

*IMMUNE RESPONSE
PROBLEMS (POULTRY)*
IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

KK
KKA
TI.01/11
Uto
P

TESIS

**PERUBAHAN RESPONS IMUN PADA
AYAM PEDAGING YANG STRES AKIBAT
TRANSPORTASI**

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA



BUDI UTOMO

**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2004**

**PERUBAHAN RESPONS IMUN PADA
AYAM PEDAGING YANG STRES AKIBAT
TRANSPORTASI**

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister
Dalam Program Studi Ilmu Immunologi
Pada program Pascasarjana Universitas Airlangga

Oleh

**BUDI UTOMO
NIM 090114276 M**

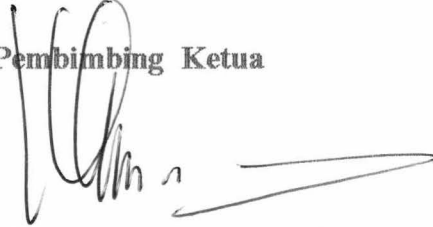
**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Lembar Pengesahan

**TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 20 AGUSTUS 2004**

Oleh

Pembimbing Ketua



**Prof. Dr. Suhartono Taat Putra, dr. M.S
Nip . 130 934 628**

Pembimbing



**Dr. Fedik Abdul Rantam , drh
Nip . 131 653 434**

Mengetahui :

**Program Studi Imunologi
Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga**



**Dr. Sri Hidajati Baju Santoso, dr., M.S., DTM
Nip. 130 680 855**

Penetapan Panitia Penguji Tesis

Telah diuji pada :

Tanggal

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Dr. I. Ketut Sudiana , Drs., M.S

Anggota : Prof. Dr. Suhartono Taat Putra, dr, M.S

Dr. Fedik Abdul Rantam, drh

Dr. Bambang Sektiari, DEA , drh

Prof. Dr. Setiawan Koesdarto, drh., M.Sci

UCAPAN TERIMA KASIH

UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmanirrahim

Puji dan syukur yang tak terhingga saya panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat dan hidayah-Nya, sehingga saya dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan tesis imidengan sebaik-baiknya. Tesis ini merupakan bagian akhir dari seluruh kegiatan pendidikan Program Mgister Imunologi Pasca sarjana Universitas Ailangga.

Dengan penuh rasa hormat dan ketulusan hati yang paling dalam saya sampaikan ucapan terima kasih sebesar-besarnya kepada :

Prof.Dr.Suhartono Taat Putra,dr,MS, sebagai pembimbing Ketua yang selalu memberi masukan, bimbingan, semangat sehingga saya dapat menyelesaikan tesis ini.

Dr. Fedik Abdul Rantam,drh, sebagai Pembimbing kedua yang telah memberi inspirasi untuk saya sehingga saya ikut menekuni bidang imunologi dan memberi masukan untuk melakukan penelitian sampai selesai dengan memberi banyak dorongan moril maupun materiil sejak penulisan proposal hingga akhir penulisan tesis ini.

Prof.Dr.med.H.Puruhito,dr, Rektor Universitas Airlangga; Prof.Dr.H.Muhammad Amin,dr, Direktur Program Pascasarjana universitas Airlangga dan Prof,Dr.Labe Mahaputra,drh,Msci Assisten Direktur Pendidikan Program Pascasarjana Universitas Airlangga yang telah memberikan dorongan, semangat dan materiil sehingga saya dapat menyelesaikan ujian-ujian dan penulisan tesis ini.

Prof,Dr, Ismudiono,drh,MS, Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti pendidikan Magister , memberikan nasihat, semangat yang memang hampir pudar tetapi berkat dorongan, bimbingan akhirnya saya berhasil menyelesaikan penulisan tesis ini.

Prof,Dr.H.Setiawan Koesdarto,drh,Msci dan Drh.Retno Biyanti,MS yang benar- benar tulus telah memebri banyak sumbangan materiil kepada saya serta nasihat dan bimbingan yang mendorong saya untuk giat-giat dan tidak putus asa untuk menyelesaikan penelitian dan ujian-ujian sampai penulisan tesis ini.

Semua teman-teman seangkatan khususnya Program Studi Imunologi yang telah saling membantu dan memberikan motivasi dalam mengarungi suka dan duka dalam proses perkuliahan, ujian sehingga saya dapat menyelesaikan tesis ini.

Istri saya Nancy Pusporini, dan ketiga anak-anak saya, Marsyntia Febryanti, Dwi Putri Anggraeni, dan si bungsu Nadira Rizki Aprilyanto yang telah memberi saya semangat untuk belajar walaupun saya di usia lanjut tapi mereka memberikan semangat untuk tetap belajar di saat-sat saya menempuh ujian sampai penulisan tesis ini.

Akhirnya saya mohon maaf atas segala sesuatu yang kurang berkenan selama ini, semoga Allah SWT melimpahkan rahmat dan karunia-Nya bagi kita semua. Amiiien.

Surabaya, Februari 2005

Penulis.

RINGKASAN

RINGKASAN

Perubahan Respons Imun pada Ayam Pedaging Yang Stres Akibat Transportasi

Stresor transportasi merangsang pelepasan dari beberapa hormon, termasuk hormon "stres" (kortisol) yang berhubungan dengan perambatan saraf pusat. Dalam transportasi bersangkut paut dengan exercise, stres panas, beberapa pengaruh lingkungan dimana kadar kortisol akan meningkat. Secara anatomi berhubungan dengan saraf, kelenjar limfe, reseptor-reseptor untuk beberapa hormon pada limfosit diduga bahwa hormon-hormon tersebut dapat memediasi exercise dan panas lingkungan yang merangsang perubahan-perubahan pada fungsidi dari imunitas.

Berbagai manifestasi dari transportasi pada keadaan sementara akan ditekan dengan perpanjangan maupun kelelahan yang sangat. Terutama penurunan aktivitas Natural Killer Cell (NK) sel dan kadar imunoglobulin yang dapat meningkatkan kepekaan terhadap infeksi, atau kemungkinan kematian. Beberapa perubahan yang mungkin dapat terjadi karena reaksi dari stres.

Penelitian ini memeriksa kadar kortisol dan hitung jenis lekosit pada ayam broiler jantan. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental, dengan 20 ayam broiler jantan dengan umur 6 minggu, dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Darah diambil dari vena brachialis untuk menghitung hitung jenis lekosit dan serum dikumpulkan untuk pemeriksaan kadar kortisol.

Perbedaan kadar kortisol dan hitung jenis lekosit antara kontrol dan kelompok perlakuan, di analisa dengan menggunakan hipotesa dengan analisis Faktorial Multivariate dengan derajat signifikansi $p < 0,05$.

Hasil dari penelitian ini terlihat bahwa rata-rata kadar kortisol pada kelompok perlakuan lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol. Rata-rata kadar kortisol pada kelompok kontrol ayam malam hari adalah $33,9090 + 1,065$ dan pada kelompok perlakuan ayam malam hari adalah $38,700 + 1,835$, kelompok kontrol ayam siang hari adalah $47,380 + 2,995$ dan kelompok perlakuan ayamsiang hari adalah $88,670 + 2,884$.

Terdapat penurunan dari sel eosinofil, basofil dan limfosit pada kelompok ayam perlakuan tetapi pada hitung jenis sel netrofil dan sel monosit meningkat.

Rata-rata hitung jenis sel eosinofil untuk kelompok kontrol malam hari adalah $5,10 + 0,74$ dan kelompok ayam perlakuan malam hari adalah $1,20 + 0,79$ dan kelompok kontrol ayam siang hari adalah $4,30 + 0,95$ dan kelompok perlakuan ayam siang hari adalah $0,80 + 0,79$.

Rata-rata hitung jenis sel basofil untuk kelompok kontrol ayam malam hari adalah $1,00 + 0,67$ dan kelompok perlakuan ayam malam hari adalah $0,20 + 0,42$ dan kelompok kontrol ayam siang hari adalah $1,10 + 0,88$ dan kelompok perlakuan ayam siang hari adalah $0,50 + 0,00$.

Rata-rata hitung jenis sel netrofil untuk kelompok kontrol ayam malam hari adalah $26,10 + 0,88$ dan kelompok perlakuan ayam malam hari adalah $35,30 + 2,45$, dan kelompok kontrol ayam siang hari adalah $26,40 + 1,07$ dan kelompok perlakuan ayam siang hari adalah $36,20 + 2,53$.

Rata-rata hitung jenis sel limfosit untuk kelompok kontrol ayam malam hari adalah $67,20 + 1,32$ dan kelompok perlakuan ayam malam hari adalah $60,60 + 1,84$ dan kelompok kontrol ayam siang hari adalah $60,40 + 1,43$ dan kelompok perlakuan ayam siang hari adalah $59,60,2,91$.

Rata-rata hitung jenis sel monosit untuk kelompok kontrol ayam malam hari adalah $0,50 + 0,53$ dan kelompok perlakuan ayam malam hari adalah $2,70 + 0,82$, dan kelompok kontrol ayam siang hari adalah $0,60 + 0,84$ dan kelompok perlakuan ayam siang hari adalah $3,40 + 1,17$.

Dengan menggunakan analisa uji Faktorial multivariate dengan signifikansi $p < 0,05$, terdapat perbedaan yang sangat bermakna antara kadar kortisol, eosinofil, basofil, netrofil, limfosit dan monosit antara kelompok perlakuan yang mengalami stresor transportasi selama 5 jam dibandingkan dengan kelompok yang tidak mengalami stresor transportasi.

Hal ini dapat disimpulkan bahwa stresor transportasi yang menyebabkan kondisi stres yang kemungkinan menyebabkan penurunan respons imun.

SUMMARY

The Changes of Immune Response in Stress Broiler due to Transportation

Budi Utomo

The stressor of transportation induces a release of many hormones, including those involved in a "stress" response (cortisol), those concerned with central neural transmission. The transportation is performed in a exercise, host environment or heat stress, level of cortisol are substantially increase. Anatomic connections between autonomic nerves and lymph glands, and receptors for various hormones on lymphocytes suggest that hormones may mediate both exercise and heat -induced changes in immune function.

Various manifestation of transportation are temporarily suppressed by about of prolonged and exhausting exercise. In particular, decreases in natural killer (NK) cell activity and serum immunoglobulin levels can increase susceptibility to infection, and possibly death. Further, many of the immune changes seem to be essentially stress responses.

Objective of this study is to investigate the level of cortisol and different count of leucocyte from male broiler. This is an experimental study, the sample include male broiler. Samples were 20 male broiler 6 weeks old, divided into two group which are : control group and treatment group. Further more blood are taken through brachialis vein to measure of different count of leucocyte and collected sera for detected the level of cortisol .

The differences level of cortisol and different count of leucocyte between control group (night and day group) and treatment group (night and day group), by using analysis technique which was used to test the hypothesis was analysis of Factorial (Multivariate test of Significance) with significance level was $p < 0,05$.

The result of this experiment showed that average level of cortisol on the treatment group higher than the control group. The average level of cortisol for the night control group was $33,9090 + 1,065$ and the night treatment group was $38,700 + 1,835$, the day control group was $47,380 + 2,995$ and the day treatment group was $88,670 + 2,884$.

There are a decrease of eosinophil, basophil and lymphocyte cell on the treatment group but neutrophil and monocyte was increase.

The average different count of eosinophil for the night control group was $5,10 + 0,74$ and the night treatment group was $1,20 + 0,79$, and the day control group was $4,30 + 0,95$ and the day treatment group was $0,80 + 0,79$.

The average different count of basophil for the night control group was $1,00 + 0,67$ and the night treatment group was $0,20 + 0,42$, and the day control group was $1,10 + 0,88$ and the day treatment group was $0,50 + 0,00$.

The average different count of neutrophil for the night control group was $26,10 + 0,88$ and the night treatment group was $35,30 + 2,45$, and the day control group was $26,40 + 1,07$ and the day treatment group was $36,20 + 2,53$.

The average different count of lymphocyte for the night control group was $67,20 + 1,32$ and the night treatment group was $60,60 + 1,84$, and the day control group was $60,40 + 1,43$ and the day treatment group was $59,60 + 2,91$.

The average different count of monocyte for the night control group was $0,50 + 0,53$ and the night treatment group was $2,70 + 0,82$, and the day control group was $0,60 + 0,84$ and the day treatment group was $3,40 + 1,17$.

By using analysis of Factorial (Multivariate test of significance with significance level $p < 0,05$), there are significant differences in level of cortisol, eosinophil, basophil, neutrophil, lymphocyte and monocyte between the treatment group who was transported and without transported (control group).

It can be concluded that transportation cause of stress condition and possibly an decrease immune response.

ABSTRACT

ABSTRACT

The Changes of Immune Response in Stress Broiler Due to Transportation (A Psychoneuroimmunologic Approach)

Budi Utomo

The aim of This reseach is to undertand the immunopathobiogenesis immune Response of broiler which are five hours transported. The objective of this study to investigate the level of cortisol and immunocompetent cells (eosinophil, basophil, neutrophil, lymphocyte and monocyte cells).

Research methede was using of 20 male brielers, this flock is divided into two groups which are : control group and treatment group, each group divided into two groups which are night group and day group. Transportation as a stressor (5 hours) was exposed for treatment group.

Dependent variables were blood cortisol, diffrent count of lecoocyte (eosinophil, basophil, neutrophil , lymphocyte and monocyte cell). The analysis technique which was used to test the hypothesis was analysis of Factorial (Multivariate test of Significance) with significance level was $p < 0,05$.

The rearch result showed an improvement of cortisol level in the tratment group, and after using Multivariate test of Significance, it was found that significance difference between treatment group and control group. The result of different count of leucocyte were: an decerese of eosinophil, basophil and lymphocyte cell between the treatment group compored to control group. After using Multivarite test of Significance, an improvement of neutrophil and monocyte between the treatmen gorup compared to control group, it was found that significant different.

It was concluded that the transportation cause of stress condition and a decerese of immune response.

Keywords: *immunopathobiogenesis , immune response, immunocompetent cells.
Different count, stress condition, flock, stressor.*

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

DAFTAR ISI



DAFTAR ISI

Sampul depan	i
Sampul dalam	ii
Prasyarat gelar	iii
Lembar pengesahan	iv
Penetapan panitia penguji	v
Ucapan terima kasih	vi
Ringkasan	viii
Summary	x
Abstract	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
 BAB I : PENDAHULUAN	
1.1. Latar belakang	1
1.2. Rumusan masalah	3
1.3. Tujuan penelitian	4
1.4. Manfaat penelitian	4

BAB 2 : TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Istilah umum stres	6
2.2. Granulopoiesis dan limfopoiesis	7
2.3. Hormon kortikosteroid	9
2.4. Stres dan respons ketahanan tubuh	11
2.5. Pendekatan psiconeuroimunologi pada stres transportasi ...	12

BAB 3 : KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

3.1. Kerangka konseptual dan hipotesis	18
3.2. Ketrangan kerangka konseptual	19
3.3. Hipotesis	20

BAB 4 : MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1. Jenis penelitian	21
4.2. Rancangan penelitian	21
4.3. Bagan rencana penelitian	22
4.4. Kerangka operasional penelitian	22
4.5. Sampel penelitian	22
4.6. Variabel penelitian	24
4.6.1 Variabel bebas	24
4.6.2 Variabel tergantung	24
4.6.3 Variabel kendali	24
4.7. Alat stresor transportasi	25
4.8. Prosedur penelitian	25

4.9. Pemeriksaan kadar kortisol	26
4.10. Pembuatan hapusan darah dan pengecatan ..	27
Analisa data	27
BAB 5 : HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN	
5.1. Hasil penelitian	28
5.2. Analisis hasil penelitian	35
5.2.1. Analisis kadar kortisol	35
5.2.2. Analisis jumlah eosinofil	37
5.2.3. Analisis jumlah basofil	39
5.2.4. Analisis jumlah netrofil	41
5.2.5. Analisis jumlah limfosit	43
5.2.6. Analisis jumlah monosit	45
BAB 6 : PEMBAHASAN	47
BAB 7 : KESIMPULAN DAN SARAN	55
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN	59

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1. Harga mean dan standar deviasi (SD) kadar kortisol kelompok Kontrol dan perlakuan malam hari	29
Tabel 5.2. Harga mean dan standar deviasi (SD) kadar kortisol kelompok Kontrol dan perlakuan siang hari	29
Tabel 5.3. Harga mean dan standar deviasi (SD) eosinofil kelompok Kontrol dan perlakuan malam hari	30
Tabel 5.4. Harga mean dan standar deviasi (SD) eosinofil kelompok Kontrol dan perlakuan siang hari	30
Tabel 5.5. Harga mean dan standar deviasi (SD) basofil kelompok Kontrol dan perlakuan malam hari	31
Tabel 5.6. Harga mean dan standar deviasi (SD) basofil kelompok Kontrol dan perlakuan siang hari	31
Tabel 5.7. Harga mean dan standar deviasi (SD) netrofil kelompok Kontrol dan perlakuan malam hari	32
Tabel 5.8. Harga mean dan standar deviasi (SD) netrofil kelompok Kontrol dan perlakuan siang hari	32
Tabel 5.9. Harga mean dan standar deviasi (SD) limfosit kelompok Kontrol dan perlakuan malam hari	33
Tabel 6.0. Harga mean dan standar deviasi (SD) limfosit kelompok Kontrol dan perlakuan siang hari	33
Tabel 6.1. Harga mean dan standar deviasi (SD) monosit kelompok Kontrol dan perlakuan malam hari	34
Tabel 6.2. Harga mean dan standar deviasi (SD) monosit kelompok Kontrol dan perlakuan siang hari	34
Tabel 6.3. Hasil analisis faktorial kortisol	36
Tabel 6.4. Hasil analisis faktorial eosinofil	38
Tabel 6.5. Hasil analisis faktorial basofil	40

Tabel 6.6. Hasil analisis faktorial netrofil	42
Tabel 6.7. Hasil analisis faktorial limfosit	44
Tabel 6.8. Hasil analisis faktorial monosit	46

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data penghitungan kadar kortisol	59
Lampiran 2 Analisis data eosinofil transportasi pada waktu yang berbeda...	62
Lampiran 3. Analisis data basofil transportasi pada waktu yang berbeda	65
Lampiran 4. Analisis data netrofil transportasi pada waktu yang berbeda ...	68
Lampiran 5. Analisis data limfosit transportasi pada waktu yang berbeda ...	71
Lampiran 6. Analisis data monosit transportasi pada waktu yang berbeda ...	74

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

BAB 1 PENDAHULUAN



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kebutuhan gizi bagi masyarakat mendorong perkembangan usaha peternakan, khususnya ternak unggas. Kenyataannya di pedesaan mulai banyak usaha pemeliharaan ayam, baik ayam pedaging maupun petelur. Sedangkan kebutuhan produksi hasil usaha peternakan seperti daging, telur, terutama di berbagai kota besar masih belum mencukupi. Bagi peternak maupun konsumen yang menjadi problema utama adalah cara pengangkutan hasil produksi usahanya untuk sampai di tujuan tanpa terjadi keadaan yang merugikan seperti penurunan berat badan, penurunan produksi dan ternak rentan terhadap penyakit atau bahkan ternak tersebut menjadi sakit karena ternak dalam keadaan stres belum terungkap dengan jelas (Poultry Indonesia, 1989).

Kejadian stres pada ayam yang seringkali terjadi di Indonesia adalah stres akibat panas, keadaan ini terjadi di samping karena dalam tatalaksana pemeliharaan sampai dengan sistem transportasi di perlukan suhu yang konstan, sedangkan keadaan iklim tropis Indonesia mendukung kejadian stres akibat panas (Poultry Indonesia, 1989). Stres akibat panas dapat mengakibatkan gangguan proses respirasi, penurunan nafsu makan, dan yang penting stres akibat panas dapat menghambat pertumbuhan ayam pedaging (Hill, 1983). Hosen (1996) mengatakan bahwa ayam adalah ternak yang sangat rentan terhadap stresor.

Dengan mencermati problema para peternak dalam mengangkut hasil produksi, yang tergambar dalam alur pikir pada kerangka konseptual diharapkan akan dapat menjelaskan pola psikoneuroimunologis yang digunakan untuk menjelaskan

mekanisme modulasi respon imun pada kondisi stres akibat stresor transportasi ayam pedaging yang dibawa dari suatu daerah ke daerah lain yang mungkin disebabkan karena stres panas (*Heat stress*) akut, *exercise* atau keadaan hipoksia selama transportasi. Stres menyebabkan fungsi sistem imun dapat terjadi melalui peptida hipotalamus dan pituitari, yaitu *CRF* (*Corticotropin Releasing Factor*) dan *ACTH* (*Adrenocorticotropin Hormon*). *CRF* merupakan substansi utama yang merambatkan sinyal stresor ke sistem imun. *CRF* mengakibatkan aksis *HPA* (*Hypothalamic Pituitary Adrenocortical*) menjadi aktif berupa peningkatan *ACTH* yang akan merangsang korteks adrenal untuk meningkatkan sekresi kortisol. Peningkatan kadar kortisol akan menurunkan produksi *IL-1* oleh makrofag dan *IL-2* oleh *Limfosit T-helper* (*Th*). Berdasarkan macam sitokin yang dihasilkan, maka *limfosit T-helper* terbagi menjadi *limfosit Th1* dan *limfosit Th2*. Dalam kondisi normal keduanya berada dalam keadaan seimbang (Bauer, 2001; Hmblin, 1993; Romagnani, 1997). Pada keadaan stres yang terjadi akibat *exercise* akan menyebabkan penurunan mekanisme *Major Histocompatibility Complex* (*MHC*) kelas II untuk mempresentasikan antigen (*Antigen Presenting Cell*) (Cedia, 2000). Demikian pula pada keadaan hipoksia akan menyebabkan penurunan respon aktivitas limfosit T (Siram, 1998).. Sistem saraf, endokrin, dan sistem imun saling berhubungan dengan memanfaatkan berbagai substansi penghantar sinyal stres dan reseptor sinyal, yang berakibat terjadi pengaturan perilaku sel pada sistem imun. Stres yang ditunjukkan dengan peningkatan kortisol dan katekolamin akan memberikan penurunan ketahanan tubuh. Pengaruh kortisol pada hambatan sekresi *IL-1* oleh makrofag dan *IL-2* oleh sel *Th* dapat menurunkan sintesis immunoglobulin oleh sel B (Putra, 2000).

Psikoneuroimunologi sebagai ilmu yang dipakai untuk menjelaskan tentang respons imun (daya tahan tubuh) pada kondisi stres mulai dikembangkan (Conti,2000; Putra, 2000). Peningkatan kadar kortisol dapat mengakibatkan penurunan IL-1 oleh sel makrofag dan IL-2 oleh sel Th, berakibat menurunkan sintesis imunoglobulin, yaitu IgA, IgM, IgG, dan IgE, yang dihasilkan oleh sel plasma (Putra, 2000). Menurut Asnar (2001), selain CRF dapat merangsang HPA-axis menjadi aktif, secara langsung CRF dapat terikat pada CRF-R1 yang terdapat di membran limfosit serta ikut bertindak memodulasi respons imun. Perubahan variabel kortisol, sel imunokompeten akan menentukan hubungan antara stres yang diterima berupa stres akibat panas, hipoksia, *exercise* yang disebabkan karena transportasi dengan perubahan respons ketahanan tubuh. Dengan melihat alur pikir dalam kerangka konseptual penelitian diharapkan dapat menghasilkan pola psikoneuroimunologi dengan bentuk pola respons ketahanan tubuh, sehingga diharapkan mampu mengungkap mekanisme pengaruh transportasi terhadap respons ketahanan tubuh humoral. Mengingat setelah hewan atau ternak mengalami stres transportasi banyak yang rentan terhadap penyakit, kelelahan dan berbagai gangguan yang menyangkut masalah imun, maka berbagai penanganan yang mungkin dapat dilakukan untuk mencegahnya dapat diungkap.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah diuraikan diatas, maka dapat diambil masalah sebagai berikut :

- 1.2.1 Apakah ada perbedaan respons imun pada kondisi stres akibat stresor transportasi siang hari (jam 10.00 – 15.00) dan malam hari (jam 22.00 – 03.00).

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Secara umum penelitian ini bertujuan untuk menjelaskan imunopatobiogenesis respons imun ayam pedaging pada kondisi stres akibat stresor transportasi pada waktu siang hari (jam 10.00 – 15.00) dan malam hari (jam 22.00 – 03.00).

1.3.2 Tujuan khusus

- a. Membuktikan peningkatan kadar kortisol darah, menurunkan sel eosinofil, basofil dan limfosit dan meningkatkan sel netrofil dan monosit yang berfungsi sebagai ketahanan tubuh pada ayam pedaging yang stres akibat stresor transportasi.
- b. Menjelaskan perubahan respons imun ayam pedaging yang stres akibat stresor transportasi pada waktu siang hari (jam 10.00-15.00) dan malam hari (jam 22.00-03.00).

1.4 Manfaat Penelitian

Dari segi pengembangan ilmu, penelitian ini dapat menjelaskan imunopatobiogenesis modulasi respons imun ayam pedaging yang stres akibat transportasi. Temuan imunopatobiogenesis ini dapat digunakan sebagai dasar untuk menjelaskan kelainan terutama gangguan sistem imun pada kondisi stres akibat transportasi.

Dari segi penerapan ilmu imunopatobiogenesis modulasi respons imun yang stres, dapat digunakan sebagai dasar untuk pengembangan pemikiran terhadap penyempurnaan pencegahan dan pengelolaan gangguan sistem imun setelah ternak-hewan yang diambil dari suatu daerah atau negara dan dibawa (di transport) ke daerah

atau negara lain. Keadaan ini didasari karena seringnya terjadi gangguan ketahanan tubuh (turunnya sistem imun) dan bahkan menjadi sakit pada ternak-hewan yang tiba setelah melakukan transportasi (pengiriman).

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Istilah Umum Stres

Kata stres kini sudah sedemikian seringnya di pakai dalam kehidupan sehari-hari sehingga mungkin sekali kata itu mempunyai arti yang berbeda-beda. Setiap orang berbicara tentang stres dan menjadi topik pembicaraan sehari-hari, baik di radio, televisi, surat kabar, majalah dan berbagai kegiatan seminar dikalangan perguruan tinggi.

Stres adalah suatu istilah dimana kondisi yang merupakan hasil interaksi dan transaksi antara individu dengan lingkungan hidupnya, yang melibatkan proses kognisi dan emosi (Putra, 2001), sehingga timbul konsep yang menyatakan bahwa stres sebagai respons terhadap stresor (Fawzy, 1995; Putra, 2001). Hadiman (1988), mengatakan bahwa pengertian stres adalah suatu bentuk ketegangan yang mempengaruhi fungsi berbagai alat tubuh. Bila berlebihan akan mengganggu fungsi alat tubuh, dan dapat merupakan persepsi atau merupakan bayangan ancaman dan ketidak senangan, yang menggerakkan, menyiagakan atau membuat aktif organ tertentu. Adapun kualitas stres ditentukan oleh kemampuan mengelola stresor atau *coping*. Kemampuan ini akan menentukan kualitas stres, yaitu *eustress* atau *distress*. Individu yang hidup akan mengalami stres dengan kualitas tertentu, yaitu dapat melakukan adaptasi mencapai kondisi homeostasis yang lebih baik, stres yang demikian disebut sebagai *eustress* sedangkan stres yang patologis atau yang dapat menimbulkan kerusakan sehingga terjadi kondisi yang tidak homeostasis, stres yang demikian disebut sebagai *distress*.

Selye (1981) mengatakan bahwa stres sebagai "*The Basis of Illness*". Respon yang diberikan pada stres selalu membutuhkan energi untuk menyesuaikan diri. Respon terdiri dari 3 tahap yang dikenal sebagai *General Adaptation Syndrome* yaitu :

2.1.1 *Alarm Stage*

Reaksi awal bila dihadapkan stres, yaitu akan terjadi penurunan daya tahan tubuh dan stres sangat berat dapat menyebabkan kematian.

2.1.2 *Adaptation Stage (Stage of Resistance)*

Timbul daya tahan melawan dari tubuh, bila stresor dapat diimbangi dengan daya tahan tubuh. Gejala alarm hilang dan terjadi penyesuaian diri terhadap perubahan.

2.1.3 *Stage of Exhaustion*

Bila stresor terus menerus dalam jangka waktu lama, tubuh lama-lama kehabisan tenaga dan gejala reaksi alarm akan timbul kembali dan menjadi universal dan akan dapat menemui kematian atau timbul penyakit seperti hipertensi, tukak lambung, encok, asma, reaksi alergi, penyakit jantung dan lain-lainnya.

2.2 Granulopoiesis dan Limfopoiesis

Sumsum tulang merupakan 5% dari berat badan yang bertanggung jawab untuk pembentukan sel-sel darah (*hemopoiesis*) pada individu dewasa, dan dengan kebutuhan lingkungan mikroenviromen maka terjadi pendewasaan sel limfosit B dan pembentukan pre-sel limfosit T (*limfopoiesis*). Semua sel berasal dari *Pluripotential Hemopoietic Stem Cells (PHSC)*, yang dapat ditemukan pertama kali di hepar dan limpa embrio mamalia. *Stem cells* mempunyai kemampuan berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel mieloid (eritrosit, granulosit, monosit dan trombosit) atau sel limfoid (

sel T dan sel B limfosit) yang disebut pula sebagai *daughter cells (DC)* (Clancy, 1998; Schalm, 1986).

Granulositopoiesis menurunkan tiga tipe sel granulosit (eosinofil, basofil dan netrofil) yang semua ini berasal dari *Colony Forming Unit-Spleen (CFU-S)* dari *daughter cells*. CFU-S terdiri dari CFU-Eo, CFU-Baso atau CFU-N (mieloblast-promielosit-mielosit-metamielosit-Stab-sel dewasa (Segmen) dan CFU-M (promonosit-monosit) (Clancy, 1998).

Eosinofil untuk perkembangannya memerlukan *Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF)*, IL-3 dan IL-5 untuk pendewasaannya, jumlah yang beredar di darah perife sekitar 2-4%. Granula dari eosinofil berisi antihistamin (histaminase), asam fosfatase, ia berfungsi sebagai perusak parasit, fagositosis antigen-antibodi kompleks dan mengikat histamin selama proses alergi.

Basofil memerlukan GM-CSF, IL-3 dan IL-4 untuk proses pendewasaannya. Dalam peredaran darah perifer jumlahnya kurang dari 1%. Granulanya berisi histamin, heparin dan faktor kemotaksis.

Netrofil memerlukan GM-CSF, IL-3 untuk proses pendewasaannya. Jumlah yang beredar didalam darah perifer sekitar 70%, dimana granulanya berisi alkalin fosfatase, lisosim, laktoferin, fagositin. Netrofil merupakan sel yang terawal tampak pada infeksi bakteri dan merupakan sel yang dominan pada pus (nanah).

Limfopoiesis merupakan proses dimana CFU-ly mempunyai kemampuan untuk membentuk CFU-LyB dan CFU-LyT di dalam sumsum tulang. Sel CFU-LyB dapat berkembang dengan adanya IL-7 dan IL-3 dalam sumsum tulang untuk menjadi imunokompeten sel B dengan sIgM. Pendewasaan selanjutnya taerjadi di jaringan

limfoid sekunder. Sel CFU-LyT menjadi pre-T-cells yang akan meninggalkan sumsum tulang dan berada di daerah subkapsuler korteks timus yang kemudian berproliferasi dan dewasa dalam korteks timus yang lebih dalam menjadi sel CD3⁺ atau CD3⁺8⁺.

Monosit berkembang dari CFU-M dibawah pengaruh GM-CSF, IL-3. Jumlahnya dalam peredaran darah perifer sekitar 3-8%. Granulanya mengandung lisosom dan dengan cepat dapat keluar dari peredaran menjadi makrofag pada hampir setiap organ. Monosit sebagai sumber *mononuclear phagocytic system*, dan fungsinya sebagai fagosit lebih besar dibandingkan eosinofil maupun netrofil dan merusak bakteri yang lebih besar melalui proses fagosom melalui pembentukan hidrogen peroksidase, asam hipoklorid dan superoksida. Makrofag mengekspresikan MHC kelas II dan dapat berfungsi sebagai *antigen presenting cells (APC)*. Monosit (makrofag) mensekresikan sitokin IL-1, IL-6 dan *tumor necrosis factor alfa* (Clancy, 1998).

2.3 Hormon kortikosteroid

Kelenjar adrenal bagian korteks menghasilkan sejumlah hormon yang poten, semuanya merupakan derivat steroid yang mempunyai inti siklopentano perhidrofenantren yang khas, termasuk di dalam hormon steroid yang dihasilkan oleh korteks adrenal tersebut adalah glukokortikoid, mineralokortikoid dan androgen/estrogen.

Glukokortikoid terutama mempengaruhi metabolisme protein, karbohidrat dan lemak, dan disintesa di dalam zona fasciculata. Sintesa dan sekresi glukokortikoid diatur oleh adrenokortikotropin (ACTH) dari hipofisis. Contoh glukokortikoid adalah

kortikosteron. 11 dehidroksikortikosteron, kortison dan hidrokortison atau kortisol (Harper, 1979).

Menurut Suherman (1983), kortisol dan kortison merupakan glukokortikoid sedang prednisone, tiamsolone, betamethasone termasuk glukokortikoid sintetik. Berdasarkan lamanya di dalam melakukan aktifitas biologis preparat kortikoid di bedakan menjadi tiga golongan yaitu hidrokortison (lama aktifitas biologis kurang dari 12 jam), prednisone, prednisolone, metil prednisolone , tiamsolone (lama aktifitas biologis 12-36 jam),, parametason, betametason dan deksametason (lama aktifitas biologisnya lebih dari 48 jam).

Pada itik, ayam dan angsa yang kelenjar adrenalnya di isolasi secara in vitro, ternyata banyak dihasilkan kortikosteron, 18 hidrokortikosteron dan aldosteron. Kortikosteron dan aldosteron adalah kortikosteroid utama yang diekskresikan oleh kelenjar adrenal pada burung (Ringer, 1976).

Kelenjar adrenal telah mensekresi kortikosteron pada hari ke limabelas atau enambelas dari masa inkubasi dan sesudah itu sekresi kortikosteron dibawah kontrol adenohipofisis (Morgan, 1980). Selanjutnya dilaporkan oleh Wentworth dan Hussein (1985), bahwa kortikosteron dalam serum kalkun meningkat pada hari ke tujuhbelas dan delapan belas masa inkubasi dan berfluktuasi pada hari ke sembilan belas- dua puluh, hari selanjutnya meningkat sampai hari ke dua puluh delapan, kemudian menetas di samping itu juga dilakukan bahwa pemberian kortikosteron pada hari ke dua puluh enam masa inkubasi dapat meningkatkan daya tetas.

2.4 Stres dan Respons Ketahanan Tubuh

Bagaimana sebenarnya respons non spesifik di timbulkan oleh stresor belum diketahui secara pasti . Yang pasti adalah rangsangan di teruskan ke pusat berupa impuls saraf, substansi kimiawi atau pemecahan metabolisme tertentu. Tetapi ada dua integrator yang penting yaitu sistem hormonal dan susunan saraf. Pars anterior glandula pituitari dan korteks adrenal memegang peranan yang penting dalam koordinasi pertahanan organisme menghadapi stres (Hardiman, 1988; Rose, 1981).

Ternak unggas mudah sekali mengalami stres, khususnya DOC (Day Old Chicken). Kondisi yang masih lemah disertai dengan keadaan bulu yang belum sempurna memungkinkan DOC mudah mengalami stres panas bila terjadi kesalahan dalam pengaturan suhu. Ayam pedaging sampai umur satu minggu , suhu normal dalam brooder yaitu 35 derajat Celcius (Yahya, 1991).

Perlakuan pemberian panas yang lebih tinggi dari suhu normal akan menstimulir saraf otak yang berkumpul pada media hipotalamus untuk aktif mengeluarkan *Cortico Release Hormon (CRH)*. CRH di transport melalui pembuluh portal hipofisa ke hipofisa anterior, yang mengaktifkan sekresi *Adreno Corticotropin Hormon (ACTH)*. Didalam sirkulasi, ACTH yang meningkat berpengaruh pada korteks adrenal bagian fasikulata yang lebih peka terhadap peningkatan ACTH untuk menghasilkan hormon steroid berupa hormon glukokortikoid. Selama stres yang panas, jumlah ACTH yang disekresikan oleh hipofisa anterior melebihi jumlah ACTH yang diperlukan untuk memproduksi secara maksimal glukosteroid . Pengeluaran tidak normal dari glukokortikoid dalam sirkulasi akibat pengaruh panas , menurunkan jumlah sel

eosinofil, basofil, limfosit tetapi jumlah sel netrofil akan meningkat sedangkan jumlah sel monosit dapat meningkat atau menurun (Ganong, 1980; Mitruka dan Rowsley, 1981).

Stresor melalui sistem hipotalamus-pituitari anterior endokrin akan meningkatkan sekresi kortikosteroid dalam darah. Hormon tersebut mempunyai reseptor pada sel limfosit, sehingga akan merusak sel dan menghambat produksi beberapa macam interleukin, berakibat terjadi respons terhadap imunogen yang masuk dalam tubuh (Mc.Conce dan Shelby, 1995).

Menurut Setyawan (1996), stres dapat dikategorikan sebagai modulator sistem imun, karena pada kondisi stres tubuh merespons stresor tersebut dengan memproduksi beberapa hormon, neuropeptida dan sitokin. Adanya hormon adrenokortikoid dapat mengakibatkan penekanan pada sistem imun.

Fenomena stres terhadap respons ketahanan tubuh dapat menggambarkan bahwa peningkatan kortisol dan katekolamin pada kondisi stres dapat mengakibatkan penurunan ketahanan tubuh. Pemaparan kortisol tersebut dapat mempengaruhi hambatan sekresi IL-1 dan IL-2 serta menurunkan sintesis imunoglobulin, sedangkan katekolamin diketahui dapat menekan aktivitas dan fungsi Th (Putra, 2000).

Kondisi stres dapat mempengaruhi mekanisme sistem imun seluler dan humoral pada manusia maupun pada hewan coba. Akibat yang ditimbulkan yaitu adanya penurunan aktivitas respons terhadap mitogen, penurunan fungsi sitotoksik mediated limfosit, menurunkan aktivitas *delayed hypersensitivity* dan menekan respons antibodi (Ader, 1991). Respon imun seluler diawali dengan pengolahan epitop (antigen) dan presentasi oleh APC (*Antigen Presenting Cell*) baik oleh makrofag dan sel B melalui

sIg tanpa bantuan makrofag dapat langsung berinteraksi dengan epitop (dalam hal ini sel B berfungsi sebagai APC). Proses selanjutnya makrofag mempresentasikan antigen ke permukaan guna dikenali dan terjadi interaksi oleh sel Th yang mempunyai TcR (*T Cell Reseptor*) dan molekul MHC klas II pada permukaan dinding sel APC, sehingga interaksi ini dapat memberikan sinyal beberapa molekul aksesori yang berada di permukaan dinding sel Th dan APC, sinyal tersebut antara lain makrofag mensekresikan IL-12, dimana ikatan IL-12 dengan sel Th (*Naïve*) yang teraktivasi akan mengubah sel T menjadi sel Th-1, yang dapat merangsang sekresi IL-2 yang berfungsi untuk proliferasi sel Th-1, IFN-gamma dan TNF-beta yang berfungsi untuk mengaktivasi makrofag lain yang nantinya juga mensekresikan sitokin yang dapat berfungsi sebagai pembunuh epitop yang masuk. Sedangkan epitop yang dipresentasikan melalui sel B yang diikat oleh MHC klas II akan dapat dikenali dan diikat oleh TcR pada permukaan sel Th naïve, interaksi ini akan memberikan sinyal yang berakibat sel Th naïve mensekresikan IL-4 dan menyebabkan Th-naïve berubah menjadi sel Th-2 yang dapat mensintesis dan mensekresi IL-4 yang berfungsi untuk proliferasi, IL-4, IL-5, IL-6 yang berfungsi didalam diferensiasi menjadi sel plasma yang nantinya dapat memproduksi imunoglobulin (Golsby, 2000).

Respons humoral diawali dengan diferensiasi sel-B menjadi populasi sel plasma yang memproduksi dan melepaskan antibodi spesifik kedalam darah, disamping membentuk sel-B memory. Supaya limfosit B berdiferensiasi dan membentuk antibodi diperlukan sel Th dan keseimbangan produksi antibodi diatur oleh sel Ts (*supressor*) (Abbas, 1994; Kresno,1996).

2.4 Pendekatan Psikoneuroimunologi Pada Stres Transportasi

Hubungan antara sistem kekebalan tubuh dengan stres akibat transportasi belum banyak dilakukan penelitian dalam bidang imunologi. Berdasarkan perkembangan ilmu imunologi menunjukkan bahwa ada dua sistem ketahanan tubuh yang terjadi dalam tubuh manusia maupun hewan yaitu sistem imun alami dan sistem imun adaptif. Imunitas alami merupakan imunitas yang ditimbulkan oleh rintangan anatomik, fisiologik, fagositik dan inflamasi. Imunitas adaptif terdiri dari respons humoral dan respons seluler (Goldsby, 2000; Putra, 2001). Beberapa paradigma yang telah dikenal dalam bidang imunologi yaitu mulai dengan morfologi, morfofungsi dan terakhir perilaku, dalam hal ini dapat dilihat pada perkembangan paradigma Th-1 dan Th-2 yang dibedakan berdasarkan perubahan perilaku dalam mensekresi sitokin sesuai dengan stresor yang dihadapi (Putra, 2001).

Perubahan biologis sebagai bentuk respons stres diawali oleh persepsi atas rangsang yang mengancam atau merusak (stresor) dalam pikiran orang yang mengalami stres. Respons neuroendokrin pada kondisi stres terdiri atas rangsang simpatis pada medula adrenal untuk mengeluarkan katekolamin dan rangsang yang terjadi pada pituitari dapat mensekresi *Adrenocorticotropic hormone (ACTH)* yang dapat merangsang korteks adrenal untuk menghasilkan kortisol, yang berfungsi dalam proses metabolik sedangkan katekolamin dan kortisol dapat menekan respons sistem imun. Monosit, makrofag dan sel T CD4, pada permukaan dinding sel mempunyai reseptor adrenergik dan serotoninerjik sebagai reseptor terhadap ACTH, CRF, GH,

dan beberapa steroid (Mc Cance, 1994), sehingga neuroendokrin mempunyai jalur aktivasi atau interaksi terhadap modulasi sel imunokompeten pada sistem imun.

Putra (1999), mengatakan bahwa istilah psikoneuroimunologi didasarkan atas interaksi dan transaksi (coping) terhadap stresor dan sistem imun. Konsep psikoneuroimunologi di kembangkan berdasarkan atas keterkaitannya pada tiga konsep yaitu konsep *behavior*, konsep neuroendokrin, dan konsep imunologi. Putra (1999), menyebutkan bahwa psikoneuroimunologi adalah ilmu yang mempelajari interaksi antara psiko, otak bersama sistem saraf pusat, dan sistem pertahanan tubuh dalam melawan infeksi dari luar serta morfofungsi sel menjadi ganas, fokus konsep psikoneuroimunologi adalah modulasi sistem imun yang mengalami stres sebagai respon terhadap berbagai bentuk stresor.

Stresor yang berlangsung terus menerus dan berlangsung lama dapat berpengaruh buruk terhadap kesehatan tubuh, karena terjadi peningkatan kadar glukokortikoid, epinefrin, dan norepinefrin. Respons ketahanan tubuh dapat dikendalikan melalui titik tangkap sistem saraf pusat, aktivitas rangsang pada sistem saraf pusat akan menimbulkan sekresi beberapa neurotransmitter neuropeptida, dan hormon sebagai reaksi adaptasi (Setyawan, 1996). Stresor dapat memodulasi sistem imun baik pada tingkat organ, sel maupun tingkat molekul atau gen melalui jalur hipotalamus-pituitari- adrenalis dengan sistem ketahanan tubuh merupakan bagian dari mekanisme homeostasis tubuh, disamping itu pada individu tingkat tinggi individu, *behavior*, *coping style*, *emotional state* juga berperan pada modulasi fungsi sistem imun (Putra, 2001).

Dikenal ada tiga tahap respons individu dalam menerima stresor, yang dikenal sebagai *general adaptation syndrome* (GAS), pertama adalah *alarm state*, dimana stresor mulai memicu sistem saraf, sehingga kelenjar pituitari dan sistem saraf mulai bereaksi, dalam hal ini terjadi pengalihan sistem pertahanan tubuh. Kedua adalah, *the stage of resistance or adaptation* dimulai dengan reaksi dari hormon kortisol dari kelenjar adrenal, norepinefrin dan epinefrin sehingga mobilisasi sistem pertahanan tubuh berjalan terus. Ketiga *exhaustion stage*, akibat stres yang terus menerus, dan adaptasi yang tidak berjalan dengan baik, akan mengakibatkan terjadinya gangguan homeostasis dan modulasi pada sel imunokompeten. Akibat lebih lanjut terjadi penurunan respon imun (Mc Cance, 1994). Berbagai penelitian terhadap sel yang mengalami stres ditemukan adanya *stress protein* sebagai bahan yang mengisyaratkan stres yang dikenal sebagai *stress signaling substances*. Bila sel yang mengalami stres tersebut adalah sel imunokompeten, seperti sel limfosit B, sel limfosit T, makrofag, maka sistem imun akan merasakan pengaruh stres tersebut, selanjutnya dapat berakibat terjadi modulasi sistem imun (Putra, 2001).

Menurut Putra (1998), tidak semua individu mempunyai reaksi terhadap stres yang sama, sehingga suatu keadaan dimana stresor yang diterima akan ditanggapi oleh tubuh sesuai dengan bentuk stresor yang diberikan. Adaptasi terhadap stresor tersebut dikenal sebagai *coping*. Mekanisme coping penting dalam menimbulkan efek atau pengaruh stresor pada sistem imun, coping sebagai bagian sentral utama kemampuan individu terhadap ketenangan, ketahanan tubuh dan daya penolakan terhadap gangguan atau serangan suatu penyakit baik yang bersifat psikis atau fisik. Mekanisme

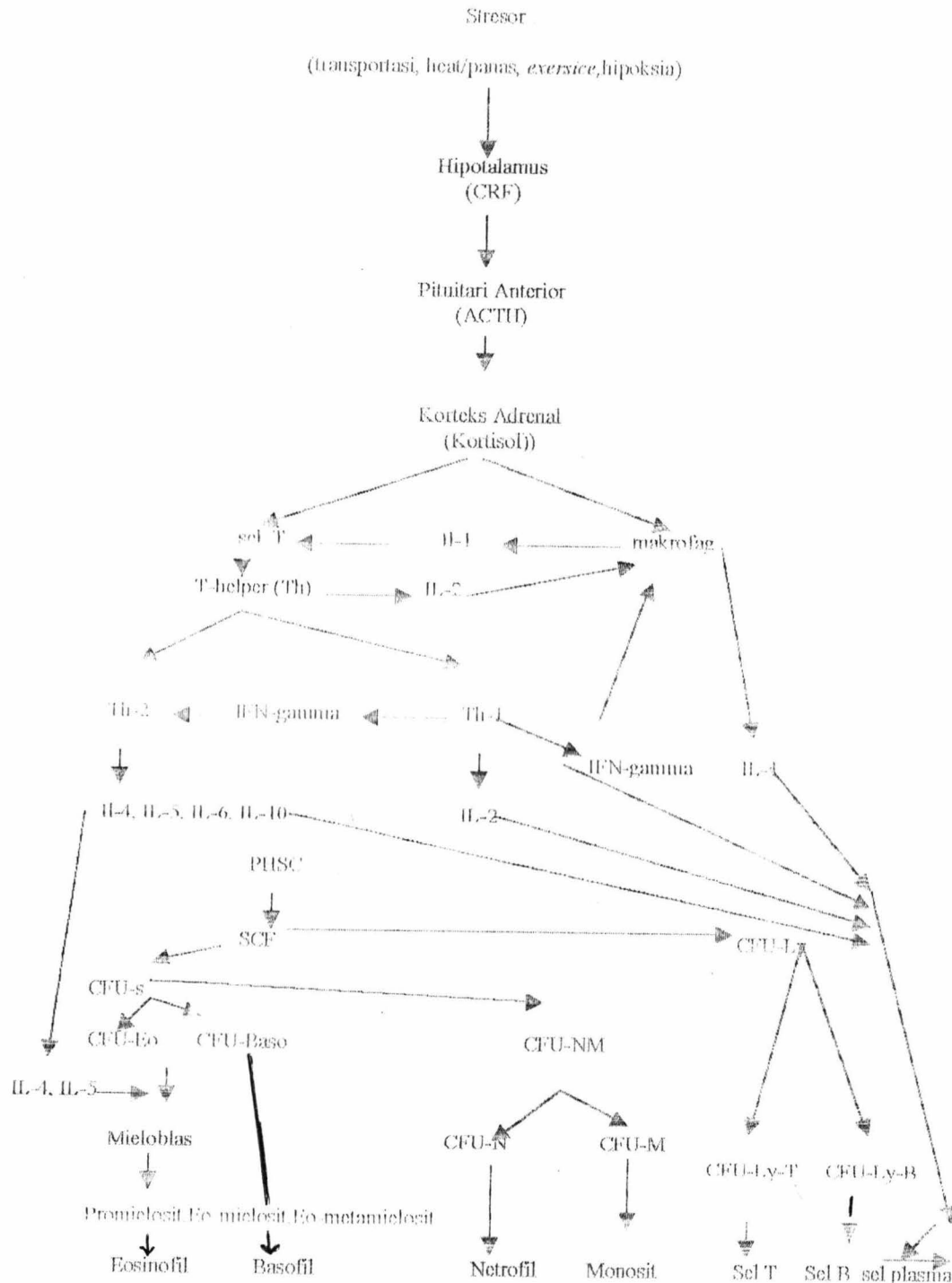
coping dapat dibentuk melalui proses pembelajaran atau *memory* sehingga kemampuan coping dapat ditingkatkan efektivitasnya pada individu yang mendapatkan peningkatan stres, akibat pengolahan coping yang baik diharapkan tubuh individu membentuk sistem imun yang baik dan dapat mencegah bahkan meniadakan epitop atau benda asing yang masuk kedalam tubuh sehingga menimbulkan penyakit maupun kondisi yang patologis.

Selama stres panas, *exercise* dan keadaan hipoksia, jumlah hormon ACTH yang disekresikan oleh hipofisa anterior melebihi jumlah ACTH yang diperlukan untuk memproduksi secara maksimal glukosteroid. Pengeluaran tidak normal dari glukokortikoid dalam sirkulasi akibat pengaruh panas, *exercise* dan hipoksia akan menurunkan jumlah eosinofil, basofil dan limfosit. Peningkatan glukosteroid juga menurunkan ukuran nodus limfatikus dari timus, hal ini disebabkan adanya proses penghambatan mitosis dan meningkatnya destruksi limfosit (Ganong, 1980; Rahardjo, 2003).

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

Kerangka Konseptual Penelitian



Keterangan kerangka konseptual

Transportasi pada ayam pedaging merupakan stresor, dan jika dilakukan transportasi dimana terjadi keadaan *heat stress*, *exersice*, hipoksia akan terjadi peningkatan sekresi *Corticotroipin Reeleasing Factor (CFR)* oleh hipotalamus menyebabkan kelenjar pituitari anterior melepaskan hormon *Adrenocorticotroipin hormon (ACTH)*. ACTH merangsang korteks adrenal untuk melepaskan hormon kortisol. Pada kondisi stres ini kadar kortisol di darah tinggi dan sel limfosit yang mempunyai reseptor untuk kortisol, maka kortisol menekan (imunostresor) sistem imun (Norris, 1980).

Berdasarkan pada macam sitokin yang diproduksi, maka limfosit T yang terbagi menjadi T-helper(Th), kemudian Th terbagi atas Th1 yang memproduksi IFN-gamma dan IL-2 sedangkan Th2 yang memproduksi IL-4, IL-5, IL-6 dan IL-10. Dalam keadaan normal limfosit Th1 dan Th2 saling seimbang. Kortisol yang tinggi akan menekan sel T dalam memproduksi IL-2 dan makrofag untuk memproduksi IL-1, sehingga terjadi gangguan keseimbangan IFN-gamma. Keadaan ini menyebabkan gangguan maturasi sel limfosit B untuk menjadi sel plasma sehingga produksi IgG menurun (Mc Conce, 1994) Interleukin-4, IL-5, IL-6 yang diproduksi oleh Th2 karena dengan kondisi stres dimana kadar kortisol tinggi akan menurun, sedangkan il-4, Il-5 dan Il-6 diperlukan oleh sel eosinofil dan sel basofil untuk proliferasi, keadaan ini menyebabkan jumlah sel eosinofil, sel basofil akan menurun (Clancy, 1998).

Hipotesis

Ada perbedaan respon imun yang dicerminkan oleh peningkatan kadar kortisol, penurunan sel eosinofil, sel basofil dan sel limfosit serta peningkatan sel netrofil dan sel monosit akibat transportasi selama 5 jam pada siang dan malam hari.

BAB 4

MATERI DAN METODE PENELITIAN

BAB 4

MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

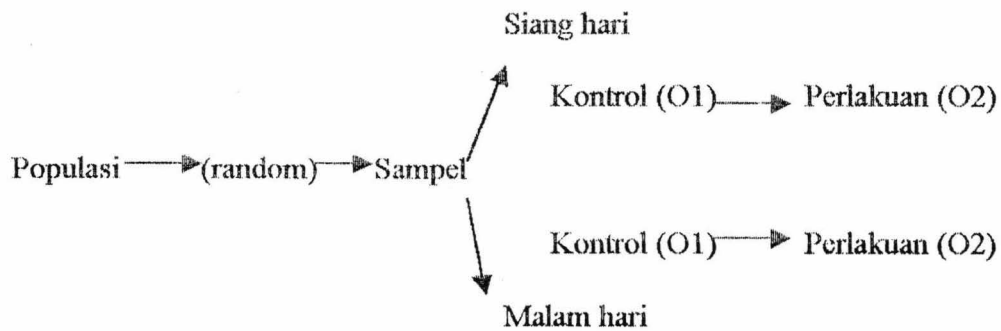
Jenis penelitian eksperimental, sehingga baik sampel –kontrol maupun perlakuan telah terkendali, terukur, dan pengaruh perlakuan dapat lebih dipercaya. Penelitian ini selain dimaksudkan untuk mengetahui perbedaan pengaruh transportasi selama 5 jam pada waktu siang dan malam hari terhadap modulasi respons imun yang dicerminkan oleh perubahan – penurunan sel eosinofil, basofil dan limfosit serta peningkatan sel neutrofil dan monosit, juga dimaksudkan untuk menjelaskan mekanisme modulasi respons imunnya. Penelitian ini menggunakan paradigma psikoneuroimunologi berkonsep sel imunokompeten.

4.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan *the Factorial pretest-posttest design*, yaitu secara random dilakukan pengambilan darah hewan penelitian untuk mengetahui apakah terdapat modulasi respons imun dan peningkatan kadar kortisol darah pada kondisi stres akibat stresor transportasi (Zainuddin, 2000). Secara random, kelompok ayam menjadi dua kelompok, yaitu kelompok malam dan kelompok siang hari, kemudian dari masing-masing kelompok tersebut dibagi lagi menjadi kelompok kontrol (K) dan kelompok perlakuan (P). Pengukuran kadar kortisol darah dan hitung jenis leukosit (*differential count*) dari darah hewan penelitian pada keadaan awal (O1), kepada kelompok hewan penelitian tersebut diberi perlakuan yaitu dilakukan transportasi selama 5 jam pada waktu siang hari jam 10.00-jam 15.00 (Ps) dan kelompok malam hari yaitu jam 22.00- jam 03.00 (Pm), kemudian kadar kortisol darah dan hitung jenis

lekosit (*differential count*) diukur lagi (O2). Bandingkan (O1) dan (O2) dari masing-masing kelompok siang dan kelompok malam hari, bandingkan pula antara (O1) siang hari dan (O1) malam hari dan (O2) siang hari dan (O2) malam hari dengan uji Faktorial (Soedigdo, 1977; Steel, 1980 ; Weiss dan Hassett, 1982).

4.3 Bagan Rencana Penelitian



4.4 Kerangka Operasional Penelitian

Hewan penelitian diambil dari populasi hewan secara random, semua sampel hewan penelitian mempunyai kesempatan yang sama untuk mendapat perlakuan transportasi selama 5 jam.

4.5 Sampel Penelitian

Penentuan besar sampel berdasar atas penelitian pendahuluan dengan menggunakan rumus Higgins dan Klinbaum (1985) sebagai berikut :

$$N = \frac{1}{1-f} \times \frac{2(Z_a + Z_b)^2 - S_c^2}{(X_c - X_t)^2}$$

Keterangan :

N= besar sampel

Xc = mean kelompok kontrol

Xt = mean kelompok perlakuan.

Sc = deviasi standar kelompok kontrol

F = proprorsi kegagalan

Za = 1,96

Zb = 1,28

Sehingga diperoleh besar sampel sebagai berikut :

Harga mean penghitungan penghitungan kadar kortisol sebagai berikut :

Kontrol	Perlakuan
30 nmol/L	35 nmol/L
25 “	31 “
26 “	32 “
24 “	31 “
19 “	30 “

$$X = 24,8 \text{ nmol/L} \quad X = 31,8 \text{ nmol/L}$$

$$S = 3,96$$

$$N = \frac{1}{1 - 0,05} \times \left| \frac{2(1,96 + 1,28)^2 - 3,96^2}{(24,8 - 31,8)^2} \right|$$

$$= 7,07 \text{ dibulatkan menjadi } 8$$

Sampel penelitian adalah hewan coba 20 ekor ayam pedaging jantan (broiler) CP 707, yang dipelihara selama 6 minggu dengan berat badan berkisar 1600- 1750 gram. Ayam tersebut dibagi secara random menjadi dua kelompok, kelompok pertama digunakan sebagai kelompok siang hari dan kelompok kedua sebagai kelompok malam hari. Dari masing-masing kelompok dibagi lagi menjadi kelompok ayam perlakuan dan kelompok lainnya sebagai kelompok kontrol.

4.6 Variabel Penelitian

4.6.1 Variabel Bebas

Sebagai variabel bebas adalah stresor berupa transportasi dengan melakukan perjalanan pada waktu siang hari (jam 10.00-15.00) dan malam hari (jam 22.00-03.00). Dipilih stresor berupa transportasi pada waktu siang hari di sebabkan karena banyak penelitian yang telah dilakukan dengan menggunakan stres panas (*heat stress*), telah menunjukkan bukti yang tepat dengan menunjukkan akurasi (Hill, 1983; Hoson, 1996 dan Poultry Indonesia, 1989). Sebagai pembanding dipilih stresor berupa transportasi pada waktu malam hari.

4.6.2 Variabel Tergantung

Sebagai variabel tergantung yaitu :

- a. Perubahan kadar kortisol serum, sebagai indikator terjadinya kondisi stres
- b. Perubahan respons imun dengan melihat perubahan hitung jenis leukosit, yaitu terjadinya penurunan eosinofil, basofil dan limfosit serta peningkatan netrofil dan monosit.

4.6.3 Variabel Kendali

Sebagai variabel kendali yaitu :

- a. Hewan coba ayam pedaging (broiler) jantan CP 707, umur 6 minggu
- b. Kandang yang telah ditentukan sesuai dengan teknis pemeliharaan ayam broiler
- c. Pakan pelet – butiran, komposisi makanan dan minum air PDAM
- c. Satu orang yang memelihara, membersihkan kandang, memberi makan-minum
- d. Waktu transportasi, malam hari jam 22.00-03.00 dan siang hari jam 10.00-13.00

Komposisi makanan yang diberikan sesuai dengan pelet butiran produksi Charoen Pokphand Indonesia, produksi BR 1 CP 511 PT.

Komposisi makanan standard per 10 kg :

Tepung jagung 2,55 kg

Tepung terigu 3,47 kg

Tepung kacang ijo 1,43 kg

Tepung ikan 1,63 kg

Lemak 0,82 kg

Vitamin 0,05 kg

4.7 Alat Stresor Transportasi

Untuk model stresor transportasi digunakan alat pengangkutan berupa kendaraan mobil pick-up terbuka, kandang ukuran 1 meter X 1 meter untuk 5 ekor ayam. Sebagai jangka waktu transportasi dilakukan perjalanan selama 5 jam pada waktu malam hari jam 22.00-03.00 dan siang hari jam 10.00 – 15.00

4.8 Prosedur Penelitian

Setelah ayam dipelihara dan diadaptasikan selama 6 minggu di kadang hewan peliharaan (desa Wlingi-Blitar), 20 ekor ayam pedaging jantan CP 707 umur 6 minggu dilakukan pengambilan darah melalui vena brachialis sebanyak 5 ml untuk dilakukan

uji kadar kortisol (teknik Radio Immuno Assay) dan hitung jenis lekosit (hapusan darah dan di cat dengan *Wright stain*). Setelah itu dilakukan perlakuan berupa stresor transportasi selama 5 jam pada hewan kelompok perlakuan, setelah dalam jangka waktu 5 jam transportasi untuk kelompok hewan perlakuan diambil darahnya lagi untuk pemeriksaan yang sama.

4.9 Pemeriksaan Kadar Kortisol

Prinsip pengujian pemeriksaan kadar kortisol darah (serum) adalah menghitung jumlah kortisol berlabel I-125 yang terikat pada *anti Chicken Cortisol* yang dilapiskan (coating) pada partikel padat (dinding tabung reaksi). Pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga-RSUD Dr. Soetomo dengan cara kerja sebagai berikut :

- a. Serum ayam sebanyak 25 ul dituangkan kedalam tabung reaksi yang sudah dilapisi *Anti Chicken Cortisol*, maka kortisol serum ayam akan terikat pada *Anti Chicken Cortisol* di dinding tabung reaksi tersebut.
- b. Tambahkan 1 ml *Cortiso Chicken* yang berlabel I-125, maka *Cortisol Chicken* berlabel I-125 ini akan terikat pada *Anti Chicken Cortisol* yang belum terikat pada kortisol serum ayam (sisanya).
- c. Inkubasi dalam *waterbath* pada suhu 37 derajat Celcius selama 45 menit.
- d. Pemisahan dan pencucian.
- e. Penghitungan jumlah kortisol dengan alat *Gamma Counter* yang di hitung adalah *Cortisol Chicken* berlabel I-125 yang terikat pada *Anti Chicken Cortisol* di dinding tabung reaksi. Semakin rendah Kortisol I-125 yang terhitung berarti semakin tinggi kadar kortisol serum ayam.

4.10 Pembuatan hapusan Darah dan Pengecatan

Pada ujung objek gelas ditetaskan dua tetes darah ayam , dengan gelas penutup darah tersebut digeser dengan kemiringan 30 derajat ke ujung gelas objek sehingga terjadi hapusan darah yang tipis. Biarkan kering di udara terbuka.

Hapusan yang telah kering, di cat dengan *Wright stain* dengan prosedur sebagai berikut:

- a. Pada rak hapusan di tetesi hingga mengena seluruh hapusan darah dengan pewarna Wright, tunggu selama 2 menit.
- b. Teteskan/larutkan dengan *buffer phosphat* dan tunggu selama 15-20 menit sambil meniup hingga tercampur dengan baik.
- c. Cuci dengan air kran hingga bersih, lalu keringkan di udara terbuka.
- d. Periksa di bawah mikroskop dengan pembesaran okuler 100 x (objektif 10 x 100) dengan minyak immerson, hitung jenis-jenis lekosit hingga jumlahnya 100 (Simmons, 1968).

ANALISA DATA

Uji statistik menggunakan uji Faktorial, dengan menggunakan derajat kepercayaan 95% atau taraf kemaknaan uji (alfa) 0,05 (Steel & Torrie, 1980; Sudjana, 1996)

BAB 5
HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS
HASIL PENELITIAN

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Penelitian

Gambaran umum penelitian ini adalah sebagai berikut : selama bulan Januari sampai dengan bulan Maret 2004 telah dilakukan penelitian terhadap 20 ekor ayam broiler CP 707.

Penelitian tersebut meliputi distribusi jenis kelamin (jantan), umur (6 minggu), waktu transportasi (5 jam) , perlakuan malam hari dan siang hari, kadar kortisol, hitung jenis lekosit (eosinofil, basofil, netrofil, limfosit dan monosit)

Hasil dari penelitian tersebut adalah sebagai berikut :

Dari 20 ekor ayam broiler jantan yang dibagi menjadi kelompok kontrol malam dan kelompok siang hari, dilakukan transportasi selama 5 jam . Sebelum dilakukan transportasi dari masing-masing kelompok diambil darahnya untuk pemeriksaan kortisol sebagai parameter adanya stres dan pembuatan hapusan darah untuk hitung jenis lekosit, dan setelah dilakukan transportasi selama 5 jam pada masing-masing kelompok diambil lagi darahnya untuk dilakukan pemeriksaan yang sama.

Pada pemeriksaan kadar kortisol kelompok perlakuan (setelah dilakukan transportasi selama 5 jam) baik pada kelompok malam hari dan kelompok siang hari, terjadi peningkatan . Terutama pada kelompok siang hari, peningkatan kadar kortisol lebih tinggi dibandingkan kelompok malam hari, seperti yang terlihat sebagai berikut :

Tabel : 5.1 Harga mean dan standar deviasi (SD) hasil penghitungan kadar kortisol pada kelompok kontrol malam perlakuan 1 (AMB1) dan setelah dilakukan transportasi selama 5 jam pada perlakuan malam hari (AMB2).

	Kontrol malam (AMB1)	Perlakuan malam (AMB2)
Kadar kortisol	33,990 + 1,065	38,700 + 1,835

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada baris yang sama berbeda nyata ($p < 0,05$)

Tabel 5.2. : Harga mean dan standar deviasi (SD) hasil penghitungan kadar kortisol Pada kelompok kontrol siang hari (AMB1) dan setelah dilakukan Transportasi selama 5 jam pada kelompok perlakuan siang hari (AMB2)

	Kontrol siang hari (AMB1)	Perlakuan siang (AMB2)
Kadar kortisol	47,380 + 2,995	88, 670 + 2,884

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada baris yang sama berbeda nyata ($p < 0,05$)

Tabel 5.3 : Harga mean dan standar deviasi (SD) hasil penghitungan eosinofil pada kelompok kontrol malam (EOAMB1) dan setelah dilakukan transportasi selama 5 jam pada kelompok perlakuan malam hari (EOAMB2).

	Kontrol malam EOAMB1	Perlakuan Mlm EOAMB2
Eosinofil	5,10 + 0,23	1,20 + 0,25

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada baris yang sama berbeda nyata ($p < 0,05$).

Tabel 5.4 : Harga mean dan standar deviasi (SD) hasil penghitungan eosinofil pada Kelompok kontrol siang hari (EOAMB1) dan setelah dilakukan transportasi selama 5 jam pada kelompok perlakuan siang hari (EOAMB2).

	Kontrol siang(EOAMB1)	Perlakuan siang EOAMB2
Eosinofil	4,30 + 0,30	0,80 + 1,00

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada baris yang sama berbeda nyata ($p < 0,05$).

Tabel 5.5: Harga mean dan standar deviasi (SD) hasil penghitungan basofil kelompok kontrol malam (BAAMB1) dan setelah dilakukan transportasi selama 5 jam pada kelompok perlakuan malam hari (BAAMB2).

	Kontrol malam BAAMB1	Perlakuan Mlm BAAMB2
Basofil	1,00 + 0,21	0,20 + 0,13

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada baris yang sama berbeda nyata ($p < 0,05$).

Tabel 5.6. : Harga mean dan standar deviasi (SD) hasil penghitungan basofil kelompok Kontrol siang hari (BAAMB1) dan setelah dilakukan transportasi selama 5 jam pada kelompok perlakuan siang hari (BAAMB 2).

	Kontrol siang BAAMB1	Perlakuan siang BAAMB2
Basofil	1,10 + 0,28	0,00 + 0,00

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada baris yang sama berbeda nyata ($p < 0,05$).

Tabel 5.7: Harga mean dan standar deviasi (SD) hasil penghitungan netrofil pada kelompok kontrol malam (NETAMB1) dan setelah dilakukan transportasi selama 5 jam pada kelompok perlakuan malam hari (NETAMB2).

	Kontrol Mlm NETAMB1	Perlaku Mlm NETAMB2
Netrofil	26,10 + 0,28	35,30 + 0,78

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada baris yang sama berbeda nyata ($p < 0,05$).

Tabel 5.8 : Harga mean dan standar deviasi (SD) hasil penghitungan netrofil pada Kelompok siang hari (NETAMB1) dan setelah dilakukan transportasi Selama 5 jam pada kelompok perlakuan siang hari (NETAMB2).

	Kontrol siang NETAMB1	Perlaku siang NETAMB2
Netrofil	26,40 + 0,34	35,20 + 0,80

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada baris yang sama berbeda nyata ($p < 0,05$).

Tabel 5.9: Harga mean dan standar deviasi (SD) hasil penghitungan limfosit pada Kelompok kontrol malam hari (LIMAMB1) dan setelah dilakukan Transportasi selama 5 jam pada kelompok perlaku malam hari (LIMAMB2).

	Kontrol Mlm LIMAMB1	Perlaku Mlm LIMAMB2
Limfosit	67,20 + 0,42	60,60 + 0,58

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada baris yang sama berbeda nyata ($p < 0,05$).

Tabel 6.0 : Harga mean dan standar deviasi (SD) hasil penghitungan limfosit pada Kelompok kontrol siang hari (LIMAMB1) dan setelah dilakukan Transportasi selama 5 jam pada kelompok siang hari (LIMAMB2)

	Kontrol siang LIMAMB1	Perlaku siang LIMAMB2
Limfosit	67,40 + 0,45	59,60 + 0,92

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada baris yang sama berbeda nyata ($p < 0,05$).

Tabel 6.1: Harga mean dan standar deviasi (SD) hasil penghitungan monosit kelompok Kontrol malam (MOAMB1) dan setelah dilakukan transportasi selama 5 jam pada kelompok perlakuan malam hari (MOAMB2).

	Kontrol Mlm (MOAMB1)	Perlaku Mlm (MOAMB2)
Monosit	0,50 + 0,17	2,70 + 0,26

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada baris yang sama berbeda nyata ($p < 0,05$).

Tabel 6.2 : Harga mean dan standar deviasi (SD) hasil penghitungan monosit kelompok Kontrol siang hari (MOAMB1) dan setelah dilakukan transportasi selama 5 Jam pada kelompok perlakuan siang hari (MOAMB2)

	Kontrol siang (MOAMB1)	Perlaku siang (MOAMB2)
Monosit	0,60 + 0,27	3,40 + 0,37

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada baris yang sama berbeda nyata ($p < 0,05$).

5.2 Analisis Hasil Penelitian

Hasil pengukuran variabel pada penelitian ini meliputi penghitungan kadar kortisol dengan metode *Radio Immuno Assay* (RIA) dan penghitungan hitung jenis leukosit (eosinofil, basofil, netrofil, limfosit dan monosit) dengan pewarnaan Wright stain dan diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 100X10.

5.2.1 Analisis kadar kortisol

Pada analisi Faktorial dengan $p < 0,05$ terdapat bahwa:

1. Terdapat perbedaan yang sangat bermakna antara kelompok kontrol malam hari dan kelompok perlakuan malam setelah transportasi selama 5 jam pada malam hari
2. Terdapat perbedaan yang sangat bermakna antara kelompok kontrol siang hari dan kelompok perlakuan siang hari setelah transportasi selama 5 jam pada siang hari.
3. Terdapat perbedaan yang sangat bermakna baik pengaruh faktor malam hari maupun siang hari dengan interaksi pengaruh perlakuan transportasi selama 5 jam

(lihat tabel : 6.3).

Sedangkan harga mean kadar kortisol kelompok kontrol malam hari dibandingkan kelompok perlakuan malam hari terdapat peningkatan setelah dilakukan transportasi selama 5 jam , dan harga mean kelompok kontrol siang hari dibandingkan kelompok perlakuan siang hari terdapat peningkatan setelah dilakukan transportasi selama 5 jam (lihat tabel : 5.1 dan tabel :5.2).

Tabel 6.3 Hasil analisis faktorial kortisol antara kelompok perlakuan malam dan siang hari dan waktu (transportasi selama 5 jam).

Test of Within-Subjects Contrasts

Measure : MEASURE 1

Source	FWaktu	F	Sig
Fwaktu	Linear	7735.803	.000
Fwaktu *	Linear	4891.895	.000
Error(Fwaktu) Linear			

Test of Between-Subjects Effects

Measure : Measure 1

Transformed Variable : Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig
Intercept	108930.969	1	10666.899	10666.899	.000
PERLAKU	10036.224	1	10036.224	982.782	.000
Error	183.817	18	10.212		

5.2.2 Analisis jumlah eosinofil

Pada analisis multivariate dengan $p < 0,05$ terbukti bahwa :

1. Terdapat perbedaan sangat bermakna antara kelompok kontrol malam hari dan Kelompok perlakuan malam hari setelah dilakukan transportasi selama 5 jam
2. Terdapat perbedaan sangat bermakna antara kelompok kontrol siang hari dan Kelompok perlakuan siang hari setelah dilakukan transportasi selama 5 jam
3. Tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara pengaruh interaksi malam dan siang hari dengan pengaruh faktor transportasi 5 jam
4. Terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol malam hari dibandingkan kelompok kontrol siang hari, dan antara kelompok perlakuan malam hari dibandingkan kelompok perlakuan siang hari (lihat tabel ; 6.4)

Sedangkan harga mean kelompok kontrol malam hari dibandingkan harga mean kelompok perlakuan malam hari (setelah dilakukan transportasi selama 5 jam) terjadi penurunan, demikian pula harga mean kelompok kontrol siang hari dibandingkan harga mean kelompok perlakuan siang hari terjadi penurunan (lihat tabel 5.8)

Tabel : 6.4 Hasil analisis faktorial eosinofil antara waktu (transportasi) dan perlakuan Kelompok malam dan siang hari.

Test of Within-Subjects Contrasts

Measure : MEASURE 1

Source	Waktu	F	Sig
Waktu	Linear	230.299	.000
Waktu*	Linear	.673	.423
Error(Waktu)	Linear		

Test of Between-Subjects Effects

Measure : MEASURE 1
Transformed Variable : Average

Source	Type III SUM of Squares	df	Mean Square	F	Sig
Intercept	324.900	1	324.900	433.200	.000
Perlakuan	3.600	1	3.600	4.800	.042
Error	13.500	18	.750		

5.2.3 Analisis jumlah basofil

Hasil analisis Faktorial dengan $p < 0,05$ membuktikan bahwa :

1. Terdapat perbedaan yang sangat bermakna antara kelompok kontrol malam hari dibandingkan dengan kelompok perlakuan malam hari setelah dilakukan transportasi selama 5 jam
2. Terdapat perbedaan yang sangat bermakna antara kelompok kontrol siang hari dibandingkan dengan kelompok perlakuan siang hari setelah dilakukan transportasi selama 5 jam.
3. Tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara pengaruh faktor perlakuan malam dan siang hari dengan pengaruh faktor waktu (transportasi selama 5 jam)

(lihat tabel : 6.5).

Sedangkan harga mean kelompok kontrol malam hari dibandingkan harga mean kelompok perlakuan malam hari (setelah dilakukan transportasi selama 5 jam) terdapat penurunan , demikian pula harga mean kelompok kontrol siang hari dibandingkan kelompok perlakuan siang hari (setelah dilakukan transportasi selama 5 jam) terdapat penurunan (lihat tabel : 5.5 dan tabel :5.6).

Tabel : 6.5 Hasil analisis faktorial basofil antara kelompok perlakuan malam dan siang hari dan waktu (transportasi)

Test of Within-Subjects Contrasts

Measure : MEASURE 1

Source	Waktu	F	Sig
Waktu	Linear	25.992	.000
Waktu *	Linear	.648	.431
Error(Waktu)	Linear		

Test of Between-Subjects Effects

Measure : MEASURE 1

Transformed Variable : Average

Source	Type III SUM of Square	df	Mean Square	F	Sig
Intercept	13.225	1	13.225	38.088	.000
Perlakuan	2.500E-02	1	2.500E-02	.072	.791
Error	6.250	18	.347		

5.2.4 Analisis jumlah netrofil

Hasil analisis Faktorial dengan $p < 0,05$ membuktikan bahwa :

1. Terdapat perbedaan yang sangat bermakna antara kelompok kontrol malam hari
Dibandingkan kelompok perlakuan malam hari (setelah dilakukan transportasi selama 5 jam)
2. Terdapat perbedaan yang sangat bermakna antara kelompok kontrol siang hari
Dibandingkan kelompok perlakuan siang hari (setelah dilakukan transportasi selama 5 jam).
3. Tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara pengaruh faktor perlakuan malam hari dan siang hari dengan pengaruh faktor waktu (transportasi selama 5 jam) (lihat tabel : 6.6).

Sedangkan harga mean kelompok kontrol malam hari dibandingkan kelompok perlakuan malam hari (setelah dilakukan transportasi selama 5 jam) terdapat peningkatan, dan harga mean kelompok kontrol siang hari dibandingkan dengan kelompok perlakuan siang hari (setelah dilakukan transportasi selama 5 jam) terdapat peningkatan (lihat tabel : 5.7 dan tabel : 5.8).

Tabel : 6.6 Hasil analisis faktorial netrofil antara kelompok perlakuan malam hari dan Kelompok perlakuan siang hari dan waktu (transportasi selama 5 jam).

Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure : MEASURE 1

Source	Waktu	F	Sig
Waktu	Linear	334.259	.000
Waktu	Linear	.333	.571
Error(Waktu)	Linear		

Test of Between-Subjects Effects

Measure : MEASURE 1

Transformed Variable : Average

Source	Type III SUM of Squares	Df	Mean Square	F	Sig
Intercept	38440.000	1	38440.000	8605.970	.000
Perlakuan	3.600	1	3.600	.806	.381
Error	80.400	18	4.467		

5.2.5 Analisis jumlah limfosit

Hasil analisis Faktorial dengan $p < 0,05$ membuktikan bahwa :

1. Terdapat perbedaan yang sangat bermakna antara kelompok kontrol malam hari dan Kelompok perlakuan malam hari (setelah dilakukan transportasi selama 5 jam)
2. Terdapat perbedaan yang sangat bermakna antara kelompok kontrol siang hari dan Kelompok perlakuan siang hari (setelah dilakukan transportasi selama 5 jam).
3. Tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara pengaruh faktor perlakuan malam hari dan siang hari dengan pengaruh faktor waktu (transportasi selama 5 jam) (lihat tabel : 6.7).

Sedangkan harga mean kelompok kontrol malam hari dibandingkan kelompok perlakuan malam hari (setelah dilakukan transportasi selama 5 jam) terdapat penurunan, dan harga mean kelompok kontrol siang hari dibandingkan kelompok perlakuan siang hari (setelah dilakukan transportasi selama 5 jam) terdapat penurunan (lihat tabel : 5.9 dan tabel : 6.0).

Tabel : 6.7 Hasil analisis faktorial limfosit antara kelompok perlakuan malam hari Dan siang hari dan waktu (transportasi selama 5 jam).

Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure: MEASURE 1

Source	Waktu	F	Sig
Waktu	Linear	133.303	.000
Waktu *	Linear	.926	.349
Error(Waktu) Linear			

Tests of Between-Subjects Effects

Measure : MEASURE 1

Transformed Variable : Average

Source	Type III SUM of Square	df	Mean Square	F	Sig
Intercept	162307.600	1	162307.600	41264.644	.000
Perlakuan	1.600	1	1.600	.407	.532
Error	70.800	18	3.933		

5.2.6 Analisis jumlah monosit

Hasil analisis Faktorial dengan $p < 0,05$ membuktikan bahwa :

1. Terdapat perbedaan yang sangat bermakna antara kelompok kontrol malam hari dan perlakuan malam hari (setelah dilakukan transportasi selama 5 jam)
2. Terdapat perbedaan yang sangat bermakna antara kelompok kontrol siang hari dan perlakuan siang hari (setelah dilakukan transportasi selama 5 jam)
3. Tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara pengaruh faktor perlakuan malam dan siang hari dengan pengaruh faktor waktu (transportasi selama 5 jam)
(lihat tabel: 6.8).

Sedangkan harga mean kelompok kontrol malam hari dibandingkan dengan kelompok perlakuan malam hari (setelah transportasi selama 5 jam) terdapat peningkatan, dan harga mean kelompok kontrol siang hari dibandingkan kelompok perlakuan siang hari (setelah transportasi selama 5 jam) terdapat peningkatan (lihat tabel : 6.1 dan tabel : 6.2).

Tabel : 6.8 Hasil analisis faktorial monosit antara kelompok perlakuan malam hari dan Siang hari dan waktu (transportasi selama 5 jam).

Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure : MEASURE 1

Source	Waktu	F	Sig
Waktu	Linear	200.893	.000
Waktu *	Linear	2.893	.106
Error(Waktu)	Linear		

Tests of Between-Subjects Effects

Measure : MEASURE 1

Transformed Variable : Average

Source	Type III SUM of Square	df	Mean Square	F	Sig
Intercept	129.600	1	129.600	107.009	.000
Perlakuan	1.600	1	1.600	1.321	.265
Error	21.800	18	1.211		

o

BAB 6 PEMBAHASAN

BAB 6

PEMBAHASAN

Paradigma yang digunakan dalam penelitian ini adalah paradigma psikoneuroimunologi, suatu model berpikir yang berdasarkan atas perubahan biologis, yaitu berupa modulasi respons imun, yang terjadi pada sistem imun yang stres akibat suatu stresor (Putra, 1999). Penelitian ini menggunakan stresor transportasi selama 5 jam, sedangkan perubahan biologis yang diamati adalah modulasi respons imun sel imunokompeten (sel eosinofil, basofil, netrofil, limfosit dan sel monosit), dimana modulasi respons imun tersebut terjadi karena perubahan perilaku sel imunokompeten yang stres (Asnar, 2001 ; Putra, 1999), oleh karena itu konsep yang digunakan adalah sel imunokompeten yang mengalami stres. Hal yang demikianlah penelitian ini dilaksanakan melalui pola berpikir dan berkonsep sel imunokompeten yang stres dan merupakan model berpikir yang tepat untuk menyelesaikan masalah penelitian ini.

Penelitian ini menggunakan analisis statistik Faktorial secara multivariate, hal ini dilakukan mengingat modulasi respons imun merupakan perubahan biologis sistem imun sel imunokompeten yang terjadi akibat interaksi dari variabel-variabel terkait. Variabel tersebut berasal dari kerangka konseptual penelitian yang berdasar atas paradigma psikoneuroimunologi berkonsep sel imunokompeten yang stres. Pengamatan atas kerangka konseptual tampak bahwa modulasi respon imun terjadi secara multivariate. Dengan uji Faktorial multivariate diharapkan penelitian ini dapat membuktikan dan menjelaskan mekanisme modulasi respons imun sel imunokompeten

(sel eosinofil, basofil, netrofil, limfosit dan monosit) akibat pengaruh stresor transportasi selama 5 jam (Abbas, 2000 ; Kresno, 1996 ; Kusningrum, 1990).

Pada penelitian ini kadar kortisol pada ayam yang telah mengalami stresor transportasi selama 5 jam pada kelompok malam dan kelompok siang hari meningkat (lebih tinggi) dibandingkan dengan kelompok kontrol. Sedangkan pada kelompok kontrol siang hari, kadar kortisolnya lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol malam hari. Setelah dilakukan uji statistik dengan Faktorial multivariate perbedaan sangat bermakna pada kelompok ayam yang mengalami stresor transportasi selama 5 jam (kortisol waktu transportasi $p= 0,000$ dan kortisol perlakuan malam dan siang hari $p=0,000$). Kesimpulannya bahwa terdapat perbedaan yang sangat bermakna baik pada kadar kortisol ayam kelompok siang hari dibandingkan ayam kelompok malam hari dan perbedaan yang sangat bermakna pada kelompok ayam yang mengalami stresor transportasi selama 5 jam dibandingkan ayam kelompok kontrol (yang tidak mengalami stresor transportasi). Hasil yang hampir sama juga didapatkan pada penelitian oleh Rahardjo, 2003 yang menunjukkan peningkatan kadar kortisol pada ayam yang mengalami stres. Kadar kortisol terutama pada ayam kelompok siang hari lebih tinggi dibandingkan pada ayam kelompok malam hari, sesuai dengan pernyataan dari Ganong, 1980 dan Hill, 1983 yaitu panas yang lebih tinggi dari suhu normal jumlah ACTH yang disekresikan oleh hipofisa anterior melebihi jumlah ACTH yang diperlukan untuk memproduksi glukokortikoid, sehingga jumlah ACTH yang berlebihan menyebabkan sekresi kadar kortisol juga meningkat. Peningkatan kadar kortisol kelompok ayam yang mengalami stresor transportasi kemungkinan karena keadaan *exercise* dan hipoksia selama transportasi, sesuai pendapat Ceddia, 2000 dan

Sairam, 1998 dimana pengaruh respons stresor tersebut melalui peptida hipotalamus dan pituitari, yaitu *CRF (Corticotropin Releasing Factor)* yang merupakan substansi utama yang merambatkan sinyal stresor dan mengakibatkan aksis *HPA (Hypothalamic Pituitary Adrenocortical)* menjadi aktif berupa peningkatan ACTH yang akan merangsang korteks adrenal untuk meningkatkan sekresi kortisol. Kondisi stres pada ayam, mengakibatkan terjadinya kenaikan yang tidak normal hormon kortisol berakibat perubahan terhadap jumlah dan hitung jenis leukosit (eosinofil, basofil, limfosit) yang mengalami penurunan (Ganong, 1980).

Hasil yang diperoleh pada hitung jenis leukosit pada perlakuan antara malam hari dan siang hari terdapat penurunan jumlah dan perbedaan yang sangat bermakna pada penghitungan jenis sel eosinofil, basofil dan sel limfosit. Sedangkan pada penghitungan sel neutrofil dan sel monosit terdapat peningkatan jumlah dan perbedaan yang sangat bermakna antara perlakuan malam hari dan siang hari dibandingkan dengan kontrol (yang tidak mengalami stresor transportasi). Penurunan yang nyata pada jumlah dan hitung jenis leukosit (sel eosinofil, basofil dan limfosit) dan peningkatan sel neutrofil dan sel monosit disebabkan karena pengaruh hormon kortisol yang dikeluarkan oleh korteks adrenal selama transportasi (Ganong, 1980 dan Mitruka, 1981).

Rahardjo, 2003 dan Ringer, 1976 mengatakan bahwa ayam sebagai hewan yang sensitif terhadap stres dan terhadap hormon kortikosteroid, karena hormon ini dilaporkan menyebabkan limfositopenia, penyusutan timus, bursa fabrisius dan limpa serta menekan tanggapan kebal baik seluler maupun humoral. Berdasarkan pendapat diatas maka perlakuan stresor transportasi selama 5 jam menyebabkan terjadinya penurunan jumlah sel eosinofil, sel basofil dan limfosit. Penurunan yang nyata ini

akibat pengaruh glukokortikoid terhadap organ-organ primer penghasil sel darah yang mengalami penyusutan, ukuran nodus limfatikus dan timus juga mengalami penyusutan, hal ini disebabkan karena adanya hambatan aktifitas mitosis dan meningkatnya destruksi lekosit, sehingga pembentukan sel-sel lekosit dan hitung jenisnya mengalami gangguan. Monosit pada penelitian ini tidak mengalami penurunan yang nyata, hal ini dapat dijelaskan berdasarkan pendapat Schalm dkk, 1975 bahwa penurunan monosit dapat terjadi pada stadium awal dari stres tetapi setelah stadium akut maka diikuti oleh peningkatan jumlah sel monosit.

Berlainan dengan hasil data dari sel basofil, yang menunjukkan bahwa pada suhu tinggi, *exersice* atau hipoksia yang terjadi walau dalam waktu singkat (kurang dari tiga jam) mengakibatkan penurunan yang nyata. Sesuaidengan pendapat Hill, 1983 dan Ringer, 1976 yang mendefinisikan bahwa efek perlakuan pemanasan akut dengan periode relatif singkat sebagai *High Enviroment Temperature Mediated Immune Depression (IITD)*, efek yang ditimbulkan dapat menghilangkan/ mengurangi jumlah sel eosinofil dan basofil pada ayam.

Pada konsentrasi tinggi, molekul-molekul hormon memasuki sel-sel jaringan yang responsif melalui membran plasma secara difusi pasif, kemudian bereaksi dengan reseptor protein yang spesifik dalam sitoplasma sel jaringan dan membentuk kompleks reseptor steroid. Ikatan ini menstimulir transkrip RNA dan sintesis protein spesifik. Beberapa peneliti menunjukkan bahwa glukokortikoid merangsang sintesis yang sifatnya menghambat atau toksis terhadap sel-sel limfoid, hal inilah mungkin yang menimbulkan efek kataboliknya (Suherman, 1983). Dengan adanya efek katabolik pada organ-organ primer penghasil sel lekosit, maka akan terjadi pengurangan produksi

leukosit, yang dikeluarkan kedalam sirkulasi darah. Keadaan ini sesuai dengan hasil penelitian diatas yang menghasilkan penurunan jumlah sel eosinofil, sel basofil dan sel limfosit dibandingkan dengan kelompok kontrol yang tidak mengalami stresor transportasi.

Hasil penelitian diatas terdapat penurunan jumlah sel eosinofil dan sel basofil pada kelompok ayam yang dilakukan stresor transportasi selama 5 jam, dan setelah dilakukan uji statistik dengan uji statistik Faktorial multivariate terdapat perbedaan yang sangat bermakna ($p < 0,000$) pada kelompok ayam yang dilakukan stresor transportasi baik kelompok malam hari maupun kelompok ayam siang hari di bandingkan dengan kelompok kontrol (yang tidak dilakukan stresor transportasi). Penurunan sel eosinofil dan sel basofil terjadi pada kondisi stres (*exercise*, panas, hipoksia) seperti yang dikatakan oleh Mitruka, 1981 bahwa sel eosinofil dan sel basofil tidak terlihat (menurun) pada keadaan stres, pemberian ACTH, kortison. Clancy, 1998 mengatakan bahwa untuk terbentuknya (maturasi) sel eosinofil, basofil yang berasal dari Colony Forming Unit-co/ba (CFU-co/ba) diperlukan sitokin seperti IL-4, IL-5, sedangkan pada keadaan stres sekresi IL-4, IL-5 dari sel T-helper2 (Th-2) terganggu disebabkan karena untuk terbentuknya sel Th2 dari sel Th0 diperlukan sitokin IL-1 yang disekresi oleh makrofag. Tetapi pada keadaan stres dimana kortisol meningkat, maka kortisol akan menekan sekresi IL-1 oleh makrofag. Hal ini sesuai dengan pendapat Shephard, 2001 yang mengatakan bahwa *exercise* (olah raga) dimana terjadi keadaan heat stres maka sekresi IL-4 dan IL-5 menurun. IL-4 adalah suatu glikoprotein dengan berat molekul 15-20 kDa yang memegang peran utama menginduksi sel Th0 menjadi sel Th1 dan sel Th2, sel Th2 mensekresi IL-4, IL-5, IL-6 dan IL-13 yang berfungsi

mengatur regulasi produksi immunoglobulin oleh sel plasma (Goldsby,2000), tetapi pada keadaan stres sekresi IL-4 terganggu.

Hasil penelitian pada hitung jenis sel netrofil terdapat peningkatan pada kelompok ayam yang mengalami stresor transportasi selama 5 jam baik pada kelompok ayam malam hari maupun kelompok ayam siang hari dibandingkan dengan kelompok kontrol (tidak mengalami stresor transportasi), dan setelah dilakukan uji statistik dengan uji statistik Faktorial multivariate terdapat perbedaan yang sangat bermakna ($p=0,000$).

Peningkatan sel netrofil disebabkan karena perkembangan (maturasi) sel netrofil dari Colony Forming Unit-n (CFU-n) tidak dipengaruhi oleh sitokin IL-4,IL-5, IL-6 (Clancy,1998). Pendapat ini didukung pula oleh Mitruka, 1981 yang mengatakan bahwa pada keadaan stres, heat stres, *exersice* maka jumlah netrofil akan meningkat.

Ganong, 1980 mengatakan bahwa akibat meningkatnya hormon kortisol yang dikeluarkan oleh korteks adrenal akibat stres akan meningkatkan jumlah sel netrofil dan sel monosit.

Hasil penelitian pada hitung jenis sel limfosit terdapat penurunan pada kelompok ayam yang mengalami stresor transportasi selama 5 jam, penurunan ini terdapat baik pada kelompok ayam malam hari maupun kelompok ayam siang hari, dibandingkan dengan kelompok kontrol (tidak mengalami stresor transportasi). Setelah dilakukan uji statistik dengan uji statistik Faktorial multivariate antara kelompok perlakuan (yang mendapat perlakuan stresor transportasi) terdapat perbedaan yang sangat bermakna ($p=0,000$) dibandingkan dengan kelompok kontrol (tidak mendapat stresor transportasi). Penurunan sel limfosit kemungkinan disebabkan karena peningkatan hormon kortisol menyebabkan keadaan limfositopenia, sesuai dengan pendapat

Rahardjo, 2003 dan Ringer 1976. Konsentrasi yang tinggi kadar kortisol, maka molekul-molekul hormon kortisol memasuki sel-sel jaringan yang responsif melalui membran plasma, kemudian bereaksi dengan reseptor dari limfosit dan membentuk kompleks reseptor steroid. Ikatan kompleks reseptor steroid sifatnya menghambat sintesis dan toksis terhadap sel limfoid, dan kemungkinan menimbulkan efek katabolik yang menyebabkan destruksi sel limfosit sehingga jumlah sel limfosit menurun (Suherman, 1983). Mitruka, 1981 mengatakan bahwa limfoid stem cells dibawa dari Pluripotential Stem Cells dalam *Yolk sac* lalu migrasi ke hati, limpa dan sumsum tulang. Lymphoid stem cells migrasi ke timus dan berdiferensiasi dibawah pengaruh mikroenviroment menjadi dewasa dan menjadi sel T dan sel B (pada Bursa Fabricius). Sel limfosit dimana pada permukaannya terdapat reseptor-reseptor yang salah satunya reseptor untuk hormon kortisol, maka dengan meningkatnya hormon kortisol pada keadaan stres, terjadi ikatan kompleks antara reseptor dan hormon kortisol sehingga terjadi proses katabolik dan menyebabkan terjadinya destruksi sel limfosit. Bauer, 2001 mengatakan bahwa stres menyebabkan peningkatan kadar kortisol dan menyebabkan penurunan proliferasi dari sel limfosit, sedangkan permukaan sel limfosit terdapat reseptor IL-2 karena pada stres terdapat penurunan dan perubahan dalam pengaturan sitokin IL-2 maka sel limfosit tidak dapat berkembang dan dewasa.

Mitruka, 1981 juga mengatakan bahwa terjadi penurunan sekresi IL-1 oleh makrofag karena peningkatan hormon kortisol pada kondisi stres, sedangkan IL-1 memegang peranan sebagai adjuvat dan kofactor selama aktivasi limfosit, merangsang sintesa dari limfokin dan aktivasi sel T yang sedang istirahat.

Hasil penelitian pada hitung jenis sel monosit terdapat peningkatan pada kelompok ayam yang mengalami stresor transportasi selama 5 jam, baik pada kelompok ayam malam hari maupun kelompok ayam siang hari dibandingkan dengan kelompok ayam kontrol (tidak mengalami stresor transportasi). Setelah dilakukan uji statistik dengan uji statistik Faktorial multivarite terdapat perbedaan yang sangat bermakna ($p=0,000$) antara kelompok perlakuan (yang mengalami stresor transportasi) dengan kelompok kontrol (tidak mengalami stresor transportasi). Peningkatan dari sel monosit sesuai dengan pendapat Shephard, 2001 yang mengatakan bahwa jumlah monosit akan meningkat selama dan sesudah *exersice (heating)*. Schalm's, 1986 mengatakan bahwa penurunan sel monosit hanya terjadi pada stadium awal dari stres, tetapi setelah stadium akut dari stres, maka jumlah sel monosit akan meningkat.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

Hasil dari penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Stres yang disebabkan karena stresor transportasi selama 5 jam baik pada malam hari maupun siang hari meningkatkan kadar kortisol, menurunkan sel eosinofil, basofil dan limfosit, serta meningkatkan sel netrofil dan sel monosit.
2. Stres menyebabkan perubahan respon imun disebabkan karena terjadinya perubahan sel-sel imunokompeten.

7.2. Saran

1. Perlu dipikirkan tindakan pencegahan dan penanganan pada ayam maupun hewan-hewan lainnya sebelum, selama dan sesudah dilakukan transportasi untuk mengurangi ataupun mencegah agar ayam maupun hewan tidak mudah atau peka terhadap infeksi-penyakit disebabkan karena menurunnya sel-sel imunokompeten
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memeriksa kadar kortisol maupun sel-sel imunokompeten setelah ayam maupun hewan istirahat untuk waktu tertentu setelah mengalami stresor transportasi.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas , A.K. 2000. Cellular and Molecular Immunology. Fourth Ed. Philadelphia. WB . Saunders Company.
- Asnar,ESTP. 2001. Peran Perubahan Limfosit Penghasil Sitokin dan Peptida Motilitas Usus Terhadap Modulasi Respons Imun Mukosal Tikus yang Stres Akibat Stressor Renjatan Listrik (Suatu Pendekatan Psikoneuroimmunologi). Ringkasan Disertasi Program Doktor. Program Pascasarjana Unair .
- Bauer,M.E ; Perks,P; Lightman,S.L.; Shanks,N. 2001. Are Adhesion Molecules Involved In Stress-Induced Changes in Lymphocyte Distribution ?. Life Sci. Jul. 27; 69(10) : 1167-79.
- Ceddia,M.A.; Voss,E.W.Jr ; Woods,J.A. 2000. Intracellular Mechanism Responsible for Exercise – Induced Suppression of Macrophage Antigen Presentation. J.Appl.Physiol. Feb; 88(2) : 804-10.
- Clancy,J. 1998. Basic Concept in Immunology. A Student's Survival Guide. The Mc Graw-Hill Companies.New York.
- Covelli,V. 1994. What is Stress ? How Does it Correlate with the Immune System . Ann, T.Ny. Acad Sci. 741 : 212-215.
- Fawzy ; Gibb,E.J.B. ; Murphy,F.A.; Rott,R.; Studder,H.J.; White,D.O. 1993. Veterinary Virology. Academic Press,Inc. Penerjemah Putra H dan Suaryana IKIP Semarang Press.
- Ganong,W.F. 1980. Review of Medical Phisiology 9thEd. Diterjemahkan Adji Dharma Fisiologi Kedokteran.ECG.Jakarta hal: 441-444; 448-452.
- Goldsby,R.A.; Kindt,T.J.; Osbone,B.A. 2000 Kuby Immunology. 4th ed. WH.Freeman Company, New York.
- Hamblin,A.S. 1993. Cytokines in the Activation of T Cells, B Cells and Macrophages. In (Rickwood D; Male,D. eds). Cytokines and Cytokine Receptors. New York : Oxford University Press: pp 45-54.

- Hardiman, A. 1988. Stres dan Upaya Penanggulangannya. *Jiwa*. 21 : 1-9.
- Harper, H.A.; Rodwell, V.W.; Meyes, T.A. 1979. Review of Physiological Chemistry
Diterjemahkan : Muliawan, M. Buku Kedokteran E.G.C.
- Hill, J.A. 1983. Indicators of Stres in Poultry. *World Poultry Science Journal*. Vol.39
- Janeway, Jr, C.A.; Travers, P.; Walport, M.; Capra, D.J. 1999. Immunology. 4th Ed.
Elsevier Science Ltd. Garland Publishing, London.
- Kresno, S.B. 1996. Diagnosis dan Prosedur Laboratorium. 3th Ed. Fakultas Kedokteran
Universitas Indonesia
- Kusriningrum, R. 1990. Perancangan Percobaan: Rancangan Acak Kelompok, Rancangan
Bujursangkar Latin, Percobaan Faktorial. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Mc.Cance, K.L. and Shelby, J. 1994. Stress and Disease. In : Pathophysiologic.
The Biologic Basis in Adult Children .by : Kathryn, L.Mc ; Cance and
Huether, S.E. 2nd Ed. Morby St Louis Baltimore Boston Chicago London
Madrid Philadelphia Sydney Toronto.
- Mitruka, B.M.; Rownsley, H.M. 1981. Clinical Biochemical and Hematological
Reference. Values in Normal Experimental Animals and Normal Humans.
2nd Ed. Masson Publishing, Inc. New York.
- Morgan, G.W. 1980. Physiological Effect of Exogenous Adrenocorticotropine
Injection in Japanese Quail. *Poultry Science*. 59. Hlm: 860- 867.
- Norris, D.O. 1980. Vertebrate Endocrinology. Lea and Febriger. Philadelphia.
- Poultry Indonesia . 1989. Stres Banyak Merugikan. No.74. th.VII. Penerbit
Majalah Ekonomi, Industri, Ilmu dan Perunggasan Populer Jakarta.
- Putra, St. 1998. Konsep Psikoneuroimunologi dan Kontribusinya pada Pengembang
An Iptek Kedokteran. Disampaikan pada Diskusi Panel Kontribusi Psikoneu
Ro Immunologi di Bidang Kedokteran di Indonesia 28 Mei 1998 di Gramik
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Putra, S.T. 1999. Pemikiran Terhadap Perkembangan Psikoneuroimmunologi Tingkat Sel.
Kelompok Studi Psikoneuroimunologi FK Unair. Seksi/Devisi Patobiologi
Laboratorium Patologi Anatomi. FK Unair-RSUD dr. Soetomo.
- Putra, S.T. 2001. Peran Psikoneuroimmunologi Terhadap Asuhan Keperawatan
-Kebidanan .Seminar Sehari Ikatan Keluarga Mahasiswa Akademi Kebidanan
Dep.Kes.RI Kediri.

- Rahardjo, Sri. 2003. . Terapi Stres Panas dengan Panas. *Infovet*. Edisi 113 Desember Hal: 40 – 41.
- Ringer, R.K. 1976. Adrenal. In : *Avian Physiology*. 3rd ed. Springer Verlag. New York.
- Romagnani, S. 1997. The Th1/ Th2 Paradigm. *Immunology Today* 18(6) : 263
- Sairam, H.; Sharma, S.K.; Dipti, P.; Pauline, T. 1998. Effect of Hypobaric Hypoxia on Immune Function in Albino Rats. *Int. J. Biometeorol.* Aug; 42(1):55-59.
- Schalm, O.W.; Jain, N.C.; Carrol, E.J. 1975. *Vetrinary Haematology* . 3rd ed. Lea and Febriger. Philadelphia. Hlm: 438- 460.
- Selye, H. 1981. Introduction, in Wheatley, D (ed): *Stress and the Heart*, 2nd Ed. Raven Press, New York. P: 1-11.
- Setyawan, S. 1996. Pengaruh Latihan Fisik Aerobik dan Anaerobik. Terhadap Respons Ketahanan Tubuh (Suatu Pendekatan Psikoneuroimmunologik). Disertasi Program Doktor Program Pascasarjana Unair. hal: 51-55; 71-77.
- Siti, B.K. 1996. *Imunologi : Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Edisi ketiga. Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Simmons. A. 1968. *Technical Hematology*. J.B. Lippincott Company. Philadelphia.
- Soedigdo, S. 1977. *Pengantar Cara Statistika Kimia*. Penerbit ITB
- Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. 1980. *Principles and Procedures of Staitistics. A Biometrical Approach*. Mc Graw Hill Book Company.
- Sudjana. 1996. *Metoda Statistika*. Edisi ke 6. Penerbit Tarsito. Bandung.
- Suherman, S.K. 1983. Adrenocorticotropin, Adrenocorticosteroid dan Cortico-Steroid Sintetik. Di dalam : *Farmakologi dan Terapi II*. Hlm: 358-377.
- Weiss, N.; Hasset, M. 1982. *Introductory Statistics*. Addison Wesley. Publishing Co.
- Wentworth, B.G. and Hussein, M.O. 1985. Serum Corticosteron Levels In Embrios, Newly Hatched, and Young Turkey. *Poultry Sci.* 64. Hlm: 2195-2201.
- Yahya, V. 1991. Ayam Sehat Ayam Produktif. I. *Medion* hal 3-10.
- Zainuddin, M. 2000. *Metodologi Penelitian*. Hlm. 54-103.

LAMPIRAN

Lampiran :

Analisis Data Kortisol Traspotasi pada Waktu yang Berbeda

Within-Subjects Factors

Measure: MEASURE_1

FWAKTU	Dependent Variable
1	AMB1
2	AMBIL2

Between-Subjects Factors

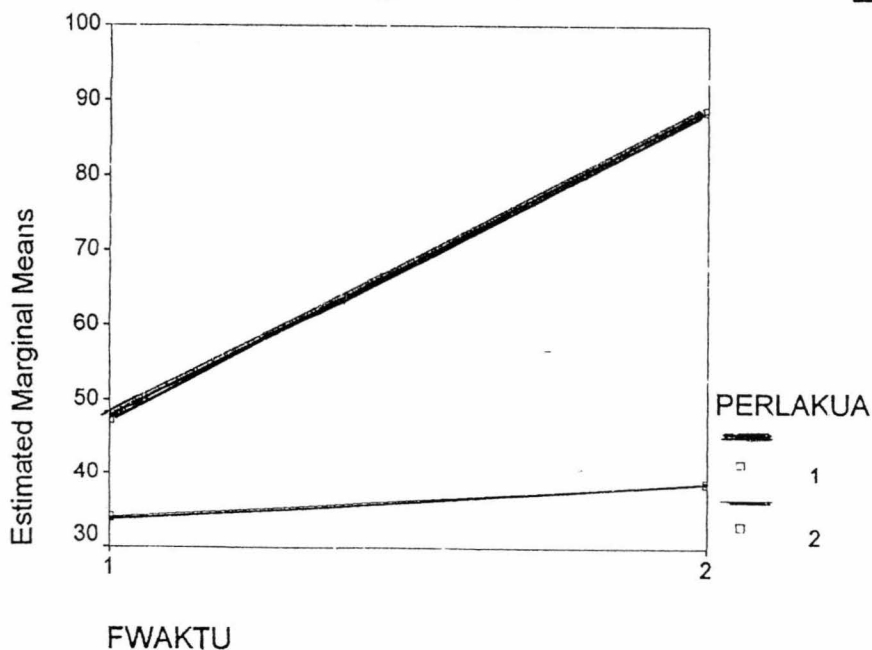
PERLAKUA	N
1	10
2	10

Multivariate Tests^b

Effect		Value	F	Hypothesis df
FWAKTU	Pillai's Trace	.998	7735.803 ^a	1.000
	Wilks' Lambda	.002	7735.803 ^a	1.000
	Hotelling's Trace	429.767	7735.803 ^a	1.000
	Roy's Largest Root	429.767	7735.803 ^a	1.000
FWAKTU * PERLAKUA	Pillai's Trace	.996	4891.895 ^a	1.000
	Wilks' Lambda	.004	4891.895 ^a	1.000
	Hotelling's Trace	271.772	4891.895 ^a	1.000
	Roy's Largest Root	271.772	4891.895 ^a	1.000

Profile Plots

Estimated Marginal Means of MEASURE_1



Lampiran 2 :

Analisis Data Eosinofil Transportasi pada Waktu yang Berbeda

Within-Subjects Factors

Measure: MEASURE_1

WAKTU	Dependent Variable
1	EOAMB1
2	EOMAB2

Between-Subjects Factors

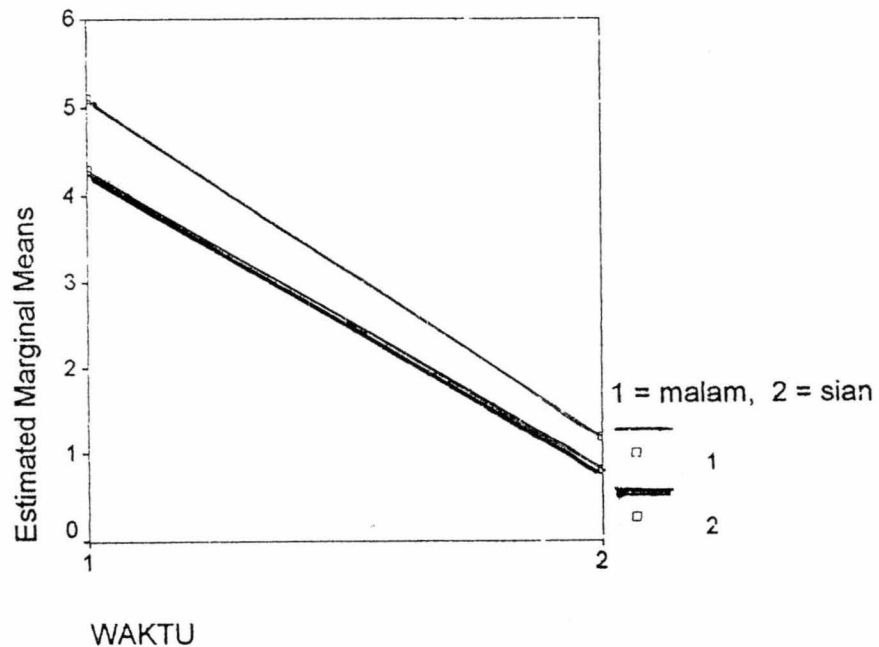
	N
1 = malam, 1	10
2 = siang 2	10

Multivariate Tests^b

Effect		Value	F	Hypothesis df
WAKTU	Pillai's Trace	.928	230.299 ^a	1.000
	Wilks' Lambda	.072	230.299 ^a	1.000
	Hotelling's Trace	12.794	230.299 ^a	1.000
	Roy's Largest Root	12.794	230.299 ^a	1.000
WAKTU * PERLAKUA	Pillai's Trace	.036	.673 ^a	1.000
	Wilks' Lambda	.964	.673 ^a	1.000
	Hotelling's Trace	.037	.673 ^a	1.000
	Roy's Largest Root	.037	.673 ^a	1.000

Profile Plots

Estimated Marginal Means of MEASURE_1



Lampiran 3 :

Analisis Data Basofil Transportasi pada Waktu yang Berbeda

Within-Subjects Factors

Measure: MEASURE_1

WAKTU	Dependent Variable
1	BAAMB1
2	BAAMB2

Between-Subjects Factors

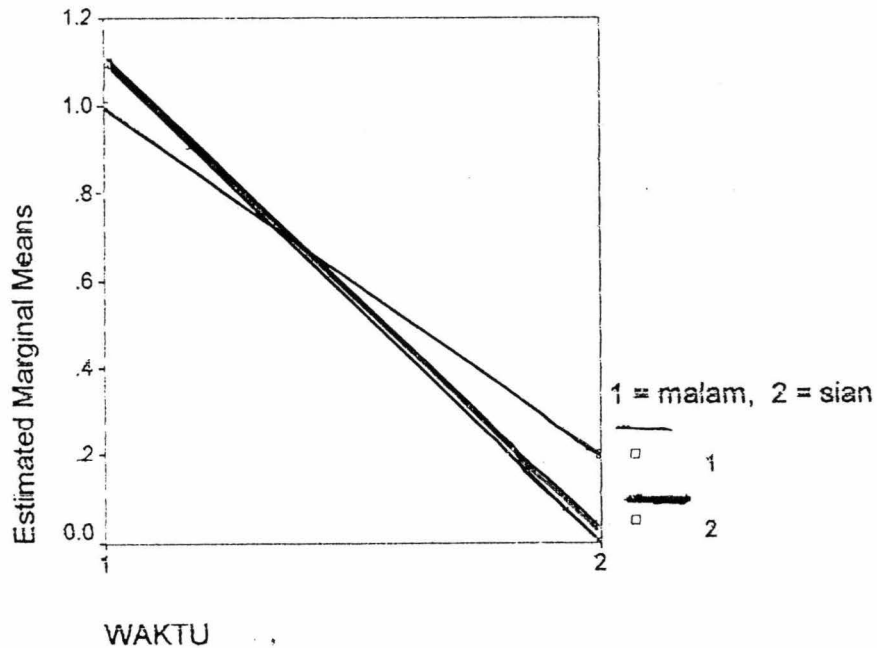
	N
1 = malam, 1	10
2 = siang 2	10

Multivariate Tests^b

Effect		Value	F	Hypothesis df
WAKTU	Pillai's Trace	.591	25.992 ^a	1.000
	Wilks' Lambda	.409	25.992 ^a	1.000
	Hotelling's Trace	1.444	25.992 ^a	1.000
	Roy's Largest Root	1.444	25.992 ^a	1.000
WAKTU * PERLAKUA	Pillai's Trace	.035	.648 ^a	1.000
	Wilks' Lambda	.965	.648 ^a	1.000
	Hotelling's Trace	.036	.648 ^a	1.000
	Roy's Largest Root	.036	.648 ^a	1.000

Profile Plots

Estimated Marginal Means of MEASURE_1



Lampiran 4 :

Analisis Data Netrofil Trasportasi pada Waktu yang Berbeda

Within-Subjects Factors

Measure: MEASURE_1

WAKTU	Dependent Variable
1	NETAMB1
2	NETAMB2

Between-Subjects Factors

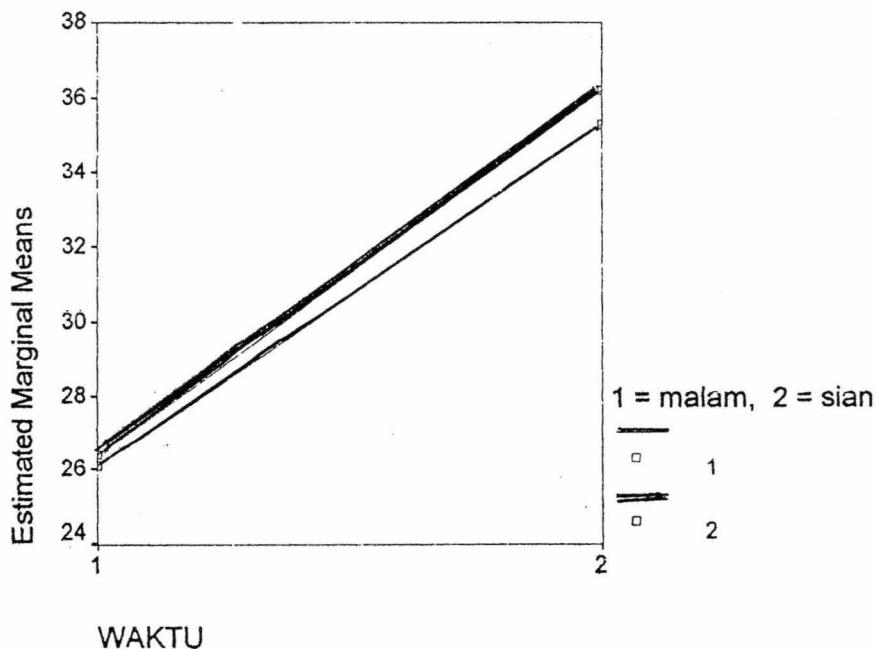
		N
1 = malam,	1	10
2 = siang	2	10

Multivariate Tests^b

Effect		Value	F	Hypothesis df
WAKTU	Pillai's Trace	.949	334.259 ^a	1.000
	Wilks' Lambda	.051	334.259 ^a	1.000
	Hotelling's Trace	18.570	334.259 ^a	1.000
	Roy's Largest Root	18.570	334.259 ^a	1.000
WAKTU * PERLAKUA	Pillai's Trace	.018	.333 ^a	1.000
	Wilks' Lambda	.982	.333 ^a	1.000
	Hotelling's Trace	.019	.333 ^a	1.000
	Roy's Largest Root	.019	.333 ^a	1.000

Profile Plots

Estimated Marginal Means of MEASURE_1



Lampiran 5 :

Analisis Data Limfosit Transportasi pada Waktu yang Berbeda

Within-Subjects Factors

Measure: MEASURE_1

WAKTU	Dependent Variable
1	LIMAMB1
2	LIMAMB2

Between-Subjects Factors

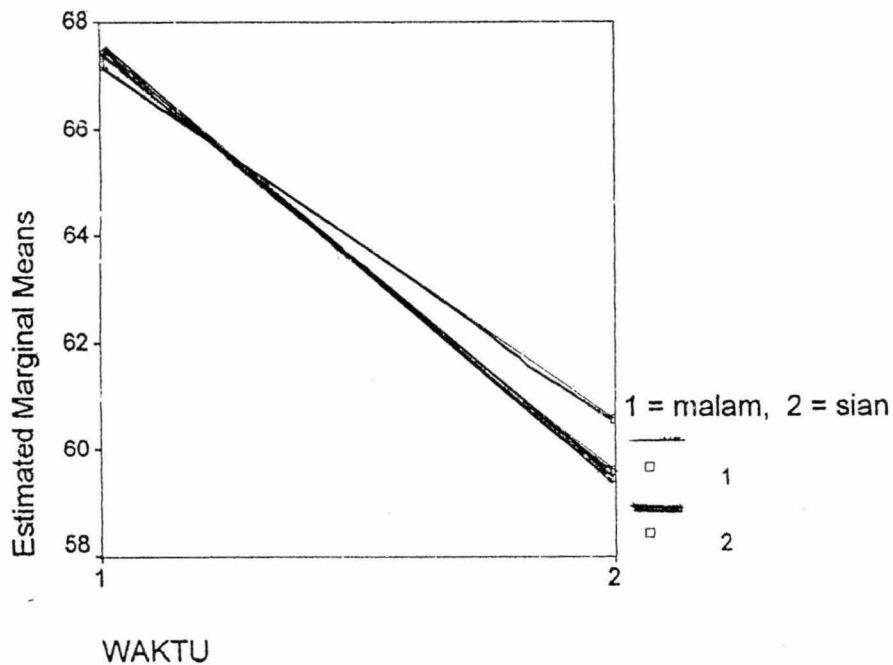
	N
1 = malam, 1	10
2 = siang 2	10

Multivariate Tests^b

Effect		Value	F	Hypothesis df
WAKTU	Pillai's Trace	.881	133.303 ^a	1.000
	Wilks' Lambda	.119	133.303 ^a	1.000
	Hotelling's Trace	7.406	133.303 ^a	1.000
	Roy's Largest Root	7.406	133.303 ^a	1.000
WAKTU * PERLAKUA	Pillai's Trace	.049	.926 ^a	1.000
	Wilks' Lambda	.951	.926 ^a	1.000
	Hotelling's Trace	.051	.926 ^a	1.000
	Roy's Largest Root	.051	.926 ^a	1.000

Profiie Plots

Estimated Marginal Means of MEASURE_1



Lampiran 6 :
 Analisis Data Monosit Transportasi pada Waktu yang Berbeda

Within-Subjects Factors

Measure: MEASURE_1

WAKTU	Dependent Variable
1	MOAMB1
2	MOAMB2

Between-Subjects Factors

	N
1 = malam,	10
2 = siang	10

Multivariate Tests^b

Effect	Value	F	Hypothesis d
WAKTU			
Pillai's Trace	.918	200.893 ^a	1.000
Wilks' Lambda	.082	200.893 ^a	1.000
Hotelling's Trace	11.161	200.893 ^a	1.000
Roy's Largest Root	11.161	200.893 ^a	1.000
WAKTU * PERLAKUA			
Pillai's Trace	.138	2.893 ^a	1.000
Wilks' Lambda	.862	2.893 ^a	1.000
Hotelling's Trace	.161	2.893 ^a	1.000
Roy's Largest Root	.161	2.893 ^a	1.000

Profile Plots

