

PERUBAHAN HISTOLOGIS DAN RESPONS IMUNITAS SAPI BALI YANG DIBERIKAN PAKAN CAMPURAN KONSENTRAT

Histopathological Changes and Immunity Response of Bali Cattle Fed with Concentrate Addition Feed

I Ketut Berata¹, Ida Bagus Oka Winaya¹, dan I Made Kardena¹

¹Laboratorium Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Bali
E-mail: iketutberata@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui perubahan histologis dan respons kekebalan sapi bali yang diberikan pakan campuran konsentrat. Sebanyak 12 ekor sapi bali betina berumur 2 tahun, dibagi secara acak atas 3 kelompok perlakuan yaitu kelompok I diberi pakan rumput, kelompok II diberi pakan campuran 2 bagian rumput dan 1 bagian konsentrat, dan kelompok III diberi pakan campuran 1 bagian rumput dan 1 bagian konsentrat. Sebelum diberi perlakuan, dilakukan uji respons kekebalan seluler dengan teknik uji *methylthiazol tetrazolium* (MTT). Uji respons kekebalan dilakukan kembali pada bulan ke-3 dan sesaat sebelum dilakukan nekropsis. Pada bulan ke-10 dilakukan nekropsis terhadap 2 ekor sapi dari masing-masing kelompok perlakuan. Sisa sapi dari masing-masing kelompok perlakuan dilanjutkan diberi perlakuan untuk penelitian lanjutan. Sapi yang dinekropsis diambil jaringan pencernaan yaitu usus, untuk selanjutnya diproses dalam pembuatan sediaan histologis. Sediaan histologis diwarnai dengan hematoksin eosin (HE). Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan struktur histologis usus antara ketiga kelompok perlakuan sedangkan respons kekebalan seluler tertinggi pada kelompok yang diberi pakan konsentrat yang lebih banyak.

Kata kunci: histologis, konsentrat, uji MTT, sapi bali

ABSTRACT

The aim of this research was to studied the histological changes and immunity response of bali cattle fed with concentrate feed. Twelve female bali cattle with the age of 2 years were used and divide into three groups of treatment: group I were given full grass, group II fed with combining of the grass and concentrate feed in 2:1 ratio, and group III fed with combining grass and concentrate feed in 1:1 ratio. Before treatment, all cattles were examined their immunity response by methylthiazol tetrazolium (MTT) assay technique. Their immunity response reexamined on third and tenth months. On ten month posttreatment, two cattles of each group were necropsied. The gastrointestinal tissues, were collected then processed for histological sample and stained with hematoxylin eosin (HE) staining. Result of this research showed that no significant difference on the histological change. However, the immunity responses were higher on group of the cattles fed with concentrate feed than fed with grass only.

Key words: histological, concentrate, MTT assay, bali cattle

PENDAHULUAN

Sempitnya lahan pengembalaan untuk sapi di Bali akibat tergusur oleh pembangunan untuk pariwisata, menyebabkan banyak peternak memberi sapi pakan campuran konsentrat dalam berbagai konsentrasi. Pemberian pakan campuran konsentrat telah banyak dilakukan oleh peternak karena pertambahan berat badannya nyata lebih cepat dari pada hanya diberikan hijauan. Ariana *et al.* (2009) melaporkan bahwa terjadi peningkatan berat badan akhir dan kualitas karkas yang nyata lebih baik pada sapi bali yang diberi pakan campuran konsentrat dibandingkan yang diberi pakan hijauan saja. Penelitian lain melaporkan bahwa pemberian konsentrat yang mengandung protein $\pm 17\%$ pada sapi perah mampu memenuhi kebutuhan pedetnya pada pertumbuhan awal (Srianto *et al.*, 1997; Wahjuni dan Bijanti, 2006). Akan tetapi, pemberian pakan konsentrat yang mengandung protein 25% ternyata tidak efisien karena zat-zat makanan yang terkandung di dalamnya tidak termanfaatkan seluruhnya (Wardhani *et al.*, 1991).

Pemberian protein berlebihan dengan harapan pertambahan berat badan yang cepat, tidak hanya kurang efisien dan merugikan dari segi biaya pakan, tetapi dapat berakibat terjadinya patofisiologis tubuh. Protein yang berlebihan dalam pakan sapi dapat

menyebabkan infiltrasi protein asing (amiloidosis) dalam berbagai jaringan atau organ dalam (Sahelian, 2010). Kejadian amiloidosis pada sapi banyak dikaitkan pada kasus penyakit sapi gila (*mad cow*), penyakit pikun (*alzheimer*), dan kegemukan pada manusia (Sahelian, 2010).

Perubahan pakan untuk ternak ruminansia dari hijauan ke campuran konsentrat sangat memungkinkan menyebabkan perubahan struktur histologis dan fungsional sistem pencernaan (Dellman dan Brown, 1976). Perubahan struktur histologis dan fungsional ini kemungkinan juga terhadap respons kekebalan tubuh, karena terjadi perubahan jumlah sel M (Jepson, 2004). Penelitian ini bertujuan mengetahui perubahan struktur histologis bagian villi, epitel, dan submukosa dari sistem pencernaan dan perbedaan respons kekebalan seluler akibat pemberian pakan campuran konsentrat pada sapi bali.

MATERI DAN METODE

Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini digunakan 12 ekor sapi bali betina berumur rata-rata 2 tahun. Sapi ini secara acak dibagi atas 3 kelompok perlakuan yaitu masing-masing 4 ekor diberikan pakan rumput saja (kelompok I); 4 ekor diberi pakan campuran: 2 bagian rumput + 1 bagian

konsentrat (kelompok II); 4 ekor diberikan pakan campuran 50% rumput + 50% konsentrat (kelompok III). Pada tahun pertama, 2 ekor sapi dari masing-masing kelompok perlakuan dinekropsi untuk pemeriksaan perubahan struktur histologis jaringan sedangkan 2 ekor sapi sisa dari masing-masing kelompok perlakuan akan dinekropsi pada tahun kedua sesuai dengan dasar teori bahwa perubahan jaringan akibat perubahan pola pakan memerlukan waktu yang lama. Pakan diberikan masing-masing 3 kali sehari, minum diberikan *ad libitum*. Kandungan protein dalam pakan bentuk konsentrat adalah 17% (produksi PT. Charoen Phokphand).

Pengambilan Darah Tepi dan Isolasi Limfosit

Sebelum diberikan perlakuan, darah tepi diambil masing-masing sebanyak 40 ml melalui vena jugularis. Darah ditampung dalam tabung yang telah diisi antikoagulan EDTA 5%. Dari darah tersebut diisolasi limfosit dengan teknik *picoll-paque gradient* (Sigma, USA). Pengambilan darah dan isolasi limfosit dengan cara yang sama dilakukan pada bulan ke 3 dan 10. Darah disentrifus 2500 rpm selama 10 menit. Lapisan putih (*buffy coat*) di antara sel darah merah dan plasma diambil dan disuspensikan dengan media *dulbecco's modified eage's medium* (DMEM) tanpa serum. Sel limfosit dipisahkan dari *buffy coat* dengan cara *Ficoll-paque gradient* yaitu disentrifus 3.000 rpm selama 30 menit. Lapisan sel limfosit diambil dan dicuci tiga kali dengan DMEM tanpa serum. Limfosit yang diisolasi dilakukan uji *methylthiazol tetrazolium* (MTT) untuk mengetahui respons kekebalan selulernya.

Uji Respons Kekebalan Seluler

Limfosit masing-masing grup perlakuan dikultur untuk pemeriksaan respon kekebalan seluler dengan uji MTT. Uji MTT merupakan uji untuk mengukur daya proliferasi limfosit sebagai manifestasi dari respons kekebalan seluler. Mitogen yang digunakan pada uji MTT adalah lektin Con A (Sigma, USA). Limfosit dihomogenkan dalam media dengan cara penyedotan dan pengeluaran secara berulang menggunakan pipet Pasteur steril. Limfosit dalam cawan petri kemudian dipindahkan ke dalam tabung steril dan dicuci satu kali dengan 10 ml media DMEM steril. Setelah dihitung dengan hemositometer, limfosit disuspensikan dalam media DMEM yang mengandung 15% *fetal calf serum* (FCS). Limfosit kemudian ditumbuhkan dalam mikroplat 96 sumuran, yang telah diisi mitogen dengan tingkat kepadatan 2×10^6 sel/ml media.

Limfosit dari setiap sapi, diinkubasikan dalam mikroplat yang berisi mitogen berupa lektin Con A 10 unit/ml media sedangkan sebagai kontrol negatif digunakan media tanpa mitogen. Campuran limfosit dan mitogen diinkubasikan bersama selama 3 hari pada suhu 37° C dalam lingkungan lembab yang mengandung 5% CO_2 . Setelah inkubasi selama 3 hari, ke dalam setiap sumuran ditambahkan 25 μ l MTT 5% (Sigma, USA). Sel kembali diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37° C. Sebagian media kemudian dibuang

dan sel dilisiskan dengan *dimethyl sulfoxide* (DMSO) 5% (Analar).

Tingkat kepekatan warna biru dalam setiap sumuran dibaca dengan *multiscan spectrophotometer* dengan $\lambda = 595$ nm. Tingkat warna biru merupakan hasil perubahan sodium MTT menjadi formazan akibat aktivitas oleh enzim mitokondria limfosit yang hidup. Semakin banyak sel yang hidup, semakin pekat pula warna biru. Nilai ini menunjukkan tingkat daya proliferasi limfosit sebagai manifestasi dari derajat respons kekebalan seluler.

Nekropsi Sapi dan Pembuatan Sediaan Histologis

Pada bulan ke-10 dipilih 2 ekor sapi secara acak dari masing-masing kelompok perlakuan untuk dinekropsi dan diambil seluruh bagian pencernaan. Untuk proses pembuatan sediaan histologis, bagian-bagian yang diambil adalah rumen, retikulum, omasum, abomasum, duodenum, yeyunum, ileum, sekum, dan kolon. Masing-masing bagian tersebut diambil berukuran 1x1x1 cm dan difiksasi dalam bufer formalin 10% selama 24 jam. Jaringan dari masing-masing sapi ditempatkan dalam wadah perendaman yang berbeda. Selanjutnya dilakukan proses dehidrasi, *clearing*, *blocking*, *cutting* dan *staining*. Sediaan di atas gelas objek dikeringkan dan selanjutnya dilakukan pewarnaan hematoksilin eosin (HE).

Variabel yang Diukur

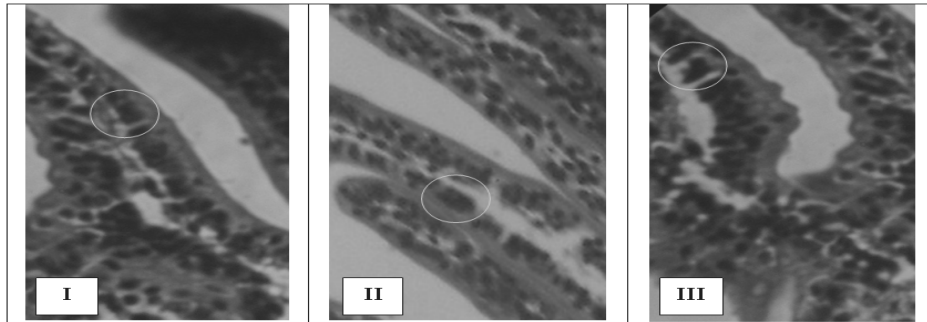
Pengukuran respons kekebalan seluler dengan uji MTT diukur berdasarkan nilai *optical density* (OD) yang dibaca dengan *multiscan spectrophotometer*. Nilai OD ini dicatat selanjutnya dianalisis dan diperbandingkan. Perubahan histologis berdasarkan pemeriksaan histologis masing-masing jaringan pada organ pencernaan diukur berdasarkan perubahan vili, mikrovili, dan kelenjar-kelenjar di lamina propria, serta populasi dan keadaan sel M pada lamina mukosa pencernaan.

Analisis Data

Data hasil pengukuran respons kekebalan seluler diperiksa dan dianalisis statistik dengan sidik ragam. Jika ada perbedaan yang nyata, dilanjutkan dengan uji Duncan sedangkan data pemeriksaan struktur histologis saluran usus dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil observasi klinis, ternyata sapi yang digunakan dalam penelitian ini tidak ada tanda-tanda menderita penyakit infeksius selama masa adaptasi. Analisis statistik hasil pemeriksaan respons kekebalan seluler sebelum perlakuan, diperoleh hasil adanya perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) antara ketiga kelompok perlakuan. Pada uji Duncan diperoleh perbedaan yang bermakna ($P < 0,05$) antara perlakuan I dan III. Setelah tiga bulan diberi perlakuan, kembali dilakukan uji respons kekebalan seluler. Hasil penelitian menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) antara ketiga kelompok perlakuan. Pada uji Duncan diperoleh hasil bahwa



Gambar 1. Struktur histologis usus halus sapi bali yang diberi pakan dengan komposisi berbeda dalam 10 bulan (I= pakan rumput, II= pakan campuran 2 bagian rumput dan 1 bagian konsentrat, dan III= pakan campuran 1 bagian rumput dan 1 bagian konsentrat; sel M ditandai lingkaran; HE, 400x)

perlakuan III berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan perlakuan I dan II. Pada bulan ke-10 dilakukan uji respons kekebalan seluler lanjutan yang bersamaan dengan dilakukan nekropsis. Analisis uji respons kekebalan seluler diperoleh perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) antara ketiga kelompok perlakuan. Pada uji Duncan diperoleh hasil bahwa perlakuan I berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan perlakuan II dan III.

Dari hasil pemeriksaan uji MTT dan analisis statistik pada tahap pertama, kedua, dan ketiga, tampak bahwa pemberian pakan konsentrat berpengaruh terhadap respons kekebalan seluler sapi. Semakin lama pemberian pakan campuran konsentrat diberikan, maka tampak terjadi peningkatan respon kekebalan seluler. Hal tersebut terbukti dari hasil uji pertama yaitu perlakuan I dan II tidak berbeda bermakna, tetapi pada pemeriksaan tahap 2 terjadi perubahan berupa perbedaan yang bermakna ($P < 0,05$). Demikian pula pada pemeriksaan ke-3, terdapat perbedaan antara perlakuan I, II, dan III. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian yang melaporkan perubahan jenis pakan yang diberikan dari banyak serat (rumput) ke sedikit serat (konsentrat) memungkinkan perubahan komposisi mikroflora dalam pencernaan sapi. Perubahan sistem mikroflora dalam usus dapat menyebabkan perubahan sistem kekebalan seluler (Wareing, 1996). Sampai saat ini, belum terdapat laporan mengenai pengaruh perubahan komposisi mikroflora terhadap struktur histologis saluran pencernaan. Akan tetapi, perubahan struktur histologis sistem pencernaan ruminansia sangat memungkinkan terjadi perubahan sistem pertahanan termasuk sel M (Aster, 2003). Tingginya patogen yang berada dalam pencernaan memungkinkan peningkatan jumlah sel M (Jepson, 2004). Dari uraian penelitian tersebut di atas, diketahui bahwa perubahan komposisi pakan sangat mempengaruhi struktur histologis saluran pencernaan dan sistem pertahanannya. Amiloid pada hewan dengan penyakit mieloma sel plasma atau kelainan sel limfosit B disebut AL amiloidosis. Kelainan limfosit B akan menyebabkan terganggunya pembentukan antibodi, sehingga terjadi penurunan daya tahan tubuh. Fibril amiloid yang mengendap pada jaringan bersama glikoprotein sering disebut amiloid P-komponen.

Dari pemeriksaan histopatologis saluran pencernaan diperoleh hasil bahwa tidak terdapat perbedaan yang teramati, baik pada rumen, retikulum, omasum maupun abomasum, usus halus, dan usus besar. Struktur

histologis terutama epitel usus dan sel M di usus halus teramati relatif sama seperti yang disajikan pada Gambar 1. Perubahan struktur histologis pada suatu jaringan umumnya memerlukan waktu bertahun-tahun. Mengingat perubahan pola pakan mempengaruhi komposisi mikroflora saluran pencernaan yang selanjutnya kemungkinan mempengaruhi sistem kekebalan saluran pencernaan termasuk sel M, maka penelitian ini diperlukan waktu yang lebih lama.

KESIMPULAN

Terdapat peningkatan respons kekebalan seluler antara sapi bali yang diberi pakan campuran konsentrat dibandingkan dengan sapi bali yang diberi pakan rumput namun tidak terjadi perubahan struktur histologis saluran pencernaan serta struktur dan jumlah sel M.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada DP2M Dikti Kemdikbud RI atas bantuan dana penelitian ini dalam bentuk Hibah Fundamental Tahun Anggaran 2011.

DAFTAR PUSTAKA

- Ariana, I.N.T., I.B.G. Partama, I.G.N. Bidura, dan I.K. Wirta. 2009. Penelitian Karkas Ternak Sapi Potong. **Laporan**. Kerjasama antara Dinas Peternakan Kabupaten Tabanan dan Fakultas Peternakan Universitas Udayana. Bali
- Aster, J. 2003. The Hematopoietic and Lymphoid Systems. In **Basic Pathology**. Kumar, V., R.S. Cotran, and S.L. Robins. (Eds.) 7th ed. Saunders. Tokyo.
- Jepson, M.A. 2004. M cell targeting by lectins: a strategy for mucosal vaccination and drug delivery. **Adv. Narkoba. Deliv. Rev.** 56(4):511-525.
- Sahelian, R. 2010. Amyloidosis Disease Natural Treatment. www.amiloidosis/amyloidosisandmadcow.htm.
- Srianto, P., A. Samik, dan S.P. Madyawati. 1997. Pengaruh suplementasi ampas kedelai terhadap produktivitas sapi potong dan sapi perah. **Media Kedokteran Hewan** 13(3):228-233.
- Wahjuni, R.S. dan R. Bijanti. 2006. Uji efek samping formula pakan komplit terhadap fungsi hati dan ginjal pedet sapi Friesian Holstein. **Media Kedokteran Hewan** 22(3):174-179.
- Wardhani, N.K., A. Musofie, L. Affandhy, dan Aryogi. 1991. Pemberian ransum berprotein tinggi terhadap pertumbuhan awal pedet sapi perah betina. **J. Ilmiah Penelitian Ternak Grati** 2(1):19-23.
- Wareing, S. 1996. Investigation of the cell mediated immune response to jembrana disease virus proteins in cattle. **Proceedings Jembrana Disease and Bovine Lentiviruses**. Bali:94-103.