

Perubahan Histopatologi Limpa Ayam Kampung yang Diberikan Jamu Daun Ashitaba dan Divaksin *Avian Influenza*

(HISTOPATHOLOGICAL CHANGES SPLEEN IN KAMPUNG CHICKEN GIVEN HERBAL MEDICINE OF ASHITABA AND AVIAN INFLUENZA VACCINE)

Velia Chyntia Victoria^{1*}, I Wayan Sudira², Ida Bagus Oka Winaya³

¹Mahasiswa Pendidikan Sarjana Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia;

²Laboratorium Farmakologi dan Farmasi, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia;

³Laboratorium Patologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia.

*Email: veliachyntiavictoria@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian jamu daun ashitaba dilihat dari gambaran histopatologi limpa ayam kampung (*Gallus gallus domesticus*) yang divaksinasi dengan vaksin *avian influenza* (AI). Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap. Perlakuan terdiri dari lima kelompok perlakuan yaitu tanpa ashitaba (kontrol), dengan dosis ashitaba 50; 100; 200, dan 400 mg/ekor yang dilarutkan dengan air sampai volumenya 100 ml dan diberikan perlakuan selama 14 hari. Pada hari ke-21, semua kelompok ayam kampung divaksinasi vaksin *avian influenza*. Hari ke-42, ayam kampung percobaan di euthanasia dengan cara *dislokasi os cervicalis*, kemudian limpa diambil untuk melihat perubahan struktur histopatologi. Kemudian dilanjutkan dengan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE) dan diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x. Variabel yang diamati dilihat dari adanya proliferasi folikel limfoid pada pulpa putih dengan menggunakan skala skoring perubahan histopatologisnya. Data hasil penelitian dianalisis dengan analisis non parametrik Kruskal-Wallis. Hasil penelitian menunjukkan terdapat perubahan histopatologi limpa yang signifikan antara perlakuan P0 (kontrol) dengan perlakuan yang diberikan jamu daun ashitaba. Pemberian jamu daun ashitaba dengan dosis 400mg/ekor/hari memperbaiki sistem pertahanan tubuh ayam kampung yang divaksinasi *avian influenza*.

Kata kunci: Ashitaba; *Avian influenza*; ayam kampung; limpa

Abstract

This study aims to determine the effect of giving ashitaba leaf herbal medicine as seen from the histopathological picture of native chicken spleen vaccinated against avian influenza disease vaccine. This research uses a complete random design. The treatment consisted of five treatment groups namely without ashitaba (control), with an ashitaba dose of 50; 100; 200, and 400 mg / head were dissolved with water until the volume is 100 ml and given treatment for 14 days. On the 21st day, all groups of native chickens were vaccinated against the avian influenza vaccine. On the 42nd day, native chickens were euthanasia by cervical dislocation, then the spleen was taken to see changes in the histopathological structure. Then it continued with Hematoxylin-Eosin (HE) staining and was tested under a microscope at 400x magnification. Variables that are seen from the proliferation of lymphoid follicles on white pulp by using a scaling scale for histopathological changes. The research data were analyzed by analysis non parametric Kruskal-Wallis. The results showed that there was a significant change in spleen histopathology between treatment P0 (control) and treatment given the herbal ashitaba leaf. Giving the herbal ashitaba leaf at a dose of 400 mg/head/day improves the body defense system of native chickens vaccinated with avian influenza.

Keywords: Ashitaba; *Avian influenza*; kampung chicken; spleen

PENDAHULUAN

Sektor perunggasan di Indonesia khususnya ayam kampung merupakan usaha yang dikembangkan oleh peternak kecil di pedesaan sebagai usaha sampingan dan dikelola secara tradisional. Namun dengan cara tersebut keuntungan peternak sangat kecil, karena usahanya belum mengarah pada usaha komersial (Rusdiana dan Soeharsono, 2019). Usaha ayam kampung cenderung menghadapi banyak kendala seperti mudahnya terjangkit penyakit serta faktor stres yang dapat mempengaruhi sistem kekebalan tubuh. Sifat bawaan tersebut mengakibatkan banyak dampak yang ditimbulkan seperti produksi yang buruk dan tingginya angka mortalitas (Hussan *et al.*, 2009). Gizi yang dihasilkan dari daging dan telur ayam kampung pada umumnya lebih baik karena makanannya tidak tercampur oleh zat-zat kimia.

Penyakit yang menjadi perhatian khusus pada ayam kampung salah satunya adalah *avian influenza*. *Avian influenza* merupakan penyakit yang berbahaya bagi unggas dengan angka morbiditas dan mortalitas mencapai 90% (Hewajuli *et al.*, 2017). Virus penyebab *AI* sangat mudah bermutasi dan menyebar sehingga menjadi ancaman yang serius pada unggas dan manusia. *Avian influenza* termasuk dalam kelompok penyakit hewan menular berbahaya karena bersifat zoonosis yang mematikan (OIE, 2020). Menurut Thaha *et al.* (2018) dampak yang ditimbulkan oleh virus *AI* sangat beragam antara lain: usaha peternakan yang menyangkut jumlah populasi ternak yang besar, usaha peternakan yang melibatkan banyak pengusaha dan peternak secara langsung dan tidak langsung, dampak terhadap ketersediaan dan keamanan pangan, serta potensi penularannya pada manusia dan bahkan perkembangannya menjadi pandemi influenza. Oleh karena itu diperlukan zat-zat alami yang berasal dari bahan herbal yang dapat meningkatkan sistem pertahanan tubuh salah satunya yaitu dengan tanamam ashitaba.

Seiring dengan berkembangnya dunia kesehatan dan teknologi yang semakin canggih, tanaman ashitaba dapat diolah lebih efisien, praktis dan ekonomis. Tanaman ashitaba mengandung cairan pekat berwarna kuning pada batang dan daunnya yang disebut *Chalcone*. Ashitaba juga memiliki banyak manfaat bagi organ di dalam tubuh. Tanaman ashitaba berpotensi meningkatkan produksi sel darah merah, produksi hormon pertumbuhan serta meningkatkan pertahanan tubuh untuk melawan infeksi, kanker dan juga sebagai sumber antioksidan (Sembiring dan Feri, 2011). Keampuhan tanaman ashitaba ini menjadi pilihan alternatif untuk menjaga kesehatan hewan dan mengobati penyakit.

Ashitaba sebagai bahan herbal yang dapat meningkatkan sistem pertahanan tubuh baik respon imun seluler maupun respon imun humoral pada ayam kampung. Terhadap respon imun spesifik pemberian ekstrak ashitaba mempunyai efek meningkatkan proliferasi sel limfosit T, meningkatkan sekresi TNF α , IFN γ , IL-10 (Zimhisu *et al.*, 2005). Limfosit T berperan dalam respon imun seluler dan Limfosit B berperan dalam respon imun humoral (Saifulhaq, 2009).

Salah satu organ yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh adalah limpa. Pada limpa terkait dengan respon imun seluler dapat dilihat dari adanya proliferasi folikel limfoid pada pulpa putih. Gangguan fungsi limpa dapat membuat ayam kampung menjadi rentan terhadap infeksi. Peranan limpa dalam sistem pertahanan berkaitan dengan respon imunologi terhadap antigen yang berhasil mencapai sirkulasi darah guna menahan invasi organisme atau toksin sebelum menyebar luas. Selain itu, limpa berfungsi sebagai tempat pematangan sel penghasil antibodi (Hanum *et al.*, 2017). Karena itu diperlukan pemberian jamu daun ashitaba sebagai pengganti obat kimia untuk menunjang sistem pertahanan tubuh pada ayam kampung.

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui

pengaruh pemberian jamu daun ashitaba pada ayam kampung yang diberikan vaksin *AI* melalui gambaran histopatologi limpa yang dilihat dari proliferasi folikel limfoid pada pulpa putih.

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap yang terdiri dari lima perlakuan, yaitu tanpa diberikan ashitaba (P0), dengan pemberian ashitaba dosis 50 (P1); 100 (P2); 200 (P3), dan 400 (P4) mg/ekor/hari selama 14 hari, setiap perlakuan diulang lima kali, sehingga penelitian menggunakan 25 ekor ayam. Hari ke-21, dilakukan vaksinasi *AI* untuk semua kelompok ayam.

Koleksi Sampel Limpa dan Pembuatan Preparat Histologi

Hari ke-42 ayam kampung di euthanasia, kemudian dilakukan nekropsi yang dilanjutkan dengan pengambilan organ limpa. Organ limpa dimasukkan ke dalam larutan NBF 10% disimpan sampai pembuatan preparat histopatologi sesuai metode Kiernan (2001) dengan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE).

Pemeriksaan Sampel Limpa

Pemeriksaan histopatologi limpa masing-masing dilakukan pada lima lapang pandang mikroskopik dengan pembesaran 400x. Variabel yang diamati berupa proliferasi folikel limfoid.

Analisis Data

Hasil pemeriksaan ditabulasi dan dianalisis dengan uji statistik non parametrik *Kruskal-Wallis*, jika terdapat perbedaan signifikan ($P < 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Hasil pemeriksaan histopatologi limpa ayam kampung setelah diberikan jamu daun ashitaba dan divaksin *AI*. Pada penelitian ini diperoleh proliferasi folikel limfoid limpa ayam kampung pada kelompok P0,

kelompok P1, kelompok P2, kelompok P3, dan kelompok P4 disajikan pada Tabel 1.

Pada penelitian ini menggunakan uji *Kruskal-Wallis*. Hasil analisis statistik non parametrik *Kruskal-Wallis* menunjukkan nilai signifikansi atau P-value sebesar 0,000. Nilai ini memiliki taraf signifikansi ($P < 0,05$). Berdasarkan hasil pemeriksaan menyatakan bahwa pemberian jamu daun ashitaba berpengaruh terhadap proliferasi folikel limfoid secara signifikan. Uji lanjutan dilakukan dengan menggunakan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan pengaruh antara pemberian jamu daun ashitaba yang diberikan. Berikut ini merupakan hasil pengujian statistik *Mann-Whitney* pada setiap perlakuan disajikan pada Tabel 2.

Hasil dari uji *Mann-Whitney* menyatakan bahwa terdapat beberapa perlakuan yang signifikan jika dilihat dari $P < 0,05$. Pada penelitian ini terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol P0 dengan kelompok P3 dan P4. Terdapat perbedaan signifikan perubahan histopatologi limpa ayam kampung pada kelompok P1 dengan kelompok P3 dan P4. Selain itu terdapat perbedaan signifikan efek yang dihasilkan pada perubahan histopatologi limpa ayam kampung kelompok perlakuan P2 dengan kelompok P4. Perubahan histopatologi limpa ayam kampung dapat dilihat pada Gambar 1.

Pembahasan

Limpa merupakan organ tubuh yang memiliki peran penting dalam hemopoiesis dan sistem imun. Limpa adalah salah satu organ yang bertanggung jawab terhadap pertahanan tubuh dan organ limfoid terbesar yang menjadi pertahanan pertama terhadap serangan benda asing atau antigen yang masuk dalam aliran darah (Owen *et al.*, 2013). Secara histologi, limpa memiliki pulpa merah yang berperan dalam menjaga integrasi sel darah merah dan memiliki pulpa putih yang berperan sebagai organ limfatik dalam limpa. Pulpa putih adalah struktur di dalam limpa yang berisikan limfosit T dan limfosit B (Afiqoh *et al.*, 2017). Pulpa putih merupakan jaringan limfoid pekat yang

dikelilingi periarterial sheat (PALS), berbentuk lingkaran atau lonjong dengan interval tertentu disebut Lymphonodus Corpusculus Malphigi. Pada pulpa putih terdapat limfosit besar, sedang dan kecil. Jumlah limfosit tinggi pada limpa berasal dari limfosit sirkulasi yang masuk ke limpa melalui sinus venosus untuk tinggal di daerah tertentu dalam pulpa putih (Hartono, 1995).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian jamu daun ashitaba dapat menyebabkan perubahan histopatologi limpa ayam kampung secara signifikan dilihat dari proliferasi folikel limfoid. Berikut perlakuan terhadap beberapa kelompok: Kelompok P0 lebih banyak ditemukan proliferasi limfoid difusa/berat. Kelompok ini tanpa pemberian jamu daun ashitaba. kelompok P1 pemberian jamu daun ashitaba dengan dosis 50mg/ekor/hari lebih banyak ditemukan proliferasi folikel limfoid multifokal/sedang. Kelompok P2 pemberian jamu daun ashitaba dosis 100mg/ekor/hari lebih banyak ditemukan proliferasi folikel limfoid multifokal/sedang. Kelompok P3 pemberian jamu daun ashitaba dosis 200mg/ekor/hari lebih banyak ditemukan proliferasi folikel limfoid multifokal/sedang. Pada perlakuan kelompok P4 terjadi penurunan yaitu lebih banyak ditemukan proliferasi folikel limfoid fokal/ringan dengan pemberian jamu daun ashitaba dosis 400mg/ekor/hari. Penelitian ini sejalan dengan penelitian Kurnia *et al.* (2020) yang menyatakan bahwa pemberian jamu daun ashitaba mengalami penurunan jumlah pulpa putih terendah pada kelompok P3 dengan dosis 1000 mg/5ekor ayam kampung.

Hasil analisis menunjukkan bahwa proliferasi folikel limfoid mengalami perubahan yang signifikan setelah pemberian jamu daun ashitaba dalam berbagai dosis. Pemberian jamu daun ashitaba mampu merangsang sistem imun (imunostimulan) sehingga dapat meningkatkan titer antibodi pascavaksinasi AI. Pemberian dosis jamu daun ashitaba yang semakin meningkat dapat menstabilkan terjadinya proliferasi folikel

limfoid pada perlakuan kelompok P1, P2 dan P3. Pada perlakuan kelompok P4 terjadi penurunan proliferasi folikel limfoid. Hal ini terjadi karena efek antiinflamasi flavonoid yang menghambat proliferasi sel limfosit (Makiyah dan Ulinna'ma, 2017). Pernyataan ini didukung oleh penelitian Gupta *et al.* (2016) yang meneliti aktivitas antiinflamasi dan immunosupresi kandungan flavonoid pada *Santalum album*, *Butea frondosa*, *Embllica officinalis*. Kandungan flavonoid tersebut terbukti menekan proliferasi, menurunkan produksi NO dan CD14 *surface marker*. Sehingga dengan terjadinya penurunan proliferasi folikel limfoid menormalkan sistem imun yang abnormal.

Daun ashitaba memiliki kandungan flavonoid yang berperan sebagai imunomodulator. Fungsi imunomodulator adalah memperbaiki sistem imun yaitu dengan cara stimulasi (imunostimulan) atau menekan/menormalkan reaksi imun yang abnormal (immunosupresan). Makiyah dan Ulinna'ma (2017) menyatakan bahwa sebagai imunomodulator, kandungan flavonoid pada tumbuhan tidak semata-mata berefek meningkatkan sistem imun, namun juga menekan sistem imun apabila aktivitasnya berlebihan. Jadi tanaman obat yang mengandung flavonoid berfungsi sebagai penyeimbang sistem imun.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian jamu daun ashitaba terhadap ayam kampung menunjukkan proliferasi folikel limfoid lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan tanpa pemberian jamu daun ashitaba. Pemberian jamu daun ashitaba dengan berbagai dosis menekan proliferasi folikel limfoid yang berlebih pada limpa ayam kampung. Pemberian dosis yang paling berpengaruh pada ayam kampung adalah dosis 400mg/ekor/hari.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kandungan yang paling

berperan dalam jamu daun ashitaba yang diolah secara tradisional terhadap sistem pertahanan tubuh ayam kampung terutama pada organ limfoid.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih saya ucapkan kepada Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Kepala Laboratorium Fisiologi, Farmakologi dan Farmasi, Kepala Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana dan Kepala Balai Besar Veteriner, Denpasar, Provinsi Bali, serta semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Afiqoh NA, Fidiansingih I, Handayani ES. 2017. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun pegagan (*Centella asiatica*) terhadap gambaran histopatologi limpa tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi sodium nitrit sub akut. *J. Kedokteran Unila*. 1(3): 457-462.
- Gupta A, Khamkar PR, Chaphalkar SR. 2014. Inhibition of nitric oxide production and pro-inflammatory cytokines by aqueous extract of terminalia arjuna in human peripheral blood mononuclear cells. *Int. J. Pharm. Biol. Sci. Arch*. 2: 29-33.
- Hanum S, Hamdani B, Dian M. 2017. Gambaran histologis limpa ayam kampung (*Gallus gallus domesticus*) pada umur berbeda. *J. Ilmiah Mahasiswa Vet*. 1(3): 552-557.
- Hartono R. 1995. *Histologi Veteriner: Sitologi dan Jaringan Dasar*. Bogor (ID): Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Pp 20-23.
- Hewajuli DA, Dharmayanti NLPI, Wibawan IWT. 2017. Deteksi, isolasi, dan identifikasi avian influenza subtype H5N1 pada unggas di Pulau Jawa, Indonesia tahun 2016. *J. Vet*. 18(4): 496-509.
- Hussan MT, Khan MZI, Lucky NS. 2009. Immunohistochemical study of the postnatal development of lymphoid tissue and mucosa of broilers. *Bangladesh J. Vet. Med*. 7(1): 253-258.
- Kiernan JA. 2001. *Histological and Histochemical Methods*. 3rd Ed. Toronto. Arnold Pub. Pp. 330-35.
- Kurnia IAG, Sudira IW, Winaya IBO. 2020. Pemberian jamu daun ashitaba pada ayam kampung yang divaksin tetelo memperkecil diameter dan menekan jumlah pulpa putih limpa. *Indon. Med. Vet*. 9(5): 695-704.
- Makiyah SNN, Ulinna'ma HW. 2017. Potensi ekstrak etanol buah *Citrullus lanatus* sebagai agen immunosupresi melalui pengamatan histologi limpa mencit BALB/c. *Maj. Ked. Bandung*. 49(4): 245-251.
- Office International des Epizooties (OIE). 2020. Animal Health in The World: Avian Influenza.
- Owen JA, Punt J, Stranford SA, Jones PP. 2013. *Kuby Immunology*. New York (US): WH Freeman.
- Rusdiana S dan Soeharsono. 2019. Efisiensi usaha pembibitan ayam lokal unggul balitbangtan skala peternakan rakyat. *J. Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*. 22(2): 73-83.
- Saifulhaq M. 2009. Pengaruh pemberian ekstrak buah mahkota dewa dosis bertingkat terhadap proliferasi limfosit lien pada mencit BALB/C. *Biomedika*. 1(2): 33-36.
- Sembiring BB, Manoi F. 2011. Identifikasi mutu tanaman ashitaba. *Bul. Littro*. 22(2): 177-185.
- Thaha AH, Rauf J, Bagenda I. 2018. Peta penyebaran virus avian influenza pada unggas di Kabupaten Polewali Mandar Tahun 2008-2013. *J. Riset Vet. Indon*. 2(1): 19-26.
- Zimhizu E, Hayashi A, Takashi R, Aoyogi Y, Murakami T, Kimota K. 2005 Effect of angiotensin L converting enzyme inhibitor from Ashitaba (*Angelica keiskei*) on blood pressure of spontaneously hypertensive rats. *J. Nut. Sci. Vitaminol*. 45(3): 375-385.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan proliferasi folikel limfoid pada limpa ayam kampung

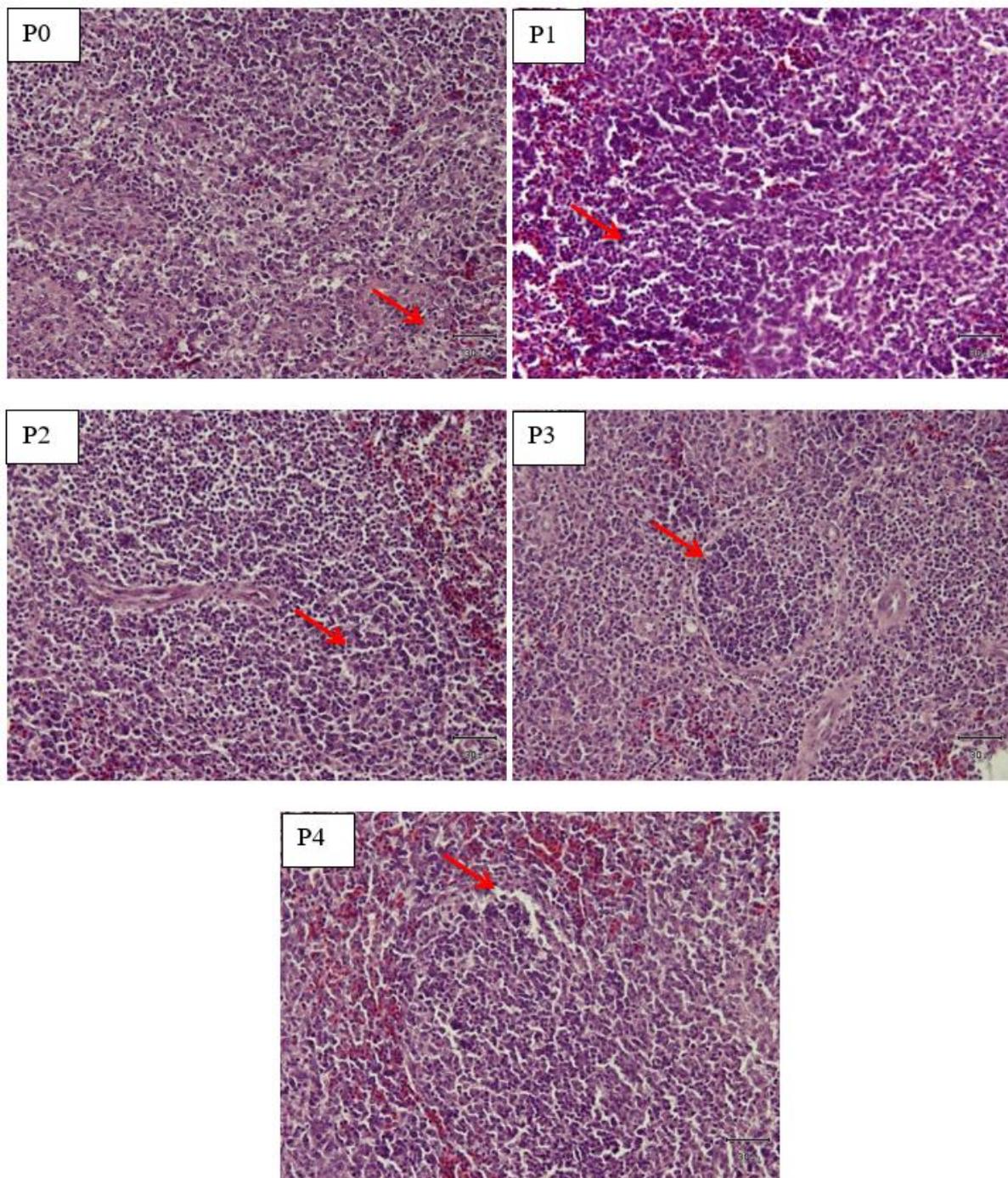
Perlakuan	Ulangan	Lapang Pandang					Rerata
		1	2	3	4	5	
P0	1	3	2	3	2	1	3
	2	2	3	3	3	3	
	3	3	3	2	2	2	
	4	3	3	2	2	2	
	5	3	3	2	3	3	
P1	1	2	3	3	3	3	2
	2	3	3	3	3	3	
	3	2	2	1	2	1	
	4	2	2	2	1	2	
	5	2	2	3	2	1	
P2	1	2	2	2	1	2	2
	2	3	3	3	2	1	
	3	1	2	3	2	2	
	4	2	2	3	3	2	
	5	3	2	2	3	1	
P3	1	2	3	2	2	2	2
	2	1	2	2	2	1	
	3	2	1	1	2	2	
	4	3	3	2	2	1	
	5	2	2	2	1	1	
P4	1	3	2	1	1	1	1
	2	2	2	2	1	1	
	3	1	2	2	1	1	
	4	1	2	1	2	2	
	5	1	1	2	2	2	

Keterangan : Skor 1 = ditemukan proliferasi folikel limfoid fokal (ringan)
 Skor 2 = ditemukan proliferasi folikel limfoid multifokal (sedang)
 Skor 3 = ditemukan proliferasi folikel limfoid difusa (berat)

Tabel 2. Hasil statistik *Mann-Whitney* proliferasi folikel limfoid pada limpa ayam kampung

Perlakuan 1	Perlakuan 2	P-value
P0	P1	0,166 ^{TS}
	P2	0,057 ^{TS}
	P3	0,000 ^S
	P4	0,000 ^S
P1	P2	0,656 ^{TS}
	P3	0,041 ^S
	P4	0,001 ^S
P2	P3	0,091 ^{TS}
	P4	0,003 ^S
P3	P4	0,110 ^{TS}

Keterangan: S = Signifikan; TS = Tidak Signifikan



Gambar 1. Gambar struktur histopatologi limpa ayam kampung pewarnaan HE. BAR (30 µm). Kelompok P0 proliferasi folikel limfoid difusa (berat), Kelompok P1, P2, P3 proliferasi folikel limfoid multifokal (sedang), Kelompok P4 proliferasi folikel limfoid fokal (ringan).
Keterangan: tanda panah menunjukkan proliferasi folikel limfoid.