunan fertilitas pada ayam jantan disertai dengan turunnya konsentrasi testosteron yang berdampak pada penurunan kualitas semen ayam (Fragoso *et al.*, 2012). Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui korelasi antara konsentrasi testosteron dan kualitas semen ayam KUB dengan fenotip yang berbeda.

### Materi dan Metode

Ayam KUB yang digunakan pada penelitian adalah ayam milik Balai Penelitian Ternak (Balitnak) Ciawi, Bogor dan dipelihara di kandang ternak unggas milik Balitnak Ciawi. Ayam KUB jantan dengan fenotipe berbeda berjumlah 20 ekor, berumur 1.5 tahun

dengan berat  $\pm 3\text{ kg}$  dipelihara dalam kandang individu. Sebagai perlakuan adalah fenotipe bentuk jengger dan warna bulu penutup ayam pejection yang berbeda yaitu: 1) jengger tunggal bulu penutup merah (JTBM), 2) jengger tunggal bulu penutup putih (JTBP), 3) jengger *pea* bulu penutup merah, 4) jengger *pea* bulu penutup putih (JPBP). Masing-masing perlakuan terdiri atas 5 ekor ayam. Pemeliharaan ternak telah memenuhi persyaratan kesejahteraan hewan coba dan telah mendapatkan nomor registrasi dari Komisi Kesejahteraan Hewan coba Balitbangtan (KKHB) No: Balitbangtan/Balitnak/A/03/2021. Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari komisi etik IPB dengan nomor: 204-2021 IPB.

Semen dikoleksi dari pejection menggunakan metode pemijatan pada punggung ayam. Semen hasil koleksi ditampung menggunakan *tube* 1 mL kemudian dibawa ke laboratorium untuk dianalisis kualitasnya. Koleksi semen dilakukan sebanyak lima kali ulangan dari masing-masing kelompok ayam perlakuan, dengan jarak pengambilan semen dilakukan 1 kali/minggu. Peubah semen yang diamati adalah kualitas makroskopis dan mikroskopis semen. Pemeriksaan makroskopis semen dilakukan pada volume, konsistensi dan pH semen. Sedangkan evaluasi mikroskopis dilakukan dengan mengacu pada Hambu *et al.*, (2016) menggunakan mikroskop Olymplus (CX 23) terhadap Gerakan masa, motilitas progresif, viabilitas, morfologi abnormal dan konsentrasi sperma. Gerakan massa dievaluasi dengan meneteskan semen di atas objek glass dan diletakkan dibawah mikroskop dengan perbesaran 10 x 10 dan dinilai berdasarkan skor +1, +2, dan +3. Evaluasi motilitas dilakukan dengan mencampurkan 1 tetes semen dan 3-4 tetes NaCl kemudian dihomogenkan. Sampel kemudian diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 40 x 10. Viabilitas dan Abnormalitas dievaluasi menggunakan campuran satu tetes semen yang ditambahkan dengan 5 tetes eosin negrosin di atas objek glass dan dihomogenkan kemudian dibuat preparate ulas dan dipanaskan di atas *heating table* hingga mengering. Preparat kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 40 x 10 sebanyak 200 sel atau 10 lapang pandang.

Pengukuran taji dilakukan berdasarkan panjang dan diameter pada sebelah kanan dan kiri menggunakan jangka sorong digital. Panjang taji diukur mulai dari pangkal taji hingga ke ujung taji, sedangkan diameter taji diukur pada bagian pangkal taji. Pengukuran taji dilakukan bersamaan dengan pengambilan darah untuk uji testosteron. Uji Testosteron menggunakan sampel plasma darah yang dikoleksi dari masing-masing pejantan. Darah dikoleksi menggunakan spuit 1-3 mL melalui *vena pectoralis* kemudian dimasukkan ke dalam tabung EDTA untuk mencegah koagulasi. Sampel kemudian dibawa ke laboratorium untuk dilakukan pemisahan plasma. Darah yang telah dikoleksi disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Plasma kemudian dikoleksi menggunakan tube 1 mL dan dibekukan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Analisis testosteron dilakukan menggunakan metode *Enzyme Linked Immunosorbent assay* (ELISA). Analisis testosteron ayam KUB mengikuti protokol dari MyBioSource (USA). Analisis ELISA diawali dengan persiapan reagen, sampel dan standar. Sebanyak 100  $\mu\text{L}$  reagen, sampel dan standar pada masing-masing *well* dan diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 90 menit. Plate ELISA dicuci menggunakan PBS sebanyak tiga kali dan ditambahkan dengan *antibody* dan diinkubasi  $37^{\circ}\text{C}$  selama 60 menit. Plate setelah inkubasi dicuci sebanyak tiga kali dan ditambahkan dengan larutan enzim kemudian diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit. Plate setelah inkubasi dicuci sebanyak lima kali dan ditambahkan larutan pewarna

reagen kemudian diinkubasi  $37^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit. Tahap selanjutnya adalah penambahan *Colour Reagen C* dan dilakukan pembacaan *Optical Density* selama 10 menit. Selanjutnya profil testosteron dihitung menggunakan *kit standar*.

Penelitian kualitas semen dan testoteron menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Jengger dan warna bulu sebagai perlakuan dan konsentrasi testosteron darah serta kualitas semen segar sebagai variable/peubah yang diamati. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA) dengan tingkat kepercayaan 95%. Data hubungan antara testosteron dan kualitas semen yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis korelasi menggunakan *IBM SPSS Statistics 25*.

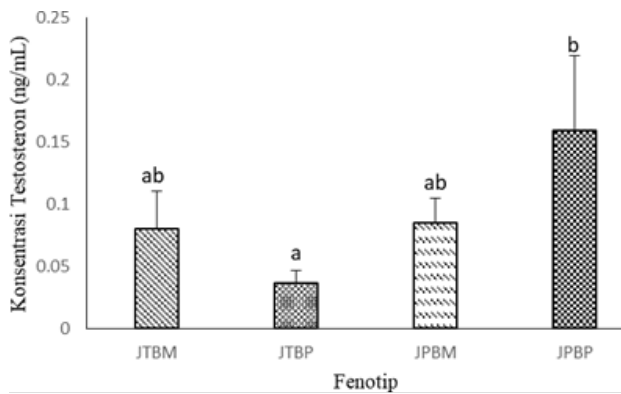
### Hasil dan Pembahasan

Hasil pengamatan pada semen segar menunjukkan bahwa pejantan berjengger *pea* dan berbulu penutup warna merah (JPBM) menghasilkan volume ejakulat paling tinggi ( $P < 0.05$ ) dibandingkan kelompok lainnya. Sedangkan volume semen kelompok JTBM, KTBP dan JPBP tidak menunjukkan tidak berbeda antar kelompok ( $P > 0.05$ ). pH semen yang dikoleksi berkisar antara 6.69-6.77. Motilitas sperma dievaluasi berkisar antara 75-79%. Motilitas sperma pada kelompok JPBP ditemukan lebih rendah dari kelompok JPBM dan JTBP ( $P < 0.05$ ). Demikian juga pada konsentrasi spermatozoa dari ejakulat pada fenotip ayam JTBM lebih rendah dari kelompok lainnya ( $P < 0,05$ ). Parameter lainnya seperti

Table 1 Kualitas semen segar ayam KUB berdasarkan perbedaan fenotipe

| Paramater                   | Fenotip                          |                                  |                                  |                                   |
|-----------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
|                             | JTBM                             | JPBM                             | JTBP                             | JPBP                              |
| Volume Ejakulat (mL)        | 0.49 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>     | 0.64 $\pm$ 0.22 <sup>b</sup>     | 0.56 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>     | 0.54 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>      |
| Konsistensi                 | Kental                           | Kental                           | Kental                           | Kental                            |
| pH                          | 6.76 $\pm$ 0.14 <sup>b</sup>     | 6.70 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>     | 6.77 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>     | 6.69 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>      |
| Warna                       | Putih Susu                       | Putih Susu                       | Putih Susu                       | Putih Susu                        |
| Gerakkan Massa              | 2.21 $\pm$ 0.74                  | 2.51 $\pm$ 0.63                  | 2.02 $\pm$ 0.63                  | 2.31 $\pm$ 0.66                   |
| Motilitas (%)               | 75.76 $\pm$ 8.44 <sup>a</sup>    | 79.28 $\pm$ 3.61 <sup>b</sup>    | 79.71 $\pm$ 4.05 <sup>b</sup>    | 77.07 $\pm$ 3.61 <sup>ab</sup>    |
| Viabilitas (%)              | 89.70 $\pm$ 10.06                | 90.29 $\pm$ 7.62                 | 90.49 $\pm$ 7.47                 | 90.23 $\pm$ 6.84                  |
| Abnormalitas (%)            | 17.93 $\pm$ 11.82                | 20.59 $\pm$ 11.52                | 16.42 $\pm$ 8.08                 | 17.28 $\pm$ 8.90                  |
| Konsentrasi Ejakulat (juta) | 777.24 $\pm$ 441.73 <sup>a</sup> | 921.75 $\pm$ 411.97 <sup>b</sup> | 988.64 $\pm$ 599.37 <sup>b</sup> | 1070.44 $\pm$ 426.68 <sup>b</sup> |

Keterangan: JTBM: Jengger tunggal bulu penutup merah, JPBM: Jengger *pea* bulu penutup merah, JTBP: Jengger tunggal bulu penutup putih, JPBP: Jengger *pea* bulu penutup putih. Superscript berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ).



Gambar 1 Konsentrasi testosteron ayam KUB yang berasal dari empat fenotip berbeda yaitu ayam jengger tunggal bulu penutup merah (JTBM) ayam jengger tunggal dengan bulu penutup putih (JTBP), jengger pea bulu penutup merah (JPBM) dan jengger pea bulu penutup putih (JPBP). Huruf kapital menunjukkan perbedaan nyata antar fenotip ( $P < 0,05$ ).

gerakkan massa, konsistensi, warna, viabilitas, dan abnormalitas tidak terdapat perbedaan antar kelompok fenotip ( $P > 0,05$ ).

Gambar 1 menunjukkan bahwa konsentrasi testosteron tertinggi berasal dari ayam yang berbulu penutup putih dan jengger *pea* ( $P < 0,05$ ). Konsentrasi ini memiliki perbedaan dengan konsentrasi testosteron yang berasal dari JTBP dengan signifikansi 95%. Hal ini membuktikan adanya pengaruh jengger pada konsentrasi testosteron. Namun tidak terdapat perbedaan konsentrasi testosteron berdasarkan warna bulu penutup.

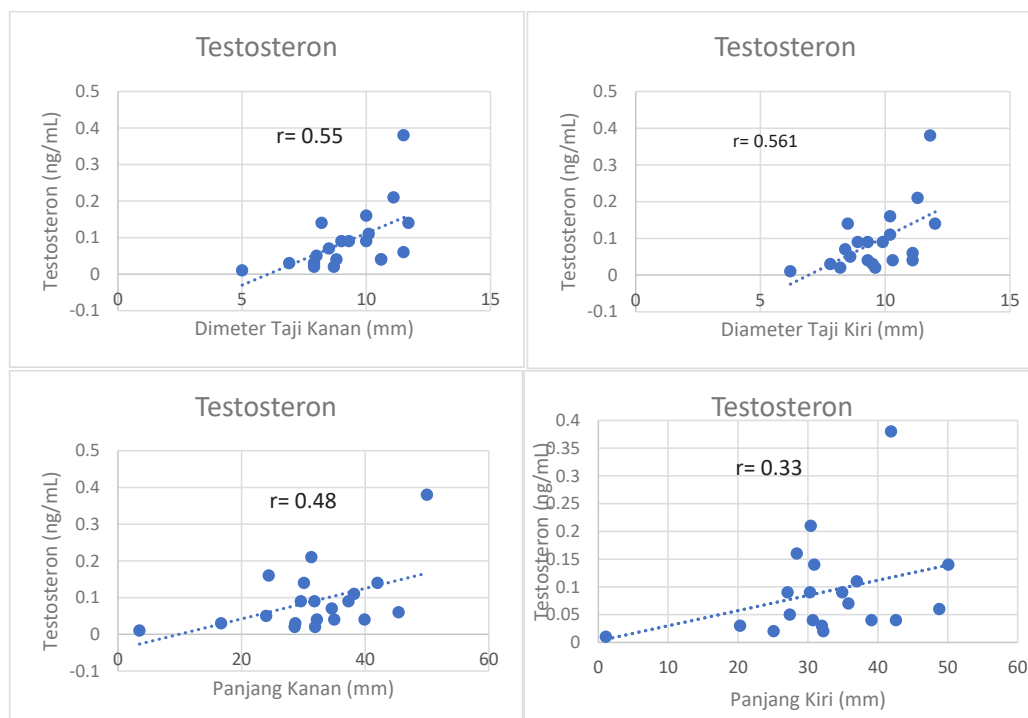
Tabel 2 menunjukkan pejantan JTBP memiliki ukuran taji lebih pendek jika dibandingkan dengan JTBM, JPBM dan JPBP. Secara umum ukuran taji pejantan berjengger *pea* memiliki diameter dan panjang taji lebih tinggi dibandingkan dengan pejantan berjengger tunggal.

Gambar 2 menunjukkan korelasi ukuran taji dengan konsentrasi testosteron ayam. Diameter taji menunjukkan korelasi yang kuat dengan

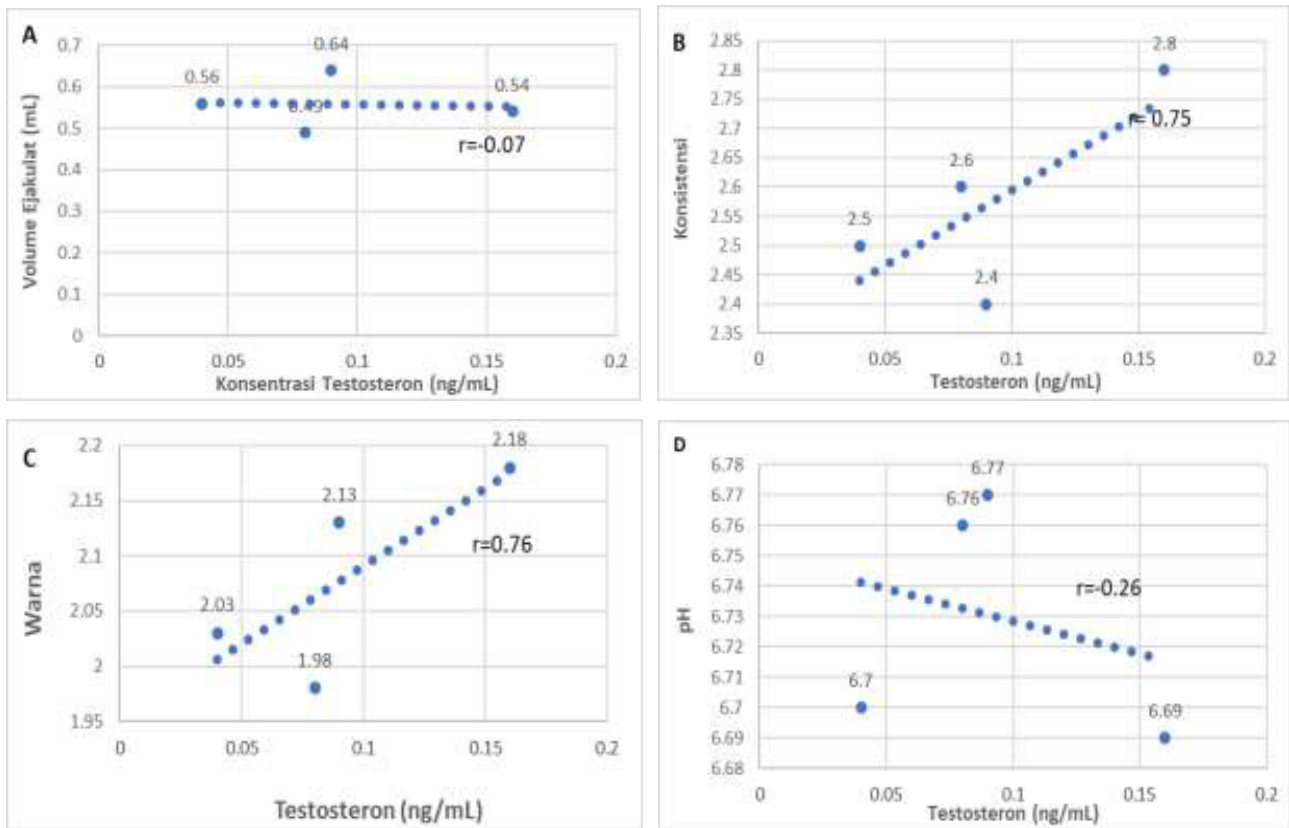
Table 2. Perbedaan diameter dan panjang taji berdasarkan empat kelompok jengger dan bulu

| Kelompok | Diameter Taji (Rata-rata ± SEM) |              | Panjang Taji (Rata-rata ± SEM) |              |
|----------|---------------------------------|--------------|--------------------------------|--------------|
|          | Kiri (mm)                       | Kanan (mm)   | Kiri (mm)                      | Kanan (mm)   |
| JTBM     | 9.50 ± 0.54                     | 9.10 ± 0.72  | 34.46 ± 3.65 <sup>b</sup>      | 32.10 ± 32.1 |
| JTBP     | 8.76 ± 0.77                     | 8.24 ± 1.03  | 21.50 ± 5.44 <sup>a</sup>      | 23.66 ± 6.04 |
| JPBM     | 9.88 ± 0.59                     | 9.58 ± 0.63  | 36.14 ± 4.26 <sup>b</sup>      | 34.74 ± 3.41 |
| JPBP     | 10.30 ± 0.69                    | 10.14 ± 0.59 | 37.12 ± 2.29 <sup>b</sup>      | 36.54 ± 3.44 |

Keterangan: JTBM: Jengger tunggal bulu penutup merah, JPBM: Jengger pea bulu penutup merah, JTBP: Jengger tunggal bulu penutup putih, JPBP: Jengger pea bulu penutup putih. Superscript berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ).



Gambar 2. Korelasi ukuran taji dengan konsentrasi testosteron darah ayam KUB



Gambar 3 Korelasi testosteron dan kualitas makroskopis semen segar ayam KUB. Tanda “-“ pada nilai “r” menunjukkan adanya korelasi negatif.

masing-masing nilai  $r = 0.55$  untuk sebelah kanan dan  $r = 0.561$  sebelah kiri. Panjang taji juga menunjukkan korelasi positif dengan konsentrasi testosteron darah ayam KUB dengan masing-masing nilai  $r = 0.33$  untuk panjang kiri dan  $r = 0.48$  untuk panjang kanan.

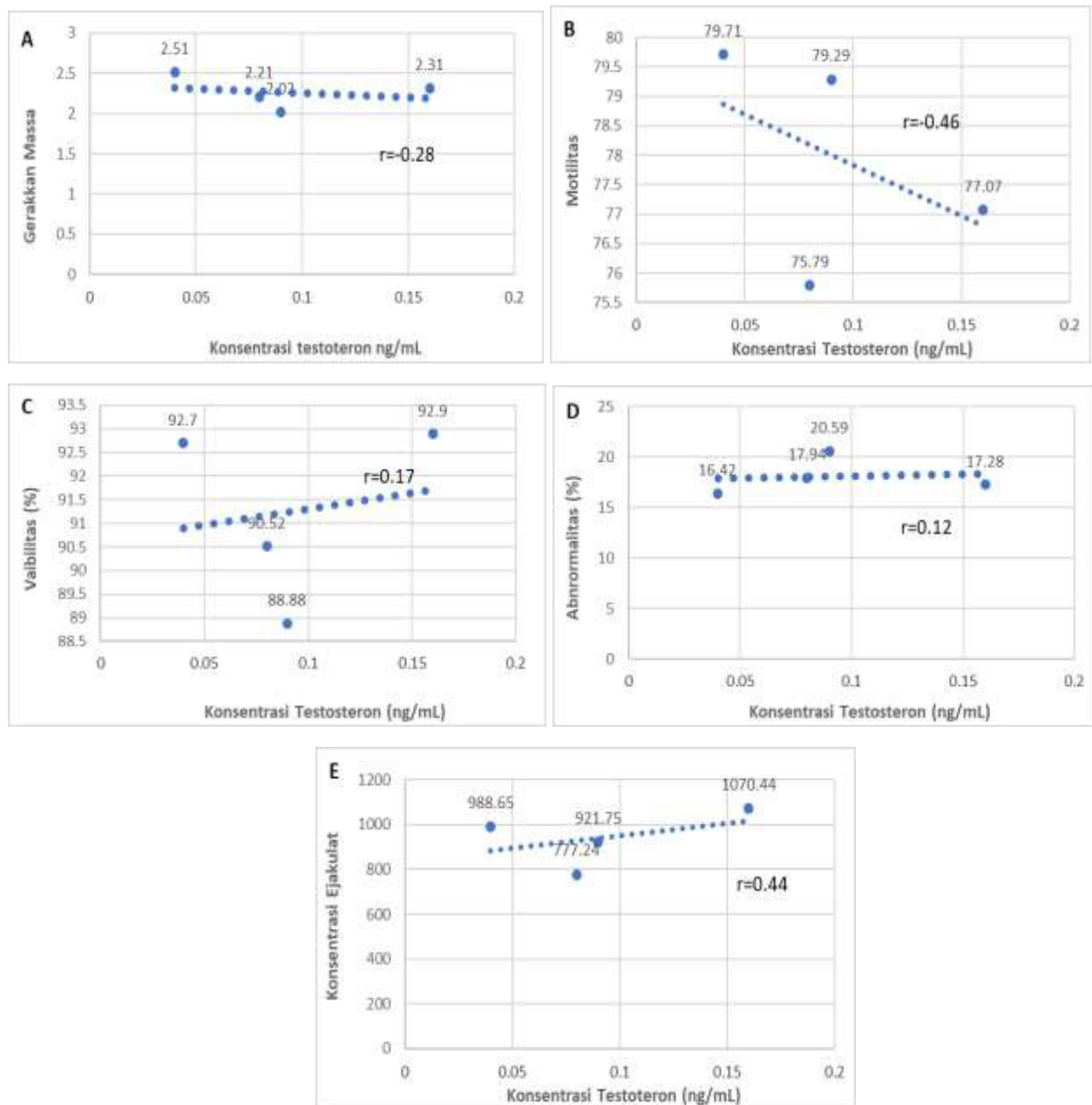
Gambar 3 menunjukkan korelasi testosteron dengan kualitas makroskopis semen segar ayam KUB. Gambar A menunjukkan bahwa konsentrasi testosteron tidak memiliki korelasi dengan volume ejakulat dengan nilai  $r = -0.07$ . Konsentrasi testosteron berkorelasi positif dengan konsistensi semen dengan nilai korelasi  $r = 0.75$ . Hal ini mengindikasikan semakin tinggi konsentrasi testosteron maka konsistensi semen semakin kental. Gambar C menunjukkan bahwa konsentrasi testosteron memiliki korelasi dengan warna semen. Semakin tinggi konsentrasi testosteron darah menghasilkan warna semen yang semakin putih susu atau krem tetapi korelasi ini terbilang lemah dengan nilai  $r = -0.26$ .

Gambar 4 menunjukkan korelasi testosteron darah dengan kualitas mikroskopis semen ayam KUB. Gambar A menunjukkan korelasi negatif

yang lemah antara konsentrasi testosteron dan gerakan massa dengan nilai  $r = -0.28$ . Gambar B pada gambar 3 menunjukkan bahwa konsentrasi testosteron memiliki korelasi negatif dengan motilitas spermatozoa dengan nilai korelasi  $r = -0.46$ . Pada gambar C menunjukkan bahwa korelasi positif yang lemah antara testosteron dan viabilitas terbilang lemah dengan nilai  $r = 0.17$ . Hal yang sama juga terjadi pada gambar D yang menunjukkan korelasi yang lemah antara abnormalitas total dan konsentrasi testosteron. Konsentrasi ejakulat memiliki korelasi positif dengan testosteron dengan nilai  $r = 0.44$  artinya semakin tinggi konsentrasi testosteron darah menghasilkan konsentrasi spermatozoa yang lebih tinggi.

### Pembahasan

Penelitian ini menghasilkan volume dan motilitas lebih tinggi jika dibandingkan dengan penelitian Abbas *et al.*, (2017) yang melaporkan bahwa rata-rata volume semen ayam *naked neck* adalah 0.16-0.19 mL dan motilitas 72%-75%. Hasil penelitian ini juga lebih baik dibandingkan dengan semen ayam IPB D-1



Gambar 4. Korelasi testosteron dan kualitas mikroskopis semen segar ayam KUB. Tanda “-” pada nilai “r” menunjukkan adanya korelasi negatif.

yang menghasilkan volume semen 0.06-0.25 mL (Setiadi *et al.*, 2019) dan ayam merawang dengan volume semen 0.28-0.59 mL Magfira *et al.*, (2017). Morfologi abnormal pada penelitian ini hampir sama dengan Setiadi *et al.*, (2019) yang berkisar 7-21% dan berbeda dengan Magfira *et al.*, (2017) yang melaporkan bahwa abnormalitas ayam merawang hanya berkisar 2%-3.03%. Hal ini mungkin disebabkan oleh perbedaan genetik dari ayam tersebut yang mana diketahui salah satu faktor yang memengaruhi kualitas semen adalah genetik. Ukuran jengger dan warna bulu bisa menjadi dasar untuk memprediksi kualitas semen segar ayam KUB.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ukuran jengger sangat berpengaruh pada kualitas semen segar dimana volume tertinggi dihasilkan oleh fenotip JPBM dan konsentrasi ejakulat tertinggi dihasilkan oleh kelompok JPBP. Kelompok JPBM dan JPBP juga menunjukkan rerata motilitas dan viabilitas yang tinggi jika dibandingkan dengan kedua fenotip lainnya. Hasil ini sama dengan yang dilaporkan oleh Navara *et al.*, (2012) bahwa viabilitas spermatozoa berkorelasi negatif dengan ukuran jengger. Ayam dengan ukuran jengger yang kecil menghasilkan viabilitas spermatozoa lebih tinggi dibandingkan ayam dengan ukuran

jengger yang lebih lebar. Lebih lanjut mereka menyatakan bahwa korelasi negatif antara ukuran jengger dan kualitas semen mungkin disebabkan oleh penyerapan energi dimana untuk pertumbuhan jengger menghabiskan energi cadangan yang seharusnya untuk menjaga kualitas spermatozoa. Seiring dengan laporan Froman *et al.*, (2002) bahwa ayam pada kelompok sub dominan menghasilkan mobilitas semen yang lebih baik dibandingkan dengan mobilitas semen dari kelompok ayam yang dominan pada status sosialnya. Lebih lanjut dijelaskan bahwa dominasi ayam pada status sosial memiliki korelasi positif dengan fenotip ayam seperti jengger.

Testosteron sangat berperan penting terhadap kualitas semen. Testosteron diproduksi oleh sel Leydig yang berkorelasi dengan pertumbuhan testis dan produksi spermatozoa (Kirby dan Froman 2000; Pizzari *et al.*, 2004). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa hanya kelompok warna bulu putih yang menunjukkan perbedaan nyata yaitu JPBP memiliki konsentrasi testosteron lebih tinggi jika dibandingkan dengan JTBP, akan tetapi JPBP tidak berbeda nyata dengan kedua kelompok JTBM dan JPBM. Hal ini bisa dipengaruhi oleh banyak hal salah satunya oleh hirarki sosial yang mana pada penelitian ini ayam dikandangkan secara individu sehingga tidak ada persaingan antar pejantan. Parker *et al.*, (2002) menyatakan bahwa korelasi testosteron dan ukuran jengger dipengaruhi oleh interaksi sosial ayam. Ayam yang dikandangkan secara individu tidak menunjukkan korelasi antara ukuran jengger dan konsentrasi testosteron, sebaliknya ayam yang memiliki hirarki sosial menunjukkan korelasi positif antara ukuran jengger dan konsentrasi testosteron. Lelono *et al.*, (2019) melaporkan bahwa terdapat perbedaan konsentrasi testosteron pada ayam pada saat sebelum dan sesudah diadu (berkelahi). Sebelum diadu tidak terdapat korelasi antara konsentrasi testosteron dan ukuran jengger, sebaliknya setelah diadu ayam dengan jengger yang lebih lebar lebih mendominasi dan memiliki konsentrasi testosteron yang lebih tinggi dibandingkan ayam yang berjengger kecil.

Meningkatnya testosteron pada unggas sangat erat hubungannya dengan dewasa

kelamin dan produksi spermatozoa. Peningkatan hormon androgen pada awal pubertas distimulasi oleh *luteinizing hormone* (LH) dan memacu produksi spermatozoa. Hormon androgen juga bertanggung jawab terhadap karakteristik seks sekunder (Queiroz dan Cromberg 2006). Salah satu karakteristik sekunder yang merupakan indikator dewasa kelamin adalah taji. Hasil penelitian ini menunjukkan kelompok JTBP memiliki ukuran taji yang paling kecil dibandingkan ketiga kelompok lainnya. Secara umum pada kelompok ayam berjengger *pea* menunjukkan ukuran taji yang lebih besar jika dibandingkan dengan ayam berjengger tunggal. Hasil ini sejalan dengan konsentrasi testosteron yang menunjukkan ayam berjengger *pea* menghasilkan konsentrasi testosteron lebih tinggi jika dibandingkan dengan ayam berjengger tunggal. Hasil perhitungan menggunakan korelasi menunjukkan bahwa ukuran taji berkorelasi positif dengan testosteron. Artinya semakin besar ukuran taji maka konsentrasi testosteron darah semakin meningkat. Sesuai dengan fungsinya taji adalah alat pelindung diri atau senjata bagi unggas (Davis *et al.*, 2019) dimana tingkah bertarung juga diatur oleh testosteron (Queiroz dan Cromberg 2006). Pada penelitian ini hanya panjang taji kiri yang menunjukkan perbedaan dimana pejantan JTBP memiliki taji yang lebih pendek dibandingkan dengan ketiga kelompok pejantan lainnya. Laporan Schantz *et al.*, (1995) bahwa ukuran jengger berkorelasi negatif dengan ukuran taji, akan tetapi ukuran taji berkorelasi positif dengan massa testis dimana testis adalah tempat produksi testosteron dan spermatozoa.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa testosteron berkorelasi positif dengan warna dan konsentrasi ejakulat, akan tetapi berkorelasi negatif dengan konsistensi semen dan motilitas spermatozoa. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa testosteron tidak berkorelasi dengan volume ejakulat, pH semen, gerakan massa, konsentrasi, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa. Hasil ini berbeda dengan Sun *et al.*, (2019) yang melaporkan bahwa testosteron berkorelasi positif dengan motilitas dan volume semen ayam yang berhubungan dengan penurunan berat testis. Dasrul *et al.*, (2020) melaporkan bahwa serum



testosteron berkorelasi positif dengan lingkaran skrotum, pH semen, konsentrasi spermatozoa, serta motilitas spermatozoa, dan berkorelasi negatif dengan morfologi spermatozoa sapi aceh. Hasil penelitian Sajjad *et al.*, (2007) juga melaporkan bahwa testosteron berkorelasi dengan lingkaran skrotum, dan volume semen kerbau, akan tetapi berpengaruh negatif dengan pH semen. Penelitian pada kualitas semen Domba yang dilakukan oleh Moghaddam *et al.*, (2014) menunjukkan testosteron berkorelasi dengan kualitas semen, akan tetapi lingkaran skrotum berkorelasi dengan konsentrasi dan viabilitas spermatozoa. Hasil yang bervariasi ini bisa dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti spesies, genetik, umur dan lingkungan di mana hewan itu dipelihara. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap pengaruh genetik, umur maupun lingkungan terhadap kualitas semen ayam KUB.

Pembentukan jengger *pea* disebabkan oleh misekspresi dari gene *Sox5* (Imstrand *et al.*, 2012) sehingga mengaktivasi *metalloproteinase I* maktriks yang menyebabkan degradasi pada collagen type II (Lee, 2009). Lee (2009) juga melaporkan bahwa gen *Sox9* (famili gen *Sox*) pada ayam berjengger *pea* dibandingkan dengan ayam berjengger *rose* (lebar). Menurut Daigle *et al.*, (2015) gen *Sox* famili seperti *Sox5*, *Sox9* dan *Sox13* ditemukan pada testis embrio tikus dimana gen *Sox13* dipertahankan hingga tikus mencapai umur dewasa. *Sox13* berperan pada saat spermatogenesis dimana gen ini berinteraksi dengan *lymphoid enhancer-binding factor* (TCF) yang menekan overekspresi dari gen *Wnt* (Stolt *et al.*, 2006, Daigle *et al.*, 2015). Overekspresi dari gen *Wnt4* dapat menghambat sintesis testosteron pada sel leydig (Jordan *et al.*, 2003, Daigle *et al.*, 2015). Hal ini bisa menjelaskan alasan bahwa pada penelitian ini kelompok jengger *pea* memiliki konsentrasi testosteron, volume dan konsentrasi semen lebih baik jika dibandingkan dengan kelompok jengger tunggal.

### Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah secara umum ayam KUB yang berjengger *pea* penutup putih memiliki kualitas semen segar yang lebih baik dibandingkan kelompok jengger

tunggal yang didukung dengan konsentrasi testosteron yang lebih tinggi juga. Fenotip yang bisa digunakan untuk memprediksi konsentrasi testosteron dan kualitas semen adalah ukuran taji.

### Daftar Pustaka

- Abbas, W., Jabbar, A, Riaz A, Akram M, Ditta YA. (2017). Effect of plumage color and body weight on the semen quality of naked neck chicken. *J. World Poult. Res.* 7(3): 129-133.
- Aguilera, E., Amat, J.A. (2007). Carotenoids, immune response and the expression of sexual ornaments in male greenfinches (*Carduelis chloris*). *Naturwissenschaften.* 94:895–902
- Amao, A.R. (2020). Growth performance traits of meat-type chicken progenies from a broiler line sire and Nigerian indigenous chickens' dams reared in southern guinea savanna condition of Nigeria. *Discovery.* 56(289): 66-73
- Dasrul, D., Wahyuni, S., Sugito, S., Hamzah, A., Zaini, Z., Haris, A., Gholib, G. (2020). Correlation between testosterone concentrations with scrotal circumference, and semen characteristics in aceh bulls. E3S Web of Conferences. *1st ICVAES 2019* 151.
- Davis, M.F., Ebako, G.M., Morishita T.Y., Mattoon, J.S. (2019). Medical management of the rooster spur. Extension Factsheet, Veterinary Preventive Medicine. The Ohio State
- Fragoso, J.S., Diaz, M.P., Moreno, J.C.A., Infesta, P.C., Rodriguez-Bertos, A., Barger, K. (2012). Relationships Between Fertility and Some Parameters in Male Broiler Breeders (Body and Testicular Weight, Histology and Immunohistochemistry of Testes, Spermatogenesis and Hormonal Levels). *Reprod Dom Anim.* 48(2):345-52.
- Froman, D.P., Pizzari, T., Feltmann, A.J., Castillo-Juarez., Birkhead, T.R. (2001). Sperm mobility: mechanism of fertilizing efficiency, genetic variation and phenotypic relationship with male status in domestic

- fowl, *Gallus gallus domesticus*. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 269: 607–612
- Hambu, E.K., Arifiantini R. I., Purwantara B., Darwati S. (2016). Raw Semen Characteristics of Three Different Indonesian Local Roosters. *Anim. Prod.* 18(3): 165-172.
- Imsland, F., Feng, C., Boije, H., Bed'hom, B., Fillom, V., Dorshorst, B., Rubin, C.J., Liu, R., Gao, Y., Gu, X., Wang, X., Gourichon, D., Zody, M.C., Zecchin, W., Vieaud, A., Tixier-Boichard, M., Hu, X., Hallbook, F., Li, N., Andersson, L. (2012). The Rosecomb Mutation in Chickens Constitutes a Structural Rearrangement Causing Both Altered Comb Morphology and Defective Sperm Motility. *PLoS Genetics.* 8(6): 1-13.
- Jordan, B.K, Shen J.H.-C., Olaso, R., Ingraham H.A., Vllain E. (2003). Wnt4 overexpression disrupts normal testicular vasculature and inhibits testosterone synthesis by repressing steroidogenic factor 1/ $\beta$ -catenin synergy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 100: (19): 10866-10871.
- [Kepmen] Keputusan Menteri Pertanian Republik Indonesia Nomor 274/Kpts/SR.120/2/2014 Tentang Pelepasan Galur Ayam KUB-1. 2014
- Kirby J.D., Froman D.P. (2000). Reproduction in male birds. In *Sturkie's avian physiology, 5th edn (ed. G. Causey Whittow)*, pp. 597-615. San Diego, CA: Academic
- Leao, R.A.C., Castro, F.L.S., Xavier, P.R., Vaz D.P., Grazia, J.G.V., Baiao, N.C., Avelar, G.F., Junior, A.P.M. (2016). Comb, cloaca and feet scores and testis morphometry in male broiler breeders at two different ages. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 69(6). 1529-1538.
- Lee, Y.J. (2008). Analysis of comb development in chicks with the *Pea-comb* dominant mutation. Thesis. Uppsala University. Swedia.
- Lelono, A., Riedstra, B., Groothuis, T.G.G. (2019). The relationship between male social status, ejaculate and circulating testosterone concentration and female talk androgen transfer in red junglefowl (*Gallus gallus*). *Horm Behav.* 116: 104580.
- McGary, S., Estevez, I., Bakst, M.R., Pollock, D.L. (2002). Phenotypic Traits as Reliable Indicators of Fertility in Male Broiler Breeders. *Poult Sci.* 81: 102-111.
- Magfira, M., Arifiantini, R.I., Karja, N.W.K., Darwati, S. (2017). Efektifitas low density lipoprotein dan kuning telur ayam dan puyuh pada pengawetan semen ayam merawang. *Jveteriner.* 18(3): 345-353.
- Makhafola, M.B., Umesiobi, D.O., Nedambale, T.L. (2012). Relationship between phenotypic and sperm traits of South African indigenous cockerels. *Int. J. Livest. Prod.* 3 (6): 61-65
- Moghaddam, G., Pourseif, M., Asadpour, R., Rafat, S.A., Jafari-Jozani, R. (2012). Relationship between levels of peripheral blood testosterone, sexual behavior, scrotal circumference and seminal parameters in crossbred rams. *Acta Sci. Vet.* 40(3): 1049.
- Navara, K.J., Anderson, E.M., Edwards, M.L. (2012). Comb size and color relate to sperm quality: a test of the phenotype-linked fertility hypothesis. *Behav Ecol.* doi:10.1093/beheco/ars068
- Parker, T.H., Knapp, R., Rosenfield, J.A. (2001). Social mediation of sexually selected ornamentation and steroid hormone levels in male junglefowl. *Anim. Behav.* 64: 291-298
- Peters, A., Astheimer LB., Boland CRJ., Cockburn A. (2000). Testosterone is involved in acquisition and maintenance of sexual selected male plumage in superb fairy-wrens, *Malurus cyaneus*. *Behav. Ecology and Sociobiology.* 47: 438-445.
- Pizzari, T., Jensen, P., Cornwallis, C.K. (2004). A novel of the phenotypic-linked fertility hypothesis reveals independent component of fertility. *Proc. R. Soc. Lond.* 271: 51-5
- Preston, B.T., Stevenson, I.R., Lincoln, G.A., Monfort, S.L., Pilkington, J.G., Wilson,

- K. (2012). Testes size, testosterone production and reproductive behaviour in a natural mammalian mating system. *J. Anim. Ecol.* 81: 296-305.
- Rowe, M., McGraw K.J. (2008). Carotenoids in the seminal fluid of wild bird: interspecific variation in the fairy-wrens. *Condor*. 110: 694-700
- Rowe M., Swaddle JP., Pruet-Jones S., Webster MS. (2010). Plumage coloration, ejaculate quality and reproductive phenotype in the red-backed fairy-wren. *Anim. Behav.* 1-8.
- Tabatabaei, S., Chaji, M., Mohammadabadi, T. (2010). Correlation between age of rooster and semen quality in Iranian indigenous broiler breeder chickens. *J. Anim. Vet. Adv.* 9(1): 195-198
- Schantz, T.V., Tufvesson, M., Goransson, G., Grahn, M., Wilhelmson, M., Wittzell, H. (1995). Artificial selection for increased comb size and its effects on other sexual characters and viability in *Gallus domesticus* (the domestic chicken). *Heredity*. 75: 518-529.
- Sajjad, M., Ali, S., Ullah, Anwa M., Akhter, S., Andrabi, M.H. (2007). Blood serum testosterone level and its relationship with scrotal circumference and semen characteristics in nili-ravi buffalo bulls. *Pakistan Vet. J.* 27 (2): 63-66.
- Sartika, T. (2013). Perbandingan Morfometrik Ukuran Tubuh Ayam KUB-1 dan Sentul Melalui Pendekatan Analisis Diskriminan. In *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner* (hal. 561-570).
- Sartika, T. (2016). *Panen ayam kampung 70 hari*. Penebar Swadaya. Jakarta. IDN.
- Setiadi, D.R., Hasibuan, H., Indriastuti, R., Arif, A.A., Rosyada, Z.N.A., Arifiantini, R.I. (2019). Karakteristik semen ayam IPB-D1. *JIPTHP*. 7(2): 57-61.
- Stolt, C.S., Schlierf, A., Lommes, P., Hillgartner, S., Werner, T., Kosian, T., Sock, E., Kessarar, N., Richardson, W.D., Levebvre, V., Wegner, M. (2006). SoxD Proteins Influence Multiple Stages of Oligodendrocyte Development and Modulate SoxE Protein Function
- Sun, Y., Xue, F., Li, Y., Fu, L., Bai, H., Ma, H., Xu, S., Chen, J. (2019). Differences in semen quality, testicular histomorphology, fertility, reproductive hormone levels, and expression of candidate genes according to sperm motility in Beijing-You chickens. *Poult. Sci.* 0: 1-8.
- Quiroz, S.A., Cromberg, V.U. (2006). Aggressive behavior in the genus *Gallus* sp. *Rev. Bras. Cienc. Avic.* 8(1): 01-14.
- Wragg, D., Mwacharo, J.M., Alcalde, J.A., Hocking, P.M., Hanotte, O. (2012). Analysis of genome-wide structure, diversity and fine mapping of Mendelian traits in traditional and village chickens. *Heredity*. 109: 6-18.