

PROFIL HEMATOLOGI ITIK PEKIN PADA FOTOPERIODE BERBEDA YANG DIKOMBINASIKAN DENGAN ADITIF PAKAN TEPUNG DAUN KELOR

Kasiyati*, Agata Rio Pratama, Muhammad Anwar Djaelani

Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro,
Jl. Prof. Soedarto, SH., Tembalang, Semarang 50275, Jawa Tengah, Indonesia

*Email: atikbudi77@gmail.com

Abstrak

Itik Pekin merupakan itik introduksi yang sudah dibudidayakan secara intensif di Indonesia. Dalam rangka meningkatkan kesehatan unggas dapat dilakukan perbaikan manajemen budi daya, diantaranya melalui perbaikan pencahayaan (aspek fotoperiode) dan nutrisi. Tujuan dari penelitian ini adalah menganalisis profil hematologi itik Pekin pada fotoperiode berbeda yang dikombinasikan dengan tepung daun kelor sebagai aditif pakan. Empat puluh ekor itik Pekin jantan digunakan dalam penelitian ini dibagi ke dalam delapan kelompok percobaan. Rancangan Acak Lengkap pola faktorial 2×4 diterapkan dalam penelitian ini. Faktor utama berupa fotoperiode, terdiri atas 2 level (20L:4D serta 24L:0D) dan aditif tepung daun kelor, terdiri atas 4 level (0, 2, 4, dan 6%). Analisis hasil menggunakan ANOVA-dua arah yang dikerjakan menggunakan program SAS. Tidak terdapat pengaruh interaksi ($P > 0,05$) pada semua parameter hematologi. Fotoperiode menghasilkan rasio H:L yang berbeda signifikan ($P < 0,05$), aditif tepung daun kelor 4% tanpa mempertimbangkan fotoperiode meningkatkan ($P < 0,05$) jumlah leukosit dan limfosit. Simpulan penelitian ini adalah kombinasi fotoperiode dengan aditif tepung daun kelor tidak mengubah profil hematologi; aditif tepung daun kelor 4% yang diberikan tanpa memperhatikan fotoperiode berdampak pada apoptosis; dan kenyamanan itik ditemukan pada fotoperiode 20L:4D dan 24L:0D.

Kata Kunci: fotostimulasi, apoptosis, diferensial leukosit, kenyamanan hewan

1. PENDAHULUAN

Itik Pekin merupakan salah satu jenis itik pedaging introduksi yang mulai banyak dibudidayakan secara intensif di Indonesia (Kusumaningtyas *et al.*, 2012). Pertumbuhan itik Pekin relatif cepat melalui pemeliharaan intensif, dalam waktu singkat sekitar 6-8 minggu sudah mencapai bobot 2,5-3,5 kg (Steczny *et al.*, 2017). Pertumbuhan itik yang optimal dapat dicapai jika hewan sehat dan tidak mudah stres. Salah satu indikator kesehatan hewan adalah dengan mengukur profil hematologi karena profil hematologi dapat berubah sesuai dengan kondisi fisiologis hewan (umur, seks, reproduksi, penyakit, nutrisi, migrasi). Profil hematologi yang umum digunakan untuk menentukan status kesehatan hewan adalah pengukuran eritrogram (terdiri atas kadar hemoglobin, nilai hematokrit, jumlah eritrosit, dan indeks eritrosit) dan leukogram (terdiri atas leukosit total dan diferensial leukosit). Nilai normal eritrogram maupun leukogram pada profil hematologi mengindikasikan hewan dalam status sehat (Clark *et al.*, 2009).

Berbagai laporan penelitian menyebutkan peningkatan status kesehatan hewan dipengaruhi oleh faktor internal dan eksternal. Faktor internal meliputi genetik, potensi metabolik, umur, dan jenis kelamin. Sementara, faktor eksternal terdiri atas kondisi lingkungan/perkandangan dan status nutrisi. Aspek cahaya dan nutrisi menjadi faktor lingkungan yang berpengaruh pada pertumbuhan dan status kesehatan hewan. Secara umum, cahaya natural maupun artifisial memiliki tiga aspek penting yang dapat mempengaruhi kehidupan aves, yakni intensitas, panjang gelombang (warna cahaya), dan durasi pencahayaan (fotoperiode) (Lewis dan Morris, 1998). Ketiga aspek cahaya tersebut secara langsung terlibat dalam tingkah laku, kenyamanan (*welfare*), kecepatan metabolisme, aktifitas harian, kesehatan, dan respons fisiologis, seperti pertumbuhan dan status reproduksi (Kasiyati, 2018). Fotoperiode dideskripsikan sebagai periode rotasi bumi selama 24 jam, terdiri atas periode tunggal dalam terang sebagai siang dan periode tunggal dalam gelap sebagai malam

(*scotoperiod*) (Rodenboorg *et al.*, 2001). Cahaya diterima oleh unggas melalui fotoreseptor baik melalui retina, kelenjar pineal, maupun fotoreseptor ekstraretinal pada otak. Stimulasi cahaya pada itik dapat mempengaruhi perilaku harian dan mengatasi stress pada unggas (House *et al.*, 2021) menemukan itik yang dipelihara pada fotoperiode 20L:4D (L: light; D: dark) memiliki metabolisme nutrisi yang lebih efisien dan respons imun humoral lebih kuat terhadap vaksin ND (*newcastle disease*) karena peningkatan FCR (*feed conversion ratio*) dan penurunan stress (rasio heterofil (H) : limfosit (L) yang rendah). Hasil penelitian Sajjad *et al.* (2020) juga tidak jauh berbeda, pemberian cahaya 23L:1D dapat menekan hormon melatonin dan meningkatkan stress oksidatif sehingga rasio H:L meningkat. Berdasarkan hasil penelitian yang telah diuraikan, cahaya berperan dalam memberikan suasana lingkungan yang nyaman bagi unggas sehingga tidak mudah stress, tetap sehat, dan dapat tumbuh dengan baik, pada gilirannya akan meningkatkan produktivitas unggas.

Selain faktor lingkungan yang berupa cahaya, pakan yang berkualitas juga merupakan faktor utama dalam budi daya itik. Pakan yang mengandung nutrisi (zat gizi) esensial sangat diperlukan untuk menghasilkan produk yang berkualitas. Peningkatan nilai gizi pakan dapat ditempuh dengan pemberian *feed additive* (tambahan pakan). *Feed additive* adalah suatu bahan yang dicampurkan ke dalam pakan yang dapat mempengaruhi kesehatan, produktivitas, maupun keadaan gizi, meskipun bahan tersebut bukan untuk mencukupi kebutuhan gizi (Sulistyoningsih *et al.*, 2014). Berdasarkan kandungan zat gizi dan komponen fitokimia, tepung daun dapat dijadikan sebagai alternatif bahan tambahan pakan (aditif pakan). Salah satu tanaman yang dimanfaatkan sebagai aditif pakan adalah tepung daun kelor. Zat gizi dan komponen fitokimia yang terkandung dalam tepung daun kelor adalah karbohidrat, protein, lemak, serat, vitamin B, vitamin C, vitamin E, mineral (K, Fe, Ca, Mg, Cu, S), dan antioksidan, seperti betakaroten, fenolat, serta flavonoid (Gopalakrishnan *et al.*, 2016; Mahfuz dan Piao, 2019). Daun kelor sering dimanfaatkan sebagai bahan pangan baik pada manusia maupun ternak. Laporan penelitian Syarifuddin (2017) menunjukkan daun kelor yang diberikan pada unggas petelur dapat memperbaiki efisiensi pakan, kinerja pertumbuhan, dan produksi telur. Selain itu, hasil penelitian Voemesse *et al.* (2019) juga memperlihatkan jumlah eritrosit, leukosit, hematokrit, dan limfosit pada ayam petelur lebih rendah seiring dengan peningkatan kadar tepung daun kelor yang digunakan sebagai aditif pakan. Kasiyati *et al.* (2021) juga menemukan kandungan protein dan zat besi yang relatif tinggi pada tepung daun kelor berkontribusi pada eritropoiesis itik lokal, ditandai dengan peningkatan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin. Hasil penelitian mengenai pemanfaatan tepung daun kelor sebagai aditif pakan sampai dengan saat ini sangat beragam sehingga masih diperlukan kajian dan penelitian yang mendalam mengenai aditif pakan tepung daun kelor.

Penelitian mengenai kombinasi fotoperiode dengan penambahan tepung daun kelor sebagai aditif pakan itik juga belum banyak dieksplorasi. Stimulasi cahaya yang diterima oleh itik memberikan dampak pada kekuatan dan kesehatan tulang yang secara langsung berpengaruh pada hematopoiesis (proses pembentukan darah), serta memberikan suasana lingkungan yang nyaman bagi itik. Sementara, penggunaan tepung daun kelor sebagai imbuhan pakan dapat menyediakan nutrisi esensial yang diperlukan pada hematopoiesis. Nilai normal pada profil hematologi dapat dijadikan sebagai indikator kesehatan sehingga penelitian ini bertujuan menganalisis profil hematologi itik Pekin pada fotoperiode berbeda yang dikombinasikan dengan tepung daun kelor sebagai aditif pakan.

2. METODE PENELITIAN

2.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan selama empat bulan di Kandang Percobaan, Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan, Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro Semarang. Pemeriksaan hematologi dilaksanakan di Laboratorium Veteriner, Tipe B

Semarang. Hewan uji yang dipergunakan dalam penelitian ini dipelihara sesuai dengan protokol pemeliharaan hewan yang telah ditentukan oleh Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, serta standar prosedur pemeliharaan hewan ternak yang tertuang dalam Undang-Undang Peternakan dan Kesehatan Hewan Republik Indonesia No 18, 2009.

2.2. Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap pola faktorial 2×4, faktor pertama berupa fotoperiode, terdiri atas dua level, yaitu 20L : 4D (20Light : 4Dark = 20 jam terang : 4 jam gelap) dan 24L : 0D. Faktor kedua berupa konsentrasi tepung daun kelor yang terdiri atas empat level, yaitu 0% (pakan tanpa tambahan tepung daun kelor), 2%, 4%, dan 6%. Masing-masing perlakuan terdiri atas 5 ulangan. Masing-masing perlakuan terdiri atas 5 ulangan. Perlakuan fotoperiode yang dikombinasikan dengan aditif tepung daun kelor dalam pakan diberikan selama enam minggu, dimulai pada itik umur 3 minggu hingga 8 minggu.

2.3. Hewan Coba dan Sistem Perandangan

Itik Pekin yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah 40 ekor itik jantan, umur 2 minggu yang diperoleh dari Balai Ternak Nonruminansia Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan, Banyubiru Ambarawa, Jawa Tengah, Indonesia. Itik Pekin ditempatkan ke dalam 40 petak kandang baterai secara acak untuk diaklimasi selama satu minggu. Setiap petak kandang baterai memiliki ukuran 40×35×60 cm³. Cahaya tambahan diberikan pada sore hingga pagi hari sesuai dengan fotoperiode yang diterapkan dalam penelitian ini. Sumber cahaya berasal dari lampu LED warna putih (3 W, 220-240V, Ekonomat Deko E-27, Lighting Solution Indonesia) yang ditempatkan di atas setiap petak kandang dengan jarak 60 cm dari atas penutup petak kandang baterai. Lampu dirangkai secara paralel yang dilengkapi dengan timer. Selama penelitian berlangsung, dilakukan pengukuran temperatur dan kelembaban kandang menggunakan termohigrometer (Krisbow seri 10207852).

2.4. Formulasi Pakan

Pakan itik yang digunakan pada penelitian ini adalah pakan standar untuk itik starter (2-3 minggu) berbentuk *crumble* dan pakan itik finisher (4-8 minggu) berbentuk *pellet*. Komposisi dan kandungan nutrisi pakan ditampilkan pada Tabel 1. Pakan standar dan tepung daun kelor dibeli dari supplier lokal Jawa Tengah. Stok pakan setiap kelompok perlakuan dibuat setiap minggu dengan cara mencampurkan satu bagian pakan standar dengan satu bagian tepung daun kelor (sesuai dengan konsentrasi), diaduk hingga homogen, kemudian disimpan dalam wadah plastik kering dan bersih sesuai dengan kelompok perlakuan. Pakan dan minum tersedia *ad libitum* sehingga semua itik penelitian dapat mengakses secara bebas. Perlakuan pakan yang sudah ditambah dengan tepung daun kelor diberikan dua kali sehari, yaitu pagi (pukul 07.00 WIB) dan sore hari (pukul 15.00 WIB).

Tabel 1. Komposisi dan kandungan nutrisi pakan itik Pekin selama penelitian

Bahan Pakan	Konsentrasi tepung daun kelor dalam pakan (%)							
	Periode starter (2-3 minggu)				Periode finisher (4-8 minggu)			
	0	2	4	6	0	2	4	6
Pakan standar	100	98	96	94	100	98	96	94
Tepung daun kelor	0	2	4	6	0	2	4	6
Total	100	100	100	100	100	100	100	100
Kandungan nutrisi hasil analisis laboratorium								
Energi metabolis (kkal/kg)	2576,80	2662,75	2783,55	2875,90	2489,90	2616,70	2980,90	3023,55
Protein kasar (%)	16,89	17,50	19,89	20,67	16,70	17,34	19,02	20,11
Lemak kasar (%)	6,28	5,70	5,57	5,24	6,12	5,89	5,72	5,51
Serat kasar (%)	2,40	2,54	2,63	2,71	2,36	2,43	2,51	2,60

2.5. Pengambilan Sampel Darah dan Pengukuran Parameter

Sampel darah diambil pada saat itik berumur 7 minggu menggunakan spuit injeksi 3 mL (BD syringe) melalui vena brachialis pada bagian sayap. Sebelum diambil darahnya, area brachialis disterilkan dengan kapas yang telah diberi alkohol, kemudian spuit ditusukan pada otot brachialis, ujung spuit diarahkan pada vena brachialis (area yang berbentuk V), piston spuit ditarik pelan-pelan sehingga darah akan masuk ke dalam spuit. Darah yang berada dalam tabung spuit segera dipindahkan ke tabung berisi EDTA (*ethylene diamine tetraacetic acid*) dengan cara melepaskan jarum spuit, dengan arah 45° ujung spuit ditempelkan pada permukaan bibir tabung EDTA, kemudian piston spuit ditekan sehingga sampel darah akan mengalir pelan melalui dinding tabung masuk ke dalam tabung EDTA. Sampel darah yang sudah diperoleh didiamkan beberapa saat dalam suhu ruang, kemudian semua sampel darah ditempatkan ke dalam *cooler bag* untuk dibawa ke laboratorium, selanjutnya dilakukan pengukuran parameter hematologi yang meliputi pengukuran eritrogram (eritrosit, hemoglobin, hematokrit, MCV: *mean corpuscular volume*, MCH: *mean corpuscular hemoglobin*, dan MCHC: *mean corpuscular hemoglobin concentration*) dan leukogram (leukosit, limfosit, heterofil, dan rasio heterofil:limfosit). Semua parameter hematologi diperiksa menggunakan *Vet Auto Hematology Analyzer M-HEMA100* dengan reagent ABX micro 60.

2.6. Analisis Data

Semua data dianalisis menggunakan ANOVA dua arah yang dikerjakan dengan program SAS versi 9.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) dan beda nyata antarfaktor utama diuji dengan uji jarak berganda Duncan. Apabila interaksi antarfaktor utama signifikan, maka dilakukan uji interaksi menggunakan prosedur Least Squares Means (Lsmeans) pada program SAS. Beda nyata dievaluasi pada taraf $P < 0.05$.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Eritrogram

Hasil penelitian berupa pengukuran eritrogram ditampilkan pada Tabel 2. Fotoperiode yang diterapkan pada penelitian ini tanpa mempertimbangkan aditif tepung daun kelor maupun sebaliknya tidak memiliki pengaruh yang signifikan ($P > 0,05$) pada semua parameter eritrogram. Demikian pula interaksi antara fotoperiode dengan aditif tepung daun kelor juga tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) pada nilai hematokrit, kadar hemoglobin (Hb), jumlah eritrosit, MCV, MCH, dan MCHC.

Berdasarkan hasil analisis, fotoperiode yang berbeda, pemberian aditif tepung daun kelor, maupun kombinasi antara fotoperiode dengan aditif tepung daun kelor tidak mengubah nilai eritrogram. Artinya, bahwa perlakuan yang diberikan tidak memberikan dampak negatif pada proses pembentukan darah, khususnya eritropoiesis itik penelitian. Hasil penelitian ini mendukung temuan Mohamed *et al.* (2020), serta Moore dan Siopes (2000) bahwa penambahan cahaya tidak berpengaruh pada jumlah eritrosit dan hemoglobin. Lebih jauh Maekawa dan Kato (2015) menyatakan faktor-faktor yang mempengaruhi eritropoiesis adalah kondisi hipoksia (yang memicu produksi eritropoietin), nutrisi, dan suhu lingkungan. Fotoperiode lebih berpengaruh terhadap pertumbuhan, perilaku, dan tingkat stress hewan yang dapat diketahui dari rasio heterofil: limfosit (H : L) daripada proses eritropoiesis.

Aditif tepung daun kelor yang diberikan pada itik penelitian juga tidak berdampak negatif pada nilai eritrogram, walaupun dari penelitian sebelumnya diketahui kandungan protein, vitamin B₁₂, dan zat besi relatif tinggi pada tepung daun kelor. Nutrien esensial seperti vitamin B₁₂, asam folat, zat besi, dan protein diperlukan pada eritropoiesis, terutama dalam pembentukan eritrosit normal dan sintesis hemoglobin. Hasil penelitian ini sesuai dengan laporan penelitian Mulaudzi *et al.* (2019) bahwa penggunaan tepung daun kelor sebagai

tambahan pakan sampai dengan 5% tidak mengubah kadar hemoglobin puyuh. Hemoglobin berfungsi mengikat oksigen dan mengedarkannya ke seluruh tubuh untuk didistribusikan ke setiap sel-sel tubuh yang memerlukan. Oksigen sangat dibutuhkan dalam metabolisme aerob, apabila kadar hemoglobin di dalam darah tinggi, maka jumlah oksigen yang terikat pun juga meningkat.

Nilai eritrogram pada penelitian ini masih dalam kisaran normal (Tabel 3). Kondisi ini dapat diartikan bahwa fotoperiode maupun aditif tepung daun kelor tidak mengganggu mekanisme pembentukan maupun pembongkaran darah. Terdapat dugaan bahwa kandungan antioksidan daun kelor berperan dalam menjaga konsistensi membran eritrosit sehingga tidak mudah dirusak oleh spesies oksigen reaktif (ROS: *reactive oxygen species*). Akibatnya, jumlah eritrosit, kadar hemoglobin, dan nilai eritrositik yang lain (MCV, MCH, MCHC) tetap dalam batas normal. Cui *et al.* (2018) dan Ahmed *et al.* (2020) menyatakan daun kelor mengandung antioksidan alami yang tinggi, antara lain α -tokoferol, asam askorbat, karotenoid, polisakarida, poliflavonoid, saponin, polifenol, tanin, dan proantosianidin. Kandungan antioksidan tersebut mampu menangkal radikal bebas dan mengurangi stress oksidatif yang berdampak buruk pada sel.

Tabel 2. Nilai eritrogram itik Pekin pada fotoperiode berbeda yang dikombinasikan dengan aditif tepung daun kelor

Perlakuan	Hematokrit (%)	Hemoglobin (g/dL)	Eritrosit ($\times 10^{12}/L$)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)
<i>Fotoperiode</i>						
20L:4D	41,58 \pm 2,84	15,62 \pm 1,13	3,24 \pm 0,22	128,70 \pm 4,32	48,20 \pm 1,76	37,90 \pm 2,15
24L:0D	39,71 \pm 3,07	14,83 \pm 1,35	3,08 \pm 0,28	129,90 \pm 3,13	48,10 \pm 2,01	37,30 \pm 1,76
<i>Tepung daun kelor (%)</i>						
0	37,83 \pm 5,95	14,58 \pm 1,89	3,05 \pm 0,41	125,00 \pm 4,11	47,70 \pm 1,29	38,50 \pm 2,09
2	41,83 \pm 2,57	15,50 \pm 1,48	3,20 \pm 0,26	130,70 \pm 3,99	48,40 \pm 2,82	37,60 \pm 2,27
4	43,50 \pm 1,76	16,25 \pm 0,29	3,34 \pm 0,13	131,10 \pm 1,91	48,70 \pm 2,19	37,40 \pm 1,36
6	39,42 \pm 2,58	14,58 \pm 1,30	3,04 \pm 0,20	130,40 \pm 4,88	47,80 \pm 1,25	36,90 \pm 2,10
<i>Fotoperiode \times Tepung daun kelor</i>						
20L:4D \times 0%	39,17 \pm 4,20	15,83 \pm 0,76	3,23 \pm 0,23	122,00 \pm 6,75	49,00 \pm 1,11	40,60 \pm 2,87
20L:4D \times 2%	43,17 \pm 3,82	15,67 \pm 1,44	3,23 \pm 0,25	132,40 \pm 1,65	48,40 \pm 2,70	37,50 \pm 1,84
20L:4D \times 4%	44,17 \pm 1,26	16,17 \pm 0,29	3,38 \pm 0,08	131,30 \pm 2,62	47,70 \pm 1,24	36,60 \pm 0,55
20L:4D \times 6%	39,83 \pm 2,08	14,83 \pm 2,02	3,10 \pm 0,30	129,10 \pm 6,24	47,70 \pm 2,00	37,10 \pm 3,35
24L:0D \times 0%	36,50 \pm 7,70	13,33 \pm 3,01	2,87 \pm 0,58	128,10 \pm 1,47	46,30 \pm 1,47	36,40 \pm 1,31
24L:0D \times 2%	40,50 \pm 1,32	15,33 \pm 1,52	3,17 \pm 0,26	128,90 \pm 6,33	48,40 \pm 2,94	37,80 \pm 2,70
24L:0D \times 4%	42,83 \pm 2,25	16,33 \pm 0,29	3,30 \pm 0,18	130,90 \pm 1,19	49,60 \pm 3,15	38,20 \pm 2,17
24L:0D \times 6%	39,00 \pm 1,00	14,33 \pm 0,58	2,98 \pm 0,10	131,70 \pm 3,51	48,00 \pm 0,49	36,70 \pm 0,85

Data yang ditampilkan rata-rata \pm standar deviasi (SD).

Tidak terdapat pengaruh signifikan ($P > 0,05$) pada masing-masing faktor utama (fotoperiode maupun aditif tepung daun kelor)

Tidak terdapat pengaruh interaksi (fotoperiode \times tepung daun kelor) ($P > 0,05$)

Tabel 3. Perbandingan nilai eritrogram hasil penelitian dengan nilai normal

Parameter	Eritrogram hasil penelitian	Nilai normal eritrogram ¹⁾
Hematokrit (%)	37,83–43,5	30–49
Hemoglobin (g/dL)	14,58–16,25	10,2–15,1
Eritrosit ($\times 10^{12}/L$)	3,05–3,40	2,50–3,90
MCV (fl)	125,0–131,1	104,0–135,0
MCH (pg)	47,7–48,7	32,0–43,9
MCHC (g/dL)	36,9–38,5	30,2–36,2

¹⁾ Harrison dan Lightfoot (2017)

Spesies oksigen reaktif seperti hidrogen peroksida, secara tidak langsung merusak integritas membran eritrosit melalui produk degradasi hemoglobin yang berasosiasi dengan membran eritrosit (Goodchild dan DuRant, 2020). Antioksidan telah terbukti memiliki sejumlah pengaruh menguntungkan pada sel darah, antara lain melindungi sel dari peroksidasi lipid dan meningkatkan kadar *glutathione* tereduksi (GSH), serta mengurangi jumlah spesies oksigen reaktif (Balushi *et al.*, 2019). Fluktuasi dalam kisaran normal pada nilai hematologi merupakan fenomena yang normal dan diduga berhubungan dengan status fisiologis unggas. Aina dan Ajibade (2014) menyatakan selain faktor kecukupan nutrisi, jumlah eritrosit juga dipengaruhi oleh umur, jenis kelamin, aktivitas, status gizi, stress, dan faktor lingkungan. Tijani *et al.* (2016) melaporkan penambahan tepung daun kelor dalam pakan ayam broiler hingga 15% tidak meningkatkan jumlah eritrosit. Liaqat *et al.* (2016) dan Antyev *et al.* (2020) juga melaporkan aditif tepung daun kelor tidak berpengaruh signifikan pada parameter hematologis ayam broiler.

Nilai MCV pada penelitian ini masih dalam kisaran normal, hal ini dapat menjadi indikator bahwa ukuran eritrosit masih normal. Demikian juga dengan nilai MCH dan MCHC pada penelitian ini juga berada dalam rentang normal. MCH merupakan indikator ukuran massa hemoglobin di dalam sel darah merah. Peningkatan ukuran massa hemoglobin di dalam sel darah merah menandakan kemampuan darah untuk mengangkut oksigen dari paru-paru ke jaringan juga meningkat. Sedangkan MCHC merupakan indikator untuk mengetahui konsentrasi hemoglobin disetiap unit eritrosit. Peningkatan nilai MCHC sejalan dengan peningkatan hemoglobin. Hasil pengukuran nilai MCV, MCH, dan MCHC pada penelitian ini sejalan dengan temuan Zanu *et al.* (2011), Akpodiete *et al.* (2014), Liaqat *et al.* (2016), dan Faluyi *et al.* (2018).

3.2. Leukogram

Nilai leukogram yang diukur pada penelitian ini ditampilkan pada Tabel 4. Berdasarkan tabel tersebut diketahui bahwa fotoperiode tanpa mempertimbangkan aditif tepung daun kelor berpengaruh signifikan ($P < 0,05$) pada jumlah heterofil dan rasio heterofil : limfosit (H : L). Demikian juga aditif tepung daun kelor tanpa mempertimbangkan fotoperiode berpengaruh signifikan ($P < 0,05$) pada jumlah leukosit dan jumlah limfosit. Sementara, interaksi antara fotoperiode dengan aditif tepung daun kelor tidak berpengaruh ($P > 0,05$) pada semua nilai leukogram.

Tabel 4. Nilai leukogram itik Pekin pada fotoperiode berbeda yang dikombinasikan dengan aditif tepung daun kelor

Perlakuan	Leukosit ($\times 10^9/L$)	Heterofil ($\times 10^9/L$)	Limfosit ($\times 10^9/L$)	Rasio H:L
<i>Fotoperiode</i>				
20L:4D	107,75 \pm 8,51	7,29 ^a \pm 1,64	100,50 \pm 9,28	0,07 ^a \pm 0,02
24L:0D	98,96 \pm 9,88	4,58 ^b \pm 1,45	94,38 \pm 8,99	0,05 ^b \pm 0,01
<i>Tepung daun kelor (%)</i>				
0	92,33 ^b \pm 15,07	5,83 \pm 2,39	86,50 ^b \pm 14,92	0,07 \pm 0,02
2	104,17 ^{ab} \pm 7,89	5,67 \pm 2,02	98,50 ^{ab} \pm 7,75	0,06 \pm 0,02
4	112,42 ^a \pm 5,59	7,17 \pm 0,39	105,30 ^a \pm 5,42	0,05 \pm 0,01
6	104,50 ^{ab} \pm 8,23	5,08 \pm 1,33	99,42 ^{ab} \pm 8,48	0,06 \pm 0,02
<i>Fotoperiode \times Tepung daun kelor</i>				
20L:4D \times 0%	100,17 \pm 7,11	7,33 \pm 2,02	92,83 \pm 9,07	0,08 \pm 0,03
20L:4D \times 2%	107,83 \pm 7,52	6,67 \pm 1,89	101,20 \pm 8,13	0,07 \pm 0,02
20L:4D \times 4%	113,33 \pm 8,52	8,83 \pm 0,29	104,50 \pm 8,66	0,09 \pm 0,01
20L:4D \times 6%	109,67 \pm 10,87	6,33 \pm 2,36	103,30 \pm 11,27	0,06 \pm 0,02
24L:0D \times 0%	84,50 \pm 23,02	4,33 \pm 2,75	80,17 \pm 20,76	0,05 \pm 0,02
24L:0D \times 2%	100,50 \pm 8,26	4,67 \pm 2,25	95,83 \pm 7,37	0,05 \pm 0,02

Perlakuan	Leukosit ($\times 10^9/L$)	Heterofil ($\times 10^9/L$)	Limfosit ($\times 10^9/L$)	Rasio H:L
24L:0D \times 4%	111,50 \pm 2,65	5,50 \pm 0,50	106,00 \pm 2,18	0,05 \pm 0,01
24L:0D \times 6%	99,33 \pm 5,58	3,83 \pm 0,29	95,50 \pm 5,68	0,04 \pm 0,02

Data yang ditampilkan rata-rata \pm standar deviasi (SD).

^{a-b}Rata-rata yang diikuti dengan superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$)

Tidak terdapat pengaruh interaksi (fotoperiode \times tepung daun kelor) ($P > 0,05$)

Penambahan tepung daun kelor dalam pakan itik pada penelitian ini berdampak pada peningkatan jumlah leukosit. Hasil pengukuran leukosit pada penelitian ini berbeda dari hasil penelitian El-Dakroury (2019), Antyev *et al.* (2020), dan Kasiyati *et al.* (2021). Perbedaan hasil penelitian mungkin disebabkan oleh jenis hewan coba, umur, dan status fisiologis. Jumlah leukosit dalam penelitian ini lebih tinggi dari nilai normal, yaitu $1,9-9,5 \times 10^9/L$ (Harrison dan Lightfoot, 2017). Namun demikian, berdasarkan pengamatan secara keseluruhan tidak ditemukan gangguan kesehatan pada itik penelitian. Jumlah leukosit dan limfosit pada kelompok aditif tepung daun kelor 4% lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok tanpa aditif tepung daun kelor, kondisi ini diduga berkaitan dengan peran sitotoksik komponen bioaktif tepung daun kelor. Peran sitotoksik bioaktif daun kelor dapat ditempuh melalui apoptosis.

Apoptosis merupakan proses normal dalam perkembangan dan homeostasis sel, serta sudah diprogram oleh setiap sel, dengan tujuan untuk menjaga populasi sel. Apoptosis dapat terjadi pada sel-sel yang telah menua, sel yang sudah melaksanakan fungsi fisiologis, ataupun sel yang berpotensi berkembang menjadi sel kanker/tumor. Komponen fitokimia daun kelor diduga dapat menginduksi apoptosis pada sel-sel yang telah melaksanakan fungsi fisiologis, sel yang menua dalam sistem sirkulasi, dan sel dengan beban kerja metabolisme tinggi. Itik penelitian yang diperiksa sampel darahnya berada pada fase finisher, pada fase ini kecepatan pertumbuhan meningkat pesat yang diimbangi dengan peningkatan laju metabolisme, terutama metabolisme energi. Peningkatan laju metabolisme dapat berdampak pada peningkatan produksi radikal bebas. Sel-sel tubuh yang memiliki aktivitas metabolisme tinggi mudah terdampak oleh radikal bebas. Dalam rangka mencegah dampak negatif dari radikal bebas, sel dapat memprogramkan dirinya untuk masuk ke dalam fase apoptosis.

Ahmed *et al.* (2020) melaporkan bahwa ekstrak daun kelor berpotensi melawan sel yang akan berkembang menjadi *cell line* untuk sel kanker hati, sel kanker kolon, dan sel kanker serviks. Cell line tersebut dideteksi mengalami kematian melalui apoptosis. Esmann *et al.* (2010) menyatakan badan apoptotik dari sel-sel yang mengalami apoptosis dapat dicerna oleh neutrofil (heterofil pada aves) dan sebagian kecil dapat dicerna oleh leukosit. Walaupun jumlah heterofil pada penelitian ini tidak signifikan, namun secara numerik jumlah heterofil pada kelompok aditif tepung daun kelor lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok tanpa aditif tepung daun kelor. Demikian pula jumlah limfosit pada kelompok 4% lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok lainnya. Peningkatan jumlah limfosit ini kemungkinan terkait dengan mekanisme apoptosis. Sel-sel apoptotik dapat difagositosis oleh neutrofil dan makrofag. Gregory dan Devitt (2004), serta Chang *et al.* (2008) mengemukakan makrofag yang melaksanakan fagositosis dapat mensintesis dan melepaskan interleukin-1 (IL-1). Peningkatan interleukin-1 menstimulasi pertumbuhan dan proliferasi sel-sel limfosit.

Fotoperiode berpengaruh nyata ($P < 0,05$) pada rasio heterofil : limfosit (H : L) itik penelitian. Sebaliknya, aditif tepung daun kelor maupun interaksi antara fotoperiode dengan aditif tepung daun kelor tidak berpengaruh signifikan ($P > 0,05$). Rasio H : L dapat dijadikan indikator stress fisiologis. Mekanisme fotoperiode mempengaruhi rasio H : L belum dapat diungkapkan secara jelas, namun berdasarkan hasil pada Tabel 4, rasio H : L masih lebih rendah dari nilai normal, yaitu 0,4-0,5 (Scanen dan Christensen, 2014). Meskipun rasio H : L rendah akan tetapi tidak ditemukan gangguan kesehatan pada itik penelitian dan itik masih dalam kondisi nyaman. Kenyamanan itik dapat dinilai dari munculnya ekspresi perilaku alamiah

seperti yang ditemukan oleh Kasiyati dan Djaelani (2020). Hasil penelitian ini sejalan dengan temuan House *et al.* (2021) bahwa itik yang dipelihara pada fotoperiode 20L:4D memiliki rasio H : L yang lebih rendah dibandingkan dengan itik pada fotoperiode 16L:8D. Johnstone *et al.* (2012) menyatakan peningkatan rasio H : L berkaitan dengan kesiapan mengatasi infeksi dari luka (melalui heterofil) daripada penyakit menular (melalui limfosit). Minias (2019) juga mengemukakan perubahan rasio H : L dalam jangka pendek dimediasi oleh hormon stress, yaitu glukokortikoid akan merangsang limfosit untuk berpindah dari darah yang bersirkulasi ke kompartemen seperti kulit, limpa dan kelenjar getah bening. Limfosit lebih berguna jika terjadi luka dan pada saat yang sama dapat menginduksi masuknya heterofil dari sumsum tulang masuk ke dalam darah. Oleh sebab itu, rasio H : L meningkat dalam kondisi stress.

4. SIMPULAN, SARAN, DAN REKOMENDASI

Simpulan dari penelitian ini adalah

1. Kombinasi fotoperiode dan aditif tepung daun kelor tidak mengubah profil hematologi itik Pekin.
2. Aditif tepung daun kelor 4% yang diberikan tanpa mempertimbangkan fotoperiode dapat berdampak pada apoptosis, diindikasikan dengan peningkatan leukosit dan limfosit.
3. Kenyamanan itik dapat ditemukan pada kedua fotoperiode, yaitu 20L:4D dan 24L:0D.

Saran dari penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai aditif tepung daun kelor pada mekanisme apoptosis, proliferasi limfosit, dan evaluasi eritropoietin.

Rekomendasi dari penelitian ini adalah tepung daun kelor dapat dijadikan sebagai aditif pakan unggas dengan memperhatikan konsentrasi yang diberikan. Disamping itu, paparan cahaya juga dapat diaplikasikan untuk meningkatkan kenyamanan unggas sehingga dalam jangka panjang produktivitas unggas dapat meningkat.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, W.A., Keshwaa, F.A.A., Hameed, O.H.M. (2020). Potential role of *Moringa oleifera* on different cell line and experimental animal model. *Cancer Biology*. 10(3), 63-69. doi:10.7537/marscbj100320.05.
- Aina, O.O., Ajibade, T. (2014). Age-related changes in haematologic parameters of cage-raised Japanese quails (*Coturnix japonica*). *J Vet Med Anim Health*. 6(4), 104-108.
- Akpodiete, O.J, Obakanurhe, O., Okagbare, G.O. (2014). Performance evaluation of broiler chicken fed *Moringa oleifera* leaf meal (MOLM). *Conference Proceedings, XIV World Poultry Conference*. Norway: Stavanger .
- Antyev, M., Wafar, R.J., Akyume, T.T., (2020). Evaluation of *Moringa (Moringa oleifera)* leaf meal as a feed additive in broiler chickens diets. *Inter J Vet Sci Anim Hus*. 5(5), 12-17.
- Balushi, H., Hannemann, A., Rees, D., Brewin, J., Gibson, J.S. (2019). The effect of antioxidants on the properties of red blood cells from patients with sickle cell anemia. *Frontiers in Physiology*. 10, 976.
- Chang, D.T., Jones, J.A., Meyerson, H., Colton, E., Kwon, K., Matsuda, T., Anderson, J.M. (2008). Lymphocyte/macrophage interaction: biomaterial surface-dependent cytokine, chemokine, and matrix protein production. *J Biomed Mater Res A*. 87(3), 1-22. doi:10.1002/jbm.a.31630.
- Clark, P., Boardman, W.S.J., Raidal, S.R. (2009). *Atlas of Clinical Avian Hematology*. USA: Wiley Blackwell.
- Cui, Y., Wang, J., Zhang, H., Feng, J., Wu, S., Qi, G. (2019). Effect of photoperiod on growth performance and quality in layer ducks during pullets phase. *Poult Sci*. 98, 1190-1201.
- El-Dakroury, M.F. (2019). Evaluation of *moringa oleifera* leaves powder on some blood parameters and performances of broilers. *Egypt J Vet Sci. (special issue)*, 81-88.
- Esmann, L., Idel, C., Sarkar, A., Hellberg, L., Behnen, M., Moller, S., van Zanbergen, G., Klinger, M., Kohl, J., Bussmeyer, U., Solbach, W., Laskay, T. (2010). Phagocytosis of apoptotic cells by neutrophil granulocytes: diminished proinflammatory neutrophil functions in the presence of apoptotic cells. *The Journal of Immunology*. 184, 391-400. DOI: 10.4049/jimmunol.0900564.
- Faluyi, O.B., Agbede, J.O. (2018). Immuno-modulatory activity of aqueous leaf extract of *moringa oleifera* in broiler chickens. *Inter J Env Agri Biotech*. 3(1), 49-54.

- Goodchild, C.G., DuRant, S.E. (2020). Fluorescent heme degradation products are biomarkers of oxidative stress and linked to impaired membrane integrity in avian red blood cells. *Phys Biochem Zoo.* 93, 129-139.
- Gopalakrishnan, L., Doriya, K., Kumar, D.S. (2016). *Moringa oleifera*: a review on nutritive importance and its medical application. *Food Sci and Hum Well.* 5, 49-56.
- Gregory, C.D., Devitt, A. (2014). The macrophage and the apoptotic cell an innate immune interaction viewed simplistically?. *Immunology.* 113, 1-14. Doi:10.1111/j.1365-2567.2004.01959.x
- Harrison, G.J., Lightfoot, T.L. (2017). *Clinical Avian Medicine, Vol 2.* London: Academic Press.
- House, G.M., Sobotik, E.B., Nelson, J.R., Archer, G.S. (2021). Pekin duck productivity, physiological stress, immune response and behavior under 20L:4D and 16L:8D photoperiods. *App Anim Behav Sci.* 240, 105351.
- Johnstone, C.P., Reina, R.D., Lill, A. 2012. Interpreting indices of physiological stress in free-living vertebrates. *J Comp Phys B.* 182, 861-879.
- Kasiyati., Djaelani, M.A., Sunarno. (2021). Respons hematologi itik Pengging yang diberi tepung daun kelor (*Moringa oleifera*. Lam) sebagai imbuhan pakan. *Jurnal Veteriner.* 22(1), 8-15. DOI: 10.19087/jveteriner.2021.22.1.8
- Kasiyati., Djaelani, M.A. (2020). Respons perilaku itik Pekin pada fotoperiode berbeda. *Prosiding Seminar Nasional Biologi VIII.* 560-570. Semarang: LPPM Universitas Negeri Semarang. [17 September 2020]
- Kasiyati. (2018). Peran cahaya bagi kehidupan unggas: respons pertumbuhan dan reproduksi. *Buletin Anatomi Fisiologi.* 3(1), 116-125.
- Kusumaningtyas, P., Garnida, D., Suci, D.M., Huminto, H. (2012). *Itik Potensi Bisnis dan Kiat Sukses Praktisi.* Jakarta: Agriflo.
- Lewis, P.D., Morris, T.R. (1998). Responses of domestic poultry to various light sources. *World's Poult Sci J.* 54, 72-75.
- Liaqat, S., Mahmood, S., Ahmad, S., Kamran, Z., Koutoulis, K.C. (2016). Replacement of canola meal with *Moringa oleifera* leaf powder affects performance and immune response in broilers. *J Appl Poult Res.* 25, 352–358.
- Maekawa, S., Kato, T. (2015). Diverse of erythropoiesis responding to hypoxia and low environmental temperature in vertebrates. *BioMed Res Inter.* ID 747052.
- Mahfuz, S., Piao, X.S. (2019). Application of moringa (*Moringa oleifera*) as natural feed supplement in poultry diets. *Animals (Basel).* 9(7), 431.
- Minias, P. (2019). Evolution of heterophil/lymphocyte ratios in response to ecological and life-history traits: A comparative analysis across the avian tree of life. *J Anim Eco.* 88, 554–565.
- Mohamed, R., Abou-Elnaga, A., Ghazy, E., Mohammed, H., Shukry, M., Farrag, F., Mohammed, G., Bahattab, O. (2020). Effect of different monochromatic LED light colour and intensity on growth performance, physiological response and fear reactions in broiler chicken. *Italian J Anim Sci.* 19(1), 1099-1107.
- Moore, C.B., Siopes, T.D. (2000). Effects of lighting conditions and melatonin supplementation on the cellular and humoral immune responses in Japanese quail *Coturnix coturnix japonica*. *Gen Comp Endocrinol.* 119, 95-104.
- Mulaudzi, A., Mnisi, C.M., Mlambo, V. (2019). Dietary *Moringa oleifera* leaf meal improves growth performance but not haemo-biochemical and meat quality parameters in female japanese quails. *Pak J Nutr.* 18(10), 953-960.
- Roodenboog, H., Noord, P., Oost, G., Slagharen, T. (2001). Sodium, green, blue, cool or warm white light. *World's Poult Sci.* 17(12), 128-134.
- Sajjad, S., Khalid, N., Khan, M.F., Sheikh, U., Ali, M., Tabassum, S., Ayaz, M. (2020). Impact of photoperiod on productive performance and hematological parameters of the broilers. *EC Vet Sci.* 5(12), 22-31.
- Scanes, C.G., Christensen, K.D. (2014). Comparison of meta-analysis of the haematological parameters of commercial and indigenous poultry to wild birds: implications to domestication and development of commercial breeds/lines. *J Vet Sci Anim Health.* 1(1), 1-12.
- Sulistyoningsih, M., Dzakiy, M.A., Nurwahyunani, A. (2014). Optimalisasi feed additive herbal terhadap bobot badan, lemak abdominal dan glukosa darah ayam broiler. *Bioma.* 3(2), 1-16.
- Steczny, K., Kokoszynski, D., Bernacki, Z., Wasilewski, R., Saleh, M. (2017). Growth performance, body measurements, carcass composition and some internal organ characteristics in young Pekin ducks. *South African J Anim Sci.* 47(3), 399-406.
- Syarifuddin, N.A. (2017). *Daun Kelor Sebagai Pakan Ternak.* Makassar: UPT Unhas Press.

- Tijani, L.A., Akanji, A.M., Agbalaya, K., Onigemo, M. (2016). Comparative effects of graded levels of *moringa* leaf meal on haematological and serum biochemical profile of broiler chickens. *J Agri Sci.* 11(3), 137-146.
- Voemesse, K., Tete, A., Nideou, D., N'nanlé, O., Tété-Benissan, A., Oke, O.E., Gbeassor, M., Decuypere, E., Tona, K. (2019). Effects of *Moringa oleifera* leaf meal in the diet on layer performance, haematological and serum biochemical values. *European Poult Sci.* 83, 1-12.
- Zanu, H.K., Asiedu, P., Tampuori, A., Abada, M., Asante, I. (2011). Possibilities of using *Moringa oleifera* leaf meal as a partial substitute for fish meal in broiler chickens diets. *J Anim Feed Res.* 2, 70-75.