

Efek Cekaman Panas dan Pemberian Ekstrak Heksan Tanaman Jaloh (*Salix Tetrasperma* Roxb) Terhadap Kadar Kortisol, Triiodotironin dan Profil Hematologi Ayam Broiler

SUGITO¹, W. MANALU², D.A. ASTUTI², E. HANDHARYANI² dan CHAIRUL³

¹Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala,
Banda Aceh (E-mail: gito_syarief@plasa.com).

²Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor

³Bidang Botani, Puslit Biologi LIPI Cibinong, Bogor

(Diterima dewan redaksi 5 April 2007)

ABSTRACT

SUGITO, W. MANALU, D.A. ASTUTI, E. HANDHARYANI and CHAIRUL. 2007. Heat stress effect and given of hexane extract jaloh bark (*Salix tetrasperma* Roxb) to cortisol level, triiodothyronine and hematology profile of broiler chickens. *JITV* 12(3): 175-184.

Plasma concentration of cortisol and hematological profile on broiler chickens can be used as heat stress indicators. This study was conducted to investigate the effect of administration of n-hexane extract of jaloh bark (EHJ) on heat-stressed broiler chicken. Thirty broilers, aged 20 days (strain Cobb), were randomly divided into 5 groups. The first group was external control (tCP) i.e. chickens without heat stress and without EHJ administration. The second group was internal control (CP) representing chickens given heat stress without EHJ administration. The third, fourth, and fifth groups were chickens given heat stress and EHJ administration at doses 5, 10, and 20 mg/kg BW, respectively symbolized as CP+EHJ5, CP+EHJ10, and CP+EHJ20. The experimental broilers were exposed to heat stress in constant temperature of $33 \pm 1^\circ\text{C}$ for 4 hours daily for 5 and 10 days. The EHJ was given 1 hour before temperature in the cage was raised and was given in daily basis. The level of cortisol in feces were measured from feces collected 1-2 hours before treatment, 3-4 hours after heat stress exposure, and 2-3 hours after heat stress termination. This research indicated that heat stress at temperature $33 \pm 1^\circ\text{C}$ during 2 and 4 hours increased cortisol excretion in feces ($P < 0.05$) and increased ratio H : L ($P < 0.10$). The EHJ at dose of 10 mg/kg BW relatively gave more protection from heat stress impact on broilers.

Key Words: Cortisol, Triiodothyronine, Heat Stress, Salix, Hematology

ABSTRAK

SUGITO, W. MANALU, D.A. ASTUTI, E. HANDHARYANI dan CHAIRUL. 2007. Efek cekaman panas dan pemberian ekstrak heksan tanaman jaloh (*Salix tetrasperma* Roxb) terhadap kadar kortisol, triiodotironin dan profil hematologi ayam broiler. *JITV* 12(3): 175-184.

Pemeriksaan kadar kortisol dan profil hematologi pada ayam broiler dapat digunakan sebagai indikator cekaman panas. Penelitian ini dilakukan untuk mengkaji pengaruh pemberian ekstrak heksan kulit batang jaloh (EHJ) pada ayam broiler yang diberi cekaman panas. Tiga puluh ekor ayam broiler yang berumur 20 hari (strain Cobb) secara acak dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan. Kelompok pertama adalah kontrol di luar kandang pemanas, yaitu ayam tanpa diberi cekaman panas dan ekstrak jaloh (tCP). Kelompok kedua adalah kontrol di dalam kandang berpemanas, yaitu ayam yang diberi cekaman panas tanpa diberi EHJ (CP). Kelompok ketiga, keempat, dan kelima terdiri atas ayam-ayam yang diberi cekaman panas dan secara berturut-turut diberi EHJ dosis 5 (CP+EHJ5), 10 (CP+EHJ10), dan 20 mg/kg BH (CP+EHJ20). Ayam diberi cekaman panas pada suhu $33 \pm 1^\circ\text{C}$ selama 4 jam per hari dalam jangka waktu 5 dan 10 hari. Ekstrak jaloh diberi 1 jam sebelum suhu di dalam kandang dinaikkan dan diberikan setiap hari. Kadar kortisol dalam feses diukur dari feses yang diambil 1-2 jam sebelum diberi EHJ, setelah 3-4 jam diberi cekaman panas, dan setelah 2-3 jam dihentikan pemberian cekaman panas. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian cekaman panas pada suhu $33 \pm 1^\circ\text{C}$ selama 2 dan 4 jam dapat meningkatkan ekskresi kortisol dalam feses ($P < 0,05$) dan pemberian selama 10 hari dapat meningkatkan nilai rasio H:L ($P < 0,10$). Pemberian EHJ dosis 10 mg/kg BH relatif lebih dapat memberikan proteksi pada ayam broiler dari dampak cekaman panas.

Kata Kunci: Kortisol, Triiodotyronin, Cekaman Panas, Salix, Hematologi

PENDAHULUAN

Pada ayam broiler, cekaman panas berpengaruh buruk terhadap sekresi berbagai jenis hormon. Cekaman panas menginduksi suatu seri reaksi kaskade pada sistem saraf dan endokrin sehingga terjadi peningkatan aktivitas jalur hipotalamus-hipofisa-kelenjar adrenal, yang dikenal sebagai jalur hipotalamus, hipofisa, adrenal. Keadaan ini menyebabkan peningkatan pelepasan berbagai jenis hormon, seperti CRH (*corticotropin releasing hormone*), ACTH (*adrenocorticotrophic hormone*), dan glukokortikoid serta penurunan pembentukan hormon triiodotironin (T3) dalam sirkulasi darah (HILLMAN *et al.*, 2000; SAHIN *et al.*, 2001; DOWNING dan BRYDEN, 2002; BOONSTRA, 2005). Ayam broiler yang mengalami cekaman panas akut mempunyai peningkatan kadar glukokortikoid dengan cepat (POST *et al.*, 2003).

Cekaman panas yang terjadi secara kronis dapat menimbulkan dampak buruk pada pembentukan sel-sel pertahanan tubuh (sistem imunitas) ayam (MASHALY *et al.*, 2004). Hal ini terkait dengan efek kronis pelepasan hormon glukokortikoid. Peningkatan glukokortikoid dalam tubuh ayam dapat mengganggu fungsi dan produksi sel-sel imunitas tubuh (DAN dan LALL, 1998; GUPTA dan LALCHHANDAMA, 2002; PADGETT dan GLASER, 2003). Ayam broiler yang mengalami cekaman panas kronis akan mengalami penurunan jumlah limfosit dan peningkatan jumlah heterofil sehingga rasio antara heterofil dan limfosit (H:L) meningkat (AENGWANICH dan CHINRASRI, 2003) serta terjadinya penurunan nilai hematokrit dan peningkatan jumlah basofil (BEDANOVA *et al.*, 2003).

Beberapa perubahan fisiologis akibat cekaman panas dapat dijadikan referensi indikator pada ayam broiler yang mengalami cekaman panas. Peningkatan pelepasan kortisol dan peningkatan nilai rasio H:L merupakan indikator utama adanya cekaman pada ayam. Pengukuran kortisol merupakan indikator sensitif pada ayam yang mengalami cekaman panas secara akut, sedangkan nilai rasio H:L selalu digunakan sebagai indikator adanya cekaman yang terjadi secara kronis (SCOPE *et al.*, 2001; DEHNHARD *et al.*, 2003; MILLSPAUGH dan WASHBURN, 2004; BOONSTRA, 2005). Peningkatan kadar kortisol dalam feses berkorelasi kuat dengan kadar kortisol dalam darah (DEHNHARD *et al.*, 2003; MORATO *et al.*, 2004). Prosedur ini digunakan untuk mengevaluasi respons fisiologis tubuh terhadap adanya berbagai stressor, seperti peningkatan suhu lingkungan yang dapat menyebabkan cekaman panas pada ayam broiler (DOWNING dan BRYDEN, 2002). Perubahan kadar kortisol dalam feses ataupun plasma serta profil hematologi dapat memberikan gambaran tingkat cekaman pada ayam.

Telah diketahui ada beberapa jenis tanaman yang dapat digunakan untuk mengurangi dampak cekaman (stres) pada ayam. Aspek yang banyak menjadi kajian adalah efek pemberian ekstrak tanaman pada performans produksi daging maupun produksi telur (ROY *et al.*, 1996; NARAYANSWAMY *et al.*, 2004; SETIAJI dan SUDARMAN, 2005). Jalloh (*bak sijalōh*) merupakan sebutan dalam bahasa Aceh untuk tanaman *Salix tetrasperma* Roxb (famili Salicaceae). Ekstrak heksan kulit batang jalloh (EHJ) memiliki potensi sebagai bahan obat alam untuk mengurangi dampak cekaman panas pada ayam. Hal ini terbukti dengan berkurangnya efek cekaman panas pada ayam broiler yang diberi EHJ (SUGITO *et al.*, 2006). Menurut KAHKONEN *et al.* (1999) pada ekstrak kulit batang salix terkandung senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. KAMMERER *et al.* (2005) melaporkan bahwa hasil penapisan dengan HPLC- MS pada ekstrak kulit batang dari beberapa jenis tanaman salix ditemukan beberapa senyawa bioaktif yang bekerja sebagai antioksidan seperti pikein, salidroside, triandrin, salikosilicidin, isosalipurposide, salipurposide, naringenin-7-O-glucoside dan tremulasin.

Efek perlindungan ekstrak tanaman obat untuk mengurangi dampak cekaman panas pada ayam broiler dapat dievaluasi dengan menganalisis perubahan parameter indikator stres. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perubahan kadar hormon kortisol, triiodotironin-bebas, dan hematologi pada ayam broiler yang diberi cekaman panas dan ekstrak n-heksan kulit batang tanaman jalloh.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini menggunakan ayam broiler betina jenis pedaging galur Cobb berumur 20 hari. Pakan yang diberikan adalah pakan komersil ayam pedaging jenis *starter*. Hasil analisis proksimat menunjukkan bahwa kadar protein kasar adalah 18,8%, lemak kasar 6,9%, serat kasar 4,7%, dan energi bruto 3945,5 kal/g. Ayam ditempatkan dalam kandang individu berlantai kawat berukuran panjang 45 cm, lebar 40 cm dan tinggi 65 cm. Kandang berpemanas yang digunakan berukuran panjang 4,5 m, lebar 3,5 m dan tinggi 3,25 m. Penerangan dalam kandang ayam dilakukan selama 24 jam.

Bahan ekstrak n-heksan kulit batang jalloh (EHJ) yang digunakan untuk ekstraksi diperoleh dari daerah Kecamatan Kota Baru, Kabupaten Aceh Besar, Provinsi NAD pada bulan Juli 2004. Determinasi tanaman dilakukan di Herbarium Bogoriense, LIPI Bogor, sebagai *Salix tetrasperma* Roxb. Serbuk kulit batang jalloh diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 70% dan dipartisi menggunakan larutan n-heksan dan untuk pengentalan dilakukan dengan alat penguap berputar *rotapavor*.

Pemberian cekaman panas dilakukan dengan meningkatkan suhu di dalam kandang berpemanas dengan menggunakan alat pemanas (*heater*) yang terbuat dari komponen kawat nikelin berdaya 1000 Watt. Sebagai pengontrol suhu pada pemanas dipasang termoregulator berskala 0 sampai 40°C. Untuk mengukur suhu dan kelembaban dalam kandang dipakai termometer dan higrometer digital corona yang diletakkan pada posisi ketinggian 70 cm dari lantai kandang. Suhu dalam kandang berpemanas dinaikkan secara perlahan-lahan yang dimulai pukul 10.00 pagi dan dipertahankan stabil pada suhu $33 \pm 1^\circ\text{C}$ selama 4 jam. Keadaan suhu di luar kandang berpemanas sengaja tidak dipatok pada suhu tertentu karena diharapkan akan mengikuti pola suhu dan kelembaban harian secara alami pada saat penelitian ini dilaksanakan.

Hewan coba yang digunakan adalah 30 ekor ayam broiler strain Cobb berumur 20 hari yang dibagi ke dalam 5 kelompok. Kelompok I adalah kontrol luar, yaitu kelompok ayam tanpa diberi cekaman panas dan EHJ (tCP). Kelompok II adalah ayam yang diberi cekaman panas tanpa diberi EHJ (CP). Kelompok III adalah ayam yang diberi cekaman panas dan diberi EHJ 5 mg/kg bobot hidup (BH) (CP+EHJ5). Kelompok IV adalah ayam yang diberi cekaman panas dan diberi EHJ 10 mg/kg BH (CP+EHJ10). Kelompok V adalah ayam yang diberi cekaman panas dan diberi EHJ 20 mg/kg BH (CP+EHJ20). Pemberian EHJ dilakukan 1 jam sebelum pemberian cekaman panas setiap hari selama 5 dan 10 hari dengan cara pencekokan menggunakan sonde (*sputit*). Pada ayam perlakuan tCP dan CP hanya diberi larutan karboksil metil selulosa (CMC) 1% dengan cara yang sama.

Parameter yang diukur pada penelitian ini adalah kadar kortisol dalam plasma, rasio heterofil:limfosit (H:L), Hb, PCV, jumlah sel darah merah, dan kadar kortisol dan triiodotironin (T3) bebas dalam feses.

Determinasi hormon dalam feses dan plasma

Feses yang digunakan sebagai sampel adalah feses segar. Pengambilan feses dilakukan hanya pada hari pertama dalam 3 periode waktu pengambilan, yaitu pengambilan I feses dikumpulkan antara 1 sampai 2 jam sebelum penelitian dimulai; pengambilan II feses dikumpulkan antara 3 sampai 4 jam setelah ayam diberi perlakuan cekaman panas; dan pengambilan III feses dikumpulkan antara 2 sampai 3 jam setelah suhu dalam kandang berpemanas diturunkan. Sampel feses individu diambil sebanyak lebih kurang 5 g dan ditempatkan pada tabung tertutup dan disimpan dalam refrigerator pada suhu -20°C sampai dilakukan ekstraksi. Sampel plasma didapat dari pengambilan darah secara langsung pada jantung yang diambil pagi hari pada hari ke-5 dan ke-10 dari masing-masing kelompok pada 2 periode tersebut terdiri dari 3 ekor ayam. Darah yang diperoleh

dimasukkan ke dalam tabung yang telah ditambah antikoagulan EDTA. Heterofil dan limfosit ditentukan dengan menggunakan metode preparat ulas dengan pewarnaan Giemsa (CAMPBELL, 1995). Untuk pengambilan plasma dilakukan pemusingan (sentrifugasi) pada kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit. Plasma yang diperoleh ditempatkan dalam ependorf dan disimpan dalam lemari es pada suhu -4°C sampai dilakukan analisis.

Ekstraksi feses dilakukan seperti yang dijelaskan dalam MORATO *et al.* (2004) yang dimodifikasi pada pengeringan feses. Secara ringkas ekstraksi dilakukan sebagai berikut. Pengeringan feses dilakukan menggunakan inkubator pada suhu 37°C selama 48 jam. Feses yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan lumpang dan sebanyak 0,2 g berat kering dipanaskan dalam 5 ml 90% etanol:air distilasi (v/v) selama 20 menit. Kemudian campuran ini disentrifugasi pada 500 g selama 20 menit. Supernatan dipisahkan dan ditempatkan dalam tabung, kemudian ampas diresuspensi dengan 5 ml etanol 90%, dihomogenkan dengan vorteks dan dilakukan kembali sentrifugasi. Supernatan yang diperoleh dievaporasi pada suhu 37°C. Selanjutnya endapan diresuspensi dalam 1 ml metanol dan dilarutkan dalam buffer gelatin (60 mM sodium fosfat pH 7,0; 0,4 M NaCl, dan 10% gelatin, w/v) dengan perbandingan 1 : 2.

Kadar kortisol dan T3-bebas diukur dengan menggunakan alat *Radioimmuno Assay* (RIA) dengan menggunakan kit siap pakai *Coat-A-Count*® Kortisol (nomor katalog TKCO1) dan T3-bebas (nomor katalog TKF31) produksi *Diagnostic Products Corporation*, Los Angeles, CA, USA (DPC). Hasil peneraan kadar kortisol dinyatakan sebagai µg/dl dan T3-bebas sebagai pg/ml. Prosedur ekstraksi divalidasi dengan melakukan tes *recovery* kortisol dan T3-bebas eksogen pada sampel. Hasil tes *recovery* kortisol (rata-rata $\pm$ SD): $78,0 \pm 0,8\%$ dan T3-bebas: $83,0 \pm 1,0\%$.

Analisis statistik

Untuk mengetahui adanya pengaruh perlakuan dilakukan uji statistik analisis ragam. Bila hasil menunjukkan adanya pengaruh perlakuan, analisis dilanjutkan dengan uji beda Duncan. Semua data ditampilkan sebagai rata-rata $\pm$ standar deviasi (SD). Perhitungan statistik dilakukan dengan menggunakan bantuan program *Minitab 14 for Windows*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar kortisol dalam feses

Rataan kadar kortisol dalam feses yang diukur pada waktu yang berbeda, baik pada ayam yang tidak atau pun yang diberi cekaman panas dan ekstrak jajah

disajikan dalam Tabel 1. Ayam yang diberi cekaman panas mempunyai kadar kortisol yang tinggi dalam feses. Peningkatan kortisol dalam feses ini masih terdeteksi 2-3 jam setelah penghentian cekaman panas. Peningkatan kadar kortisol dalam feses ini menunjukkan ayam dalam keadaan stres sehingga tubuh merespons pembentukan kortisol dan ekskresinya dalam feses meningkat (MILLSPAUGH dan WASHBURN, 2004; MORATO *et al.*, 2004; RETTENBACHER *et al.*, 2004). Peningkatan kadar kortisol dalam feses 2-3 jam setelah penghentian pemberian cekaman panas diduga terkait dengan upaya tubuh mengekskresikan kortisol dari dalam tubuh.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian EHJ pada dosis 10 mg/kg BH (CP+EHJ10) dapat mengurangi ($P < 0,05$) kadar kortisol dalam feses ayam yang dianalisis 3-4 jam setelah pemberian cekaman panas dan relatif lebih rendah jika dibandingkan dengan 3 perlakuan lainnya. Hal ini menggambarkan bahwa dampak cekaman yang dialami ayam yang menerima 10 mg/kg BH EHJ lebih rendah dibandingkan dengan ayam yang menerima dosis EHJ lainnya. Menurut MORATO *et al.* (2004) dan RETTENBACHER *et al.* (2004) rendahnya kadar kortisol dalam feses dapat memberikan gambaran bahwa keadaan stres pada hewan yang diukur kortisolnya dalam feses lebih rendah dibandingkan dengan hewan lainnya. Peningkatan dosis EHJ sampai 20 mg/kg BH ternyata tidak dapat menurunkan ($P > 0,05$) kadar kortisol feses ayam dan terlihat kadar kortisol dalam feses ayam justru cenderung lebih tinggi dibandingkan pada dosis EHJ 5 dan 10 mg/kg BH.

Hasil pengamatan pada tingkah laku (*behavior*) menunjukkan bahwa ada kecenderungan bahwa ayam yang diberi EHJ 10 mg/kg BH (CP+EHJ10) relatif lebih tenang. Pada awal kenaikan panas, ayam yang diberi cekaman panas tanpa EHJ lebih sering mengepak-engepak sayap ke lantai dan lebih awal terlihat meregangkan bulu. Satu jam setelah suhu kandang

dinaikkan, ayam terlihat lebih gelisah dengan bertingkah laku melebarkan dan menjatuhkan sayap serta lebih sering duduk dan berdiri silih berganti. Pada ayam yang diberi cekaman panas dan EHJ 10 mg/kg BH, tingkah laku mengepak-engepakkan dan melebarkan sayap relatif berkurang dibandingkan dengan kontrol. Pola tingkah laku selama ayam mengalami cekaman panas ini merupakan upaya menjaga keseimbangan panas tubuhnya melalui mekanisme konduksi (OPHIR *et al.*, 2002).

Kadar kortisol dalam plasma

Pemberian cekaman panas pada suhu $33 \pm 1^\circ\text{C}$ selama 5 dan 10 hari dengan lama waktu pemberian 4 jam/hari tidak menunjukkan adanya peningkatan kadar kortisol dalam plasma ayam pada waktu pagi. Demikian juga halnya pemberian EHJ tidak memberi efek pada kadar kortisol dalam plasma, baik yang diberikan cekaman panas selama setelah 5 ataupun 10 hari, seperti terlihat pada Tabel 2. Tidak terlihatnya perubahan yang nyata pada kadar kortisol dalam plasma ini menandakan ayam dalam keadaan tidak stres pada pagi hari. Pengambilan sampel dilakukan pada pagi hari antara pukul 05.30 sampai 06.30, setelah lebih kurang 14 jam dihentikan pemberian cekaman panas. Dengan perkataan lain pengambilan sampel darah, ayam telah berada relatif lama dalam keadaan tanpa cekaman. Hal ini menunjukkan bahwa sebelum pemberian cekaman panas (pagi hari) ayam tidak mengalami stres. Menurut HILLMAN *et al.* (2000) dan LIN *et al.* (2005) peningkatan kadar kortisol dalam plasma terjadi beberapa jam setelah ayam mengalami cekaman panas. Hal ini merupakan respons adrenal korteks dan hipotalamus terhadap adanya sinyal panas yang ditangkap pada permukaan kulit. Kadar kortisol dalam plasma menurun dalam beberapa jam setelah faktor pencetus stres hilang.

Tabel 1. Rata-rata kadar kortisol (ug/dl) dalam feses yang diambil pada 3 periode waktu pengambilan

Perlakuan	Waktu pengambilan		
	I	II	III
Tanpa diberi cekaman panas dan EHJ	0,58 $\pm$ 0,03	0,62 $\pm$ 0,01 ^a	0,63 $\pm$ 0,05 ^a
Diberi cekaman panas tanpa EHJ	0,57 $\pm$ 0,02	0,70 $\pm$ 0,04 ^b	0,75 $\pm$ 0,07 ^b
Diberi cekaman panas dan diberi EHJ 5 mg/kg BH	0,58 $\pm$ 0,08	0,64 $\pm$ 0,03 ^{ab}	0,70 $\pm$ 0,04 ^{ab}
Diberi cekaman panas dan diberi EHJ 10 mg/kg BH	0,60 $\pm$ 0,11	0,61 $\pm$ 0,06 ^a	0,67 $\pm$ 0,02 ^{ab}
Diberi cekaman panas dan diberi EHJ 20 mg/kg BH. $\pm$ SD.	0,50 $\pm$ 0,04	0,68 $\pm$ 0,05 ^b	0,73 $\pm$ 0,09 ^b

^aSuperskrip yang berbeda ke arah kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$)

I = (1-2 jam sebelum perlakuan); II = (3-4 jam setelah perlakuan cekaman panas); III = (2-3 jam setelah suhu panas diturunkan)

Tabel 2. Rata-rata kadar kortisol dalam plasma ayam broiler

Perlakuan	Kadar kortisol ($\mu\text{g/dl}$) dalam plasma	
	Hari ke-5	Hari ke-10
Tanpa diberi cekaman panas dan EHJ	$0,41 \pm 0,05$	$0,40 \pm 0,02$
Diberi cekaman panas tanpa EHJ	$0,40 \pm 0,03$	$0,44 \pm 0,06$
Diberi cekaman panas dan diberi EHJ 5 mg/kg BH	$0,41 \pm 0,06$	$0,38 \pm 0,04$
Diberi cekaman panas dan diberi EHJ 10 mg/kg BH	$0,40 \pm 0,02$	$0,39 \pm 0,03$
Diberi cekaman panas dan diberi EHJ 20 mg/kg BH $\pm$ SD	$0,40 \pm 0,04$	$0,42 \pm 0,03$

Tidak terlihatnya ada perubahan yang nyata pada kadar kortisol dalam plasma baik pada hari ke-5 dan ke-10 kemungkinan disebabkan kortisol yang terbentuk telah diekskresikan melalui ekskreta selama ayam tidak diberi cekaman panas. Menurut MILLSPAUGH dan WASHBURN (2004) jalur ekskresi utama kortisol pada unggas adalah melalui feses. Hal ini dapat dilihat dari kadar kortisol yang diekskresikan dalam feses (Tabel 1). Selama ayam mengalami cekaman panas (3-4 jam setelah diberi cekaman panas) dan 2-3 jam setelah dihentikan cekaman panas, terlihat peningkatan kadar kortisol dalam feses.

Data-data di atas menunjukkan bahwa pengukuran kortisol dalam plasma atau feses dapat digunakan sebagai indikator stres. Hal ini sejalan dengan penelitian RETTENBACHER *et al.* (2004) yang menyatakan bahwa pemeriksaan kortisol dalam plasma atau feses baik digunakan sebagai indikator stres pada ayam yang mengalami cekaman yang bersifat akut.

Kadar Triiodotironin (T3) dalam feses dan plasma

Perubahan kadar T3 akibat diberi cekaman panas dan EHJ dapat dilihat pada Tabel 3. Secara statistik, pengukuran kadar T3 dalam feses dan plasma pada ayam broiler tidak dipengaruhi oleh cekaman panas dan EHJ. Pada Tabel 3 terlihat bahwa pemberian cekaman panas relatif meningkatkan kadar T3 dalam feses. Puncak peningkatan terlihat 3-4 jam setelah diberi cekaman panas dan menurun 2-3 jam setelah cekaman panas dihentikan. Sementara itu, kadar T3 dalam plasma ayam yang dianalisis pada hari ke-5 relatif lebih rendah. Hasil analisis kadar T3 dalam feses ayam yang diberi cekaman panas ini berbeda seperti yang dilaporkan sebelumnya. Pada ayam, peningkatan suhu lingkungan secara kronis menyebabkan penurunan kadar T3 di dalam sirkulasi darah (MCNABB, 2000; SAHIN *et al.*, 2001). Perbedaan hasil ini diduga terkait dengan lamanya waktu perlakuan cekaman panas, pemberian cekaman panas pada suhu $33 \pm 1^\circ\text{C}$ selama 4 jam diduga belum memberikan pengaruh terhadap kadar T3 dalam feses dan plasma.

Hormon T3 dibentuk dari perombakan hormon T4 yang disekresikan kelenjar tiroid. Pembentukan T3 dapat terjadi di luar kelenjar tiroid dengan melibatkan enzim iodotironin-5'-deiodinase. Enzim ini tersebar pada berbagai organ tubuh, dan pada hati dan usus kandungan enzim ini relatif besar (NGUYEN *et al.*, 2003). Pada tubuh tikus, sepertiga total T3 yang dibentuk di luar kelenjar tiroid merupakan hasil pembentukan di dalam jaringan saluran pencernaan. Hormon T3 yang terbentuk tersebut dapat ditransfer ke dalam dan keluar lumen atau pun dinding usus (NGUYEN *et al.*, 1993).

Pada Tabel 3, terlihat bahwa pemberian EHJ dosis 10 mg/kg BH relatif lebih baik dibandingkan dosis lainnya. Pada pemeriksaan sampel feses yang diambil pada jam I sampai III terlihat fluktuasi kadar T3 sangat kecil jika dibandingkan dengan perlakuan CP. Kestabilan kadar T3 ini sangat perlu dipertahankan untuk pertumbuhan dan perkembangan normal pada hewan. Hormon ini juga berperan dalam menjaga keseimbangan pembentukan panas untuk mengontrol suhu tubuh (MCNABB, 2000).

Profil hematologi

Pemberian cekaman panas pada suhu $33 \pm 1^\circ\text{C}$ dan EHJ tidak menunjukkan adanya perubahan pada eritrosit, hemoglobin (Hb), *packed cell volume* (PCV = hematokrit), dan sel darah putih, baik yang diberikan cekaman panas selama 5 ataupun 10 hari seperti ditampilkan pada Tabel 4. Demikian juga halnya pemberian cekaman panas dan EHJ pada berbagai tingkat dosis selama 5 hari belum menunjukkan pengaruh pada nilai rasio H:L ayam broiler. Tidak terlihatnya perubahan profil hematologi ayam pada penelitian ini diduga pemberian cekaman panas pada suhu $33 \pm 1^\circ\text{C}$ selama 4 jam per hari sejak ayam berumur 20 hari kemungkinan belum berdampak pada hematopoiesis ayam. Menurut AENGWANICH dan CHINRASRI (2003) pada ayam broiler yang berumur 28 hari diberi cekaman panas (pada suhu $32 \pm 1^\circ\text{C}$) selama 5 jam per hari (secara kronis) kadar Hb, PCV, dan

Tabel 3. Rata-rata kadar Triiodotironin (T3) dalam feses pada 3 periode pengukuran dan kadar T3 dalam plasma pada 2 periode pengukuran

Perlakuan	Kadar T3 dalam feses (pg/ml)			Kadar T3 dalam plasma (pg/ml)	
	I	II	III	Hari ke-5	Hari ke-10
Tanpa diberi cekaman panas dan EHJ	1,27 ± 0,30	1,97 ± 1,19	1,57 ± 0,26	1,53 ± 0,66	1,29 ± 0,44
Diberi cekaman panas tanpa EHJ	2,56 ± 1,01	3,11 ± 1,419	2,17 ± 0,53	1,04 ± 0,30	1,40 ± 0,43
Diberi cekaman panas dan diberi EHJ 5 mg/kg BH	1,98 ± 0,52	3,42 ± 0,74	2,80 ± 0,64	1,49 ± 0,14	1,17 ± 0,03
Diberi cekaman panas dan diberi EHJ 10 mg/kg BH	1,46 ± 0,57	1,82 ± 1,33	1,70 ± 0,55	1,30 ± 0,48	1,51 ± 0,86
Diberi cekaman panas dan diberi EHJ 20 mg/kg BH ± SD	1,34 ± 0,65	1,61 ± 0,04	2,85 ± 1,09	1,10 ± 0,34	1,19 ± 0,30

Pengukuran I = diambil 1-2 jam sebelum diberi perlakuan; II = diambil setelah 3-4 jam diberi cekaman panas; dan III = diambil setelah 2-3 jam dihentikan pemberian cekaman panas

Tabel 4. Rata-rata jumlah eritrosit, hemoglobin (Hb), *packed cell volume* (PCV), jumlah leukosit, dan rasio heterofil dan limfosit ayam broiler yang diberi perlakuan cekaman panas dan EHJ selama 10 hari

Perlakuan	Parameter yang diukur				
	Eritrosit (x 10 ⁶ /μl)	Hb (g/dl)	PCV (%)	Leukosit (x 10 ³ /μl)	Rasio H:L
Tanpa diberi cekaman panas dan EHJ	2,46 ± 0,21	8,73 ± 0,64	27,2 ± 2,9	15,5 ± 6,3	0,33 ± 0,03 ^a
Diberi cekaman panas tanpa EHJ5	2,34 ± 0,26	8,67 ± 0,81	26,0 ± 4,5	22,9 ± 8,4	0,44 ± 0,09 ^{ab}
Diberi cekaman panas dan diberi EHJ5 mg/kg BH	2,40 ± 0,43	9,20 ± 0,40	27,0 ± 1,7	20,5 ± 3,6	0,45 ± 0,05 ^{ab}
CP+EHJ10 = diberi cekaman panas dan diberi EHJ 10 mg/kg BH	2,47 ± 0,16	8,40 ± 0,87	27,7 ± 2,3	19,9 ± 7,3	0,41 ± 0,05 ^{ab}
CP+EHJ20 = diberi cekaman panas dan diberi EHJ 20 mg/kg BH ± SD	2,14 ± 0,22	8,27 ± 0,83	25,8 ± 2,6	23,1 ± 3,8	0,47 ± 0,07 ^b

^aSuperskrip yang berbeda ke arah kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata (P<0,10)

eritrosit menurun serta nilai leukosit dan rasio H:L meningkat nyata setelah diberikan selama 14 hari.

Pengaruh pemberian cekaman panas pada suhu 33 ± 1°C selama 4 jam per hari dan EHJ baru menunjukkan efeknya (P<0,10) terhadap nilai rasio heterofil dan limfosit (H:L) setelah 10 hari diberikan. Pada Tabel 4 terlihat juga bahwa pemberian cekaman panas pada suhu 33 ± 1°C relatif dapat menyebabkan jumlah leukosit meningkat sedangkan jumlah eritrosit, Hb, dan PCV menurun. Hal ini sejalan dengan yang dilaporkan BEDANOVA *et al.* (2003) dan AENGWANICH dan CHINRASRI (2003).

Peningkatan nilai rasio H:L pada ayam yang mengalami cekaman panas terkait dengan meningkatnya pembentukan glukokortikoid. Keberadaan reseptor glukokortikoid pada berbagai sel pembentuk sel-sel pertahanan akan mengganggu fungsi NF-κB yang mengatur gen pembentukan sitokin untuk

pengaturan produksi sel-sel imun. Perubahan ekspresi gen yang diperantarai glukokortikoid ini dapat mengganggu produksi sel-sel imunitas tubuh (DAN dan LALL, 1998; GUPTA dan LALCHHANDAMA, 2002; PADGETT dan GLASER, 2003). Karena adanya keterkaitan yang kuat antara pelepasan glukokortikoid dan pembentukan sel-sel leukosit, terutama heterofil dan limfosit, pengukuran kedua parameter ini selalu digunakan sebagai indikator cekaman panas pada hewan (SCOPE *et al.*, 2001; DEHNHARD *et al.*, 2003; BOONSTRA, 2005).

Pada penelitian ini, pemberian EHJ terutama pada perlakuan CP+EHJ10 relatif dapat mengurangi efek buruk cekaman panas dilihat dari profil hematologi. Beberapa peneliti sebelumnya melaporkan bahwa pemberian vitamin dan mineral yang berfungsi sebagai antioksidan terbukti dapat mengurangi dampak cekaman panas pada profil hematologi (SAHIN *et al.*,

2001; SAHIN *et al.*, 2003; SANDS dan SMITH, 2002; AENGWANICH *et al.*, 2003). Diduga bahwa EHJ memiliki aktivitas sebagai antioksidan. NARAYANSWAMY *et al.* (2004) melaporkan bahwa berkurangnya dampak cekaman panas pada ayam broiler yang diberi ekstrak tanaman obat antistres terjadi melalui aktivitas antioksidan yang terdapat pada tanaman. Menurut KAHKONEN *et al.* (1999) hasil uji ekstrak berbagai tanaman obat menunjukkan bahwa bahan ekstrak asal tanaman *Salix* spp memiliki efek antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan 60 jenis tanaman pohon yang biasa dipakai sebagai bahan tanaman obat.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian cekaman panas pada suhu $33 \pm 1^\circ\text{C}$ selama 2 dan 4 jam dapat meningkatkan sekresi kortisol dalam feses, tetapi tidak memberikan efek pada kadar T3 dalam feses. Pemberian cekaman panas selama 5 dan 10 hari tidak menyebabkan peningkatan kadar kortisol dan T3 dalam plasma darah ayam broiler yang diambil pada pagi hari. Pengaruh pemberian cekaman panas pada suhu $33 \pm 1^\circ\text{C}$ selama 4 jam per hari dan EHJ baru menunjukkan efeknya pada nilai rasio heterofil dan limfosit (H:L) setelah 10 hari diberikan. Pemberian EHJ pada dosis 10 mg/kg BH satu jam sebelum diberi perlakuan relatif dapat mengurangi dampak cekaman panas, dibandingkan dosis 5 dan 20 mg/kg BH. Peningkatan dosis EHJ sampai 20 mg/kg BH tidak memberikan efek yang lebih baik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor, Laboratorium Patologi dan Fisiologi Fakultas Kedokteran Hewan IPB, dan Laboratorium Fitokimia Biologi LIPI Cibinong yang telah banyak membantu pelaksanaan penelitian ini sehingga dapat berjalan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- AENGWANICH, W. and O. CHINRASRI. 2003. Effects of chronic heat stress on red blood cell disorders in broiler chickens. *Maharakham Univ. J.* 21: 1-10.
- AENGWANICH, W., P. SRIDAMA, Y. PHASUK, T. VONGPRALAB, P. PAKDEE, S. KATAWATIN and S. SIMARAKS. 2003. Effects of ascorbic acid on cell mediated, humoral immune response and pathophysiology of white blood cell in broilers under heat stress. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 25: 297-305.
- BEDANOVA, I., E. VOGLAROVA, V. VECEREK, E. STRAKOVA and P. SUCHY. 2003. The haematological profile of broilers under acute and chronic heat stress at $30 \pm 1^\circ\text{C}$ level. *Folia Vet.* 47: 188-192.
- BOONSTRA, R. 2005. Coping with changing northern environments: the role of the stress axis in birds and mammals. *Integr. Comp. Biol.* 44: 95-108.
- CAMPBELL, T.W. 1995. Avian Hematology and Cytology. Iowa State University Press. Iowa.
- DAN, G. and S.B. LALL. 1998. Neuroendocrine modulation of immune system. *Ind. J. Pharmacol.* 30: 129-140.
- DEHNHARD, M., A. SCHREER, O. KRONE, K. JEWGENOW, M. KRAUSE and R. GROSSMANN. 2003. Measurement of plasma corticosterone and fecal glucocorticoid metabolites in the chicken (*Gallus domesticus*), the great cormorant (*Phalacrocorax carbo*), and the goshawk (*Accipiter gentilis*). *Gen. Compar. Endocrinol.* 131: 345-352.
- DOWNING, J.A. and W.L. BRYDEN. 2002. Stress, hen husbandry and welfare – A literature review of stress in poultry. In: A Non-Invasive Test of Stress in Laying Hens. Rural Industries Research and Development Corporation. Australia. pp. 52-118.
- GUPTA, B.B.P. and K. LALCHHANDAMA. 2002. Molecular mechanisms of glucocorticoid action. *Curr. Sci.* 83: 1103-1111.
- HILLMAN, P.E., N.R. SCOT and A.V. TIENHOVEN. 2000. Physiological responses and adaptations to hot and cold environments. In: Stress Physiology in Livestock. M.K. YOUSEF (Ed.). Vol 3 Poultry. CRC Press. Florida. pp. 1-71.
- KAHKONEN, M.P., A.I. HOPIA, H.J. VUORELA, J.P. RAUHA, K. PIHLAJA, T.S. KUJALA and M. HEINONEN. 1999. Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 47: 3954-3962.
- KAMMERER, B., R. KALICH, C. BIEGERT, C.H. GLEITER and L. HEIDE. 2005. HPLC-MS/MS Analysis of willow bark extracts contained in pharmaceutical preparations. *Phytochem. Anal.* 16: 470-478.
- LIN, H., H.F. ZHANG, R. DU, X.H. GU, Z.Y. ZHANG, J. BUYSE and E. DECUYPERE. 2005. Thermoregulation responses of broiler chickens to humidity at different ambient temperatures. II. Four weeks of age. *Poult. Sci.* 84: 1173-1178.
- MASHALY, M.M., G.L. HENDRICKS, M.A. KALAMA, A.E. GEHAD, A.O. ABBAS and P.H. PATTERSON. 2004. Effect of heat stress on production parameters and immune responses of commercial laying hens. *Poult. Sci.* 83: 889-894.
- MENABBE, F.M.A. 2000. Thyroids. In: Sturkie's Avian Physiology. G.C. WHITTOW (Ed.). Ed 5th. Academic Press. San Diego. pp. 461-471.

- MILLSPAUGH, J.J. and B.E. WASHBURN. 2004. Use of fecal glucocorticoid metabolite measures in conservation biology research: considerations for application and interpretation. *Gen. Compar. Endocrinol.* 138: 189-199.
- MORATO, R.G., M.G. BUENO, P. MALMEHEISTER, I.T.N. VERRESCHI and R.C. BARNABE. 2004. Changes in the fecal concentrations of cortisol and androgen metabolites in captive male jaguars (*Panthera onca*) in response to stress. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 37: 1903-1907.
- NARAYANSWAMY, H.D., B.S. KUMAR, V.G. BHAGWAT, M.N. DIXIT and M.R. NAGARAJA. 2004. Beneficial effects of geriforte (Vet Liquid) as an adaptogen in commercial broilers for summer stress. *Poult. Line.* April: 27-30.
- NGUYEN, T.T., J.J. DISTEFANO, H. YAMADA and Y.M. YEN. 1993. Steady state organ distribution and metabolism of thyroxine and 3,5,3'-triiodothyronine in intestines, liver, kidneys, blood, and residual carcass of the rat in vivo. *Endocrinology* 133: 2973-2983.
- NGUYEN, T.T., K.A. MOL and J.J. DISTEFANO. 2003. Thyroid hormone production rates in rat liver and intestine in vivo: a novel graph theory and experimental solution. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 285: E171-E181.
- OPHIR, E., Y. ARIELI, J. MARDER and M. HOROWITZ. 2002. Cutaneous blood flow in the pigeon *Columba livia*: its possible relevance to cutaneous water evaporation. *J. Exp. Biol.* 205: 2627-2636.
- PADGETT, D.A. and R. GLASER. 2003. How stress influences the immune response. *Trends Immunol.* 24: 444-448.
- POST, J., J.M. REBEL and A.A.T. HUURNE. 2003. Physiological effects of elevated plasma corticosterone concentrations in broiler chickens. An alternative means by which to assess the physiological effects of stress. *Poult. Sci.* 82: 1313-1318.
- PUVADOLPIROD, S. and J.P. THAXTON. 2000. Model of physiology stress in chickens 3. Temporal patterns of response. *Poult. Sci.* 79: 377-382.
- RETTEBACHER, S., E. MOST, R. HACKL, K. GHAREEB and R. PALME. 2004. Measurement of corticosterone metabolites in chicken droppings. *Bri. Poult. Sci.* 45: 704-711.
- ROY S., S.K. MAITI, S.L. ALI and R. SHARDA. 1996. Study on the efficacy of zeetress: an antistress in layers during summer. *Ind. Vet. J.* 73:662-664.
- SAHIN, N., K. SAHIN and O. KUCUK. 2001. Effects of vitamin E and vitamin A supplementation on performance, thyroid status and serum concentrations of some metabolites and minerals in broilers reared under heat stress (32°C). *Vet. Med. Czech.* 46: 286-292.
- SAHIN, K., N. SAHIN, M. ONDERCI, M.F. GURSU and M. ISSI. 2003. Vitamin C and E can alleviate negative effects of heat stress in Japanese quails. *Food Agric. Environ.* 1: 244-249.
- SANDS, J.S. and M.O. SMITH. 2002. Effects of dietary manganese proteinate or chromium picolinate supplementation on plasma insulin, glucagon, glucose and serum lipids in broiler chickens reared under thermoneutral or heat stress conditions. *Intern. J. Poult. Sci.* 1: 145-149.
- SCOPE, A., T. FILIP, C. GABLER and F. RESCH. 2001. The influence of stress from transport and handling on hematologic and clinical chemistry blood parameters of racing pigeons (*Columba livia domestica*). *Avian Dis.* 46: 224-229.
- SETIAJI, D. dan A. SUDARMAN. 2005. Ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* Less) sebagai obat antistres pada ayam broiler. *Media Pet.* 28: 46-51.
- SUGITO, W. MANALU, D.A. ASTUTI dan CHAIRUL. 2006. Evaluasi pemberian ekstrak jalo (Salix tetrasperma Roxb) terhadap performans dan indikator stres pada ayam broiler yang diberi cekaman panas. *Majalah Obat Tradisional* 11: 29-36.