

SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN PAKAN BASAL YANG DISUBSTITUSI *CRUDE CHLORELLA* TERHADAP KECERNAAN PROTEIN DAN JUMLAH Ig A PADA MUKOSA *ILEUM* AYAM PETELUR YANG DIVAKSIN *AVIAN INFLUENZA*



Oleh :

ANDES SENO WIBOWO

NIM 060313181

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2008**

**PENGARUH PEMBERIAN PAKAN BASAL YANG
DISUBSTITUSI *CRUDE CHLORELLA* TERHADAP
KECERNAAN PROTEIN DAN JUMLAH Ig A
PADA MUKOSA *ILEUM* AYAM PETELUR
YANG DIVAKSIN *AVIAN INFLUENZA***

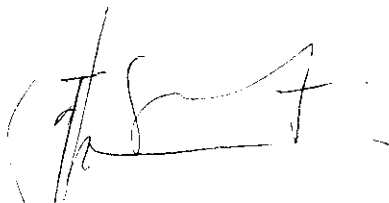
Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
pada
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

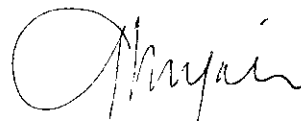
ANDES SENO WIBOWO
NIM 060313181

Menyetujui

Komisi Pembimbing,



Dr. Lucia Tri Suwanti, MP., Drh
Pembimbing Pertama



Ajik Azmiah, SU., Drh
Pembimbing Kedua

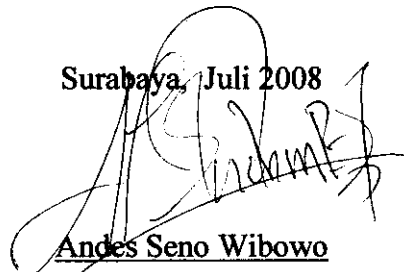
PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

PENGARUH PEMBERIAN PAKAN BASAL YANG DISUBSTITUSI *CRUDE CHLORELLA* TERHADAP KECERNAAN PROTEIN DAN JUMLAH Ig A PADA MUKOSA *ILEUM* AYAM PETELUR YANG DIVAKSIN *AVIAN INFLUENZA*

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang sepengetahuan saya jugatidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, Juli 2008



Andes Seno Wibowo

NIM 060313181

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 13 Agustus 2008

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua : Dr. C.A Nidhom, M.S., drh

Sekretaris : Dr. Gary Cores de Vries, M.S., M.Sc., drh

Anggota : Tri Nurhayati, M.S., drh

Pembimbing I : Dr. Lucia Tri Suwanti, M.P., drh

Pembimbing II : Ajik Azmijah, SU., drh

Telah diuji pada

Tanggal : 22 September 2008

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Dr. C.A Nidhom, M.S., drh

Anggota : Dr. Gary Cores de Vries, M.S., M.Sc., drh

Tri Nurhayati, M.S., drh

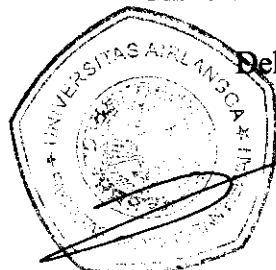
Dr. Lucia Tri Suwanti, M.P., drh

Ajik Azmiah, S.U., drh

Surabaya, 22 September 2008

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga



Prof. Hj. Romziah Sidik., Ph.D., drh

NIP. 130687305

THE EFFECT OF BASAL FEED WITH SUBSTITUTION *CRUDE CHLORELLA* TO THE PROTEIN DIGESTIBILITY AND IMMUNOGLOBULIN A IN ILEUM OF LAYING HEN WITH VACCINATED BY AVIAN INFLUENZA

Andes Seno Wibowo

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the effect of basal feed with substitution *Crude Chlorella* to the protein digestibility and immunoglobulin A in *ileum* of laying hen with vaccinated by *Avian Influenza*. Twenty-one *Lohman's* strain laying hens were randomly divided into three dietary treatments and seven replicates per treatment. The control group (P₀), were fed a "basal protein diet" containing 18% protein. The others were fed a "basal protein diet" supplemented with 2,5% *Chlorella* (P₁) ; a basal protein diet supplemented with 5% *Chlorella* (P₂). The experimental diet were fed for eight weeks and than the hens were sacrificed. In the other to determine of digestibility protein, the fecal protein concentration were analyzed by macro-Kjeldhal method. The result of the experiment showed that the protein digestibility and increase the IgA expressions in the mucosal of *ileum* of diet supplemented with 2,5% *Chlorella* is better than the other treatment.

Key words : *Chlorella*, protein digestibility, Ig A, *ileum*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Puji syukur kami panjatkan kepada Allah SWT atas segala nikmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi dengan judul **Pengaruh Pemberian Pakan Basal Yang Disubstitusi Crude Chlorella Terhadap Kecernaan Protein dan Jumlah Ig A Pada Mukosa Ileum Ayam Petelur Yang divaksin AI**. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Hj. Romziah Sidik.,Ph.D.,drh yang telah memberi kesempatan pada penulis untuk menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Dr. Lucia Tri Suwanti, M.P.,drh selaku dosen pembimbing pertama dan Ajik Azmiah, SU.,drh selaku dosen pembimbing kedua yang memberikan bimbingan, bantuan, petunjuk, doa dan saran kepada penulis sampai dengan selesainya skripsi ini.

Bapak Mustofa Helmi Effendi, DTAPH.,drh selaku dosen wali saya yang telah membimbing dengan penuh perhatian, memberi masukan-masukan yang berharga serta motivasi kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan kuliah ini.

Ibu Yeni Damayanti, MKes., drh. atas kesediaannya meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan dan dorongan kepada penulis sampai terselesaikannya tulisan ini.

Seluruh staf pengajar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Seluruh staf Laboratorium Anatomi, staf Laboratorium Patologi dan staf Laboratorium Nutrisi dan Pakan Ternak Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas bantuannya selama proses penelitian berlangsung.

Kepada Ayahanda Almarhum Sujutno, SP di Surga, Ibunda Sri Supini, kakakku tercinta Arum dan Onyx, serta adinda Nia dan Dewi yang telah memberikan cinta, doa dan dukungannya. Kepada teman-teman satu penelitian, Radhitya, Lufti Baskoro Timur, Retno Wulan Handayani, Linda Kurniadewi, Riestyarta Adinugraha, Suryo Kuncoro Jakti, Diana Susanti, Linawati, Novita, Aprilya Hadi A., Rosetta I., Vaiga M, Dhanang D.J, Yuan Listio, Diantoro B Irawan, teman-teman seperjuangan Adit, Jhenyz, Ory, DJ, Happy, Hanny, Gandhoz, Made(Natalia), Surya, Markun, dan khususnya dik Indah atas waktunya serta pihak-pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu.

Akhirnya penulis menyadari bahwa tulisan ini jauh dari sempurna. Meskipun demikian, semoga skripsi ini dapat menjadi informasi yang berharga bagi dunia kedokteran hewan.

Surabaya, Agustus 2008

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN	ii
ABSTRACT	iii
UCAPAN TERIMA KASIH	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
DAFTAR SINGKATAN	x
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Landasan Teori	4
1.4. Tujuan Penelitian	6
1.5. Manfaat Penelitian	6
1.6. Hipotesis	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Ayam Petelur	7
2.1.1. Tinjauan umum ayam petelur	7
2.1.2. Sistem pencernaan ayam.....	10
2.1.3. Ransum ayam petelur	12
2.1.4. Daya cerna protein	13
2.1.5. Kekebalan Tubuh Ayam	16
2.2. <i>Chlorella</i> (Ganggang Hijau)	20
2.2.1. Tinjauan umum <i>chlorella</i>	20
2.2.2. Klasifikasi <i>chlorella</i>	21
2.2.3. Kandungan <i>chlorella</i>	22
2.2.4. Pengaruh <i>chlorella</i> terhadap kekebalan tubuh	26
2.3. <i>Avian Influenza</i>	28
2.3.1. Virus <i>Avian Influenza</i>	28
2.3.2. Vaksin <i>Avian Influenza</i>	30
2.4. Metode Imunohistokimia	31
BAB 3 MATERI DAN METODE	
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	32
3.2. Materi Penelitian	32
3.2.2. Bahan penelitian	32
3.3. Metode Penelitian	33
3.3.1. Perlakuan hewan coba	33
3.3.2. Metode pengelompokan hewan coba	34
3.3.3. Panen dan pengambilan sampel	35

3.3.4. Metode Imunohistokimia	36
3.4. Analisis Data	40
3.5. Rancangan Penelitian	41
3.6. Diagram Alur Penelitian	43
BAB 4 HASIL PENELITIAN	
4.1 Daya Cerna Protein	44
4.2 Jumlah Sel Yang Mengekspresikan Ig A Pada Ileum Ayam	45
BAB 5 PEMBAHASAN	48
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1. Kesimpulan	53
6.2. Saran	53
RINGKASAN	54
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN	61

DAFTAR TABEL

TABEL	Halaman
2.1. Analisis Umum Kandungan <i>chlorella</i>	12
2.2. Kandungan vitamin <i>chlorella</i>	13
2.3. Kandungan Mineral <i>chlorella</i>	13
2.4. Kandungan Asam Lemak <i>chlorella</i>	14
2.5. Kandungan Asam Amino <i>Chlorella</i>	15
3.1. Rancangan penelitian	36
4.1 Rata-rata Nilai Kecernaan Protein Pada Ayam	40
4.2. Rata-rata dan simpangan baku jumlah Ig A pada mukosa ileum ayam yang mendapat perlakuan suplementasi Chlorella dan divaksin AI.....	41

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar	
2.1. Skema Struktur Orthomyxovirus	29
3.1. Diagram Alur Penelitian	37

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran	
1. Kandungan nutrisi pada pakan komplit CP 524-2 untuk ayam petelur	61
2. Hasil analisis proksimat pakan	62
3. Metode Analisis Proksimat Pakan	63
4. Nilai Kecernaan Protein Pada Ayam Petelur Setelah Diberi Perlakuan.....	65
5. Jumlah Ig A Pada Mukosa Ileum Ayam Petelur Setelah Diberi Perlakuan.....	66
6. Penghitungan Analisis Data	67

DAFTAR SINGKATAN

AI	: <i>Avian Influenza</i>
HPAI	: <i>Highly Pathogenic Avian Influenza</i>
LPAI	: <i>Low Pathogenic Avian Influenza</i>
WHO	: World Health Organization
Ig A	: Immunoglobulin A
APC	: <i>Antigen Presenting Cell</i>
MHC-II	: <i>Major Histocompatibility Complex-II</i>
IL-1	: <i>Interleukin-1</i>
CGF	: <i>Chlorella Growth Factor</i>
HSC	: <i>Hematopoietic Stem Cells</i>
DAB	: <i>3,3-diaminobenzidine tetrahydrochloride</i>
BK	: Berat Kasar
ANOVA	: Analisis Of Variant
CC	: <i>Crude Chlorella</i>
ACTH	: <i>Adrenocorticotropin</i>

BAB 1

PENDAHULUAN

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Avian Influenza (AI) merupakan salah satu penyakit viral yang sangat merugikan pada peternakan ayam petelur. Virus H5N1 yang merupakan penyebab terjangkitnya AI berdampak pada kematian ternak, bahkan dapat menular ke manusia (WHO, 2006). Usaha pengendalian dengan vaksinasi AI tetap diyakini sebagai cara yang cukup efektif mencegah serangan penyakit AI di peternakan unggas, tetapi vaksinasi juga mempunyai efek negatif, yaitu menimbulkan stress bagi unggas yang divaksinasi.

Peranan peternakan unggas, khususnya ayam petelur, perlu mendapatkan perhatian khusus, mengingat fungsinya sebagai penyedia kebutuhan telur. Usaha ini perlu menerapkan sistem pemeliharaan yang tepat karena ayam petelur mudah terkena stress. Stress dapat mengakibatkan penurunan pertumbuhan, konversi pakan, fertilitas, daya tetas telur, respon imun dan daya hidupnya (Bains, 1996).

Defisiensi salah satu zat makanan sangat berdampak pada kelangsungan produktivitas ayam petelur. Anggorodi (1985) mengemukakan bahwa proses metabolisme, termasuk penyusunan enzim dan hormon memiliki korelasi positif dengan defisiensi protein. Protein pun diperlukan dalam perkembangan organ yang berperan pada sistem kekebalan, baik kekebalan seluler maupun humoral. Hal ini dimungkinkan karena protein merupakan bahan penyusun sel dan antibodi (Tillman dkk., 1991).

Defisiensi protein pada dasarnya dapat diatasi dengan pemberian suplementasi yang tepat dalam pakan ayam petelur. Pemberian suplementasi pada hewan adalah pemberian zat-zat yang secara alami sudah terkandung dalam pakan, tetapi jumlahnya perlu ditingkatkan dan diberikan bersama pakan, misalnya vitamin, mineral, maupun asam amino (Kromo, 2007).

Akhir-akhir ini, banyak peneliti yang berupaya menggali potensi sejenis ganggang hijau sebagai pakan suplementasi yang diberikan bersama dengan pakan ternak. *Chlorella* adalah ganggang hijau bersel tunggal yang hidup berkoloni, bahan ini dapat digunakan sebagai suplementasi pada ternak karena disinyalir mengandung protein, karbohidrat dan lemak masing-masing adalah 60,5%, 20,1%, dan 11,0%, *chlorella* pun mengandung multivitamin dan mineral (Steenblock, 2000). Pada akhir tahun 1800, peneliti Jerman mengemukakan bahwa *chlorella* mengandung klorofil dalam konsentrasi yang tinggi. Senyawa-senyawa inilah yang pada awalnya diyakini dapat bertindak sebagai *immunostimulant* (Tse, 2000). Oleh sebab itu diasumsikan pemberian *chlorella* dalam pakan sebagai suplementasi pada ternak ayam petelur mampu meningkatkan terbentuknya imunitas seiring dengan program vaksinasi, terutama vaksinasi AI. Hal ini sangat terkait dengan aktivitas imunitas yang ada pada mukosa *ileum* ayam.

Chlorella juga telah diteliti dapat menurunkan kortikosteroid. Kortikosteroid adalah salah satu senyawa kimia yang disekresi saat hewan mengalami stres (Hasegawa *et al.*, 2000). Pemberian *Chlorella* pada mencit dapat menurunkan kortikosteroid dalam darah (Puvaldolpirod dan Thaxton, 2000).

Disamping itu, Baskoro (2007) melaporkan bahan *Chlorella* 5% yang dicampurkan dalam pakan ayam petelur dengan konsentrasi protein yang rendah ($\pm 14\%$) dapat meningkatkan jumlah Ig A pada mukosa ileum ayam yang mendapatkan tindakan vaksin AI.

Ayam memiliki aktivitas imunitas mukosa yang dapat mengekspresikan antibodi atau imunoglobulin. Aktivitas imunitas mukosa memiliki peranan penting sebagai benteng pertahanan pertama melawan virus, bakteri maupun mikroba patogen yang lain. Imunoglobulin A dapat ditemukan pada permukaan mukosa dari paru-paru dan saluran pencernaan. Imunoglobulin A adalah imunoglobulin yang dominan diproduksi oleh sel B di *Peyer's patch*, tonsil, dan jaringan limfoid submukosal lainnya (Parslow T.G. *et al.*, 2001). Tonsil dan *Peyer Patch* terdiri dari jaringan limfe yang relatif terorganisasi, mempunyai semua komponen yang dibutuhkan untuk menyusun tanggapan kebal, yaitu sel T, sel B dan makrofag. IgA banyak dibentuk di dalam simpul limfe yang tersebar dan di dalam sel plasma yang terisolasi yang dapat ditemukan pada dinding usus, di dalam kelenjar ludah dan di dalam kantung empedu (Tizard, 1987). *Peyer's Patch* ditemukan berlokasi di mukosa dan meluas hingga submukosa dari usus halus terutama *ileum* (Bowen, 2004).

1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan di atas maka rumusan permasalahan dalam penelitian ini adalah, apakah ada korelasi yang positif antara

kecernaan protein dengan jumlah Ig A di ileum ayam petelur yang disuplementasi *Chlorella* dan mendapat vaksin *Avian Influenza*?

1.3. Landasan Teori

Protein adalah zat makanan yang sangat mendapat perhatian khusus dalam penyusunan pakan. Bersama-sama dengan karbohidrat, lemak, vitamin, dan mineral, protein sangat dibutuhkan untuk proses pertumbuhan maupun pemeliharaan tubuh. Adanya perubahan secara kuantitatif dan kualitatif terhadap komponen unsur gizi, terutama protein, secara nyata berpengaruh terhadap sistem imun. Keadaan defisiensi atau kelebihan unsur gizi dapat mempengaruhi sintesis molekul yang berfungsi mengatur imunitas (Dubey and Yunis, 1996).

Protein yang jumlahnya terus berkurang akan mengakibatkan melemahnya mekanisme pertahanan seluler dan pada akhirnya berdampak pada penurunan produksi antibodi (Maynard *et al.*, 1979 ; Woodward, 1998). Pada kondisi ini jumlah limfosit T, limfosit B, sel plasma dan antibodi akan menurun (Keith and Jeejebhoy, 1997). Pada penderita yang mengalami defisiensi protein dapat pula terjadi penurunan jumlah immunoglobulin (IgG, IgA, IgM), maupun komplemen C3 dan C4 serta limfosit (Valbuena *et al.*, 1996).

Chlorella adalah termasuk tumbuhan air bersel satu yang memiliki kandungan 20 macam asam amino, yaitu : lisin, leusin, isoleusin, treonin, valin, metionin, fenilalanin, triptofan, histidin, arginin, asam aspartat, serin, asam glutamat, prolin, glisin, alanin, sistein, tirosin dan ornitin. Kandungan protein secara umum dalam *chlorella* adalah 60,5% (Steenblock, 2000). *Arginin* yang

terkandung dalam *chlorella* sebesar 3,64% (Steenblock, 2000), mampu memicu aktivitas sel T helper. Lebih lanjut, adanya sel T helper akan menstimulus sekresi sitokin yang berdampak pada proliferasi dan diferensiasi sel B. Kondisi ini pada akhirnya mampu meningkatkan titer antibodi (Abdulakalykova dan Ruiz, 2006).

Kastono (1992) yang dikutip dari Wirosaputro (1998) mengemukakan bahwa dinding sel tumbuhan yang utuh diperlukan sebagai salah satu perangsang sistem kekebalan tubuh, menyerap kolesterol, menyerap racun dan merangsang aktivitas limfosit di dinding usus. Tebal dinding sel *chlorella* sekitar 14 nm ($1\text{nm} = 10^{-9}\text{ m}$). Dinding sel *chlorella* mengandung protein, lemak, alfa selulosa, hemi selulosa, glukosamin dan abu. Masing-masing sebesar 27%, 9,2%, 15,4%, 31%, 3,3% dan 5,2% (Northcote, dkk., 1958 dikutip dari Wirosaputro, 1998).

Imunoglobulin A adalah imunoglobulin yang banyak mengandung karbohidrat berstruktur konvensional. Zat itu cenderung untuk membentuk polimer sedemikian sehingga terdapat dimer 11 S, trimer 13 S atau polimer yang lebih tinggi di samping molekul dasar 7 S. Komponen yang paling sering terdapat yaitu dimer yang terdiri dari dua unit 7 S yang dihubungkan oleh rantai J. Imunoglobulin A adalah imunoglobulin yang dominan diproduksi oleh sel B di *Peyer's patch*, tonsil, dan jaringan limfoid submukosal lainnya (Parslow T.G. et al., 2001). Tonsil dan *Peyer Patch* terdiri dari jaringan limfe yang relatif terorganisasi, mempunyai semua komponen yang dibutuhkan untuk menyusun tanggap kebal, yaitu sel T, sel B dan makrofag. IgA banyak dibentuk di dalam simpul limfe yang tersebar dan di dalam sel plasma yang terisolasi yang dapat

ditemukan pada dinding usus, di dalam kelenjar ludah dan di dalam kantung empedu (Tizard, 1987).

1.4. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengamati adanya korelasi pencernaan protein kasar dengan peningkatan jumlah Ig A di ileum ayam yang disuplementasi *Chlorella* dan divaksin AI.

1.5. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini adalah untuk memberi informasi secara langsung kepada peternak bahwa substitusi *Chlorella* dalam bentuk biakan murni dapat dicerna dan memberikan korelasi yang positif antara pencernaan protein dengan peningkatan jumlah Ig A. Pada akhirnya, suplementasi *Chlorella* dapat lebih mengoptimalkan pembentukan Ig A di mukosa ileum ayam petelur untuk lebih mengefektifkan tindakan vaksinasi, khususnya vaksinasi *Avian Influenza*.

1.6. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah terdapat korelasi positif antara pencernaan protein dengan jumlah Ig A pada ileum ayam petelur yang disuplementasi *Chlorella* dan mendapatkan vaksin *Avian Influenza*.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ayam Petelur

2.1.2 Tinjauan Umum Ayam Petelur

Ayam peliharaan yang ada dewasa ini adalah *Gallus domesticus* merupakan keturunan ayam hutan. Manusia telah memelihara ayam sejak 5000 tahun yang lalu. Ayam dipelihara oleh bangsa Mesir 3000 tahun sebelum masehi dan bangsa Cina pada 1500 tahun sebelum masehi. Jadi proses penjinakannya telah berlangsung lama. Oleh karena itu, saat ini jenis-jenis ayam banyak mengalami perubahan sifat fisik dan genetis. Dewasa ini banyak sekali ayam hasil perbaikan mutu genetik sesuai dengan tujuan pemeliharannya (Supriyatna. dkk, 2005)

Taksonomi zoologi ternak ayam di dunia hewan menurut Supriyatna. dkk (2005) adalah sebagai berikut :

Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Aves
Subkelas	: Neornithes
Ordo	: Galliformes
Genus	: Gallus
Spesies	: <i>Gallus domesticus</i>

Berdasarkan tujuan pemeliharaannya atau biasa disebut sebagai tipe ayam, ayam dapat dikelompokkan menjadi tipe petelur, pedaging dan medium atau dwiguna (*dual purpose*) (Supriyatna. dkk, 2005). Ayam tipe petelur memiliki karakteristik bersifat *nervous* atau mudah stres, bentuk tubuh ramping, cuping telinga berwarna putih dan kerabang telur berwarna putih. Karakteristik lainnya yaitu produksi telur tinggi mencapai 200 butir/ekor/tahun, efisien dalam penggunaan ransum untuk membentuk telur, dan tidak memiliki sifat mengeram. Berbeda dengan ayam petelur, ayam tipe pedaging bersifat tenang, bentuk tubuh besar, pertumbuhan cepat, bulu merapat ke tubuh, kulit putih, dan produksi telur rendah. Ayam tipe dwiguna memiliki karakteristik bersifat tenang, bentuk tubuh sedang, produksi telur sedang, pertumbuhan sedang dan kulit berwarna coklat (Supriyatna. dkk, 2005).

Berdasarkan perkembangan kondisi peternakan di Indonesia, dapat dibuat klasifikasi yang khas untuk pengembangan perunggasan. Secara garis besar, klasifikasi ayam dapat didasarkan pada asal pembentukan ayam. Dengan cara ini maka ayam di Indonesia dapat diklasifikasikan menjadi ayam ras dan ayam lokal. Ayam ras adalah jenis ayam dari luar negeri yang bersifat unggul sesuai dengan tujuan pemeliharaan karena telah mengalami perbaikan mutu genetik. Jenis ayam ini ada dua tipe yaitu tipe pedaging dan tipe petelur. Ayam lokal adalah jenis ayam asli Indonesia, masih alami dan belum banyak mengalami perbaikan mutu genetik. Ayam lokal disebut juga ayam bukan ras (*buras*), untuk membedakannya dengan ayam ras. Di beberapa daerah, ayam lokal dikembangkan masyarakat sehingga memiliki karakteristik yang relatif homogen, baik bentuk tubuh maupun

warna bulu. Kemudian, ayam itu diberi nama berdasarkan nama daerah atau nama tertentu. Contohnya, ayam kedu, ayam sentul, dan ayam nunukan. Sementara karakteristik ayam lokal yang dipelihara oleh sebagian besar masyarakat di pedesaan masih alami. Bentuk tubuh maupun warna bulu sangat beragam, biasanya disebut sebagai ayam kampung (Supriyatna. dkk, 2005).

Ayam ras petelur memiliki sifat-sifat unggul, yaitu laju pertumbuhan ayam ras petelur sangat pesat. Pada umur 4,5 – 5,0 bulan telah mencapai dewasa kelamin dengan bobot badan antara 1,6 – 1,7 kg. Pada waktu itu sebagian dari kelompok ayam tersebut telah berproduksi. Kemampuan berproduksi ayam ras petelur cukup tinggi yaitu antara 250 – 280 butir/tahun, dengan bobot telur antara 50 – 60 gram. Kemampuan ayam ras petelur dalam memanfaatkan ransum pakan sangat baik dan berkorelasi positif, konversi penggunaan ransum cukup bagus yaitu setiap 2,2 – 2,5 kg ransum dapat menghasilkan 1 kg telur. Periode bertelur ayam ras petelur lebih panjang, bisa berlangsung selama 13 – 14 bulan. Walaupun ayam ras hanya mengalami satu periode bertelur, akan tetapi periode bertelurnya tersebut berlangsung sangat panjang dan produktif, hal ini disebabkan oleh tidak adanya periode mengeram pada ayam ras petelur tersebut. Disamping sifat-sifat unggul yang dimiliki ayam ras petelur, ayam ras petelur juga memiliki kelemahan, antara lain ayam ras petelur sangat peka terhadap perubahan lingkungan. Kemampuan adaptasi terhadap lingkungan lebih rendah bila dibandingkan dengan ayam kampung. Ayam ras petelur lebih mudah mengalami stres. Tuntutan hidup ayam ras petelur tinggi, yaitu selalu menuntut pakan dalam jumlah dan kualitas yang tinggi, air minum yang cukup, dan menggantungkan diri sepenuhnya kepada

peternak, sehingga ayam ras petelur tidak cocok bila ditenakkan secara ekstensif. Selain itu, ayam ras petelur juga memiliki sifat kanibalisme yang tinggi bila dibandingkan dengan ayam kampung (Sudarmo, 2003).

2.1.2. Sistem Pencernaan Ayam

Pencernaan adalah penguraian senyawa organik kompleks menjadi senyawa organik sederhana dalam saluran pencernaan untuk dapat diserap dan digunakan oleh jaringan-jaringan tubuh. Pada pencernaan terlibat serangkaian proses mekanis dan kimia dan dipengaruhi oleh banyak faktor (Anggorodi, 1985). Sistem pencernaan terdiri dari saluran pencernaan dan organ asesoris. Saluran pencernaan merupakan organ yang menghubungkan dunia luar dengan dunia dalam tubuh hewan, yaitu proses metabolik di dalam tubuh. Saluran pencernaan ayam terdiri dari mulut, *esophagus*, *crop*, *proventriculus*, *gizzard*, *duodenum*, usus halus, *caecum*, *rektum*, *kloaka* dan *vent*. Sementara organ asesoris terdiri dari pankreas dan hati (Supriyatna. dkk, 2005).

Ayam mengambil makanannya dengan paruh dan kemudian terus ditelan. Makanan tersebut disimpan dalam tembolok atau *crop* untuk dilunakkan dan dicampur dengan getah pencernaan di *proventriculus* dan kemudian di giling di empedal atau *gizzard*. Tidak ada enzim pencernaan yang dikeluarkan oleh empedal ayam. Fungsi utama alat tersebut adalah untuk memperkecil ukuran partikel-partikel makanan. Dari empedal makanan bergerak melalui lekukan usus yang disebut *duodenum*, yang secara anatomis sejajar dengan pankreas. Pankreas mempunyai fungsi penting dalam pencernaan ayam seperti halnya pada spesies-

spesies lainnya. Pankreas menghasilkan getah pankreas dalam jumlah banyak yang mengandung enzim-enzim amilolitik, lipolitik dan proteolitik. Enzim-enzim tersebut berturut-turut menghidrolisa pati, lemak, proteosa dan pepton. Empedu hati yang mengandung amilase, memasuki *duodenum*. Bahan makanan bergerak melalui usus halus yang dindingnya mengeluarkan getah usus. Getah usus tersebut mengandung erepsin dan beberapa enzim yang memecah gula. Erepsin menyempurnakan pencernaan protein, dan menghasilkan asam-asam amino, enzim yang memecah gula mengubah disakarida ke dalam gula-gula sederhana (monosakarida) yang kemudian dapat diasimilasi tubuh. Penyerapan dilaksanakan melalui vili usus halus. Ayam tidak mengeluarkan urine cair. Urine pada unggas mengalir ke dalam kloaka dan dikeluarkan bersama-sama dengan feses. Warna putih yang terdapat pada kotoran ayam sebagian besar adalah asam urat, sedangkan nitrogen urin pada mamalia adalah urea. Saluran pencernaan yang relatif pendek pada unggas digambarkan pada proses pencernaan yang relatif cepat (lebih kurang empat jam) (Anggorodi, 1985).

2.1.3. Ransum Ayam Petelur

Pakan merupakan bahan makanan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, hewan ataupun bahan lain yang diberikan kepada ternak. Pakan tersebut diberikan kepada ternak dalam bentuk ransum. Ransum dibuat dari beberapa bahan baku makanan dari berbagai sumber, yang disusun dengan cara-cara tertentu, kandungan nutrisinya disesuaikan dengan kebutuhan ayam (Sudarmo, 2003). Supriyatna dkk. (2005) mengemukakan, pakan adalah campuran berbagai macam

bahan organik dan anorganik yang diberikan kepada ternak untuk memenuhi kebutuhan zat-zat makanan yang diperlukan bagi pertumbuhan, perkembangan dan reproduksi. Agar pertumbuhan dan produksi maksimal, jumlah dan kandungan zat-zat makanan yang diperlukan ternak harus memadai. Anggorodi (1985) mendefinisikan ransum sebagai makanan yang disediakan bagi hewan untuk 24 jam. Suatu ransum seimbang menyediakan semua zat makanan yang dibutuhkan untuk memberi makan hewan selama 24 jam.

Sudarmono (2003) berpendapat bahwa ransum bagi ayam *starter*, remaja, dewasa kesemuanya harus memenuhi dua persyaratan yaitu teknis dan ekonomis. Secara teknis ransum yang diberikan harus memenuhi persyaratan sebagai berikut; mengandung semua nutrisi yang diperlukan ayam dalam imbalan yang serasi, lebih-lebih kandungan protein dan energinya, sebagian besar bahan di dalam ransum mudah dicerna, bahan baku yang digunakan dalam penyusunan ransum tidak cacat, tidak tengik, tidak berjamur, tidak lembab, tidak menggumpal, tidak berbau, dan tidak dipalsukan dengan bahan-bahan lain. Secara ekonomis atau dari segi harga, ransum tersebut tidak terlampau mahal, sehingga peternak masih dapat menikmati keuntungan.

Banyak penelitian mengenai kebutuhan protein ayam petelur menunjukkan bahwa ayam petelur yang diberikan ransum dengan kandungan protein kasar 14% mengakibatkan penurunan yang signifikan terhadap performa produksi ayam petelur yang diberi ransum dengan kandungan protein kasar 16% dan 18% (Bunchasak *et al.*, 2005). Gheng Zou and Wu (2005) melaporkan bahwa protein

memiliki pengaruh yang signifikan pada produksi telur, berat telur, dan konversi pakan.

2.1.4. Daya Cerna Protein Ayam

Daya cerna makanan didefinisikan sebagai perbandingan zat makanan yang tidak diekskresikan di dalam feses dengan yang diekskresikan dalam feses dan diasumsikan zat-zat makanan yang diabsorpsi oleh hewan (McDonald *et al.*, 1988). Proses mencerna adalah proses penguraian zat-zat makanan dalam saluran pencernaan untuk diserap dan digunakan oleh jaringan-jaringan tubuh. Proses ini berlangsung secara mekanis dan kimia sehingga banyak faktor yang mempengaruhinya (Anggorodi, 1985). Sistem pencernaan terdiri dari saluran pencernaan dan organ asesoris. Saluran cerna unggas terdiri dari mulut, *oesophagus*, *crop*, *proventriculus*, *gizzard*, usus halus, *caecum*, *rectum*, *cloaca* dan *vent*. Sementara organ asesoris terdiri dari pankreas dan hati (Supriyatna dkk., 2005).

Pakan masuk melalui rongga mulut kemudian ditelan dan disimpan dalam tembolok (*crop*) untuk dilunakkan dan diproses oleh getah pencernaan saat masuk *proventriculus*. Gumpalan pakan diproses secara mekanis di empedal (*gizzard*) untuk memperkecil ukuran partikel pakan. Dari empedal partikel-partikel bergerak melalui lekukan *duodenum*, dimana partikel ini diproses oleh enzim-enzim yang diproduksi pankreas. Getah pankreas mengandung enzim-enzim amilolitik, lipolitik dan proteolitik, yang berturut-turut menghidrolisa pati, lemak, proteosa dan pepton. Empedu hati yang mengandung amilase, memasuki *duodenum*. Partikel berlanjut bergerak melalui usus halus yang dindingnya mengeluarkan

getah usus mengandung erepsin dan enzim-enzim pemecah gula. Erepsin menyempurnakan pemecahan protein menjadi asam-asam amino, sedangkan enzim pemecah gula mengubah disakarida menjadi monosakarida yang kemudian dapat diasimilasi tubuh. Proses absorpsi zat makanan dikerjakan oleh *villi* usus halus. Urine pada unggas mengalir ke dalam kloaka dan dikeluarkan bersama-sama dengan feses. Warna putih yang terdapat pada kotoran ayam sebagian besar adalah asam urat. Saluran pencernaan yang relatif pendek pada unggas menggambarkan proses pencernaan yang relatif cepat yaitu lebih kurang empat jam (Anggorodi, 1985).

Rymarz (1979) dalam Bock *et al.* (1989) mengemukakan bahwa absorpsi protein paling intensif terjadi pada segmen usus halus yaitu antara *duodenum* dan *diverticulum Meckel's*. Leeson dan Zubair (2007) menyatakan pH optimum yang dibutuhkan untuk pencernaan protein di usus halus unggas adalah 5,8-6,8. Caspary (1992) berpendapat bahwa asimilasi protein dalam usus berlangsung dalam tiga fase, yaitu fase *luminal*, fase *brush border* dan fase *cytoplasmic*. Fase *luminal* diawali dengan denaturasi protein di dalam lambung akibat produksi HCl yang menyebabkan suasana asam. Pada fase *luminal* terjadi pemecahan polipeptida oleh *pancreatic protease like trypsin, chymotrypsin, elastase* dan *carboxypeptidase*, enzim-enzim tersebut dihasilkan oleh pankreas dalam bentuk inaktif. Aktifasi enzim-enzim diatas distimulasi oleh enterokinase. Hasil akhir pemecahan protein pada fase *luminal* adalah oligopeptida dan asam amino. Fase *brush border* adalah kelanjutan dari fase *luminal*, oligopeptida dan asam amino diabsorpsi oleh *brush border* kemudian akan berlanjut pada fase *cytoplasmic*

dimana hasil pemecahan absorpsi protein akan mencapai sirkulasi sistem vena porta.

Hal-hal yang menyebabkan menurunnya daya cerna protein pada ayam antara lain adanya zat anti nutrisi yang secara alami terkandung dalam bahan pakan dan pengaruh pemrosesan pakan. Zat anti nutrisi secara signifikan mengurangi nilai nutrisi suatu bahan pakan, pada banyak kasus hal ini menyebabkan penurunan pencernaan bahan tersebut. Pemanasan merupakan faktor utama yang menyebabkan kerusakan protein selama pemrosesan bahan pakan. Hal ini dikarenakan proses pemanasan akan merusak asam-asam amino yang sensitif terhadap panas sehingga akan mengurangi nilai nutrisi bahan tersebut (Leeson dan Zubair, 2007). Tillman dkk. (1998) juga mengemukakan bahwa beberapa faktor yang dapat mempengaruhi daya cerna adalah 1) komposisi pakan, daya cerna berhubungan erat dengan komposisi kimiawi. Bahan pakan yang mempunyai serat kasar tinggi akan mempunyai pencernaan yang rendah, 2) imbalanced protein, jika imbalanced protein turun maka akan mengakibatkan bahan makanan cepat melewati saluran pencernaan sehingga menyebabkan turunnya daya cerna dari pakan tersebut, 3) perlakuan terhadap pakan, misal pemotongan, penggilingan dan pemanasan. Bahan yang digiling dapat mempertinggi pencernaan dari bahan pakan tersebut karena memberikan permukaan yang lebih luas terhadap getah pencernaan unggas, 4) jenis hewan, bahan pakan dengan serat kasar rendah dapat dicerna dengan baik oleh hewan, 5) jumlah pakan, penambahan jumlah pakan yang dimakan mempercepat arus makanan dalam usus sehingga mengurangi pencernaan bahan pakan.

2.1.5. Kekebalan Tubuh Ayam

2.1.5.1 Kekebalan Humoral dan Sintesis Antibodi

Sistem kekebalan tubuh ayam, pada dasarnya melibatkan dua organ utama yaitu thymus dan bursa fabricius. Thymus, kelenjar berlobus yang berada di sepanjang leher ayam. Fungsi dari organ thymus berkorelasi dengan pembentukan sel T. Bursa Fabricius, organ limfoid yang terletak di dorsal kloaka dan berfungsi pada penyediaan sel B. Pada akhirnya keberadaan sel B berkorelasi positif dengan produksi antibodi (Riddell, 2007).

Kekebalan imun humoral ditandai dengan disintesisnya antibodi oleh sel plasma yang merupakan proses lanjutan adanya antigen atau benda asing di dalam tubuh. Antibodi disintesis dan disekresikan oleh sel plasma atau AFC (*Antibody Forming Cells*) yang merupakan hasil pembelahan dan diferensiasi sel B setelah terjadi aktivasi akibat pengenalan terhadap antigen (Riddell, 2007).

Disisi lain, kekebalan imun primer merupakan respon imun yang terbentuk untuk yang pertama kalinya setelah tubuh kontak dengan antigen dan ditandai dengan meningkatnya konsentrasi antibodi. Ig M adalah antibodi yang muncul pertama kali yang kemudian diikuti oleh Ig G. Adapun kekebalan imun sekunder terbentuk setelah ada kontak dengan antigen yang sama dan ditandai dengan peningkatan konsentrasi Ig G sebagai antibodi yang dominan. Dibanding dengan kekebalan imun primer, konsentrasi antibodi yang dihasilkan pada kekebalan imun sekunder jauh lebih besar (Roitt, 1993).

Antigen yang masuk ke dalam tubuh akan dipresentasikan oleh sel-sel yang disebut *Antigen Presenting Cells* (APC) dalam bentuk *Major*

Histocompatibility Complex-II (MHC-II). Presentasi antigen atau fragmen antigen oleh APC dan adanya aktivasi sel T diperlukan suatu proses aktivasi dan diferensiasi sel B menjadi sel plasma. Selanjutnya, sel plasma dapat mensintesis dan mensekresikan antibodi. Sel B diaktivasi oleh antigen atau fragmen antigen pada permukaan APC dengan perantara interleukin -1 (IL-1) yang dihasilkan oleh APC dan interleukin -4 (IL-4) yang dihasilkan oleh sel T (Roitt, 1993).

Dibandingkan dengan respon antibodi primer, respon imun sekunder menunjukkan peningkatan kadar dan afinitas antibodi yang lebih tinggi. Hal ini dimungkinkan karena ada kemampuan “mengingat” dari sel B memori. Ingatan ini tidak ditentukan pada respon imun sekunder terhadap antigen yang tidak tergantung sel T atau *T-independent*. Antigen tak tergantung sel T dapat menginduksi respon imun primer tanpa peran sel T, respon imun sekunder yang timbul setelah kontak dengan antigen yang sama tidak menunjukkan peningkatan kadar antibodi yang berarti karena mirip dengan respon imun primer (Roitt,

Antibodi yang baru disintesis memiliki sifat yang dapat mengenali antigen yang merangsang sintesisnya dan berikatan erat membentuk kompleks antigen-antibodi. Peningkatan imunoglobulin atau antibodi terjadi pada keadaan infeksi kronis, penyakit parasitik, penyakit kolagen, jenis penyakit hepar tertentu dan kelainan autoimun. Sedangkan penurunan imunoglobulin atau antibodi dijumpai maghma serta pada malnutrisi protein diet (Murray *et al.*, 1993).

Pada saluran pencernaan, Ig A dibuat oleh sel plasma dalam jaringan limfoid usus. Sebagian besar Ig A berdifusi langsung ke dalam lumen usus. Saat proses difusi, Ig A bergabung dengan komponen sekretori yang diproduksi oleh sel epitel usus. Dalam jumlah yang cukup, Ig A juga berdifusi ke dalam sirkulasi porta dan dibawa ke hati. Hepatosit membuat komponen sekretori dan kemudian menggabungkannya ke dalam membran yang berlaku sebagai reseptor Ig A. Dengan demikian, Ig A yang berasal dari darah terikat pada hepatosit, diserap ke dalamnya dan melintasi sitoplasma hepatosit untuk dilepas ke dalam kanalikuli empedu. Empedu sangat kaya akan Ig A, dan menjadi jalan utama bagi Ig A untuk mencapai lumen usus. Rupanya hal ini juga menjadi jalan bagi materi asing yang terikat pada Ig A yang bersirkulasi untuk dapat dihilangkan dari tubuh (Tizard, 1987).

Ig A adalah imunoglobulin yang banyak mengandung unsur karbohidrat yang cenderung membentuk polimer. Komponen yang paling sering terdapat pada Ig A adalah dimer yang terdiri dari dua unit 7S yang dihubungkan oleh "rantai J". Pada hewan, Ig A merupakan imunoglobulin utama yang terdapat dalam cairan tubuh. Itulah sebabnya Ig A berperan sangat penting dalam perlindungan saluran-saluran intestinal, respirasi dan urogenital, kelenjar susu dan mata, terhadap invasi mikroba. Ig A tidak mengaktivasi kaskade komplemen dan juga tidak bertindak sebagai opsonin, tetapi dapat mengaglutinasi partikulat antigen dan menetralisasi virus. Diperkirakan cara kerja Ig A adalah mencegah melekatnya antigen pada permukaan tubuh (Tizard, 1987).

2.1.5.2. Kekebalan Pada Saluran Pencernaan

Saluran pencernaan bisa dimungkinkan sebagai tempat utama rangsangan antigen pada hewan. Partikel antigen seperti bakteri relatif mudah menembus selaput lendir usus, sehingga memperoleh jalan untuk menuju ke pembuluh laktal dan pembuluh porta. Partikel tersebut akhirnya terperangkap masing-masing di dalam simpul limfe mesenterik dan hepar.

Ig A adalah imunoglobulin yang dominan diproduksi oleh sel B di Peyer's patch, tonsil, dan jaringan limfoid submukosal lainnya (Parslow *et al.*, 2001). Tonsil dan Peyer's patch terdiri dari jaringan limfe yang relatif terorganisasi, mempunyai semua komponen yang dibutuhkan untuk menyusun tanggapan kebal, yaitu sel T, sel B dan makrofag. Ig A banyak dibentuk di dalam simpul limfe yang dapat ditemukan pada dinding usus, di dalam kelenjar ludah dan di dalam kantung empedu (Tizard, 1987).

2.2. *Chlorella* (Ganggang Hijau)

2.2.1. Tinjauan Umum *Chlorella*

Kata *chlorella* berasal dari bahasa Latin *chlor* yang berarti hijau dan *ella* yang berarti kecil. *Chlorella* adalah suatu sel yang sangat kecil dan berwarna hijau. Warna hijau ini disebabkan karena *chlorella* sangat kaya akan kandungan klorofil. *Chlorella* berasal dari ganggang hijau yang merupakan kumpulan tumbuhan bersel satu, berkoloni atau bersel banyak, tidak mempunyai akar, batang atau daun sebenarnya (Steenblock, 2000).

Chlorella berada di bumi sejak 2,5 milyar tahun yang lalu. Keberlangsungan hidup *chlorella* sampai ke zaman modern merupakan tanda kestabilan genetik,

bentuk, ukuran, dan sifat dinding sel yang kuat. Hal ini yang membuat *chlorella* mudah menyesuaikan diri terhadap pengaruh luar dalam waktu yang lama sehingga *chlorella* bisa ditemukan di perairan tropik, subtropik, dan kutub (Suriawiria, 2002).

Chlorella memiliki bentuk bervariasi. Ada yang berbentuk bulat, ada juga yang berbentuk bulat lonjong dengan ukuran diameter sebesar 2-8 mikron, mempunyai inti dan bersel tunggal. Diameter inti sel *chlorella* sebesar 0,3-0,5 mikron. *Chlorella* berkembang biak secara aseksual dengan cara membelah diri dan membentuk autospora. Proses pembentukan autospora diawali dengan pembelahan sel dewasa menjadi 2-4-8, kemudian masing-masing sel berkembang menjadi autospora (Suriawiria, 2002). Dikatakan pula bahwa *chlorella* dapat dibiakkan dalam medium sederhana dengan waktu pembelahan yang relatif singkat, sekitar 4-14 jam.

Proses pembelahan *chlorella* terjadi melalui empat tahap yaitu : tahap pertama merupakan fase pertumbuhan (*growth phase*) yang ditandai dengan terjadinya peningkatan autospora sebagai hasil peningkatan produk fotosintesis. Tahap kedua merupakan fase pemasakan awal (*early ripening phase*) yang merupakan persiapan pembelahan sel. Tahap ketiga merupakan fase pemasakan akhir (*post ripening phase*) di mana sel membelah menjadi dua. Tahap keempat merupakan fase pembelahan (*division phase*) di mana autospora dibebaskan (Suriawiria, 2002).

Dinding sel *chlorella* sangat tebal (14 nanometer) dan tersusun dari tiga lapisan yaitu lapisan luar yang mengandung banyak selulosa, lapisan tengah yang

merupakan lapisan paling tebal dan lapisan dalam. *Chlorella* sulit dicerna karena adanya dinding sel yang kuat tersebut. Hal ini yang menjadi penyebab mengapa pada tahun 1977 *chlorella* baru digunakan sebagai makanan kesehatan di Amerika Serikat setelah ditemukannya mesin pemecah dinding sel yaitu Dynomill oleh Beyerinck (Steenblock, 2000).

2.2.2. Klasifikasi *Chlorella*

Isnansetyo dan Kurniastuti (1995) mengemukakan bahwa pembagian spesies *Chlorella* selain berdasar karakteristik selnya, dapat pula dibedakan berdasarkan habitat tempat hidupnya. Adapun klasifikasi *Chlorella* adalah sebagai berikut (Fairchild *et al*, 1998) :

Kingdom	: Phytae
Filum	: Chlorophycota
Klas	: Chlorophyceae
Ordo	: Chlorococcales
Famili	: Oocystaxae
Genus	: Chlorella
Spesies	: <i>C. vulgaris</i> , <i>C. phyrenoidosa</i> , <i>C. conglomerate</i> , <i>C. simplex</i> , <i>C. ellipsoids</i> , <i>C. miniata</i> , <i>C. variegata</i> , <i>C. parasita</i> , <i>C. conductrix</i> , <i>C. acuminata</i> , <i>C. saccharophyla</i> , <i>C. faginea</i> , <i>C. Prothecoides</i> .

2.2.3. Kandungan Nutrisi *Chlorella*

Isnansetyo dan Kurniastuti (1995) melaporkan bahwa variasi kandungan nutrisi dalam berbagai jenis phytoplankton dipengaruhi oleh intensitas cahaya, lama pencahayaan dan temperatur lingkungan disekitarnya. *Chlorella* mengandung, (1) klorofil (hijau daun) yang lebih tinggi dibandingkan dengan tumbuhan lain, (2) dinding sel yang mampu merangsang kekebalan tubuh, (3) kandungan vitamin terutama vitamin A (beta karoten) yaitu 18g setiap 100g, (4) kadar protein lebih dari 53%, tertinggi dibandingkan makhluk hidup lain, (5) adanya *Chlorella Growth Factor* (CGF) yang bersifat khusus dan hanya ada pada *Chlorella* (Suriwiria, 2002). Kandungan *Chlorella* secara umum adalah sebagai berikut:

Tabel 2.1. Analisis Umum Kandungan *Chlorella*

Kandungan	Kadar (%)
Air	3,6
Protein	60.5
Lemak	11.0
Karbohidrat	20.1
Serat	0.20
Abu	4.60
Klorofil	1.7
Kalori	421.0 Kkal/100g

Sumber : Steenblock, 2000

Chlorella juga mempunyai kandungan yang bermanfaat dalam selnya (dalam takaran g/100 g) antara lain protein (55,6), lemak (13,3), karbohidrat (4,7), klorofil (4,2), dan juga mineral seperti Ca, P, Fe, betakaroten, asam askorbat, thiamin, riboflavin, niasin, asam pantotenat, asam folat, biotin, vitamin B6, B12 dan vitamin E (Suriawiria, 2002). Dinding sel *Chlorella* sangat kokoh dengan tebal 14 nm dan tersusun dari tiga lapisan, yaitu lapisan luar yang banyak

mengandung selulosa, lapisan tengah yang merupakan lapisan paling tebal dan lapisan dalam (Steenblock, 2000). Kandungan vitamin dan mineral pada *Chlorella* dapat dilihat dalam tabel 2.2. dan tabel 2.3.

Tabel 2.2. Kandungan vitamin *Chlorella*

Jenis Vitamin	Kadar (mg/100g)
Vitamin A aktif	51,30 IU
Vitamin B1	1,70
Vitamin B2	4,30
Vitamin B6	1,40
Vitamin B12	0,13
Vitamin C	10,40
Vitamin E	1,50
Niasin	23,80
Asam Pantotenat	1,10
Biotin	0,20
Inositol	132,00
Asam Folat	0,009

Sumber : Jensen, 1987

Tabel 2.3. Kandungan Mineral *Chlorella*

Jenis Mineral	Kadar(mg/100g)
Kalsium	221,0
Magnesium	315,0
Zat Besi	130,0
Seng	71,0
Fosfor	895,0
Yodium	0,4

Sumber : Jensen, 1987

Asam lemak *Chlorella* tersusun dari 18 asam lemak jenuh dan sisanya adalah asam lemak tak jenuh. Lemak sangat penting adanya dalam pakan karena berfungsi sebagai sumber asam lemak essensial, sebagai karier vitamin-vitamin larut lemak dan sebagai sumber energi. Berikut ini adalah beberapa jenis asam lemak dalam *Chlorella* yang dapat dilihat dalam tabel 2.4.

Tabel 2.4. Kandungan Asam Lemak *Chlorella*

Asam Lemak	%
Tak Jenuh	81,2
Jenuh	18,2
C 14:0	0,6
C 14:1	0,9
C 14:2	0,9
C 16:0	15,6
C 16:1	9,1
C 16:2	5,5
C 16:3	17,1
C 18:0	2,0
C 18:1	10,0
C 18:2	15,5
C 18:3	22,8

Sumber : Steenblock, 2000

Protein *Chlorella* tersusun atas 20 macam asam amino penyusun utama (Steenblock, 2000). Adapun kandungan protein dalam *Chlorella* jauh lebih banyak dibandingkan dengan biji-bijian dan kacang-kacangan. Sebagai contoh, kandungan protein dalam kedelai adalah 39%, sedangkan gandum, jagung, dan beras kandungannya jauh lebih rendah lagi, berturut-turut hanya 10%, 9%, dan 7%. Dibandingkan dengan kandungan protein dalam daging dan susu, *Chlorella* masih lebih unggul. Jensen dalam Lavinia (2003) melaporkan kandungan protein dalam daging sapi, telur, ikan, dan ayam berturut-turut 26%, 13%, dan 24%. Komposisi asam amino *Chlorella* dapat dilihat dalam tabel 2.5.

Tabel 2.5. Kandungan Asam Amino *Chlorella*

Asam Amino	%	Asam Amino	%
Lisin	3,46	Alanin	4,80
Histidin	1,29	Sistin	0,38
Arginin	3,64	Valin	3,64
Asam Aspartik	5,20	Metionin	1,45
Treonin	2,7	Isoleusin	2,63

Serin	2.78	Leusin	5.26
Asam Glutamat	6.29	Tirosin	2.09
Prolin	2.39	Fenilalanin	3.08
Glisin	3.40	Ornitin	0.06
Triptofan	0.59		

Sumber : Steenblock, 2000

2.2.4. Pengaruh *Chlorella* terhadap Kekebalan Tubuh

Chlorella disebut sebagai “Great Normalizer” karena berkemampuan mengembalikan berbagai fungsi tubuh ke taraf normal. Mekanisme stimulasi kekebalan tubuh *Chlorella* mirip dengan cara kerja interleukin-1 dan interleukin-2 pada limfosit yaitu meningkatkan aktivitas sel-sel yang lemah sehingga sel-sel tersebut menjadi lebih aktif berfungsi (Steenblock, 2000). Quereshi dalam Gitt (2001) mengatakan bahwa sejenis ganggang hijau dapat meningkatkan aktivitas sel. *et al.* (2001) berspekulasi bahwa peningkatan NK sel ini seiring dengan peningkatan produksi sitokin. Sitokin berperan dalam perangsangan proliferasi sel-sel prekursor yaitu sel induk atau *hematopoietic stem cells* (HSC) yang menurunkan semua elemen selular darah, termasuk sel darah merah yang memtransportasi oksigen, juga platelet yang menyebabkan pembekuan darah di dalam jaringan yang rusak, dan sel-sel darah putih dalam sistem imun (Raman, 2001). Dalam penelitian lain Gitt *et al.* (2001) melaporkan ekstrak ganggang hijau dapat berperan sebagai *immunostimulant* dan berdampak pada peningkatan jumlah sel monosit maupun makrofag. Molekul yang berperan dalam proses ini adalah *novel polysaccharide* yang terdapat dalam ganggang hijau.

CGF (*Chlorella Growth Factor*) dan beta karoten *Chlorella* dapat merangsang aktivitas limfosit T *helper* (sel Th) (Sakiman, 2002). Limfosit T

jumlah sel monosit maupun makrofag. Molekul yang berperan dalam proses ini adalah *novel polysaccharide* yang terdapat dalam ganggang hijau.

CGF (*Chlorella Growth Factor*) dan beta karoten *Chlorella* dapat merangsang aktivitas limfosit T *helper* (sel Th) (Sukiman, 2002). Limfosit T *helper* akan menghasilkan zat-zat yang dapat merangsang aktifitas kekebalan tubuh, salah satunya adalah limfosit B yang menghasilkan plasma yang berdiferensiasi menjadi antibodi (Wirosasputro, 2000). Pemakaian CGF pada hewan menurut Jensen (dalam Steenblock, 2000) dapat juga merangsang pertumbuhan dan perbaikan jaringan. CGF terkonsentrasi di dalam substansi genetik dan merupakan kompleks nukleopeptida yang mengandung belerang serta enam molekul gula. Penyusun peptidanya adalah asam glutamate, alanin, prolin, manosa, rhamnosa, arabinosa dan silosa (Steenblock, 2000). Lebih jauh lagi *Chlorella* dapat meningkatkan jumlah interferon dalam darah, menghasilkan anti-tumor, anti-bacteria dan anti-viral *effects*. Selain meningkatkan daya tahan tubuh, *Chlorella* melalui kandungan klorofil yang tinggi dapat pula menghambat pertumbuhan sel tumor, dengan cara merangsang aktivitas makrofag dan bersifat anti proteolitik (Wirosasputro, 2000).

Sharon (1999) melaporkan, pemberian sejenis ganggang laut (*Schizothyrium sp*) dalam pakan dapat meningkatkan konsentrasi asam lemak linoleat, dokosaheksonat dan transvaccenat dalam air susu sapi perah. Asam-asam tersebut merupakan asam lemak tak jenuh yang mempunyai peranan penting dalam menjaga kesehatan tubuh bila dikonsumsi oleh manusia. Metabolisme asam γ linolenat dan linoleat, dapat membentuk asam arakidonat. Cook dalam Suryani

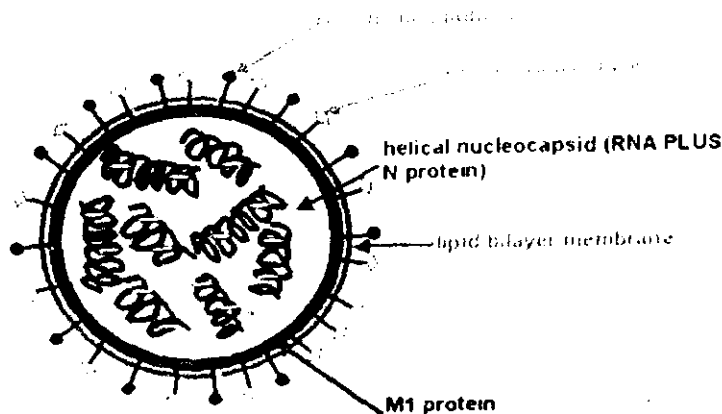
(2006) menyatakan, ketiga asam lemak ini cukup berperan dalam proses metabolisme tubuh terutama yang berkaitan dengan respon kekebalan tubuh.

2.3. Avian Influenza

2.3.1. Virus Avian Influenza

Avian Influenza (AI) merupakan jenis penyakit viral yang dapat menyerang unggas di seluruh dunia, penyakit ini menyerang saluran pernafasan, pencernaan dan sistem syaraf dari unggas (Easterday and Beard, 1984;. Ratriastuti, 2004). Penyebab penyakit AI adalah virus yang termasuk famili *Orthomyxoviridae*, yang merupakan virus RNA dan mempunyai aktivitas hemaglutinin dan neuramidase. Virus Influenza terdiri atas tiga tipe antigenik yang berbeda yaitu tipe A, B, dan C. Setiap tipe dari virus Influenza ditentukan oleh struktur antigenik protein nuklei dan matriks antigen, yang saling berhubungan diantara virus Influenza tertentu. Virus Influenza A ditemukan pada unggas, manusia, babi, kuda dan kadang-kadang pada mamalia lain, misalnya cerpelai, anjing laut dan ikan paus. Virus Influenza B dan C hanya ditemukan pada manusia (Tabbu, 2000). Rahardjo (2004) mengemukakan istilah AI untuk virus Influenza A yang menginfeksi unggas.

ORTHOMYXOVIRUSES



Gambar 2.1. Skema struktur Orthomyxovirus
 Sumber : www.cdc.gov/flu/avian/default.htm

Virus AI akan mati jika berada pada temperatur 56°C selama 3 jam atau berada pada temperatur 60°C selama 30 menit atau lebih. Sebaliknya virus ini akan tetap hidup dalam air dengan suhu 22°C selama 4 hari. Serta bisa hidup lebih dari 30 hari jika berada pada suhu nol derajat celcius.

Berdasarkan tipe patogena, virus AI dibedakan dalam dua kelompok, yaitu *Highly Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) yang bersifat ganas dan *Low Pathogenic Avian Influenza* (LPAI) yang bersifat kurang ganas

Virus HPAI mempunyai kesenangan (tropisme) untuk berkembang biak selain pada alat pernapasan dan pencernaan juga pada sistem syaraf dan peredaran darah sehingga mampu menyerang dan merusak hampir semua organ tubuh. Kematian akibat HPAI berlangsung cepat dan didahului dengan gejala pernapasan atau kadang tanpa gejala (perakut). (Harimoto dan Kawaoka, 2001).

Virus HPAI menunjukkan gejala kematian yang sangat tinggi, gangguan pernapasan, produksi telur berhenti atau menurun drastis, batuk, bersin, ngorok, sinusitis edema pada kepala dan muka, perdarahan jaringan subkutan diikuti sianosis kulit terutama pada kaki, kepala dan pial, serta diare dan gangguan syaraf.

AI di keluarkan dari hidung, mulut, konjungtiva dan kloaka unggas yang terinfeksi. Penularan bisa terjadi dengan kontak langsung dari unggas terinfeksi dan unggas peka melalui saluran pernapasan, konjungtiva, lendir dan tinja/ feses. Juga secara tidak langsung, misalnya melalui debu yang mengandung virus, pakan, air minum, petugas, peralatan kandang, sepatu, baju, kendaraan, truk pakan, pengendara, tukang tangkap ayam, ayam hidup, penjualan ayam terinfeksi di pasar.

2.3.2. Vaksinasi *Avian Influenza*

Pada beberapa negara, tindakan vaksinasi pada kasus AI telah terbukti keberhasilannya. Jenis-jenis virus yang digunakan untuk tindakan vaksinasi di Italy (H7N1 & H7N3), Mexico (H5N2), Pakistan (H7N3), Hong Kong (H5N1), Vietnam (H5N1) dan Indonesia (H5N1)).

Kebijakan penetapan vaksinasi ada dua garis besar, yaitu : (1) mereduksi kemungkinan infeksi, sehingga dibutuhkan dosis yang lebih tinggi dari virus untuk menginfeksi unggas yang telah divaksinasi dan (2), menurunkan secara signifikan jumlah virus pada unggas yang telah terinfeksi, sehingga mampu pula menurunkan jumlah virus yang mengkontaminasi lingkungan sekitarnya dan

unggas yang lain. Dan mampu pula mengurangi resiko tertular pada pekerja kandang dan orang yang berhubungan dengan unggas.

Vaksin AI inaktif dibuat dengan cara menumbuhkan virus Influenza pada telur ayam berembrio dan diinaktivasi secara kimiawi. Selanjutnya antigen viral yang terinaktivasi diformulasi dengan emulsi minyak adjuvan untuk merangsang respon imun. Keampuhan vaksin tergantung dari antigen vaksin dan virus lapangan dari tipe H yang sama (*homologous haemagglutinin*) (Breytenbach, 2005).

2.4. Metode Imunohistokimia

Imunohistokimia adalah suatu metode pewarnaan substansi bahan aktif di dalam jaringan dengan menggunakan prinsip-prinsip dasar imunologi yaitu pengikatan antigen pada antibodi. Hasil reaksi antigen dan antibodi ini dapat diidentifikasi pada spesimen karena antibodi diikat oleh suatu penanda yang dapat divisualisasikan, sehingga dapat menandai keberadaan bahan aktif tersebut di dalam sel.

Penelitian ini menggunakan kit dari DAKO LSAB yang dilengkapi dengan teknik avidin-biotin complex. Teknik ini merupakan modifikasi dari metode tidak langsung dimana satu antigen diikat oleh antibodi dengan dua tahap. Antibodi primer, yaitu Anti-Chicken-Ig A langsung berikatan dengan antigen, selanjutnya antibodi primer berikatan dengan antibodi sekunder yaitu Mouse Anti-Chicken yang telah mengalami biotinisasi. Avidin adalah glikoprotein yang mempunyai afinitas ikatan yang tinggi dengan biotin. Antibodi sekunder telah terkonjugasi

dengan biotin yang dapat berikatan dengan molekul avidin. Setelah antibodi primer berikatan dengan antibodi sekunder yang telah terikat biotin, cairan kromogen diteteskan pada preparat.

Kromogen adalah suatu zat yang dapat memvisualisasikan substansi penanda pada ikatan imunokompleks pada pewarnaan imunohistokimia. Kromogen yang digunakan pada kit ini adalah DAB (3,3-diaminobenzidine tetrahydrochloride). Kromogen ini dapat memvisualkan warna coklat keemasan pada preparat yang diamati.

BAB 3

MATERI DAN METODE

BAB 3 MATERI DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan selama sembilan minggu, mulai 2 April sampai dengan 3 Juni 2007 di Kandang Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Kegiatan penimbangan pakan dilakukan di Laboratorium Anatomi, pemeriksaan protein kasar (Analisis Proksimat) dilakukan di Laboratorium Makanan Ternak dan Pembuatan preparat histologi dilakukan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Bahan penelitian

Hewan coba penelitian ini berupa 21 ekor ayam petelur strain *Lohman* dari P.T. Adiguna Bintang Lestari yang berumur 16 minggu dengan rata-rata berat badan 1400 gram.

Bahan penelitian berupa desinfektan kandang dengan merk dagang Rodalon dari P.T. Pyridam Veteriner dan vaksin *Avian influenza* inaktif *subtype* H₅ produksi P.T. Medicon, pakan jadi menggunakan ransum komplit Butiran Ayam Petelur (Layer II) CP 524-2 produksi P.T. Charoen Pokphand Indonesia dengan kandungan protein kasar 18–19%, kandungan zat gizi lain dan bahan ransum dapat dilihat pada Lampiran 1.

Suplemen yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Crude Chlorella* dalam bentuk cairan yang diperoleh dari Balai Budidaya Air Payau desa Pecaron kabupaten Situbondo. Konsentrasi *Chlorella* adalah $\pm 10^7$ untuk setiap 1 cc cairan *Chlorella*.

Bahan kimia untuk pemeriksaan analisis proksimat adalah tablet *Kjeldhal*, H_2SO_4 , NaOH 40%, NaOH 0,1 N, Asam Borat, Indikator Metil Merah, H_2SO_4 0,1 N dan Aquadest.

Alat penelitian yang dibutuhkan adalah timbangan digital, kantong plastik, kertas pH meter, kandang batere dengan ukuran panjang 50 cm, lebar 30 cm dan tinggi 40 cm, lengkap dengan tempat pakan dan minum. Pada pemeriksaan feses diperlukan Labu *Kjeldhal* 100cc, pemanas labu *Kjeldhal*, spatula, timbangan elektrik sartorius, gelas ukur, labu ukur 250 cc, erlenmeyer 300 cc, labu destilasi 500 cc, pendingin *Liebiegh*, pipa bengkok, sumbat karet, pembakar bunsen dan kawat kasa.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Perlakuan Hewan Coba

Ayam yang baru datang diberi air gula selanjutnya dipelihara untuk adaptasi selama satu minggu. Pada hari kedelapan hingga akhir penelitian, hewan coba diberi perlakuan. Satu minggu setelah perlakuan dimulai ayam divaksinasi dengan vaksin *Avian influenza* dan diikuti dengan vaksinasi booster I dan II masing-masing berjarak dua minggu dari vaksinasi yang pertama.

3.3.2. Metode Pengelompokan Hewan Coba

Ayam diundi secara acak untuk ditempatkan dalam kandang perlakuan yang dibagi menjadi tiga perlakuan dengan tujuh kali ulangan. 21 ekor ayam diundi secara acak untuk mendapatkan perlakuan P₀, P₁ dan P₂. Perlakuan P₀ adalah hewan coba yang mendapat pakan basal (kandungan protein 18%) tanpa mendapat substitusi, sebagai kontrol, perlakuan P₁ adalah hewan coba yang mendapat pakan basal dengan substitusi 2,5% *Crude Chlorella*, perlakuan P₂ adalah hewan coba yang mendapat pakan basal dengan substitusi 5% *Crude Chlorella*. Pencampuran pakan untuk perlakuan P₁ (substitusi *Crude Chlorella* 2,5%) dilakukan dengan cara mencampurkan 25 gram *Chlorella* ke dalam 975 gram pakan basal. Sedangkan pencampuran pakan untuk perlakuan P₂ (substitusi *Crude Chlorella* 5%) dilakukan dengan cara mencampurkan 50 gram *Chlorella* ke dalam 950 gram pakan basal.

3.3.3. Panen dan Pengambilan Sampel

Pengambilan feses dilakukan pada minggu ketujuh setelah perlakuan. Feses dari tiap hewan coba ditampung dalam *tray* yang terbuat dari triplek yang diletakkan di dasar kandang. Feses dikumpulkan setiap hari selama satu minggu, sampel yang terkumpul ditimbang beratnya selanjutnya diambil sedikit (± 10 gram) kemudian dimasukkan ke dalam plastik yang telah dilabel dan disimpan di dalam *freezer*. Setelah hari ketujuh setiap feses yang terkumpul dari masing-masing hewan coba dicampur secara homogen

kemudian diambil sedikit (\pm 10 gram) untuk dilakukan Analisis Proksimat (Lihat Lampiran 5) guna menentukan kadar protein kasar.

Penentuan pencernaan protein diperoleh dari data konsumsi ransum, bahan kering serta protein ransum dan juga berat feses, bahan kering dan protein feses. Kecernaan protein kasar dapat dirumuskan berikut ini (Anggorodi, 1979) :

Kecernaan Protein Kasar =

$$\frac{(\text{Konsumsi BK} \times \% \text{ Protein Ransum}) - (\text{BK feses} \times \% \text{ Protein Feses}) \times 100\%}{(\text{Konsumsi BK} \times \% \text{ Protein Ransum})}$$

Panen (pemotongan ayam) dilakukan pada saat ayam berumur 24 minggu (minggu kedelapan setelah perlakuan), yaitu pada tanggal 7 Juni 2007. Ayam dimatikan dengan cara memotong saluran nafas pada daerah leher. Sampel *ileum* diperoleh dengan cara memotong organ *ileum*, 10 cm di anterior *caecum* sepanjang 5 cm dan kemudian diletakkan dalam media transport. Sampel yang terkoleksi, selanjutnya dilakukan pembuatan preparat immunohistokimia di Laboratorium Patologi Universitas Airlangga untuk kemudian diperiksa di bawah mikroskop.

3.3.4. Metode Imunohistokimia

Imunohistokimia adalah suatu metode pewarnaan substansi bahan aktif di dalam jaringan dengan menggunakan prinsip-prinsip dasar imunologi yaitu pengikatan antigen pada antibodi. Hasil reaksi antigen dan antibodi ini dapat diidentifikasi pada spesimen karena antibodi diikat oleh suatu penanda yang dapat divisualisasikan, sehingga dapat menandai keberadaan bahan aktif tersebut di dalam sel.

Penelitian ini menggunakan kit dari DAKO LSAB yang dilengkapi dengan teknik avidin-biotin complex. Teknik ini merupakan modifikasi dari metode tidak langsung dimana satu antigen diikat oleh antibodi dengan dua tahap. Antibodi primer, yaitu Anti-Chicken-Ig A langsung berikatan dengan antigen, selanjutnya antibodi primer berikatan dengan antibodi sekunder yaitu Mouse Anti-Chicken yang telah mengalami biotinisasi. Avidin adalah glikoprotein yang mempunyai afinitas ikatan yang tinggi dengan biotin. Antibodi sekunder telah terkonjugasi dengan biotin yang dapat berikatan dengan molekul avidin. Setelah antibodi primer berikatan dengan antibodi sekunder yang telah terikat biotin, cairan kromogen diteteskan pada preparat.

Kromogen adalah suatu zat yang dapat memvisualisasikan substansi penanda pada ikatan imunokompleks pada pewarnaan imunohistokimia. Kromogen yang digunakan pada kit ini adalah DAB (3,3-diaminobenzidine tetrahydrochloride). Kromogen ini dapat memvisualkan warna coklat keemasan pada preparat yang diamati. Penghitungan jumlah Ig A pada mukosa *ileum* ayam dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 100 x. Ig A divisualisasikan warna coklat keemasan

dengan titik hitam (inti sel B) di tengahnya. Jumlah inti sel B yang dikelilingi warna coklat keemasan inilah yang diamati dan dihitung dengan *counter*. Dalam satu preparat dibagi menjadi sembilan lapang pandang.

3.4. Variabel Penelitian

3.4.1. Variabel Bebas

Pakan basal yang disubstitusi dengan Crude Chlorella dengan dosis tertentu.

3.4.2. Variabel Tergantung

Kecernaan protein dan jumlah Ig A pada mukosa ileum ayam petelur.

3.4.3. Variabel Terkendali

1. Ayam petelur strain *Lohman* dari P.T. Adiguna Bintang Lestari yang berumur 16 minggu dengan rata-rata berat badan 1400 gram.
2. Pakan ayam petelur.
3. Air minum ayam petelur.
4. Vaksinasi AI.

3.4. Analisis Data

Uji statistik yang digunakan dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan uji F (Anova), uji lanjutannya adalah dengan uji Duncan dilakukan bila pada unit-unit perlakuan diperoleh perbedaan yang bermakna dengan tingkat signifikansi 5 % (Kusriningrum, 1990).

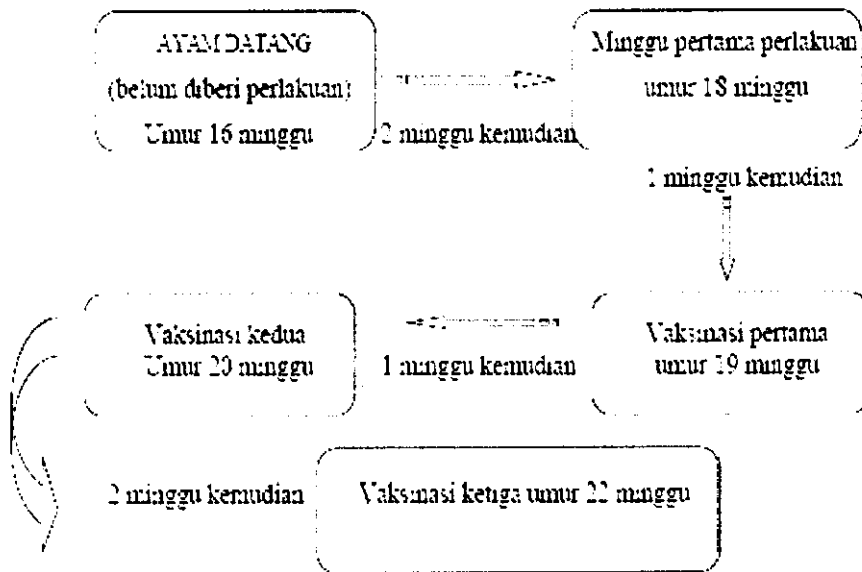
3.5 Rancangan Penelitian

Penelitian ini mempunyai tipe perancangan Rancangan Acak Lengkap (RAL) . Setiap unit perlakuan diulang sebanyak tujuh kali ulangan (lihat tabel 3.1).

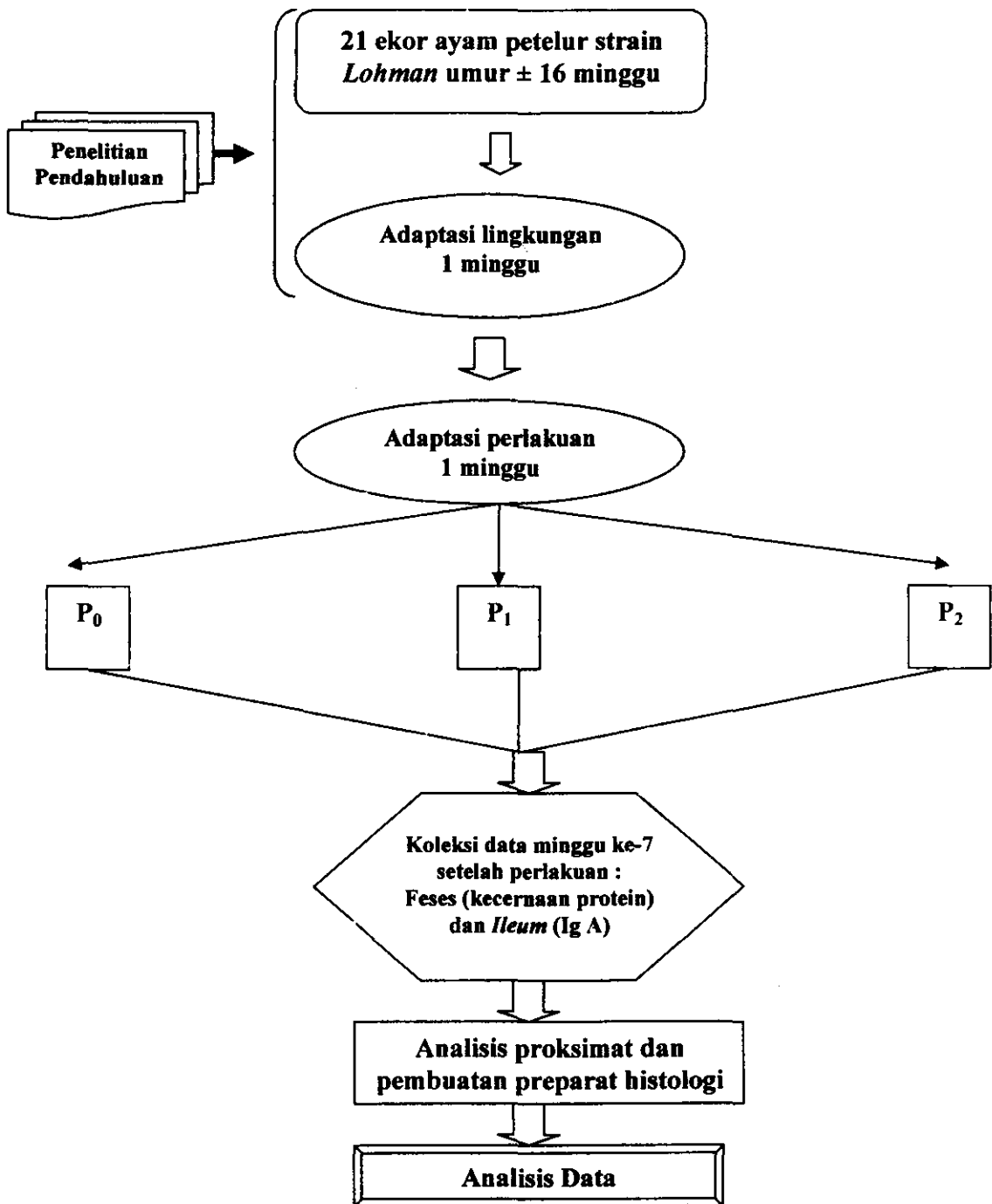
Tabel 3.1.Rancangan penelitian

	(P ₀)1	(P ₁)1	(P ₂)1
	(P ₀)2	(P ₁)2	(P ₂)2
	(P ₀)3	(P ₁)3	(P ₂)3
	(P ₀)4	(P ₁)4	(P ₂)4
	(P ₀)5	(P ₁)5	(P ₂)5
	(P ₀)6	(P ₁)6	(P ₂)6
	(P ₀)7	(P ₁)7	(P ₂)7

Tabel 3.2. Jadwal vaksinasi



3.6. Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur penelitian

BAB 4

HASIL PENELITIAN

BAB 4 HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian Pengaruh Pemberian Pakan Basal Yang Disubstitusi Crude *Chlorella* Terhadap Kecernaan Protein dan Jumlah Ig A Pada Mukosa Ileum Ayam Petelur Yang divaksin AI, adalah sebagai berikut :

4.1 Kecernaan Protein

Penentuan kecernaan protein diperoleh dari data konsumsi ransum, bahan kering serta protein ransum dan juga berat feses, bahan kering dan protein feses sehingga diperoleh rata-rata nilai kecernaan protein pada ayam petelur. Hasil penelitian dengan perlakuan P_0 yaitu ransum protein basal (kandungan protein $\pm 18\%$) tanpa mendapat substitusi *Chlorella*, P_1 yaitu ransum protein basal dengan penambahan 2,5% substitusi *Chlorella*, P_2 yaitu ransum protein basal dengan penambahan 5% *Chlorella* terhadap kecernaan pada ayam petelur adalah sebagai berikut:

Tabel 4.1. Rata-rata nilai kecernaan protein ayam petelur yang diberi substitusi *Chlorella*

Perlakuan	Nilai Kecernaan Protein (%)	Nilai Kecernaan Protein (Transformasi \sqrt{Y})
P_0	91,41	5,48 ^b
P_1	94,77	5,58 ^a
P_2	91,92	5,49 ^b

Keterangan : a dan b superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) antar perlakuan

Berdasarkan tabel 4.1, rata-rata pencernaan protein pada ayam petelur yang diberi substitusi *Chlorella* tertinggi ditunjukkan oleh P₁ (pemberian substitusi CC 2,5% dalam pakan basal) yaitu sebesar 94,77% dan berbeda nyata dengan dua perlakuan yang lain. Adapun yang terendah ditunjukkan oleh perlakuan P₀ (kontrol) yaitu sebesar 91,41%. Analisis statistik lebih lanjut memperlihatkan tidak ada perbedaan yang nyata antara perlakuan P₀ (kontrol) dengan P₂ (pemberian substitusi 5% CC dalam pakan basal), walaupun tabel 4.1 menunjukkan pencernaan protein yang berbeda.

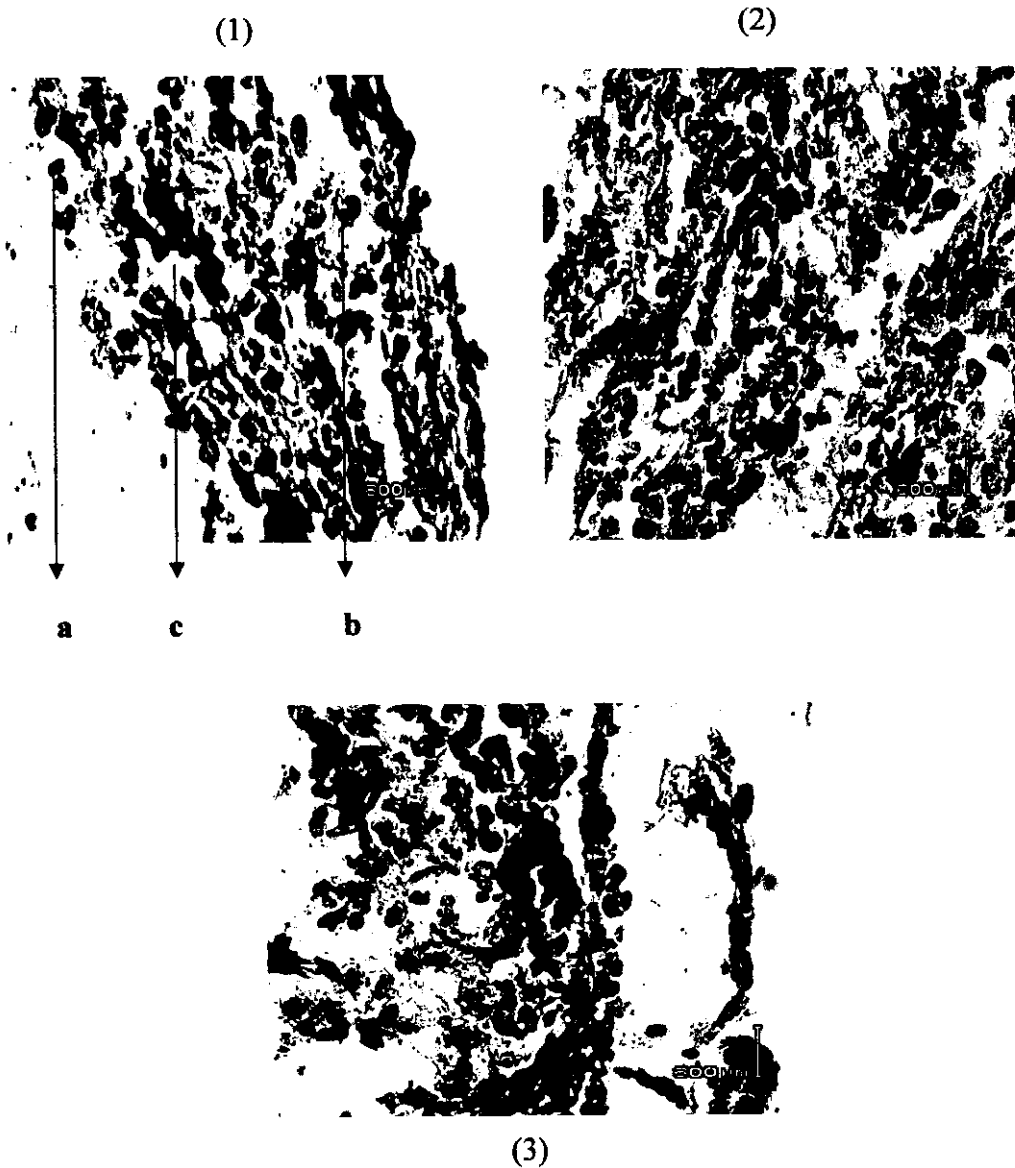
4.2 Jumlah Sel Yang Mengekspresikan Ig A pada *Ileum*

Preparat imunohistologi yang telah dibuat kemudian diperiksa dengan menggunakan mikroskop perbesaran 100x. Dari hasil pengamatan didapatkan hasil rata-rata dan simpangan baku jumlah Ig A pada mukosa *ileum* ayam petelur yang ditunjukkan pada tabel 4.2.

Tabel 4.2. Rata-rata dan simpangan baku jumlah sel yang mengekspresikan Ig A pada mukosa *ileum* dari tiga perlakuan pada ayam petelur.

Perlakuan	Rata-rata dan simpangan baku jumlah Ig A pada mukosa <i>ileum</i> ayam
P0	103,33 ± 7,08 ^b
P1	173,90 ± 6,24 ^a
P2	124,51 ± 16,62 ^b

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara perlakuan ($p < 0,05$).



Gambar 4.1. Foto preparat histologi dengan pewarnaan immunohistokimia pada mukosa ileum dengan pembesaran 400x.

Keterangan:

(1) Perlakuan 0

(2) Perlakuan 1

(3) Perlakuan 2

(a) Inti sel limfosit B

(b) Ekspresi Ig A yang ditunjukkan dengan warna coklat di sitoplasma

(c) Lamina propia

Berdasarkan tabel 4.1, rata-rata jumlah Ig A pada ayam petelur yang diberi suplementasi *Chlorella* tertinggi ditunjukkan oleh P₁ (pemberian suplementasi CC 2,5% dalam pakan basal) yaitu sebesar $173,90 \pm 6,24$ dan berbeda nyata dengan dua perlakuan yang lain. Adapun yang terendah ditunjukkan oleh perlakuan P₀ (kontrol) yaitu sebesar $103,33 \pm 7,08$. Analisis statistik lebih lanjut memperlihatkan tidak ada perbedaan yang nyata antara perlakuan P₀ (kontrol) dengan P₂ (pemberian suplementasi 5% CC dalam pakan basal), walaupun tabel 4.1 menunjukkan jumlah Ig A yang berbeda.

BAB 5

PEMBAHASAN

BAB 5 PEMBAHASAN

Berdasarkan tabel 4.1 dan 4.2, suplementasi *Crude Chlorella* sebesar 2,5% memberikan hasil yang optimum. Tampaknya, protein-protein yang terkandung pada *Crude Chlorella* 2,5% mampu meningkatkan pencernaan protein dan jumlah Ig A. Pada tabel 4.1, perlakuan P1 memiliki total rata-rata yang tertinggi yaitu sebesar 94,77. Sedangkan pada tabel 4.2, perlakuan P₁, yaitu pemberian substitusi *crude chlorella* 2,5% memiliki total rata-rata jumlah sel yang mengekspresikan Ig A yang tertinggi sebesar $173,90 \pm 6,24$. Pada prosentase *crude chlorella* 2,5% inilah sistem imun mukosa dari usus mampu merespons dengan cukup baik dan bekerja secara efektif dibanding prosentase pemberian *crude chlorella* yang lain. Pada pemberian *crude chlorella* dengan prosentase 2,5% ini ayam lebih mudah mencerna *crude chlorella* dibanding pada pemberian suplementasi *crude chlorella* 5%, sehingga *arginin* yang terkandung dalam *crude chlorella* pun mampu tercerna dengan cukup baik. Kebutuhan *arginin* akan meningkat saat ayam dalam keadaan stress, salah satu penyebab stress adalah defisiensi protein. *Arginin* adalah salah satu asam amino essensial yang mampu memicu terbentuknya antibodi. *Chlorella* mengandung *Arginin* sebesar 3,64% (Steenblock, 2000). Menurut Abdulakalykova dan Ruiz (2006), *arginin* dapat memicu sel T helper, diikuti sekresi sitokin sehingga proliferasi dan diferensiasi sel B berlangsung dan pada akhirnya mampu meningkatkan titer antibodi. Peningkatan respons imun juga dimungkinkan karena adanya peranan dari dinding sel *chlorella* yang mampu merangsang sistem kekebalan tubuh dan

merangsang limfosit dinding usus, sehingga mampu merangsang respons imun mukosa usus (Kastono, 1992 dikutip dari Wirosaputro, 1998).

Rata-rata jumlah sel yang mengekspresikan IgA dari perlakuan P₂ yaitu pada kelompok ayam yang mendapat substitusi *crude chlorella* 5% pada pakan basal sebesar $124,51 \pm 16,62$ ternyata menunjukkan penurunan dibandingkan suplementasi *crude chlorella* 2,5%. Hal ini dapat terjadi akibat dari serat kasar yang terkandung dalam pakan kelompok P₂ lebih tinggi. Kandungan serat kasar *crude chlorella* adalah sebesar 0,2% (Steenblock, 2000). Kandungan serat kasar dalam pakan sebanding dengan kemampuan ayam untuk mencerna pakan tersebut. Persentase serat kasar maksimal yang dapat dicerna ayam adalah 6%. Semakin tinggi persentase *crude chlorella* yang diberikan tentu semakin tinggi pula serat kasar yang terkandung, sehingga kemampuan ayam untuk mencerna *crude chlorella* tersebut juga semakin menurun, yang akhirnya berdampak pada tidak optimalnya efek imunitas yang ditunjukkan oleh ekspresi IgA di *ileum* ayam tersebut.

Puvadolpirod dan Thaxton (2000) melaporkan bahwa stres fisiologis ayam diinduksi oleh *adrenocorticotropin* (ACTH) sehingga kadar kortikosteroid serum darah meningkat. Kondisi ini memicu terjadinya penurunan daya cerna protein ayam broiler. *Chlorella* dapat menurunkan konsentrasi kortikosteroid dalam serum darah, sehingga dimungkinkan dapat mengurangi stres dan meningkatkan pencernaan protein (Hasegawa *et al.*, 2000).

Disisi lain, kemampuan ayam untuk mencerna protein yang terkandung dalam pakan, berkorelasi dengan peningkatan Ig A. Pada proses pencernaan,

protein pakan yang merupakan molekul kompleks akan dipecah menjadi molekul sederhana dalam bentuk asam amino yang. Asam amino tersebut selanjutnya akan disintesis untuk membentuk enzim, hormon, komponen struktural, protein darah dari sel-sel badan dan jaringan lainnya (Tillman dkk., 1998). Protein dalam pakan setelah masuk ke dalam saluran pencernaan akan mengalami perombakan oleh enzim-enzim hidrolitik. Protein ini akan mengalami denaturasi dalam *proventrikulus*, sehingga ikatan peptide yang peka terhadap pepsin menjadi pecah, selanjutnya polipeptida-polipeptida yang didapat dari hasil pencernaan dalam *proventrikulus* akan dirombak dalam usus halus oleh tripsin, kimotripsin dan oleh enzim-enzim **elastase, aminopeptidase, karboksipeptidase dan peptidase-peptidase** yang khas dalam rongga atau mukosa usus halus menjadi asam amino. Asam-asam amino ini selanjutnya diserap masuk ke peredaran darah (Wahju, 1985; Tillman dkk., 1991; Lehninger, 1997). Protein serum darah khususnya globulin berasal dari asam amino di dalam pakan yang kemudian disintesis 50% di hati, sedangkan sisanya dibentuk dalam jaringan limfoid dan sel-sel retikuloendotelial lain (Coles and Campbell, 1986; Murray *et al.*, 1993).

Vaksinasi *Avian Influenza* yang diberikan pada seluruh hewan coba sedikit banyak memberikan efek stres. Pada saat ternak mengalami stres, keseimbangan mikroorganisme dalam saluran pencernaan terganggu, mengakibatkan sistem pertahanan tubuh menurun dan bakteri-bakteri patogen dapat berkembang dengan cepat. Di samping itu, vaksinasi akan merangsang terbentuknya antibodi. Keith and Jeejehoy (1997) mengatakan, protein yang cukup sangat diperlukan untuk mewujudkan tanggap kebal. Yang dimaksud tanggap kebal di sini adalah antibodi

yang dihasilkan oleh tubuh karena adanya vaksinasi. Pada keadaan kekurangan protein, respon imun seluler maupun humoral akan menurun. Hal ini ditunjukkan dengan manurunnya jumlah limfosit T, limfosit B, sel plasma dan antibodi. Menurunnya respon imun seluler maupun humoral ini tampaknya terjadi bila kandungan protein pakan sangat rendah sehingga tidak mencukupi kebutuhan protein untuk hidup pokok (Subowo, 1993). Dengan adanya suplementasi *Chlorella* dalam pakan, maka kebutuhan protein dalam tubuh ayam akan tercukupi.

Pada penelitian ini, peneliti mengamati adanya peningkatan jumlah sel yang mengekspresikan Ig A pada mukosa ileum ayam yang diberikan substitusi *Chlorella* dalam ransum. Peningkatan ini terjadi karena fungsi dari Ig A adalah melindungi permukaan luar yang terpapar karena adanya mikroorganisme. Dalam jumlah yang cukup, Ig A juga berdifusi ke dalam sirkulasi porta dan dibawa ke hati. Hepatosit membuat komponen sekretori dan kemudian menggabungkannya ke dalam membran yang berlaku sebagai reseptor Ig A. Sehingga Ig A yang berasal dari darah terikat pada hepatosit, diserap ke dalamnya dan melintasi sitoplasma hepatosit untuk dilepas ke dalam kanalikuli empedu. Empedu sangat kaya akan Ig A, dan menjadi jalan utama bagi Ig A untuk mencapai lumen usus. Rupanya hal ini juga menjadi jalan bagi materi asing yang terikat pada Ig A yang bersirkulasi untuk dapat dihilangkan dari tubuh. Diperkirakan cara kerja Ig A adalah mencegah melekatnya antigen pada permukaan tubuh (Tizard, 1987).

Pernyataan di atas sesuai dengan dengan pendapat Roitt (2003), bahwa Ig A melapisi mikroorganisme yang masuk ke dalam tubuh ayam khususnya di mukosa

ileum agar mikroorganisme tersebut tidak melekat pada sel mukosa, sehingga menghambat mikroorganisme tersebut masuk ke jaringan tubuh. Ig A juga berikatan dengan banyak sekali antigen terlarut yang berasal dari bahan makanan dan mikroba sehingga jalan masuknya ke dalam tubuh terhambat.

Peningkatan respons imun juga dimungkinkan karena adanya peranan dari dinding sel *Chlorella* yang mampu merangsang sistem kekebalan tubuh dan merangsang limfosit dinding usus, sehingga mampu merangsang respon imun mukosa usus (Kastono, 1992 dikutip dari Wirosaputro, 1998). Dinding sel *Chlorella* bersifat rigid dan banyak mengandung *polysacharida*, seperti *N-acetyl glukosamine* dan *N-acetyl galactosamine*. Telah diketahui bahwa kedua senyawa tersebut berpotensi sebagai *immunomodulator* (Naff and Ware, 2008; Takeda, 2000). Gitte *et al.*, (2001) melaporkan, sari kasar ganggang hijau dapat bertindak sebagai *immunostimulant* dan menstimulus aktivitas sel monosit dan makrofag. Molekul yang berperan dalam proses ini adalah *novel polysaccharide*. Sifat antigen ini adalah dapat mengaktifkan sel B. Sehingga diasumsikan molekul ini berperan dalam peningkatan jumlah limfosit.

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah sebagai berikut

1. Ada peningkatan nilai pencernaan protein pada ayam petelur saat ditambahkan *Chlorella* 2,5% sebagai substitusi.
2. Ada peningkatan jumlah Ig A di mukosa ileum ayam petelur saat ditambahkan *Chlorella* 2,5% sebagai substitusi.

6.2. Saran

Dari hasil penelitian, disarankan untuk menggunakan biakan murni *Chlorella* dengan konsentrasi 2,5% untuk lebih mengefisiensikan program vaksinasi, yaitu untuk meningkatkan respon imun dan mengurangi stres pasca vaksinasi khususnya vaksinasi *Avian Influenza* pada ayam petelur.

RINGKASAN

RINGKASAN

Upaya menghindari gejala stres pada ayam petelur dilakukan dengan pemberian pakan tambahan sebagai suplemen dalam ransum. Suplementasi pakan diharapkan dapat meningkatkan pertumbuhan serta memperbaiki efisiensi pakan (Anggorodi, 1985). *Chlorella* berpotensi sebagai *feed supplement* karena mengandung gizi yang seimbang serta mudah dibudidayakan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengamati bahwa Suplementasi *Chlorella* dalam ransum protein basal dapat memberikan korelasi yang positif antara daya cerna protein kasar dengan jumlah Ig A pada ileum ayam petelur.

Penelitian dilakukan selama sembilan minggu di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Hewan coba yang digunakan adalah 21 ekor ayam petelur strain *Lohman* yang berumur 16 minggu dengan rata-rata berat badan 1400 gram yang dibagi secara acak menjadi tiga perlakuan, ketiga perlakuan tersebut adalah sebagai berikut adalah P₀ yaitu ransum protein basal (kandungan protein ± 18%) tanpa mendapat suplementasi, P₁ yaitu ransum protein basal dengan penambahan 2,5% *Chlorella*, dan P₂ yaitu ransum protein basal dengan penambahan 5% *Chlorella*.

Pemberian perlakuan pada hewan coba diberikan selama tujuh minggu. Pada minggu pertama untuk adaptasi lingkungan, minggu kedua untuk adaptasi perlakuan dan pada minggu kesembilan dilakukan pengambilan data. Data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis dengan menggunakan metode *Analysis of Variant* (Anova) dan uji jarak Duncan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa :

1. Ada peningkatan nilai pencernaan protein pada ayam petelur saat ditambahkan *Chlorella* 2,5% sebagai substitusi.
2. Ada peningkatan jumlah Ig A di mukosa ileum ayam petelur saat ditambahkan *Chlorella* 2,5% sebagai substitusi.

Disarankan perlu dievaluasi lebih lanjut terhadap penggunaan suplementasi *Chlorella* terhadap bahan-bahan organik lain yang terkandung dalam pakan seperti pencernaan serat kasar dan lemak. Perlu pula diteliti pengaruh pemberian suplementasi *Chlorella* terhadap kinerja ayam petelur yang meliputi *feed consumption rate* (FCR), serta kualitas telur yang dihasilkan seperti warna kuning telur, kadar kolesterol, lemak dan protein telur serta ketebalan cangkang telur. Disarankan pula untuk menguji dan memanfaatkan *Chlorella* yang merupakan hasil budidaya sendiri, sehingga dapat lebih meningkatkan efisiensi nilai ekonomis pemeliharaan ayam petelur.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Abdulakalykova, S; C.A Ruiz; Mendez A., 2006 *Arginin and Vitamin E Improve the Cellular and Humoral Immune Respon of BroilerChicken*. Int.J.of Poultry Sci. 5(2.2121-127)
- Anggorodi, R. 1985. *Kemajuan Mutakhir dalam Ilmu Makanan Ternak Unggas*. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press). Jakarta
- Ayanwale, B.A., M Kpe and V.A. Ayanwale. 2006. The Efect Supplementing *Saccharomyces cerevisiae* in The Diets on Egg Laying and Egg Quality Characteristic of Pullets. International Journal of Poultry Science 5 (8) : 759 - 763
- Bains, B. S. 1996. The Rule of Vitamin C in Stress Management. World Poultry Missed. Volume 12 no 4
- Baskoro. 2007. *Efek Supplementasi Crude Chlorella Pada Pakan Rendah Protein Terhadap Ekspresi Ig A Di Ileum Ayam Petelur Yang Divaksin Avian Influenza*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Bock, H. D., B. O. Egum, A. G. Low, O. Simon, and T. Zebrowska. 1989. *Protein Metabolism in Farm Animals Evaluation, Digestion, Absorbtion and Metabolism*. Oxford Science Publications. Berlin
- Breytenbach, J. H. 2005. *Guidelines for The Administration of Nobilis Influenza H5 Vaccine as Part of an Avian Influenza Control Strategy*. Intervet International. Netherlands.
- Bunchasak, C., K. Poosuwan, R. Nurkraew, K. Markvichitr, and A. Chototesa, 2005. Effect Dietary Protein on Egg Production and Immunity Responses of Lying Hens During Peak Production Period. International Journal of Poultry Science 4 (9): 701-708 (Abstract). (www.pjbs.org/jjps/ab445.htm)
- Caspary, W. F. 1992. *Phsiology and Pathophysiology of Intestinal Absortion*. Am J Clin Nutr 1992 ; 55. 299S-308S. <http://www.ajcn.org/cgi/reprint/55/1/299S.pdf>
- Coles, E.H. and T.W. Campbell.1986. *Avian Clinical Pathology*. In : Veterinary Clinical Pathology. W.B. Saunders Company Ltd.Tokyo.

- Dubey, D.R. and E.J. Yunis.1996. Aging and Nutritional Effect on Immune Function in Human. In : Basic and Clinical Immunology 8th ed. Prentice Hall International Inc. USA.
- Easterday, B.C and C.W. Beard. 1984. *Avian Influenza in: M.S. Hofstad, with H.J. Barner, B.W. Calnex, W.M. Yoger, Jr. Disease of Poultry. 8th Ed* The Iowa Univercity Press. Ames. Iowa. 482-496
- Fairchild, J., D. Shane, Ruessler and A. Ron Carlson. 1998. Comparative Sensitivity of Five Macrophytes and Six Spesies of Algae to Trazine, Metribuzine Alachlor and Metachlor. Columbia Enviromental Research Center. Columbia
- Gheng Zou, S. And Y. Z. Wu, 2005. Effects of Protein and Supplemental Fat on Performance of Lying Hens (Abstract). *International Journal of Poultry Science* 4 (12): 986-989. www.pjbs.org/jips/ab419.htm
- Gitte S.J, Donald, Ginsberg M.S, Drapeau, 2001. Blue-green algae as an immunoenhancer and biomodulator.
- Harimoto, T and Y. Kawaoka. 2001. *Pandemic Threat Posed by Avian Influenza A Viruses. Journal Virology* 14;129-149
- Hasegawa, T., K. Noda, S. Kumamoto, Y. Ando, A. Yamada dan Y. Yoshikai. 2000. *Chlorella vulgaris* culture supernatant (CVS) reduces Physiological stress-induced apoptis in thymocytes of mice. *Int.J. Immunopharmacol.* Nov. 22 (11) : 877-855
- Isnansetyo, A., dan Kurniastuti. 1995. Teknik Kultur Phitoplankton dan Zooplankton. Pakan Alami untuk Pemernihan Organisme Laut. Penerbit Kanisius. Yogyakarta
- Jensen, B. 1987. *Chlorella Germ of Orient The Dynamic Food Discovery Health and Healing 1st Ed.* Benard Jensen. Escandido
- Keith, M.F. and K.N. Jeejebhoy. 1997. Immunonutrition. University of Toronto, Ontario. Canada
- Kusriningrum. 1990. Perancangan Percobaan : Dasar Rancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Universitas Airlangga. Surabaya
- Kromo. 2007. Dicampur Sebelum Dicampur. *Poultry Indonesia*. Vol.II: 12-14.
- Lavinia. 2003. *Pengaruh Pemberian Chlorella Terhadap Kadar Total Protein Darah pada Ayam Pedaging*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya

- Leeson, S and A. K. Zubair. 2007. *Digestion in Poultry I : Protein and Fats*. Departement of Animal and Poultry Science University of Guelph. Canada. [http://www.alimet.org/Public/Library/TechPaper.asp? ID=99&selLocale=zh-CN](http://www.alimet.org/Public/Library/TechPaper.asp?ID=99&selLocale=zh-CN) (diakses 21 Juni 2008)
- Lehninger, A.L. 1997. *Dasar-Dasar Biokimia*. Alih Bahasa Thenawidjaja M. Jilid I Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Maynard, L.A. ; J.K. Loosli ; H.F. Hirtz and R.G. Warner. 1979. *Animal Nutrition*. 7th ed. T.M.H. Publishing Company Ltd. New Delhi. 136- 143.
- McDonald, P., R. A. Edwards and J. F. D. Greenhalgh. 1988. *Animal Nutrition* 4th Edition. Longman Scientific & Technical. United Kingdom
- Murray, R. K., D. K. Granner., Peter A. Mayes., Victor, W. Rodwell. 1993. *Biokimia Harper*. Edisi 24. Terjemahan : Dr. Andry. H. Editor : Dr. Alexander, H. S. Penerbit Buku Kedokteran. ECG. Jakarta.
- Parslow, G., P.S. Daniel., I. Abba and B.I. John. 2001. *Medical Immunology*. The McGraw-Hill Company. USA.
- Puvadolpirod, S., and J. P. Thaxton, 2000. Model of Physiological Stress in Chickens. 4. *Digestion and Metabolism*. www.poultryscience.org/ps/paperpdfs/00/ps00391.pdf
- Rahardjo, Y. 2004. *AI, Pencegahan, Pengendalian dan Pemberantasannya*. Gallus Indonesia Utama. Jakarta
- Rantam, F.A. 2001. *Imunologi (Komunikasi Sel Imun)*. Laboratorium Virologi dan Imunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Ratriastuti. 2004. *Mengenal Lebih Dekat AI*. Poultry Indonesia. Jan 43-45
- Riddell, Craigg. 2007. *Comparative Anatomy, Histology And Physiology Of The Chicken*. University of Saskatchewan. Canada. <http://www.westerncollegeofveterinarymedicine/UniversityofSaskatchewan.com>. (19 April 2007).
- Roitt. I. 2003. *Imunologi : Essential Immunology*. Edisi 8. Alih Bahasa : Alida Harahap dkk. Widya Medika. Jakarta.
- Sanderson, J.R., W.A. Walker. 1999. *Mucosal Barrier: An Overview*. In (Ogra PL, Mestecky J, Lamm ME, Strober W, Bienenstock J, McGhee JR, eds). *Mucosal Immunology*, 2nd ed. San Diego: Academic Press. 5-18.

- Schalm, O.W., Bernard F., Joseph G. Z. and N.C. Jain. 2000. Veterinary Hematology. 5th Ed. Lippincot Williams and Wilkins. Canada. 891- 896.
- Setyono, H., Kusrieningrum. Mustikoweni. T. Nurhajati, Agustono. M Arief, M Anam Al-Arif, M. Lamid. A. Monica S. dan W. Paramitha, L. 2003. Prosedur Analis Bahan Pakan Ternak. Laboratorium Makanan Ternak Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya
- Sharon, T.F., K.R. Martin , R.J. Beer, D.J. Schingoesthe dan A.R. Hippen. 1999. Dietary marine algae(*Schizotrium sp*) increase concentration of conjugated linolenic, docosahexaenoic and transvaccenic acids in milk of diary cows. J. Nutr. 129 : 2048-2052.
- Starr, C. And Taggart. 1995. Biology-The Unity and Diversity of Life 7^{ed} Ed. Wadsworth Publ. Comp. Washington
- Steenblock. 2000. Chlorella Makanan Sehat Alami. Cetakan Ke-tujuh. PT. Panebar Swadaya. Jakarta
- Suarez, D. L., Perdue, M. L., Cox, N., Rowe, T., Bender, C., Huang, J., Swayne, D. E. 1998. *Comparisons of Highly Virulent H5N1 Influenza A Viruses Isolated from Humans and Chickens from Hong Kong. J. Virol.*
- Sukiman, W. 2002. Chlorella makanan kesehatan global alami. Buku II. Cetakan pertama. Kanisius. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Supriyatna, E., U. Atmomarsono, R. Kartasudjana. 2005. Ilmu Dasar Ternak Unggas. PT Panebar Swadaya. Jakarta
- Suriawiria, U. 2002. Chlorella. www.kompas.com/kompas-cetak/0210/19/iptek/chlo10.htm (diakses 9 Januari 2008)
- Suryani, A.E. Gambaran Folikel dan Pulpa Merah Limpa pada Anak Ayam Broiler yang Mendapatkan Suplementasi Minyak Jagung Sebelum Vaksinasi Tetelo pada Umur Empat Hari dan Tujuh Hari (Skripsi). Fakultas Kedokteran Hewan Univewrsitas Airlangga. Surabaya
- Tabbu,R.C.2000.*Penyakit Ayam dan Penanggulangan Penyakit Bakterial, Mikal dan Viral.* Kanisius. Yogyakarta 238-243
- Tillman, A. D., H. Hartadi, S. Reksohadiprodjo, S. Lebdosoekojo. 1998. Ilmu Makanan Ternak Dasar. Cetakan 6. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Tizard I. 1987. *Pengantar Immunologi Veteriner.* Airlangga University Press. Surabaya.

- Tse, P. 2000. The Detoxification, Immunostimulation and Healing Properties of Chlorella. World Convention of Traditional Medicine and Acupuncture. Singapore.
- Valbuena, A.A. ; M. Diaz-Ewald ; M. De Villaroel ; N. Moniel ; A. Granados ; S. Diaz ; D. Salas and M. Livero. 1996. Immunologic Characteristic Of Undernutrition. Universidad Del Zulia, Maracaibo. Venezuela.
- Wahju, J. 1985. Ilmu Nutrisi Unggas. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 67-309.
- WHO. 2006. Strengthening Pandemic-Influenza Preparedness And Response, Including Application of The International Health Regulations. http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/pandemic_luprotocol. (3 Januari 2007).
- Wirosaputro, S. 1998. Chlorella Makanan Kesehatan Global Alami Buku I. Cetakan Pertama. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Woodward, B. 1998. Depression In The Quantity Of Intestinal Secretory IgA And In Expression Of The Polymeric Immunoglobulin Receptor In Protein Caloric Deficiency Of The Weanling Mouse. University Of Guelph, Ontario. Canada.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Analisis pakan komplit Butiran Ayam Petelur (Layer II)
CP 524-2 P.T. Charoen Pokphand Indonesia

Kandungan	Keterangan	Presentase
Air	Max	13,0
Protein	-	18 – 19
Lemak	Min	3,0
Serat	Max	6,0
Abu	Max	12,0
Calcium	Min	3,70
Phosphor	Min	0,60

Sumber : PT. Charoen Pokphand Indonesia

Bahan-bahan yang dipakai, antara lain :

Jagung, dedak, tepung ikan, bungkil kedelai, bungkil kelapa, tepung daging dan tulang, pecahan gandum, bungkil kacang tanah, canola, tepung daun, vitamin, calcium, fosfat dan trace mineral.

Antibiotik :

Zinc Bacitrasin

Lampiran 2. Hasil Analisis Proksimat pakan.

Perlakuan	Protein Kasar	Bahan Kering
P ₀	18%	89,92%
P ₁	20,10%	91,10%
P ₂	20,38%	91,73%

Sumber : Unit Layanan Pemeriksaan Laboratoris, Konsultasi dan Pelatihan
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga (2007)

Lampiran 3. Metode analisis protein kasar

Analisis Proksimat untuk menentukan kadar protein kasar dilakukan di laboratorium Makanan Ternak Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Analisis Proksimat menggunakan cara makro *Kjeldahl* (Setyono. Dkk, 2003). Urutan langkah-langkah analisis proksimat cara makro *Kjeldahl* adalah:

- 1) Menimbang sampel kurang lebih 0,5 gram di atas kertas yang telah diketahui beratnya, kemudian masukkan sampel kedalam labu *Kjeldhal*. Menambahkan kedalamnya tablet *Kjeldhal* $\frac{3}{4}$ bagian kemudian menambahkan 10 cc H_2SO_4 pekat
- 2) Memanaskan labu tersebut di atas pemanas *Kjeldhal* dalam almari asam. Pemanasan baru dihentikan bila sudah tidak berasap dan warna larutan menjadi hijau atau kuning jernih (membutuhkan waktu sekitar 1,5 jam). membiarkan beberapa saat sampai labu dingin
- 3) Memasukkan 50 cc *aquadest* ke dalam labu destilasi yang telah diisi dengan batu didih (pecahan kaca). Menuangkan larutan yang ada dalam labu *Kjeldhal* ke dalam labu destilasi. Labu *Kjeldhal* dibilas dengan 50 cc *aquadest* sedikit demi sedikit
- 4) Menambahkan 30 cc larutan NaOH 40% sedikit demi sedikit lalu ditutup dengan sumbat karet dan digoyang secara pelan (diusahakan tidak ada uap yang keluar dari labu destilasi)
- 5) Menyiapkan *erlenmeyer* yang telah diisi dengan 25 cc H_2SO_4 0,1 N dan 3 tetes indikator metil merah. Kemudian merangkai labu destilasi dengan pendingin *Liebiegh* menggunakan pipa bengkok. Uap NH_3 yang keluar

ditampung dalam *erlenmeyer* yang berisi larutan H_2SO_4 dan indikator tersebut

- 6) Mengalirkan air melalui pendingin *Liebig* dan nyalakan api bunsen. Proses destilasi dihentikan jika larutan dalam labu destilasi tinggal 1/3 bagian
- 7) Hasil destilasi yang ditampung dalam *erlenmeyer* dititrasi menggunakan NaOH 0,1 N sampai terjadi perubahan warna dari merah muda menjadi jingga
- 8) Membuat *blanco* yang terdiri dari larutan 25 cc H_2SO_4 0,1 N dan 3 tetes indikator metil merah kemudian dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N hingga terjadi perubahan warna
- 9) Menghitung kadar Protein Kasar dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar N} : \frac{\text{Titer blanco} - \text{Titer sampel} \times N \times 0,014 \times 100\%}{\text{Berat sampel}}$$

$$\text{Kadar Protein Kasar} : \text{Kadar N} \times 6,25$$

Lampiran 4. Nilai pencernaan protein ayam petelur yang diberi perlakuan
(dalam % dan setelah Transformasi \sqrt{Y})

Nilai pencernaan protein (%)

Ulangan	P ₀	P ₁	P ₂
1	90,44	96,53	95,83
2	92,05	95,94	93,23
3	94,83	93,69	87,56
4	86,91	94,78	92,16
5	92,92	93,92	90,75
6	91,92	94,55	91,59
7	90,84	93,97	92,36
Rata-rata	91,42	94,77	91,93
SD	2,45	1,08	2,51

Data transformasi \sqrt{Y}

Ulangan	P ₀	P ₁	P ₂
1	5,45	5,56	5,62
2	5,5	5,62	5,53
3	5,58	5,54	5,36
4	5,35	5,57	5,5
5	5,53	5,56	5,46
6	5,5	5,57	5,48
7	5,46	5,56	5,51
Rata-rata	5,48	5,579	5,494
SD	0,072	0,033	0,078

Lampiran 5. Jumlah Ig A pada mukosa ileum ayam yang diberi perlakuan.

Ulangan	P ₀	P ₁	P ₂
1	90,44	168,77	153,22
2	101,33	185,55	106,11
3	117,44	177,16	133,00
4	106,07	168,77	130,78
5	97,99	175,06	111,48
6	104,45	168,11	126,92
7	96,58	173,9	110,09
Rata-rata	103,33	173,90	124,51
SD	7,08	6,24	16,62

Summarize

Case Processing Summary^a

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
TGA * PERBEDAAN KADAR PROTEIN * PERBEDAAN KADAR CRUDE CHLORELLA	42	100,0%	0	,0%	42	100,0%

a. Limited to first 100 cases.

Case Summaries ^a

					IGA	
PERBEDAAN KADAR PROTEIN	BASAT	PERBEDAAN KADAR CRUDE CHLORELLA	CC0%	1	96.44	
				2	101.33	
				3	117.44	
				4	105.07	
				5	97.99	
				6	104.45	
				7	95.58	
				Total	Mean	103.3300
					Std. Deviation	7.08293
				CC2.5%	1	168.77
					2	185.55
					3	177.15
					4	168.77
					5	175.05
		6	168.11			
		7	173.90			
		Total	Mean	173.9031		
			Std. Deviation	6.24375		
		CC5%	1	153.27		
			2	105.11		
			3	133.00		
			4	130.78		
			5	111.48		
			6	125.92		
			7	116.09		
		Total	Mean	124.5141		
			Std. Deviation	16.62107		
		Total	Mean	133.9157		
			Std. Deviation	32.06659		
RENDAH PROTEIN		PERBEDAAN KADAR CRUDI CHLORELLA	CC0%	1	64.35	
				2	63.33	
				3	54.77	
				4	65.55	
				5	63.65	
				6	67.65	
				7	70.33	
				Total	Mean	64.3643
					Std. Deviation	4.90127
				CC2.5%	1	145.88
					2	119.00
					3	107.44
					4	144.98
					5	67.77
		6	67.77			
		7	145.88			
		Total	Mean	113.5314		
			Std. Deviation	36.25238		
		CC5%	1	117.33		
			2	87.44		
			3	74.65		
			4	103.40		
			5	91.27		
			6	145.33		
			7	128.95		
		Total	Mean	107.0485		
			Std. Deviation	25.25279		
		Total	Mean	94.9814		
			Std. Deviation	33.01970		
Total	Mean			114.4485		
	Std. Deviation			37.71359		

^a Limited to first 100 cases.

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	Value Label	N	
PERBEDAAN KADAR PROTEIN	1.00	BASAL	21
	2.00	RENDAH PROTEIN	21
PERBEDAAN KADAR CRUDE CHLORILLA	1.00	CC0%	14
	2.00	CC2.5%	14
	3.00	CC5%	14

Descriptive Statistics

Dependent Variable: IGA

PERBEDAAN	PERBEDAAN KADAR	Mean	Std. Deviation	N
BASAL	CC0%	103,3300	7,09293	7
	CC2.5%	173,9031	6,24376	7
	CC5%	124,3141	16,62102	7
	Total	133,9157	32,06620	21
RENDAH PROTEIN	CC0%	64,3643	4,90422	7
	CC2.5%	113,5314	36,26238	7
	CC5%	107,0486	26,26270	7
	Total	94,9814	33,04970	21
Total	CC0%	83,8472	21,04811	14
	CC2.5%	143,7172	40,07290	14
	CC5%	115,7813	22,44896	14
	Total	114,4486	37,71320	42

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: IGA

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	44267,670 ^a	5	8853,334	22,688	,000
Intercept	550136,000	1	550136,000	1406,770	,000
PROTEIN	13016,716	1	13016,716	40,788	,000
CC	26128,296	2	13064,148	32,197	,000
PROTEIN * CC	3221,638	2	1610,819	4,178	,024
Error	14088,220	36	391,340		
Total	69105,890	42			
Corrected Total	58344,890	41			

a. R Squared = .739 Adjusted R Squared = .720

Estimated Marginal Means

1. PERBEDAAN KADAR PRCTEIN

Dependent Variable: IGA

PERBEDAAN KADAR PROTEIN	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
BASAL	133,916	4,311	125,173	142,659
RENDAH PROTEIN	94,981	4,311	86,236	103,724

2. PERBEDAAN KADAR CRUDE CHLORELLA

Dependent Variable: IGA

PERBEDAAN KADAR CRUDE CHLORELLA	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
0,00%	83,847	5,289	73,149	94,565
0,0125%	113,717	5,289	103,079	124,355
0,025%	115,781	5,289	105,974	125,489

3. PERBEDAAN KADAR PRCTEIN * PERBEDAAN KADAR CRUDE CHLORELLA

Dependent Variable: IGA

PERBEDAAN KADAR PROTEIN	PERBEDAAN KADAR CRUDE CHLORELLA	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
BASAL	0,00%	103,339	7,463	88,189	118,473
	0,0125%	173,993	7,463	159,761	188,225
	0,025%	124,514	7,463	109,872	139,157
RENDAH PROTEIN	0,00%	64,364	7,463	49,222	79,507
	0,0125%	113,381	7,463	98,599	128,164
	0,025%	107,919	7,463	91,996	123,841

Post Hoc Tests

PERBEDAAN KADAR CRUDE CHLORELLA

Homogeneous Subsets

IGA

Dependent Variable: IGA

PERBEDAAN KADAR CRUDE CHLORELLA	N	Subset		
		1	2	3
0,00%	14	83,847 ^a		
0,0125%	14		115,781 ^b	
0,025%	14			113,717 ^c
Std.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares.

The error term is Mean Squared Error = 399,129.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 14,000.

Oneway**ANOVA**

IGA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	44266.670	5	8853.334	22.688	.000
Within Groups	14048.229	36	390.229		
Total	58314.899	41			

**Post Hoc Tests
Homogeneous Subsets**

IGA

Duncan^a

INTERAKSI ANTARA KADAR PROTEIN RENDAH PROTEIN-0 BASAL-CC0%	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
RENDAH PROTEIN-0 BASAL-CC0%	7	64.3643		
RENDAH PROTEIN-5 BASAL-CC5%	7		103.3300	
RENDAH PROTEIN-2 BASAL-CC5%	7		107.0486	
BASAL-CC2.5%	7		113.5314	
	7		124.5141	
	7			173.9031
Sig.		1.000	.073	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7.000.

Lampiran 5. Prosedur Pembuatan Sediaan Imunositokimia

Pembuatan sediaan imunohistokimia ini dilakukan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya dengan cara sebagai berikut :

a. Fiksasi dan Pencucian

Bertujuan untuk menghentikan proses metabolisme jaringan, mematikan kuman dan bakteri, menjadikan jaringan lebih keras sehingga mudah dipotong, mencegah terjadinya degenerasi.

Cara kerja :

1. Setelah diseksi, ileum diambil dan dimasukkan dalam buffer formalin 10% sekurang-kurangnya 24 jam.
2. Ileum dipotong dengan ketebalan 0,5 cm.
3. Kemudian dilakukan pencucian dengan air mengalir selama 30 menit.

b. Dehidrasi dan Clearing

Bertujuan untuk menarik air dari jaringan, membersihkan dan menjernihkan jaringan.

Cara kerja :

Organ yang telah dicuci dengan air, dimasukkan ke dalam reagen dengan urutan alkohol 70%, 80%, 90%, 96% alkohol absolute I, II masing-masing 30 menit.

c. Infiltrasi

Bertujuan untuk menginfiltrasi jaringan dengan parafin. Parafin akan menembus ruang antar sel dan dalam sel sehingga jaringan lebih tahan terhadap pembedahan.

Cara kerja :

1. Ileum dimasukkan dalam parafin I yang masih cair.
2. Dimasukkan ke dalam oven pada suhu 60° selama 30 menit.
3. Dipindahkan ke parafin II yang masih cair.
4. Dipindahkan ke dalam oven pada suhu 60° selama 30 menit.

d. Pembuatan blok paraffin

Bertujuan supaya jaringan mudah dipotong.

Cara kerja :

1. Disiapkan beberapa cetakan besi yang diolesi dengan gliserin supaya nantinya parafin tidak melekat pada besi.
2. Besi cetakan diisi parafin cair.
3. Ileum dimasukkan ke dalam cetakan, tunggu sampai parafin membeku atau mengeras.

e. Pengirisan dengan mikrotom

Bertujuan untuk memotong jaringan setipis mungkin agar mudah dilihat di bawah mikroskop.

Cara kerja :

1. Blok parafin yang telah mengeras diiris dengan mikrotom dengan ketebalan 4-7 mikron.

2. Dicelupkan ke dalam air hangat dengan suhu 42-45° C sampai jaringan mengembang dengan baik.
3. Olesi gelas obyek dengan poly L-lysine, kemudian jaringan diletakkan pada gelas obyek dan dikeringkan di atas hot plate.

f. Deparafinisasi

1. Cuci gelas obyek dengan xylol I, II dan III masing-masing 10 menit.
2. Kemudian lanjutkan dengan alkohol absolute I dan II masing-masing 3 menit.
3. Lanjutkan dengan alkohol 96% I dan II masing-masing 3 menit.
4. Teruskan dengan alkohol 80% selama 3 menit.
5. Kemudian dengan alkohol 70% selama 3 menit.
6. Cuci dengan air mengalir selama 1 menit.

g. Digesti proteolitik

Menggunakan Trypsin 0,025% dalam inkubator dengan temperatur 37° C selama 15 menit.

h. Staining protocol

1. Cuci gelas obyek dengan PBS (10%) 2 kali masing-masing 5 menit.
2. Lanjutkan dengan larutan H₂O₂ 3% selama 10 menit.
3. Cuci lagi dengan PBS 2 kali masing-masing 5 menit.
4. Antibodi primer diencerkan dengan diluent Ab 5%, diteteskan pada jaringan, biarkan 45-60 menit.