

Histopathology view of thymus in broiler chicken Infected by *Escherichia coli* And Given Kemangi Leaves (*Ocimum basilicum*) Extract

Doly Ihsan Siregar¹, Hamdani Budiman², Dwina Aliza², Ummu Balqis², Nuzul Asmilia³, Ismail⁴

¹Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁴Laboratorium Kesmavet Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

Alamat Korespondensi: dwinnal.aliza@unsyiah.ac.id

ABSTRACT

The aim of this study was to determined effect of kemangi leaves extract on level of doses to changes of microscopic structure of broiler thymus which infected by *Escherichia coli* (*E. coli*). This study used 15 DOC that raised for 34 days. Broiler divided into 5 treatment group with 3 repetition. Negative control (A0) given standard feed, positive control (A1) given standard feed and infected with *E.coli*. Group A2, A3, and A4 given standard feed and infected with *E. coli*, added with kemangi leaves extract in concentration of 2,5%, 3,5%, and 4,5%. *E. coli* infected through intra peritonium as much of 0,25 ml on 15th days. Kemangi leaves extract were given from 7th days to 34th days. Observation on A1 showed many empty room. A2 and A3 showed a bit repairment on thymus microscopic structure. In A4 thymus showed approaching normal appearance as in A0. In conclusion, kemangi leaves extract capable to repair microscopic structure of broiler thymus which infected with *E. coli*. Kemangi leaves administration at 4,5% dose had a better effectivity rather than dose of 2,5% and 3,5%.

Key words: Broiler, *E. coli*, Kemangi leaves (*Ocimum basilicum*), Thymus

PENDAHULUAN

Salah satu sektor peternakan yang menghasilkan bahan pakan hewani yang memiliki nilai gizi tinggi adalah peternakan broiler. Broiler atau ayam pedaging merupakan ternak unggas yang dipelihara secara intensif, dengan tujuan untuk memperoleh berat daging yang optimal. Permintaan terhadap daging ayam semakin tinggi seiring dengan bertambahnya pendapatan penduduk dan pengetahuan masyarakat terhadap pentingnya konsumsi protein hewani (Amrullah, 2003).

Salah satu masalah yang sering dihadapi sektor peternakan broiler adalah diare. Diare merupakan salah satu kelainan metabolisme yang mengakibatkan penurunan produksi dan kualitas ayam broiler. Diare pada unggas yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* patogen dikenal dengan kolibasilosis. Kolibasilosis memiliki arti ekonomi penting bagi

peternakan broiler karena dapat menimbulkan gangguan pertumbuhan, penurunan produksi, peningkatan jumlah ayam yang diafkir, penurunan kualitas karkas dan telur, serta kualitas anak ayam (DOC) (Tarmudji, 2003).

Selain itu, infeksi dari bakteri *E. coli* merupakan faktor pendukung timbulnya penyakit kompleks pada saluran pernafasan, pencernaan atau reproduksi yang sulit ditanggulangi. Kolibasilosis jarang menyerang secara tunggal, umumnya bersama-sama penyakit lain seperti salmonellosis, *New Castle Disease* (ND), malaria, dan lain-lain (Tabbu, 2000). Hal ini menunjukkan bahwa kolibasilosis memiliki sifat menekan sistem imun ayam broiler (imunodepresif).

Pengobatan dan pencegahan kolibasilosis dapat dilakukan dengan pemberian antibiotik, namun terapi antibiotik dapat meninggalkan residu yang membahayakan kesehatan konsumen

(Barton dan Hart, 2001). Untuk mengantisipasi agar ayam broiler tidak terinfeksi bakteri *E. coli* patogen, salah satunya dengan memberikan tambahan ramuan herbal yang berfungsi untuk menurunkan kandungan bakteri *E. coli* patogen yang terkandung dalam tubuh ayam broiler. Budidaya ayam broiler dengan ramuan herbal dapat dijadikan salah satu cara untuk mengurangi infeksi bakteri *E. coli* dalam tubuh ayam broiler.

Manfaat dari daun kemangi sebagai tanaman herbal diantaranya kandungan minyak atsiri (Sastroamodjojo, 2001). Menurut Maryati dkk. (2007), minyak atsiri daun kemangi mengandung eugenol yang tergolong turunan senyawa fenol yang mempunyai efek antibakteri dan bekerja merusak membran sel bakteri. Minyak atsiri mengganggu lapisan fosfolipid dari membran bakteri Gram negatif sehingga menyebabkan terjadi perubahan komposisi asam lemak dan fosfolipid membran sel dan menyebabkan terjadi pembengkakan sel. Hal tersebut mengakibatkan terjadinya permeabilitas dan hilangnya unsur pokok penyusun sel (Kim dkk., 1995).

Berdasarkan potensi yang dimiliki daun kemangi tersebut, diharapkan penggunaan ekstrak daun kemangi dapat memberikan kontribusi terhadap dunia peternakan broiler dalam mengobati infeksi bakteri *E. coli*, salah satunya dengan menurunkan inflamasi dan meningkatkan sistem imunitas tubuh serta tidak berdampak negatif pada manusia yang mengkonsumsinya.

MATERI DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi untuk pembuatan ekstrak daun kemangi, kandang ayam *teaching farm* untuk pemeliharaan

broiler, Laboratorium Mikrobiologi untuk membiakkan bakteri, pembuatan preparat histologi dan pengamatan secara mikroskopis dilaksanakan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala. Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2015 sampai Januari 2016.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan kandang ayam, tempat pakan, tempat minum, lampu 60 Watt, *litter*, ember, blender, jangka sorong, kertas saring, *rotary vacuum evaporator*, kamera, dan alat-alat laboratorium seperti gelas ukur, scalpel, spuit insulin, mikroskop, cawan petri, foto mikrograf, dan alat dalam pembuatan preparat histologi seperti mikrotom, *Hot plate*, penangas air, kertas karton, kertas label, kaca objek, dan kaca penutup serta kamera untuk dokumentasi.

Bahan yang digunakan adalah daun kemangi (*Ocimum basilicum*), aquades, air, etanol 70%, pakan ayam, Vitastress, *nutrient broth* (NB), *Mc Farland 1*, NBF 10% (*Neutral Buffered Formalin*), alkohol bertingkat (80%, 90%, 96%, dan 100%), silol, parafin blok, hemaktosilin dan eosin (HE), dan balsem Kanada.

Prosedur Penelitian

Pembuatan ekstrak daun kemangi

Daun kemangi sebanyak 4 kg disortasi, dicuci sampai bersih dengan air mengalir dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan serta terlindung dari sinar matahari langsung selama 2 minggu. Kemudian diblender dan diperoleh serbuk simplisia kering. Serbuk daun kemangi dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70% selama 24 jam dalam suhu kamar dengan perbandingan 50 g : 1 liter etanol. Setelah dimaserasi larutan yang didapat kemudian disaring dengan kertas saring atau kain kasa

sehingga diperoleh filtrat hasil saringan dan ampas. Lalu diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* sehingga dihasilkan ekstrak daun kemangi dalam bentuk pasta (Wahyuni, 2012).

Hewan coba

Hewan coba yang digunakan adalah anak ayam broiler umur sehari (DOC) strain 707 Pokphan. Ayam yang diujikan berjumlah 15 ekor yang masing-masing kelompok terdiri atas 3 ekor dan ditempatkan dalam satu kandang.

Pembiakan bakteri *E. coli*

Bakteri *E. coli* patogen didapat dari feses ayam yang terinfeksi kolibasilosis. Setelah itu bakteri ditanam dengan ose steril ke media *nutrient broth* (NB), dimasukkan ke inkubator selama 24 jam. Kemudian dibandingkan dengan *Mc Farland 1* untuk uji kekeruhan (1×10^6 cfu/ ml⁻¹).

Persiapan kandang dan peralatan

Kandang yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang dengan sistem litter yang beralaskan sekam. Dibuat 5 petak dengan ukuran 1x1 m, setiap kandang berisi 3 ekor DOC yang dilengkapi dengan satu tempat pakan, satu tempat minum, dan satu lampu 60 Watt. Sebelum DOC dimasukan ke kandang, lantai, pembatas kandang dan seluruh ruangan kandang disemprot dengan disinfektan. Cara ini digunakan untuk memutus rantai mikroorganisme yang merugikan.

Pemberian ekstrak daun kemangi dan penginfeksi bakteri *E. coli*

Pengacakan kandang dilakukan sebelum ayam broiler masuk ke dalam kandang dengan menyusun nomor perlakuan

terlebih dahulu pada setiap petak. Setiap petak dimasukkan 3 ekor ayam broiler. Hewan coba dibagi atas 5 kelompok dengan 3 kali pengulangan. Kelompok pertama (A0) adalah ayam yang diberi ransum standar (kontrol negatif). Kelompok kedua (A1) adalah ayam yang diberi ransum standar dan *E. coli* (kontrol positif). Kelompok ketiga (A2) adalah ayam yang diberi ransum standar, *E. coli* dan ekstrak daun kemangi 2,5%. Kelompok keempat (A3) adalah ayam yang diberi ransum standar, *E. coli* dan ekstrak daun kemangi 3,5%. Kelompok kelima (A4) adalah ayam yang diberi ransum standar, *E. coli* dan ekstrak daun kemangi 4,5%. Pemberian pakan dilakukan 2 kali sehari dan diadaptasi selama 6 hari. Pemberian ekstrak daun kemangi diberikan 1 kali sehari mulai dari hari ke 7 sampai hari ke 34 sesuai dengan dosis pada perlakuan. Semua ayam perlakuan diinfeksi bakteri *E. coli* secara intraperitonium sebanyak 0,25 ml pada hari ke-15 dengan populasi 1×10^6 cfu ml⁻¹ kecuali pada kelompok A0.

Pemeliharaan ayam broiler dilakukan selama 34 hari dengan sistem litter. Air minum diberikan secara *ad libitum*. Pemberian air minum pada DOC ditambahkan dengan vitastress selama 1 minggu pertama. Pemanenan ayam broiler dilakukan pada hari ke 34.

Pengambilan Sampel

Pada hari ke 34, sebanyak satu ekor ayam broiler dari setiap perlakuan diambil secara acak dan dikorbankan untuk diambil organ timusnya untuk selanjutnya dibuat prepat histologi.

Pembuatan Preparat

Organ timus yang telah diambil, ditimbang dan diukur volumenya. Selanjutnya difiksasi dengan menggunakan *neutral buffered formalin* (NBF) 10%

selama 24 jam, dehidrasi dengan menggunakan alkohol bertingkat (80%, 90%, 96%, dan 100%), *clearing* dengan silol, infiltrasi dengan parafin cair dan *embedding* dalam parafin blok. Selanjutnya blok sediaan dipotong dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan $5\mu\text{m}$ dan diletakkan di kaca objek, kemudian diwarnai dengan hematoksinilin dan eosin (HE). Selanjutnya *mounting* dengan menggunakan balsem Kanada, lalu ditutup dengan kaca penutup dan diamati di bawah mikroskop.

Parameter Penelitian

Parameter pada penelitian ini adalah melihat perubahan histopatologis pada timus yang meliputi folikel limfoid, septa interlobular, badan hassal dan kapsula.

Analisis Data

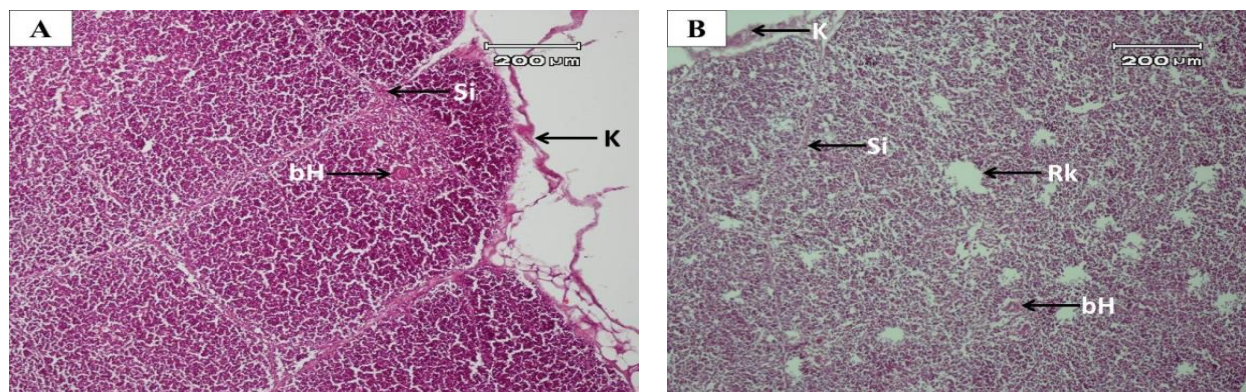
Data hasil pengamatan mikroskopis

pada timus dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian memperlihatkan adanya perbedaan struktur mikroskopik timus ayam broiler yang diinfeksi *E. coli* dan diberikan ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum*) pada ke 5 kelompok perlakuan. Pada kelompok A0 (kontrol negatif) yaitu ayam yang hanya diberikan pakan standar menunjukkan gambaran mikroskopik timus normal, yang terdiri atas folikel-folikel limfoid, badan Hassal dalam satu lobus, septa interlobular dan kapsula (Gambar 1A).

Pada kelompok A1 (kontrol positif) yaitu ayam broiler yang diberikan pakan standar dan diinfeksi *E. coli*, memperlihatkan kerusakan struktur mikroskopik timus yaitu pengurangan komposisi timus atau ruang-ruang kosong (folikel limfoid berkurang) dan hilangnya septa interlobular (Gambar 1B).



Gambar 1. Struktur mikroskopik hati ayam broiler (HE, 10x10). A) kelompok kontrol negatif (A0), B) kelompok kontrol positif (A1). Badan Hassal (bH), septa interlobular (Si), kapsul (K), ruang kosong (Rk)

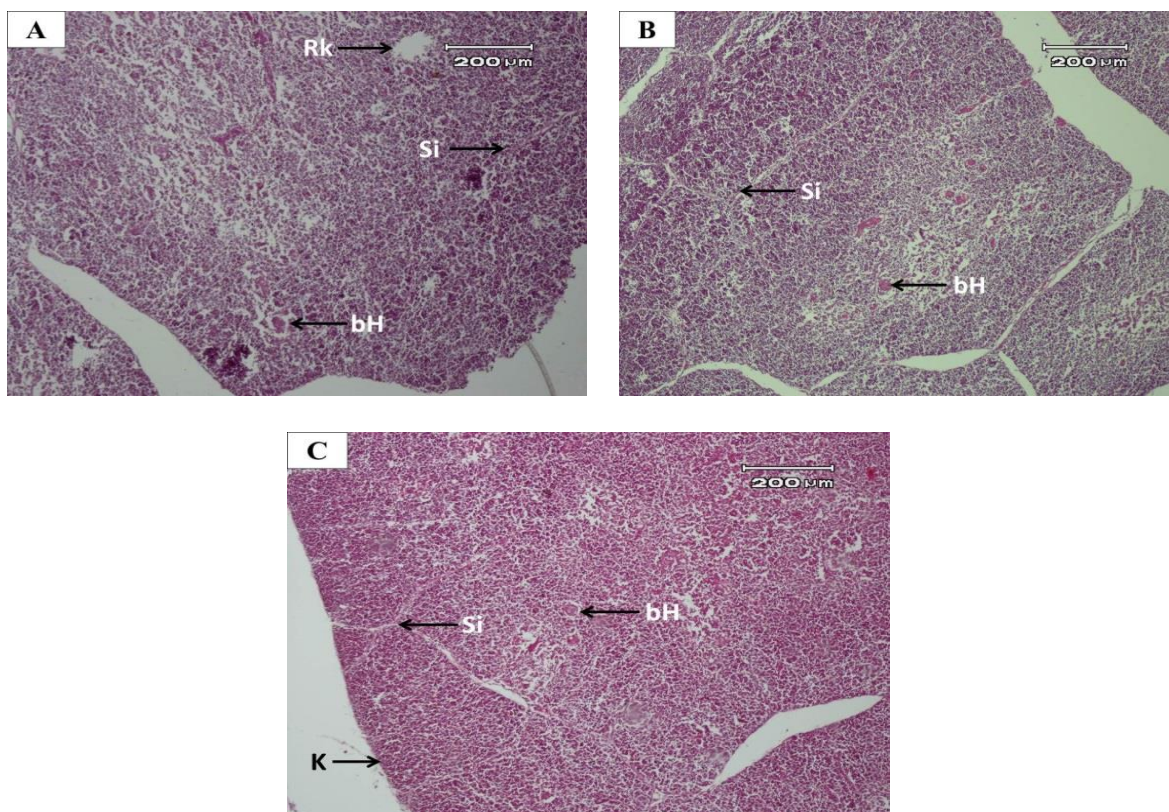
Pada kelompok A2 yaitu ayam broiler yang diberikan pakan standar dan diinfeksi *E. coli* dengan pemberian ekstrak daun kemangi dosis 2,5%, menunjukan adanya perbaikan pada struktur

mikroskopik timus yaitu berkurangnya ruang kosong pada timus. Namun pada kelompok perlakuan ini belum dapat dibedakan antara korteks dan medulla (Gambar 2A).

Pada kelompok A3 yaitu ayam broiler yang diberikan pakan standar dan diinfeksi *E. coli* dengan pemberian ekstrak daun kemangi dosis 3,5%, menunjukkan perbaikan struktur mikroskopik timus, namun tidak jauh berbeda dengan kelompok A2, perbaikan yang terlihat yaitu berkurangnya ruang kosong pada timus (Gambar 2B).

Pada kelompok A4 yaitu ayam broiler yang diberikan pakan standar dan

diinfeksi *E. coli* dengan pemberian ekstrak daun kemangi dosis 4,5%, menunjukkan gambaran struktur mikroskopik yang hampir sama dengan struktur mikroskopik timus ayam broiler pada kelompok A0. Perbaikan yang terlihat yaitu adanya badan hassal, folikel-folikel limfoid, septa interlobular, serta tidak ditemukan ruang-ruang kosong pada timus (Gambar 2C).



Gambar 2. Struktur mikroskopik hati ayam broiler (HE, 10x10). A) kelompok perlakuan A2, B) kelompok perlakuan A3, C) kelompok perlakuan A4. Badan Hassal (bH), septa interlobular (Si), kapsul (K), ruang kosong (Rk)

Timus merupakan salah satu organ limfoid primer pada unggas yang berfungsi dalam respon imun (Libriani, 2007). Adanya infeksi *E. coli* dapat menyebabkan *Colisepticemia* yaitu *E. coli* mampu memasuki aliran darah dan dapat mengakibatkan kerusakan pada berbagai

macam organ. Pada awal kerusakan organ akibat infeksi *E. coli* terlihat terbentuknya ruang-ruang kosong pada struktur mikroskopik timus yang artinya timus kehilangan sebagian besar sel timosit.

Terbentuknya ruang-ruang kosong pada timus dalam penelitian ini diduga timus

mengalami atropi. Hal ini sesuai dengan pendapat yang dinyatakan oleh Schmidt dkk. (2003) yang menyatakan bahwa, atropi pada timus dicirikan dengan hilangnya populasi limfosit dan hilangnya batas perbedaan antara medula dan korteks. Avian Influenza, virus Marek, serta beberapa virus penyebab IBD (*Infectious Bursal Disease*) dapat menimbulkan lesi yang serupa pada unggas, serta stres akibat nutrisi dan paparan hormon kortison juga dapat menyebabkan atropi.

Pada keadaan infeksi, kelenjar timus akan bekerja lebih keras, salah satunya menghasilkan hormon yang berfungsi dalam pematangan sel T dan memodulasi fungsi sel T (Nurhayati, 2001). Dengan demikian sel T yang dihasilkan pada saat infeksi lebih banyak dari keadaan normal untuk mempertahankan sistem imun tubuh. Selanjutnya Siregar (2009), menyatakan bahwa timus sebagian besar berisi sel T dengan fungsi mengenal dan menghancurkan sel yang terinfeksi bakteri atau virus, mengaktifkan makrofag dalam fagositosis dan membantu sel B dalam memproduksi antibodi.

Pemberian ekstrak daun kemangi pada kelompok perlakuan A2, A3, dan A4 memperlihatkan adanya perbaikan struktur mikroskopik timus yang ditandai dengan berkurangnya kerusakan pada sel timus. Daun kemangi memiliki khasiat sebagai antibakteri dan antiinflamasi. Kandungan bahan aktif yang sudah diteliti sebagai antibakteri adalah minyak atsiri dan tanin, sedangkan sebagai antiinflamasi adalah flavonoid. Dengan pemberian ekstrak daun kemangi sebagai antibakteri diduga akan meringankan kerja sel T sehingga timus tidak perlu lagi memproduksi sel T dalam jumlah yang banyak (Putra, 2015).

Minyak atsiri daun kemangi mengandung eugenol sebesar 61,76% dapat dijadikan sebagai antibakteri terhadap bakteri *E. coli*. Minyak atsiri ini lebih efektif terhadap bakteri Gram negatif, hal ini

disebabkan bakteri gram negatif memiliki konsentrasi lipid yang tinggi pada dinding selnya dan lipid ini akan larut dalam senyawa alkohol, sehingga dengan adanya eugenol (turunan fenol) yang terdapat pada minyak atsiri daun kemangi akan merusak dinding sel bakteri sehingga sel bakteri tersebut akan mengalami kerusakan, kemudian bakteri gram negatif mempunyai lapisan peptidoglikan yang tipis yang terdiri atas 1-2 lapisan dan susunan dinding selnya tidak kompak sehingga memiliki permeabilitas yang cukup tinggi mengakibatkan zat aktif minyak atsiri mudah untuk menembus dinding sel bakteri Gram negatif (Maryati dkk., 2007).

Mekanisme antibakteri terjadi karena pengikatan senyawa fenol dengan sel bakteri, kemungkinan akan mengganggu permeabilitas membran dan proses transportasi. Hal ini mengakibatkan hilangnya kation dan makromolekul dari sel sehingga sel akan terganggu atau mati (Maryati dkk., 2007). Selain minyak atsiri, daun kemangi juga mengandung flavonoid yang bersifat antibakteri. Flavonoid dapat menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi sel bakteri (Cushnie dan Lamb, 2005).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kemangi dapat memperbaiki struktur mikroskopik timus pada ayam broiler yang diinfeksi *E. coli*. Pemberian ekstrak daun kemangi dengan dosis 4,5% memiliki efektifitas yang lebih baik dari pada dosis 2,5% dan 3,5%.

DAFTAR PUSTAKA

Amrullah, I.K. 2003. **Nutrisi Ayam Broiler**. Lembaga Satu Gunungbudi, Bogor.

- Barton, M.D. and W.S. Hart. 2001. Public health risks: Antibiotic resistance. **Asian-Aus J. Animal Sci.** 14:414-422.
- Cushnie, T.P. dan Lamb, A.J. 2005. Antimicrobial activity of flavonoid. **J. Nat. Prod.** 26:343-356.
- Kim, J.M., M. Marshall, R. Coenell, J.F. Bostom, and C.I. Wei. 1995. Antibacteria activity of cacrol, citral, and geraniol against *Salmonella typhimurium* in culture medium and on fish cubes. **J. Food Sci.** 43:1365-1368.
- Libriani, R. 2007. Kajian Immunopatologi Sistem Limforetikular Mencit (*Mus musculus*) pada Persembuhan Luka Operasi dengan Pemberian Minyak Obat Luka Rantau. **Skripsi.** Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Maryati, R.S. Fauzia, dan T. Rahayu. 2007. Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum basilicum*) Terhadap *Staphylococcus* dan *Escherichia coli*. **Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi.** 8(1):30-38.
- Nurhayati, D. 2001. Imunomodulator Pada Infeksi Bakteri. **Thesis.** Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro. Semarang.
- Putra, R.P. 2015. Struktur Mikroskopik Hati Ayam Broiler yang Diinfeksi *Escherichia coli* dan Diberikan Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum basilicum*). **Skripsi.** Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.
- Sastroamodjojo. 2001. **Obat Asli Indonesia Edisi ke 6.** Dian Rakyat, Jakarta.
- Schmidt, R.E., D.R. Reavill, and D.N. Phimen. 2003. **Pathology of Pet and Aviary Birds.** Blacwell Publishing, Iowa.
- Siregar, C.J. 2009. Gambaran Respon Kebal Terhadap Infectious Bursal Disease (IBD) pada Ayam Pedaging yang Divaksinasi IBD Kille Setengah Dosis dan Ditantang dengan Virus IBD. **Skripsi.** Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Tabbu, C.R. 2000. **Kolibasilosis dalam Penyakit Ayam dan Penanggulangannya.** Kanisius, Yogyakarta.
- Tarmudji. 2003. Kolibasilosis pada ayam: etiologi, patologi dan pengendaliannya. **Wartazoa.** 13(2). 65-73.
- Wahyuni, N.Y., N. Mayasari dan Abun. 2012. Pengaruh penggunaan ekstrak kulit jengkol (*Pithecellobium jiringa* (Jack) Prain) dalam ransum terhadap nilai hematologi ayam broiler. **Jurnal Universitas Padjajaran.** 1(1): 1-5.