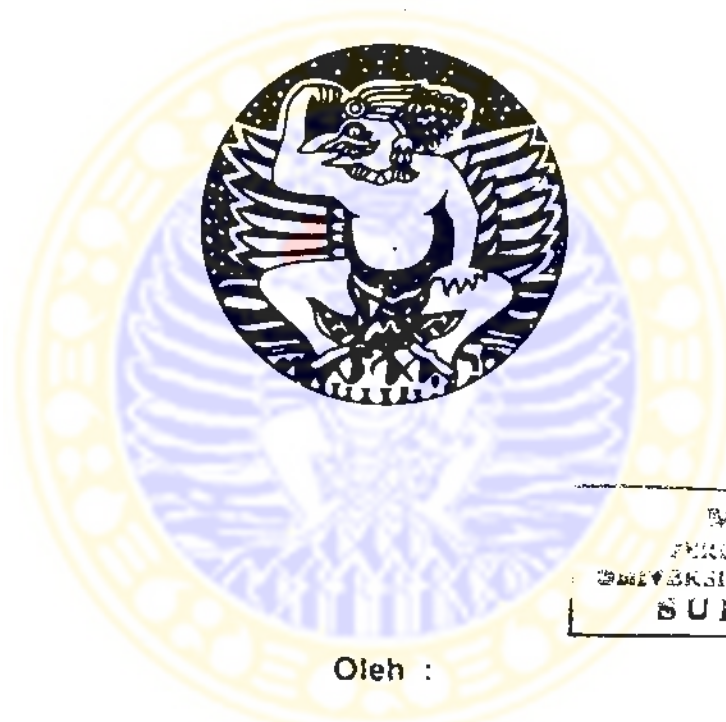


- KIRYAN...  
- KE...  
ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga  
- HEAT - STRESS...

# SKRIPSI

## POTENSI SUPLEMEN MULTIVITAMIN DAN ELEKTROLIT TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL PADA AYAM BROILER YANG DIKONDISIKAN HEAT STRESS

K# 32



MILITARI  
FAKULTAS  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

Oleh :

**RENZZY WANDHANY SURYAMAN**

NIM. 060313213

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2008**

**POTENSI SUPLEMEN MULTIVITAMIN DAN ELEKTROLIT  
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL PADA AYAM  
BROILER YANG DIKONDISIKAN *HEAT STRESS***

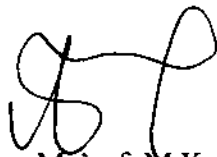
Skripsi  
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan  
Pada  
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh:

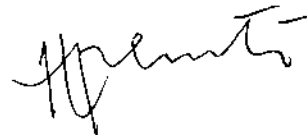
RENZZY WANDHANY SURYAMAN  
NIM 060313213

Menyetujui

Komisi Pembimbing,



(Dr. Anwar Ma'ruf, M.Kes., Drh.)  
Pembimbing Pertama



(Dr. Hani Plumeriastuti, M.Kes., Drh.)  
Pembimbing Kedua

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul:

**POTENSI SUPLEMEN MULTIVITAMIN DAN ELEKTROLIT  
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL PADA AYAM  
BROILER YANG DIKONDISIKAN *HEAT STRESS***

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak 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, Januari 2008

Renzzy Wandhany Suryaman  
NIM 060313213

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal: 17 Desember 2007

#### KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

1. Ketua : Dr. R. T. S. Adikara., M.S., drh
2. Sekretaris : Dr. Ngakan Made Rai Widjaya, M.S., drh
3. Anggota : Djoko Legowo, M.Kes., drh
4. Pembimbing I : Dr. Anwar Ma'ruf, M.Kes., drh
5. Pembimbing II : Dr. Hani Plumeriastuti, M.Kes., drh



Telah diuji pada sidang skripsi

Tanggal: 4 Januari 2008

**KOMISI PENGUJI SKRIPSI:**

**Ketua** : Dr. R. T. S. Adikara., M.S., drh

**Anggota** : Dr. Ngakan Made Rai Widjaya, M.S., drh

Djoko Legowo, M.Kes., drh

Dr. Anwar Ma'ruf, M.Kes., drh

Dr. Hani Plumeriastuti, M.Kes., drh

Surabaya, 16 Januari 2008

Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Airlangga  
Dekan,



Prof. Dr. Romziah Sidik, Ph.D., drh  
NIP. 130687305

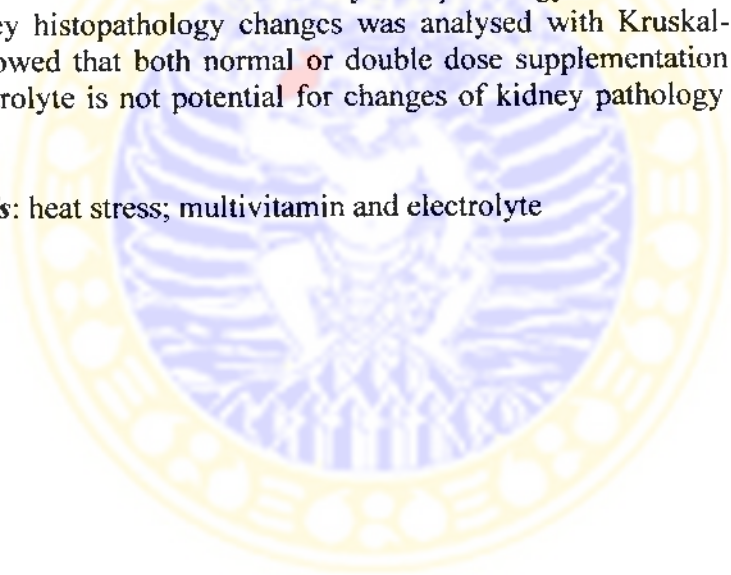
**THE POTENCY OF MULTIVITAMIN AND ELECTROLYTE  
SUPPLEMENT ON KIDNEY HISTOPATHOLOGY  
OF HEAT STRESSED BROILER**

Renzzy Wandhany Suryaman

**ABSTRACT**

The purpose of this study was to know the potential of multivitamin and electrolyte supplementation on kidney of heat stressed broiler. Twenty broilers with 3 weeks ages were divided into 4 different groups (n=5) and separated into two different chamber (A and B). One group (control=P0) was caged at low temperature (21-23°C) chamber A, while the others (P1; P2; P3) were caged at high temperature (34,5-35°C) chamber B. Group P1 administrated only with water, group P2 and P3 administrated respectively with normal dose (1 gram/ 4 lt water) and double dose (2 gram/ 4 lt water). After seven-teen days of treatment, all broiler were sacrificed for kidney histopathology examination. Collected data for kidney histopathology changes was analysed with Kruskal-wallis test. This study showed that both normal or double dose supplementation of multivitamin and electrolyte is not potential for changes of kidney pathology on heat-stressed broiler.

**Keywords:** heat stress; multivitamin and electrolyte



## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur ke hadirat Allah S. W. T. atas karunia yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi dengan judul *Potensi Suplemen Multivitamin dan Elektrolit Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Pada Ayam Broiler yang Dikondisikan Heat Stress*.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph.D., Drh atas kesempatan mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Dr. Anwar Ma'ruf, M.Kes., drh selaku pembimbing pertama dan Dr. Hani Plumeriastuti, M.Kes., drh selaku pembimbing kedua serta Sri Mumpuni Sosiowati, M. Kes., drh selaku dosen wali atas saran dan bimbingannya sampai penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Dr. R. T. S. Adikara, M.S., drh selaku penguji pertama, Dr. Ngakan Made Rai Widjaja, M.S., drh selaku penguji kedua, serta Djoko Legowo, M.Kes., drh selaku penguji ketiga, atas kritik, saran, dan masukan kepada penulis sampai selesainya skripsi ini.

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

Kedua orang tuaku tercinta, Papa Endjang Soerjaman dan Mama Endang Sulistyowati, terimakasih atas segala doa, pengorbanan, kasih sayang, bimbingan, kesabaran, dukungan dan nasehatnya selama ini, adik-adikku Renddy Wandhana Suryaman dan Rezcky Ramadhan Suryaman Putra terimakasih atas segala cinta dan dukungannya.

Teman sepenelitian, Bulan, Maya, Frederika, Afik, Bastian, Wawan, Budianto, Dinda, dan Besty. Nur Zahrotul, Amira, Yodhi, Analis W. W., drh atas dorongan semangat serta bantuannya selama penelitian sampai selesainya skripsi ini. Teman-teman Independen Film Surabaya, Novita, Lupus, Jatu, Vidya dan teman-teman angkatan 2003 atas semua suka, duka serta kesediaannya membagi indahnya persahabatan selama ini. Malo dan Saga atas pinjaman laptop dan printernya serta setia menemani hingga dini hari.

Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu tetapi sudah membantu dalam penyusunan makalah ini.

Penulis menyadari bahwa makalah ini jauh dari sempurna, untuk itu penulis mengharap kritik dan saran dari pembaca sebagai upaya penyempurnaan makalah ini. Supaya penelitian ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu Kedokteran Hewan di Indonesia pada khususnya dan masyarakat luas pada umumnya.

Akhirnya penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya.

Surabaya, Januari 2008

Penulis



## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PERNYATAAN .....	iii
HALAMAN IDENTITAS.....	iv
<i>ABSTRACT</i> .....	vi
UCAPAN TERIMA KASIH .....	vii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiv
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG .....	xv
<b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Landasan Teori .....	5
1.4 Tujuan Penelitian.....	8
1.5 Manfaat Penelitian.....	8
1.6 Hipotesis.....	9
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>10</b>
2.1 <i>Heat Stress</i> Pada Ayam <i>Broiler</i> .....	10
2.1.1 Definisi dan permasalahan <i>heat stress</i> pada ayam <i>broiler</i> .....	10
2.1.2 Pengaruh suhu lingkungan terhadap suhu tubuh dan perilaku ayam <i>broiler</i> .....	12
2.1.3 Metode pembuangan panas tubuh pada ayam <i>broiler</i> .....	16
2.2 Struktur dan Fungsi Ginjal .....	22
2.3 Dampak <i>Heat Stress</i> pada Ginjal .....	24
2.4 Peran Vitamin Dalam <i>Heat Stress</i> .....	27
Definsi, sifat, dan klasifikasi vitamin pada ayam .....	27
A. Vitamin A .....	29
B. Vitamin D .....	30
C. Vitamin E.....	30

D. Vitamin K .....	31
E. Vitamin C (asam askorbat) .....	31
F. Vitamin B1 (tiamin) .....	33
G. Vitamin B2 (riboflavin) .....	33
2.5 Elektrolit .....	33
2.5.1 Peran dan metabolisme elektrolit dalam sistem biologis .....	35
2.5.2 Regulasi homeostasis sodium, potasium dan klorida .....	40
2.5.3 Gangguan keseimbangan sodium, potasium dan klorida .....	42
2.5.4 <i>Heat stress</i> dan gangguan homeostasis elektrolit pada <i>Ayam broiler</i> .....	43
<b>BAB 3 MATERI DAN METODE PENELITIAN</b> .....	<b>46</b>
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	46
3.2 Bahan dan Materi Penelitian .....	46
3.2.1 Hewan percobaan .....	46
3.2.2 Bahan penelitian .....	46
3.2.3 Alat penelitian .....	47
3.3 Metode Penelitian .....	49
3.3.1 Persiapan hewan coba .....	49
3.3.2 Pelaksanaan penelitian .....	49
A. Perlakuan .....	49
B. Pengambilan organ ginjal .....	50
3.4 Variabel Penelitian .....	51
3.4.1 Variabel bebas .....	51
3.4.2 Variabel tergantung .....	51
3.5 Definisi Variabel .....	52
3.5.1 Variabel bebas .....	53
3.5.2 Variabel tergantung .....	51
3.6 Pengumpulan dan Teknik Pengambilan Data .....	54
3.7 Rancangan Penelitian dan Analisis Data .....	55
3.8 Skema Penelitian .....	56
<b>BAB 4 HASIL PENELITIAN</b> .....	<b>57</b>
<b>BAB 5 PEMBAHASAN</b> .....	<b>64</b>

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN.....	68
6.1 Kesimpulan.....	68
6.2 Saran.....	68
RINGKASAN .....	70
DAFTAR PUSTAKA .....	72
LAMPIRAN .....	76



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Gambaran umum perubahan tingkah laku ayam dewasa yang terpapar suhu lingkungan dengan derajat panas yang berbeda ...	14
2.2 Metode pengurangan panas tubuh pada ayam <i>broiler</i> .....	18
2.3 Distribusi ion pada semua jenis sel dan keseimbangan potensial	37
3.1 Tingkat perubahan histopatologi ginjal .....	54
3.2 Skor perubahan histopatologi ginjal .....	55
4.1 Hasil pengamatan bentuk-bentuk perubahan histopatologi ginjal dan total rata-rata pada semua kelompok perlakuan .....	57
4.2 Rata-rata perubahan histopatologi ginjal pada semua kelompok perlakuan .....	62

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Dampak paparan suhu lingkungan (dalam jam) terhadap suhu tubuh (dalam derajat celsius) dan rata-rata respirasi per menit pada ayam <i>broiler</i> .....	11
2.2 Pengaruh suhu lingkungan terhadap cara penghilangan panas tubuh dan persentase kehilangan panas.....	19
2.3 Penampang nefron ginjal.....	22
3.1 Skema penelitian potensi suplemen multivitamin dan elektrolit terhadap gambaran histopatologi ginjal pada ayam <i>broiler</i> yang dikondisikan <i>heat stress</i> .....	56
4.1 Histologi ginjal (A = Bowman space; B = Sel TC 1 normal; C = Sel nekrotik TC 1; D = Sel nekrotik TC 2). Pewarnaan HE, Pembesaran 1000x. ....	58
4.2 Skor 2 (A = Oedema glomerulus; B = Perdarahan glomerulus).....	59
4.3 Skor 3 (A = Degenerasi hidropik TC 1; B = Nekrosis TC 1; C = Oedema glomerulus).....	59
4.4 Skor 4 (A = Degenerasi hidropik TC 1; B = Nekrosis TC 1; C = Nekrosis TC 2; D = Perdarahan glomerulus).....	60
4.5 Skor 5 (A = Degenerasi hidropik TC 1; B = Nekrosis TC 1; C = Nekrosis TC 2; D = Oedema glomerulus; E = Perdarahan glomerulus).....	60
4.6 <i>Box plot</i> perubahan histopatologi ginjal pada ayam <i>broiler</i> untuk semua perlakuan.....	61

## DAFTAR LAMPIRAN

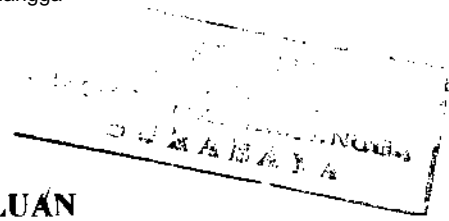
Lampiran	Halaman
1. Komposisi multivitamin dan elektrolit dalam tiap 1 kg produk.....	77
2. Kebutuhan temperatur anak ayam sampai dengan waktu panen.....	78
3. Prosedur pembuatan sediaan histopatologi ginjal .....	79
4. Skema pembuatan sediaan histopatologi ginjal .....	83
5. Skema pewarnaan hematoxylin eosin (HE) .....	84
6. Tingkat perubahan histopatologi ginjal ayam <i>broiler</i> .....	85
7. Hasil uji statistik.....	86
8. Foto-foto penelitian .....	88

## SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

$\alpha$	= alfa (tingkat kepercayaan pada uji statistik)
AC	= air conditioner
ACTH	= adrenocorticotrophic hormone
ATP	= adeno tri phospat
$^{\circ}\text{C}$	= derajat Celsius
$\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2^-$	= dicarbon trihidrogen dioksida
$\text{Ca}^{2+}$	= ion kalsium
$\text{Cl}^-$	= ion klorida
$\text{CO}_2$	= karbon dioksida
CuZnSOD	= cuprum zinc super oksida dismutase
DNA	= deoxyribose nucleic acid
DOC	= one day old chick
$^{\circ}\text{F}$	= derajat fahrenheit
FCR	= feed conversion rate
GPx	= glutathione peroksidase
GSH	= glutathione peroksidase
$\text{H}^+$	= ion hidrogen
HCl	= hydrochloride acid
$\text{HCO}_3^-$	= bicarbonate
$\text{HNO}_3$	= nicotinic acid
HPA-axis	= hypothalamic pituitary adenocortical axis
HSP	= heat shock protein
IBD	= infectious bronchitis disease
IL	= interleukin
IU	= international unit
$\text{K}^+$	= ion kalium
KCl	= kalium chloride
kg	= kilogram

mg	= miligram
mM	= millimoles per liter larutan
mMolal	= millimoles per kilogram air
MnSOD	= mangan super oksida dismutase
Na <sup>+</sup>	= ion natrium
NaCl	= sodium chloride
NaOH	= sodium hidroksil
ND	= new castle disease
NH <sub>3</sub>	= ammonia
NH <sub>4</sub>	= amine
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	= ammonium nitrat
NO <sub>3</sub>	= nitrat
O <sub>2</sub> <sup>·-</sup>	= superoksida radikal
OH <sup>·</sup>	= hidrogen peroksi
PDAM	= perusahaan daerah air minum
pH	= power of hidrogen
ppm	= part per million
RNS	= reactive nitrogen species
ROS	= reactive oksigen species
SOD	= super oksida dismutase
T <sub>3</sub> plasma	= triyodo tironin
T <sub>4</sub> plasma	= tetrayodo tironin/ tiroksin
TC 1	= tubulus contortus proksimalis
TC 2	= tubulus contortus distalis
Th	= sel limfosit T helper
WIB	= Waktu Indonesia Barat





## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang Masalah

Ayam ras termasuk dalam jenis ternak yang sangat peka terhadap berbagai bentuk *stressor* baik fisik maupun psikis, termasuk terhadap *heat stress* (Leandro *et al.*, 2004). Dilaporkan bahwa potensi genetik ayam ras akan muncul secara optimal, bila suhu lingkungan berkisar antara 12,7-23,88°C, dengan kelembaban relatif tidak lebih dari 60%. Kombinasi antara suhu lingkungan dengan kelembaban yang tinggi diketahui dapat mempengaruhi produktivitas, mengakibatkan morbiditas, bahkan pada keadaan yang ekstrim dapat mengakibatkan mortalitas, baik pada *broiler* maupun *layer* (Anderson and Carter, 1998).

Secara anatomis, keberadaan bulu serta tidak adanya kelenjar keringat merupakan faktor penyulit alami bagi ayam dalam membuang kelebihan panas tubuhnya, sehingga ayam ras dan golongan unggas pada umumnya, diketahui memiliki tingkat kerentanan yang lebih tinggi terhadap *heat stress* dibandingkan hewan lainnya (Okolwski, 2005).

Lingkungan pada kisaran suhu normal, yaitu antara 12,7-23,88°C yang merupakan zona netral dan zona ideal, ayam membuang kelebihan panas tubuhnya dengan cara radiasi, konveksi dan konduksi atau yang disebut *sensible heat loss method*. Metode pembuangan panas tersebut akan berubah secara bertahap dari *sensible heat loss method* menjadi *latent heat loss*

*method* yaitu cara pembuangan panas secara evaporasi melalui pernafasan atau *panting*, ketika suhu lingkungan beranjak naik melebihi 26°C. Pada suhu lingkungan diatas 30°C cara pembuangan panas pada *broiler* sepenuhnya akan dilakukan melalui *panting* dan hal ini akan mengakibatkan berbagai gangguan fungsi normal tubuh (Moares *et al.*, 2003).

Evaporasi berlebihan (*hiperventilasi*) yang terjadi selama *heat stress*, mengakibatkan ayam kehilangan banyak CO<sub>2</sub> dan cairan tubuh, hingga menyebabkan peningkatan pH plasma atau alkalosis respiratorius serta terganggunya keseimbangan elektrolit plasma (Lavergne, 2004).

Pada keadaan seperti ini ayam akan sangat tersiksa dan menggunakan lebih banyak energi yang didapat dari diet untuk evaporasi sehingga mengganggu pertumbuhannya. Pada keadaan yang berlanjut ayam dapat mengalami kematian mendadak (*sudden dead syndrom*), yang umumnya ditandai dengan gangguan fungsi jantung, pernafasan dan disertai asites (Okolwsky, 2005).

*Heat stress* serta bentuk *stressor* yang lain, dilaporkan dapat mengaktivasi aksis *hypothalamic pituitary adrenocortical (HPA-axis)* dan menekan kelenjar tiroid, sehingga mengakibatkan peningkatan kadar kortisol serta penurunan kadar T3 dan T4 plasma. Penurunan kadar T3 dan T4 plasma pada *broiler* selama terpapar *heat stress* dalam jangka waktu yang lama diyakini merupakan faktor yang paling menentukan terhadap hambatan pertumbuhan ayam (Kan *et al.*, 1993).

Hingga saat ini masih belum diketahui dengan pasti patogenesis kerusakan jaringan dan gangguan fungsi berbagai jaringan pada *broiler* yang diakibatkan oleh *heat stress*. Beberapa laporan telah menyebutkan bahwa kerusakan jaringan tersebut dapat timbul melalui beberapa mekanisme yaitu: (1) terganggunya keseimbangan asam-basa dan homeostasis elektrolit plasma, (2) tertekannya respon imun, (3) terganggunya fungsi hormon (Mitchell *and* Raza, 1985), serta (4) terganggunya sistem pertahanan antioksidan (Utomo *et al.*, 2000; Halliwell *and* Gutteridge, 1998; Kan *et al.*, 1993).

Mekanisme yang melibatkan gangguan keseimbangan asam-basa bisa akibat hiperventilasi. Hiperventilasi melalui *panting* yang terjadi pada *broiler* selama terpapar *heat stress* yang disertai kelembaban, mengakibatkan ekskresi CO<sub>2</sub> meningkat hingga memicu meningkatnya pH darah (*alkalosis respiratorius*). Alkalosis mengakibatkan berbagai gangguan fungsi tubuh, diantaranya adalah meningkatnya kerja ginjal untuk mensekresi beberapa elektrolit tubuh (Emery, 2004).

Adanya kerusakan sel ginjal menyebabkan ginjal tidak dapat mengekskresikan hasil metabolisme yang tidak berguna oleh tubuh terutama urea dan kreatinin. Urea dan kreatinin merupakan hasil metabolisme protein yang pembuangannya diatur oleh ginjal yaitu melalui filtrasi glomerulus. Adanya kerusakan sel glomerulus menyebabkan laju filtrasi glomerulus menurun sehingga urea dan kreatinin akan menumpuk di plasma darah (Brenner *and* Hostetter, 1982).

Patogenesis *heat stress* terhadap perubahan struktur dan fungsi ginjal pada ayam *broiler* diatas diduga juga terkait dengan peran radikal bebas yang banyak dihasilkan selama paparan *heat stress*. Pada industri peternakan kecil dan menengah, selain melalui tata laksana perkandangan yang baik, usaha menanggulangi *heat stress*, nampaknya lebih banyak diarahkan pada pemberian suplemen elektrolit dan *anti stress agent* lainnya seperti vitamin C dan E yang berpotensi sebagai antioksidan. Tindakan tersebut mungkin dilakukan berdasarkan asumsi bahwa *heat stress* mengakibatkan gangguan homeostasis elektrolit dan pertahanan antioksidan tubuh, sehingga suplemen vitamin C dan E serta elektrolit pada diet, diharapkan dapat mencegah gangguan homeostasis dan meningkatkan pertahanan antioksidan tubuh (Lavergne, 2004).

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui potensi suplemen multivitamin dan elektrolit pada ayam *broiler* yang dikondisikan *heat stress* dengan mengamati perubahan histopatologi ginjalnya.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Seberapa jauh potensi multivitamin dan elektrolit terhadap perubahan gambaran histopatologi ginjal pada ayam *broiler* yang dikondisikan *heat stress*?

### I.3. Landasan Teori

Ayam *broiler* yang terpapar *heat stress* menunjukkan beberapa perubahan tingkah laku seperti, mengembangkan sayap, mengurangi gerak, dan *panting*. Perubahan juga terjadi didalam tubuh ayam antara lain adalah menurunnya aliran darah pada beberapa organ seperti hati, ginjal dan usus, dan sebaliknya aliran darah ke daerah kulit meningkat. Perubahan perilaku dan fisiologis tersebut pada dasarnya bertujuan untuk mengembalikan suhu normal tubuh ayam yang berkisar antara 41-42 °C, dimana kenaikan suhu tubuh diatas 4°C akan mengakibatkan kematian (Nasecm *et al.*, 2005).

Perubahan fisiologis yang dapat mengakibatkan perubahan patologis pada ayam *broiler* yang terpapar *heat stress* adalah *panting*. *Panting* merupakan cara terakhir dan satu-satunya yang dapat dilakukan *broiler* untuk mengurangi panas tubuh ketika suhu lingkungan mulai naik diatas 30°C. *Panting* mengakibatkan meningkatnya kerja otot-otot pernafasan hingga menambah panas tubuh ayam, serta yang terpenting adalah akibat *hiperventilasi* selama *panting*, ayam *broiler* akan kehilangan banyak CO<sub>2</sub> (karbon dioksida) dan HCO<sub>3</sub> (*bicarbonate*) pada plasma darahnya, dimana hal ini selanjutnya memicu terjadinya terjadinya alkalosis respiratorius sehingga pH darah meningkat (Anderson *and* Carter, 1998).

Alkalosis yang terjadi pada ayam *broiler* yang terpapar *heat stress* merupakan perubahan fisiologis terpenting dan menjadi titik krusial pertama, yang memicu terjadinya serangkaian perubahan patologis. Kan *et al.*, (1993) melaporkan alkalosis mengakibatkan laju ekskresi K<sup>+</sup>

(kalium/potasium) dan  $\text{Ca}^{2+}$  dan retensi  $\text{Cl}^-$  dan  $\text{Na}^+$  pada ginjal meningkat, akibatnya kadar  $\text{Ca}^{2+}$  dan  $\text{K}^+$  plasma darah menurun dan kadar  $\text{Cl}^-$  dan  $\text{Na}^+$  meningkat. Menurut Belay *and* Teeter (1996) *heat stress* mengakibatkan retensi ginjal terhadap fosfor, potasium, sodium, magnesium, sulfur, mangan, cooper, dan seng menurun drastis.

Penurunan kadar  $\text{K}^+$  ekstraseluler dapat mengakibatkan hiperpolarisasi membran sel. Pada sel saraf dan otot, kekurangan  $\text{K}^+$  berakibat pada menurunnya daya eksitabilitas sel tersebut, dimana manifestasi klinis yang ditimbulkan dapat berupa kelemahan otot, diare, dan disfungsi otot digesti yang menyebabkan distensi abdominal, serta gangguan ritme jantung dan impuls saraf (Sherwood, 2004). Menurut Kan *et al.*, (1993) gangguan homeostasis elektrolit mengakibatkan suhu organ visceral tubuh menjadi lebih tinggi sebagai akibat meningkatnya rasio Na:Ca pada *hypothalamus*.

Disamping mengakibatkan gangguan homeostasis elektrolit dan asam-basa tubuh, dilaporkan pula bahwa *heat tress* dapat mengaktifasi aksis *hypothalamic pituitary adrenocortical (HPA-axis)* yang mengakibatkan meningkatnya kadar *adrenocorticotropic hormone (ACTH)* plasma, sehingga kadar kortisol juga meningkat. Peningkatan kadar kortisol pada plasma ini diyakini merupakan penyebab terjadinya perlemakan dan menurunnya kadar protein pada sel hepar, serta meningkatnya berat relatif dan prosentase lemak hepar (Sherwood, 2004; Bauer, 2001; Edens, 2001).

Berbagai mekanisme pengaturan ekskresi elektrolit penting tubuh terutama pada ginjal dalam pengertian yang luas adalah usaha untuk menjaga keseimbangan cairan dalam tubuh. Ekskresi sodium melalui urin terutama dikontrol oleh kecepatan reabsorpsi ion tersebut pada glomerulus dan sel-sel tubulus ginjal, sedangkan ekskresi potasium hanya dikontrol melalui ekskresi ion tersebut pada sel-sel tubulus ginjal.

Hipovolemia yang diakibatkan oleh kurangnya konsentrasi sodium dalam darah, akan mengakibatkan peningkatan reabsorpsi ion ini dalam ginjal, dengan jalan meningkatkan kerja saraf simpatik dan rangsangan terhadap dua sistem hormon yaitu *rennin-angiotensin-aldosteron* dan sistem antidiuretik. Hasilnya adalah menurunnya volume urine, yang juga berarti menurunnya ekskresi sodium dan klorida. Hipovolemia yang diakibatkan oleh diare, olahraga berlebih yang menyebabkan keluarnya keringat, kebuntingan dan menyusui, mengakibatkan teraktifkannya mekanisme haus dan tingkat palatabilitas terhadap konsumsi garam (NaCl). Meningkatnya palatabilitas terhadap garam merupakan bentuk adaptasi yang positif pada sebagian besar herbivora yang hidup didaerah beriklim panas (Sperelakis, 1988).

Berdasarkan asumsi bahwa patogenesis *heat stress* terhadap sistem biologis terjadi melalui mekanisme tersebut diatas, maka penambahan multivitamin dan elektrolit dapat dipertimbangkan untuk mengurangi dampak buruk akibat *heat stress* pada industri ayam komersial selama puncak musim panas (Lavergne, 2004).

## **1.4. Tujuan Penelitian**

### **1.4.1 Tujuan umum**

Penelitian ini bertujuan mengetahui potensi suplemen multivitamin dan elektrolit pada ayam *broiler* yang dikondisikan *heat stress*.

### **1.4.2. Tujuan khusus**

Mengetahui potensi suplemen multivitamin dan elektrolit terhadap ayam *broiler* yang terpapar *heat stress* dengan mengamati perubahan histopatologi ginjalnya, yaitu:

1. degenerasi hidropik pada TC1 (tubulus contortus proksimal).
2. nekrosis pada TC 1 (tubulus contortus proksimalis).
3. nekrosis pada TC 2 (tubulus contortus distalis).
4. oedema pada glomerulus
5. perdarahan pada glomerulus

## **1.5. Manfaat Penelitian**

1. Dari penelitian ini dapat diketahui potensi suplemen multivitamin dan elektrolit pada ayam *broiler*, sehingga dapat diketahui dosis yang optimal pada keadaan *heat stress*.
2. Dengan penggunaan suplemen multivitamin dan elektrolit diharapkan kekurangan vitamin dan elektrolit dapat diatasi sehingga kondisi tubuh ayam *broiler* kembali normal dan potensi genetik yang dimiliki juga dapat optimal.



## 1.6. Hipotesis

Multivitamin dan elektrolit berpotensi terhadap perubahan gambaran histoptologi ginjal pada ayam *broiler* yang dikondisikan *heat stress*.



## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. *Heat Stress Pada Ayam Broiler*

#### 2.1.1. Definisi dan permasalahan *heat stress* pada ayam *broiler*

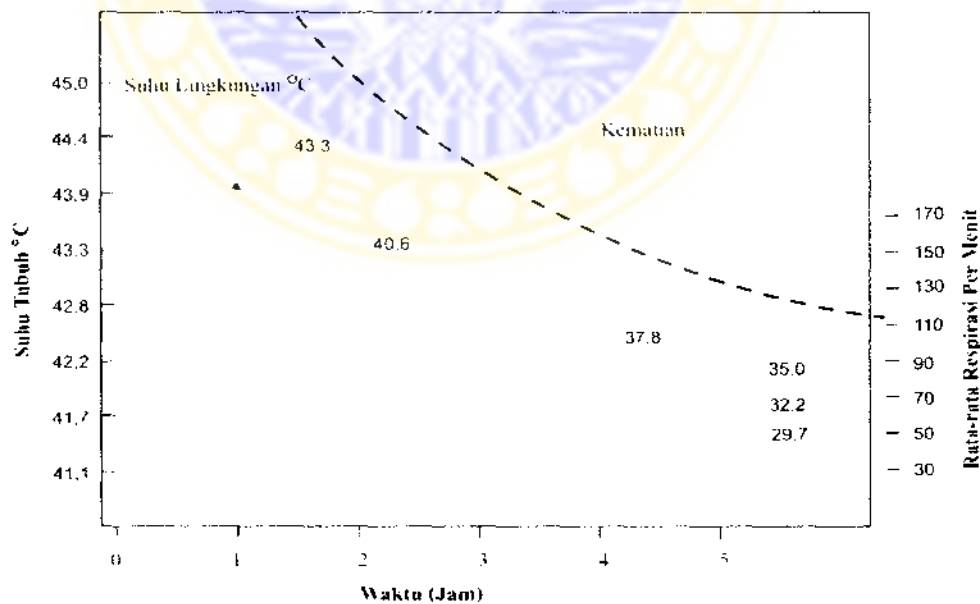
Pada industri peternakan ayam komersial dengan pola pemeliharaan yang intensif, unggas sering dihadapkan pada berbagai permasalahan. Diantara permasalahan tersebut, *heat stress* merupakan salah satu yang terpenting. Pada saat ini, *heat stress* tidak saja menjadi persoalan pada industri peternakan ayam komersial di negara-negara beriklim panas saja, tetapi juga negara-negara lain yang beriklim sedang dan dingin di seluruh dunia akibat dampak pemanasan global.

Suhu panas yang dikombinasi dengan kelembaban tinggi, tidak saja mengakibatkan morbiditas pada ayam *broiler*, tetapi juga penurunan produksi. Selama terpapar *heat stress*, aktivitas ayam *broiler* akan terkuras pada proses adaptasi mengatur suhu, untuk menghindari dari kematian karena kepanasan (*heat exhaustion*). Sebagai akibatnya potensi genetik yang dimilikinya tidak dapat tercapai (*Departemen Food and Rural*, 2005).

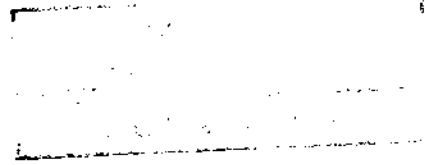
Dibawah tekanan *heat stress*, unggas akan mengalami penurunan pertumbuhan, penurunan konsumsi pakan (*feed intake*), penurunan konversi pakan, penurunan produksi telur, penurunan daya tetas, penurunan kualitas kerabang telur, serta penurunan

kualitas dan ukuran telur. *Heat stress* juga dapat mengakibatkan kematian pada semua jenis dan umur unggas, dimana unggas dewasa lebih berisiko dibandingkan dengan unggas muda (Lavergne, 2004).

Ayam *broiler* dikatakan menderita *heat stress*, apabila mengalami kesulitan dalam menjaga keseimbangan antara panas yang diproduksi oleh tubuh (*heat body*) dengan panas yang dikeluarkan (*heat loss*). Pada paparan suhu ekstrim (terlalu panas/dingin), ayam *broiler* harus dapat mempertahankan suhu normal tubuhnya pada kisaran yang sempit yaitu 41°C, dimana kenaikan temperatur tubuh diatas 4°C akan menyebabkan kematian (Emery, 2004). Dampak paparan suhu lingkungan terhadap suhu tubuh ayam *broiler* dapat dilihat dalam grafik pada Gambar 2.1.



**Gambar 2.1.** Dampak paparan suhu lingkungan (dalam jam) terhadap suhu tubuh (dalam derajat celcius) dan rata-rata respirasi per menit pada ayam *broiler*. Sumber: Cobb, 2005.



Berdasarkan pola dan lamanya paparan panas dan kelembaban yang terjadi, *heat stress* dibagi menjadi dua yaitu *heat stress* akut dan kronis. *Heat stress* akut, adalah paparan oleh suhu dan kelembaban yang tinggi, yang terjadi secara mendadak dan dalam jangka waktu yang singkat (1-5 jam). Sementara itu, *Heat stress* kronis adalah kombinasi paparan suhu dan kelembaban, yang terjadi secara perlahan dan terus meningkat dalam jangka waktu yang relatif lama (dalam hitungan hari) (Emery, 2004).

#### **2.1.2. Pengaruh suhu lingkungan terhadap suhu tubuh dan perilaku ayam broiler**

Dari berbagai penelitian diketahui bahwa suhu lingkungan yang tinggi merupakan *stressor (heat stress)* eksternal paling penting yang dapat mempengaruhi suhu normal ayam *broiler* dan mengakibatkan berbagai gangguan. Seperti halnya manusia, normalnya bangsa unggas termasuk ayam *broiler* juga hidup pada lingkungan dengan suhu yang lebih rendah dibandingkan suhu tubuhnya.

Berdasarkan sudut pandang *thermoregulasi*, suhu tubuh dibagi menjadi dua bagian yaitu: bagian inti pusat (*central core*) dan bagian kulit luar (*outer shell*). Suhu internal *central core* yang mewakili suhu dari organ abdominal dan thorasikus, sistem saraf pusat dan jaringan otot, pada keadaan normal akan dipertahankan konstan

(pada manusia berkisar pada  $37,7^{\circ}\text{C}$ ), sedangkan pada ayam pada kisaran sempit  $41^{\circ}\text{C}$ .

Stabilitas suhu pada *central core* merupakan hal yang penting, dimana gangguan terhadapnya akan mengakibatkan gangguan homeostasis tubuh. Berbeda dengan suhu bagian *central core* yang cenderung lebih tinggi dan konstan sepanjang waktu, suhu bagian *outer shell* (yang meliputi kulit dan jaringan subkutan) relatif lebih rendah dan cenderung bervariasi (Emery, 2004).

Untuk lebih jelas tentang perubahan suhu dan hubungannya dengan perubahan tingkah laku pada ayam *broiler* dapat dilihat pada Tabel 2.1. Suhu tubuh normal yang diukur pada rektal ayam *broiler* adalah  $41^{\circ}\text{C}$  ( $106^{\circ}\text{F}$ ), ketika suhu lingkungan melebihi  $35^{\circ}\text{C}$ , maka ayam *broiler* akan mengalami *heat stress*, dimana semakin lama paparan panas ini terjadi, maka semakin berat pula dampak yang terjadi. Pada paparan suhu lingkungan di atas  $35^{\circ}\text{C}$ , produktivitas ayam *broiler* akan menurun drastis, dan bila paparan panas terus berlangsung, angka mortalitas akan meningkat (*Departemen Food and Rural*, 2005).

Mengingat bahwa stabilitas suhu tubuh merupakan faktor yang penting untuk diperhatikan, maka semua yang terkait dengan hal tersebut sangat perlu untuk dipahami, antara lain tentang sumber panas tubuh baik yang berasal dari dalam dan dari luar tubuh.

Menurut Sherwood, (2004), tidak semua energi yang terkandung dalam makanan dipergunakan untuk melakukan aktivitas biologis. Sesuai dengan hukum kekekalan energi yaitu energi tidak dapat diciptakan dan dihancurkan, maka kelebihan energi yang terdapat di dalam molekul-molekul nutrisi akan ditransformasi menjadi energi *thermal* atau panas.

**Tabel 2.1.** Gambaran umum perubahan tingkah laku ayam dewasa yang terpapar suhu lingkungan dengan derajat panas yang berbeda.

Suhu (°C) Lingkungan	Perubahan Tingkah Laku
12,7 - 18,33 Zona Netral	Zona dimana unggas tidak perlu merubah metabolisme basal dan tingkah lakunya untuk menjaga suhu internal tubuh ( <i>central core</i> ).
18,33 - 23,88 Zona Ideal	Sama dengan tingkah laku pada zona netral. Pada kedua zona ini (netral dan ideal) potensi genetik (FCR, <i>metabolic rate</i> , rata-rata pertumbuhan) muncul optimal.
23,88 - 29,44	Konsumsi pakan sedikit menurun. Efisiensi produksi masih dapat dipertahankan, bila nilai nutrisinya ditingkatkan. Pada ayam <i>layer</i> kualitas dan ukuran telurnya sedikit menurun, bila suhu mencapai batas atas rentangan.
29,44 - 32,22	Konsumsi pakan menurun drastis. Pada ayam <i>broiler</i> pertambahan berat badan rendah, sedangkan pada ayam <i>layer</i> jumlah dan kualitas serta cangkang telurnya menurun. Pada rentang suhu ini, tindakan pendinginan harus dilakukan.
32,22 - 35	Konsumsi pakan terus menurun. Performa produksi baik pada ayam <i>broiler</i> maupun ayam <i>layer</i> menurun drastis.
35 - 37,77	Konsumsi air minum meningkat tajam. Perlu dilakukan tindakan medik khusus untuk menurunkan suhu tubuh ayam
Lebih dari 37,77	Ayam mengalami kejang, koma, dan bahkan mati.

Sumber: Anderson and Carter, 1998.

Selama proses biokimiawi, kurang lebih hanya 50% energi yang terkandung dalam makanan dirubah menjadi ATP, sementara sisanya segera hilang sebagai panas. Selama proses penggunaan ATP, sebenarnya hanya 25% saja energi yang terkandung pada makanan yang digunakan untuk berbagai keperluan oleh sel-sel tubuh dalam mensistesis protein dan pertumbuhan, sedangkan 25% sisanya juga akan dirubah menjadi panas.

Sesungguhnya gerak jantung dalam memompa darah hingga aktivitas fisik, serta gesekan antara sel-sel darah dengan dinding pembuluh, merupakan aktifitas yang menghasilkan panas. Jadi dapat dikatakan bahwa lebih dari 75% energi yang diperoleh dari nutrisi kecuali yang disimpan dalam bentuk deposit lemak atau protein akan dirubah dan hilang sebagai panas tubuh. Transformasi energi yang didapat dari nutrisi menjadi panas ini bukanlah hal yang sia-sia, karena panas yang dihasilkan tersebut sesungguhnya dibutuhkan untuk menjaga suhu normal tubuh.

Teori lama menyebutkan bahwa suhu tubuh normal bersifat tetap, yaitu 37°C pada manusia. Hasil studi terbaru menunjukkan bahwa secara normal suhu tubuh manusia bervariasi, yang berbeda diantara individu, serta berbeda sepanjang hari (dengan kisaran 35,5 °C di pagi hari hingga 37,7°C di sore hari dengan rata-rata 36,7°C). Secara umum, pengukuran suhu tubuh dilakukan secara peroral atau melalui mulut dianggap mewakili suhu tubuh, meskipun sebenarnya

terdapat perbedaan suhu diantara bagian dan diantara organ tubuh. Suhu tubuh yang diukur melalui suhu rektal umumnya 1°F (3,5°C) lebih tinggi dibandingkan suhu oral maupun *axial* (Emery, 2004).

Secara normal suhu tubuh pada manusia sangat bervariasi antara lain disebabkan oleh: 1) Jam biologis (*biological clock*), dimana suhu tubuh terendah umumnya terukur pada pagi hari setelah bangun tidur (antara pukul 06.00-07.00) dan tertinggi pada senja hari (pukul 17.00-19.00); 2) Faktor hormonal. Sebagai akibat meningkatnya hormon progesteron selama siklus menstruasi pada wanita, suhu tubuh dapat naik hingga 0.5°C; 3) Akitifitas fisik. Pada latihan fisik yang berat, suhu tubuh pada manusia secara normal dapat naik hingga mencapai 40°C; 4) Suhu lingkungan (Sherwood, 2004).

Disamping berasal dari faktor internal, faktor eksternal yang mempengaruhi derajat suhu tubuh ayam *broiler* (selain suhu lingkungan) adalah kepadatan ayam dalam kandang, kelembaban dalam kandang, disain dan perlengkapan kandang seperti ventilasi udara, serta suhu yang dihasilkan oleh lampu pemanas (*brooder*) dan peralatan listrik disekitar kandang (WVA Publish, 2005).

### **2.1.3. Metode pembuangan panas tubuh pada ayam *broiler***

Suhu pada bagian *central core* adalah refleksi dari suhu tubuh, dan sistem *thermoregulasi* pada dasarnya bekerja untuk menjaga



stabilitasnya. Suhu yang masuk/dihasilkan (*heat input*) didalam tubuh harus selalu seimbang dengan yang dikeluarkan (*heat output*). Dalam menjaga stabilitas suhu *central core*, maka kelebihan *heat input* (dari internal dan eksternal tubuh) harus segera dikeluarkan, melalui seluruh permukaan tubuh ke lingkungan sekitarnya. Agar tercapai aliran panas dari tubuh ke lingkungan sekitar, diperlukan adanya gradien (*thermal gradient*) diantaranya, dimana panas akan mengalir dari bagian yang lebih hangat ke bagian yang lebih dingin (Sherwood, 2004).

Secara umum bangsa unggas sangat peka terhadap *stressor* baik fisik maupun psikis (Leandro *et al.*, 2004). Menurut Moares *et al.*, (2003), paparan suhu yang dikombinasi dengan kelembaban tinggi, dapat mengakibatkan dampak yang lebih serius pada ayam dibandingkan pada hewan lain, karena selain tidak memiliki kelenjar keringat, ayam sulit untuk membuang panas yang dihasilkan selama metabolisme akibat terhalang oleh bulu yang menutupi permukaan tubuhnya (*insulasi*).

Ayam memiliki beberapa cara dalam membuang atau mengeluarkan kelebihan panas tubuhnya (*heat loss method*) (Tabel 2.2), ketiga cara yang pertama disebut *sensible heat loss* yang meliputi radiasi; konduksi dan konveksi. Metode *sensible heat loss* dapat dilakukan dan efektif membantu ayam dalam membuang panas tubuh, ketika suhu lingkungan tidak lebih dari atau sama dengan

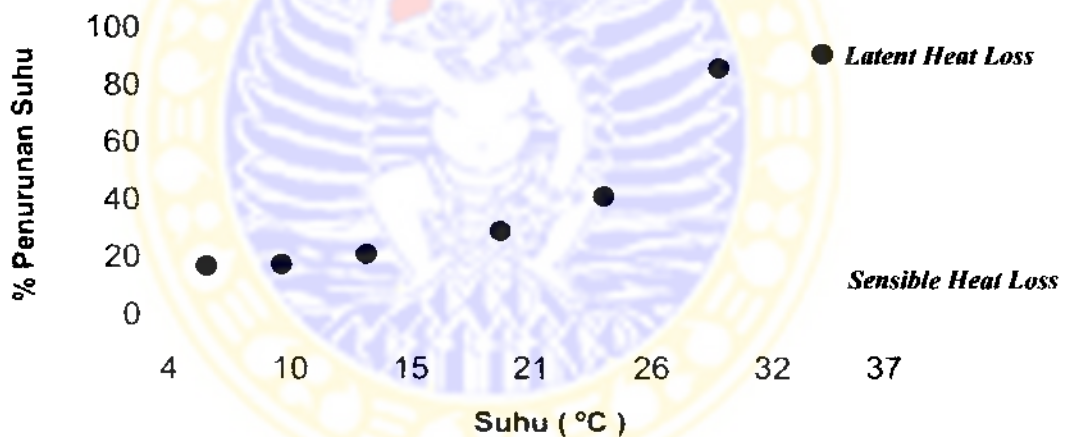
suhu pada zona netral yaitu antara 12,7°C-18,33°C. Panas tubuh ayam terutama dikeluarkan melalui bagian tubuh yang tidak berbulu seperti pial, jengger, dan kulit dibawah sayap. Selama menjaga panas tubuh melalui metode *sensible heat loss*, tingkah laku ayam, konsumsi pakan, dan metabolisme tubuh berjalan normal, dan tidak terjadi perubahan yang dramatis.

**Tabel 2.2** Metode pengurangan panas tubuh pada ayam *broiler*

<b><i>Sensible Heat Loss Method</i></b>	<b>Arah aliran panas</b>
<b>Radiasi:</b> Aliran panas diantara permukaan objek tanpa medium perantara (panas matahari ke kulit).	Semua permukaan dapat memancarkan dan menerima radiasi balik, radiasi netto, yang mengalir dari permukaan yang lebih panas ke yang lebih dingin.
<b>Konduksi:</b> Perpindahan energi panas antar objek membutuhkan media perantara (kontak fisik).	Panas mengalir menurut perbedaan gradien suhu antara keduanya (panas mengalir dari yang lebih tinggi ke yang lebih rendah).
<b>Konveksi:</b> Panas mengalir melalui medium seperti udara, gerakan udara (angin), dapat membawa panas mengalir meninggalkan permukaan objek.	Energi panas dapat pindah dan mengalir bersama udara, bila suhu udara lebih rendah dari permukaan objek (kulit)
<b><i>Latent Heat Loss Method</i></b>	<b>Arah Aliran Panas</b>
<b>Evaporasi:</b> Panas dipindahkan melalui cara penguapan (perubahan benda cair menjadi gas), jadi panas dikurangi dengan cara menggunakan energinya untuk merubah air menjadi gas.	Aliran panas masih ditentukan oleh kelembaban relatif di udara. Semakin tinggi persentase air (semakin lembab), maka semakin sulit evaporasi terjadi, demikian juga sebaliknya.

Sumber: *Anderson and Carter, 1998.*

Ketika suhu lingkungan mulai merangkak naik hingga mencapai 25°C, ayam akan mulai merubah cara menghilangkan panas tubuhnya dari *sensible heat loss methods* menjadi *latent heat loss method* yaitu dengan cara evaporasi (Gambar 2.2). Evaporasi merupakan metode pengurangan panas yang membutuhkan banyak energi karena proses *panting* (*hyperventilation*) merupakan proses aktif yang memerlukan banyak aktifitas otot-otot pernafasan. *Panting* mulai terlihat semakin jelas ketika suhu lingkungan telah mencapai lebih dari 26,6 °C (Anderson and Carter, 1998).



**Gambar 2.2.** Pengaruh suhu lingkungan terhadap cara penghilangan panas tubuh dan persentase kehilangan panas. Sumber: Anderson and Carter, 1998.

Ciri terpenting yang menandai terjadinya *heat stress* pada unggas adalah *panting*, yaitu terbukanya paruh selama bernafas. Golongan unggas tidak memiliki kelenjar keringat yang berguna untuk mendinginkan kulit seperti halnya pada mamalia, sehingga pada paparan suhu tinggi unggas akan mengurangi panas tubuh dengan

cara *evaporasi* melalui saluran pernafasan (*panting*) (Lavergne, 2004).

*Panting* dapat mengeluarkan panas dengan cara penguapan air yang membasahi permukaan mulut dan saluran pernafasan. Sesungguhnya aktifitas *panting* itu akan menambah panas tubuh akibat meningkatnya aktifitas metabolisme selama pergerakan otot-otot pernafasan, selain itu melalui *panting* ayam akan kehilangan banyak air.

Pada paparan panas yang berlanjut, serta suhu paparan yang semakin meningkat, maka rata-rata respirasi/menit juga akan meningkat (*hiperventilasi*). *Hiperventilasi* akan mengakibatkan ayam kehilangan banyak CO<sub>2</sub> dan air, hingga mengakibatkan terjadinya alkalosis (*alkalosis respiratorius*). Meningkatnya pH plasma dan cairan tubuh ini, selanjutnya memicu ginjal untuk mensekresi lebih banyak elektrolit tubuh.

Mengingat bahwa proses *evaporasi* sangat ditentukan oleh derajat panas dan persentase kelembaban relatif, maka suhu lingkungan tinggi yang dikombinasi dengan kelembaban relatif yang tinggi pula, merupakan ancaman yang serius bagi ayam.

Usaha mengurangi panas melalui *sensible heat loss* akan terhalang akibat sempitnya gradien antara suhu tubuh ayam *broiler* dengan suhu lingkungan. Proses penghilangan panas melalui *sensible heat loss* semakin sulit dilakukan ketika suhu lingkungan terlalu

tinggi, karena hanya sebagian kecil saja dari permukaan tubuh ayam yang terbuka tidak tertutup oleh bulu. Keberadaan bulu ini mengakibatkan ayam *broiler* dewasa menjadi lebih rentan terhadap *heat stress*, dibandingkan dengan ayam yang lebih muda (Anderson and Carter, 1998).

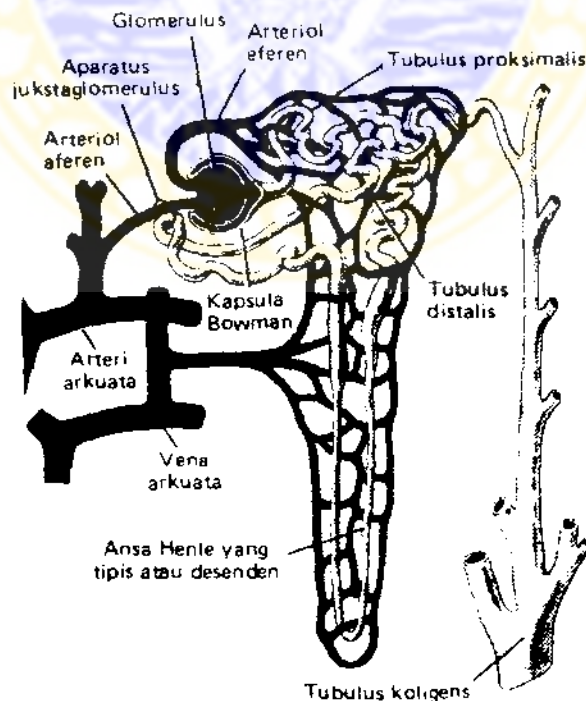
Pada saat *sensible heat loss* tidak lagi efektif, maka evaporasi adalah jalan satu-satunya dan terakhir bagi ayam untuk membuang panas tubuhnya ke lingkungan sekitar. Pada industri peternakan komersial ayam *broiler* dengan densitas yang tinggi, bisa menambah tingkat kelembaban relatif dalam kandang. Sistem ventilasi yang buruk dapat mengakibatkan stagnasi aliran udara yang mengandung banyak uap air dan CO<sub>2</sub> dari respirasi, serta gas ammonia, hingga memperparah keadaan ayam *broiler* yang terpapar *heat stress* yang disertai kelembaban (Moares *et al.*, 2003).

Pada puncak musim panas, tingkat kematian ayam *broiler* akibat *heat stress* akan meningkat tajam (lebih dari 5%), yang biasanya ditandai dengan adanya asites dan kematian mendadak (*sudden death syndrome*) akibat *pulmonary hypertension* dan *cardiac arrhythmias* (Cherian, 2000)

## 2.2. Struktur dan Fungsi Ginjal

Ginjal merupakan organ utama yang berfungsi sekretoris dalam mengeluarkan produksi metabolisme yang terlarut dalam air dan semua substansi yang diserap dari saluran pencernaan yang tidak dapat dimetabolisme dan tidak dibutuhkan tubuh (Ganong, 1987). Sebuah ginjal dengan potongan memanjang memberi gambaran dua daerah yang cukup jelas. Daerah tepi yang berwarna gelap kecoklatan disebut korteks dan yang agak cerah disebut medula berbentuk piramid terbalik (Dellman *and* Brown, 1992).

Mikroskopis ginjal terdiri dari satuan fungsional yang disebut nefron, berjumlah kira-kira satu juta nefron. Masing-masing nefron dibagi lagi atas glomerulus, lengkung henle dan tubulus (Ganong, 1987).



**Gambar 2.3** Penampang nefron ginjal. Sumber: Guyton, 2006.

Glomerulus merupakan invaginasi jalinan kapiler kedalam ujung buntu nefron yang melebar dibungkus oleh kapsula bowman. Pada kapsula bowman terdapat sel endotel, membran basalis dan sel epitel dasar. Ketiga lapisan tersebut membentuk membran filtrasi glomerulus yang memungkinkan ultrafiltrasi darah, pada glomerulus terdapat tiga zat yang mengalami filtrasi yaitu elektrolit (natrium, kalium, magnesium bikarbonat, klorida dan fosfat), non elektrolit (glukosa, asam amino dan kreatinin) dan air (Price *and* Wilson, 1994).

Tubulus atau tubuli mempunyai sifat-sifat epitel. Tubulus yang langsung berhubungan dengan kapsula bowman dinamakan tubulus kontortus proksimalis dan bertempat didalam korteks, dilapisi oleh kuboid dengan inti bulat terletak basal dan permukaan bebasnya memiliki mikrovili panjang disebut *brush border*. Fungsi sel tubulus ini terutama sebagai absorpsi (Ressang, 1985). Tiap-tiap tubulus kontortus proksimalis memasuki medula berubah menjadi lengkung henle tebal descendens, henle tipis dan henle tebal ascendens. Kemudian memasuki korteks berubah lagi menjadi tubulus kontortus distalis, sel epitel menjadi lebih tinggi, tidak memiliki *brush border* dan sitoplasmanya tampak lebih pucat serta kurang asidofil. Pada akhir tubulus kontortus distalis merupakan suatu tabung lurus, berakhir pada medula yang disebut duktus koligentes (Dellman *and* Brown, 1992)

Pada dasarnya fungsi ginjal dalam menjalankan fungsinya melalui tiga proses yaitu filtrasi oleh glomerulus, reabsorpsi dan sekresi oleh tubulus

(Wardener, 1975). Guyton (2006) dan Ganong (1987) menyebutkan bahwa fungsi dari ginjal antara lain: (1) Mengatur tekanan osmotik ekstraseluler dengan mengatur ekskresi air dan NaCl; (2) Mengatur elektrolit cairan ekstraseluler dengan jalan filtrasi oleh glomerulus dan reabsorpsi serta sekresi oleh tubulus; (3) Mengatur keseimbangan asam-basa melalui sekresi hidrogen dan elektrolit; (4) Mengekskresikan lagi sisa metabolisme tubuh yang tidak berguna, terutama sisa metabolisme protein seperti urea, kreatinin, asam urat dan ammonia.

Adanya kerusakan ginjal menyebabkan ginjal tidak dapat mengekskresikan hasil metabolisme yang tidak berguna oleh tubuh terutama urea dan kreatinin. Urea dan kreatinin merupakan hasil metabolisme protein yang pembuangannya diatur oleh ginjal yaitu melalui filtrasi oleh glomerulus. Adanya kerusakan pada sel glomerulus menyebabkan laju filtrasi glomerulus menurun sehingga urea dan kreatinin akan menumpuk di plasma darah (Brenner *and* Hostetter, 1982).

### **2.3. Dampak *Heat Stress* Pada Ginjal**

Kalium merupakan kation utama intraseluler, yang mempunyai berbagai peran penting dalam proses metabolisme, termasuk konduksi saraf, kontraksi otot dan mengatur volume sel. Gangguan homeostasis K<sup>+</sup> mengakibatkan dampak yang penting terhadap fungsi sel. *Heat stress* diketahui mengakibatkan meningkatnya ekskresi dan menurunnya retensi K<sup>+</sup> pada ginjal, sehingga menurunkan kadar K<sup>+</sup> pada plasma ayam *broiler* (Ait-



Boulahsen *et al.*, 1995). Penurunan kadar  $K^+$  ini dapat mengakibatkan hiperpolarisasi membran sel saraf dan otot yang dapat menurunkan daya eksitabilitas, dengan manifestasi klinis berupa kelemahan otot, diare, disfungsi otot digesti yang menyebabkan distensi abdominal, serta gangguan ritme jantung dan impuls saraf (Sherwood, 2004). Melalui mekanisme ini, *heat stress* bisa jadi merupakan faktor predisposisi utama terhadap sindrom kematian mendadak akibat gagal jantung dan asites pada ayam *broiler*, yang dilaporkan mencapai 5% (Cherian, 2000).

Kan *et al.*, (1993) melaporkan *heat stress* mengakibatkan terganggunya homeostasis elektrolit plasma ayam *broiler* yaitu menurunnya kadar  $Ca^{2+}$  dan  $K^+$  serta meningkatnya kadar  $Cl^-$ ,  $Na^+$  plasma darah, meningkatnya konsumsi dan ekskresi air, serta meningkatkan suhu internal tubuh akibat meningkatnya rasio Na:Ca pada hipotalamus. *Heat stress* mengakibatkan laju ekskresi fosfor, kalium, natrium, magnesium, mangan, selenium, sulfur, cooper dan seng pada ginjal meningkat (Belay and Teeter, 1996).

Mekanisme yang melibatkan gangguan keseimbangan asam-basa bisa akibat hiperventilasi. Hiperventilasi melalui *panting* yang terjadi pada ayam *broiler* selama terpapar *stress* panas yang disertai kelembaban, mengakibatkan ekskresi  $CO_2$  meningkat hingga memicu meningkatnya pH darah (*alkalosis respiratorius*). Alkalosis mengakibatkan berbagai gangguan fungsi tubuh, diantaranya adalah meningkatnya kerja ginjal untuk mensekresi beberapa elektrolit tubuh (Emery, 2004).

Patogenesis *heat stress* terhadap perubahan struktur dan fungsi ginjal pada ayam *broiler* diatas diduga juga terkait dengan peran radikal bebas yang banyak dihasilkan selama paparan *heat stress*. Pada organisme aerob yang sehat, produksi radikal bebas baik *reactive oxygen species* (ROS) maupun *reactive nitrogen species* (RNS), hampir seimbang dengan sistem pertahanan antioksidanya. Meskipun keseimbangan ini tidak sempurna, tetapi dalam kondisi normal, jumlah antioksidan tersebut cukup untuk memperbaiki kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas yang terjadi secara terus-menerus. Bila keseimbangan ini terganggu maka dapat menyebabkan terjadinya *stress* oksidatif, yang telah terbukti menyebabkan berbagai gangguan pada sistem biologis.

Dalam proses perjalanan suatu penyakit, peran radikal bebas bisa sebagai penyebab utamanya, atau hanya sebagai faktor ikutan yang akan memperparah keadaan. Namun yang pasti diketahui adalah, bahwa setiap penyakit atau gangguan tersebut, dapat menyebabkan terjadinya *stress* oksidatif.

Pada prinsipnya *stress* oksidatif dapat terjadi melalui dua mekanisme, yaitu:

1. Akibat berkurangnya jumlah antioksidan tubuh, misalnya karena adanya mutasi yang berdampak pada gen-gen enzim antioksidan (seperti, CuZnSOD, MnSOD dan *gluthatione perokidase*/GSH) atau oleh karena penyakit yang dapat menurunkan sistem pertahanan antioksidan. Diketahui bahwa, sebagian besar *xenobiotik* dimetabolisme dengan cara

berkonjugasi dengan GSH, oleh karenanya pemakaian *xenobiotik* yang berlebihan, merupakan salah satu penyebab *stress* oksidatif, meskipun *xenobiotik* sendiri tidak menghasilkan ROS/RNS. Faktor lain yang dapat menurunkan jumlah antioksidan adalah karena kekurangan diet antioksidan atau bahan makanan penting seperti protein.

2. Akibat meningkatnya produksi ROS/RNS, yang diakibatkan antara lain oleh: (1) jejas yang dapat meningkatkan kadar radikal bebas (termasuk *stress* suhu); (2) proses metabolisme yang menghasilkan ROS/RNS; (3) meningkatnya sistem-sistem produksi ROS/ RNS alami/ natural ROS/ RNS-*producing systems* (misalnya, peningkatan aktifitas makrofag yang berlebihan pada penyakit kronis, serta akibat *stress* baik fisik maupun psikis) (Sies, 1991).

Dilaporkan bahwa paparan suhu lingkungan diatas 30°C serta kelembaban relatif diatas 65%, mengakibatkan peningkatan radikal OH<sup>•</sup> (hidrogen peroksid) dan O<sub>2</sub><sup>•-</sup> (superoksida radikal) pada plasma *broiler*. Keadaan ini memicu terjadinya peroksidasi lipid yang dapat merusak integritas membran sel maupun organel. Konsekuensi dari hal tersebut adalah terjadinya disfungsi sel ginjal (Kan *et al.*, 1993; Slater, 1984).

#### **2.4. Peran Vitamin Dalam Heat Stress** **Definisi, Sifat dan Klasifikasi Vitamin Pada Ayam**

Definisi vitamin yang sekarang telah diakui adalah persenyawaan organik yang (1) Terdiri dari bahan makanan tapi bukan karbohidrat, lemak,

protein dan air; (2) Terdapat dalam bahan makanan dalam jumlah yang sangat sedikit; (3) *Essensial* untuk perkembangan jaringan normal dan untuk kesehatan, pertumbuhan dan hidup pokok; (4) Jika tidak terdapat dalam ransum atau tidak tepat diabsorpsi atau tidak dipergunakan, mengakibatkan penyakit defisiensi yang khas atau sindrom; (5) Tidak dapat disintesa oleh hewan dan maka dari itu harus tersedia dalam ransum.

Menurut Juju Wahyu, 1982, mengatakan bahwa beberapa sifat dari vitamin mempunyai perbedaan yang besar dalam komposisi kimia dan fungsi metabolis. Vitamin-vitamin tersebut ditemukan dalam beberapa macam konsentrasi dalam bahan makanan, tidak ada satu bahan makanan yang mengandung semua vitamin dalam jumlah yang optimal untuk ayam dan hewan lain. Maka dari itu semua bahan makanan harus diperhatikan dan harus dilengkapi dengan suplementasi vitamin sintesis atau konsentrat.

Klasifikasi vitamin dapat dibagi menjadi dua bagian berdasarkan daya larutnya baik dalam lemak dan larutan lemak atau dalam air. Vitamin-vitamin yang larut dalam lemak adalah vitamin A, D, E dan K, terdapat dalam bahan makanan bersama-sama dengan lipida-lipida. Vitamin yang larut dalam lemak dan diabsorpsi bersama-sama dengan lemak yang terdapat dalam ransum memperlihatkan mekanisme yang sama seperti mekanisme absorpsi lemak. Kondisi yang baik untuk absorpsi lemak, misalnya cukup aliran empedu dan formasi misel sangat membantu absorpsi vitamin-vitamin yang larut dalam lemak.

Vitamin-vitamin yang larut dalam air yang dibutuhkan oleh ayam adalah vitamin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, asam nikotinat (niasin), asam pantotenat, asam folat, biotin dan kolin. Vitamin-vitamin ini tidak dihubungkan dengan lipida-lipida dan peningkatan absorpsi lemak tidak mempengaruhi absorpsi vitamin-vitamin tersebut. Vitamin yang larut dalam lemak disimpan dalam jumlah yang cukup dalam tubuh hewan dan tidak dikeluarkan melalui urine. Kecuali vitamin B<sub>12</sub> yang larut dalam air tidak disimpan, tapi kelebihan segera dikeluarkan melalui urine. Penambahan vitamin yang larut dalam air diperlukan hanya untuk mencegah defisiensi (Juju Wahyu, 1982).

Berkat kemajuan yang dicapai pada bidang rekayasa genetika, saat ini telah dihasilkan berbagai strain ayam *broiler* modern yang memiliki ciri-ciri pertumbuhan cepat, *Feed Conversion Rate* (FCR) dan *metabolic rate* yang tinggi. Keunggulan genetik tersebut, selain menjadi faktor yang menguntungkan secara ekonomis, disisi yang lain juga merugikan karena merupakan faktor predisposisi yang penting bersama-sama *heat stress* terhadap timbulnya penyakit metabolik seperti, *pulmonary hypertension syndrome*, *cardiac arrhythmias*, *ascites* dan *sudden death syndrome*, dengan angka kematian yang dapat mencapai lebih dari 5% (Cherian, 2000).

#### **A. Vitamin A**

Vitamin A dapat digunakan oleh ayam baik dalam bentuk vitamin A maupun dari provitamin A. Sumber yang kaya vitamin A adalah minyak hati ikan, tetapi sekarang telah dibuat sintesis. Asal vitamin A (terutama karoten B) banyak terdapat pada tanaman hijau. Vitamin A dalam pakan ayam

lebih stabil bila berisi antioksidan. Bahan sintesis lebih dapat diandalkan daripada minyak ikan. Kebutuhan ayam akan vitamin A kurang lebih dari 6.600-11.000 IU per kg pakan.

### **B. Vitamin D**

Vitamin D meningkatkan absorpsi kalsium dari saluran pencernaan dan juga membantu mengatur pengendapan kalsium pada tulang. Mekanisme vitamin D meningkatkan absorpsi kalsium adalah mempermudah transport aktif kalsium melalui epitel ilium. Hal ini meningkatkan kalsium dalam sel epitel yang membantu absorpsi kalsium.

Vitamin ini dibentuk oleh ayam dengan bantuan sinar matahari, tetapi jumlah yang dihasilkan biasanya tidak cukup memenuhi kebutuhan sehingga biasanya memerlukan tambahan. Pada kondisi panas dan lembab, pakan sering berjamur sehingga dapat menyebabkan fungsi enteritis atau munculnya *mycotoxin*. Kejadian ini dapat meningkatkan kebutuhan vitamin pada unggas.

### **C. Vitamin E**

Menurut Akoso B,T (1993) mengemukakan bahwa vitamin E sangat penting bagi kutuk, ayam *broiler* dan bibit. Fungsi utama vitamin E adalah sebagai antioksidan baik dalam pakan ataupun dalam sel hati setelah penyerapan. Vitamin E sekurang-kurangnya sebagian dapat digantikan oleh antioksidan. Kebutuhan ayam akan vitamin E paling tidak 0-16,5 IU per kg pakan. Beberapa sistem metabolisme dari vitamin E telah dikemukakan sebagai antioksidan biologis dan menjaga struktur lipida dalam mitokondria

terhadap kerusakan oksidatif. Rochman, 2003 mengatakan bahwa, konsumsi vitamin E sebanyak 50 ppm dapat mengurangi kematian akibat *heat stress*, sedang pada ayam *broiler* dan level lebih dari 100 ppm dapat meningkatkan resistensi ayam terhadap penyakit.

#### **D. Vitamin K**

Peranan yang sempurna dari vitamin ini sebelum terungkap walaupun telah diketahui adalah perlu untuk pembentukan protrombin, faktor VII (prokonvertin), faktor IX dan faktor X oleh hati. Semuanya penting pada pembekuan darah (Guyton, 2006; Akoso, 1993; Williamson, 1965). Menurut Akoso 1993, defisiensi vitamin K akan mengakibatkan kenaikan protrombin atau waktu penjedalan darah sehingga ayam sering mengalami perdarahan. (Rochman, 2003), Salah satu pengaruh dari *heat stress* adalah perpanjangan waktu pembekuan darah. Keadaan ini dapat diantisipasi dengan penambahan konsumsi vitamin K. Suplementasi vitamin ini penting terutama pada saat potong paruh dan untuk ayam yang terserang koksidiosis. Kebutuhan ayam akan vitamin K adalah 2,2 mg per kg pakan.

#### **E. Vitamin C (asam askorbat)**

Asam askorbat dipercaya berfungsi sebagai antioksidan yang larut dalam air dan terdapat pada bahan makanan. Asam askorbat mampu memberikan elektron untuk meredam atau mengurangi variasi radikal bebas dan jenis-jenis oksidan (May, et al. 1996). Semua spesies ayam dapat mensintesis vitamin C (asam askorbat) yang dipercaya berfungsi sebagai anti-oksidan yang larut dalam air dan terdapat pada bahan makanan. Karena

ayam dapat mensintesis vitamin C di dalam ginjal, maka banyak para ahli berpendapat bahwa ayam tidak perlu diberi vitamin C.

Suatu percobaan yang dilakukan oleh *North Caroline State University*, 1985 menyebutkan bahwa pada ayam yang diberi perlakuan temperatur lingkungan 43°C selama 30 menit sampai dengan 3 jam dapat menyebabkan kematian hanya sebesar 22%, pada ayam dengan temperatur normal angka kematian hanya 5%. Selanjutnya ayam yang mendapatkan perlakuan temperatur 43°C dengan pemberian vitamin C 100 ppm, maka angka kematian dapat diturunkan menjadi hanya 7,3%. Peranan vitamin C dalam penelitian tersebut adalah sebagai *anti-stressor* (Prawirokusumo, 1990)

Pada reaksi kimia, vitamin C (asam askorbat) merupakan agen pereduksi (donor elektron), yang dapat mereduksi radikal hidroksil, superoksida radikal, asam hipoklorit dan reaktif oksidan lainnya. Vitamin C dapat bekerja efektif baik didalam maupun diluar sel, dan oleh karenanya mempunyai peran sentral sebagai anti oksidan intraseluler dalam mencegah kerusakan DNA (Papas, 1999). Diet dengan kandungan vitamin C, E dan A serta senyawa karotenoid alami lainnya, dilaporkan dapat melindungi jaringan dari kerusakan oleh radikal bebas (Surai, 1999).

Menurut Rochtman (2003) keuntungan suplementasi vitamin C pada suasana panas yaitu dapat mengurangi kematian akibat *heat stress*, memperbaiki produksi telur dan daya tetas telur.



### F. Vitamin B1 (tiamin)

Tiamin bekerja pada sistem metabolisme tubuh terutama sebagai *tiamin pirofosfat*. Senyawa ini berfungsi sebagai *kokarboksilase*, terutama bekerja untuk *dekarboksilase* asam piruvat. Jadi tiamin khususnya dibutuhkan untuk metabolisme akhir karbohidrat dan banyak asam amino.

Suplementasi vitamin B1 atau tiamin dalam cuaca panas dapat meningkatkan laju pertumbuhan. Level yang dianjurkan adalah 120-150 gram/kg pakan.

### G. Vitamin B2 (riboflavin)

Ribloflavin dalam keadaan normal berikatan dengan asam fosfat dalam jaringan untuk membentuk dua koenzim, *flavin mononukleotida* (FMN) dan *flavin adenin dinukleotida* (FAD). Sebaliknya ia bekerja sebagai pengangkut hidrogen dalam beberapa sistem oksidatif tubuh yang penting.

Pada level kurang dari 5 mg/kg pakan pada cuaca panas dapat menghambat pertumbuhan dan menurunkan produksi telur. Agar daya tetas optimal dapat diberikan 6-8 mg/kg pakan.

## 2.5. Elektrolit

Elektrolit adalah semua jenis senyawa yang dapat menghasilkan ion-ion ketika terlarut dalam air dan dapat menghantarkan aliran listrik. Ion yang bermuatan positif disebut kation dan yang bermuatan negatif disebut anion. *Sodium chloride* (NaCl) adalah salah satu contoh elektrolit yang disusun oleh kation natrium ( $\text{Na}^+$ ) dan anion klorida ( $\text{Cl}^-$ ). Senyawa elektrolit dapat

tersusun oleh ion *monoatomic* sederhana seperti sodium klorida atau senyawa yang tersusun oleh ion-ion *polyatomic* seperti ammonium nitrat ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ).

Senyawa-senyawa asam dan basa adalah contoh-contoh elektrolit khusus, dimana ketika senyawa tersebut terlarut dalam air akan menghasilkan kation hidrogen ( $\text{H}^+$ ) untuk senyawa asam dan anion hidroksil ( $\text{OH}^-$ ) untuk senyawa basa. Contoh senyawa asam dan basa tersebut berturut-turut adalah asam *hydrochloride* ( $\text{HCl}$ ) dan sodium hidroksil ( $\text{NaOH}$ ). Senyawa-senyawa yang dapat terlarut dalam air namun tidak dapat menghasilkan ion-ion disebut senyawa nonelektrolit, seperti ethanol (*Encyclopedia Columbia*, 2006).

Senyawa elektrolit kuat adalah senyawa elektrolit yang akan terurai sempurna ketika larut dalam air untuk membentuk ion bermuatan yaitu yang mempunyai kontribusi dalam sifat konduktivitasnya, dan tidak menyisakan molekul netral. Sebagai contoh  $\text{NaCl}$  akan terlarut sempurna menjadi kation  $\text{Na}$  dan anion  $\text{Cl}$ , tanpa menyisakan garam  $\text{NaCl}$  yang bermuatan netral. Contoh senyawa elektrolit kuat lainnya adalah ammonium nitrat ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) yang terlarut sempurna dalam air menjadi kation  $\text{NH}_4$  dan anion  $\text{NO}_3$ . Senyawa-senyawa asam dan basa kuat seperti  $\text{HCl}$  dan  $\text{HNO}_3$  dapat digolongkan sebagai elektrolit kuat pula, mengingat keduanya akan terurai sempurna menjadi ion pembentuknya, ketika terlarut dalam air.

Senyawa elektrolit lemah adalah senyawa elektrolit yang tidak dapat terurai sempurna menjadi ion-ion ketika terlarut dalam air. Contoh senyawa elektrolit lemah adalah asam asetat, dimana senyawa tersebut selain membentuk  $H^+$  dan  $C_2H_3O_2^-$ , juga menyisakan molekul  $C_2H_3O_2H$  yang tidak bermuatan. Contoh senyawa elektrolit lemah lainnya adalah ammonia ( $NH_3$ ) (*Encyclopedia Columbia*, 2006; Sperelakis, 1998).

### 2.5.1. Peran dan metabolisme elektrolit dalam sistem biologis

Terdapat sejumlah besar mineral dalam sistem biologis, namun demikian hanya sedikit yang menunjukkan peran biokimia dan fisiologis yang nyata. Unsur-unsur ini dapat dikelompokkan dalam lima golongan: (1) Komponen utama molekul-molekul tubuh: yaitu karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen dan sulfur; (2) Kelompok mineral penting (elektrolit): kalsium, fosfor, magnesium, natrium (sodium), kalium (potasium), dan klorida; (3) *Trace* mineral: kromium, kobalt, tembaga, yodium, besi, mangan, molybdenum, selenium, dan seng; (4) Unsur-unsur yang dibutuhkan untuk nutrisi pada hewan, tetapi tidak diketahui fungsinya bagi manusia, contoh: arsen, cadmium, nikel, silikon, timah, dan vanadium. (5) Kelompok unsur beracun: air raksa dan timah hitam.

Sebagian besar mineral kecuali potasium dan sodium membentuk garam-garam mineral dan senyawa lain yang relatif sulit

larut dalam air, sehingga sulit diabsorpsi. Sebagian besar mineral yang dikonsumsi dibuang bersama feses. Absorpsi mineral membutuhkan pengemban khusus (*specific carrier protein*), demikian juga dengan *transport* dan penyimpanan. Ekskresi sebagian besar mineral dilakukan oleh ginjal tetapi sebagian lainnya diekskresi ke dalam cairan empedu, dan hilang bersama feses.

Secara umum fungsi elektrolit dalam sistem biologis adalah: menjaga keseimbangan asam-basa dan mempertahankan tekanan osmotik cairan, terlibat dalam berbagai proses metabolisme, konduksi saraf, kontraksi otot, proses pembekuan darah, motilitas sel, menjaga keseimbangan asam-basa dan mempertahankan tekanan osmotik cairan (Martin *et al.*, 1990).

Elektrolit penting yang berperan sentral dalam menjaga keseimbangan fungsi normal tubuh diantaranya adalah sodium ( $\text{Na}^+$ ), potasium ( $\text{K}^+$ ), dan klorida ( $\text{Cl}^-$ ). Sodium merupakan kation utama pada cairan ekstraseluler, dan potasium merupakan kation utama pada cairan intraseluler, sedangkan klorida merupakan anion utama cairan ekstraseluler (Tabel 2.3).

Sodium atau natrium ( $\text{Na}^+$ ), merupakan elektrolit utama penyusun cairan ekstraseluler. Bersama dengan klorida dan bikarbonat, sodium berperan dalam pengaturan keseimbangan asam-basa dan mempertahankan tekanan osmotik cairan tubuh, hingga dapat melindungi tubuh terhadap kehilangan cairan yang berlebihan.

**Tabel 2.3.** Distribusi ion pada semua jenis sel dan keseimbangan potensial

Ion	Ekstraseluler (mM)	Intraseluler (mM)	Keseimbangan Potensial (mV)
Na <sup>+</sup>	145	15	+60
Cl <sup>-</sup>	100	5	-80
K <sup>+</sup>	4.5	150	-94
Ca <sup>+</sup>	1.8	0.0001	+130
H <sup>+</sup>	0.0001	0.0002	-18

Sumber: Sperelakis, 1998.

Peningkatan konsentrasi sodium akan diikuti dengan meningkatnya osmolaritas pada bagian luar sel, yang mana hal ini menyebabkan perpindahan molekul air dari dalam menuju luar sel. Berkurangnya air pada bagian intraseluler ini, akan menstimulasi mekanisme haus dan menurunnya volume urine. Hal sebaliknya akan terjadi bila konsentrasi sodium pada bagian ekstraseluler turun (Martin *et al.*, 1990: *Encyclopedia Columbia*, 2006).

Potassium atau kalium (K<sup>+</sup>) merupakan kation utama intraseluler, dan mempunyai peran pada beberapa proses metabolik penting termasuk konduksi saraf, eksitasi-kontraksi otot, dan mengatur volume sel, reaksi enzim dan sintesis protein otot. Baik sodium maupun potassium terlibat dalam menjaga tingkat keasaman (pH) darah serta fungsi normal jaringan saraf dan otot (*Encyclopedia Columbia*, 2006; Boulahsen *et al.*, 1995).

Terhadap sel *excitable* (saraf dan otot), keseimbangan elektrolit sangat penting karena dapat mempengaruhi nilai ambang potensial membran sel. Rangsangan yang lemah dapat menyebabkan depolarisasi sehingga bagian dalam sel menjadi kurang negatif akibat *influks* sodium mengikuti gradien elektrokimia melalui *voltage-gated sodium channel* pada membrane sel. Depolarisasi akan diikuti dengan repolarisasi, dengan keluarnya (*efluks*) potasium.

Apabila rangsangan cukup kuat, maka akan terjadi perbedaan muatan yang sangat besar pada membran potensial. Potensial aksi menyebabkan perubahan dan terganggunya potensial *steady-state* potasium oleh impuls sodium, dan peningkatan gelombang depolarisasi sepanjang sabut saraf hingga memungkinkan bagian efektor untuk bereaksi (kontraksi pada otot yang diinervasi).

Konsentrasi ion-ion dalam cairan biologis umumnya dinyatakan dalam *millimoles* per liter larutan (mM) atau *millimoles* per kg air (mMolal) (Sperelakis, 1998). Pada manusia dewasa dengan berat 70 kg, kandungan sodiumnya dapat mencapai 100g, potasium 140g, dan 95 g untuk klorida. Keseimbangan ion-ion dalam tubuh dipertahankan dengan menjaga keseimbangan elektrolit yang disekresikan dengan yang dikonsumsi. Penambahan elektrolit sangat dianjurkan selama masa pertumbuhan, kebuntingan, dan selama proses penyembuhan (Palmer *et al.*, 2000).

Absorpsi natrium klorida dari diet terutama terjadi di usus halus. Melalui transport aktif, natrium keluar dari bagian sel-sel epitel usus menuju membran basal. Sejumlah molekul pembawa yang kebanyakan adalah molekul protein memiliki reseptor untuk natrium, glukosa, galaktosa, dan asam amino. Oleh karena itu, absorpsi natrium juga disertai dengan bahan lainnya. Mekanisme *counter-transport* (ekskresi) natrium terjadi pada ginjal mengikuti kelebihan hidrogen dan potasium (Palmer *et al.*, 2000).

Pada manusia, tingkat konsumsi natrium, klorida dan potasium seringkali melebihi jumlah yang dibutuhkan akibat pola makannya. Hampir semua sumber makanan alami mempunyai kandungan potasium yang lebih tinggi dibandingkan kandungan natriumnya. Pada orang dewasa di Amerika dengan menu normal, rata-rata mengkonsumsi 2,5-3,5 gram potasium sehari. Angka ini menjadi lebih tinggi bila ditambah dengan konsumsi buah-buahan dan sayuran (11 gram/hari). Sementara itu natrium umumnya tersedia dan dikonsumsi dalam bentuk NaCl (garam dapur), dan sebagian kecil dalam bentuk natrium karbonat, natrium sitrat dan natrium glutamat. Rata-rata jumlah konsumsi normal natrium pada manusia dewasa berkisar antara 2-5 gram/hari atau 5-13 gram/hari dalam bentuk garamnya (NaCl).

Dalam keadaan normal 99% natrium, potasium dan klorida yang dikonsumsi diabsorpsi. Sebagian besar absorpsi terjadi

disepanjang usus halus dan hanya 5-10% terjadi di usus besar. Khususnya potasium, elektrolit ini selain diekskresi melalui ginjal, juga melalui usus besar (*Columbia Encyclopedia*, 2006; Martin *et al.*, 1990).

Dari sejumlah regulator homeostasis elektrolit, aldosteron merupakan yang terpenting. Aldosteron mempunyai peran penting dalam absorpsi natrium dan sekresi potasium (Turner *and* Bagnara, 1988).

Ekskresi utama natrium, potasium dan klorida melalui kulit (keringat), urine (95%) dan feses. Nilai normal ekskresi elektrolit penting berturut-turut adalah 115mg/hari dan 800 mg/hari masing-masing untuk natrium dan potasium, sementara nilai ekskresi klorida kurang lebih sama dengan natrium (*Columbia Encyclopedia*, 2006).

### **2.5.2. Regulasi homeostasis natrium, potasium dan klorida**

Berbagai mekanisme pengaturan ekskresi elektrolit penting tubuh terutama pada ginjal dalam pengertian yang luas adalah usaha untuk menjaga keseimbangan cairan dalam tubuh. Ekskresi natrium melalui urin terutama dikontrol oleh kecepatan reabsorpsi ion tersebut pada glomerulus dan sel tubulus ginjal, sedangkan ekskresi potasium hanya dikontrol melalui ekskresi ion tersebut pada sel tubulus ginjal.



Hipovolemia yang diakibatkan oleh kurangnya konsentrasi sodium dalam darah, akan mengakibatkan peningkatan reabsorpsi ion ini dalam ginjal, dengan jalan meningkatkan kerja saraf simpatik dan rangsangan terhadap dua sistem hormon yaitu *rennin-angiotensin-aldosteron* dan sistem antidiuretik. Hasilnya adalah menurunnya volume urine, yang juga berarti menurunnya ekskresi sodium dan klorida. Hipovolemia yang diakibatkan oleh diare, olahraga berlebih sehingga berkeringat, kebuntingan dan menyusui, mengakibatkan teraktifkannya mekanisme haus dan tingkat palatabilitas terhadap konsumsi garam (NaCl). Meningkatnya palatabilitas terhadap garam merupakan bentuk adaptasi yang positif pada sebagian besar herbivora yang hidup didaerah beriklim panas (Sperelakis, 1988).

Hipervolemia akibat tingginya konsentrasi sodium dalam plasma darah, memicu serangkaian mekanisme yang menyebabkan meningkatnya ekskresi sodium dalam urine, antara lain dengan meningkatnya kerja saraf simpatik, sistem *rennin-angiotensin-aldosteron*, sistem antidiuretik, serta meningkatnya rangsangan pada sekresi *peptide-peptida atrial natriuretik* (Sperelakis, 1988; *Columbia Encyclopedia*, 2006).

Aldosteron merupakan hormon terpenting yang mengatur sekresi potasium. Sekresi aldosteron dipicu oleh angiotensin II yang meningkat akibat tingginya konsentrasi potasium atau rendahnya kadar sodium dalam darah. Secara langsung konsentrasi potasium

dan ion hidrogen dapat mempengaruhi sekresi potasium pada bagian distal nephron. Kecepatan sekresi potasium sebanding dengan konsentrasinya pada plasma darah (Turner *and* Bagnara, 1986).

Sekresi potasium sebagai respon dari tergangungnya keseimbangan asam-basa (pH) darah, melibatkan proses yang kompleks. Secara umum, asidosis akut akan mengakibatkan menurunnya sekresi potasium, sedangkan pada keadaan alkalosis sekresi potasium akan meningkat. Sementara itu respon terhadap gangguan asam-basa yang kronis sangat bervariasi (*Encyclopedia Columbia*, 2006).

### **2.5.3. Gangguan keseimbangan sodium, potasium dan klorida**

*Intake* elektrolit yang berlebihan secara normal tidak akan menyebabkan terjadinya retensi dalam tubuh. Retensi elektrolit pada cairan tubuh umumnya lebih dikarenakan oleh terganggunya fungsi ginjal. Pada manusia keadaan kekurangan (*defisiensi*) elektrolit umumnya jarang terjadi, karena jumlah *intake* bahan-bahan tersebut biasanya cukup berlebihan (Martin *et al.*, 1990).

Tingginya konsentrasi sodium ekstraseluler yang dapat terjadi karena retensi sodium akibat gagal ginjal, atau gagal jantung, akan berakibat terjadinya oedema dan hipertensi. Sedangkan kekurangan sodium mengakibatkan terjadinya hipovolemia dan hipotensi,

misalnya akibat penyakit Addison's yang ditandai dengan diare dan muntah berat.

Perubahan konsentrasi potasium pada plasma dapat mempengaruhi eksitabilitas dari sel-sel saraf dan otot. Retensi potasium dapat terjadi akibat menurunnya sekresi aldosteron atau berkurangnya responsitas ginjal terhadap aldosteron, yang pada akhirnya mengakibatkan hiperkalemia (konsentrasi potasium darah melebihi 5mmol/l).

Manifestasi klinis hiperkalemia antara lain adalah aritmia hingga terhentinya kontraksi pada otot-otot jantung. Rendahnya kadar potasium plasma dapat terjadi akibat meningkatnya kadar aldosteron, diuresis, muntah atau diare. Manifestasi klinis dari hipokalemia adalah tertekannya fungsi neuromuscular dan pada hipokalemia berat gejalanya sama dengan keadaan hiperkalemia, yaitu aritmia jantung (Boulahsen *et al.*, 1995).

#### **2.5.4. Heat stress dan gangguan homeostasis elektrolit pada ayam broiler**

Panas tubuh dapat berasal dari dalam tubuh sebagai hasil proses metabolisme dan dari lingkungan sekitar yang diterima tubuh melalui radiasi dan konduksi. Sementara itu, tubuh akan kehilangan panas melalui radiasi, konduksi, konveksi dan evaporasi. Berbeda dengan golongan mamalia, ketiadaan kelenjar keringat mengakibatkan

golongan unggas lebih banyak menggunakan cara evaporasi atau *panting*, ketika paparan suhu yang diterima tidak sebanding dengan panas yang dikeluarkan.

Hiperventilasi akibat *panting* pada ayam *broiler* yang terpapar *heat stress*, mengakibatkan ekskresi CO<sub>2</sub> dan air melalui paru-paru meningkat tajam, hingga mengakibatkan terjadinya alkalosis respiratorius, dimana keadaan akan memicu terjadinya gangguan fungsi yang lain, diantaranya meningkatnya kerja ginjal untuk mengsekresi secara berlebih beberapa elektrolit tubuh (Emery, 2004).

Gangguan homeostasis K<sup>+</sup> mengakibatkan dampak yang penting terhadap fungsi sel. *Heat stress* pada ayam *broiler* diketahui mengakibatkan meningkatnya ekskresi dan menurunnya retensi K<sup>+</sup> pada ginjal, sehingga menurunkan K<sup>+</sup> pada plasma ayam *broiler* (Ait-Boulahsen *et al.*, 1995). Penurunan kadar K<sup>+</sup> ekstraseluler ini dapat mengakibatkan hiperpolarisasi membran sel saraf dan otot akibat turunnya daya eksitabilitas, dengan manifestasi klinis berupa kelemahan otot, diare, disfungsi otot-otot digesti yang menyebabkan distensi abdominal, serta gangguan ritme jantung dan impuls saraf (Sherwood, 2004). Melalui mekanisme ini, *heat stress* bisa jadi merupakan faktor predisposisi utama terhadap sindrom kematian mendadak akibat gagal jantung dan asites pada *broiler*, yang dilaporkan mencapai 5% (Cherian, 2000).

Kan et al., (1993), melaporkan *heat stress* mengakibatkan terganggunya homeostasis elektrolit plasma ayam *broiler* yang menyebabkan penurunan kadar  $\text{Ca}^{2+}$  dan  $\text{K}^{+}$  serta peningkatan kadar  $\text{Cl}^{-}$  dan  $\text{Na}^{+}$  plasma darah; peningkatan rasio  $\text{Na} : \text{Ca}$  pada hipotalamus. *Heat stress* mengakibatkan laju ekskresi fosfor, kalium, natrium, magnesium, mangan, selenium, sulfur dan cooper, pada ginjal meningkat (Belay and Teeter, 1996).



## **BAB 3 MATERI DAN METODE PENELITIAN**

### **3.1. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 21 Agustus 2007 sampai dengan 28 September 2007 yang bertempat di kandang percobaan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Sedangkan pembuatan dan pemeriksaan sediaan histopatologi ginjal dilakukan di Laboratorium Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

### **3.2. Bahan dan Materi Penelitian**

#### **3.2.1. Hewan percobaan**

Hewan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah 20 ekor ayam *broiler strain* Hubbard, umur 21 hari dengan berat badan rata-rata 907 gram.

#### **3.2.2. Bahan penelitian**

1. Suplemen multivitamin dan elektrolit komersial (komposisi dapat dilihat pada Lampiran 1)
2. Pakan komersial
3. Desinfektan
4. Vaksin ND dan IBD
5. Formalin 10%

6. Alkohol 70%, 80%, 90%, 95% dan 96%
7. Alkohol absolut I, II dan III
8. XyloI I dan II
9. Paraffin I dan II
10. Gliserin
11. Pewarna Hematoxylin Eosin (HE)
12. *Acid* alkohol
13. Amonia
14. Aquades
15. Air PDAM
16. Canadian balsem

### 3.2.3. Alat penelitian

1. Dua buah ruangan (A dan B)
2. *Air conditioner* (AC)
3. *Thermoregulator*
4. Sensor suhu
5. Dua buah lampu halogen @ 250 watt
6. Dua buah lampu infra merah @ 100 watt
7. Satu buah sensor panas
8. Empat buah kandang *litter* ukuran 1x1x0,5 meter
9. Empat buah tempat pakan
10. Empat buah tempat minum

11. Empat buah *brooder*
12. Empat buah termometer ruangan
13. Satu buah *thermohigro*
14. Timbangan digital
15. Timbangan manual
16. Gelas ukur
17. Pinset steril
18. Scalpel
19. Gunting bedah
20. *Glove*
21. Jas laboratorium
22. *Object glass*
23. *Cover glass*
24. *Hot plate*
25. Oven
26. Nampan
27. Pembakar api Bunsen
28. Aluminium foil
29. Mikrotom
30. *Staining jar*
31. *Refrigerator*
32. Pot plastik



### **3.3. Metode Penelitian**

#### **3.3.1. Persiapan hewan coba**

Satu minggu sebelum DOC *broiler* datang dilakukan desinfeksi menggunakan desinfektan. Dua puluh ekor DOC *broiler* dipelihara selama 21 hari dengan suhu *brooder* 32°C selama tujuh hari, 30°C selama 14 hari pada ruangan dengan suhu 21-23°C. Pada hari pertama kedatangan DOC *broiler* diberi air minum yang mengandung larutan gula aren 5%, hal ini ditujukan untuk penambahan energi yang telah berkurang selama transportasi. Untuk mencegah infeksi *Newcastle Disease* (ND) dan *Infeksius Bronchitis* (IB) dilakukan vaksinasi pada DOC *broiler* yang berumur empat hari dengan cara tetes mata. Selama pemeliharaan tersebut ayam diberikan pakan standar untuk *starter* pada ayam *broiler* dengan jenis pakan komersial dan air minum yang berasal air bersih PDAM Surabaya.

#### **3.3.2. Pelaksanaan penelitian**

##### **A. Perlakuan**

Setelah mencapai umur 21 hari, sebanyak 20 ekor ayam *broiler* dibagi secara acak menjadi empat kelompok perlakuan, dimana setiap perlakuan terdapat lima ulangan. Adapun bentuk perlakuan adalah sebagai berikut:

**P0** : dipelihara pada ruangan A dengan kisaran suhu antara 21-23°C dan air minum tanpa suplemen multivitamin dan elektrolit.

**P1** : dipelihara pada ruangan B dengan kisaran suhu antara 34,5-35 °C dan air minum tanpa suplemen multivitamin dan elektrolit.

**P2** : dipelihara pada ruangan B dengan kisaran suhu antara 34,5-35 °C dan air minum yang mengandung suplemen multivitamin dan elektrolit komersial dengan dosis normal yaitu 1 gr/4lt air.

**P3** : dipelihara pada ruangan B dengan kisaran suhu antara 34,5-35 °C dan diberikan air minum yang mengandung suplemen multivitamin dan elektrolit komersial dengan dua kali dosis normal yaitu 2 gr/4lt air.

Selama masa perlakuan pemberian pakan pada semua hewan percobaan diberikan sesuai dengan kebutuhan standar seperti pada Lampiran 2 untuk *broiler* fase *grower*.

## **B. Pengambilan organ ginjal**

Setelah ayam mencapai umur 38 hari dilakukan penyembelihan untuk pengambilan organ ginjal. Kelompok

P0, P1, P2 dan P3 dibedah secara bergantian untuk pengambilan sampel organ ginjal. Untuk mengurangi bias maka dalam penelitian ini diambil ginjal sebelah kiri bagian *cranial* dari semua perlakuan. Setelah itu sampel organ ginjal disimpan kedalam pot plastik tertutup yang diberisi formalin 10% selama 24 jam. Kemudian dibuat sediaan histopatologi ginjal dan dilakukan pemeriksaan secara mikroskopis.

### **3.4. Variabel Penelitian**

#### **3.4.1. Variabel bebas**

1. *Heat stress*
2. Suplemen multivitamin dan elektrolit

#### **3.4.2. Variabel tergantung**

Perubahan histopatologi ginjal, yaitu:

1. degenerasi hidropik pada TC 1 (tubulus contortus proksimalis)
2. nekrosis pada TC 1 (tubulus contortus proksimalis)
3. nekrosis pada TC 2 (tubulus contortus distalis)
4. oedema pada glomerulus
5. perdarahan pada glomerulus

### **3.5. Definisi Variabel**

#### **3.5.1. Variabel bebas**

##### **1. *Heat stress*:**

Perlakuan *heat stress* diberikan selama 5 jam/hari yang dimulai dari pukul 10.00-15.00 WIB. Sumber panas yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari pancaran dua buah lampu halogen dengan daya masing-masing 250 watt dan dua lampu infra merah dengan daya masing-masing 100 watt yang diletakan dua meter diatas kandang *litter*. Suhu panas yang dipancarkan oleh sumber dan sampai pada obyek penelitian dikontrol oleh sensor panas yang dihubungkan dengan *thermoregulator*, sehingga panas yang diterima obyek dapat dikontrol secara otomatis pada kisaran suhu 34,5-35 °C.

##### **2. Suplemen multivitamin dan elektrolit:**

Multivitamin dan elektrolit yang digunakan pada penelitian ini merupakan produk jadi dengan dosis pemakain normal 1 g/4 lt air minum. Penelitian ini menggunakan dua jenis dosis yaitu dosis normal (1g/4 lt air) dan dua kali dosis normal (2 g/4 lt air).

### 3.5.2. Variabel tergantung Perubahan histopatologi ginjal:

Adalah perubahan tingkat mikroskopik pada ginjal. Metode pengamatan perubahan histopatologi ginjal yang digunakan dalam penelitian ini merupakan modifikasi dari metode yang digunakan oleh Legowo dkk., (1996), dapat dilihat pada Tabel 3.1. Aspek perubahan histopatologi ginjal yang diamati adalah:

1. Degenerasi hidropik TC 1, yaitu bentuk perubahan *reversible* pada sel ginjal yang ditandai dengan membengkaknya epitel dan menghilangnya lumen pada tubulus contortus proksimalis.
2. Sel nekrotik TC 1, yaitu bentuk perubahan *irreversible* pada sel ditandai dengan adanya gambaran yang piknotik, karyoreksis dan karyolisis pada tubulus contortus proksimalis.
3. Sel nekrotik TC 2, yaitu bentuk perubahan *irreversible* pada sel ditandai dengan adanya gambaran yang piknotik, karyoreksis dan karyolisis pada tubulus contortus distalis.
4. Oedema pada glomerulus, yaitu bentuk perubahan *reversible* pada glomerulus yang ditandai dengan menghilangnya *bowman space* karena glomerulus yang membengkak.

5. Perdarahan pada glomerulus, yaitu bentuk gangguan haemodinaik, yang ditandai dengan adanya retensi eritrosit pada glomerulus.

Perubahan tingkat perubahan histopatologi lebih lanjut dapat dilihat pada Lampiran 6.

**Tabel 3.1.** Tingkat perubahan histopatologi ginjal

Tingkat Perubahan Histopatologi Ginjal				
A	B	C	D	E

Sumber: Legowo, dkk., 1996.

Keterangan :

A = Degenerasi hidropik TC 1      D = Oedema pada glomerulus  
 B = Sel nekrotik TC 1              E = Perdarahan pada glomerulus  
 C = Sel nekrotik TC 2

### 3.6. Pengumpulan dan Teknik Pengambilan Data

Pengambilan data dilakukan pada saat ayam berumur 38 hari atau 17 hari masa perlakuan. Lalu organ ginjal ayam dibuat sediaan histopatologi. Adapun teknik pengambilan data adalah dalam satu sediaan dilakukan empat kali pengamatan pada lapangan pandang yang terletak di empat bagian berbeda (atas, bawah, tepi kanan dan tepi kiri) dengan pembesaran mikroskop cahaya 400 kali. Untuk keterangan penilaian kerusakan sediaan ginjal dapat dilihat pada Tabel 3.2.

**Tabel 3.2** Skor perubahan histopatologi ginjal

Diagnosis	Skor
Tidak ada perubahan (normal)	-
Jumlah sel nekrosis > 10%	+
Jumlah sel degenerasi hidopikk >10%	+
Terdapat oedema	+
Terdapat perdarahan	+

Sumber: Legowo, dkk., 1996.

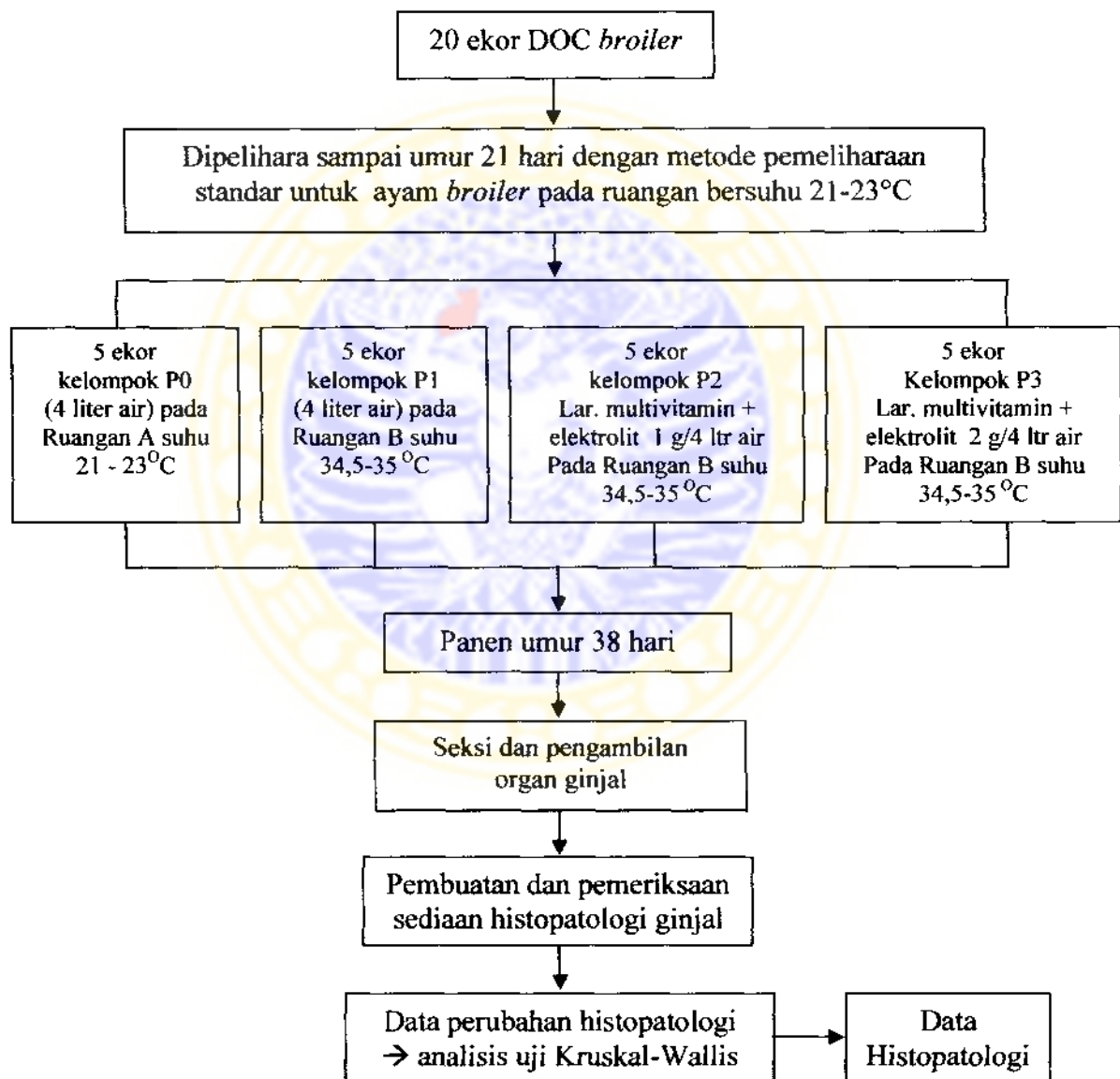
### 3.7. Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan rancangan *post test only control group design*. Pengacakan dilakukan secara lotere, dengan 20 ekor ayam *broiler* terbagi dalam empat perlakuan ( $t=4$ ), tiap perlakuan mendapatkan ulangan ( $n=5$ ). Berdasarkan pada skala datanya, maka data yang dihasilkan dalam penelitian ini adalah data dalam skala ordinal yaitu untuk perubahan histopatologi ginjal (Zainuddin,1998).

Sesuai dengan jenis skala datanya, maka data yang tergolong dalam skala rasio akan dianalisis dengan uji F atau *Analysis Of Variant (Anova)* dengan kepercayaan 99% ( $\alpha=0,01$ ), dan bila terdapat perbedaan yang sangat nyata maka, dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (LSD) (Sarmanu,1993). Sedangkan data skala ordinal yang diperoleh dalam penelitian ini dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis, dimana bila ada perubahan yang sangat nyata ( $p<0,01$ ) maka diuji lanjut dengan dengan uji Mann-Whitney test untuk menyatakan

perbedaan diantara perlakuan (Soenarjo,1991). Seluruh proses analisis tersebut dikerjakan dengan program SPSS 13 *for Windows*.

### 3.8. Skema Penelitian



**Gambar 3.1** Skema penelitian potensi suplemen multivitamin dan elektrolit terhadap gambaran histopatologi ginjal pada ayam *broiler* yang dikondisikan *heat stress*.



## BAB 4 HASIL PENELITIAN

Setelah organ ginjal ayam *broiler* melalui proses pembuatan sediaan histopatologi, selanjutnya dilakukan pengamatan untuk pengambilan data. Adapun teknik pengambilan data adalah dalam satu sediaan dilakukan empat kali pengamatan pada lapangan pandang yang terletak di empat bagian berbeda (atas, bawah, tepi kanan dan tepi kiri) dengan pembesaran mikroskop cahaya 400 kali.

**Tabel 4.1.** Hasil pengamatan bentuk-bentuk perubahan histopatologi ginjal dan total rata-rata pada semua kelompok perlakuan

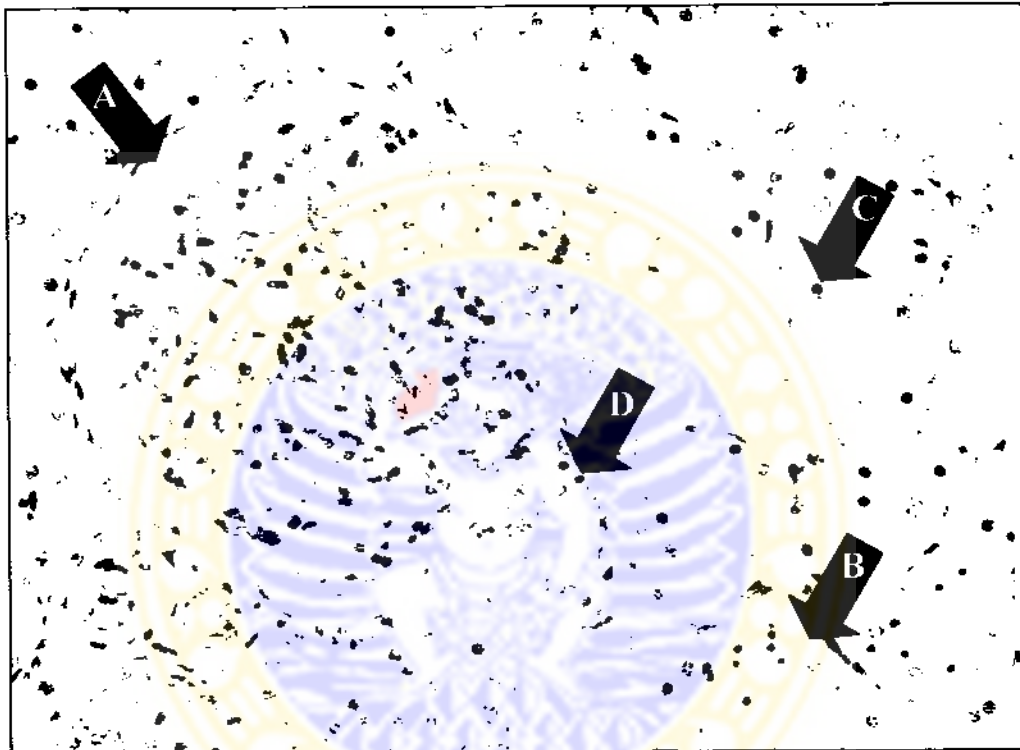
Perlakuan	Tingkat Perubahan Histopatologi Ginjal					Total Skor
	A	B	C	D	E	
P-0	0	2	0	3	0	5
P-1	4	3	0	5	5	17
P-2	5	3	2	5	4	19
P-3	4	3	0	5	4	16

Keterangan :

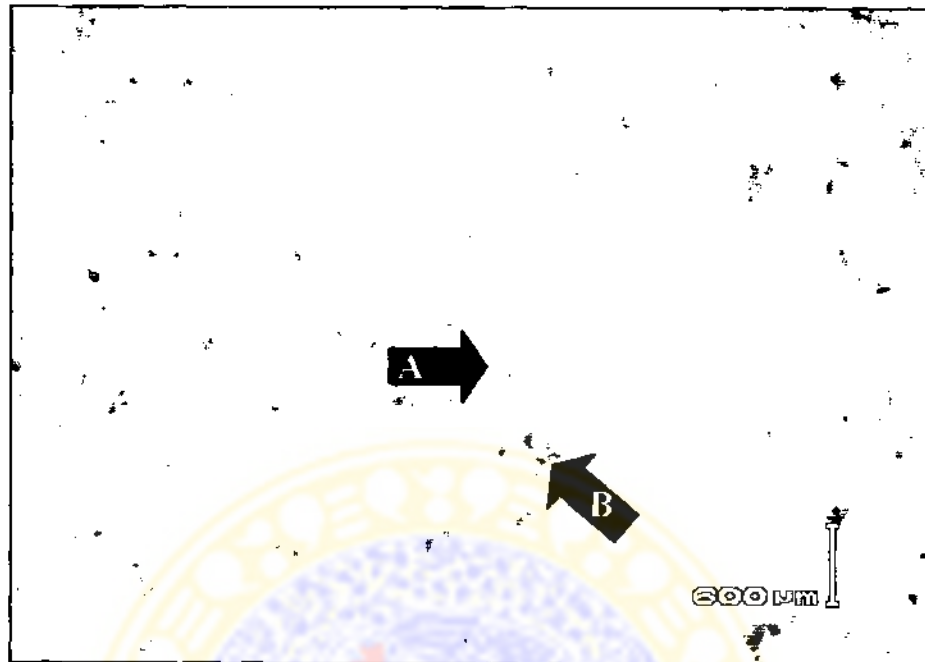
- A = Degenerasi hidropik TC 1
- B = Sel nekrotik TC 1
- C = Sel nekrotik TC 2
- D = Oedema pada glomerulus
- E = Perdarahan pada glomerulus

Pada Tabel 4.1 diatas dapat diketahui bahwa bentuk perubahan histopatologi yang paling dominan pada semua kelompok perlakuan secara berturut-turut adalah oedema pada glomerulus, degenerasi hidropik TC 1 dan perdarahan pada glomerulus.

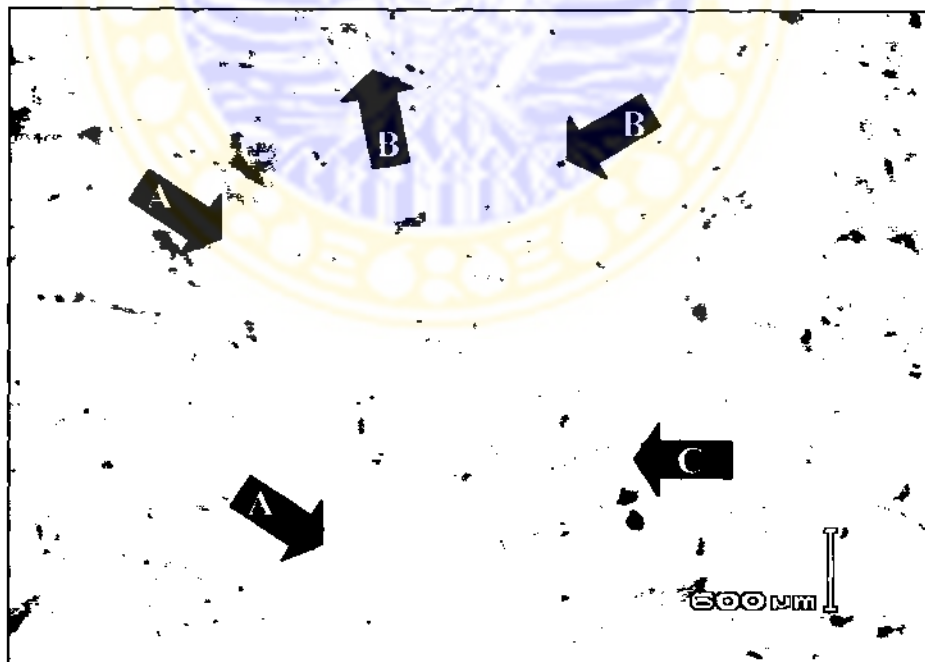
Untuk mengetahui perbedaan antara ginjal normal dan perubahan yang terjadi serta perbandingan skor pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 4.1 – Gambar 4.5 berikut:



**Gambar 4.1** Histologi ginjal (A= Bowman space; B= Sel TC 1 normal; C= Sel nekrotik TC 1; D= Sel nekrotik TC 2). Sumber: *Kansas City University of Medicine and Biosciences*, 2005. (Pewarnaan HE, 1000x).

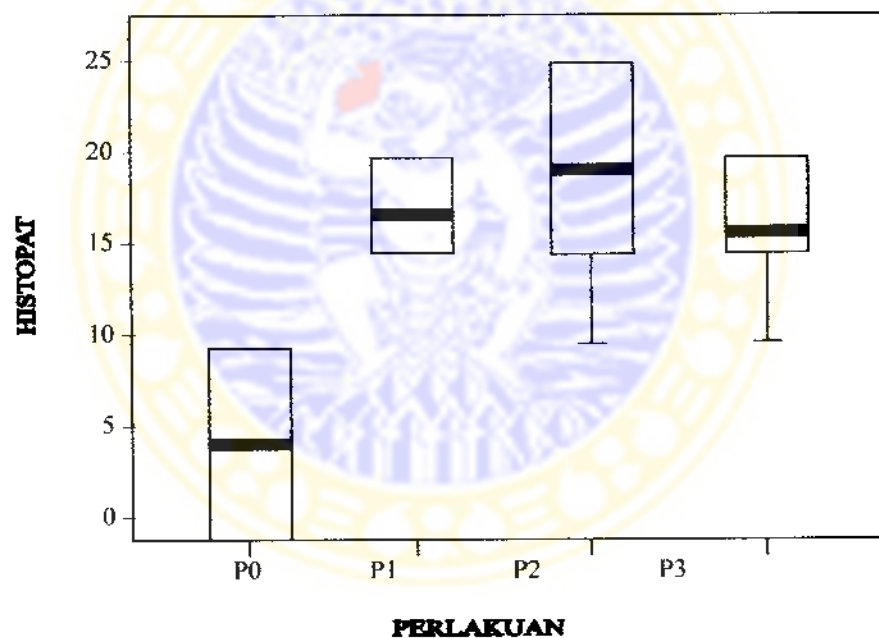


**Gambar 4.2** Gambaran histopatologi ginjal dengan skor 2. Anak panah menunjukkan perubahan yang terjadi (A= Oedema glomerulus; B= Perdarahan glomerulus). (Pewarnaan HE, 400x).



**Gambar 4.3** Gambaran histopatologi ginjal dengan skor 3. Anak panah menunjukkan perubahan yang terjadi (A= Degenerasi hidropik TCI; B= Nekrosis TCI; C= Oedema glomerulus). (Pewarnaan HE, 400x).

Berdasarkan hasil uji Kruskal-Wallis diketahui bahwa terdapat perbedaan yang nyata ( $p < 0,01$ ) diantara perlakuan, dimana kelompok kontrol (P0) yang dipelihara pada kandang A mempunyai peringkat histopatologi paling rendah dan berbeda nyata ( $p < 0,01$ ) dibandingkan dengan semua kelompok perlakuan yang diberi *heat stress* (ruangan B), termasuk pada kelompok yang diberi suplemen baik dosis normal 1 gram/4 lt air minum (P2) maupun dua kali dosis normal 2 gram/ 4 lt air minum (P3) (Gambar 4.6).



**Gambar 4.6** *Box-plot* perubahan histopatologi ginjal pada ayam *broiler* untuk semua perlakuan

Sementara itu diantara kelompok perlakuan yang diberi *heat stress* (ruangan B), hasil uji statistik menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata ( $p > 0,01$ ) tingkat perubahan histopatologi antara P1 (tanpa suplemen multivitamin dan elektrolit) dengan dua kelompok (P2 dan P3) lainnya yang diberi suplemen

multivitamin dan elektrolit. Hal ini menunjukkan bahwa suplemen multivitamin dan elektrolit yang diberikan, baik dalam dosis normal (P2) maupun dua kali dosis normal (P3) tidak mampu mencegah perubahan histopatologi pada ginjal ayam *broiler* yang dikondisikan *heat stress*.

Pada kelompok perlakuan yang diberi *heat stress* (ruangan B), hasil penelitian ini menunjukkan bahwa histopatologi ginjal pada kelompok yang diberi suplemen multivitamin dan elektrolit dua kali dosis normal 2 gram/4 lt air (P3) cenderung lebih rendah dibandingkan dengan kelompok yang hanya diberi *heat stress*, tetapi tidak diberi suplemen multivitamin dan elektrolit komersial (P1) maupun dengan kelompok yang diberi suplemen multivitamin dan elektrolit komersial dosis normal 1 gram/4 lt air (P2), namun demikian hasil uji statistik menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata ( $p > 0,01$ ) tingkat perubahan histopatologi antara P1 (tanpa suplemen multivitamin dan elektrolit) dengan dua kelompok (P2 dan P3) lainnya yang diberi suplemen multivitamin dan elektrolit (Tabel 4.2).

**Tabel 4.2** Rata-rata perubahan histopatologi ginjal pada semua kelompok perlakuan

Perlakuan	Rata-Rata
P0	3,40 <sup>a</sup>
P1	12,70 <sup>b</sup>
P2	14,20 <sup>b</sup>
P3	11,70 <sup>b</sup>

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata pada taraf kepercayaan  $\alpha=0,01$  ( $p < 0,01$ ).

Fakta ini menunjukkan bahwa suplemen multivitamin dan elektrolit komersial yang diberikan, baik dalam dosis normal 1 gram/4 lt air (P2) maupun dua kali dosis normal 2 gram/4 lt air (P3) tidak berpotensi terhadap perubahan gambaran histopatologi pada ginjal ayam *broiler* yang dikondisikan *heat stress*.



## BAB 5 PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata ( $p < 0,01$ ) diantara perlakuan, dimana kelompok kontrol (P0) yang dipelihara pada suhu ideal *broiler* 21-23°C (ruangan A) memperlihatkan tingkat perubahan histopatologi paling rendah dibandingkan dengan semua kelompok perlakuan yang diberi *heat stress* 34,5-35°C pada ruangan B (P1; P2; P3) (Lampiran 7).

Bentuk perubahan histopatologis yang paling dominan pada semua kelompok perlakuan secara berturut-turut adalah oedema pada glomerulus, degenerasi hidropik TC 1 dan perdarahan pada glomerulus.

Sementara itu, khusus pada kelompok yang diberi perlakuan *heat stress* (P1, P2, dan P3), perubahan histopatologi ginjal pada kelompok yang diberi suplemen multivitamin dan elektrolit dosis normal 1 gram/ 4 lt air (P2), relatif lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok yang hanya diberi *stressor* tanpa mendapat suplemen multivitamin dan elektrolit (P1) maupun dengan kelompok yang mendapat suplemen multivitamin dan elektrolit dua kali dosis normal 2 gram/4 lt air (P3), sedangkan antara P1 dan P3 cenderung sama.

Namun demikian secara statistik diketahui bahwa perubahan histopatologi ginjal diantara kelompok yang diberi *stressor* panas ini adalah tidak berbeda nyata ( $p > 0,01$ ). Hal ini menunjukkan bahwa penambahan multivitamin dan elektrolit, baik yang diberikan dalam dosis normal ataupun dua kali dosis normal (P2 dan

P3), terbukti tidak mampu mencegah terjadinya perubahan histopatologi ginjal pada *broiler* yang terpapar *heat stress* kronis.

Fakta diatas tidak sesuai dengan penelitian-penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa suplemen vitamin dan atau elektrolit yang merupakan *thermotolerance agent* yang sangat potensial dalam mencegah dampak buruk pada *broiler*, *layer* maupun burung puyuh yang dipapar dengan *heat stress* (Naseem *et al.*, 2005; Ait-Boulahsen *et al.*, 1995 dan Utomo *et al.*, 1986).

Terdapat beberapa elektrolit penting yang harus dijaga keseimbangannya dalam memelihara fungsi fisiologis normal, sebagai contoh adalah *broiler* pada saat musim panas. Elektrolit-elektrolit yang dimaksud meliputi semua kation utama tubuh seperti natrium (Na), kalium (K), kalsium (Ca), dan magnesium (Mg), serta golongan anion utama meliputi bikarbonat ( $\text{HCO}_3$ ), klorida (Cl), *biphosphate* dan ion sulfat (McDonald *et al.*, 1999; Brake *et al.*, 1994).

Menurut Naseem *et al.*, (2005), suplemen larutan potasium klorida (KCl) 1,5 % dan 0,5% natrium bikarbonat ( $\text{NaHCO}_3$ ), serta kombinasi keduanya terbukti secara bermakna ( $p < 0,01$ ) dapat memperbaiki kadar potasium, kalsium dan bikarbonat ( $\text{HCO}_3$ ) plasma darah pada *broiler* umur 5 minggu, serta meningkatkan *feed intake* dan *feed conversion rate* (FCR) pada *broiler* yang terpapar *heat stress*, dibandingkan dengan kelompok yang hanya diberi *heat stress* ( $35^\circ\text{C}$ ) tanpa diberi suplemen elektrolit.

Terdapat beberapa hal yang memungkinkan tidak efektifnya suplemen multivitamin dan elektrolit yang diberikan dalam penelitian ini, diantaranya adalah tidak adanya batasan yang jelas tentang suhu maksimal *heat stress* pada



label produk. Sehingga pemeliharaan pada suhu 34,5 – 35°C menyebabkan terjadinya kerusakan yang tinggi melebihi batas kemampuan fisiologis ayam dalam mencegah dan atau mengurangi pengaruh *heat stress* pada *broiler* yang dipelihara pada suhu 34,5-35°C. Dimungkinkan produk tersebut masih dapat menanggulangi kerusakan sel ginjal pada suhu dibawah 34°C.

Yang kedua ialah faktor waktu perlakuan yang singkat yaitu 17 hari, dan faktor suhu yang terlalu ekstrim yaitu 34,5-35°C. Dimungkinkan perbaikan ginjal masih dalam proses, sehingga pada saat panen didapat hasil yang kurang memuaskan. Meskipun ginjal adalah pengatur sistem asam-basa yang paling kuat, ia memerlukan waktu beberapa jam hingga beberapa hari untuk menyesuaikan kembali kelebihan asam atau basa hingga menjadi normal kembali (Guyton, 2006).

Kan *et al.*, (1993) melaporkan *heat stress* mengakibatkan terganggunya homeostasis elektrolit pada plasma darah *broiler*, yang ditandai dengan menurunnya kadar  $\text{Ca}^{2+}$  dan  $\text{K}^+$  serta meningkatnya kadar  $\text{Cl}^-$  dan  $\text{Na}^+$  plasma darah. Suplemen elektrolit seperti KCl dan bikarbonat pada air minum ayam terbukti secara nyata dapat mengurangi dampak negatif akibat *heat stress* pada *broiler* yang ditandai dengan meningkatnya kadar kalium, kalsium dan  $\text{CO}_2$  plasma (Emery, 2004; Edens, 1995).

Hal lain yang mungkin menjadi penyebab tidak efektifnya pemanfaatan produk multivitamin dan elektrolit yang digunakan dalam penelitian ini adalah perlakuan yang dimulai pada hari ke 22 dimana ayam sudah cukup dewasa. Karena pada ayam *broiler* dewasa (umur 5-7 minggu) lebih rentan terkena *heat*

*stress* dibandingkan dengan ayam yang masih muda (*Departemen Food and Rural*, 2005). Kerentanan tersebut menimbulkan perubahan histopatologi pada sel ginjal menjadi tinggi. Bila perlakuan dimulai pada DOC umur satu hari, kerusakan yang terjadi tidak terlalu parah bila dibandingkan dengan pemberian perlakuan ketika ayam *broiler* sudah dewasa.



## BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1. KESIMPULAN

Hasil pengamatan yang dilakukan membuktikan bahwa suplemen multivitamin dan elektrolit yang diberikan baik dalam dosis normal 1 gram/4 lt air maupun dua kali dosis normal 2 gram/4 lt air, kurang berpotensi terhadap perubahan histopatologi ginjal pada ayam *broiler* yang dikondisikan *heat stress*.

### 6.2. SARAN

1. Pemberian suplemen multivitamin dan elektrolit dosis normal 1 gram/4 lt air maupun dua kali dosis normal 2 gram/4 lt air pada *broiler* yang terpapar suhu 34,5-35°C kurang dapat memperbaiki kerusakan sel ginjal, oleh karena itu tidak perlu ditambahkan suplemen multivitamin dan elektrolit tersebut bila keadaan *heat stress* mencapai suhu diatas 34°C.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang potensi suplemen multivitamin dan elektrolit yang sama pada kisaran suhu 24-34°C, untuk mengetahui apakah suplemen tersebut mampu mencegah dan atau mengurangi kerusakan sel ginjal pada rentang suhu tersebut.
3. Sebaiknya produsen mencantumkan batas maksimal suhu *heat stress* yang masih dalam jangkauan produk, sehingga konsumen mendapatkan

## RINGKASAN

Ayam ras adalah jenis ternak yang sangat peka terhadap *stressor* baik fisik maupun psikis, termasuk *stress* panas (*heat stress*) (Leandro *et al.*, 2004). Kombinasi antara suhu lingkungan dengan kelembaban yang tinggi diketahui dapat mengakibatkan *morbiditas* dan menurunkan produktifitas baik pada ayam *broiler* maupun ayam *layer*, bahkan pada keadaan yang ekstrim dapat mengakibatkan *mortalitas* (Anderson and Carter, 1998).

Dilaporkan bahwa rata-rata pertumbuhan *broiler* setelah umur dua minggu dapat dicapai secara optimal bila suhu lingkungan berada pada kisaran 12,7-23,88°C, serta kelembaban udara tidak lebih dari 60%. Pada suhu lingkungan diatas 30°C ayam *broiler* akan menderita *stress*, yang ditandai dengan terjadinya *panting*. *Panting* merupakan respon fisiologis pada ayam *broiler* yang berdampak pada terjadinya *alkalosis respiratorius* dan keseimbangan elektrolit (Moares *et al.*, 2003).

Kan *et al.*, (2003) melaporkan *heat stress* mengakibatkan terganggunya homeostasis elektrolit pada plasma darah ayam *broiler*, yang ditandai dengan menurunnya kadar  $\text{Ca}^{2+}$  dan  $\text{K}^{+}$  serta meningkatnya kadar  $\text{Cl}^{-}$  dan  $\text{Na}^{+}$  plasma darah. Suplemen elektrolit seperti KCl dan bikarbonat pada air minum ayam terbukti secara nyata dapat mengurangi dampak negatif akibat *heat stress* pada *broiler* yang ditandai dengan rendahnya angka mortalitas (Emery, 2004; Edens, 2001).

## DAFTAR PUSTAKA

- Ait-Bouhassen, A., Garlich, J.D., Edens, F.W. 1995. Effect of fasting and acute heat stress on body temperature, blood acid-base and electrolyte status in chickens. *Comp. Biochem. Physiol.* 94A: 683-687
- Akoso, B. T. 1993. *Manual Kesehatan Unggas Panduan Bagi Petugas Teknis, Penyuluh dan Peternak*. Kanisius. Yogyakarta. 41-42.
- Altan, O., Pabuccuoglu, A., Altan, A., Konyalioglu, S., and Bayraktar, H., 2003. Effect of Heat Stress on Oxidative Stress, Lipid Peroxidation and Some Stress Parameters in Broilers. *Br. Poult. Sci.* 44: 545-550.
- Anderson, K. E. and Carter, T. A. 1998. *Hot Weather Management of Poultry*. Poultry Science Extension, North Carolina State University: 13-15.
- Bauer, M. E; Perks, P; Lightman, S. L.; Shanks, N. 2001. Are Adhesion Molecules Involved In Stress-Induced Changes in Lymphocyte Distribution?. *Life Sci.* Jul 27; 69 (10): 1167 - 1179.
- Belay T., and Teeter R. G. Effects of environmental temperature on broiler mineral balance partitioned into urinary and fecal loss. *Br. Poult. Sci.* 1996 ;37:423-433
- Brenner, B. M. and T.H.Hostetter. 1982. *Gangguan Fungsi Ginjal*. Dikutip oleh Thorn Adam Branwald, Isselbacher dan Petersdot. *Principles of Internal Medicine*. Edisi 9. EGC. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta: 6 – 9.
- Brake, J., Kerket, P., Grimes, D. Bahnave, J., Gorman J and Dibner, J. J. 1994. Optimun arginine: lysine ratio changes in hot weather. Pp: 82-104 in: *proceedings of the 21st Carolina. Poult. Nutr. Conference* Charlotte. NC.
- Cherian, G. 2000. *Metabolic and cardiovascular diseases in poultry: Role of dietary fat*. Oregon State University, Corvallis: 67-70.
- Cobb 500 Breeder Management Guide. Ross Breeders Limited.2002. Newbridge Midlothian. Scotland. 81-87.
- Columbia Encyclopedia. 2006. <http://eletewater.org/wiki/31> Juli 2007
- Dellman, H. D. dan E. M Brown. 1992. *Histologi Veteriner*. Diterjemahkan oleh Hartono R. Edisi 2. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. 413 – 428.

- Department of Environment Food and Rural Affairs. 2005. Heat Stress on Poultry solving the problem P.1-2. London. <http://www.defra.gov.uk>
- Edens, F.W. 2001. Involvement of Sel-Plex in physiological stability and performance of broiler chickens. Biotechnology in the feed industry. Proceedings of Alltech's 17<sup>th</sup> annual symposium. T.P. Lyons and K.A. Jacques (eds.), Nottingham University Press, Nottingham, U.K. 349- 376
- Emery, J. 2004. Heat Stress In Poultry. International Journal of Poultry Science 2 (01): 275-281, ISSN 1682-8356.
- Gannong, W. F. 1987. Fisiologi Kedokteran. Edisi 10. Diterjemahkan oleh Adji Dharma CV. ECG. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. 251 – 254.
- Guyton, A. C. 2006. Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit. Edisi Revisi. Diterjemahkan oleh Dr. Petrus Andrianto. ECG. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. 275-277; 339-342.
- Halliwell B, Gutteridge JMC, 1998. Free Radicals in Biology and Medecine. 3<sup>rd</sup> Edition. Oxford University Press. New York.
- Kan P., Mitchell M.A., Carlisle A.J., 1993. Effect of Vitamin E on Thyroid Hormone Production in Heat Stressed Broiler Chickens. Fourth European Symposium on Poultry Welfare. Universities Federation on Animal Welfare. Great Britain. 295-296.
- Kansas City University of Medicine and Biosciences. 2005. <http://www.nature.com/ki/journal/v66>. [12 Januari 2008].
- Lavergne T., 2004. Advice on Reducing Heat Stress in Poultry. LSU Ag Center.com. p.1. Lusiana USA. 24.
- Leandro, N.S.M., Gozales, E. Ferro, J. A., Givisiez, P.E.N., and Macari, M. 2004. Expression of Heat Shock Protein In Broiler after Acute and Chronic cold and Heat Stress. J. Molecu. Repro. And Develp. 67: 171-177.
- Legowo, D, S. A. Sri dan I. S. Hamid. 1998. Dampak Penggunaan Estrogen Jangka Lama Pada Gambaran Histopatologi Sel Hati dan Ginjal Serta Berat Badan Mencit Betina. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga. Surabaya.
- Martin, D. W. Jr., P. A. Meyes, and V. W. Rodwell. 1990. Biokimia Harper. Edisi 20, Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran. 24: 625- 628.
- May, J. M. Qu 2. C. Whitesell, R. R. 1996. Free Radical Biological Medic. 20: 543-551.

- McDonald, P., R. A. Edwards, J. F. D. Greenhelgh C. A. Morgan. 1999. *Animal nutrition*, 5th ed Addison Weseley Longman, Inc. California. 97-101.
- Micthell., Raza. 1986. The Effect of Glucagon And Insulin on Plasma Thyroid Hormone Levels in Feed And Fasted Domestic Fowls. *Comp. Biochem. Physiol.* 85A: 217-223.
- Moares, V.M.B., Malheiros, R.D., Bruggeman, V., Collin, A., TonaK., Van As, P., Onggbsen, O.M., Buyse, J., Decuypere, E., Macari, M., 2003. Effect of Thermal Conditioning During Embrionic Development on Aspects of Physiological Responses of Broiler to Heat Stress. *J. Term. Biol.* 28: 133-140.
- Naseem M. T., Shamooun Naseem, M., Younus, Zafar Iqbal Ch., Aamir Ghafoor, Asim Aslam and S. Akhter. 2005. Effect of Potassium Chloride and Sodium Bicarbonate Supplementation on Thermotolerance of Broilers Exposed to Heat Stress. *International Journal of Poultry Science* 4 (11): 891-895.
- Okolwski , A. 2005. Patho-Physiology of Heart Failure in Broiler Chikens: Structural, Biochemical and Molecular Characteristic. Abstract Paper. *Metabolic Disease Symposium: Metabolic and Cardiovascular in Poultry Nutritional and Physiological Aspects.*142.
- Palmer, Biff F., Robert J.Alpern, And Donald W.Seldin. "Physiology and Pathophysiology of Sodium Retention." In *the Kidney*. 2000. Philadelphia. 2 (54): 1473-1517.
- Papas, A. M. 1999. *Antioxidant Status, Diet, Nutrition, and Health*. CRC Press LCL. New York. 22
- Prawirokusumo, S. 1990. *Biokimia Nutrisi (Vitamin)*. Edisi I. BPFE. Yogyakarta.
- Price, S. A., and Wilson, L. M., 1994. *Patofisiologi. Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 426-467.
- Putra, S. T. 2001. Peran Psikoneuroimunologi Terhadap Asuhan Keperawatan – Kebidanan. Seminar Sehari Ikatan Keluarga Mahasiswa Akademi Kebidanan Departemen Kesehatan R. I. Kediri.
- Ressang, A. A.1984. *Patofisiologi Khusus Veteriner*. Edisi Kedua. Percetakan Bali: 45-74.
- Rochman. 2003. Peran Temperatur Bagi Pertumbuhan Unggas. *Poultry Indonesia Edisi Online*. Majalah Poultry Indonesia. Jakarta.

- Sarmanu. 1990. Statistik Parametrik: Uji T dan Anova satu arah, Penataran Metodologi Penelitian, Statistik dan Komputer. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga Surabaya.
- Sherwood, L. 2004. Human Phisiology. Departement of Physiology and Pharmacology, School of Medicine. West Virginia University. 558-585.
- Sies, H. 1991. Oxydatif Stress II. Oxydant and Antioxidants. Academic Press, London. 12-17.
- Slater, T.F. 1984. Free Radicals Mechanism in Tissue Injury. J. Biochem. 322: 1-15.
- Soenarjo. 1991. Penataran Dasar - Dasar Metodologi Penelitian, Statistika dan Komputer. Lemabaga Penelitian Universitas Airlangga. Surabaya.
- Sperelakis, N. 1998. Cell physiology. 2<sup>nd</sup> edition. London: Academic Press. 236-453; 791-805.
- Surai, P. F. 1999. Tissue-Specific Changes in The Activities of Antioxydant Enzymes During The Development of The Chicken Embryo. Br. Poult. Sci. 40: 397-405.
- Turner, C. D., Bagnara, J.T. 1988. Endokrinologi Umum. Airlangga University Press. Surabaya. 241-245.
- Utomo, D. B., M.A. Mitchell and A.J. Carlisle, 1986. Dietary Vitamin E Supplementation Alleviates the Determinal Effect of Heat Stress in Laying Hens. Departement of Animal Production, Faculty of Veterinary Medicine, Airlangga University, Surabaya, Indonesia.
- Veterinary Science Tomorrow. Booklet. WVA publish.2005. Save poultry industry by heat stress management. Toronto. Canada.
- Wahyu, Juju. 2004. Ilmu Nutrisi Unggas. Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor. Gajah Mada University Press. 131-234.
- Wardener, H. E. 1975. the Kidney and Outline of Normal and AG normal Structure and function. 4th Ed. The English Language Book Sociaty and churchil Livingstone:. 100 – 102.
- Zainuddin, M. 1988. Metodologi Penelitian Handout. Percetakan Universitas Airlangga. Surabaya. 73-74.



**Lampiran 1 Komposisi multivitamin dan elektrolit dalam tiap 1 kg produk komersial**

No	Nama Bahan	Jumlah
	Vitamin	
1	Vitamin A	6.000.000 IU
2	Vitamin D <sub>3</sub>	1.200.000 IU
3	Vitamin E	3.000 mg
4	Vitamin B <sub>1</sub>	300 mg
5	Vitamin B <sub>2</sub>	1.200 mg
6	Vitamin C	15.000 mg
7	Vitamin K <sub>3</sub>	1.000 mg
8	Vitamin B <sub>12</sub>	5 mg
9	Ca-d-pantothenate	4.000 mg
10	Biotin	100 mg
11	<i>Folic acid</i>	150 mg
12	<i>Nicotinic Acid</i>	4.500 mg
<b>Elektrolit</b>		
13	Kalsium	150 mg
14	Potasium	600 mg
15	Sodium	150 mg
16	Klorida	500 mg
17	Magnesium	75 mg

**Lampiran 2 Kebutuhan temperatur anak ayam sampai dengan waktu panen**

<b>Hari ke</b>	<b>Temperatur Brooder (°C)</b>	<b>Temperatur Ruangan</b>
<b>1-2</b>	<b>33-32</b>	<b>28</b>
<b>3-7</b>	<b>31-29</b>	<b>27</b>
<b>7-14</b>	<b>29-26</b>	<b>25</b>
<b>14-21</b>	<b>26-23</b>	<b>23</b>
<b>21-28</b>	<b>23-21</b>	<b>22</b>
<b>28-35</b>	<b>21-20</b>	<b>20</b>

Sumber: *Management COBB 500 Breeder Management Guide*. Ross Breeders Limited. 2002. Newbridge Midlothian. Scotland.

### **Lampiran 3** Prosedur pembuatan sediaan histopatologi ginjal

Proses pembuatan sediaan histopatologi ginjal dilakukan di Laboratorium Patologi Umum Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya, melalui tahapan–tahapan sebagai berikut:

1. Fiksasi dan pencucian
2. Dehidrasi dan *clearing*
3. Infiltrasi
4. Pembuatan blok paraffin
5. Pengirisan dan mikrotom
6. Pewarnaan
7. Penutupan dengan *cover glass*

#### **1. Fiksasi dan pencucian**

Tujuan: (1) Mencegah terjadinya degenerasi post mortem; (2) Mematikan bakteri; (3) Meningkatkan afinitas jaringan terhadap berbagai zat warna; (4) Membuat jaringan lebih keras sehingga mengawetkan bentuk semula dan mudah dipotong; (5) Meningkatkan indeks refraksi berbagai komponen jaringan.

Reagen : formalin 10 %.

Cara kerja : setelah hewan percobaan mati maka, segera dilakukan otopsi, lalu organ ginjal diambil dan dimasukkan dalam

formalin 10% selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan pencucian dengan air kran.

## **2. Dehidrasi dan *clearing***

Tujuannya adalah untuk menarik air dari dalam jaringan dan membersihkan serta menjernihkan jaringan.

Reagen: Alkohol 70%, 80%, 96%, alkohol absolut I, II, III, xylol I dan xylol II.

Cara kerja: organ ginjal yang telah dicuci dengan air kran selama 30 menit, kemudian dimasukkan ke reagen dengan urutan alkohol 70%, 80%, 96%, alkohol absolut I, II, III, xylol I dan II, masing-masing selama 30 menit.

## **3. Infiltrasi**

Tujuan : untuk menginfiltrasi dengan paraffin. Paraffin akan menembus ruang antar sel dan dalam sel sehingga, jaringan lebih tahan terhadap pemotongan.

Reagen : paraffin I dan II

Cara kerja : jaringan dimasukkan ke dalam paraffin I dan II yang mencair kemudian, dimasukkan ke dalam oven selama 30 menit, setelah itu dimasukkan ke dalam paraffin I dan II dan dimasukkan ke dalam oven selama 30 menit pada suhu 80°C.

## **4. Pembuatan blok paraffin**

Tujuan : untuk memudahkan pemotongan jaringan.

Reagen : paraffin cair.

Cara kerja : beberapa cetakan besi yang telah diolesi gliserin dengan tujuan untuk mencegah lengketnya paraffin dan cetakan, kemudian ginjal yang telah dipotong dimasukkan dengan pinset dan ditunggu hingga paraffin membeku.

## 5. Pewarnaan

Tujuan: untuk memudahkan melihat perubahan pada jaringan. Pada tahap ini digunakan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE).

Cara kerja: pewarnaan HE dilakukan dengan menggunakan metode Harris yaitu jaringan yang telah dikeringkan dimasukkan ke dalam:

1. Xylol I : 3 menit dalam tempat khusus
2. Xylol II : 1 menit
3. Alkohol absolute I dan II : 1 menit
4. Alkohol 96%, 80% dan 70% : 1 menit
5. Air kran : 1 menit.
6. Zat warna : 5 – 10 menit
7. Air kran : 2- 5 menit
8. Acid alkohol : 3 – 10 celupan
9. Air kran : 4 –7 celupan
10. Amoniak : 6 celupan
11. Aquades secukupnya
12. Zat warna eosin : 15 menit
13. Aquades : 1- 2 menit

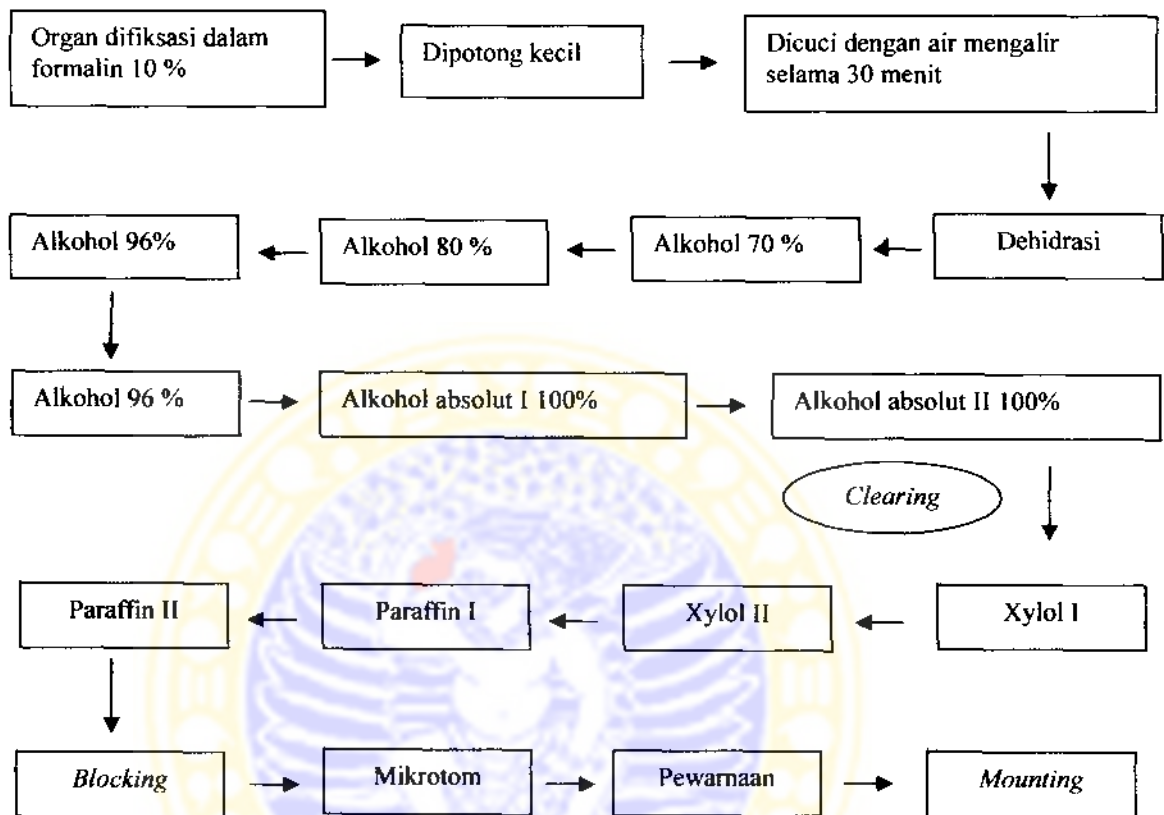
14. Alkohol 70% dan 80% :1 – 2 menit

15. Dan selanjutnya dibersihkan dari sisa- sisa pewarnaan.

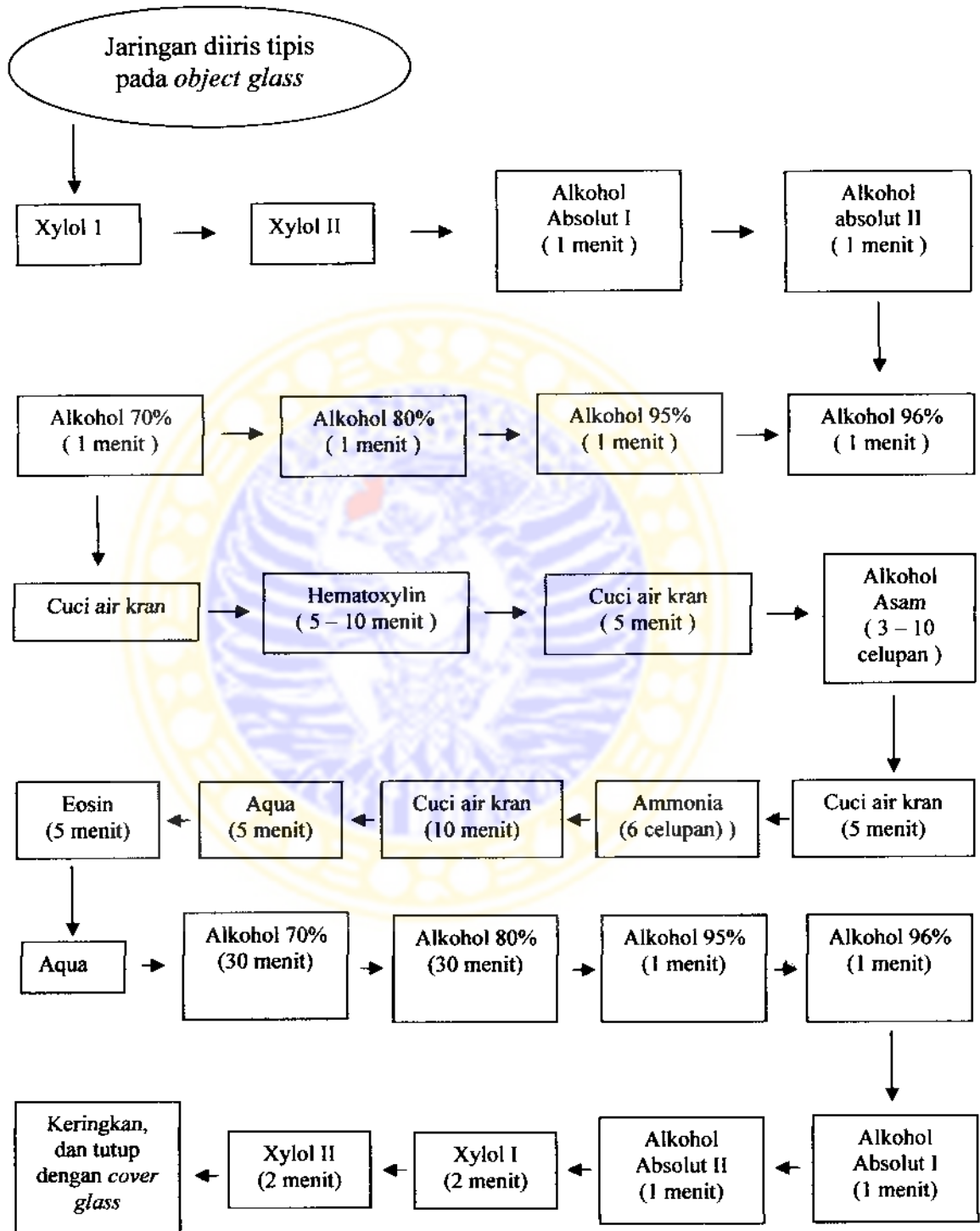
#### **6. Mounting**

Tujuan: penutupan *object glass* dengan *cover glass* yang telah ditetesi dengan Canada balsem.



**Lampiran 4 Skema pembuatan sediaan histopatologi ginjal**

**Lampiran 5 Skema pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE)**





**Lampiran 6 Hasil tingkat perubahan histopatologi ginjal ayam broiler**

Dosis Multivitamin + Elektrolit	Ulangan	Tingkat perubahan histopatologi ginjal					Total Skor
		A	B	C	D	E	
P-0 Kontrol (+) Suhu 23°C	1	-	-	-	+	-	1
	2	-	+	-	+	-	2
	3	-	-	-	-	-	0
	4	-	+	-	+	-	2
	5	-	-	-	-	-	0
							= 5
P-1 Kontrol (-) Suhu 35°C	1	+	+	-	+	+	4
	2	-	+	-	+	+	3
	3	+	+	-	+	+	4
	4	+	-	-	+	+	3
	5	+	-	-	+	+	3
							= 17
P-2 Multivitamin + Elektrolit 100 mg dlm 4 Lt air	1	+	+	+	+	+	5
	2	+	+	-	+	+	4
	3	+	+	+	+	+	5
	4	+	-	-	+	+	3
	5	+	-	-	+	-	2
							= 19
P-3 Multivitamin + Elektrolit 200 mg dlm 4 Lt air	1	+	+	-	+	+	4
	2	-	+	-	+	+	3
	3	+	-	-	+	+	3
	4	+	+	-	+	+	4
	5	+	-	-	+	-	2
							= 16

Keterangan:

- A = Menunjukkan tingkatan degenerasi hidropik pada TC 1
- B = Menunjukkan tingkatan nekrosis pada TC 1
- C = Menunjukkan tingkatan nekrosis pada TC 2
- D = Menunjukkan tingkatan oedema pada glomerulus
- E = Menunjukkan tingkatan perdarahan pada glomerulus

**Lampiran 7 Hasil uji statistik****Case Summaries(a)**

			HISTOPAT	
PERLAKUAN	P0	1	.00	
		2	2.00	
		3	.00	
		4	1.00	
		5	2.00	
		Total	N	5
			Mean	1.0000
	Std. Deviation	1.00000		
P1	P1	1	4.00	
		2	3.00	
		3	4.00	
		4	3.00	
		5	3.00	
		Total	N	5
			Mean	3.4000
	Std. Deviation	.54772		
P2	P2	1	5.00	
		2	4.00	
		3	5.00	
		4	3.00	
		5	2.00	
		Total	N	5
			Mean	3.8000
	Std. Deviation	1.30384		
P3	P3	1	4.00	
		2	3.00	
		3	3.00	
		4	4.00	
		5	2.00	
		Total	N	5
			Mean	3.2000
	Std. Deviation	.83666		
Total	N		20	
		Mean	2.8500	
		Std. Deviation	1.42441	

a. Limited to first 100 cases.

**Case Processing Summary(a)**

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
HISTOPAT * PERLAKUAN	20	100.0%	0	.0%	20	100.0%

a. Limited to first 100 cases.

**Uji Kruskal-Wallis****Ranks**

	PERLAKUAN	N	Mean Rank
HISTOPAT	P0	5	3.40
	P1	5	12.70
	P2	5	14.20
	P3	5	11.70
	Total	20	

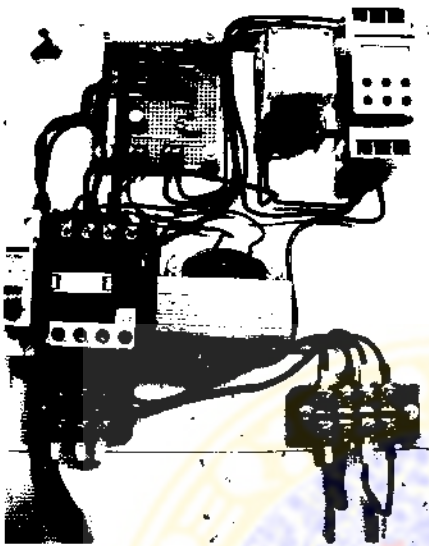
**Test Statistics(a,b)**

	HISTOPAT
Chi-Square	10.588
df	3
Asymp. Sig.	.014

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: PERLAKUAN

### Lampiran 8 Foto-foto penelitian



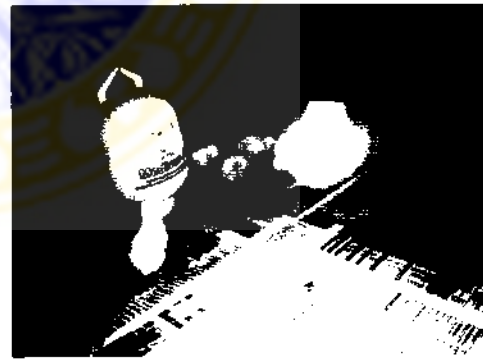
(*Thermoregulator* yang terhubung dengan sensor suhu, lampu dan jam digital. Tepat pukul 10.00-15.00 WIB alat ini berfungsi mengontrol suhu ruangan yang berkisar 34,5-35°C.)



(Pemberian vaksin ND dan IBD pada saat DOC berumur 4 hari)



(Penimbangan berat DOC pada hari pertama)



(Penggunaan *brooder* pada DOC. Suhu *brooder* 32°C umur 1-14 hari, dan 30°C umur 15-21 hari.)