

Respons Imun Puyuh (*Coturnix coturnix Japonica*) Dewasa yang Mendapat Ekstrak Daun Singkong dalam Mengatasi Dampak Cekaman Panas

**(IMMUNE RESPONSE OF ADULT QUAILS
(COTURNIX COTURNIX JAPONICA) TREATED WITH
CASSAVA LEAF EXTRACT TO OVERCOME HEAT STRESS)**

**Koekoeh Santoso¹, Anindita Sista Widyadhari²,
Okti Nadia Poetri¹, La Jumadin^{3,4}**

¹Bagian Fisiologi, Departemen Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi,
Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor,

²Program Sarjana, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

³Jurusan Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan,
Universitas Halu Oleo, Kendari, Sulawesi Tenggara

⁴Program Studi D III Farmasi, Politeknik Bina Husada, Kendari
Jl. Agatis Kampus IPB Dramaga Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16680

Telp: 0857 1585 1001, E-mail: koekoehipb@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengkaji potensi daun singkong dalam mengatasi cekaman panas pada puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) terhadap variabel titer antibodi setelah vaksinasi, kadar *Malondialdehid* (MDA) serum, dan total protein serum. Unit penelitian ini dibagi menjadi empat kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari enam ulangan. Kelompok kontrol serta Kelompok A, B, dan C masing-masing mendapat cekaman panas, kemudian diberi ekstrak klorofil daun singkong sebanyak 5,292; 10,584; dan 21,168 mg/168 g bobot badan *per oral* selama 28 hari setelah diadaptasikan satu minggu. Variabel seperti titer antibodi terhadap penyakit tetelo atau *Newcastle Disease* (ND) serum, kadar MDA serum, dan total protein serum diperiksa setiap minggu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa titer HI ND seluruh serum dari semua kelompok yang diuji kurang dari 2 HI unit. Titer HI ND dikatakan positif antibodi titer antibodi ND apabila mencapai 16 HI unit. Hasil uji HI menunjukkan bahwa semua serum puyuh negatif antibodi ND. Kadar MDA ditemukan fluktuatif dengan nilai terbesar dan terkecil masing-masing yaitu kelompok B dan kelompok kontrol. Total protein serum mengalami penurunan sejalan dengan peningkatan dosis ekstrak daun singkong. Perbedaan nyata ($P < 0,05$) terjadi antara kelompok kontrol dan A dengan kelompok C. Simpulan pada penelitian ini adalah ekstrak daun singkong berpotensi sebagai penurun tingkat stres namun pemberian hingga dosis 21,168 mg/168 g BB belum mampu menurunkan kadar MDA pada puyuh yang diberi cekaman panas. Dosis 21,168 mg ekstrak daun singkong berpotensi sebagai penurun tingkat stres, sehingga tidak mampu memicu respons imun terbentuknya titer antibodi ND.

Kata-kata kunci: ekstrak daun singkong; Newcastle disease; malondialdehid

ABSTRACT

The aim of the research was to prove the potency of cassava leaf extract to overcome heat stress of adult quails on the variable of antibody titer of Newcastle Disease (ND), MDA level, and total protein. The research was divided into four groups and conducted in 6 replications for each group, consisting of control group, group A, B, and C. All the groups were exposed to heat stress, and then treated with cassava leaf extract with different dosages for 5,292 mg/168 g body weight, 10,584 mg/168 g body weight, and 21,168 mg/168 g body weight for 28 days after being adapted for a week. Variables of antibody titer of Newcastle Disease (ND), MDA level, and total protein were measured every week. The result showed that HI titer of overall tested groups was less than 2 HI units. HI titer contains positive antibody of antibody titer of ND

if it reaches 16 HI units. HI test in the present study showed that all of quail serums contained negative antibody of ND. The level of MDA fluctuated with the highest and smallest value was found in group B and control group, respectively. In addition, the administration of cassava leaves extract tended to decrease total protein, where control group was significantly different to both group A and C ($P < 0,05$). In conclusion, cassava leaves extract has the potential to decrease the stress level, but the administration up to 21,168 mg/168 g BB has not been able to decrease the level of MDA in quails that suffered from heat stress. In Dosage 21, 168 mg extract of cassava leaves was potential to lower stress level so that it was unable to stimulate immune respond to form ND titer antibody.

Keywords: cassava leaf extract; Newcastle disease; malondialdehid

PENDAHULUAN

Puyuh merupakan hewan yang pertumbuhannya cepat, mulai berproduksi pada umur 42 hari, dan siklus hidupnya pendek (Ghazvian *et al.*, 2011). Puyuh tidak memiliki kelenjar keringat, sehingga pelepasan panas tubuh dilakukan melalui permukaan kulit menjadi sangat terbatas. Akibatnya puyuh menderita cekaman. Cekaman ini berpengaruh pada performans hewan, termasuk konsekuensi fisiologi dan tingkah laku hewan (Daghir, 2008).

Salah satu gangguan fisiologi akibat cekaman panas adalah pembentukan antibodi. Antibodi merupakan glikoprotein yang dibentuk oleh sel limfosit B dan diekspresikan sebagai reseptor sel B yang berperan dalam respons imun terhadap antigen spesifik (Knowles dan Selby, 2005). Cekaman panas, juga menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif dalam tubuh dapat diukur dengan menggunakan salah satu parameternya yaitu kadar *malondialdehid* (MDA) plasma. Semakin tinggi stres oksidatif yang terjadi dalam tubuh maka semakin tinggi kadar MDA plasma. Adanya peningkatan stres oksidatif berdampak negatif pada beberapa komponen penyusun membran sel, yaitu kerusakan pada lipid membran membentuk MDA, kerusakan protein, karbohidrat, dan DNA (Kevin dan Hannah, 2006).

Beberapa hasil penelitian telah melaporkan adanya bahan herbal yang mengandung senyawa antioksidan seperti flavonoid dan klorofil (Parubak 2013; Pramesti 2013). Flavonoid dan klorofil antara lain terkandung dalam daun singkong/*Manihot esculenta* (Jumadin *et al.*, 2017). Salah satu cara untuk memproduksi senyawa aktif dari daun singkong dilakukan dengan cara ekstraksi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi daun singkong dalam mengatasi cekaman panas pada puyuh terhadap variabel titer antibodi setelah vaksinasi menggunakan vaksin ND inaktif, kadar MDA serum, dan total protein serum.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari 2016 sampai bulan Juli 2017, bertempat di Ruang Observasi, Divisi Fisiologi dan Farmakologi, Laboratorium Fisiologi, Departemen Anatomi Fisiologi dan Farmakologi, serta Laboratorium Imunologi, Divisi Mikrobiologi Medik, Fakultas Kedokteran Hewan (FKH), Institut Pertanian Bogor (IPB).

Tahap Perlakuan

Sebanyak 24 ekor puyuh umur empat minggu, diaklimatisasi sehari pada suhu 39°C. Pemberian cekaman panas dimulai hari ke-2. Cekaman panas diberikan dengan mengatur suhu kandang 45°C dan diturunkan 1°C per hari hingga 35°C mulai pada hari ke-28. Penurunan suhu kandang dilakukan untuk menyesuaikan penurunan suhu ideal puyuh pada saat memasuki fase *grower*. Pemberian ekstrak daun singkong pada kelompok A, B, dan C dilakukan selama tiga minggu mulai pada hari ke-21 dan sebanyak satu kali sehari antara pukul 16.00–18.00 WIB. Vaksinasi dilakukan pada hari ke-28 pada semua kelompok puyuh menggunakan vaksin ND inaktif (Vaksin N.C.D.[®], Eka Farma, Semarang, Indonesia) melalui intramuskuler (IM) otot dada dengan dosis 0,5 mL/ekor.

Penyediaan Ekstrak Daun Singkong

Pembuatan ekstrak daun singkong mengacu pada metode Jumadin *et al.* (2017). Daun singkong yang telah dikeringanginkan sebanyak 50 g *diblender* dengan ditambahkan 125 mL etanol 95% selama 3 menit secara terputus setiap 1 menit. Campuran disaring dengan kain halus, lalu filtrat disaring kembali dengan corong *Buchner* menggunakan kertas saring. Residu dicuci dengan 75 mL etanol 95%, lalu disaring lagi dengan corong *Buchner*. Filtrat diambil sebagai ekstrak daun singkong. Proses pembuatan ekstrak harus terhindar dari cahaya. Selanjutnya ekstrak daun singkong tersebut dievaporasi selama satu jam pada suhu 70 °C,

sehingga menghasilkan bentuk pasta. Ekstrak daun singkong diletakkan di dalam toples kaca yang dilapisi dengan kertas aluminium dan disimpan dalam lemari pendingin.

Perhitungan Dosis Ekstrak Klorofil Daun Singkong

Perhitungan dosis ekstrak klorofil daun singkong berdasarkan Jumadin *et al.* (2018). Dosis perhitungan ekstrak klorofil daun singkong pada burung puyuh berdasarkan nilai konversi bobot tubuh manusia 70 kg ke bobot tubuh tikus 200 g, selanjutnya ke burung puyuh yang memiliki rata-rata bobot badan sebesar 168 g. Dosis klorofil untuk manusia dewasa yaitu 300 mg/hari (Alsuhendra 2004). Dosis standar tikus dengan bobot badan 200 g adalah 0,018 dosis manusia (Laurence dan Bacharah, 1964). Perhitungan dosis klorofil diperoleh yaitu: konsumsi klorofil adalah 300 mg/hari (Alsuhendra 2004); faktor konversi luas permukaan: 0,07 dengan dengan bobot badan manusia 70 kg = 70.000 g; Rataan bobot badan manusia dewasa: 60 kg = 60.000 g (Alsuhendra 2004); Rataan bobot badan tikus adalah 200 g; Dosis perlakuan untuk tikus = $300 \text{ mg} \times 0,018 \times [(70.000 \text{ g} \times (60.000 \text{ g})^{-1})] = 6,3 \text{ mg} / 200 \text{ g}$. Dosis puyuh dengan bobot badan 168 g = $6,3 \text{ mg} / 200 \text{ g} \times 168 \text{ g} = 5,292 \text{ mg}$. Dosis perlakuan P1 dan P3 = $5,292 \text{ mg} / 168 \text{ g}$; Dosis perlakuan P4 = $2 \times 5,292 \text{ mg} = 10,584 \text{ mg} / 168 \text{ g}$; dan dosis perlakuan P5 = $4 \times 5,292 \text{ mg} = 21,168 \text{ mg} / 168 \text{ g}$.

Pemberian Ekstrak Daun Singkong

Dosis yang digunakan mengacu pada Jumadin *et al.* (2018) yaitu 5,292 mg/168 g BB pada kelompok A, 10,584 mg/168 g BB pada kelompok B dan 21,168 mg/168 g BB pada kelompok C. Pada setiap kelompok masing-masing terdiri dari enam ekor puyuh. Pemberian ekstrak daun singkong dilakukan secara *per oral* sebanyak satu kali dalam sehari yaitu pada sore hari antara pukul 16.00 – 18.00 WIB. Dosis ekstrak daun singkong per satu ekor puyuh diencerkan dengan air minum sebanyak 0,1 mL. Pengenceran dilakukan sekaligus untuk setiap perlakuan. Preparasi dan pemberian ekstrak daun singkong harus dilakukan dalam kondisi gelap untuk menghindari kerusakan klorofil.

Pengambilan dan Preparasi Sampel Darah

Darah diambil dari vena brakialis dengan *sputit* steril kemudian sebagian dimasukkan ke dalam *vacutainer plain* untuk dipreparasi

menjadi serum, sebagian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dengan EDTA. *Vacutainer plain* berisi darah diletakkan selama kurang lebih 3,5 jam dengan posisi miring 45° agar darah mengendap. Selanjutnya darah disentrifus selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Supernatan dikoleksi sebagai serum dan disimpan di dalam *microtube* pada suhu minus 20°C.

Persiapan Antigen ND Standar dengan Uji Hemaglutinasi (HA)

Metode uji HA mengacu pada OIE (2012). Sebanyak 25 µL PBS dipipet dan dimasukkan ke dalam sumuran baris A sampai F di kolom 2 sampai 12. Sebanyak 50 µL sampel (antigen) dipipet ke sumur A1 sampai E1. Sebanyak 25 µL sampel dari sumur A1 sampai E1 dipipet dan dimasukkan ke dalam sumur A2 sampai E2 lalu dicampur lima kali dengan dihisap dan dikeluarkan menggunakan pipet. Tip dilepas dari pipet. *Phosphate buffer saline* (PBS) sebanyak masing-masing 25 µL, 75 µL, 125 µL, dan 175 µL dipipet ke sumur B2, C2, D2, dan E2 dan dicampur sebanyak 10 kali, kemudian masing-masing tip dilepas bersama dengan sampel sejumlah PBS yang dimasukkan. Sebanyak 25 µL dari kolom A2 sampai E2 diambil dengan pipet *multichannel* dan dimasukkan ke dalam kolom A3 sampai E3 dan dicampur sebanyak lima kali, prosedur diulang hingga kolom A12 sampai E12 dengan tip yang sama. Setelah dicampur lima kali pada kolom A12 sampai E12, tip dan 25 µL cairan dilepaskan dari pipet. Sebanyak 25 µL PBS dipipet ke dalam setiap sumur. Sebanyak 25 µL SDM 1% dipipet ke dalam setiap sumur. Plate digoyang selama 10 detik kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang lalu dibaca. Nilai titer antigen berdasarkan pengenceran terakhir yang masih menunjukkan aglutinasi sel darah merah yang sempurna (OIE 2012). Setelah titer antigen diperoleh, kemudian antigen diencerkan hingga memiliki titer 4 HAU. Pemeriksaan keakuratan hasil pengenceran dilakukan dengan titrasi kembali sesuai prosedur uji HA (OIE 2012).

Uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI)

Metode uji HI mengacu pada OIE (2012). Sebanyak 25 µL PBS dipipet ke dalam sumuran baris A sampai H di kolom 1 sampai 12. Setiap 25 µL sampel antiserum dipipet dan dimasukkan ke dalam sumuran A sampai F di kolom 1 dan sumur G diisi dengan antiserum kontrol. Hasil pada uji HI dinyatakan valid

hasilnya apabila sel darah merah (SDM) pada kontrol antigen dan kontrol SDM setelah inkubasi terakhir mengendap sempurna. Serum uji dinyatakan positif antibodi apabila pada sumuran uji terjadi pengendapan sel darah merah. Nilai titer antibodi berdasarkan pengenceran terakhir yang masih menunjukkan hambatan aglutinasi sel darah merah (OIE 2012).

Penghitungan Kadar MDA

Sebanyak 0,5 mL sampel serum atau standar ditambahkan dengan 2 mL campuran HCl 0,25 N dingin yang mengandung 15% *trichloro acetic acid* (TCA), 0,38% *thio barbituric acid* (TBA) dan 0,5% *butylated hydroxytoluene* (BHT). Campuran ini dipanaskan 80°C selama satu jam. Setelah dingin, campuran larutan dan standar disentrifus 3500 rpm selama 10 menit. Absorbansi supernatan diukur pada panjang gelombang 532 nm menggunakan spektrofotometer. Sebagai larutan standar digunakan 1,1,3,3-*tetraetoksipropana* (TEP). Pembuatan larutan kerja 5 µM TEP dengan mengencerkan larutan induk (stok) standar 2,5 µM TEP sebesar 500 kali dengan pelarut air bebas ion. Larutan standar MDA dibuat dengan mengencerkan larutan kerja (5 µM TEP) hingga diperoleh konsentrasi standar sebesar 0, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, dan 200 pmol/50 µL. Kurva standar dibuat dengan memplotkan nilai absorbansi pada sumbu Y dengan konsentrasi standar pada sumbu X (Suarsana *et al.*, 2011).

Penghitungan Total Protein

Total protein dihitung menggunakan reagen *Total Protein Liquicolor, Photometric Colorimetric Test, Biuret method* (Human®). Tabung reaksi disiapkan sebanyak tiga buah. Tabung pertama diisi 1000 µL reagen warna untuk blangko. Tabung kedua diisi 20 µL larutan standar dan 1000 µL reagen warna. Tabung ketiga diisi 20 µL serum darah dan 1000 µL reagen warna. Isi tabung ke-2 dan ke-3 dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 10 menit, kemudian dibaca absorbansi standar dan sampel terhadap blangko reagen dengan panjang gelombang 580 nm menggunakan spektrofotometer.

Variabel Penelitian dan Analisis Data

Variabel penelitian ini meliputi titer antibodi setelah vaksinasi ND, kadar MDA serum, dan total protein serum. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis ragam *One-Way*

Analyze of Variant. Hasil uji yang menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$) maka terhadap data tersebut dilanjutkan dengan uji Duncan dengan selang kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Titer Antibodi Penyakit tetelo/*Newcastle Disease* Serum

Titer antibodi *Newcastle Disease* (ND) dari sampel serum puyuh yang diberi cekaman panas 14 hari setelah vaksinasi ND inaktif *strain* La Sota disajikan pada Tabel 1. Titer antibodi ND yang disajikan adalah titer HI per individu puyuh pada setiap kelompok perlakuan dalam satuan Hemagglutinating Unit (HAU).

Hasil pada Tabel 1 menunjukkan titer HI ND seluruh serum dari semua kelompok yang diuji kurang dari 2 HI unit. Titer HI ND dikatakan positif antibodi ND apabila mencapai 16 HI unit (OIE 2012). Hasil uji HI menunjukkan bahwa semua serum puyuh dinyatakan negatif antibodi ND.

Kadar Malondialdehid Serum

Malondialdehid (MDA) merupakan hasil peroksidasi lipid membran sel akibat radikal bebas sehingga menjadi indikator stres oksidatif pada hewan. Kadar MDA serum puyuh yang diberi cekaman panas disajikan pada Tabel 2.

Pada Tabel 2 disajikan kadar MDA yang fluktuatif dengan nilai terbesar dan terkecil masing-masing yaitu kelompok B sebesar 2,42 µmol/L dan kelompok kontrol sebesar 1,75 µmol/L. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa perlakuan pada kelompok yang berpotensi menurunkan kadar MDA adalah kelompok C dengan dosis 21,168 mg/168 g BB sebesar 1,9 µmol/L.

Total Protein Serum

Total protein serum terdiri dari albumin dan globulin dan berperan untuk mempertahankan homeostasis. Total protein serum puyuh yang diberi cekaman panas disajikan pada Tabel 3.

Hasil pada Tabel 3 menunjukkan total protein serum cenderung mengalami penurunan sejalan dengan peningkatan dosis ekstrak daun singkong. Perbedaan nyata ($P < 0,05$) yaitu antara kelompok kontrol dan A dengan kelompok C.

Antibodi merupakan glikoprotein yang dibentuk oleh sel limfosit B dan diekspresikan sebagai reseptor sel B yang berperan dalam

Tabel 1. Titer antibodi penyakit tetelo/*Newcastle disease* dari sampel serum puyuh yang diberi cekaman panas 14 hari setelah vaksinasi

Kelompok	Dosis Ekstrak Daun Singkong	Titer antibodi per individu (HI unit)					
		1	2	3	4	5	6
Kontrol	0 mg/168 g BB	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
A	5,292 mg/168 g BB	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
B	10,584 mg/168 g BB	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
C	21,168 mg/168 g BB	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2

Tabel 2. Kadar *malondialdehid* (MDA) serum puyuh yang diberi cekaman panas

Kelompok	Dosis Ekstrak Daun Singkong	MDA (µmol/L)
Kontrol	0 mg/168 g BB	1,75
A	5,292 mg/168 g BB	2,33
B	10,584 mg/168 g BB	2,42
C	21,168 mg/168 g BB	1,9

Tabel 3. Total protein serum puyuh yang diberi cekaman panas

Kelompok	Dosis Ekstrak Daun Singkong	Total protein (g/dl)
Kontrol	0 mg/168 g BB	5,42 ± 0,10 ^a
A	5,292 mg/168 g BB	5,26 ± 0,03 ^a
B	10,584 mg/168 g BB	5,18 ± 0,08 ^{pq}
C	21,168 mg/168 g BB	4,92 ± 0,18 ^p

Keterangan: ^{p,q}Superscript yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata (P < 0,05) antar kelompok pada tingkat kepercayaan 95%

respon imun terhadap antigen spesifik (Knowles dan Selby 2005). Institusi OIE (2012) menyatakan, bahwa titer HI ND dinyatakan positif apabila lebih besar atau sama dengan 16 HI unit, sedangkan pada penelitian tidak ada satupun sampel serum puyuh yang menunjukkan titer HI ND e” 16 HI unit, sehingga dapat dikatakan negatif antibodi ND. Penelitian lain mengenai respons antibodi akibat vaksinasi ND inaktif pada puyuh tanpa cekaman panas yang dilakukan oleh Sharawi *et al.* (2015) menyatakan bahwa titer HI ND yang terbentuk pada hari ke-7, 14, dan 21 setelah vaksinasi secara berturut-turut adalah 4, 16,

dan 64 HI unit. Berdasarkan laporan penelitian ini dan penelitian sebelumnya, mengindikasikan bahwa cekaman panas mengganggu respons pembentukan antibodi setelah vaksinasi. Namun, ada faktor lain yang dapat menyebabkan negatifnya titer antibodi ND setelah vaksinasi. Alasan lain adalah waktu pengambilan sampel serum yang terlalu dekat dengan waktu vaksinasi. Pengambilan serum puyuh dilakukan pada hari ke-14 setelah vaksinasi, sedangkan respons pembentukan antibodi setelah vaksinasi dengan vaksin inaktif beradjuvan umumnya lebih lama yaitu 3–4 minggu setelah vaksinasi (Medion 2011). Vaksin inaktif mengandung *oil adjuvant* sehingga proses pelepasan antigen menjadi lebih lambat. Hal tersebut menyebabkan waktu yang dibutuhkan untuk memicu pembentukan antibodi yang maksimal relatif lama, namun respons kekebalan yang terbentuk dapat bertahan lebih lama dalam tubuh dibandingkan dengan penggunaan vaksin aktif (Kencana *et al.*, 2015).

Kadar MDA serum puyuh yang diberi cekaman panas disajikan pada Tabel 2. Senyawa MDA merupakan hasil peroksidasi lipid membran akibat akumulasi radikal bebas yang berlebihan dalam jaringan sehingga menjadi salah satu indikator stres oksidatif pada hewan (Kregel dan Zhang, 2007). Hasil penelitian menunjukkan kadar MDA serum puyuh kelompok perlakuan ekstrak daun singkong tidak lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Hasil penelitian terdahulu yang dilaporkan oleh Sahin *et al.* (2005) menyatakan bahwa kadar MDA serum puyuh yang dipelihara pada suhu ideal 22 °C adalah sebesar 0,78 µmol/L sehingga kadar MDA pada semua kelompok puyuh pada penelitian ini dinyatakan tinggi, dengan kisaran nilai 1,75-2,42 µmol/L. Konsentrasi MDA yang tinggi mengindikasikan status antioksidan endogen yang rendah sehingga untuk mengatasi stres oksidatif

dibutuhkan asupan antioksidan eksogen (Winarsi 2007).

Ekstrak daun singkong mengandung antioksidan berupa flavonoid dan klorofil. Kandungan flavonoid dan klorofil dalam ekstrak daun singkong berperan sebagai antioksidan eksogen yang dimaksudkan mengurangi dampak kerusakan radikal bebas. Aktivitas antioksidan klorofil yaitu dengan menangkap radikal bebas, sedangkan flavonoid bekerja dengan melindungi lipid membran dari radikal bebas (Pramesti 2013; Parubak 2013). Namun, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kandungan kedua senyawa antioksidan dalam ekstrak daun singkong dengan dosis hingga 21,168 mg/168 g BB yang diberikan selama tiga minggu belum mampu membantu antioksidan endogen untuk mencegah peroksidasi lipid oleh radikal bebas akibat cekaman panas. Total protein serum puyuh yang diberi cekaman panas disajikan pada Tabel 3. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sejalan dengan peningkatan dosis ekstrak daun singkong yang diberikan terjadi penurunan total protein serum puyuh. Total protein serum puyuh normal berkisar 2,97–4,33 g/dL (Scholtz *et al.*, 2009). Berdasarkan nilai tersebut maka total protein serum keempat kelompok perlakuan pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan nilai normal, namun pemberian ekstrak daun singkong dosis 21,168 mg/168 g BB mampu menurunkan total protein serum hingga $4,92 \pm 0,18$ g/dL.

Protein serum terdiri dari albumin dan globulin yang berperan penting dalam mempertahankan homeostasis (Tugiyanti *et al.*, 2016). Albumin merupakan bagian terbesar dari protein serum dan berperan penting sebagai protein pembawa serta mempertahankan tekanan osmotik, sedangkan globulin berperan dalam respons imun dan inflamasi (Tugiyanti *et al.* 2016; Napirah *et al.* 2013). Albumin serum puyuh normal berkisar 1,28–1,80 g/dL (Scholtz *et al.*, 2009), namun pada penelitian ini tidak dilakukan pengukuran albumin serum sehingga pengaruh pemberian ekstrak daun singkong terhadap kadar albumin serum belum diketahui. Konsentrasi albumin pada umumnya dipengaruhi oleh naik turunnya volume darah, hal ini terkait fungsi albumin sebagai pengatur tekanan osmotik (Irfan *et al.*, 2014). Stres panas menyebabkan ternak kehilangan cairan tubuhnya, sehingga konsentrasi albumin akan meningkat untuk mempertahankan tekanan osmotik dalam darah. Kondisi stres juga menyebabkan peningkatan hormon glukokortikoid yang dapat berimplikasi pada peningkatan albumin. Peningkatan albumin

tersebut berkaitan dengan fungsinya sebagai protein pembawa glukokortikoid, selain itu kortisol sebagai salah satu hormon glukokortikoid memacu sintesis albumin (Mardani *et al.*, 2015). Hasil penelitian secara tidak langsung mengindikasikan bahwa pemberian ekstrak daun singkong mampu menekan dampak cekaman panas terhadap total protein serum.

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun singkong berpotensi sebagai penurun tingkat stres namun pemberian hingga dosis 21,168 mg/168 g BB belum mampu menurunkan kadar MDA pada puyuh yang diberi cekaman panas. Dosis 21,168 mg ekstrak daun singkong berpotensi sebagai penurun tingkat stres, namun tidak mampu memicu respons imun terbentuknya titer antibodi ND.

SARAN

Pengukuran titer antibodi sebaiknya dilakukan setiap minggu selama satu bulan setelah vaksinasi ND inaktif untuk memperoleh hasil yang lebih representatif. Vaksin ND inaktif dapat diganti dengan vaksin ND aktif untuk memicu respons kekebalan yang lebih cepat. Namun, pemberian vaksin aktif responsnya cepat, turunnya titer antibodi juga cepat sehingga vaksinasi perlu diulang. Pengukuran protein perlu disertai dengan pengukuran albumin dan globulin untuk memperoleh gambaran kondisi fisiologis yang lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Alsuhendra. 2004. Daya anti-aterosklerosis Zn-turunan klorofil dari daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) pada kelinci percobaan [Disertasi]. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Daghir NJ. 2008. *Poultry Production in Hot Climates*. Cambridge: University Press.
- Ghazvian K, Irani M, Jamshidi R, Aghsaghali AM, Siadati A, Vaighan AJ. 2011. The effect of energy to protein ratio on production performance and characteristic of Japanese quail Eggs. *Annal of Biological Research* 2(2): 122-128.

- Irfan IZ, Esfandiari A, Choliq C. 2014. Profil protein total, albumin, globulin dan rasio albumin dan globulin sapi pejantan bibit. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 19(2): 123-129. doi:http://dx.doi.org/10.14334/jitv.v19i2.1040.
- Jumadin L, Satyaningtjas AS, Santoso K. 2017. Ekstrak Daun Singkong Baik Sebagai Antioksidan Pada Burung Puyuh Dewasa Yang Mendapat Paparan Panas Singkat. *Jurnal Veteriner* 18(1): 135-143.
- Jumadin L, Satyaningtjas AS, Maika Z, Darlian L, Ummah W, Santoso K. 2018. Ekstrak Daun Singkong Sebagai Antioksidan Pada Burung Puyuh Yang Mendapat Cekaman Panas Singkat. *Jurnal Veteriner* 19(3): 335-341.
- Kencana GAY, Suartha N, Simbolon MP, Handayani AN, Ong S, Syamsidar, Kusumastuti. 2015. Respons antibodi terhadap penyakit tetelo pada ayam yang divaksin tetelo dan tetelo-flu burung. *Jurnal Veteriner* 16(2): 283-290.
- Kevin CK, Hannah JZ. 2006. An integrated view of oxidative stress in aging: basic mechanisms, functional effects, and pathological considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 292: R18-R36.
- Knowles MA, Selby PJ. 2005. *Introduction to the Cellular and Molecular Biology of Cancer*. New York (US): Oxford University Press. Hlm. 339-440.
- Kregel KC, Zhang HJ. 2007. An integrated view of oxidative stress in aging: basic mechanisms, functional effects, and pathological considerations. *AJP Regul Integr Comp Physiol* 292: R18-R36. doi:10.1152/ajpregu.00327.2006.
- Laurence DR, Bacharach AL. 1964. *Evaluation of Drug Activities: Pharmacometrics, ed.* London: Academic Press. Hlm. 35.
- Mardani W, Mushawwir A, Latipudin D. 2015. Profil protein total dan trigliserida darah ayam petelur fase layer pada temperature humidity index yang berbeda. *Students E-Journal* 4(1). Hlm. 1-9.
- Medion. 2011. Mengantisipasi reaksi post vaksinasi. 2017. *Info Medion Edisi Juli 2017* [internet]. [diunduh pada 2017 Juni 13]. Tersedia pada: Info.medion.co.id/broiler/pengobatan-vaksinasi/587-mengantisipasi-reaksi-post-vaksinasi.html.
- Napirah A, Supadmo, Zuprizal. 2013. Pengaruh penambahan tepung kunyit (*Curcuma domestica* Valet) dalam pakan terhadap parameter hematologi darah puyuh (*Coturnix-coturnix japonica*) pedaging. *Buletin Peternakan* 37(2): 114-119.
- OIE (World Organisation for Animal Health). 2012. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Paris (FR): The World Organisation for Animal Health.
- Parubak AS. 2013. Senyawa flavanoid yang bersifat antibakteri dari akway (*Drimys beccariana* Gibbs). *Chemistry Progress* 6(1): 34-37.
- Pramesti R. 2013. Aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut *Caulerpa serrulata* dengan metode DPPH (1,1 difenil 2 pikrilhidrazil). *Bul O Ma* 2(2): 7-15.
- Sahin K, Smith MO, Onderci M, Sahin N, Gursu MF, Kucuk O. 2005. Supplementation of zinc from organic or inorganic source improves performance and antioxidant status of heat-distressed quail. *Poultry Science* 84: 882-887.
- Scholtz N, Halle I, Flachowsky G, Sauerwein H. 2009. Serum chemistry reference values in adult Japanese quail (*Coturnix coturnix Japonica*) including sexrelated differences. *Poult Sci* 88(6): 1186-1190. doi: 10.3382/ps.2008-00546.
- Sharawi S, El-Habbaa AS, Heba MZ, Khodeir MH. 2015. Experimental infection of quail by NDV and its immune response to vaccination. *BVMJ* 29(2): 218-224.
- Suarsana N, Iwan HU, Suartini AA. 2011. Pengaruh hiperglikemia dan vitamin E pada kadar malonaldehida dan enzim antioksidan intrasel jaringan pankreas tikus. *Majalah Kedokteran Bandung* 43: 72-76.
- Tugiyanti E, Yuwanta T, Zuprizal, Rusman, Ismoyowati. 2016. Effect of α -tocopherol and ascorbic acids on performance and blood immunity profile of male native muscovy duck. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture* 41(3): 145-152.
- Winarsi H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta (ID): Penerbit Kanisius. Hlm. 79-80.