

LAPORAN AKHIR
PENELITIAN STRATEGIS NASIONAL



Judul

**PENGGUNAAN PAKAN FUNGSIONAL IMMUNOSTIMULAN DAN
PENURUN KOLESTEROL TELUR BERBASIS SERBUK DAUN
SELIGI GUNA MENGATASI KENDALA KETERSEDIAAN PAKAN
DAN TINGGINYA MORTALITAS PADA PUYUH**

Tahun ke 1 dari Rencana 3 tahun

Dr. Ir. Wardah, MP., MM. NIDN. 0008076101 (Ketua Tim Peneliti)
Dr. Ir. Tatang Sopandi, MP NIDN. 0004076302 (Anggota Tim Peneliti)
Dr. Jola Rahmahani, Mkes., drh. NIDN. 0013075804 (Anggota Tim Peneliti)

UNIVERSITAS 17 AGUSTUS 1945 SURABAYA
NOPEMBER, 2015

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Penggunaan Pakan Fungsional Immunostimulan dan Penurun Kolesterol Telur Berbasis Serbuk Daun Seligi Guna Mengatasi Kendala Ketergantungan Pakan dan Tingginya Mortalitas pada Puyuh

Peneliti/Pelaksana

Nama Lengkap : Dr. WARDAH IR.,MP.,MM
Perguruan Tinggi : Universitas 17 Agustus 1945 Surabaya
NIDN : 0008076101
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
Program Studi : Ekonomi Pembangunan
Nomor HP : 085232500848
Alamat surel (e-mail) : wardahassery@yahoo.co.id

Anggota (1)

Nama Lengkap : DR TATANG SOPANDI Ir, MP
NIDN : 0004076302
Perguruan Tinggi : Universitas PGRI Adi Buana

Anggota (2)

Nama Lengkap : Dr. JOLA RAHMAHANI drh.,M.Kes.
NIDN : 0013075804
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

Institusi Mitra (jika ada)

Nama Institusi Mitra : Kelompok Peternak Puyuh MANDIRI
Alamat : Desa Sumberingin, Kec. Sanankulon, Kab. Blitar
Penanggung Jawab : Suwandi
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 3 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 86.000.000,00
Biaya Keseluruhan : Rp 295.832.725,00

Mengetahui,
Dekan Fakultas Ekonomi



(Dr. Sigit Sardjono, M.Ec)
NIP/NIK 20210.86.0070

Surabaya, 17 - 11 - 2015
Ketua,

(Dr. WARDAH IR.,MP.,MM)
NIP/NIK 196107081989032001

Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian



(Dr. Ir. Muslimin Abdulrahim., MSIE)

NIP/NIK 20410.87.0089

RINGKASAN

Tanaman dari genus *Phyllanthus* diketahui mampu berperan sebagai immunostimulator dan immunomodulator serta mempunyai aktivitas sebagai antihiperlipidemik dan antikolesterolemik pada ayam broiler. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan produksi pakan melalui penggunaan pakan komersial berbasis serbuk daun seligi (*Phyllanthus buxifolius*) yang dapat menurunkan kolesterol pada telur dan meningkatkan respon imun untuk mengatasi kendala ketersediaan pakan dan tingginya mortalitas pada puyuh. Target khusus dalam penelitian tahun1 adalah : (1) menemukan mekanisme penurunan kolesterol pada telur puyuh yang diberi serbuk daun seligi (*P. buxifolius*) sebagai suplemen pakan komersial, dan (2) menemukan aktivitas dan peningkatan immunostimulan pada ternak puyuh yang diberi serbuk daun seligi (*P. buxifolius*) sebagai suplemen pakan komersial.

Penelitian tahun 1 telah dilaksanakan selama 5 bulan meliputi pemeliharaan ternak dengan umur 75 hari. Dilakukan analisis pakan komersial yang telah disuplementasi serbuk daun seligi (*P. buxifolius*) dengan takaran yang berbeda untuk mendeskripsikan kandungan kimia dan senyawa metabolik pakan, (2) menguji mekanisme penurunan lemak dan kolesterol total, *low density lypoprotein* (LDL) dan *high density lypoptotein* (HDL) pada telur puyuh yang diberi pakan komersial dengan suplemen serbuk daun seligi, (3) menguji peningkatan immunitas pada puyuh yang diberi pakan komersial yang disuplementasi serbuk daun seligi yang optimum dapat mempengaruhi ekspresi interleukin-1 (IL-1), jumlah leukosit (TLC), deferensial leukosit (DLC) dan jumlah iNos. Sebagai parameter pendukung, dilakukan pengukuran berat badan, konsumsi pakan dan kualitas internal telur puyuh dengan menganalisis Haugh Unit, indek putih telur dan indek kuning telur sebagai parameter pendukung.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terjadi peningkatan nutrisi pakan komersial yang diberi suplemen serbuk daun seligi. Kadar protein kasar dan karbohidrat sedikit lebih tinggi pada pakan yang disuplementasi serbuk daun seligi, sedangkan kadar lemak kasar turun, tetapi hemiselulosa dan selulosa meningkat. Hal ini mengindikasikan bahwa penambahan serbuk daun seligi mempengaruhi nutrisi pakan yaitu meningkatkan protein dan menurunkan lemak pakan. Hasil uji kualitas internal telur puyuh menunjukkan bahwa berat telur, kualitas putih telur, kualitas kuning telur dan warna kuning pada telur puyuh yang diberi pakan komersial dengan suplemen 4% dan 6% serbuk daun seligi lebih tinggi dibandingkan dengan telur yang dihasilkan oleh puyuh tanpa mengkonsumsi serbuk daun seligi. Hasil penimbangan berat badan menunjukkan bahwa semakin banyak pemberian suplemen serbuk daun seligi maka berat badan puyuh semakin rendah, hal ini terjadi karena pakan semakin tinggi serat menyebabkan konsumsi semakin rendah. Hal ini diikuti dengan persentase produksi telur yang semakin rendah pada puyuh yang mengkonsumsi pakan dengan suplementasi serbuk seligi semakin banyak. Hasil analisis kualitas telur menunjukkan bahwa kadar lemak telur puyuh yang diberi pakan komersial dengan suplemen 2, 4 dan 6% serbuk daun seligi lebih rendah. Sebaliknya kadar protein telur mengalami peningkatan pada pemberian 2, 4 dan 6 % suplemen serbuk daun seligi. Pemberian suplemen serbuk daun seligi juga dapat meningkatkan imunitas ternak puyuh, menurunkan kadar lemak, kolesterol dan LDL tetapi meningkatkan HDL telur puyuh.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa suplemen serbuk daun seligi dapat meningkatkan kandungan nutrisi pada pakan komersial puyuh, dapat mempengaruhi kualitas internal telur, dan dapat mempengaruhi konsumsi pakan dan produksi telur. Pemberian 4% suplemen serbuk daun seligi dapat menurunkan kadar lemak, kolesterol dan LDL telur dan meningkatkan protein dan HDL telur. Pemberian suplemen serbuk daun seligi sampai dengan 6% secara umum dapat meningkatkan imunitas dan tidak menyebabkan infeksi pada ternak. Dengan demikian disarankan untuk menggunakan serbuk daun seligi sebagai suplemen alami dengan takaran 4%, karena tidak mempengaruhi kesehatan dan pencernaan puyuh, bahkan dapat meningkatkan nilai nutrisi pakan dan nilai gizi telur puyuh.

PRAKATA

Dengan mengucapkan puji syukur kepada Tuhan YME penelitian mengenai Penggunaan Pakan Fungsional Immunostimulan dan Penurun Kolesterol Telur Berbasis Serbuk Daun Seligi Guna Mengatasi Kendala Ketergantungan Pakan dan Tingginya Mortalitas pada Puyuh tahun ke-1 telah selesai dilaksanakan. Pada kesempatan ini peneliti mengucapkan terima kasih kepada :

1. Direktur Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departement Pendidikan Tinggi yang telah mendanai penelitian ini.
2. Rektor Universitas 17 Agustus 1945 Surabaya yang selalu mendorong dan memberi semangat kepada peneliti untuk menyelesaikan penelitian ini.
3. Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas 17 Agustus 1945 Surabaya yang telah membantu dan memberi pelayanan serta pemantauan kepada peneliti.
4. Dekan Fakultas Ekonomi Universitas 17 Agustus 1945 Surabaya yang telah memberi semangat dan melakukan pemantauan kepada peneliti.
5. Kepala Laboratorium TIP POLITAG Surabaya, lab. Faal FK-UB, dan lab. Pangan dan Gizi PAU-UGM yang telah memberi izin dan menyediakan fasilitas penelitian sehingga peneltian ini dapat diselesaikan.
6. Rekan-rekan sejawat para peneliti yang telah berkoordinas dan berkerja dengan baik.

Hasil penelitian ini tentu saja tidak dapat menyelesaikan dan menjawab semua permasalahan dalam usaha penemuan bahan suplemen yang berasal dari tanaman obat. Namun demikian hasil penelitian ini paling tidak dapat dijadikan informasi dasar dalam penyediaan dan penganekaragaman bahan suplemen untuk ternak unggas sebagai pengganti suplemen sintetis. Kami menyadari bahwa kekurangan akan selalu ada, oleh karena itu kritik dan saran akan kami terima dengan lapang dada.

Surabaya, Juni 2015

Tim Peneliti.

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
PRAKATA	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB 1. PENDAHULUAN	1
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	19
BAB 4. METODE PENELITIAN	21
BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	44
BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN	68
DAFTAR PUSTAKA	70
LAMPIRAN	73

DAFTAR TABEL

Nomor	Tabel	Halaman
5.1.1.	Efek Suplementasi serbuk Daun Seligi pada pakan komersial terhadap Komposisi Kimia dan Senyawa Metabolik Sekunder Pakan Puyuh 45
5.1.2.	Efek Suplementasi serbuk Daun Seligi pada pakan komersial terhadap Keberadaan Golongan Senyawa Metabolik Sekunder pada Pakan Puyuh 45
5.2.2.1	Efek Serbuk Daun Seligi pada Pakan Komersial terhadap Hitung Jenis Leukosit (DLC) Ternak Puyuh 47

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Gambar	Halaman
2.1	Tanaman seligi (<i>Phyllanthus buxifolius</i>)	4
3.1	Kerangka Operasional Penelitian	23
5.2.1	Efek Serbuk Daun Seligi terhadap Kadar IL-1 pada Puyuh	46
5.2.2	Efek Serbuk Daun Seligi terhadap Kadar iNOS pada Puyuh	47
5.2.3	Efek Serbuk Daun Seligi terhadap Jumlah Leukosit darah Puyuh	48
5.2.4	Efek Serbuk Daun Seligi terhadap kadar Limfosit darah Puyuh	50
5.2.5	Efek Serbuk Daun Seligi terhadap kadar Monosit darah Puyuh	51
5.3.1	Efek Serbuk Daun Seligi pada Pakan Komersial terhadap Indeks Putih Telur Puyuh	52
5.3.2	Efek Serbuk Daun Seligi pada Pakan Komersial terhadap Indeks Kuning Telur Puyuh	53
5.3.3	Efek Serbuk Daun Seligi pada Pakan Komersial terhadap Haugh Unit (HU) Telur Puyuh	54
5.4.1	Efek Serbuk Daun Seligi pada Pakan Komersial terhadap Kadar Lemak Telur Puyuh	56
5.4.2	Efek Serbuk Daun Seligipada Pakan Komersial terhadap Kadar Protein Telur Puyuh	57
5.4.3	Efek Serbuk Daun Seligi pada Pakan Komersial terhadap Kadar Kolesterol Kuning Telur Puyuh	58
5.4.4	Efek Serbuk Daun Seligi pada Pakan Komersial terhadap Kadar LDL Kuning Telur Puyuh	60
5.4.5	Efek Serbuk Daun Seligi pada Pakan Komersial terhadap Kadar HDL Kuning Telur Puyuh	60
5.5.1	Efek Serbuk Daun Seligi dalam Pakan Komersial terhadap Konsumsi Pakan Puyuh	66
5.5.2	Efek Serbuk Daun Seligi dalam Pakan Komersial terhadap Produksi Telur Puyuh	67

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Lampiran	Halaman
1	Hasil Analisis Statistik	74
2	Proses Penelitian	96
2	Draf Cover dan daftar isi Buku Ajar	101
3	Teknologi Tepat Guna (Booklet) untuk Pengabdian Masyarakat	106

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Puyuh (*Coturnix coturnix*) adalah salah satu ternak yang mempunyai potensi sangat baik dalam memenuhi kebutuhan telur. Di Indonesia, telur puyuh merupakan salah satu hasil ternak yang ikut berperan dalam upaya tercapainya kecukupan gizi masyarakat (Sudaryani, 2003). Selera dan permintaan masyarakat akan telur puyuh makin tinggi karena harganya terjangkau dan mudah didapat.

Kandungan vitamin seperti vitamin B1 mencapai 140 mu-g tetapi telur ayam hanya mencapai 50 mu-g, demikian pula vitamin A dan B₂ pada telur puyuh dua kali dari telur ayam. Demikian pula kandungan kolin yang sangat tinggi serta zat besi dan potasium lima kali lebih banyak pada telur puyuh daripada telur ayam. Kandungan protein telur puyuh sebanyak 13,1 % sedangkan telur ayam hanya mencapai 12,7 %. Telur puyuh juga mengandung 11,1 % lemak, sedangkan telur ayam sebanyak 11,3 % lemak (Woodard *et al*, 1973). Namun demikian, telur puyuh mengandung kolesterol jauh lebih tinggi dibandingkan telur ayam, bahkan kandungan kolesterol telur puyuh mencapai 364 mg/g dibandingkan kolesterol telur ayam hanya mencapai 50 mg/g.

Akhir-akhir ini telur puyuh semakin tidak diminati oleh masyarakat terutama yang beresiko terhadap gangguan kardiovaskuler dan kolesterol, serta masyarakat yang mempunyai kecenderungan tekanan darah tinggi dan obesitas. Tingginya kolesterol pada telur puyuh dipicu oleh penggunaan suplemen kimia/sintetik yang berkembang saat ini dan diyakini dapat meningkatkan konsumsi pakan dan produksi telur, sehingga dapat mengejar target produksi secara maksimal. Berbagai usaha juga telah dilakukan melalui

pemberian pakan yang dapat menurunkan lemak dan kolesterol pada unggas (Wardah *et al*, 2012). Dengan memperhatikan berbagai permasalahan yang dihadapi dalam rangka peningkatan kualitas telur puyuh, diperlukan adanya solusi alternatif penggunaan *feed supplement* alami yang berpotensi dapat menurunkan kandungan lemak dan kolesterol pada telur puyuh, mudah didapat dengan biaya yang murah. Penyediaan telur puyuh yang mengandung kolesterol rendah merupakan terobosan baru yang perlu segera diwujudkan.

Tanaman dari genus *Phyllanthus* telah dikenal sebagai tanaman obat untuk berbagai macam penyakit. Tanaman dari genus ini diketahui dapat mempengaruhi fungsi dan aktivitas sel-sel imunokompeten, mampu berperan sebagai imunoterapi diperkirakan melalui mekanisme immunostimulator. Tanaman dari genus *Phyllanthus* juga berpotensi sebagai antihiperlipidemik dan mampu menurunkan kolesterol pada darah (Adeneye, 2006; Obianime *et al*, 2008; dan Umbare *et al*, 2009). Daun seligi (*Phyllanthus buxifolius*) diketahui mengandung flavonoid, polifenol, tanin, saponin, alkaloid, kuinon dan steroid triterpenoid (Sopandi, 2005 dan Wardah, *et al.*, 2007). Daun seligi diketahui dapat menyetatkan hati dan jaringan hewan, tidak menyebabkan infeksi dan peradangan (inflamasi) sehingga aman dikonsumsi unggas serta menurunkan kadar kolesterol darah pada ayam broiler (Wardah, *et al*, 2007).

Flavonoid diketahui memiliki kemampuan sebagai antioksidan dalam tubuh ternak (Gonzalez-Paramez *et al*, 2004), dapat menekan sintesis asam lemak (Rodrigues *et al.*, 2005) dan adipogenesis pada sel adiposit (Kuppusamy dan Das, 1994). Flavonoid dan polifenol dilaporkan dapat menghambat aktivitas enzim gliserol 3-fosfat dehidrogenase (GPDH) di adiposit (Hsu dan Yen, 2007). Saponin diketahui menghambat penyerapan lemak oleh usus dan diekskresikan

melalui feses (Dong *et al.*, 2007). Tanin dalam saluran pencernaan melapisi dinding usus halus sehingga pencernaan dan penyerapan lemak tidak terjadi (Matsui *et al.*, 2006), dilaporkan pula bahwa tanin signifikan mengurangi hiperlipidemia (Xia *et al.*, 2010).

Daun seligi (*P. buxifolius*) juga mengandung serat larut berupa pektin di samping kandungan protein yang cukup tinggi (Wardah, 2011). Serbuk daun seligi juga mampu menurunkan kandungan lemak dan kolesterol pada daging ayam broiler. Pemberian 5% serbuk daun seligi (*P. buxifolius*) pada pakan ayam broiler selama tiga minggu sebelum panen signifikan mampu mereduksi lemak intraseluler, kadar leptin serum dan kolesterol (Wardah *et al.*, 2012).

Serbuk daun seligi (*P. buxifolius*) mengandung komposisi nutrisi yang cukup lengkap, terutama kandungan protein kasar dan lemak kasar, karbohidrat dan vitamin C yang cukup tinggi serta kandungan serat seperti serat larut berupa pektin dan serat tidak larut berupa selulosa cukup tinggi. Hasil analisis kimia serbuk daun seligi didapatkan 11,57% protein kasar, 18,83% lemak kasar, 53,56% karbohidrat, 14,99% serat kasar, 13,7% selulosa, 14,98% pektin dan 99,27 mg/100 g vitamin C (Wardah, 2012). Selain itu serbuk daun seligi mengandung komponen senyawa metabolik sekunder berupa 0,55% flavonoid, 0,9% tanin dan saponin (Wardah, 2012). Namun informasi ilmiah mengenai efek serbuk daun seligi (*P. buxifolius*) sebagai *feed supplement* herbal yang dapat meningkatkan imunitas dan menurunkan kolesterol telur puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) belum ada.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

Tanaman seligi merupakan tanaman perdu, tahunan dengan tinggi 1-1,5 m. Daun majemuk melingkar pada batang berbentuk bulat telur dengan ujung runcing. Bunga tanaman ini tunggal terletak diketiak daun, menggantung bertangkai pendek berwarna kuning dengan mahkota bunga berbentuk tabung. Biji pipih bentuk ginjal berwarna coklat, sedangkan akar berwarna coklat keputihan (Dalimarta, 2007).



Gambar 2.1. Tanaman seligi (*Phyllanthus buxifolius*)

Tanaman dari genus *Phyllanthus* telah dikenal sebagai tanaman obat untuk beberapa jenis penyakit karena banyak mengandung berbagai komponen metabolit sekunder yang berkhasiat obat (Zhang, *et al*, 2000). Informasi mengenai kandungan kimia dari tanaman ini sangat terbatas, pada pemeriksaan pendahuluan tanaman ini mengandung saponin, flavonoid dan polifenol (Sopandi, 2005) serta alkaloid, tanin, kuinon, dan steroid triterpenoid (Wardah *et al*, 2007). Hasil penelitian Wardah dkk. (2007) menjelaskan bahwa ekstrak daun seligi (*P. buxifolius*) mampu menurunkan aspartat amino transferase (AST), laktat dehidrogenase (LDH), tidak menyebabkan perubahan laju sedimen eritrosit (ESR), menurunkan jumlah leukosit (TLC) dan limfosit pada ayam broiler.

Dengan demikian, daun seligi dapat menyehatkan hati dan jaringan hewan, tidak menyebabkan infeksi dan inflamasi sehingga aman dikonsumsi oleh unggas.

Hasil penelitian Wardah dkk. (2007) menyebutkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun seligi (*P.buxifolis*) sebanyak 80-320mg/kgBB/hari mampu menurunkan aspartat amino transferase, laktat dehidrogenase, tidak menyebabkan perubahan laju sedimen eritrosit, dan total leukosit, serta menurunkan limfosit darah ayam broiler yang diinfeksi vaksin ND aktif. Dengan demikian, daun seligi dapat menyehatkan hati, jaringan hewan, tidak menyebabkan infeksi dan inflamasi sehingga aman dikonsumsi unggas (Wardah dkk., 2007).

Hasil penelitian Umbare *et al* (2009) menyatakan bahwa ekstrak hidro-alkohol dari daun *Phyllanthus amarus* Schumach secara in-vivo berpotensi sebagai antihiperlipidemi dan signifikan menurunkan kadar kolesterol pada darah tikus dengan dosis 300 dan 500mg/kg BB. Obianime *et al.* (2008) juga menyatakan bahwa ekstrak methanol daun *Phyllanthus amarus* mengandung flavonoid, tanin, alkaloid, terpenoid, steroid, saponin, dan glikosida. Pemberian 50-800 mg/kg pada marmut signifikan menurunkan total kolesterol, AST, ALT, urea, asam urat, alkalin dan asam fosfatase. Hasil penelitian Umbare *et al* (2009) menyatakan bahwa ekstrak hidro-alkohol dari daun *Phyllanthus amarus* Schumach secara in-vivo berpotensi sebagai antihiperlipidemi dan signifikan menurunkan kadar kolesterol pada tikus pada dosis 300 dan 500 mg/kg BB.

Phyllanthus ninuri (meniran) mengandung terpenoid, flavonoid, benzonoid, alkaloid, steroid, tannin, saponin dan vitamin C (Malhortra dan Singh, 2006). Malhortra dan Singh (2006) melaporkan bahwa *P. ninuri* (meniran) mengandung lignan, terpene, flavonoid, lipid, benzonoid, alkaloid, steroid, alkan, tanin, saponin dan vitamin C. Ji XH.*et al* (1993) melaporkan bahwa pengujian in vitro

terhadap virus hepatitis B yang diinfeksi pada kultur sel human hepatoma cell line, ekstrak dari *P.ninuri* mampu menurunkan titer HBsAg. Komponen utama dari ekstrak *Phyllanthus* yang berkhasiat anti-viral adalah flavonoid, tetapi tanin atau ellagitanin yang banyak terdapat dalam ekstrak dapat menghambat aktivitas enzim *polymerase* DNA dari virus Epstein Barr (Liu *et al.*, 1999). Menurut Saputra *et al* (2000) kemampuan tanaman *P.ninuri* dalam bekerja sebagai imunoterapi diperkirakan melalui mekanisme imunostimulator. Namun demikian efek serbuk daun seligi (*P. buxifolius*) terhadap peningkatan respon imun berkaitan dengan peningkatan interleukin 1(IL-1), jumlah iNOS, profil lipid serum dan performans produksi pada puyuh belum diteliti.

Tanaman dari genus *Phyllanthus* juga berpotensi sebagai antidiabetik dan antilipidemik (Adeneye *et al*, 2006). *P.amarus* berpotensi sebagai antihiperlipidemi, pemberian 50-800mg/kgBB ekstrak metanol daun *P. amarus* signifikan menurunkan kolesterol, AST, ALT, urea, asam urat, total protein, alkalin dan asam fosfatase (Obianime *et al*, 2008). Pemberian 300-500mg/kgBB ekstrak hidroalkohol daun *P. amarus* juga signifikan menurunkan kadar kolesterol (Umbare *et al*, 2009).

Pemberian ekstrak tanaman *Phyllanthus ninuri* pada mencit dapat mempengaruhi fungsi dan aktivitas sel-sel imunokompeten. Kemampuan tanaman ini dalam bekerja sebagai imunoterapi diperkirakan melalui mekanisme imunostimulator (Suprpto Maat, 1997). *Phyllanthus ninuri* (meniran) mempunyai khasiat kuat sebagai imunostimulan (Saputra *et al*, 2000). Ekstrak air dari *P.ninuri* dapat menghambat DNA *polymerase* dari virus hepatitis B, virus hepatitis woodchuck (WHV), dan human immunodeficiency virus (HIV-1-RT) (Malhortra dan Singh, 2006).

Beberapa hasil penelitian juga melaporkan bahwa tanaman dari genus *Phyllanthus* menunjukkan aktivitas sebagai antivirus. Ekstrak dari tanaman *Phyllanthus amarus* dapat berperan sebagai hepatoprotektif, antidiabetik, antihipertensif, analgesik, antiinflamasi, dan menunjukkan adanya efek antimikroba (Adeneye *et al*, 2006). Tanaman ini juga menunjukkan adanya efek antidiare (Odetola dan Akojenu, 2000). Pemberian secara oral serbuk tanaman *P. amarus* pada penderita hepatitis B kronis mampu menurunkan dan menghilangkan HBsAG sampai 55-60% (Thyagaran, *et al*, 1996). Tanaman ini juga berpotensi sebagai antidiabetik dan antilipidemik (Adeneye *et al*, 2006).

Ekstrak etanol daun seligi juga mampu menurunkan kadar kolesterol darah pada ayam broiler (Wardah *et al*, 2007). Selain menurunkan kadar kolesterol pada darah, hasil penelitian ini juga menyebutkan bahwa ekstrak etanol dari daun seligi (*P. buxifolius*) mampu meningkatkan limfosit pada darah ayam broiler Wardah dkk. (2007). Jumlah limfosit pada organisme berhubungan dengan mekanisme pertahanan imunitas. Adanya peningkatan jumlah limfosit mengindikasikan bahwa di dalam tubuh organisme terjadi reaksi pertahanan antibodi yang excessive (Doxey and Nathan, 1989). Inflamasi akut yang disebabkan oleh infeksi dan kerusakan jaringan dapat memancing monosit dalam sirkulasi darah bergerak dalam jumlah besar selanjutnya menuju ke jaringan yang rusak tersebut. Namun demikian kejadian ini juga dapat menyebabkan monosit dalam sirkulasi darah menjadi berkurang (Abbas *et al.*, 2012). Penurunan persentase monosit terjadi karena respon imunitas yang melibatkan antibodi dan sel makrofag. Meningkatnya jumlah makrofag dalam jaringan menyebabkan berkurangnya jumlah monosit dalam sirkulasi darah (Abbas *et al.*, 2012).

Serat adalah komponen nonnutrien, tetapi sangat berperan dalam menghambat absorpsi lemak di dalam usus. Meningkatnya kandungan serat pada pakan dapat menghambat proses lipogenesis (Murray, 2003). Emulsifikasi lemak dalam saluran pencernaan terhambat karena adanya serat karena serat akan mengikat lemak dan selanjutnya lemak dikeluarkan melalui feses (Astuti, 2007). Pektin dapat mengikat lemak, kolesterol, dan garam-garam empedu di dalam saluran pencernaan sehingga mengganggu absorpsi lemak (Murray, 2003). Dalam proses lipogenesis, lemak yang diikat oleh pektin akan diekskresikan melalui feses, sehingga sintesis lemak dan kolesterol di dalam hepar akan terhambat dan absorpsi lemak di dalam usus terhambat (Astuti, 2007). *Phyllanthus* juga dilaporkan mempunyai aktifitas antihiperlipidemik karena pengaruh flavonoid, saponin dan tanin (Olagunju *et al.*, 1995).

2.2. Performans Produksi Telur

Puyuh (*Coturnix coturnix japonica* L.) merupakan unggas yang dibudidayakan untuk diambil telur dan dagingnya karena pemeliharaannya sangat mudah, konsumsi pakan sedikit, pertumbuhannya cepat, dan pada umur 42 hari sudah bertelur. Telur puyuh memiliki kandungan protein sekitar 13,1%. Mikromineral diperlukan oleh hewan untuk memelihara fungsi tubuh, mengoptimalkan pertumbuhan, reproduksi, dan respons imunitas yang tepat. Unsur mikromineral selanjutnya juga dapat digunakan untuk mengetahui status kesehatan ternak. Kekurangan unsur mineral dapat menyebabkan penurunan performa produksi yang sangat nyata (Murwani, 2008). Vitamin adalah senyawa organik yang harus tersedia dalam jumlah sangat kecil untuk metabolisme jaringan normal. Kekurangan vitamin pada puyuh dapat menimbulkan kerugian pada masa produksi, sebagai contoh ternak akan lebih mudah terserang penyakit

sehingga menurunkan produktivitas bahkan mengalami kematian (Listiyowati, 2000).

Pemberian kombinasi mikromineral dan vitamin sering dikaitkan dengan produktivitas. Produktivitas dapat dilihat dari pertumbuhan, jumlah telur yang diproduksi, dan kualitas internak telur yang diwakili oleh indeks putih telur (IPT), indeks kuning telur (IKT) dan *Haugh Unit* (HU). Larutan mineral (Fe, Cu, Zn, dan Pb) konsentrasi berlebih memiliki potensi untuk dijadikan sebagai bahan alternatif dalam manajemen *drinking water* pemeliharaan ayam dengan memperhatikan konsentrasi mineral yang diberikan bukan dosis letal atau toksik (Kartikayudha, 2011). Oleh karena itu perlu diadakan penelitian lebih lanjut mengenai potensi formula yang terdiri atas vitamin (A, B1, B12, C) dan mineral (Fe, Co, Cu, Zn) terhadap produktivitas melalui indeks kuning telur (IKT) dan *Haugh Unit* (HU). Penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengetahui dosis yang tepat potensi kombinasi mikromineral (Fe, Co, Cu, Zn) dan vitamin (A, B1, B12, C) sebagai *drinking water* terhadap karakteristik kualitas puyuh melalui kuning telur (IKT) dan *Haugh Unit* (HU).

Sudaryani (2006) mengemukakan bahwa indeks kuning telur (IKT) merupakan indeks mutu kesegaran yang diukur dari tinggi dan diameter kuning telur. Kualitas telur dipengaruhi beberapa faktor, yaitu penyimpanan, strain unggas, umur, molting, nutrisi pakan, dan penyakit (Roberts, 2004). *Haugh Unit* digunakan sebagai parameter mutu kesegaran telur dihitung berdasarkan tinggi putih telur dan bobot telur (Syamsir, 1994). Yuwanta (2004) mengemukakan bahwa karakter yang lebih spesifik pada putih telur adalah kandungan protein (lisosim), yang berpengaruh pada kualitas putih telur (kekentalan putih telur baik yang kental maupun encer) yang merupakan pembungkus kuning telur.

Metionin juga merupakan asam amino pembatas pertama atau asam amino kritis pertama yang sering mempengaruhi pembentukan struktur albumen dan mempengaruhi pematangan jala-jala ovomusin (Wahju, 1988).

Ovomusin sangat berperan dalam pengikatan air untuk membentuk struktur gel albumen, jika jala-jala ovomusin banyak dan kuat maka albumen akan semakin kental yang berarti viskositas albumen tinggi seperti yang diperlihatkan dari indikator *Haugh Unit*. Menurut Sirait (1986) protein albumen terdiri atas protein serabut, yaitu ovomusin. Ratnasari (2007) mengemukakan bahwa beberapa jenis protein di dalam putih telur antara lain adalah ovalbumin, konalbumin, ovomusin, globulin (G1, G2, dan G3), ovomukoid, flavoprotein, ovoglikoprotein, ovomakroglobulin, ovoinhibitor, dan avidin.

Griffin *et al.* (1985) melaporkan bahwa kuning telur mengandung lebih kurang 33% padatan, sebagian besar lipoprotein yang kaya akan trigliserida, lipovitellin dan fosvitin. Sedangkan sebagian kecil adalah immunoglobulin, serum albumen protein pengikat protein. Lebih dari 95% kolesterol dari kuning telur bergabung dalam lipoprotein yang kaya trigliserida, sedangkan sisanya mengelilingi lipovitellin sebagai protein atau lemak kompleks yang terdiri atas kurang 20% lemak dan 4% kolesterol. Lebih lanjut dinyatakan bahwa kandungan kolesterol dalam putih telur dijumpai dalam jumlah yang sangat sedikit. Romanof dan Romanoff (1963) juga menjelaskan bahwa perbandingan antara protein dan lemak dalam kuning telur adalah 1 : 2 dalam bentuk lipoprotein. Biosintesis kolesterol paling tinggi terjadi di dalam jaringan hati, kulit, kelenjar anak ginjal, dan alat reproduksi (Stryer, 2000; Haysteen, 2002).

2.3. Lemak dan Kolesterol

Lemak adalah komponen penting yang berperan dalam nutrisi unggas. Dalam pembentukan ATP, lemak berperan sebagai sumber energi metabolik untuk pertumbuhan dan pelindung organ tubuh yang vital, meningkatkan fungsi-fungsi biologis baik dalam sistem pemeliharaan membran, transport, dan prekursor vitamin (Ensminger, 1980, dan Close *et al*, 1986). Lemak terdapat pada semua bagian tubuh, berperan dalam proses metabolisme, karena sebagian besar lemak pada sel jaringan merupakan komponen utama membran sel dan mengatur jalannya metabolisme dalam sel. Lemak hewan mengandung lebih banyak sterol atau kolesterol, trigliserida merupakan senyawa lemak utama yang terkandung dalam bahan makanan (Wirahadikusumah, 1985). Kandungan energi dan protein yang terdapat dalam pakan ternak harus disesuaikan dengan masa pertumbuhan. Pakan dengan kandungan protein tinggi dan rendah energi diberikan pada awal pertumbuhan. Apabila terjadi kelebihan energi, maka akan disimpan dalam bentuk protein di dalam otot. Sedangkan pada masa akhir pertumbuhan sampai masa panen, pakan memiliki karakteristik energi tinggi dan protein rendah. Hal ini menyebabkan terjadinya peningkatan kadar lemak dan penurunan sedikit protein pada otot. Makin tua umur ternak, kebutuhan energi pakan makin tinggi dan kelebihan energi dalam tubuh disimpan sebagai lemak (Santoso, 1989).

Kesempurnaan ransum adalah sangat penting untuk memperoleh performans produksi yang optimal. Ransum yang diberikan sebaiknya mengandung nutrient yang diperlukan oleh ternak. Ransum dikatakan sempurna apabila mengandung nutrient dalam keadaan seimbang, terutama yang harus diperhatikan adalah kandungan protein dan energi dalam ransum (Anggorodi, 1976, dan Scott *et al*, 1976). Namun demikian energi yang berlebihan di dalam

ransum yang dikonsumsi ternak akan disimpan sebagai lemak dalam depot-depot lemak, sehingga dapat meningkatkan jumlah lemak dalam tubuh.

Konsumsi pakan ditentukan oleh mekanisme pengaturan energi yang dikontrol oleh hypothalamus. Konsumsi pakan dipengaruhi oleh ketersediaan energi yang diperlukan oleh ayam, di samping kandungan protein, ukuran tubuh, jenis ransum, palatabilitas dan kondisi fisiologis ternak. Kandungan energi yang tinggi di dalam ransum, menyebabkan konsumsi pakan rendah. Sedangkan ransum dengan protein tinggi menyebabkan konsumsi protein berkurang (Scott *et al*, 1976, dan Wetson, 1982). Konsumsi pakan akan mempengaruhi berat badan dan produksi. Efisiensi penggunaan pakan pada ternak dapat dilihat melalui angka konversi pakan. Ayam yang mempunyai angka konversi pakan kecil berarti makin efisien dalam penggunaan pakannya (Scott *et al*, 1976). Angka konversi pakan pada minggu-minggu pertama rendah dan pada minggu-minggu selanjutnya akan meningkat. Angka konversi pakan ditentukan antara lain oleh suhu, laju perjalanan pakan dalam alat pencernaan, bentuk fisik pakan dan komposisi ransum, serta kualitas pakan, bangsa, dan manajemen pemberian pakan (Anggorodi, 1984, dan North, 1976).

Penggunaan bahan pakan untuk unggas yang berasal dari produk lokal mempunyai kelemahan antara lain penggunaannya berkompetisi dengan manusia karena ketersediaannya terbatas dan tidak stabil, mengandung zat antinutrisi, dan adanya keterbatasan dalam hal teknologi pengolahan. Dengan demikian untuk mencapai target produksi diperlukan pemilihan bahan pakan yang tersedia secara terus menerus dan bahan pelengkap pakan berupa *feed additive*, *feed supplement*, dan obat-obatan yang murah, berkualitas dan merupakan produk lokal.

Untuk memacu pertumbuhan ternak, ketersediaan *feed additive*, *feed supplement*, dan obat-obatan diperlukan meskipun dalam jumlah sedikit. Penambahan *feed supplement* dan obat-obatan seperti antibiotika dan hormon pertumbuhan mutlak diperlukan dalam rangka mengejar target produksi dan mencegah serta mengobati penyakit pada unggas (Herwintono, 2000).

Lemak terdapat pada semua bagian tubuh dan mempunyai peran yang sangat penting dalam proses metabolisme, karena sebagian besar lemak pada sel jaringan merupakan komponen utama membran sel dan berperan mengatur jalannya metabolisme dalam sel. Lemak hewan mengandung lebih banyak sterol atau kolesterol, trigliserida merupakan senyawa lemak utama yang terkandung dalam bahan makanan (Wirahadikusumah, 1985). Kandungan lemak pada telur puyuh rata-rata 13,1 % (Woodard *et al*, 1973) dan sebanyak 16-17 mg/g berupa kolesterol. Kandungan kolesterol di dalam tubuh dipengaruhi oleh pakan, umur dan hormon (Santoso, 1989). Sedangkan kandungan lemak pada daging ayam broiler rata-rata 7-10% (Swenson *et al*, 1993) dan sekitar 5,2% lemak berupa kolesterol (Achmad, 1985).

Empedu sebagai penghasil enzim lipase berperan dalam mencerna lemak menjadi asam lemak dan gliserol. Meningkatnya aktifitas enzim lipase dalam usus halus menyebabkan penyerapan lemak dalam usus halus juga akan meningkat. Empedu mensekresikan garam empedu yang berfungsi dalam pengeluaran lemak dan mengaktifkan enzim lipase dalam mencerna lemak. Sekresi empedu ke dalam usus halus akan mengaktifkan kerja lipase merombak lemak menjadi asam lemak dan gliserol, dan lemak yang dikeluarkan melalui garam empedu akan digantikan oleh lemak hasil penyerapan di usus halus (Wirahadikusumah, 1985).

Selain enzim lipase, mobilisasi lemak ke dalam jaringan tubuh juga dipengaruhi oleh kerja hormon insulin dan glukagon. Kerja dua hormon tersebut saling berlawanan terhadap aktifitas enzim lipase. Hormon insulin akan menghambat aktifitas lipase dan cenderung menyimpan energi (reesterifikasi) sedangkan hormon glukagon mengaktifkan enzim lipase, sehingga mempercepat terjadinya lipolisis. Apabila dua hormon tersebut terjadi keseimbangan kerja, maka kandungan lemak dalam jaringan tidak akan berubah dan lemak dalam jaringan dalam keadaan stabil (Guyton *et al*, 2006). Kerja dua hormon tersebut saling berlawanan terhadap aktifitas enzim lipase. Hormon insulin akan menghambat aktifitas lipase dan cenderung menyimpan energi (reesterifikasi) sedangkan hormon glukagon mengaktifkan enzim lipase, sehingga mempercepat terjadinya lipolisis. Apabila dua hormon tersebut seimbang, maka kandungan lemak dalam jaringan akan stabil (Wirahadikusumah, 1985).

Proses metabolisme lemak yang masuk ke dalam tubuh hewan dimulai dengan proses pencernaannya di dalam usus halus. Enzim lipase yang terdapat di dalam lambung tidak dapat melaksanakan tugasnya dengan sempurna apabila keasaman lambung terlalu tinggi. Sedangkan enzim lipase yang dikeluarkan oleh kantong empedu, pankreas, dan sel usus halus akan mengkatalisis proses hidrolisa ikatan ester pada trigliserida menghasilkan asam lemak bebas dan gliserol (Ganong, 2005). Dalam proses metabolisme lemak, protein dan karbohidrat, kandungan mineral terutama phosphor pada pakan berperan sebagai aktifator enzim dan transfer energi yaitu adenosin triphosphat (ATP). Jika dalam tubuh ayam kekurangan phosphor mengakibatkan metabolisme meningkat dan hasil metabolisme juga ikut meningkat. Meningkatnya hasil metabolisme ini akan

digunakan sebagai energi dan sisanya akan disimpan dalam bentuk lemak, sehingga kandungannya ikut meningkat.

Penimbunan lemak dalam tubuh ternak dipengaruhi oleh berbagai faktor antara lain faktor genetik, jenis kelamin, umur pertumbuhan, pakan dan strain (Wahyu, 1992). Pakan berenergi tinggi dan dikonsumsi secara berlebihan, jumlah dan jenis lemak dalam pakan, jenis ternak dan umur sangat berpengaruh positif terhadap kandungan lemak dalam tubuh (Haris dan Karmas, 1989). Semakin tua umur, persentase kandungan lemak semakin tinggi dan akan diikuti oleh tingginya penimbunan atau deposisi lemak dalam tubuh (Anggorodi, 1985, Soeparno, 1992). Semakin tinggi kadar lemak dalam pakan, maka makin tinggi pula kadar lemak dalam tubuh (Broody, 1985). Namun kejenuhan asam lemak daging sangat dipengaruhi oleh kejenuhan asam lemak pakan, karena kemampuan ternak dalam proses hidrogenasi asam lemak tidak jenuh dalam pakan sangat kecil (Swenson *et al*, 1993). Berbeda dengan ternak ruminansia, di dalam rumen asam lemak yang mengalami esterifikasi dibebaskan dengan hidrolisis sedang asam lemak tidak jenuh akan dihidrogenasi.

Kadar lemak dan kolesterol juga dapat ditekan dengan adanya pektin dalam pakan. Hasil penelitian penambahan pektin dalam ransum sangat signifikan menurunkan kadar total kolesterol, LDL, HDL, dan trigliserida serum (Astuti, 2007). Adanya kandungan flavonoid dan alkaloid dalam pakan dapat mereduksi lemak dalam serum, signifikan menurunkan kolesterol pada serum, bahkan kadar kolesterol dan LDL menurun sampai 83-90% (Astuti, 2007).

Kolesterol merupakan hasil metabolisme, sebagai bahan utama penyusun membran dan partikel lipoprotein. Kolesterol merupakan steroid yang tersebar luas di dalam tubuh hewan, terutama banyak terdapat pada otak, jaringan saraf,

darah, empedu, hati dan kulit. Di dalam tubuh, kolesterol dapat berbentuk bebas, dimana kolesterol sebagai komponen penting dari batu empedu, atau dalam bentuk yang telah diesterifikasi dengan asam lemak dan asam organik lainnya. Keberadaan kolesterol dalam tubuh antara lain berperan penting dalam penyerapan lemak dalam usus halus, dan transport lebih lanjut ke dalam sistem peredaran darah (Llyod *et al*, 1978).

Kolesterol terdapat di dalam semua jaringan hewan dan manusia, biosintesis paling tinggi terjadi dalam jaringan hati, kulit, kelenjar anak ginjal, dan kelamin. Jumlah kolesterol dalam sel diatur oleh beberapa faktor, yaitu faktor luar sel, persediaan asam lemak bebas dan adanya hormon, sedangkan faktor dalam sel adalah kegiatan sistem yang berperan dalam sintesis dan metabolisme kolesterol. Jumlah persediaan terpenoid kolesterol dan skualen sebagai prazat untuk sintesis kolesterol, adanya kegiatan transportasi kolesterol dan derivatnya keluar dari sel dengan mekanisme pengangkutan aktif melalui membran sel dan pengaruh viskositas membran sel (Wirahadikusumah, 1985). Sintesis kolesterol di hati terjadi karena kondensasi asetoasetat dengan asetat membentuk asam yang berantai cabang seperti asam β -hidroksi metil glutarat yang dikonversi menjadi asam mevalonat dan kolesterol. Di dalam hati, kolesterol diubah lagi menjadi asam empedu dan 90% dikeluarkan bersama empedu (Girindra, 1984).

Low density lipoprotein (LDL) disebut juga β protein, dihasilkan oleh hati terbentuk dari partikel *very low density lipoprotein* (VLDL) dalam aliran darah. Komponen LDL (*low density lipoprotein*) menunjukkan potensi aterogenik tertinggi atau kolesterol tinggi. Sedangkan *hight density lipoprotein* (HDL) disintesis di dalam hati dan usus, mengandung 50% protein, 30% fosfolipid, dan

20% kolesterol bebas. HDL berperan penting dalam mengangkut kolesterol dari jaringan perifer menuju ke hati dalam proses metabolisme menjadi asam empedu. HDL juga berperan sebagai alat pengangkut kolesterol intraseluler karena mengandung protein yang tinggi. HDL dapat dinyatakan sebagai pelindung dinding pembuluh darah (Schunack *et al*, 1990).

Penurunan kolesterol dari dalam tubuh terjadi melalui dua jalur, yaitu kolesterol diubah menjadi asam empedu atau dikeluarkan dari tubuh dalam bentuk sterol netral melalui feses. Mekanisme sekresi cairan empedu di dalam sel hati melalui pengaturan hormon sekretin, kolesistokinin dan gastrin, level plasma dari garam-garam empedu dan rangsangan dari saraf vagus. Kolesistokinin bekerja secara preverensial pada kantung empedu bersama-sama dengan meningkatnya rangsangan saraf vagus. Mekanisme tersebut dapat menimbulkan kontraksi kantong empedu, sehingga cairan di dalamnya tertekan keluar dan masuk ke duodenum, cairan empedu akan mengemulsi lemak chyme. Sekresi empedu dapat ditingkatkan dengan pemberian obat yang bersifat koleretik (Winarno, 1989). Adanya antioksidan alami dalam tubuh ternak juga dapat memecah kolesterol pada hati menjadi garam-garam empedu yang akan dibuang melalui feses (Arsiniati, 1996).

Pada proses metabolisme, fungsi hati mampu mengubah beberapa zat makanan yang diabsorpsi oleh usus, seperti asam amino yang mengalami deaminasi menjadi urea dan selanjutnya diekskresikan melalui ginjal dan urine (Evelyn, 1991). Demikian pula karbohidrat dan lemak mengalami proses metabolisme di dalam hati setelah diabsorpsi oleh usus dan selanjutnya dikirim melalui vena porta (Price, 1982). Hati berfungsi untuk memproduksi dan mengekskresikan empedu melalui saluran empedu dan selanjutnya diteruskan ke

dalam kantong empedu menuju usus halus. Unsur utama empedu adalah air yaitu sebanyak 97% sedangkan sisanya berupa elektrolit, garam empedu, fosfolipid, kolesterol dan pigmen empedu (Wirahadikusumah, 1985). Garam-garam empedu bersama-sama dengan lemak dalam empedu berperan penting dalam pencernaan lemak di usus halus. Garam-garam empedu tersebut memungkinkan terjadi emulsi sehingga lemak makanan dengan mudah dapat dipecahkan oleh enzim pankreatik yang larut dalam air.

Hiperkolesterolemik juga dapat ditekan dengan adanya pektin dalam pakan. Hasil penelitian penambahan pektin dalam ransum sangat signifikan menurunkan kadar total kolesterol, LDL, HDL, dan trigliserida serum, darah tikus (Astuti, 2007). Demikian pula adanya kandungan flavonoid dalam pakan dapat mereduksi lemak dalam serum darah, signifikan menurunkan lemak dan kolesterol pada serum darah kelinci yang diberi pakan dengan kolesterol tinggi. Kandungan kolesterol dan LDL menurun sebanyak 83% sampai 90% (Astuti, 2007).

BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1 Tujuan Penelitian

Tujuan utama penelitian pada Tahun I ini adalah untuk menemukan mekanisme peningkatan respon imun ternak puyuh dan penurunan kolesterol telur puyuh yang diberi suplemen serbuk daun seligi (*P. buxifolius*) pada pakan komersial. Secara khusus, penelitian pada Tahun I bertujuan :

1. Mendeskripsikan kandungan kimia pakan meliputi : protein, lemak, karbohidrat, serat kasar, kalsium, phosphor, selulosa, hemisellulosa, ADF, NDF, silika dan lignin. Sedangkan kandungan metabolik sekunder meliputi : flavonoid, saponin, pektin dan tanin pada pakan komersial yang disuplementasi serbuk daun seligi dengan takaran yang berbeda.
2. Menemukan pakan komersial yang disuplemen serbuk daun seligi yang optimum dapat mempengaruhi ekspresi IL-1, jumlah iNOS, total leukosit (TLC), dan deferensial leukosit (DLC) pada puyuh.
3. Menemukan pakan komersial yang disuplemen serbuk daun seligi yang optimum dapat menurunkan kadar kolesterol dan LDL, serta meningkatkan HDL pada telur puyuh.

3.2 Manfaat Penelitian

Dalam rangka peningkatan kualitas produksi, penggunaan *feed supplement* berbasis herbal yang mengandung berbagai komponen metabolik sekunder merupakan solusi alternatif yang patut dipertimbangkan untuk meningkatkan respon imun pada ternak khususnya puyuh. Penggunaan serbuk daun seligi sebagai *feed supplement* tidak hanya mengandung sejumlah komponen metabolik tetapi juga mengandung serat larut (pektin) yang mudah dicerna oleh ternak

unggas. Adanya serat larut dan komponen metabolik diharapkan mampu berperan mempengaruhi aktivitas fisiologis, terutama upaya menurunkan kandungan lemak dan kolesterol pada telur puyuh. Penggunaan tanaman obat sebagai pelengkap pakan diharapkan lebih efektif dan aman dikonsumsi oleh ternak serta terbebas dari residu bahan kimia. Peranan *feed supplement* alami penurun kolesterol telur juga mempunyai kontribusi yang tinggi dalam rangka pengembangan ilmu Teknologi Hasil Ternak.

BAB 4. METODE PENELITIAN

Penelitian eksperimental telah dilaksanakan di desa Sumberingin, Kec. Sanankulon Kab. Blitar selama 3 bulan, mulai bulan Februari sampai dengan Mei 2015. Penelitian terdiri dari 2 metode, yaitu metode penelitian deskriptif analitik dan eksperimental. Penelitian deskriptif difokuskan untuk menetapkan kandungan kimia dan komponen metabolik sekunder pakan komersial yang disuplementasi serbuk daun seligi. Penetapan kandungan kimia pakan yang disuplementasi serbuk daun seligi meliputi protein kasar, lemak kasar, fosfor, ADF, NDF, selulosa, hemiselulosa, silika, pektin dan lignin dilakukan di laboratorium milik Fakultas Peternakan UB. Penetapan senyawa metabolik pakan terdiri dari flavonoid, tanin dan saponin pada pakan dilakukan di laboratorium milik PAU Pangan dan Gizi- UGM. Penelitian eksperimental difokuskan untuk menguji mekanisme penurunan kadar lemak, kolesterol, LDL dan peningkatan HDL telur, serta peningkatan respon imun pada puyuh dilakukan di Kandang milik Kelompok peternak puyuh “Mandiri” Desa Sumberingin, laboratorium Teknologi Pertanian Untag Surabaya, lab. Faal FK-UB dan lab. milik PAU Pangan dan Gizi- UGM. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola split plot dalam waktu yang diulang sebanyak 5 kali. Perlakuan penambahan serbuk daun seligi sebanyak 0, 2, 4, 6 dan 8% per kg pakan komersial, apabila terdapat perbedaan di antara perlakuan dilanjutkan dengan uji beda nyata jujur.

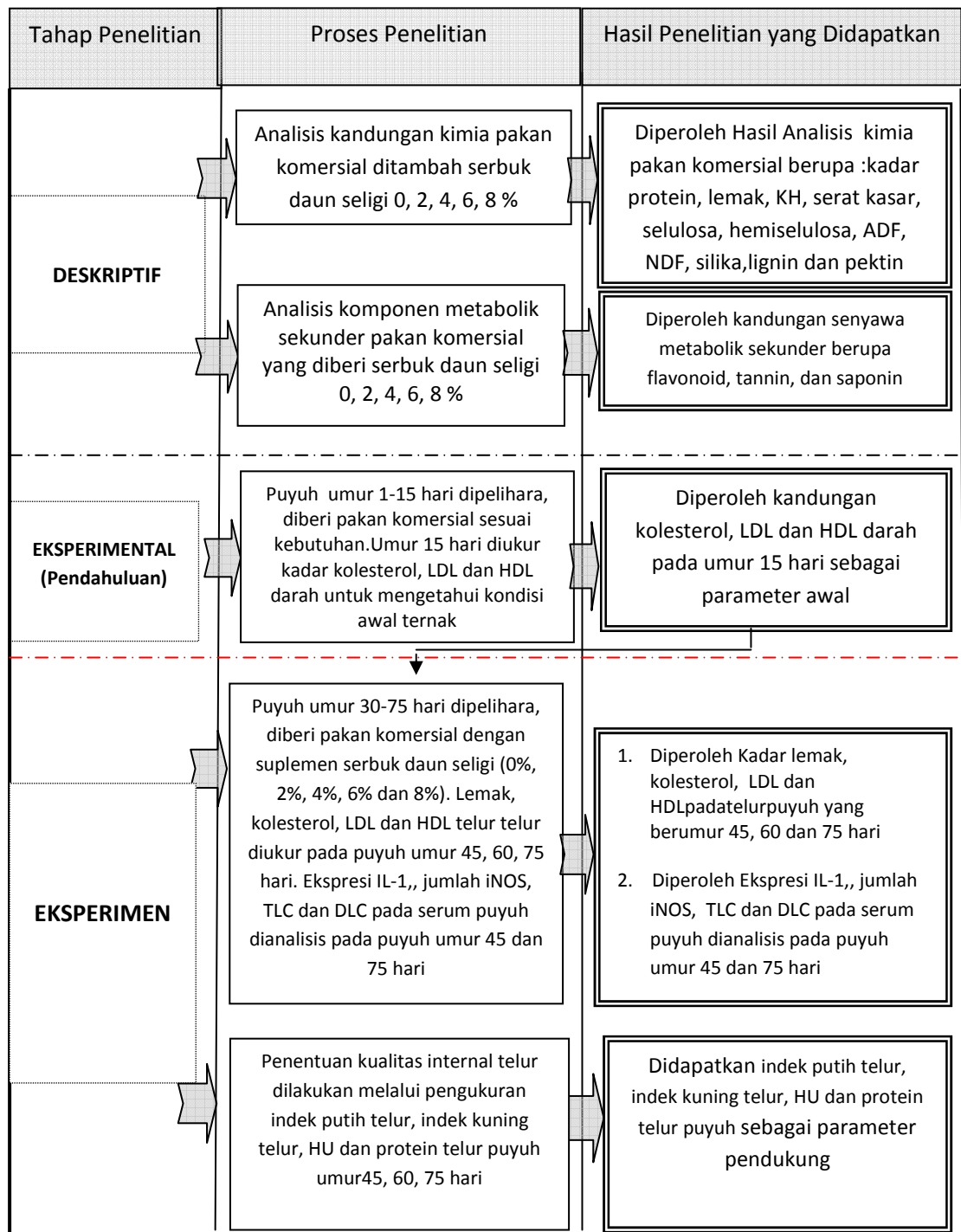
Sebanyak 100 ekor puyuh umur 7 hari ditempatkan dalam kandang kelompok secara acak masing-masing berisi 20 ekor. Kandang sudah dilengkapi dengan tempat pakan, tempat minum dan lampu penerangan. Puyuh percobaan berasal dari hasil penetasan peternakan rakyat yang berlokasi di desa Kalipucung Kecamatan Sanankulon Kabupaten Blitar. Puyuh diberi pakan jadi produksi

pabrik pakan ternak. Untuk mengetahui kondisi awal ternak, diambil secara acak sebanyak 5 ekor puyuh umur 15 hari dilakukan pengukuran kadar kolesterol, LDL dan HDL serum dengan cara puyuh disembelih dan ditampung darahnya. Analisis kadar kolesterol, LDL dan HDL darah dilakukan di Lab. Faal milik Fakultas Kedokteran UB. Umur 22- 29 hari puyuh diberi pakan komersial yang dicampur dengan pakan perlakuan sedikit demi sedikit agar ternak dapat beradaptasi. Setelah selesai masa adaptasi (umur 30- 75 hari) ternak diberi tanda pada bagian kaki, diberi pakan perlakuan dengan takaran sesuai kebutuhan dan air minum diberikan secara ad libitum.

Pemeriksaan lemak (metode Soxhlet modifikasi Tecator – Swedia), kolesterol, LDL dan HDL (metode Liebermann Burchard) pada telur puyuh dilakukan saat puyuh berumur 45, 60 dan 75 hari. Parameter respon imun diamati sebanyak 5 ekor ternak pada setiap kelompok perlakuan pakan dengan cara ternak disembelih dan ditampung darahnya. Sampel darah dari setiap ternak dikumpulkan dalam botol berisi EDTA (2,5 mg/5 ml darah) yang akan digunakan untuk uji darah selanjutnya disentrifuge pada 2500 rpm selama 10 menit. Bagian sera dipisahkan dan dimasukkan dalam vial plastic steril untuk selanjutnya disimpan pada suhu 20°C sampai akan digunakan.

Pengamatan respon imun meliputi jumlah leukosit (TLC), deferensial leukosit (DLC), jumlah iNOS dan Ekspresi IL-1 (metode ELISA) diukur pada saat puyuh berumur 45 dan 75 hari (akhir penelitian). Pengukuran indeks putih telur, indeks kuning telur, Haugh Unit (HU), kadar protein telur sebagai parameter pendukung kualitas internal telur dilakukan pada telur saat ternak berumur 45, 60 dan 75 hari. Pengukuran parameter pendukung dilakukan di lab. Teknologi Industri Pertanian milik Politeknik UNTAG Surabaya. Pengambilan darah untuk

uji imunitas pada puyuh dilakukan dengan cara puyuh disembelih dan ditampung darahnya, masing-masing sebanyak 5 ekor pada setiap perlakuan. Tahapan penelitian yang merupakan kerangka operasional penelitian disajikan pada Gambar 3.1 berikut.



Gambar 3.1 Kerangka Operasional Penelitian

Prosedur pelaksanaan penelitian

a. Pengambilan sampel daun seligi

Daun seligi yang digunakan dalam penelitian berasal dari kebun koleksi tanaman milik pribadi dan milik masyarakat di desa Sumberingin Kec. Sanankulon, Blitar. Daun seligi (*P. buxifolius*) yang digunakan diambil dari seluruh bagian daun, terpisah dari tangkai dan biji lalu daun seligi dibersihkan dari kotoran, dikeringkan dalam ruang tertutup selama 2-3 minggu dan di oven dengan suhu 50°C selama 3 jam, selanjutnya digiling dan diayak lewat 20 mesh sampai diperoleh serbuk kering dengan kadar air rata-rata 10%. Serbuk daun seligi di simpan dalam wadah tertutup sampai akan digunakan. Serbuk daun seligi (*P. buxifolius*) yang telah didapat, selanjutnya ditambahkan pada pakan komersial untuk puyuh dengan perlakuan penambahan serbuk daun seligi sebanyak 0%, 2%, 4%, 6% dan 8%. Pakan yang telah diberi *feed supplement* serbuk daun seligi pada setiap perlakuan, lalu dicampur merata dan digiling sampai berbentuk serbuk halus, selanjutnya dilakukan analisis kandungan nutrisi maupun kandungan senyawa metabolik sekunder.

b. Uji kandungan proksimat dan metabolik sekunder pakan dengan penambahan serbuk daun seligi 0%, 2%, 4%, 6% dan 8%.

1. Uji kimia pakan yang disuplemen serbuk daun seligi :

Penentuan Kadar Air

Bahan berupa serbuk ditimbang sebanyak 1-2g dalam botol timbang yang telah diketahui beratnya. Lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 100-105°C selama 3-5 jam. Bahan didinginkan dalam eksikator dan ditimbang. Bahan dipanaskan lagi dalam oven 30 menit, didinginkan dalam eksikator dan ditimbang lagi, perlakuan diulang sampai tercapai berat konstan (selisih

penimbangan berturut-turut kurang dari 0,2mg). Pengukuran berat merupakan banyaknya air dalam bahan.

Penentuan Kadar Protein (metode Macro-Kjeldahl modifikasi Tecator-FOSS)

Pada proses digesti, alat dinyalakan dan diatur setting suhu ke 420oC. Bahan ditimbang sebanyak 1 gram dan dimasukkan dalam labu Kjeltec. Ditambahkan 15 ml asam sulfat pekat dan 2 biji tablet Kjeldahl. Kran air aspirator dinyalakan atau digunakan lemari asam dengan exhaust pump. Tabung Kjeltec dimasukkan ke dalam digestor. Sampel didestruksi sampel selama 45–60 menit. Destruksi dinyatakan selesai jika sampel berubah menjadi jernih dan asap putih tidak terbentuk lagi. Setelah destruksi berakhir, angkat labu Kjeltec dari digestor dan biarkan dingin (\pm 15 menit).

Proses destilasi, labu Kjeltec diletakkan ke dalam alat distilasi otomatis, tombol AUTO ditekan (telah disetting pemasukan aquadest 75 ml dan alkali - NaOH 40% - 25 ml, serta steaming time 4 menit, sesuai standar Tecator). Sebanyak 25 ml asam borat 4% (yang mengandung indikator methyl red dan brom cresol green dalam metanol) ditakar sebagai penampung destilat dalam erlenmeyer. Dinaikkan posisi erlenmeyer hingga pipa distilat tercelup dan berada di permukaan dasar erlenmeyer. Alat distilasi bekerja otomatis, biarkan sampai proses selesai. Sampel dititrasi dengan HCl titrisol 0,2N sampai titik akhir titrasi. HCl yang digunakan dicatat, nitrogen dan protein dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$N (\%) = 6,25 \times \frac{14,01 \times (\text{sampel} - \text{blanko}) \times 0,2}{\text{berat sampel} \times 10}$$

$$\text{Protein} (\%) = \% N \times \text{factor konversi}$$

Penentuan kadar lemak total metode Soxhlet modifikasi Tecator – Swedia

Sebanyak 1 gram sampel dibungkus dengan kertas saring masukkan dalam extraction thimble (yang sudah ditimbang) dan pasang pada extraction unit. Kran kondensor dibuka dan service unit disiapkan. Dituangkan solvent (petroleum benzen 80-100oC) 75 ml ke dalam extration cup dan dicelupkan thimblenya (yang sudah berisi sampel), condenser valve dibuka. Extraction mode knop diarahkan ke posisi boiling, dibiarkan selama 25 menit. Lalu dipindahkan ke posisi rinsing selama 25 menit. condenser valve ditutup dan nyalakan kipas pada service unit, biarkan selama 10 menit. Extraction thimbles dikeluarkan dari extraction cup dan dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105oC selama 30 menit. Lalu dimasukkan ke dalam eksikator dan ditimbang sampel setelah sampel dingin betul.

Penghitungan :

$$\% \text{ kadar lemak} = \frac{C - A}{B} \times 100\%$$

Dimana : A = berat kertas saring + ikatan + sampel akhir

C = berat kertas saring + ikatan + sampel awal

B = berat sampel

Analisis Acid Detergent Fiber (ADF)

Analisis ADF dilakukan menggunakan metode AOAC (1990). Sebanyak 1 g sampel dimasukan ke dalam 250 ml labu Erlenmeyer volume 250 ml dan ditambahkan 100 ml larutan asam deterjen yang dibuat dari 20 g asetilmetil amonium bromida yang dilarutkan dalam 1 l H₂SO₄ 1 N. Labu yang berisi campuran tersebut dipanaskan selama 2-6 menit. Setelah didinginkan campuran disaring dan bagian residu dicuci dengan aquadest panas sebanyak 3 kali dan terakhir dicuci dengan larutan aseton. Residu selanjutya ditempatkan

dalam cawan dan dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 3-4 jam dan ditimbang. Kadar ADF ditentukan dengan rumus :

$$\text{ADF (\%)} = \frac{\text{Berat cawan + Residu ADF} - \text{Berat Cawan}}{\text{Berat Sampel}} \times 1000$$

Analisis Neutral Detergent Fiber (NDF)

Analisis NDF dilakukan menggunakan metode AOAC (1990). Sebanyak 1 g sampel dimasukkan ke dalam 250 ml labu Erlenmeyer volume 250 ml ditambahkan 1 g natrium sulfat dan 100 ml larutan neutral deterjen yang dibuat dari campuran 18,6 g EDTA dan 8,6 natrium tetraborat dalam 100 ml aquadest digunakan sebagai larutan 1. Selanjutnya dibuat larutan 2 yang terdiri atas 30 ml natrium lauril sulfat dan 10 ml etoksi etanol dan kedalam campuran tersebut ditambahkan 450 g natrium hidrogen fosfat dalam 100 ml aquadest. Kedua larutan (larutan 1 dan 2) dicampur homogen dipanaskan selama 1 jam. Setelah didinginkan campuran disaring dan residu dicuci 3 kali dengan aquadest. Residu selanjutnya disimpan dalam cawan dan dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 3-4 jam dan ditimbang. Kadar NDF ditentukan dengan :

$$\text{NDF (\%)} = \frac{\text{Berat cawan + Residu NDF} - \text{Berat Cawan}}{\text{Berat Sampel}} \times 100$$

Analisis Selulosa(Gopal dan Ranjhan, 1980)

Sebanyak 1 g sampel dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer 150 ml ditambahkan 12,5 ml asam asetat glasial dan 1,5 ml asam pitrat. Labu yang berisi campuran tersebut dipanaskan dalam penangas air selama 20 menit. Larutan selanjutnya disaring dalam penyaring asbes dan residu yang diperoleh dicuci secara bertahap dengan air panas, alkohol, bensen dan terakhir dicuci dengan alkohol. Sampel kemudian dipanaskan pada suhu 100°C dan ditimbang sampai

beratnya konstan. Sampel kering selanjutnya dipanaskan dalam cawan pada suhu 550°C selama 30 menit dan ditimbang. Kadar selulosa ditentukan dengan rumus

$$\text{Selulosa (\%)} = \frac{(\text{Berat cawan + asbes + material sebelum pengabuan}) - (\text{Berat Cawan + berat material setelah pengabuan})}{\text{Berat Sampel Kering}} \times 100$$

Analisis Hemiselulosa(Gopal dan Ranjhan, 1980)

Sebanyak 1 g sampel kering tongkol jagung diekstraksi dengan 75 ml asam sulfat 8% dalam percolator dan dididihkan selama 1 jam. Campuran didinginkan, disaring dan residu dikeringkan pada suhu 105°C sampai berat konstan. Kadar hemiselulosa ditentukan dengan rumus :

$$\text{Hemiselulosa (\%)} = \frac{\text{Berat Residu sampel} - \text{Berat sampel setelah diekstraksi}}{\text{Berat Sampel Kering}} \times 100$$

Analisis Lignin(Gopal dan Ranjhan, 1980)

Penentuan lignin ditentukan dari residu hasil ekstraksi hemiselulosa. Cawan yang berisi residu sampel yang telah diekstraksi hemiselulosa disimpan dalam beaker glass yang berisi 50 ml asam sulfat 72%.

Penentuan kadar pektin (AOAC, 2000)

Sebanyak 5 g sampel serbuk daun seligi diekstrak dengan 400 ml HCl 0,05N selama 2 jam pada suhu 90°C lalu ditambahkan air yang hilang karena penguapan. Selanjutnya didinginkan dan dipindahkan seluruh isinya ke dalam labu takar 500 ml, ditepatkan sampai tanda batas dengan air. Dikocok merata dan disaring dengan kertas Whatman no. 4 lalu filtrat dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Ekstraksi diulang dengan cara memanaskan ekstrak campuran sebelum penyaringan atau dididihkan lagi dengan penambahan HCl 0,01N sebanyak 10 ml dan dididihkan selama 30 menit, lalu disaring dan endapan dicuci dengan air panas. Ditambahkan HCl 0,05N sebanyak 50 ml pada residu, lalu

dididihkan selama 10 menit dan disaring. Seluruh filtrat yang diperoleh dikumpulkan, didinginkan dan ditepatkan sampai volume tertentu.

Pada penetapan sampel, sebanyak 100-200 ml alikuot dipipet dan ditambahkan sebanyak 250 ml air, lalu dinetralkan dengan NaOH 1N dengan menggunakan Phenolftalin sebagai indikator. Ditambahkan lagi 10 ml NaOH 1N sambil diaduk dan dibiarkan semalam. Ditambahkan 50 ml asam asetat 1N, sesudah 5 menit ditambahkan 25 ml kalsium klorida 1N dan diaduk merata. Filtrat disaring dengan kertas saring yang sudah dibasahi dengan air panas dan dikeringkan dalam oven 102oC didinginkan, lalu ditimbang dan diulang sampai beratnya konstan. Selanjutnya endapan dicuci dengan air panas yang hampir mendidih sampai bebas dari klorida. Kertas saring yang berisi endapan dipindahkan ke dalam wadah timbang dan dikeringkan pada 100oC selama semalam, lalu didinginkan dalam desikator dan ditimbang.

$$\% \text{ Kalsium pektat} : \frac{\text{Perak kalsium pektat} \times \text{volume filtrat}}{\text{ml filtrat yang digunakan untuk penetapan} \times \text{berat sampel (mg)}} \times 100\%$$

2. Uji kandungan metabolik sekunder pakan yang disuplemen serbuk daun seligi

Penentuan kadar flavonoid metode pharmakope swiss VII (Morais et al, 1999)

A. Pereaksi : Larutan HMT yang akan digunakan adalah larutan 0,5% b/v heksametilen-tetramin, larutan HCl 25%, larutan asam asetat glasial (larutan asam asetat glasial 5% v/v dalam metanol), dan larutan AlCl₃ (larutan 2%AlCl₃ dalam larutan asam asetat glasial).

B. Larutan induk : Ekstrak yang setara dengan 200,0 mg simplisia dimasukkan ke dalam labu alas bulat, ditambah dengan 1 ml larutan HMT, 20 ml aseton dan 2 ml larutan HCl, dihidrolisis dengan cara direfluks selama 30 menit. Campuran

hasil hidrolisis disaring dengan menggunakan kapas, filtrat dimasukkan ke dalam labu ukur 100,0 ml. Residu direfluks kembali dengan 20 ml aseton selama 30 menit, disaring dan filtrat dicampur ke dalam labu ukur 100,0 ml. Campuran filtrat dalam labu ukur ditambah dengan aseton sampai tepat 100,0 ml. Diambil 20,0 ml filtrat dimasukkan ke dalam corong pisah, ditambah dengan 20 ml air dan diekstraksi kocok, pertama dengan 15 ml etil asetat, kemudian 2 kali dengan 10 ml etil asetat. Fraksi etil asetat dikumpulkan dan ditambah dengan etil asetat sampai tepat 50,0 ml dalam labu ukur.

C. Larutan blangko: Diambil 10,0 ml larutan induk, ditambah dengan larutan asam asetat glasial sampai 25,0 ml dalam labu ukur.

D. Larutan sampel : Diambil 10,0 ml larutan induk, ditambah dengan 1 ml larutan $AlCl_3$ 32 dan larutan asam asetat glasial sampai 25,0 ml dalam labu ukur.

E. Pengukuran : Pengukuran dilakukan 30 menit setelah penambahan $AlCl_3$ dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 425 nm.

Pemeriksaan saponin

Penetapan senyawa saponin dengan uji reaksi warna dan KLT (Harborne, 1996). Sebanyak 10 ml dari masing-masing filtrat pada larutan percobaan flavonoid dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dikocok secara vertikal kuat-kuat selama 10 detik. Terbentuknya busa setinggi 1 sampai 10 cm yang stabil kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl 2N menunjukkan adanya saponin.

Pada uji KLT, ekstrak etanol pakan dengan konsentrasi 0,1 % dalam metanol ditotolkan di atas pelat silika gel 60F254 dan dikembangkan dengan pelarut pengembang campuran n-heksana-etil asetat (4:1) dalam chamber

(Cammag 25267). Penampak noda adalah anisaldehyda asam sulfat (merah ungu) atau antimon klorida (merah muda) sebagai saponin.

Penentuan kadar tanin metode folin ciocalteu dan spektrofotometri UV-VIS (Morais et al, 1999)

Pada pembuatan larutan sampel/larutan baku (asam galat), larutan baku induk dibuat dengan cara menimbang sebanyak 10,0 mg asam galat, dilarutkan dalam 100 ml aquadest dalam labu ukur 100,0 ml (100 ppm). Sedangkan Larutan baku sampel dibuat dengan konsentrasi 1 ppm; 1,5 ppm; 2 ppm; 2,5 ppm; 3 ppm; 3,5 ppm; 4 ppm. Larutan standar dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml, ditambah dengan 500 (l reagen FC, digoyang selama 1 menit dan ditambah 2,0 ml Na₂CO₃ (15 % b/v), digoyang selama 1 menit lalu ditambah dengan aquadest sampai garis tanda (10,0 ml). Setelah itu dipindahkan kedalam tabung reaksi kecil dan ditutup dengan aluminium foil dan diletakkan didalam penangas air 50oC selama 5 menit, lalu didinginkan dan diukur absorbannya pada panjang gelombang maks. 756 nm. Setelah diukur absorbannya, dicari persamaan regresi antara kadar (konsentrasi) dengan absorban, kemudian dihitung koefisien korelasi (r) dan koefisien korelasi dari fungsi untuk mengevaluasi linieritas. Dalam pembuatan larutan sampel, masing-masing sampel ditimbang sejumlah 50 mg. Setelah diperoleh supernatan sampel, setiap supernatan diambil 75 l; tahap selanjutnya sama dengan larutan standar diatas. Setelah diukur absorbannya dihitung kadar rata-rata.

c. Uji kandungan kolesterol, LDL, dan HDL pada telur puyuh yang diberi pakan komersial dengan penambahan serbuk daun seligi

Pada penentuan kadar kolesterol total, LDL dan HDL dalam penelitian ini menggunakan metode colorimetri Liberman-Burchard.

c. Prinsip Pemeriksaan

Bila kolesterol direaksikan dengan asam asetat anhidrit dan asam sulfat pekat dalam lingkungan bebas air, maka akan terbentuk warna hijau biru yang intens akibat pembentukan polimer hidrokarbon tak jenuh. Hasil reaksi antara kolesterol dengan pereaksi warna yang membentuk kompleks berwarna hijau biru tersebut diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

1. Sampel 1 mL/1 gr dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge yang telah berisi 10 mL aseton:alkohol (1:1) kemudian diaduk sampai rata.
2. Tabung yang berisi bahan tadi dipanaskan pada waterbath sampai mendidih. Tabung kemudian diangkat dan didinginkan dalam temperatur kamar, setelah dingin disentrifuge pada kecepatan 1750 rpm selama 15 menit.
3. Supernatan (bagian bening) yang terbentuk dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian diuapkan dengan dipanaskan dalam waterbath sampai kering dan akan terbentuk pasta (residu).
4. Residu dilarutkan dalam kloroform dan dihomogenisasi (langkah ini merupakan langkah pengenceran yang disesuaikan dengan volume pengenceran dari masing-masing sampel yang diperiksa. Setelah diencerkan sampel ditambah dengan 2 mL campuran asam sulfat dan asetat anhidrat (1:30).
5. Larutan residu yang telah diencerkan tadi ditempatkan pada ruang gelap selama 5 menit hingga terbentuk warna hijau. Hasil warna yang diperoleh dibaca dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 680 nm.
6. Membuat larutan blanko yang berisi 2 mL kloroform dan 2 mL campuran asam sulfat dan asetat anhidrat (1:30)

7. Hasil pembacaan dimasukkan ke dalam persamaan regresi dari kadar kolesterol standart.

d. Uji Imunitas Puyuh yang diberi perlakuan pakan komersial dan penambahan serbuk daun seligi

1. Pengamatan Ekspresi interleukin 1 β (IL-1 β) dengan teknik *enzyme-linked immuno sorbent Assay* (ELISA)

Pengamatan interleukin 1 β dalam penelitian ini menggunakan metode Sandwich-ELISA. Mikro plate ELISA yang ada dalam kit telah dilapisi dengan antibodi spesifik untuk IL-1 β . Standar atau sampel yang ditambahkan pada vial mikro plate ELISA sesuai dan terikat oleh antibodi spesifik. Selanjutnya deteksi antibodi terbiotinilasi khusus untuk IL-1 β dan konjugat Avidin-Horse radish Peroxidase (HRP) ditambahkan pada setiap mikro plate dan diinkubasi. Larutan substrat ditambahkan ke dalam masing-masing vial dengan baik dan hanya vial yang mengandung IL-1 β , deteksi antibodi terbiotinilasi dan Avidin-HRP konjugat akan muncul berwarna biru. Reaksi enzim-substrat diakhiri dengan penambahan larutan asam sulfat dan warna berubah menjadi kuning. Kepadatan optik (OD) diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 450 nm \pm 2 nm. Nilai OD sebanding dengan konsentrasi IL-1 β . Penghitungan konsentrasi IL-1 β dalam sampel dilakukan dengan membandingkan OD sampel dengan kurva standar.

Prosedur Kerja

1. Pengumpulan dan penyiapan sampel

Sampel berupa serum terlebih dahulu disentrifugasi untuk menghilangkan padatan tersuspensi. Selanjutnya serum dibekukan semalam pada suhu 4oC.

Sampel dibiarkan pada suhu kamar selama ± 2 jam apabila akan digunakan, lalu di sentrifugasi selama 15-20 menit pada 1000 x g, supernatan siap diuji.

2. Sebanyak 100 μ L standar ditambahkan pada masing-masing vial lempeng ELISA dan campur dengan pengencer, lempeng ditutup dan diinkubasi pada suhu 37 $^{\circ}$ C selama 90 menit. Inkubasi dilakukan untuk mencegah penguapan dan menjamin hasil yang akurat.

3. Biotinylated deteksi Ab

Cairan pada tiap well dihapus dan jangan dicuci, segera ditambahkan sebanyak 100 μ L Biotinylated Deteksi Ab dengan dengan baik, tutup dengan lempeng sealer dan tekan lempeng untuk memastikan pencampuran secara menyeluruh. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 $^{\circ}$ C selama 1 jam. Inkubasi dilakukan untuk mencegah penguapan dan menjamin hasil yang akurat.

4. Pencucian

Setiap pencucian harus dilakukan dengan baik dan diulang sebanyak tiga kali. Pencucian dengan mengisi masing-masing well dengan \pm sekitar 350 μ L Buffer pencuci. Alat pencuci dapat menggunakan botol semprot, multi pipet atau mesin pencuci otomatis apabila diperlukan. Penghapusan lengkap cair pada setiap langkah sangat penting. Setelah pencucian berakhir, buffer pencuci dibersihkan dengan cara lempengan dibolak-balik dan dihapus dan dibersihkan dengan kertas penyerap.

5. HRP Conjugate

Sebanyak 100 μ L HRP Conjugate ditambahkan dengan baik lalu ditutup dengan lempeng sealer dan diinkubasi pada 37 $^{\circ}$ C selama 30 menit.

6. Pencucian

Proses pencucian kembali dilakukan pencucian sebanyak 5 kali dan dilakukan seperti pada langkah 4.

7. Substrat

Sebanyak 90 μ L substrat ditambahkan pada setiap well, lalu ditutup dengan lempeng sealer dan diinkubasi pada suhu 37 ° C selama 15 menit. Lindungi plate dari cahaya. Waktu reaksi dapat dipersingkat atau diperpanjang sesuai dengan perubahan warna yang terjadi, tetapi tidak lebih dari 30 menit. Reaksi berakhir ketika gradien warna muncul dengan jelas pada vial standar ini menunjukkan reaksi harus berakhir.

8. Larutan akhir

Tambahkan 50 μ L substrat larutan akhir pada setiap well, kemudian segera terjadi perubahan warna kuning. Perintah untuk menambahkan stop solution harus sama sebagai larutan substrat.

9. Pengukuran optical density (OD) dengan Spektrofotometer

Pada pengukuran kerapatan optik (OD) harus ditentukan terlebih dahulu nilai OD dengan baik sekaligus menggunakan *Elisa plate reader* diatur dengan panjang gelombang 450 nm. Pengguna harus membuka *micro plate reader*, memanaskan instrumen dan mengatur parameter pengujian.

10. Perhitungan hasil

Rata-rata duplikat bacaan untuk setiap standar dan sampel, kemudian dikurangi standar rata-rata nol densitas optik. Dibuat kurva standar dengan memplot nilai OD rata-rata untuk masing-masing standar pada sumbu y terhadap konsentrasi pada sumbu x dan menarik kurva terbaik melalui titik-titik pada kurva. Dengan perangkat software, maka persamaan terbaik dari kurva standar akan dihitung

dengan menggunakan nilai-nilai OD dan konsentrasi sampel standar. Penghitungan konsentrasi sampel dapat dilakukan setelah memasuki nilai OD sampel. Jika sampel telah diencerkan, maka konsentrasi dihitung dari kurva standar dan harus dikalikan dengan faktor pengenceran. Jika OD sampel melebihi batas atas kurva standar, maka harus menguji kembali setelah pengenceran. Konsentrasi sebenarnya dihitung dari konsentrasi dikalikan faktor pengenceran.

b. Pengamatan ekspresi iNOS dengan teknik ELISA

Teknik pengamatan ini menggunakan metode Sandwich-ELISA. Mikro plate ELISA yang ada dalam kit telah dilapisi dengan antibodi spesifik untuk NOS2 / iNOS. Standar atau sampel yang ditambahkan pada vial mikro plate ELISA sesuai dan terikat oleh antibodi spesifik. Selanjutnya deteksi antibodi terbiotinilasi khusus untuk iNOS dan konjugat Avidin-Horse radish Peroxidase (HRP) ditambahkan pada setiap mikro plate dan diinkubasi. Larutan substrat ditambahkan ke dalam masing-masing vial dengan baik dan hanya vial yang mengandung iNOS, deteksi antibodi terbiotinilasi dan Avidin-HRP konjugat akan muncul berwarna biru. Reaksi enzim-substrat diakhiri dengan penambahan larutan asam sulfat dan warna berubah menjadi kuning. Kepadatan optik (OD) diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang $450 \text{ nm} \pm 2 \text{ nm}$. Nilai OD sebanding dengan konsentrasi iNOS. Penghitungan konsentrasi IL-1 β dalam sampel dilakukan dengan membandingkan OD sampel dengan kurva standar.

Prosedur kerja

1. Pengumpulan dan penyimpanan sampel

Plasma yang diperoleh menggunakan EDTA atau heparin sebagai antikoagulan, lalu sampel dicentrifuge selama 15 menit. Hasil pemisahan

berupa serum yang akan digunakan sebagai sampel, lalu dibiarkan membeku selama 2 jam pada suhu kamar atau semalam menggunakan suhu 4 °C Kumpulkan supernatan sebelumnya disentrifugasi selama 15 menit pada 1000 × g dan siap untuk diuji.

2. Sampel yang akan diuji, terlebih dahulu disentrifugasi dimaksudkan untuk menghilangkan padatan tersuspensi dan tercampur secara menyeluruh.

3. Penambahan sampel

Sebanyak 100µL Standar ditambahkan, kosong atau sampel per well. Kosong juga ditambahkan dengan Referensi Standar & Sample pengencer. Larutan ditambahkan dengan cermat di bawah lempeng mikro ELISA agar tidak berbusa. Lempengan ditutup dengan sealer. Selanjutnya diinkubasi pada 37 °C selama 90 menit.

4. Mendeteksi Biotinylated Ab

Setiap cairan dihapus dengan baik dan tidak dicuci, segera ditambahkan 100µL larutan Biotinylated Ab dengan baik. Lalu ditutup dengan plate sealer sambil sedikit ditekan untuk memastikan bahwa pencampuran menyeluruh. Inkubasi pada suhu 37 ° C selama 1 jam.

5. Pencucian

Proses pencucian well dilakukan dengan baik, diulang sebanyak tiga kali, dengan Wash Buffer sekitar 350µL pada setiap well dengan baik. Wash Buffer dapat menggunakan botol semprot, pipet multi-channel, sejenis dispenser atau mesin cuci otomatis apabila diperlukan. Selanjutnya untuk menghilangkan larutan Wash Buffer yang tersisa pada pencucian terakhir, bersihkan dengan cara membalikkan plate dan menepuknya dengan kertas penyerap.

6. HRP Conjugate

Sebanyak 100 μ L larutan HRP Conjugate ditambahkan dengan baik, lalu plate ditutup dengan sealer dan diinkubasi pada suhu 37 ° C selama 30 menit.

7. Proses pencucian diulang selama lima kali dilakukan seperti pada langkah 5.

8. Substrat

Sebanyak 90 μ L larutan substrat ditambahkan untuk setiap vial, tutup dengan plate sealer baru dan diinkubasi pada suhu 37 ° C selama 15 menit. Plate harus dilindungi dari cahaya. Waktu reaksi dapat dipersingkat atau diperpanjang sesuai dengan perubahan warna yang sebenarnya, tetapi tidak lebih dari 30 menit. Ketika gradien yang muncul di vial standar tampak jelas, maka reaksi harus diakhiri.

9. Larutan akhir

Tambahkan 50 μ Lof larutan akhir (stop solution) untuk setiap pengamatan segera setelah warna berubah menjadi kuning. Perintah untuk menambahkan stop solution harus sama sebagai larutan substrat.

10. Pengukuran *optical density* (OD) dengan Spektrofotometer

Pada pengukuran kerapatan optik (OD) harus ditentukan terlebih dahulu nilai OD dengan baik sekaligus menggunakan *micro plate reader* diatur dengan panjang gelombang 450 nm. Pengguna harus membuka micro plate reader, memanaskan instrumen dan mengatur parameter pengujian.

11. Perhitungan hasil

Rata-rata duplikat bacaan untuk setiap standar dan sampel, kemudian dikurangi standar rata-rata nol densitas optik. Dibuat kurva standar dengan memplot nilai OD rata-rata untuk masing-masing standar pada sumbu y terhadap konsentrasi pada sumbu x dan menarik kurva terbaik melalui titik-

titik pada kurva. Dengan perangkat software, maka persamaan terbaik dari kurva standar akan dihitung dengan menggunakan nilai-nilai OD dan konsentrasi sampel standar. Penghitungan konsentrasi sampel dapat dilakukan setelah memasuki nilai OD sampel. Jika sampel telah diencerkan, maka konsentrasi dihitung dari kurva standar dan harus dikalikan dengan faktor pengenceran. Jika OD sampel melebihi batas atas kurva standar, maka harus menguji kembali setelah pengenceran. Konsentrasi sebenarnya dihitung dari konsentrasi dikalikan faktor pengenceran.

c. Perhitungan jumlah leukosit (TLC)

Bahan dan alat.

Pipet, kamar hitung, larutan Turk, EDTA, tabung reaksi, alkohol 70%, dan kapas.

Prosedur kerja.

Secara hati-hati bagian badan dan kaki ayam dipegang sehingga tidak meronta. Jarum suntik dimasukkan ke bagian sayap (*vena brachialis*) yang sebelumnya dibersihkan dengan alkohol. Darah diambil sebanyak 2 ml, kemudian ditampung dalam tabung reaksi yang telah diisi antikoagulan EDTA dengan tujuan mencegah pembekuan darah. Tabung reaksi yang berisi darah ditutup dengan parafin untuk mencegah kontaminasi. Darah yang dicampur dengan antikoagulan EDTA dihisap dengan pipet hingga tanda 0,5 dan ujung pipet dibersihkan, kemudian pipet diletakkan pada larutan pengencer leukosit (larutan Turk) dan diisi perlahan-lahan hingga tanda angka 1 sehingga didapat konsentrasi menjadi 1:20. Pipet yang berisi darah ini dikocok selama 3 menit hingga tercampur homogen, setelah itu sebanyak 2 atau 3 tetes larutan diteteskan dari pipet dibuang sebelum mengisi kamar hitung. Setelah itu, larutan diteteskan ke dalam kamar hitung dan dibiarkan selama 1 menit. Dengan perbesaran rendah

jumlah leukosit dihitung dalam 4 kotak sudut kamar hitung darah. Rumus perhitungan yang dipakai adalah:

leukosit/cu.mm atau jumlah sel leukosit = $\frac{\text{Jumlahsel} \times 200 (\text{larutan} 1: 20 \times 10)}{4}$
dalam kotak sudut kamar hitung $\times 50 =$ leukosit/cu.mm.

d. Penghitungan deferensial leukosit (DLC)

Pemeriksaan dilakukan dengan membuat preparat ulas darah dan diwarnai dengan pewarnaan Giemsa 10% selama 30 menit. Sampel darah di campur homogen sebelum diambil dengan pipet kapiler, kemudian satu tetes kecil darah diletakkan dekat ujung gelas obyek posisi permukaan datar. Gelas obyek yang kedua ditempatkan dengan ujung menyentuh permukaan gelas obyek pertama sehingga membentuk sudut 30-45⁰. Gelas obyek kedua ditarik ke samping dan di biarkan darah mengalir dengan daya kapiler sehingga mencapai luasan 2/3 gelas obyek pertama. Gelas obyek kedua didorong dengan sudut yang sama sehingga membentuk lapisan tipis. Preparat apus dibiarkan mengering di udara terbuka. Preparat apus darah difiksasi dengan metil alkohol selama 3-5 menit, preparat diambil dan dibiarkan kering di udara. Setelah kering preparat direndam dengan pewarna Giemsa yang baru selama 15-60 menit. Preparat dicuci dengan air berkali-kali dan dibiarkan mengering di rak. Penghitungan persentase limfosit dilakukan perbesaran obyektif 100 x, klasifikasi leukosit pada beberapa lapang pandang dan dihitung per 100 leukosit.

e. Pembuatan preparat imuno histokimia

Bahan dan alat : Inkubator, xylol, alkohol absolut III, II, I, 95%, 90%, 80%, dan 70%, diionizewater (DW), H₂O₂, metanol, PBS, serum normal, *Inducible Nitric Oxyd Synthase* (iNOS), antibodi primer, antibodi sekunder (biotinilasi), 3,3'-diaminobenzidine (DAB), hematoksilin.

Prosedur kerja

Jaringan dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan 3-5 μ m. Deparafinisasi dilakukan dengan larutan xylol (III, II, dan I) masing-masing larutan 5 menit. Kemudian dilakukan rehidrasi dengan alkohol bertingkat, dimulai dari alkohol absolut III, II, I, 95%, 90%, 80%, dan 70% pada masing-masing larutan selama 5 menit. Selanjutnya pencucian dilakukan dengan menggunakan *diionize water* (DW) selama 15 menit. Penghilangan peroksidase endogen menggunakan (0,5ml H₂O₂ ditambah 50 ml metanol) selama 15 menit. Pembilasan dilakukan dengan menggunakan DW selama 7 menit dua kali dan PBS selama 7 menit dua kali. Kemudian preparat ditetesi dengan serum normal pada gelas obyek secara merata, dimasukkan kedalam kotak preparat (*humiditychamber*) ditambah kertas tissue dan ditetesi dengan PBS untuk menjaga kelembaban. Selanjutnya preparat dimasukkan kedalam inkubator pada suhu 37°C selama 45 menit. Pencucian dengan PBS masing-masing 5 menit dilakukan 3 kali :

1. Jaringan ditetesi dengan antibodi primer terhadap enzim *Inducible Nitric Oxide Synthase* (iNOS), kemudian diinkubasi pada suhu 4°C selama 1 malam. Kemudian dilakukan pencucian dengan PBS masing-masing 5 menit sebanyak 3 kali.
2. Selanjutnya preparat ditetesi dengan antibodi sekunder (biotinilasi), diinkubasi pada suhu 37°C selama 35 menit. Pencucian dengan PBS masing-masing 5 menit sebanyak 3 kali. Ditetesi dengan peroksidase inkubasikan pada suhu 37°C selama 30 menit. Pencucian dengan PBS masing-masing 5 menit 3 kali.
3. Pemberian chromogen dilakukan dengan cara penetesan larutan 3,3'-diaminobenzidine (DAB), diinkubasikan pada suhu 37°C selama 35 menit.

Pencucian dengan PBS masing-masing 5 menit sebanyak 3 kali. *Counterstain* menggunakan hematoksin dilakukan dengan cara meneteskan sampai rata dan dibiarkan 15 detik lalu dicuci dengan DW. Dehidrasi dilakukan dengan larutan alkohol berseri 70%, 80%, 90%, dan 100% serta alkohol absolut I, II, dan III. Pada masing-masing larutan dibiarkan selama 1 menit. *Clearing* dilakukan dengan Xylol (I, II, dan III). Penutupan preparat (*mounting*) dilaksanakan dengan segera ditutup dengan *coverglass*. Evaluasi pewarnaan imunohistokimia dilakukan dengan dua metode. Pewarnaan menggunakan antibodi primer terhadap iNOS dilanjutkan dengan penghitungan secara kuantitatif, yaitu dengan menghitung imunoreaktivitas positif menggunakan lensa obyektif 40x pada 5 lapang pandang, kemudian menghitung rata-rata. Sedangkan hasil pewarnaan menggunakan antibodi primer IBD. Kemudian dievaluasi secara deskriptif.

e. Uji Kualitas Internal Telur Puyuh

Pengukuran Indeks Putih Telur dihitung dengan menggunakan alat jangka sorong untuk mengukur tinggi putih telur dan lebar putih telur. Telur yang telah mendapat perlakuan masing-masing sebanyak lima butir diukur Indeks Putih Telurnya. Hasil pengamatan Indeks Putih Telur dicatat pada tabel hasil pemeriksaan. Rumus Indeks Putih Telur menurut (Laily dan Suhendra, 1979).

$$\frac{T}{\frac{1}{2} (L1 + L2)}$$

Keterangan : T : Tinggi Putih Telur, L1 : Lebar Putih Telur, L2 : Panjang Putih Telur.

Pengukuran Indeks Kuning Telur dipecahkan di atas bidang datar dan licin (kaca). Kuning telur dipisahkan dari putih telur secara hati-hati. Indeks Kuning Telur diukur dengan menggunakan alat jangka sorong untuk tinggi

kuning telur dan lebar kuning telur. Telur yang telah mendapat perlakuan masing-masing sebanyak enam butir diukur Indeks Kuning Telurnya. Komponen yang digunakan untuk mengukur indeks kuning telur adalah tinggi kuning telur dan diameter kuning telur (Sirait, 1986). Nilai yang diperoleh dimasukkan dalam formulasi sebagai berikut.

$$\text{IKT} = \frac{\text{tinggi kuning telur (mm)}}{\text{diameter kuning telur (mm)}}$$

Hasil pengamatan indeks kuning Telur dicatat pada tabel hasil pemeriksaan. Penghitungan nilai HU menggunakan rumus Yuwanta (2004).

$$\text{HU} = 100 \log (h+7,57-1,7.W^{0,37})$$

Ket: HU = Haugh Unit h = tinggi albumen pekat (mm) W = bobot telur (g)

Analisis Statistika

Data yang diperoleh dilakukan penghitungan analisis statistika dengan analisis varian yang dilanjutkan dengan uji beda nyata jujur menurut petunjuk Steel dan Torie (1999) dengan bantuan *Microsoft Excell 2003* dan *SPSS 17 for Windows*.

BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1. Efek *Feed Supplement* Serbuk Daun Seligi (*P. buxifolius*) terhadap Komposisi Kimia dan Senyawa Metabolik Sekunder Pakan Puyuh

Komponen utama bahan organik pada serbuk daun seligi terdiri atas 11,566% protein kasar, 18,834% lemak kasar, 14,991% serat kasar, 13,7% selulosa, 6,17% hemiselulosa, dan 14,98% pektin. Sumber bahan organik lain dalam jumlah kecil adalah 0,11% lignin dan 0,23% silikat. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa serbuk daun seligi positif mengandung komponen golongan senyawa flavonoid, saponin, polifenol (tanin), alkaloid dan steroid triterpenoid. Kandungan senyawa polifenol (tanin) diperoleh sebesar 0,9% dan golongan senyawa flavonoid sebesar 0,55% per 100 mg.

Hasil analisis komposisi kimia pakan komersial yang disuplemen serbuk daun seligi (*P. buxifolius*) dengan takaran yang berbeda disajikan pada Tabel 5.1.1. Tabel 5.1.1 menunjukkan bahwa kadar protein kasar dan karbohidrat sedikit lebih tinggidemikian pula hemiselulosa dan selulosa meningkat pada pakan yang disuplementasi serbuk daun seligi sedangkan kadar lemak kasar turun. Hal ini mengindikasikan bahwa penambahan serbuk daun seligi mempengaruhi nutrisi pakan yaitu dapat meningkatkan kadar protein, menurunkan kadar lemak pakan dan meningkatkan kandungan serat.

Hemiselulosa dan pektin yang cukup tinggi pada pakan yang disuplementasi serbuk daun seligi mengindikasikan bahwa penambahan serbuk daun seligi tidak mempengaruhi nutrisi tetapi dapat meningkatkan serat, terutama serat larut berupa pektin. Pektin berpotensi mempengaruhi absorpsi lemak dan kolesterol di dalam saluran pencernaan (Santoso *et al.*, 2000).

Tabel 5.1.1. Efek Suplementasi Serbuk Daun Seligi pada Pakan Komersial terhadap Komposisi Kimia Pakan Puyuh

No.	Komponen	Hasil Analisis pakan dengan penambahan serbuk daun seligi*)				
		0%	2%	4%	6%	8%
1	Protein kasar (%)	17,96	18,28	18,57	18,27	18,04
2	Lemak kasar (%)	3,87	3,70	3,63	3,64	3,64
3	Karbohidrat (%)	58,22	59,08	59,71	60,98	62,88
4	NDF (%)	14,05	15,90	16,94	17,10	18,20
5	ADF (%)	7,52	7,99	8,26	8,34	8,44
6	Hemiselulosa (%)	6,53	7,04	7,97	8,33	9,76
7	Selulosa (%)	4,31	4,71	4,99	5,21	5,33
8	Silika (%)	0,24	0,19	0,18	0,20	0,30
9	Lignin(%)	2,97	3,23	3,80	5,88	6,81
10	Pektin	0,398	3,98	7,95	8,67	8,91

Keterangan : *) Berdasarkan berat kering (dry base)

Hasil pemeriksaan kandungan metabolik sekunder juga menunjukkan bahwa suplemen serbuk daun seligi meningkatkan kadar flavonoid dan tanin, serta terdeteksi adanya golongan senyawa saponin. Hal ini mengindikasikan bahwa pakan yang disuplementasi serbuk daun seligi berpotensi sebagai antihiperlipidemik. Hasil analisis kandungan metabolik sekunder pakan komersial yang disuplemen serbuk daun seligi disajikan pada Tabel 5.1.2.

Tabel 5.1.2. Efek Suplementasi serbuk Daun Seligi pada pakan komersial terhadap Keberadaan Golongan Senyawa Metabolik Sekunder pada Pakan Puyuh

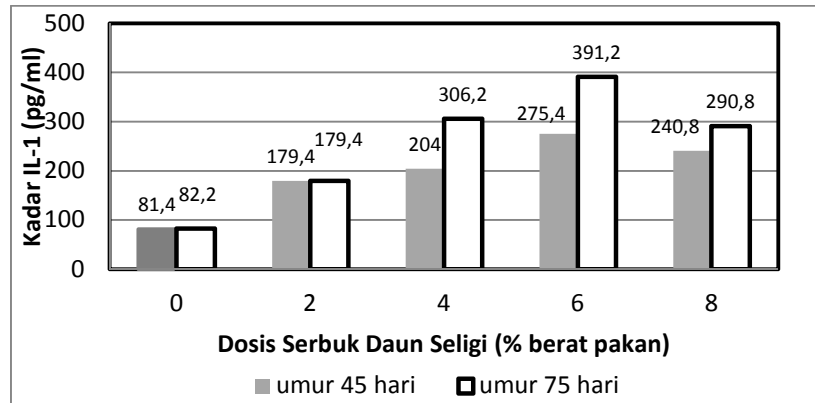
No.	Komponen	Hasil Analisis pakan dengan penambahan serbuk daun seligi*)				
		0%	2%	4%	6%	8%
1	Flavonoid	Tidak terdeteksi	0,1212	0,1683	0,1783	0,1797
2	Tanin	Tidak terdeteksi	0,1288	0,4696	0,4803	0,4922
3	Saponin	Tidak terdeteksi	Tidak terdeteksi	Terdeteksi	Terdeteksi	Terdeteksi

Keterangan : * Berdasarkan hasil uji dengan KLT

5.2. Efek *Feed Supplement* Serbuk Daun Seligi (*Phyllanthus buxifolius*) terhadap Imunitas Puyuh

Hasil analisis serum ternak puyuh berumur 15 hari sebelum diberi perlakuan *feedsupplement* menunjukkan bahwa kolesterol serum rata-rata mencapai 385, 92 mg/dL. Sedangkan hasil pemeriksaan LDL dan HDL serum

puyuh sebelum diberi perlakuan didapatkan rata-rata LDL sebesar 310 mg/dL dan HDL sebesar 92,65 mg/dL. Hasil pemeriksaan kadar IL-1 dan iNOS pada puyuh yang dipapar dengan serbuk daun seligi disajikan pada Gambar 5.2.1.

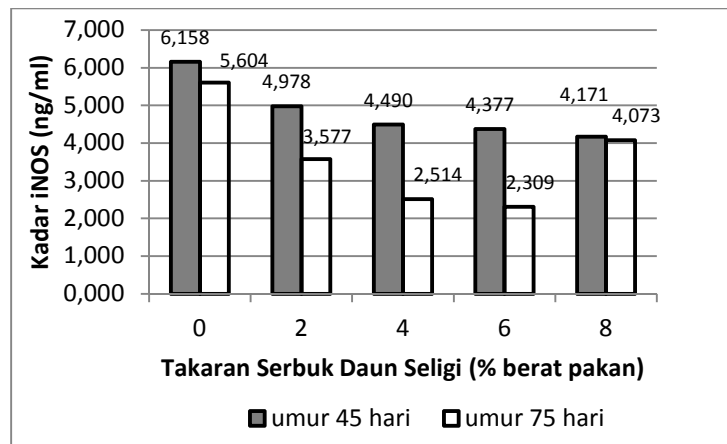


Gambar 5.2.1. Efek Serbuk Daun Seligi terhadap Kadar IL-1 pada Puyuh

Tingginya ekspresi interleukin-1 (IL-1) pada puyuh yang diberi serbuk daun seligi diduga karena sekresi lipid mengalami penurunan. Turunnya sekresi lipid diduga akibat adanya bahan antioksidan berupa komponen metabolik sekunder dari golongan flavonoid. Hasil analisis kimia menunjukkan bahwa serbuk daun seligi sebagai suplemen pakan dalam penelitian ini positif mengandung flavonoid. Menurunnya sekresi lipid diharapkan sintesis protein meningkat. Peningkatan ekspresi IL-1 diduga dapat menurunkan LDL (*low density lipoprotein*) dan meningkatkan HDL (*high density lipoprotein*).

Demikian pula terjadinya penurunan jumlah iNOS pada puyuh yang diberi serbuk daun seligi juga diduga karena golongan senyawa flavonoid pada serbuk daun seligi yang dikonsumsi puyuh sebagai *feed supplement*. Pemberian serbuk daun seligi sampai dengan 8% diduga tidak menyebabkan ternak stress sehingga sel yang mengekspresi iNOS sedikit. Hal ini diduga karena tidak terjadi peradangan pada tubuh ternak sebagai akibat pemberian serbuk daun seligi.

Sebaliknya, sel yang stress dapat menyebabkan sel-sel imun banyak mengalami kerusakan, sehingga sel iNOS akan mengalami peningkatan.



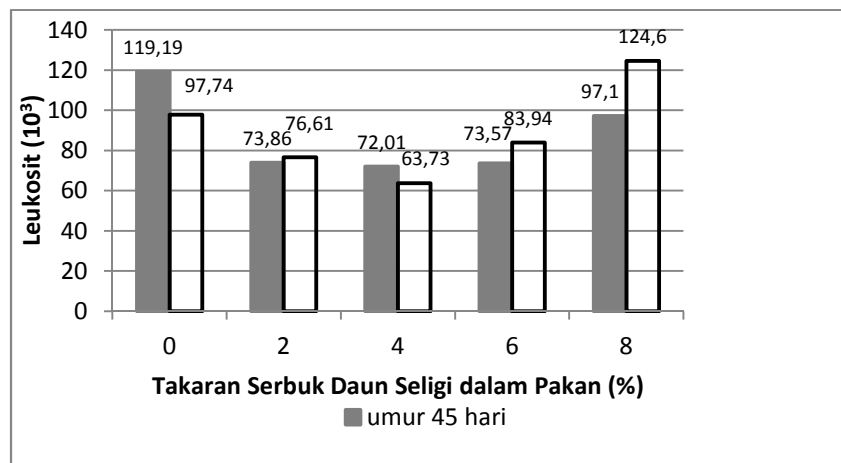
Gambar 5.2.2. Efek Serbuk Daun Seligi terhadap Kadar iNOS pada Puyuh

Berdasarkan hasil uji hematologi pada puyuh yang diberi suplemen serbuk daun seligi menunjukkan bahwa pemberian suplemen serbuk daun seligi mempengaruhi hasil uji hematologi pada puyuh. Hemoglobin merupakan protein di dalam sel darah merah yang berfungsi untuk mengikat oksigen. Semakin banyak pemberian suplemen serbuk daun seligi, maka kadar hemoglobin semakin tinggi, tetapi pada pemberian 8% suplemen serbuk daun seligi maka kadar hemoglobin menurun. Secara rinci hematologi puyuh disajikan pada Tabel 5.2.2.1.

Tabel 5.2.1. Efek Serbuk Daun Seligipada Pakan Komersial terhadap Kondisi Hematologi (TLC) Ternak Puyuh

Umur (hari)	Perlakuan serbuk daun seligi (%)	Hb (gr/dl)	Eritrosit (10^6)	Leukosit (10^3)	Trombosit (10^6)
45	0	11,80	3,68	119,19	15
	2	13,70	4,83	73,86	3
	4	14,80	4,45	72,01	3
	6	17,30	5,07	73,57	3
	8	14,60	3,06	97,10	9
75	0	7,20	2,52	97,74	15
	2	8,90	3,32	83,61	7
	4	10,80	4,53	63,73	8
	6	12,50	5,65	71,94	8
	8	9,60	3,56	124,60	16

Eritrosit atau sel darah merah berfungsi membawa oksigen ke seluruh jaringan tubuh. Eritrosit mengandung hemoglobin, selain mengikat oksigen mengandung juga beberapa enzim antioksidan. Semakin banyak pemberian suplemen serbuk daun seligi, maka kadar eritrosit semakin tinggi tetapi pada pemberian 8% suplemen serbuk daun seligi maka kadar eritrosit menurun. Eritrosit dan hemoglobin yang tinggi menunjukkan ternak dalam keadaan baik. Sedangkan leukosit menunjukkan jumlah sel darah putih, peningkatan sel darah putih menunjukkan adanya kondisi infeksi pada tubuh ternak. Demikian pada perhitungan trombosit yang merupakan jumlah sel darah berperan dalam proses pembekuan darah. Nilai trombosit semakin tinggi pada tubuh ternak menunjukkan adanya infeksi.



Gambar 5.2.3. Efek Serbuk Daun Seligi terhadap Jumlah Leukosit darah Puyuh

Leukosit atau sel darah putih merupakan komponen penting dalam sistem imun. Berdasarkan hasil hitung leukosit menunjukkan bahwa pemberian suplemen serbuk daun seligi tidak menyebabkan kenaikan jumlah leukosit pada puyuh. Jumlah leukosit pada puyuh yang diberi 2, 4 dan 6% serbuk daun seligi tidak berbeda signifikan ($P > 0,05$) dan lebih rendah dibandingkan dengan jumlah leukosit pada puyuh yang diberi 8% serbuk. Pemberian 8% serbuk seligi

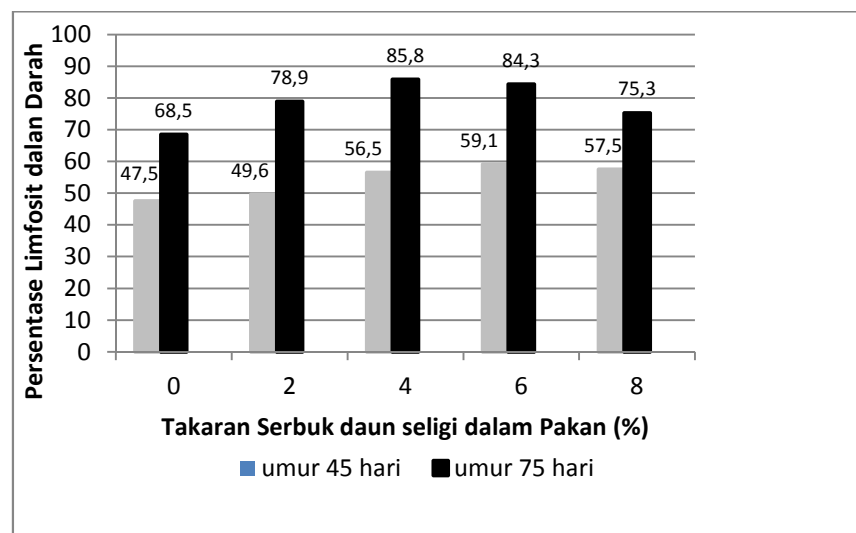
mengalami peningkatan terhadap jumlah leukosit merupakan adanya indikasi ternak mengalami infeksi. Tidak adanya peningkatan jumlah leukosit pada puyuh yang diberi 2, 4, dan 6% suplemen serbuk daun seligi menunjukkan bahwa ternak tidak mengalami infeksi. Sebaliknya, adanya peningkatan jumlah leukosit pada organisme merupakan indikator terjadinya infeksi di dalam tubuh organisme. Hal ini sesuai dengan pernyataan Vieira (2011) bahwa peningkatan jumlah total sel leukosit atau darah putih terjadi saat terjadinya infeksi.

Berdasarkan hasil hitung jenis leukosit (DLC) pada darah puyuh yang diberi suplemen serbuk daun seligi menunjukkan bahwa pemberian suplemen serbuk daun seligi berpengaruh signifikan ($P < 0,05$) terhadap hasil uji jenis leukosit pada puyuh seperti yang disajikan pada Tabel 5.2.2.2 dan Gambar 5.2.4 dan 5.2.5. Pada tabel tersebut menunjukkan bahwa basofil, neutrofil, limfosit dan monosit relatif lebih rendah dibandingkan dengan hasil hitung jenis leukosit (DLC) darah puyuh yang tidak diberi suplemen serbuk daun seligi. Tetapi pemberian 8 % suplemen serbuk daun seligi dapat meningkatkan hitung jenis leukosit pada komponen yang sama. Pemberian serbuk daun seligi sebanyak 4 dan 6 % berbeda signifikan ($P < 0,05$) meningkatkan kadar limfosit darah puyuh dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Tabel 5.2.2. 1. Efek Serbuk Daun Seligi pada Pakan Komersial terhadap Hitung Jenis Leukosit (DLC) Ternak Puyuh

Umur (hari)	Perlakuan serbuk daun seligi (...%)	Hitung Jenis (%)				
		Eosinofil	Basofil	Neutrofil	Limfosit	Monosit
45	0	0,0	0,0	46,6	47,5	0,4
	2	0,0	0,0	47,3	49,6	0,3
	4	0,0	0,2	54,5	56,5	0,0
	6	0,0	0,1	59,1	59,1	0,0
	8	0,0	0,1	48,3	57,5	0,1
	75	0	0,0	0,0	21,5	68,5
2		0,0	0,2	29,0	78,9	0,3
4		0,0	0,4	30,2	85,8	0,0
6		0,0	0,4	30,0	84,3	0,0
8		0,0	0,2	23,9	75,3	0,3

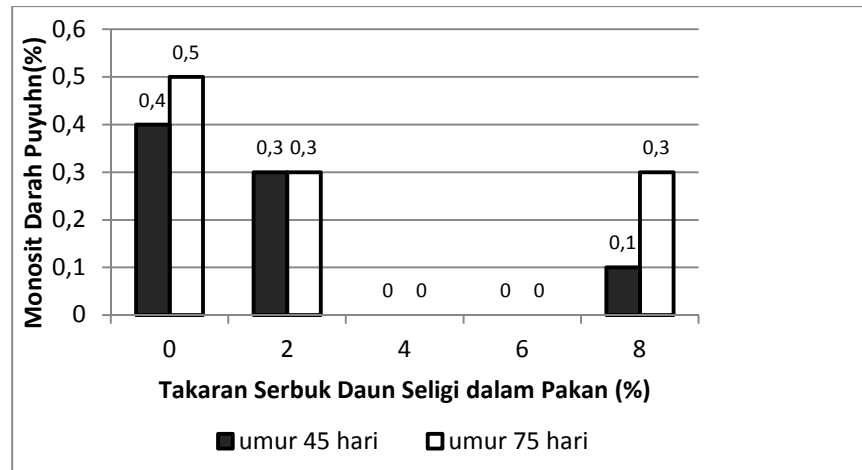
Jumlah limfosit pada organisme berhubungan dengan mekanisme pertahanan imunitas. Adanya peningkatan jumlah limfosit mengindikasikan bahwa di dalam tubuh organisme terjadi reaksi pertahanan antibodi yang excessive (Doxey and Nathan, 1989). Di samping itu, serbuk daun seligi diduga dapat menstimulasi sumsum tulang, limfa dan kelenjar limfa untuk memproduksi limfosit, sehingga jumlah limfosit pada puyuh mengalami peningkatan, namun demikian pada pemberian 8% suplemen serbuk daun seligi pada ternak justru mengalami penurunan kadar limfosit, hal ini menunjukkan bahwa pemberian 8% tidak efektif mempengaruhi peningkatan antibodi pada tubuh ternak.



Gambar 5.2.4. Efek Serbuk Daun Seligi terhadap kadar Limfosit darah Puyuh

Penurunan persentase monosit terjadi karena respon imunitas yang melibatkan antibodi dan sel makrofag pada puyuh sebagai akibat pemberian suplemen serbuk daun seligi. Meningkatnya jumlah makrofag dalam jaringan dapat menyebabkan berkurangnya jumlah monosit dalam sirkulasi darah (Abbas *et al.*, 2012). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa persentase monosit di

dalam darah puyuh yang dipapar 4 dan 6% serbuk daun seligi tidak terdeteksi jumlah monosit dan berbeda signifikan ($P>0,05$) dengan perlakuan lainnya.



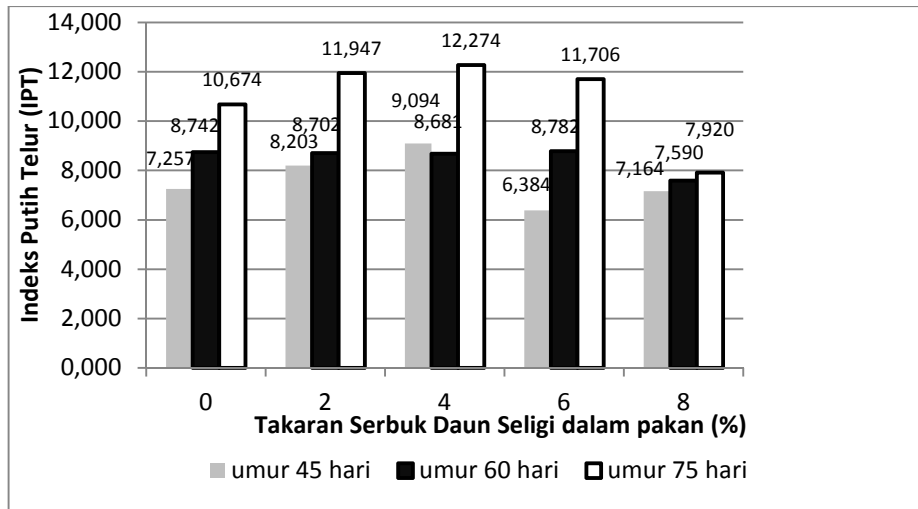
Gambar 5.2.5. Efek Serbuk Daun Seligi terhadap kadar Monosit darah Puyuh

Menurut Abbas *et al* (2012) inflamasi akut yang disebabkan oleh infeksi dan kerusakan jaringan dapat memancing monosit dalam sirkulasi darah bergerak dalam jumlah besar selanjutnya menuju ke jaringan yang rusak tersebut. Namun demikian kejadian ini juga dapat menyebabkan monosit dalam sirkulasi darah menjadi berkurang.

5.3. Efek *Feed Supplement* Serbuk Daun Seligi (*Phyllanthus buxifolius*) terhadap Kualitas Internal Telur

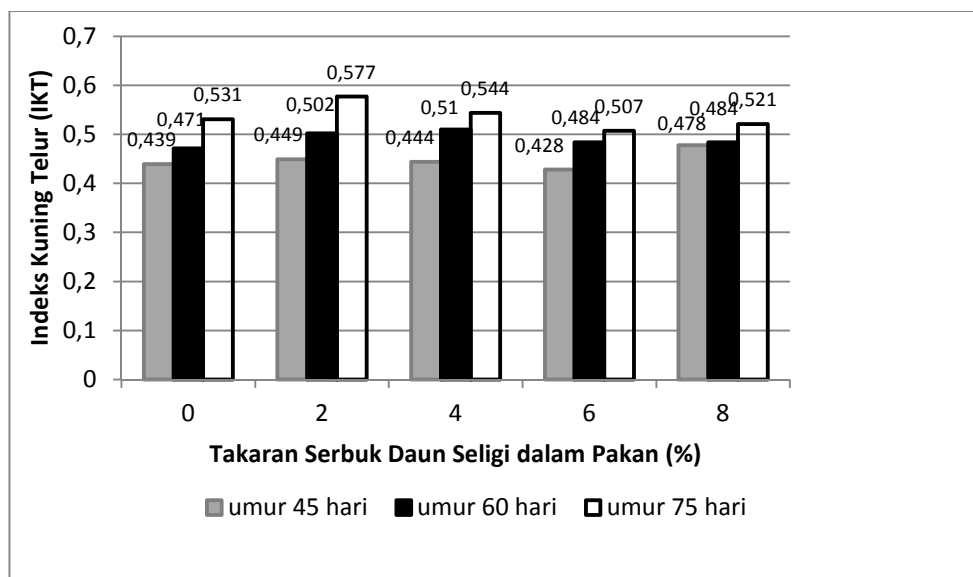
Berdasarkan hasil pengukuran kualitas internal telur puyuh, menunjukkan bahwa kualitas putih telur, kualitas kuning telur dan haugh unit pada telur puyuh yang diberi pakan komersial dengan suplemen serbuk daun seligi disajikan pada Gambar 5.3.1. Pada Gambar tersebut tampak bahwa pemberian serbuk daun seligi secara signifikan ($P<0,05$) berpengaruh terhadap indeks putih telur (IPT) puyuh. Pemberian 2, 4 dan 6% serbuk daun seligi mempunyai IPT yang tidak berbeda

signifikan ($P>0,05$) pada umur 45 dan 75 hari dibandingkan dengan pemberian 8% serbuk daun seligi.



Gambar 5.3.1. Efek Serbuk Daun Seligi pada Pakan Komersial terhadap Indeks Putih Telur Puyuh

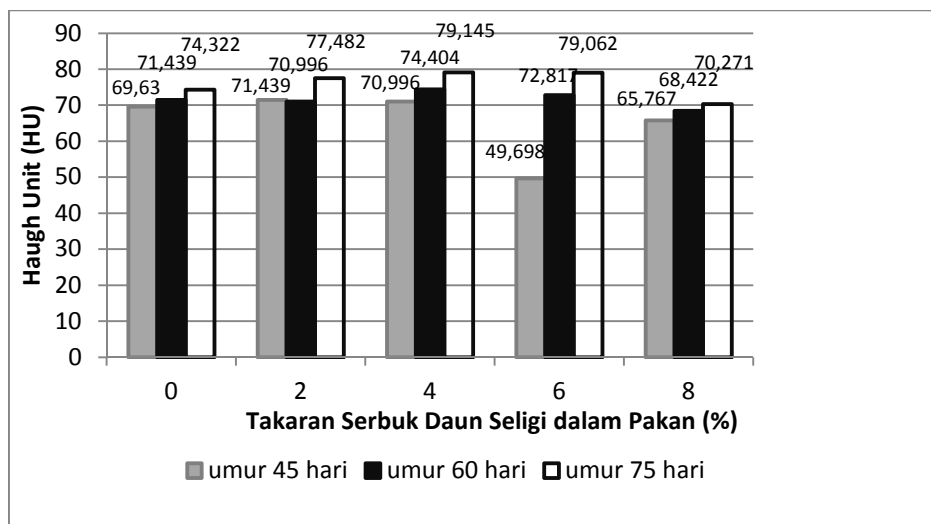
Pemberian suplemen serbuk daun seligi juga signifikan ($P<0,05$) mempengaruhi indeks kuning telur (IKT) pada puyuh. Pemberian 2, 4 dan 6% serbuk daun seligi signifikan ($P<0,05$) meningkatkan IKT pada puyuh dibandingkan dengan pemberian 8% pada pengamatan umur 75 hari. Indeks putih telur, indeks kuning telur dan haugh unit merupakan indeks mutu telur yang sering digunakan untuk menentukan kesegaran atau kualitas internal telur. Sudaryani (2006) berpendapat bahwa indeks kuning telur merupakan indeks mutu kesegaran yang diukur dari tinggi dan diameter kuning telur. Hal ini sesuai dengan pendapat Roberts (2004) bahwa kualitas telur dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu penyimpanan, strain unggas, umur, molting, nutrisi pakan, dan penyakit.



Gambar 5.3.2. Efek Serbuk Daun Seligi pada Pakan Komersial terhadap Indeks Kuning Telur Puyuh

Pemberian suplemen serbuk daun seligi dapat meningkatkan indeks putih telur, indeks kuning telur dan haugh unit. Dengan demikian dapat diindikasikan bahwa pemberian serbuk daun seligi tidak menyebabkan ternak stres sehingga produksi telur optimal. Hal ini disebabkan kandungan nutrisi pakan yang disuplemen serbuk daun seligi dapat meningkatkan nutrisi ransum yang dibutuhkan oleh ternak, di samping itu adanya senyawa metabolik sekunder pada serbuk daun seligi seperti flavonoid, tanin dan saponin diduga terjadi optimalisasi saluran pencernaan. Diduga pula adanya vitamin A pada daun seligi yang dapat memelihara kesempurnaan membran mukosa, reproduksi, pertumbuhan matrik tulang rawan, dan tekanan cairan cerebrospinal normal (Rasyaf, 1994). Sudaryani (2006) juga mengemukakan bahwa indeks kuning telur (IKT) merupakan indeks mutu kesegaran yang diukur dari tinggi dan diameter kuning telur. Kualitas telur dipengaruhi beberapa faktor, yaitu penyimpanan, strain unggas, umur, molting, nutrisi pakan, dan penyakit (Roberts, 2004).

Haugh Unit digunakan sebagai parameter mutu kesegaran telur dihitung berdasarkan tinggi putih telur dan bobot telur (Syamsir, 1994). Pemberian serbuk daun seligi secara umum dapat meningkatkan *Haugh Unit* dibandingkan dengan puyuh yang tidak diberi serbuk daun seligi. Pemberian suplemen 2 dan 4% serbuk daun seligi signifikan ($P < 0,05$) lebih tinggi dibandingkan dengan 6 dan 8% suplemen baik pada 45, 60 maupun 75 hari. Efek serbuk daun seligi terhadap indeks haugh disajikan pada Gambar 5.3.3.



Gambar 5.3.3. Efek Serbuk Daun Seligi pada Pakan Komersial terhadap Haugh Unit (HU) Telur Puyuh

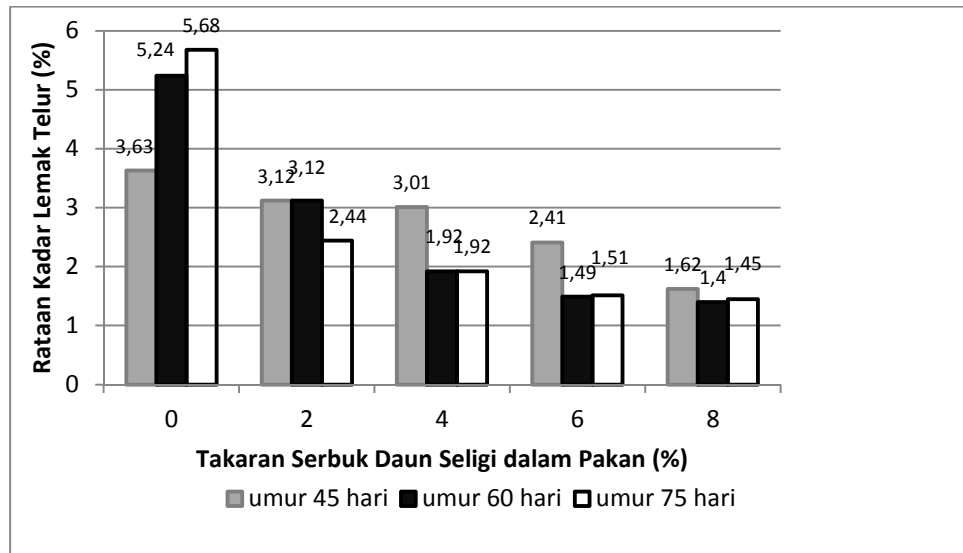
Yuwanta (2004) mengemukakan bahwa karakter yang lebih spesifik pada putih telur adalah kandungan protein (lisosim), yang berpengaruh pada kualitas putih telur (kekentalan putih telur baik yang kental maupun encer) yang merupakan pembungkus kuning telur. Metionin juga merupakan asam amino pembatas pertama atau asam amino kritis pertama yang sering mempengaruhi pembentukan struktur albumen dan mempengaruhi pematangan jala-jala ovomusin (Wahju, 1988). Dengan demikian, semakin terpenuhinya metionin maka pembentukan ovomusin semakin baik. Ovomusin sangat berperan dalam

pengikatan air untuk membentuk struktur gel albumen, jika jala-jala ovomusin banyak dan kuat maka albumen akan semakin kental yang berarti viskositas albumen tinggi seperti yang diperlihatkan dari indikator *Haugh Unit*. Menurut Sirait (1986) protein albumen terdiri atas protein serabut, yaitu ovomusin. Sedangkan Ratnasari (2007) mengemukakan bahwa beberapa jenis protein di dalam putih telur antara lain adalah ovalbumin, konalbumin, ovomusin, globulin (G1, G2, dan G3), ovomukoid, flavoprotein, ovoglikoprotein, ovomakroglobulin, ovoinhibitor, dan avidin.

5.4 Efek *Feed Supplement* Serbuk Daun Seligi (*Phyllanthus buxifolius*) terhadap Komposisi Kimia Telur Puyuh

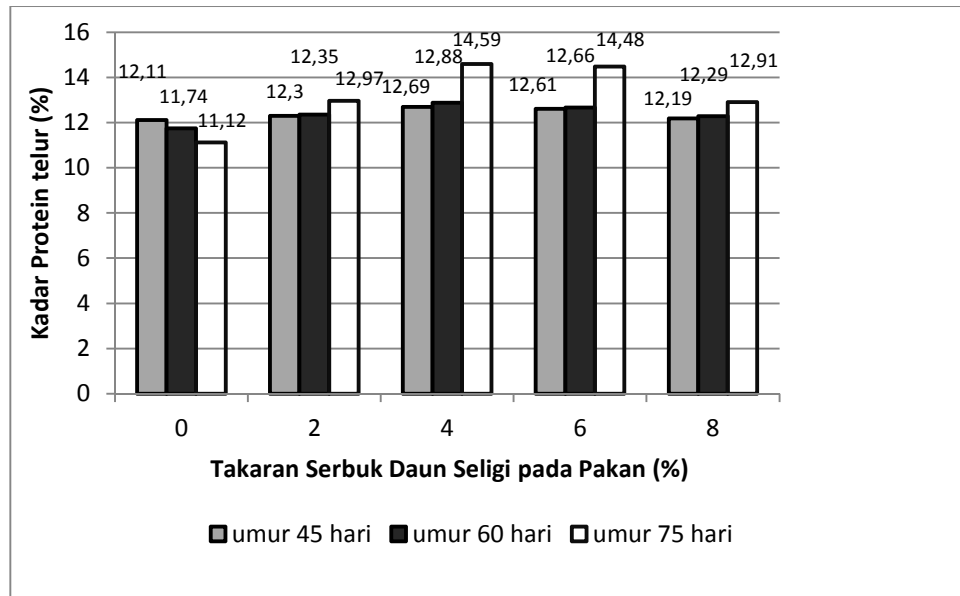
Berdasarkan hasil analisis kadar lemak, protein, kolesterol, LDL dan HDL telur puyuh disajikan pada Gambar 5.4.1; 5.4.2; 5.4.3; 5.4.4 dan 5.4.5. Pada gambar tersebut tampak bahwa pemberian suplemen serbuk daun seligi mempengaruhi kadar lemak, protein, kolesterol LDL dan HDL kuning telur puyuh. Semakin banyak pemberian suplemen serbuk daun seligi maka kadar lemak telur semakin turun. Kadar lemak kuning telur secara signifikan ($P < 0,05$) semakin rendah pada puyuh yang diberi suplemen dibandingkan dengan kadar lemak pada kuning telur tanpa suplemen serbuk daun seligi. Kadar lemak kuning telur pada puyuh umur 45 hari yang diberi 2% suplemen serbuk daun seligi tidak berbeda signifikan ($P > 0,05$) dengan pemberian 4% suplemen tetapi berbeda signifikan ($P < 0,05$) pada pemberian 6% suplemen serbuk daun seligi. Hal ini terjadi karena pakan semakin tinggi serat menyebabkan kandungan lemak dalam telur semakin rendah. Sedangkan kadar protein telur menunjukkan bahwa pemberian serbuk daun seligi dapat meningkatkan kadar protein telur. Pemberian serbuk daun seligi sampai dengan 6% dapat meningkatkan persentase kadar protein telur, namun pemberian 8% justru

menurunkan kadar protein telur puyuh. Hal ini kemungkinan karena konsumsi pakan yang semakin sedikit menyebabkan nutrisi yang masuk ke dalam tubuh juga semakin sedikit. Persentase kadar lemak dan kadar protein telur puyuh disajikan pada Gambar 5.4.1 dan 5.4.2.



Gambar 5.4.1. Efek Serbuk Daun Seligi pada Pakan Komersial terhadap Kadar Lemak Telur Puyuh

Pada Gambar 5.4.1 nampak bahwa pemberian serbuk daun seligi dalam pakan puyuh berpengaruh sangat signifikan ($P < 0,01$) dalam menurunkan kadar lemak telur dibandingkan dengan telur puyuh yang tidak mengkonsumsi serbuk daun seligi. Semakin banyak persentase pemberian serbuk daun seligi, maka kadar lemak telur semakin rendah. Pemberian 8% suplemen serbuk signifikan ($P < 0,05$) lebih rendah dibandingkan persentase 2, 4 dan 6%. Namun demikian, pemberian serbuk daun seligi justru dapat memperbaiki kandungan protein telur puyuh. Kadar protein telur yang diberi 4 dan 6 % suplemen serbuk daun seligi tidak berbeda signifikan ($P > 0,05$) namun berbeda signifikan ($P < 0,05$) pada pemberian 2 dan 8%.



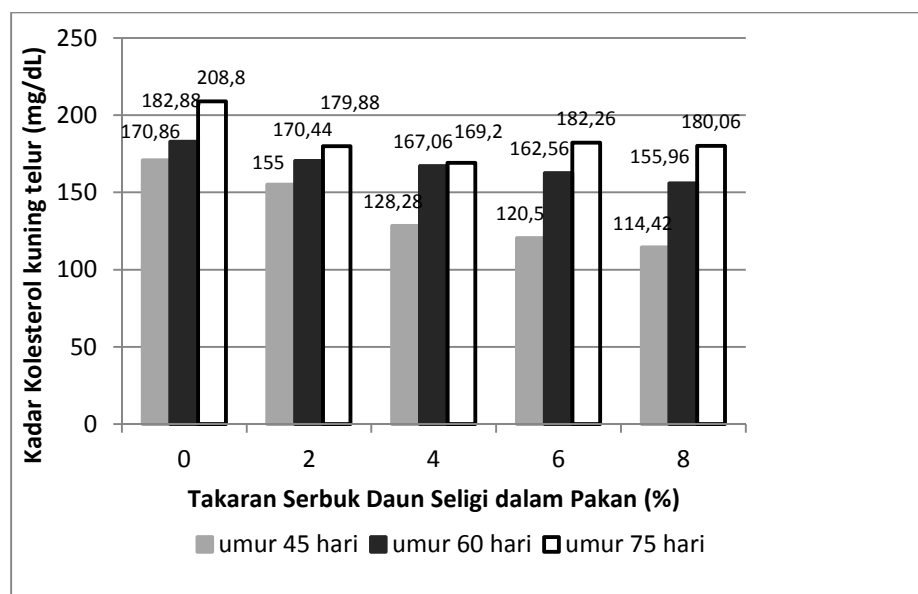
Gambar 5.4.2. Efek Serbuk Daun Seligipada Pakan Komersial terhadap Kadar Protein Telur Puyuh

Tingginya kadar protein pada telur puyuh yang mengkonsumsi serbuk daun seligi diduga karena daun seligi mengandung protein yang cukup baik sehingga adanya suplemen serbuk daun seligi ke dalam pakan dapat meningkatkan komposisi protein pakan. Berdasarkan hasil analisis pakan, tampak bahwa rata-rata kadar protein pakan meningkat dengan adanya penambahan serbuk daun seligi terutama pada pakan yang disuplemen 4% serbuk daun seligi. Sedangkan rendahnya kadar lemak terutama pada telur puyuh yang disuplemen serbuk daun seligi karena adanya serat.

Kadar serat kasar pada pakan yang disuplemen serbuk daun seligi meningkat dibandingkan dengan pakan yang tidak disuplementasi. Hal ini mengindikasikan bahwa pakan yang disuplemen serbuk daun seligi mengandung protein dan serat kasar yang tinggi, tetapi kandungan lemaknya rendah. Serat yang ada pada serbuk daun seligi adalah pektin yaitu serat yang larut air, sehingga dalam jumlah tertentu dapat dikonsumsi oleh unggas dan tidak menyebabkan penyerapan nilai nutrisi pada dinding saluran pencernaan.

Demikian pula pakan yang disuplemen serbuk daun seligi meningkatkan kadar ADF dan NDF pakan dibandingkan dengan pakan yang tidak disuplemen serbuk daun seligi. Serat adalah komponen nonnutrien, tetapi sangat berperan dalam menghambat absorpsi lemak di dalam usus. Meningkatnya kandungan serat pada pakan dapat menghambat proses lipogenesis (Murray, 2003).

Emulsifikasi lemak dalam saluran pencernaan terhambat karena adanya serat karena serat akan mengikat lemak dan selanjutnya lemak dikeluarkan melalui feses (Astuti, 2007). Selain itu, adanya senyawa flavonoid, tanin dan saponin pada pakan yang disuplemen serbuk daun seligi diduga dapat mempengaruhi metabolisme lemak sehingga kadar lemak telur turun.



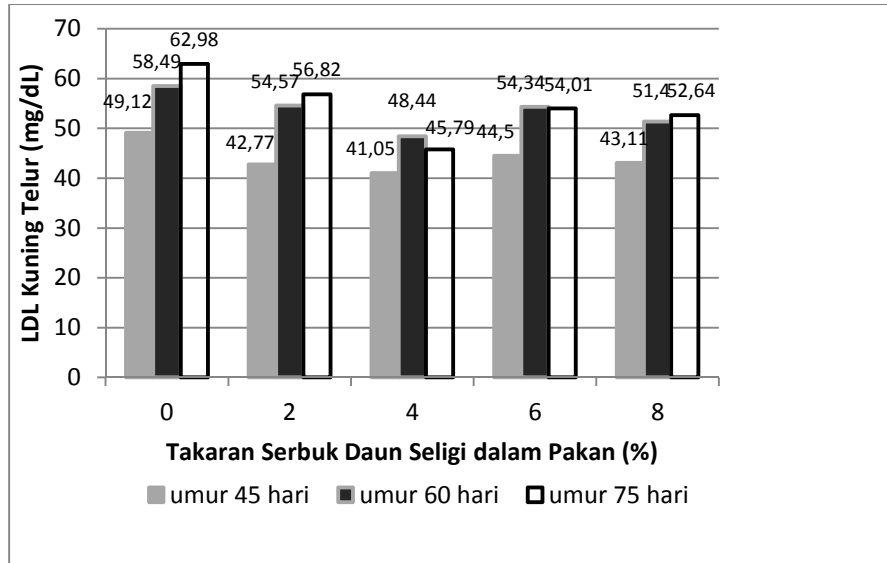
Gambar 5.4.3. Efek Serbuk Daun Seligi pada Pakan Komersial terhadap Kadar Kolesterol Kuning Telur Puyuh

Hasil analisis kimia menunjukkan bahwa suplemen serbuk daun seligi juga dapat menurunkan kadar kolesterol pada telur puyuh. Pemberian 4% serbuk daun seligi berpengaruh signifikan ($P < 0,05$) dapat menurunkan kadar kolesterol pada telur puyuh dibandingkan pada perlakuan lainnya. Adanya pektin pada serbuk daun seligi bersifat sebagai antilipidemic dan antikolesterolik. Pektin dapat mengikat

lemak, kolesterol, dan garam-garam empedu di dalam saluran pencernaan sehingga mengganggu absorpsi lemak (Murray, 2003). Dalam proses lipogenesis, lemak yang diikat oleh pektin akan diekskresikan melalui feses, sehingga sintesis lemak dan kolesterol di dalam hepar akan terhambat dan absorpsi lemak di dalam usus terhambat (Astuti, 2007).

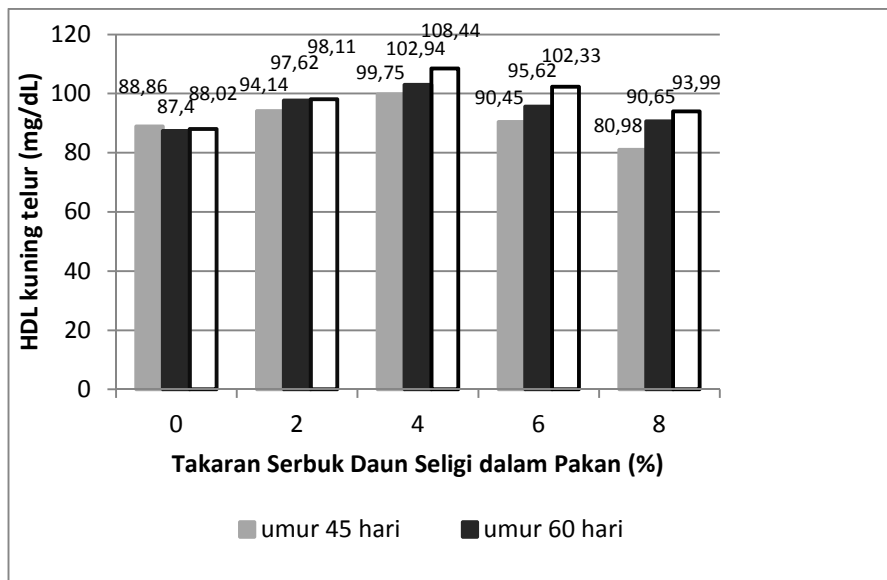
Phyllanthus juga dilaporkan mempunyai aktifitas antihiperlipidemik karena pengaruh flavonoid, saponin dan tanin (Olagunju *et al.*, 1995). Di samping itu senyawa flavonoid yang terdapat pada serbuk daun seligi diduga mempengaruhi aktivitas antioksidan (Gonzales-Paramas *et al.*, 2004). Senyawa antioksidan dapat meningkatkan pembuangan kolesterol dan trigliserida oleh sel-sel hati dalam proses metabolisme hepatic.

Penurunan kolesterol pada telur puyuh belum diketahui, namun penurunan sintesis trigliserida di dalam hati ayam oleh senyawa flavonoid menyebabkan turunnya kadar trigliserida di dalam darah, akibatnya akumulasi lemak pada hati, karkas dan organ lain pada ayam broiler akan turun (Santoso *et al.*, 2000). Pada umur yang sama, pemberian 4% suplemen serbuk daun seligi efektif menurunkan kadar kolesterol telur puyuh. Hal ini karena pakan yang disuplemen 4% serbuk daun seligi mempunyai tingkat palatabilitas yang baik sehingga tidak mempengaruhi jumlah pakan yang dikonsumsi ternak seperti pada Gambar 5.5.1.



Gambar 5.4.4. Efek Serbuk Daun Seligi pada Pakan Komersial terhadap Kadar LDL Kuning Telur Puyuh

Kadar kolesterol yang bervariasi seperti tersebut di atas, sangat tergantung pada umur ternak, strain dan konsumsi pakan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada umur dan strain yang sama, menghasilkan kadar kolesterol telur yang bervariasi hal ini mengindikasikan adanya perbedaan jumlah suplemen pada pakan mempengaruhi kadar kolesterol pada telur.



Gambar 5.4.5. Efek Serbuk Daun Seligi pada Pakan Komersial terhadap Kadar HDL Kuning Telur Puyuh

Griffin *et al.* (1985) melaporkan bahwa kuning telur mengandung lebih kurang 33% padatan, sebagian besar lipoprotein yang kaya akan trigliserida, lipovitellin dan fosvitin. Sedangkan sebagian kecil adalah immunoglobulin, serum albumen protein pengikat protein. Lebih dari 95% kolesterol dari kuning telur bergabung dalam lipoprotein yang kaya trigliserida, sedangkan sisanya mengelilingi lipovitellin sebagai protein atau lemak kompleks yang terdiri atas kurang 20% lemak dan 4% kolesterol. Lebih lanjut dinyatakan bahwa kandungan kolesterol dalam putih telur dijumpai dalam jumlah yang sangat sedikit.

Romanof dan Romanoff (1963) juga menjelaskan bahwa perbandingan antara protein dan lemak dalam kuning telur adalah 1 : 2 dalam bentuk lipoprotein. Biosintesis kolesterol paling tinggi terjadi di dalam jaringan hati, kulit, kelenjar anak ginjal, dan alat reproduksi (Stryer, 2000; Haysteen, 2002). Seiring rendahnya kadar kolesterol pada puyuh yang diberi 4% serbuk daun seligi dalam pakan, menghasilkan LDL signifikan ($P < 0,05$) lebih rendah dan HDL signifikan ($P < 0,05$) lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan 2, 6 dan 8% suplemen. Pada pemberian 6 dan 8% serbuk daun seligi justru meningkatkan kadar LDL pada telur, hal ini mengindikasikan bahwa pemberian lebih dari 4% serbuk seligi tidak efektif menurunkan kadar LDL telur karena pakan tidak palatable. Hal ini karena jumlah serat semakin tinggi dalam pakan. Demikian pula pada pemberian 4% suplemen meningkatkan kadar HDL telur, sedangkan semakin banyak suplemen yaitu 6 dan 8% suplemen justru menurunkan kadar HDL telur.

Low density lipoprotein (LDL) disebut juga β protein, dihasilkan oleh hati terbentuk dari partikel *very low density lipoprotein* (VLDL) dalam aliran darah.

Komponen LDL (*low density lipoprotein*) menunjukkan potensi aterogenik tertinggi atau kolesterol tinggi. Sedangkan *high density lipoprotein* (HDL) disintesis di dalam hati dan usus, mengandung 50% protein, 30% fosfolipid, dan 20% kolesterol bebas. HDL berperan penting dalam mengangkut kolesterol dari jaringan perifer menuju ke hati dalam proses metabolisme menjadi asam empedu. HDL juga berperan sebagai alat pengangkut kolesterol intraseluler karena mengandung protein yang tinggi. HDL dapat dinyatakan sebagai pelindung dinding pembuluh darah (Schunack *et al*, 1990).

Penurunan kolesterol dari dalam tubuh terjadi melalui dua jalur, yaitu kolesterol diubah menjadi asam empedu atau dikeluarkan dari tubuh dalam bentuk sterol netral melalui feses. Mekanisme sekresi cairan empedu di dalam sel hati melalui pengaturan hormon sekretin, kolesistokinin dan gastrin, level plasma dari garam-garam empedu dan rangsangan dari saraf vagus. Kolesistokinin bekerja secara preverensial pada kantung empedu bersama-sama dengan meningkatnya rangsangan saraf vagus. Mekanisme tersebut dapat menimbulkan kontraksi kantong empedu, sehingga cairan di dalamnya tertekan keluar dan masuk ke duodenum, cairan empedu akan mengemulsi lemak chyme. Sekresi empedu dapat ditingkatkan dengan pemberian obat yang bersifat koleretik (Winarno, 1989).

Flavonoid dan saponin dilaporkan dapat menekan deposisi lemak (Li *et al*, 2005). Flavonoid juga mempunyai kapasitas yang sangat kuat untuk menekan sintesis asam lemak dan kolesterol. Kejadian ini diikuti oleh penurunan kadar trigliserida, sintesis LDL, fosfolipid, dan naiknya HDL. Terbatasnya sintesis trigliserida di dalam hati menyebabkan turunnya kadar trigliserida dan LDL turun 83- 90%, akibatnya akumulasi lemak dan kolesterol pada jaringan tubuh dan

bagian-bagian lain akan turun (Santoso *et al.*, 2000). Adanya polifenol dan flavonoid di dalam pakan secara signifikan juga dapat mengurangi hiperlipidemi (Woo *et al.*, 2008). Pakan yang mengandung lemak cukup tinggi, secara signifikan dapat meningkatkan berat jaringan lemak, kolesterol, dan trigliserida pada mencit dibandingkan pakan normal (Daozong *et al.*, 2010). Senyawa flavonoid seperti tangeretin juga dapat menekan akumulasi trigliserida dalam jaringan adiposit (Miyata *et al.*, 2011).

Saponin dilaporkan mampu meningkatkan permeabilitas dinding sel pada usus, meningkatkan penyerapan zat makanan sehingga konversi ransum yang dihasilkan lebih baik. Senyawa saponin berperan terhadap penurunan lemak dan kolesterol, karena di dalam usus akan membentuk ikatan kompleks dengan lemak dan kolesterol dari pakan, sehingga lemak dan kolesterol tidak dapat diserap oleh usus (Ueda, 2001; Dong *et al.*, 2007). Saponin dapat berkombinasi dengan asam empedu dan kolesterol yang ada membentuk *micelle* yang tidak dapat diserap oleh usus (Muchtadi, 2005; Dong *et al.*, 2007). Pemberian polysavone dari ekstrak alfalfa efektif mengurangi deposit lemak abdominal dan meningkatkan imunitas pada ayam broiler (Dong *et al.*, 2007). Saponin pada kadar yang rendah dapat meningkatkan transportasi zat nutrisi antar sel, tetapi pada kadar yang tinggi dapat membunuh sel. Dengan demikian bioaktif dapat digunakan suplemen pada pakan untuk mengganti antibiotika, karena dapat memperbaiki efisiensi penggunaan ransum dan dapat mengurangi berbagai resiko atau resisten terhadap antibiotika (Bintang, 2007).

Komponen tanin, saponin dan serat kasar dapat dimanfaatkan untuk menghambat penimbunan lemak dan kolesterol dalam tubuh ternak. Mekanisme kerja tanin atau saponin dalam menurunkan kolesterol di dalam tubuh diketahui

melalui beberapa cara, antara lain berikatan dengan protein tubuh dan akan melapisi dinding usus, sehingga penyerapan lemak dihambat atau dengan meningkatkan ekskreta lemak melalui feses (Matsui et al., 2006). Proses perlindungan yang dilakukan tanin berupa pematatan lapisan lendir pada saluran pencernaan sehingga menghambat penyerapan zat-zat makanan, termasuk lemak dan kolesterol (Agustina, 2009). Sedangkan serat akan mengikat garam empedu sehingga tidak dapat direabsorpsi dan diresirkulasi melalui sistem enterohepatik, diteruskan ke usus besar dan diekskresi melalui feses (Guyton dan Hall, 2006).

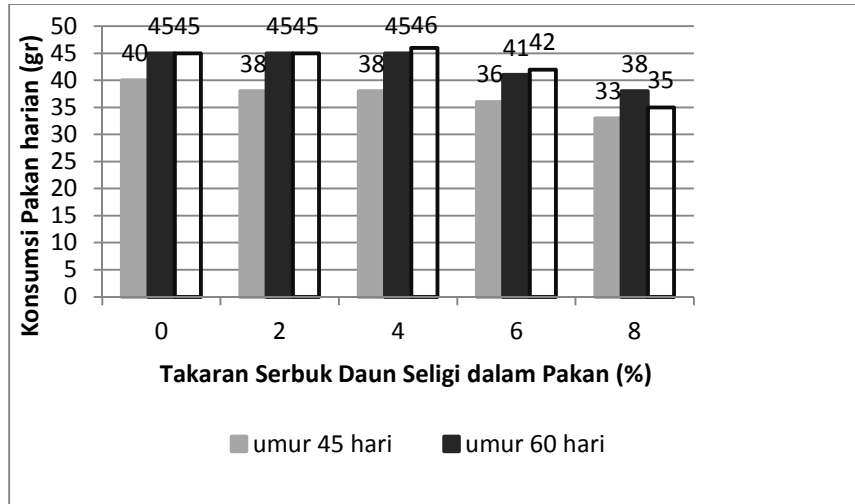
Serat dapat menurunkan regulasi neuroendokrin, sehingga metabolisme lemak juga akan turun (Roth *et al*, 2008). Serat dapat merangsang hipotalamus untuk memerintah hipofise anterior mengeluarkan *growth hormone* (GH), sehingga akan mempengaruhi proses metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak. Secara tidak langsung GH akan merangsang hepar untuk memproduksi hormon *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) yang mempengaruhi pertumbuhan otot dan tulang. Serat yang tinggi dapat menghambat nikotinamid adenin dinukleotida (NAD) dan nikotinamid adenin dinukleotida fosfat (NADP) sehingga proses lipogenesis terhambat. Kandungan serat juga dapat meningkatkan ekskresi asam empedu dan kolesterol sehingga reabsorpsi kolesterol turun (Murray, 2003). Pektin sebagai salah satu jenis serat yang larut dalam saluran pencernaan, dapat mempengaruhi absorpsi lemak dan kolesterol dengan cara mengikat asam lemak, kolesterol, dan garam-garam empedu (Astuti, 2007). Asam lemak dan kolesterol yang terikat dengan serat dapat menurunkan aktivitas enzim β -hidroksi β -metil glutaryl-CoA (HMG-CoA) reduktase di hepar. Enzim tersebut akan mengikat kolesterol dan garam empedu dalam sirkulasi enterohepatik sehingga lemak dan kolesterol darah turun (Wirahadikusumah,

1985). Adanya ikatan oleh pektin menyebabkan akselerasi dan ekskresi lemak dalam pakan yang dikonsumsi akan dibuang melalui feses dan tidak disintesis dalam proses lipogenesis. Dengan demikian sintesis lemak dan kolesterol dalam hepar akan dihambat dan tidak terjadi absorpsi dalam usus (Astuti, 2007).

5.5. Efek *Feed Supplement* Serbuk Daun Seligi (*Phyllanthus buxifolius*) terhadap Konsumsi Pakan dan Produksi Telur

Berdasarkan hasil penimbangan berat badan menunjukkan bahwa semakin banyak pemberian suplemen serbuk daun seligi maka berat badan puyuh semakin rendah, hal ini terjadi karena pakan semakin tinggi serat menyebabkan konsumsi semakin rendah. Hal ini diikuti dengan persentase produksi telur yang semakin rendah pada puyuh yang mengkonsumsi pakan dengan 6 dan 8% suplementasi serbuk seligi. Konsumsi pakan dan produksi telur disajikan pada Gambar 5.5.1 dan 5.5.2.

Konsumsi pakan ditentukan oleh mekanisme pengaturan energi yang dikontrol oleh hypothalamus. Konsumsi pakan dipengaruhi oleh ketersediaan energi yang diperlukan oleh ayam, di samping kandungan protein, ukuran tubuh, jenis ransum, palatabilitas dan kondisi fisiologis ternak. Kandungan energi yang tinggi di dalam ransum, menyebabkan konsumsi pakan rendah, sedangkan ransum dengan protein tinggi menyebabkan konsumsi protein berkurang (Scott *et al*, 1976, dan Wetson, 1982). Konsumsi pakan akan mempengaruhi berat badan dan produksi unggas.

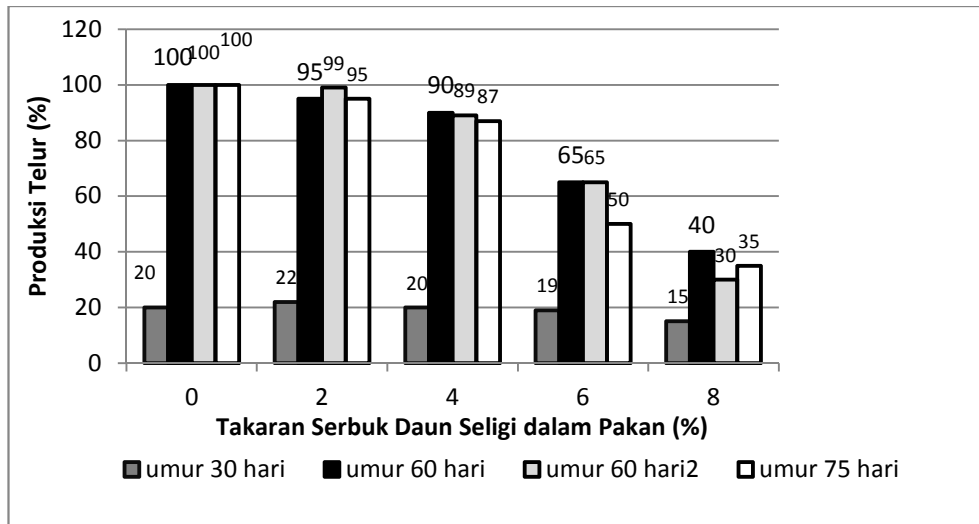


Gambar 5.5.1. Efek Serbuk Daun Seligi dalam Pakan Komersial terhadap Konsumsi Pakan Puyuh

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa konsumsi pakan puyuh yang diberi suplemen serbuk daun seligi 2 dan 4% tidak berbeda signifikan ($P > 0.05$) dengan konsumsi pakan puyuh yang tidak diberi suplemen serbuk daun seligi, tetapi berbeda signifikan ($P < 0,05$) dengan konsumsi pakan puyuh yang disuplemen 6 dan 8%. Menurunnya konsumsi pakan pada puyuh yang diberi suplemen 6 dan 8% serbuk daun seligi karena palatabilitasnya semakin berkurang. Penurunan palatabilitas pada puyuh ditunjukkan oleh adanya peningkatan kandungan serat pada pakan dengan suplementasi serbuk daun seligi semakin banyak. Hasil analisis kimia menunjukkan bahwa kandungan hemiselulosa dan pektin yang cukup tinggi pada pakan yang disuplementasi serbuk daun seligi seperti pada Tabel 5.1.1. Penambahan serbuk daun seligi tidak mempengaruhi nutrisi tetapi dapat meningkatkan serat. Pakan yang disuplemen 6 dan 8% serbuk daun seligi diduga bersifat sifat amba (bulky) sehingga ternak menjadi cepat kenyang karena adanya serat kasar sehingga konsumsi menurun.

Produksi telur mengalami penurunan pada puyuh yang diberi suplemen serbuk daun seligi. Makin banyak pemberian serbuk daun seligi, maka produksi

telur makin menurun. Pemberian 2% suplemen tidak berbeda signifikan ($P>0.05$) dengan produksi telur puyuh yang tidak mengkonsumsi suplemen, tetapi berbeda signifikan dengan pemberian 4, 6 dan 8%. Namun demikian pemberian 4% suplemen serbuk daun seligi tidak signifikan menurunkan produksi telur dibandingkan dengan 6 dan 8%.



Gambar 5.5.2. Efek Serbuk Daun Seligi dalam Pakan Komersial terhadap Produksi Telur Puyuh

Konsumsi pakan akan mempengaruhi berat badan dan produksi ternak. Penurunan konsumsi pakan diikuti dengan penurunan produksi telur. Semakin banyak disuplemen serbuk daun seligi pada pakan puyuh, menyebabkan produksi telur semakin turun. Hal ini mengindikasikan bahwa efisiensi penggunaan pakan semakin rendah, hal ini dapat mempengaruhi konversi pakan. Ternak yang mempunyai angka konversi pakan kecil berarti makin efisien dalam penggunaan pakannya (Scott *et al*, 1976). Angka konversi antara lain ditentukan oleh suhu, laju perjalanan pakan dalam alat pencernaan, bentuk fisik pakan dan komposisi ransum, serta kualitas pakan, bangsa, dan manajemen pemberian pakan (Anggorodi, 1984, dan North, 1976).

BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan dapat disimpulkan bahwa :

1. *Feed Supplement* serbuk daun seligi mempengaruhi nutrisi kandungan metabolik pakan. Suplemen serbuk daun seligi dapat meningkatkan kadar protein, menurunkan kadar lemak dan meningkatkan kandungan serat, meningkatkan kadar flavonoid dan tanin, serta terdeteksi adanya golongan senyawa saponin pada pakan komersial.
2. *Feed Supplement* serbuk daun seligi dapat meningkatkan ekspresi IL-1 pada puyuh terutama pada pemberian suplemen 4 dan 6% serbuk daun seligi, dan menurunkan jumlah iNOS pada puyuh. Sampai dengan 8% suplemen tidak menyebabkan puyuh stress karena sel yang mengekspresi iNOS sedikit sehingga tidak menyebabkan kerusakan pada sel-sel imun.
3. *Feed Supplement* serbuk daun seligi dapat mempengaruhi kondisi hematologi pada puyuh. Pemberian suplemen serbuk daun seligi sampai dengan 6% secara umum dapat meningkatkan imunitas dan tidak menyebabkan infeksi pada ternak. Pemberian serbuk daun seligi sampai dengan 6% menghasilkan kadar leukosit yang rendah, meningkatkan kadar limfosit dan tidak terdeteksi jumlah monosit.
4. *Feed Supplement* serbuk daun seligi menurunkan kadar lemak telur dan meningkatkan kadar protein. Kadar protein terbaik diperoleh pada telur puyuh yang diberi 4 dan 6% serbuk daun seligi. Sedangkan penurunan kadar kolesterol dan LDL, serta peningkatan HDL terbaik diperoleh pada telur puyuh yang diberi 4% serbuk daun seligi.

5. *Feed Supplement* serbuk daun seligi meningkatkan mutu dan kesegaran atau kualitas internal telur. Indeks putih telur (IPT) dan indeks kuning telur (IKT) terbaik pada telur puyuh yang diberi 2, 4 dan 6% serbuk daun seligi. Haugh unit (HU) terbaik diperoleh pada telur yang disuplemen 2 dan 4% serbuk daun seligi.
6. *Feed Supplement* serbuk daun seligi mempengaruhi konsumsi dan produksi telur puyuh. Pemberian sampai dengan 4% tidak mempengaruhi konsumsi pakan dan tidak banyak menurunkan produksi telur puyuh.

7.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka disarankan untuk memberikan 4% serbuk daun seligi sebagai *feed supplement* alami pada ternak puyuh. Pemberian 4% serbuk daun seligi dapat meningkatkan imunitas, tidak mempengaruhi kesehatan dan pencernaan puyuh, bahkan dapat meningkatkan nilai nutrisi pakan komersial dan telur puyuh. Pemberian 4% serbuk daun seligi meningkatkan kadar protein telur, menurunkan kadar lemak dan kolesterol telur terutama penurunan LDL dan peningkatan HDL telur. Pemberian 4% serbuk daun seligi juga tidak mempengaruhi konsumsi dan produksi telur.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggorodi, R. 1985. Kemajuan Mutakhir dalam Ilmu Makanan Ternak Unggas. UI-Press. Jakarta.
- Bintang, I.A.K, A.P. Sinurat dan T. Purwadaria. 2008a. Penambahan antibiotika dan ampas mengkudu sebagai sumber senyawa bioaktif terhadap performans ayam broiler. *JITV*13 (1): 7-12.
- Blankfard, M. and B. C. Silk, 1989. ELISA Software, KPL, Gaithesburg, Md., USA.
- Blumberg, BS., Millman I, Venkateswaran PS, and Thyagarajan SP. 1989. Hepatitis B Virus and hepatocellular carcinoma-treatment of HBV carriers eith *Phyllanthus amarus*. *Cancer Detect Prev.* 14(2):195-201.
- Brambell, F.W.R., 1970. The transmission of passive immunity from mother to young. *Frontiers of Biology*, 18: 20-41
- Brigere, 1987. Canadian Broadcasting Corporation. 2004. Indonesia confirm bird Flu in chickens. 25 Januari. 2004.
- Broody, S. Bioenergetics and Growth. A Publication on The Herman Frash Foundation. Hafner Press. New York.
- Carpenter, P.L., 1975. Immunology and Serology. 2nd Ed. W.B. Saunders Company, London. UK, pp: 178-179.
- Cullen, G.A. and P.J. Wyeth, 1975. Quantitation of antibodies to infectious bursal disease. *Vet. Rec.*, 97: 315.
- Curickshank, R., J.P. Duguid and R.H. A. Swain, 1968. Agglutinating antiserum. In: *Medical Microbiology* 11th Ed. S. Livingstone Ltd., UK. pp: 919-920.
- DeMan, J. M. 1981. Pinciple of Food Chemistry. The Avi Publishing Company Inc. Westport. Connecticut.
- Ensminger, M.E. 1980. Poultry Science. Printers and Publisher Inc. Danville. Illinois.
- Fenita, Y., Warnoto, dan A. Nopis. 2011. Pengaruh pemberian air buah mengkudu (*Morinda citrifolia L*) terhadap kualitas karkas ayam broiler. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia* Vol. 6 (2) : 143-150.
- Guyton, A.C. and J.E. Hall. 2006. *Textbook of Medical Physiology*. Eleventh Ed. Univ. of Mississippi Medical Center. Mississippi.
- Haris, S.R dan E. Karmas. 1989. Evaluasi Gizi pada Pengolahan Bahan Pangan. IPB. Bogor.
- Harborne. JB. 1996. Metode Fitokimia: penuntun cara moderen menganalisis tumbuhan. Cetakan D. Penerjemah K. Padmawinata dan I. Soediro. ITB-Bandung.
- Jayaram, S, dan S.P. Thyagarajan. 1996. Inhibition of Hbs Ag secretion from Alexander cell line by *Phyllanthus amarus*. *Indian J. Pathol Microbiol.* 39(3):211-215.
- Lawrie, R.A. 1979. *Meat Science*. Pergamon Press. London.
- Liu, KC, Lin MT, Lee SS, Chiou JF, Ren S, and Lien EJ. 1999. Antiviral tannins Two *Phyllanthus* species. *Planta med.* 65(1):43-46.
- Malhortra, S and AP. Singh. 2006. Hepatoprotective use of *Phyllanthus ninuri*. *J. Research Ayurveda.* 4: 124-127.
- Notka, F, GR. Meier, and R Wagner. 2003. Inhibition of wild-type hman Immunodeficiency virus and reverse transcriptase inhibitor-resistant Variants By *Phyllanthus amarus*. *Antiviral res.* 58(2):175-186.

- Nurhayati, N. dan Marsadayanti. 2005. Pengaruh penggunaan tepung buah mengkudu dalam ransum terhadap bobot karkas ayam broiler. *Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis* Vol. 30 (2) : 96-101.
- Obianime, A.W., F.I. Uche. 2008. The phytochemical screening and the effects of methanolic extract of *Phyllanthus amarus* leaf on the Biochemical parameters of Male guinea pigs. *J. Appl Sci. Environ. Manage.* 12(4):73-77.
- Ogata, T, Higuchi H, Mochida S, Matsumoto H, Kato A, Endo T, Kaji A, and Kaji H. 1992. HIV-1 reverse transcriptase inhibitor from *Phyllanthus ninuri*. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 8(11):1937-1944.
- Ott, M, Thyagarajan SP and Gupta S. 1997. *Phyllanthus amarus* suppresses hepatitis-B virus by interrupting interactions between HBV enhancer-1 and cellular transcription factors. *Eur J. Clin Invest.* 27(11):908-915.
- Pettit, GR, Dchaulfelberger DE, Nieman RA, Difresne C, and Saenz-Renauld JA. 1990. Antineoplastic agents. 177. Isolation and structure of phyllanthostatin. *J. Nat Prod.* 53(6):1406-1413.
- Sainis, K.B., P.F. Sumariwalla, A. Goel, G.J. Chintalwar, A.T. Sipahimalani, dan A. Banarji. 1997. Immunomodulatory properties of stem extract of *Tinospora cordifolia*: cell targets and active principles, in *Immunomodulation* (Uphadayay SN, Ed). Narosa Publishing House. New Delhi, India.
- Saputra, K., Soeprapto M., Soedoko R. 2000. Terapi biologi untuk kanker. Airlangga Univ. Pres. Surabaya.
- Sopandi, T . 2005. Pengaruh ekstrak etanol dari Daun Seligi Terhadap gambaran darah Kelinci. LPPM. UPB. Surabaya.
- Steel RGD dan J.H. Torrie. 1996. Prinsip dan Prosedur Statistika, suatu pendekatan biometric, PT.Gramedia Pustaka Utama.Jakarta.
- Soeparno. 1992. Ilmu dan Teknologi Daging. UGM. Yogyakarta
- Suprpto Maat. 1997. *Phyllanthus ninuri* L sebagai imunostimulator pada mencit. Disertasi. Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
- Suresh K, dan Vasudevan DM.1994. Augmentation of murine natural killer cells and Antibody-dependent cellular cytotoxicities by *Phyllanthus emblica*, a
- Syahrudin, S., H. Abbas, E. Purwati dan Y. Heryandi. 2011. Pengaruh pemberian daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) fermentasi terhadap kandungan kolesterol karkas ayam broiler. *JITV* 16 (4): 266-271. New immunomodulator. *J. Ethnopharmacol.* 44(1):55-60.
- Suthienkul O, Miyasaki O, Chulisiri M, Kositanont U, dan Oishi K. 1993. Retriviral reverse transcriptase inhibitory activity in Thai herbs and spices:screening with Maloney murine leukemia viral enzim. *Southeast Asian J. Trop Med Public Health.* 24(4):751-755.
- Swenson, M.J. and Reece, W.O. 1993. *Dukes' Physiology of Domestic Animals*.Comstock Publishing Associates.Cornel University Press.Ithaca and London.
- Thyagaran, SP., Subramanian PH., Thirinalasundari T, Venkateswaran PS. 1996. Effect of *Phyllanthus amarus* on chronic carriers of hepatitis B virus.*Lancet.* 2(8614):764-766.
- Umbare, R.P., G.S. Mate, D.V. Jawalkar, S.M. Patil, dan S.S. Dongare. 2009. Quality evaluation of *Phyllanthus amarus* (Schumach) leaves extract for its hypolipidemic activity. *J. Biology and Medicine.* Vol. 1 (4) : 28-33.

- Wardah, T. Sopandi, dan Wurlina. 2007. Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Etanol Daun Seligi dan Pengaruhnya terhadap Gambaran Serologi dan Hematologi Ayam Broiler yang Diinfeksi oleh Virus Newcastle. *J. Obat Bahan Alam*. Vol. 6 (2) : 88-95.
- William, J.E. 2001. Review of antiviral and immunomodulating properties of plants of The Peruvian Rainforest with a particular emphasis on Una de Gato and Sangre de Grado. *Altern Med. Rev. Des.* 6 (6) : 567-579.
- Wirahadikusumah, M. 1985. Biokimia. Metabolisme energi, Karbohidrat dan Lipid. Penerbit ITB. Bandung.
- Zhang, LZ, Guo, YJ., Tu, GZ, Guo WB and Miao, F. 2000. Studies on chemical Constituents of *Phyllanthus urinaria* L. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 25(10):615-617

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil analisis statistik

IL-1 Beta

Descriptive Statistics				
Dependent Variable:IL				
umur	Seligi	Mean	Std. Deviation	N
45	0	81.4000	7.92465	5
	2	1.7940E2	22.70022	5
	4	2.0400E2	30.29026	5
	6	2.7540E2	9.55510	5
	8	2.4080E2	51.94901	5
	Total	1.9620E2	72.47471	25
75	0	82.2000	7.39594	5
	2	1.7940E2	22.70022	5
	4	3.0620E2	18.21263	5
	6	3.9120E2	12.51799	5
	8	2.9080E2	19.44736	5
	Total	2.4996E2	110.91569	25
Total	0	81.8000	7.23878	10
	2	1.7940E2	21.40197	10
	4	2.5510E2	58.79238	10
	6	3.3330E2	61.92836	10
	8	2.6580E2	45.40876	10
	Total	2.2308E2	96.62083	50

Post Hoc

Multiple Comparisons

IL

Tukey HSD

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	2	-97.6000 [*]	15.46989	.000	-141.5980	-53.6020
	4	-173.3000 [*]	15.46989	.000	-217.2980	-129.3020
	6	-251.5000 [*]	15.46989	.000	-295.4980	-207.5020

	8	-184.0000*	15.46989	.000	-227.9980	-140.0020
2	0	97.6000*	15.46989	.000	53.6020	141.5980
	4	-75.7000*	15.46989	.000	-119.6980	-31.7020
	6	-153.9000*	15.46989	.000	-197.8980	-109.9020
	8	-86.4000*	15.46989	.000	-130.3980	-42.4020
4	0	173.3000*	15.46989	.000	129.3020	217.2980
	2	75.7000*	15.46989	.000	31.7020	119.6980
	6	-78.2000*	15.46989	.000	-122.1980	-34.2020
	8	-10.7000	15.46989	.957	-54.6980	33.2980
6	0	251.5000*	15.46989	.000	207.5020	295.4980
	2	153.9000*	15.46989	.000	109.9020	197.8980
	4	78.2000*	15.46989	.000	34.2020	122.1980
	8	67.5000*	15.46989	.001	23.5020	111.4980
8	0	184.0000*	15.46989	.000	140.0020	227.9980
	2	86.4000*	15.46989	.000	42.4020	130.3980
	4	10.7000	15.46989	.957	-33.2980	54.6980
	6	-67.5000*	15.46989	.001	-111.4980	-23.5020

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1196,588.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Tests of Between-Subjects Effects					
Dependent Variable:IL					
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	404793.800 ^a	5	80958.760	67.658	.000
Intercept	2488234.320	1	2488234.320	2.079E3	.000
umur	36126.720	1	36126.720	30.191	.000
Seligi	368667.080	4	92166.770	77.025	.000
Error	52649.880	44	1196.588		
Total	2945678.000	50			
Corrected Total	457443.680	49			
a. R Squared = ,885 (Adjusted R Squared = ,872)					

Homogeneous

IL

Tukey HSD

Seligi	N	Subset			
		1	2	3	4
0	10	81.8000			
2	10		1.7940E2		
4	10			2.5510E2	
8	10			2.6580E2	
6	10				3.3330E2
Sig.		1.000	1.000	.957	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1196,588.

iNOS

Descriptive Statistics

Dependent Variable:iNOS

umur	Seligi	Mean	Std. Deviation	N
45	0	6.15800	.279734	5
	2	4.97760	.169407	5
	4	4.49020	.289098	5
	6	4.37660	.182454	5
	8	4.17100	.170813	5
	Total		4.83468	.755945
75	0	5.60400	.454583	5
	2	3.57720	.161052	5
	4	2.51440	.055039	5
	6	2.30860	.187659	5
	8	4.07280	.523053	5
	Total		3.61540	1.251721
Total	0	5.88100	.460299	10
	2	4.27740	.754346	10
	4	3.50230	1.059659	10

6	3.34260	1.103811	10
8	4.12190	.370458	10
Total	4.22504	1.194385	50

iNOS * Seligi

iNOS

Seligi	Mean	N	Std. Deviation
0	5.88100	10	.460299
2	4.27740	10	.754346
4	3.50230	10	1.059659
6	3.34260	10	1.103811
8	4.12190	10	.370458
Total	4.22504	50	1.194385

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: iNOS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	59.149 ^a	5	11.830	48.412	.000
Intercept	892.548	1	892.548	3.653E3	.000
Umur	18.583	1	18.583	76.048	.000
Seligi	40.566	4	10.142	41.503	.000
Error	10.752	44	.244		
Total	962.449	50			
Corrected Total	69.901	49			

a. R Squared = ,846 (Adjusted R Squared = ,829)

Post Hoc

Multiple Comparisons

iNOS

Tukey HSD

(I) Seligi	(J) Seligi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	2	1.60360 [*]	.221070	.000	.97485	2.23235
	4	2.37870 [*]	.221070	.000	1.74995	3.00745
	6	2.53840 [*]	.221070	.000	1.90965	3.16715

	8	1.75910 [*]	.221070	.000	1.13035	2.38785
2	0	-1.60360 [*]	.221070	.000	-2.23235	-.97485
	4	.77510 [*]	.221070	.009	.14635	1.40385
	6	.93480 [*]	.221070	.001	.30605	1.56355
	8	.15550	.221070	.955	-.47325	.78425
4	0	-2.37870 [*]	.221070	.000	-3.00745	-1.74995
	2	-.77510 [*]	.221070	.009	-1.40385	-.14635
	6	.15970	.221070	.950	-.46905	.78845
	8	-.61960	.221070	.055	-1.24835	.00915
6	0	-2.53840 [*]	.221070	.000	-3.16715	-1.90965
	2	-.93480 [*]	.221070	.001	-1.56355	-.30605
	4	-.15970	.221070	.950	-.78845	.46905
	8	-.77930 [*]	.221070	.008	-1.40805	-.15055
8	0	-1.75910 [*]	.221070	.000	-2.38785	-1.13035
	2	-.15550	.221070	.955	-.78425	.47325
	4	.61960	.221070	.055	-.00915	1.24835
	6	.77930 [*]	.221070	.008	.15055	1.40805

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,244.

*. The mean difference is significant at the 0,05 level.

Homogeneous

iNOS

Tukey HSD

Seligi	N	Subset			
		1	2	3	4
6	10	3.34260			
4	10	3.50230	3.50230		
8	10		4.12190	4.12190	
2	10			4.27740	
0	10				5.88100
Sig.		.950	.055	.955	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,244.

IPT

Descriptive Statistics

Dependent Variable: IPT

Kelompok	ulangan	Mean	Std. Deviation	N
45	1	7.46440	1.180960	5
	2	7.62120	1.046315	5
	3	7.62000	1.046305	5
	Total	7.56853	1.014823	15
60	1	8.19160	.760612	5
	2	8.49680	.513935	5
	3	8.50140	.505433	5
	Total	8.39660	.579885	15
75	1	1.09028E1	1.771414	5
	2	1.09010E1	1.773386	5
	3	1.09076E1	1.771138	5
	Total	1.09038E1	1.640537	15
Total	1	8.85293	1.950845	15
	2	9.00633	1.829424	15
	3	9.00967	1.830435	15
	Total	8.95631	1.829578	45

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: IPT

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	117.566 ^a	6	19.594	25.055	.000
Intercept	3609.698	1	3609.698	4.616E3	.000
Seligi	27.087	4	6.772	8.659	.000
Kelompok	90.479	2	45.239	57.847	.000
Error	29.718	38	.782		
Total	3756.982	45			
Corrected Total	147.284	44			

a. R Squared = ,798 (Adjusted R Squared = ,766)

Post Hoc

Multiple Comparisons						
IPT						
Tukey HSD						
(I) Seligi	(J) Seligi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	2	-.37367	.416879	.896	-1.56722	.81988
	4	-.23500	.416879	.980	-1.42855	.95855
	6	.29067	.416879	.956	-.90288	1.48422
	8	1.77644*	.416879	.001	.58289	2.96999
2	0	.37367	.416879	.896	-.81988	1.56722
	4	.13867	.416879	.997	-1.05488	1.33222
	6	.66433	.416879	.511	-.52922	1.85788
	8	2.15011*	.416879	.000	.95656	3.34366
4	0	.23500	.416879	.980	-.95855	1.42855
	2	-.13867	.416879	.997	-1.33222	1.05488
	6	.52567	.416879	.716	-.66788	1.71922
	8	2.01144*	.416879	.000	.81789	3.20499
6	0	-.29067	.416879	.956	-1.48422	.90288
	2	-.66433	.416879	.511	-1.85788	.52922
	4	-.52567	.416879	.716	-1.71922	.66788
	8	1.48578*	.416879	.008	.29223	2.67933
8	0	-1.77644*	.416879	.001	-2.96999	-.58289
	2	-2.15011*	.416879	.000	-3.34366	-.95656
	4	-2.01144*	.416879	.000	-3.20499	-.81789
	6	-1.48578*	.416879	.008	-2.67933	-.29223

Based on observed means.
 The error term is Mean Square(Error) = ,782.
 *. The mean difference is significant at the ,05 level.

Homogenous

IPT			
Tukey HSD			
Seligi	N	Subset	
		1	2
8	9	7.47156	
6	9		8.95733
0	9		9.24800
4	9		9.48300
2	9		9.62167
Sig.		1.000	.511

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = ,782.

Kelompok

Multiple Comparisons						
IPT						
Tukey HSD						
(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
45	60	-.82807 [*]	.322913	.037	-1.61560	-.04054
	75	-3.33527 [*]	.322913	.000	-4.12280	-2.54774
60	45	.82807 [*]	.322913	.037	.04054	1.61560
	75	-2.50720 [*]	.322913	.000	-3.29473	-1.71967
75	45	3.33527 [*]	.322913	.000	2.54774	4.12280
	60	2.50720 [*]	.322913	.000	1.71967	3.29473

Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = ,782.
*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Homogenous

IPT				
Tukey HSD				
Kelompok	N	Subset		
		1	2	3
45	15	7.56853		
60	15		8.39660	
75	15			1.09038E1
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = ,782.

IKT

Descriptive Statistics				
Dependent Variable: IKT				
Kelompok	ulangan	Mean	Std. Deviation	N
45	1	.44760	.018690	5
	2	.44560	.018257	5
	3	.44980	.019305	5
	Total	.44767	.017455	15
60	1	.49040	.015534	5
	2	.48500	.012510	5
	3	.49440	.018501	5
	Total	.48993	.015078	15
75	1	.53600	.026627	5
	2	.53060	.027889	5
	3	.54100	.025807	5
	Total	.53587	.025187	15
Total	1	.49133	.042039	15
	2	.48707	.040677	15
	3	.49507	.043360	15
	Total	.49116	.041206	45

Tests of Between-Subjects Effects					
Dependent Variable:IKT					
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.065 ^a	6	.011	40.205	.000
Intercept	10.856	1	10.856	4.057E4	.000
Seligi	.006	4	.002	5.759	.001
Kelompok	.058	2	.029	109.096	.000
Error	.010	38	.000		
Total	10.930	45			
Corrected Total	.075	44			

a. R Squared = ,864 (Adjusted R Squared = ,842)

Post Hoc
Seligi

Multiple Comparisons

IKT

Tukey HSD

(I) Seligi	(J) Seligi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	2	-.01567	.007711	.271	-.03774	.00641
	4	.00700	.007711	.892	-.01508	.02908
	6	.02033	.007711	.084	-.00174	.04241
	8	-.00078	.007711	1.000	-.02285	.02130
2	0	.01567	.007711	.271	-.00641	.03774
	4	.02267 [*]	.007711	.042	.00059	.04474
	6	.03600 [*]	.007711	.000	.01392	.05808
	8	.01489	.007711	.319	-.00719	.03697
4	0	-.00700	.007711	.892	-.02908	.01508
	2	-.02267 [*]	.007711	.042	-.04474	-.00059
	6	.01333	.007711	.429	-.00874	.03541
	8	-.00778	.007711	.850	-.02985	.01430
6	0	-.02033	.007711	.084	-.04241	.00174
	2	-.03600 [*]	.007711	.000	-.05808	-.01392
	4	-.01333	.007711	.429	-.03541	.00874

	8		-.02111	.007711	.067	-.04319	.00097
8	0		.00078	.007711	1.000	-.02130	.02285
	2		-.01489	.007711	.319	-.03697	.00719
	4		.00778	.007711	.850	-.01430	.02985
	6		.02111	.007711	.067	-.00097	.04319

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,000.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Homogenous

IKT

Tukey HSD

Seligi	N	Subset	
		1	2
6	9	.47300	
4	9	.48633	
0	9	.49333	.49333
8	9	.49411	.49411
2	9		.50900
Sig.		.067	.271

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,000.

Multiple Comparisons

IKT

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
45	60	-.04227 [*]	.005973	.000	-.05683	-.02770
	75	-.08820 [*]	.005973	.000	-.10277	-.07363
60	45	.04227 [*]	.005973	.000	.02770	.05683
	75	-.04593 [*]	.005973	.000	-.06050	-.03137

75	45	.08820*	.005973	.000	.07363	.10277
	60	.04593*	.005973	.000	.03137	.06050

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,000.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Homogenous
Seligi

IKT

Tukey HSD

Kelompok	N	Subset		
		1	2	3
45	15	.44767		
60	15		.48993	
75	15			.53587
Sig.		1.000	1.000	1.000

Kolesterol

Descriptive Statistics

Dependent Variable:Kolesterol

Umur	Seligi	Mean	Std. Deviation	N
45	0	1.7086E2	6.75300	5
	2	1.5500E2	4.14669	5
	4	1.2828E2	3.93535	5
	6	1.2050E2	1.31719	5
	8	1.1442E2	2.51137	5
	Total		1.3781E2	22.33462
60	0	1.8288E2	1.39893	5
	2	1.7044E2	.81425	5
	4	1.6706E2	.83845	5
	6	1.6256E2	1.49599	5
	8	1.5596E2	1.24619	5
	Total		1.6778E2	9.22244
75	0	2.0880E2	14.11435	5

	2	1.7988E2	7.01548	5
	4	1.6920E2	2.53969	5
	6	1.8226E2	2.31905	5
	8	1.8006E2	.81117	5
	Total	1.8404E2	14.98841	25
Total	0	1.8751E2	18.41334	15
	2	1.6844E2	11.48240	15
	4	1.5485E2	19.63127	15
	6	1.5511E2	26.71248	15
	8	1.5015E2	28.10574	15
	Total	1.6321E2	25.17528	75

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Kolesterol

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	45483.355 ^a	14	3248.811	137.522	.000
Intercept	1997829.129	1	1997829.129	8.457E4	.000
Umur	27495.805	2	13747.903	581.948	.000
Seligi	13863.974	4	3465.994	146.715	.000
umur * Seligi	4123.576	8	515.447	21.819	.000
Error	1417.436	60	23.624		
Total	2044729.920	75			
Corrected Total	46900.791	74			

a. R Squared = ,970 (Adjusted R Squared = ,963)

1. umur

Dependent Variable:Kolesterol

umur	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
45	137.812	.972	135.868	139.756
60	167.780	.972	165.836	169.724
75	184.040	.972	182.096	185.984

2. Seligi

Dependent Variable:Kolesterol

Seligi	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
0	187.513	1.255	185.003	190.024
2	168.440	1.255	165.930	170.950
4	154.847	1.255	152.336	157.357
6	155.107	1.255	152.596	157.617
8	150.147	1.255	147.636	152.657

Seligi

Multiple Comparisons

Kolesterol

Tukey HSD

(I) Seligi	(J) Seligi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	2	19.0733*	1.77478	.000	14.0818	24.0648
	4	32.6667*	1.77478	.000	27.6752	37.6582
	6	32.4067*	1.77478	.000	27.4152	37.3982
	8	37.3667*	1.77478	.000	32.3752	42.3582
2	0	-19.0733*	1.77478	.000	-24.0648	-14.0818
	4	13.5933*	1.77478	.000	8.6018	18.5848
	6	13.3333*	1.77478	.000	8.3418	18.3248
	8	18.2933*	1.77478	.000	13.3018	23.2848
4	0	-32.6667*	1.77478	.000	-37.6582	-27.6752
	2	-13.5933*	1.77478	.000	-18.5848	-8.6018
	6	-.2600	1.77478	1.000	-5.2515	4.7315
	8	4.7000	1.77478	.074	-.2915	9.6915
6	0	-32.4067*	1.77478	.000	-37.3982	-27.4152
	2	-13.3333*	1.77478	.000	-18.3248	-8.3418
	4	.2600	1.77478	1.000	-4.7315	5.2515
	8	4.9600	1.77478	.052	-.0315	9.9515
8	0	-37.3667*	1.77478	.000	-42.3582	-32.3752

2	-18.2933*	1.77478	.000	-23.2848	-13.3018
4	-4.7000	1.77478	.074	-9.6915	.2915
6	-4.9600	1.77478	.052	-9.9515	.0315

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 23,624.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous

Kolesterol

Tukey HSD

Seligi	N	Subset		
		1	2	3
8	15	1.5015E2		
4	15	1.5485E2		
6	15	1.5511E2		
2	15		1.6844E2	
0	15			1.8751E2
Sig.		.052	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 23,624.

HDL

Descriptive Statistics

Dependent Variable:HDL

Umur	Seligi	Mean	Std. Deviation	N
45	0	88.8600	5.08951	5
	2	94.1440	.19450	5
	4	99.7540	1.75065	5
	6	90.4500	3.15030	5
	8	80.9760	.79992	5
	Total		90.8368	6.82219
60	0	87.3980	.84390	5
	2	97.6180	1.25866	5

	4	1.0294E2	1.31298	5
	6	95.6220	1.82653	5
	8	90.6520	1.04342	5
	Total	94.8456	5.65658	25
75	0	88.0240	.70408	5
	2	98.1060	1.36280	5
	4	1.0844E2	1.45963	5
	6	1.0233E2	.79881	5
	8	93.9940	.75029	5
	Total	98.1784	7.18316	25
Total	0	88.0940	2.85137	15
	2	96.6227	2.08037	15
	4	1.0371E2	3.97021	15
	6	96.1340	5.41425	15
	8	88.5407	5.77105	15
	Total	94.6203	7.16497	75

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:HDL

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3584.129 ^a	14	256.009	71.511	.000
Intercept	671474.615	1	671474.615	1.876E5	.000
Umur	675.643	2	337.821	94.364	.000
Seligi	2527.169	4	631.792	176.479	.000
umur * Seligi	381.317	8	47.665	13.314	.000
Error	214.799	60	3.580		
Total	675273.543	75			
Corrected Total	3798.928	74			

a. R Squared = ,943 (Adjusted R Squared = ,930)

Estimated Marginal

1. umur

Dependent Variable:HDL

Umur	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
45	90.837	.378	90.080	91.594
60	94.846	.378	94.089	95.603
75	98.178	.378	97.421	98.935

2. Seligi

Dependent Variable:HDL

Seligi	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
0	88.094	.489	87.117	89.071
2	96.623	.489	95.645	97.600
4	103.710	.489	102.733	104.687
6	96.134	.489	95.157	97.111
8	88.541	.489	87.563	89.518

3. umur * Seligi

Dependent Variable:HDL

Umur	Seligi	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
45	0	88.860	.846	87.167	90.553
	2	94.144	.846	92.451	95.837
	4	99.754	.846	98.061	101.447
	6	90.450	.846	88.757	92.143
	8	80.976	.846	79.283	82.669
60	0	87.398	.846	85.705	89.091
	2	97.618	.846	95.925	99.311
	4	102.938	.846	101.245	104.631
	6	95.622	.846	93.929	97.315
	8	90.652	.846	88.959	92.345

75	0	88.024	.846	86.331	89.717
	2	98.106	.846	96.413	99.799
	4	108.438	.846	106.745	110.131
	6	102.330	.846	100.637	104.023
	8	93.994	.846	92.301	95.687

Homogeneous

HDL

Tukey HSD

Umur	N	Subset		
		1	2	3
45	25	90.8368		
60	25		94.8456	
75	25			98.1784
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 3,580.

Seligi

Multiple Comparisons

HDL

Tukey HSD

(I) Seligi	(J) Seligi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	2	-8.5287 [*]	.69089	.000	-10.4718	-6.5856
	4	-15.6160 [*]	.69089	.000	-17.5591	-13.6729
	6	-8.0400 [*]	.69089	.000	-9.9831	-6.0969
	8	-.4467	.69089	.967	-2.3898	1.4964
2	0	8.5287 [*]	.69089	.000	6.5856	10.4718
	4	-7.0873 [*]	.69089	.000	-9.0304	-5.1442
	6	.4887	.69089	.954	-1.4544	2.4318
	8	8.0820 [*]	.69089	.000	6.1389	10.0251
4	0	15.6160 [*]	.69089	.000	13.6729	17.5591
	2	7.0873 [*]	.69089	.000	5.1442	9.0304

	6	7.5760 [*]	.69089	.000	5.6329	9.5191
	8	15.1693 [*]	.69089	.000	13.2262	17.1124
6	0	8.0400 [*]	.69089	.000	6.0969	9.9831
	2	-.4887	.69089	.954	-2.4318	1.4544
	4	-7.5760 [*]	.69089	.000	-9.5191	-5.6329
	8	7.5933 [*]	.69089	.000	5.6502	9.5364
8	0	.4467	.69089	.967	-1.4964	2.3898
	2	-8.0820 [*]	.69089	.000	-10.0251	-6.1389
	4	-15.1693 [*]	.69089	.000	-17.1124	-13.2262
	6	-7.5933 [*]	.69089	.000	-9.5364	-5.6502

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 3,580.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Homogeneous

HDL

Tukey HSD

Seligi	N	Subset		
		1	2	3
0	15	88.0940		
8	15	88.5407		
6	15		96.1340	
2	15		96.6227	
4	15			1.0371E2
Sig.		.967	.954	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 3,580.

LDL

Descriptive Statistics

Dependent Variable: LDL

umur	Seligi	Mean	Std. Deviation	N
45	0	49.1160	1.51064	5

	2	42.7700	.50532	5
	4	41.0500	.69390	5
	6	44.5020	1.02341	5
	8	43.1140	1.18143	5
	Total	44.1104	2.94868	25
60	0	58.4860	1.71017	5
	2	54.5680	.89452	5
	4	48.4420	.63373	5
	6	54.3400	1.22556	5
	8	51.3960	1.38580	5
	Total	53.4464	3.61540	25
75	0	62.9780	1.25715	5
	2	56.8160	1.05968	5
	4	45.7940	.47522	5
	6	54.0120	.70194	5
	8	52.6360	1.58552	5
	Total	54.4472	5.80018	25
Total	0	56.8600	6.13750	15
	2	51.3847	6.42507	15
	4	45.0953	3.21493	15
	6	50.9513	4.81361	15
	8	49.0487	4.56161	15
	Total	50.6680	6.31909	75

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:LDL

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2879.103 ^a	14	205.650	162.812	.000
Intercept	192543.467	1	192543.467	1.524E5	.000
umur	1625.099	2	812.550	643.291	.000
Seligi	1089.174	4	272.294	215.573	.000
umur * Seligi	164.829	8	20.604	16.312	.000
Error	75.787	60	1.263		

Total	195498.356	75		
Corrected Total	2954.889	74		

a. R Squared = ,974 (Adjusted R Squared = ,968)

3. umur * Seligi

Dependent Variable:LDL

umur	Seligi	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
45	0	49.116	.503	48.111	50.121
	2	42.770	.503	41.765	43.775
	4	41.050	.503	40.045	42.055
	6	44.502	.503	43.497	45.507
	8	43.114	.503	42.109	44.119
60	0	58.486	.503	57.481	59.491
	2	54.568	.503	53.563	55.573
	4	48.442	.503	47.437	49.447
	6	54.340	.503	53.335	55.345
	8	51.396	.503	50.391	52.401
75	0	62.978	.503	61.973	63.983
	2	56.816	.503	55.811	57.821
	4	45.794	.503	44.789	46.799
	6	54.012	.503	53.007	55.017
	8	52.636	.503	51.631	53.641

Estimated Marginal

1. umur

Dependent Variable:LDL

umur	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
45	44.110	.225	43.661	44.560
60	53.446	.225	52.997	53.896
75	54.447	.225	53.998	54.897

Post Hoc

LDL

Tukey HSD

umur	N	Subset		
		1	2	3
45	25	44.1104		
60	25		53.4464	
75	25			54.4472
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1,263.

2. Seligi

Dependent Variable:LDL

Seligi	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
0	56.860	.290	56.280	57.440
2	51.385	.290	50.804	51.965
4	45.095	.290	44.515	45.676
6	50.951	.290	50.371	51.532
8	49.049	.290	48.468	49.629

LDL

Tukey HSD

Seligi	N	Subset			
		1	2	3	4
4	15	45.0953			
8	15		49.0487		
6	15			50.9513	
2	15			51.3847	
0	15				56.8600
Sig.		1.000	1.000	.828	1.000

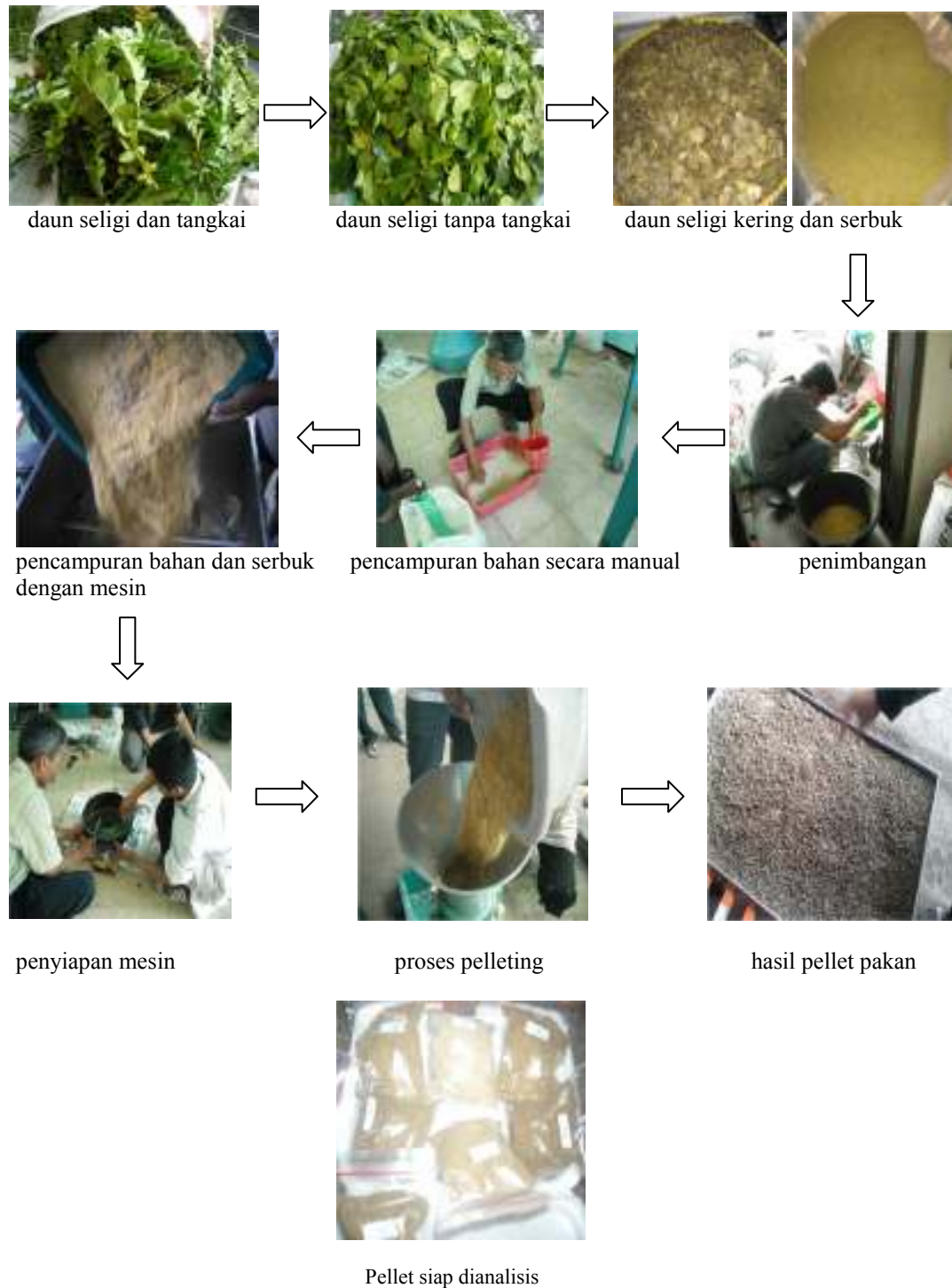
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1,263.

LAMPIRAN 2. PROSES PENELITIAN

A. Proses pembuatan pellet pakan komersial puyuh yang diberi suplemen serbuk daun seligi dengan takaran yang berbeda



B. Penyiapan kandang, pemeliharaan puyuh dan produksi telur



Sampel telur siap dianalisis

C. Penyiapan ternak untuk analisis imunitas



D. Pengukuran kualitas internal telur



E. Uji ekspresi IL-1 dan kadar iNOS metode ELISA



Pemisahan serum dalam darah



shaker

Elisa reader

Penghitungan IL-1

F. Proses Analisis Kadar Lemak dan Protein Telur Puyuh



Proses analisis kualitas telur puyuh

Judul Buku

TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN



Oleh

**Wardah
Tatang Sepandi**

PRAKATA

Puji dan syukur, penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberi kesehatan dan kemampuan sehingga Buku Teknologi Hasil Pertanian ini dapat diselesaikan. Buku ini bertujuan untuk memberi pedoman kepada pembaca dalam rangka peningkatan pemahaman tentang teknologi hasil pertanian.

Buku ini terdiri dari 17 bab yang mendeskripsikan dan membahas tentang Peran dan landasan ilmu teknologi hasil pertanian, resiko alami bahan pangan, fisiologi pascapanen, pengawetan pangan dengan suhu rendah (chilling), pembekuan, proses termal, pengeringan, pengeringan beku, fermentasi, bahan kimia tambahan pangan, teknologi pangan semi basah, pickel, iradiasi pangan, pengemasan dan emulsifikasi pangan, serta pangan fungsional. Pemahaman terhadap materi pada buku ini penting untuk mencapai kompetensi dasar dan penunjang teknologi hasil pertanian.

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberi doa dan dorongan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan buku ini. Kekurangan dan kelemahan buku ini tentu dapat ditemui baik dari segi materi maupun cara penulisannya. Oleh karena itu, penulis berharap kritik dan saran sehingga buku ini dapat diperbaiki sebagaimana mestinya.

Surabaya, November 2015

Penulis

DAFTAR ISI

		Halaman
	PRAKATA	i
	DAFTAR ISI	ii
	DAFTAR TABEL	iii
	DAFTAR GAMBAR	iv
BAB1	PENDAHULUAN	1
BAB 2	RESIKO ALAMI BAHAN PANGAN	8
BAB 3	FISIOLOGI PASCA PANEN	17
BAB 4	TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN PADA SUHU DINGIN	29
BAB 5	TEKNOLOGI PEMBEKUAN	41
BAB 6	PROSES TERMAL	57
BAB 7	TEKNOLOGI PENGERINGAN	81
BAB 8	TEKNOLOGI PENGERINGAN BEKU	98
BAB 9	FERMENTASI PANGAN	108
BAB 10	TEKNOLOGI PENGOLAHAN PANGAN SEMI BASAH	125
BAB 11	TEKNOLOGI PIKEL	134
BAB 12	TEKNOLOGI PENGAWETAN DAN PENGOLAHAN PANGAN DENGAN BAHAN KIMIA	141
BAB 13	IRADIASI PANGAN	161
BAB 14	PENGEMASAN PANGAN	170
BAB 15	EMULSIFIKASI PANGAN.....	180
BAB 16	PANGAN FUNGSIONAL	201
BAB17	PRODUK OLAHAN PANGAN	231
	DAFTAR PUSTAKA	

DAFTAR TABEL

No	Tabel	halaman
1	Contoh buah klimaterik dan non klimaterik	13
2	Kecepatan respirasi produk hasil pertanian	14
3	Kemampuan pendinginan garam pada beberapa konsentrasi	21
4	Kerusakan bahan pangan pada penyimpanan dingin	24
5	Lama simpan beberapa jenis komoditi hasil pertanian pada penyimpanan dingin	25
6	Titik beku beberapa jenis bahan pangan	29
7	Laju letal pada berbagai suhu pemanasan	42
8	Laju letal pada proses pemanasan suhu konstan	42
9	Laju letalitas pada waktu dan suhu pemanasan produk dalam kontainer	43
10	Temperatur kolap untuk beberapa jenis pangan beku	63
11	Jenis vitamin yang hilang selama pembekuan pada pangan	64

DAFTAR GAMBAR

No	Gambar	halaman
1	Landasan pengembangan teknologi hasil pertanian	2
2	Waktu tenggang dan resiko alami bahan pangan	5
3	Laju respirasi klimaterik dan non klimaterik pada buah dan sayuran	12
4	Perubahan pati menjadi gula selama pematangan	14
5	Perubahan pectin menjadi asam galakturonat selama pematangan	15
6	Perubahan pati menjadi asam organic	15
7	Perubahan klorofil menjadi klorin dan purpurin	16
8	Kurva pembekuan es pada bahan pangan	28
9	Berat jenis air dan es	30
10	Kurva pembekuan pangan	30
11	Pembentukan Kristal es pada pembekuan pangan	32
12	Kurva pembekuan cepat dan lambat pada bahan pangan	33
13	Kurva laju letal berdasarkan waktu	44
14	Kurva kematian bakteri secara logaritmik pada suhu T ^o F	49
15	Kurva TDT	49
16	Kurva kadar air bahan pangan	53
17	Konsentrasi solute pada berbagai suhu dalam system campuran	54
18	Perpindahan energi dan massa pada proses pengeringan pangan	54
19	Ilustrasi pengeringan langsung dan tidak langsung	56
20	Ilustrasi berbagai tipe pengering	57
21	Diagram hubungan tekanan dengan suhu terhadap perubahan bentuk bahan pangan	60
22	Diagram transfer massa dan panas pada pengeringan beku	61
23	Struktur porus pangan yang dikering bekukan	62
24	Penurunan konsentrasi solute selama pembekuan	64
25	Peralatan pengeringan beku	65
26	Jalur metabolisme mikroorganisme	73
27	Kurva kadar air dan aktivitas air	76
28	Jenis mikroba, aktivitas air minimal dan kurva aktivitas air	77
29	Proses emulsifikasi	109

LAMPIRAN 4. TEKNOLOGI TEPAT GUNA (BOOKLET) UNTUK PENGABDIAN MASYARAKAT

PETUNJUK PRAKTIS (BOOKLET) FORMULASI DAN PEMBUATAN PAKAN PUYUH

Oleh :

Dr. Ir. Wardah., MP., MM

Dr. Ir. Tatang Sopandi., MP

UNIVERSITAS 17 AGUSTUS 1945
SURABAYA
2015

Keberhasilan usaha peternakan

1. Breeding (bibit)
2. Feeding (pemberian pakan)
3. Manajemen (tata laksana pemeliharaan)

Biaya pakan sebesar 75% dari biaya produksi



1

2

Pakan adalah bahan organik dan inorganik yang diberikan kepada ternak yang sebagian atau keseluruhan dapat dicerna tanpa mengganggu kesehatan ternak



3

Pembagian Bahan Pakan Ternak

1. Pakan kasar : pakan yang banyak mengandung serat kasar (lebih dari 8%) dan rendah kandungan energi. contoh: jerami padi, jerami jagung, pucuk tebu dan hijauan lain
2. Hijuan segar : rumput dan hijauan lain yang baru dipotong atau tersedia di padang rumput
3. Silase: hijauan yang sengaja diawetkan melalui proses fermentasi



4

4. Pakan sumber energi : pakan yang mengandung energi lebih dari 250 kkal/kg contoh: biji-bijian (jagung, cantel, kedele, kacang dll), umbian (ketela pohon, ketela rambat, kentang dll), minyak (kelapa, sawit, kedele dll), lemak hewan, hasil ikutan (limbah) industri pertanian (bekatul, dedak, pollard, tetes dll)



5

5. Sumber protein: bahan pakan yang mengandung protein lebih dari 20%. contoh: tepung ikan, tepung darah, kacang-kacangan/legum (kedele, kacang tanah, turi, gamal dll), bungkil (bungkil kelapa, sawit, kedele, jagung dll)



6

7. Sumber vitamin : buah-buahan, tauge, kacang –kacangan dan wortel
8. Bahan aditif: bahan yang ditambahkan ke dalam pakan dalam jumlah sedikit, contoh: penambah aroma, rasa, meningkatkan immunitas



7

PERTIMBANGAN PEMILIHAN BAHAN BAKU PAKAN

1. Nutrisi : pakan harus mengandung nutrisi yang sesuai dengan kebutuhan pakan
2. Ketersediaan dan penggunaannya tidak bersaing dengan manusia sehingga mudah didapat
3. Harganya murah
4. Tidak mengandung racun atau zat antinutrisi

8

NUTRISI PAKAN

1. Air ; sebagai pelarut dan pengangkut nutrisi, membantu proses pencernaan, metabolisme, kelancaran kerja syaraf dan pancaindra dan sebagai pelincin
2. Mineral ; memelihara keseimbangan asam basa tubuh, kepekaan syaraf, mengatur permeabilitas membran dan transpor serta sebagai koenzim
3. Protein
4. Lemak
5. Karbohidrat, dan
6. Vitamin

9

PROSESING PAKAN

- Pemotongan (chopping)
- Pengeringan (drying)
- Penggilingan (grinding)
- Perendaman (soaking)
- Pemasakan (cooking)
- Pembuatan pelet (pelleting)
- Crumbling (pembuatan butiran)
- Pembuatan silase (ensiling)



10

EVALUASI MUTU PAKAN

1. Fisik/visual
2. Mikroskopis
3. Kimia



11

FORMULASI PAKAN

1. [Lihat tabel kebutuhan nutrisi pakan sesuai tujuan beternak](#)
2. Lihat tabel komposisi zat (nutrisi) bahan baku
3. Pertimbangan faktor pembatas
4. Pertimbangan harga
5. Susun ransum



12

Kebutuhan nutrisi puyuh

Kandungan nutrisi	Starter	Grower	Layer
Kadar air maks. (%)	14,0	14,0	14,0
Protein kasar maks. (%)	19,0	17,0	17,0
Lipid kasar maks. (%)	7,0	7,0	7,0
Serat kasar maks. (%)	6,5	7,0	7,0
Ash maks. (%)	5	8,0	14,0
Kalsium (Ca) (%)	0,90-1,20	0,80-1,20	2,70-3,70
Fosfor total (P) (%)	0,60-1,00	0,60-1,00	0,60-1,00
Fosfor tersedia (P) maks. (%)	0,40	0,40	0,40
Energi metabolisabel (ME) (Kkal/kg)	2.800	2.600	2.700
Total alkaloidin maks. (pp/kg)	40,0	40,0	40,0
Asam amino			
- Lysin maks. (%)	1,10	0,80	0,80
- Metionin maks. (%)	0,40	0,35	0,40
- Metionin + sistin min. (%)	0,60	0,50	0,60

Sumber : SNI (2006)

13

Bahan pakan	ME	PK	Ca	P	SK	LS
Jagung	3400	9,6	0,02	0,27	3,5	2,4
Delek	1225	11,5	0,07	1,4	15,5	7
Bekatul	2500	14	0,05	1,48	6	12,4
Bungkil kedelai	2300	48	0,22	0,67	6	0,9
Tepung darah	1098	89,3	0,1	0,22	0,6	1,3
tepung daging-saling	1985	30	7	4	2,5	10
3-Syarat sawit	8800	9	9	6	9	8
Tepung ikan	2500	62	5	3	1	5
Kebutuhan nutrisi standar	2800	24,5	1	0,48	3,5	2,5

14

Formula Pakan Puyuh -I Hasil perhitungan metode trial and error

Bahan pakan	%	ME	PK	Ca	P	SK	LS
Jagung	45	2550	5,87	0,009	5	1,575	1,08
Delek	22	1225	3,03	0,007	0,24	1,39	0,7
Bekatul	15	375	2,1	0,0035	0,22	0,9	1,86
Bungkil kedelai	11	231	7,2	0,048	5	0,9	0,133
tepung darah	3	104,8	4,463	0,003	0,016	0,03	0,063
Tepung daging-saling	5	99,25	2,5	0,23	0,2	0,125	0,5
Minyak sawit	2	172	0	0	0	0	0
Tepung ikan	0	105	1,86	0,13	0,08	0,05	0,25
Total	100	2012,35	23,145	0,1785	0,88	3,11	4,40
Kebutuhan nutrisi standar		2800	24,5	1	0,48	3,5	2,5

15

Perhitungan biaya yang dikeluarkan untuk membuat 50 kg ransum

Bahan Pakan	Jumlah	Per kg Pakan	Harga per kg	Jumlah
Jagung	7	1,2	Rp 11.000,00	Rp 77.000,00
Delek	10	1,2	Rp 1.000,00	Rp 10.000,00
Delek Dried	7	1,2	Rp 1.200,00	Rp 8.400,00
Bekatul	10	1	Rp 1.000,00	Rp 10.000,00
Bungkil	10	10,2	Rp 1.000,00	Rp 10.000,00
Bungkil Kacang	10	7,2	Rp 1.000,00	Rp 10.000,00
Tepung Daging Saling	5	1,2	Rp 1.000,00	Rp 5.000,00
Minyak	2	1	Rp 1.000,00	Rp 2.000,00
Total	68	36		Rp 117.800,00

16

FORMULA PAKAN PUYUH (Grower)

Bahan pakan	%	ME	PK	Ca	P	SK	LS
Jagung	56,85	2244,40	5,15	0,01	0,13	1,28	0,88
Bongkum	8,71	217,75	3,67	0,06	0,01	0,13	0,90
Bekatul	24,25	606,25	3,42	0,01	0,38	1,46	3,01
Tepung darah	2,25	85,70	0,04	0,01	0,03	0,04	0,03
Tepung daun pepaya	4,33	35,85	0,16	0,18	0,01	0,01	0,09
Bungkil kedelai	3,25	228,75	4,39	0,03	0,06	0,55	0,08
Tepung daging bekatul	14,52	311,96	3,04	1,06	0,14	0,41	0,60
Total	100,00	2932,75	17,05	1,27	0,70	3,87	4,89

17

FORMULA PAKAN PUYUH (Starter-2)

Bahan pakan	%	ME	PK	Ca	P	SK	LS
Jagung	50,00	1700,00	4,50	0,01	0,14	1,75	1,20
Delek/pasir	13,00	369,00	1,95	0,02	0,04	1,50	0,05
Bungkil kedelai	12,00	300,00	5,76	0,04	0,08	0,72	0,11
Tepung ikan	10,00	350,00	4,20	0,50	0,30	0,10	0,50
Bungkil kelapa	7,00	154,04	1,50	0,01	0,04	1,08	0,88
Tepung biji kapas	3,00	205,00	2,05	0,01	0,01	0,30	0,24
Minyak kelapa sawit	3,00	258,00	0,30	0,00	0,00	0,00	0,00
Jumlah	100,00	3096,04	21,56	0,39	0,62	5,35	2,98

18

FORMULA PAKAN PUYUH (Layer)

Bahan pakan	%	ME	PK	Ca	P	SK	LE	
Jagung	50,00	1700,00	4,30	0,01		0,14	1,75	1,20
Dedek/palard	8,00	98,00	0,91	0,01		0,11	1,24	0,09
Bungkil kelapa	0,40	207,93	1,75	0,02		0,06	1,45	1,18
Bungkil kedelai	17,60	440,00	8,45	0,08		0,12	1,06	0,16
Keong mas	10,00	192,00	1,61	0,91		0,23	0,08	0,04
Minyak kelapa sawit	3,00	258,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00
Premix	2,00	0,00	0,00	2,00		1,00	0,00	0,00
Jumlah	100,00	2895,93	17,02	3,01		1,66	3,55	2,66