

Histopatologi Hati dan Ginjal pada Ayam Broiler yang Dipapar Cekaman Panas dan Diberi Ekstrak Kulit Batang Jaloh (*Salix tetrasperma* Roxb)

SUGITO¹, W. MANALU², D.A. ASTUTI², E. HANDHARYANI² dan CHAIRUL³

¹Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala,
Banda Aceh (E-mail: gito_syarief@plasa.com).

²Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor

³Bidang Botani, Puslit Biologi LIPI, Bogor

(Diterima dewan redaksi 18 Desember 2006)

ABSTRACT

SUGITO, W. MANALU, D.A. ASTUTI, E. HANDHARYANI and CHAIRUL. 2007. Histopathology of liver and kidney on broiler chicken exposed to heat stress and fed extract of Jaloh (*Salix tetrasperma* Roxb). *JITV* 12(1): 68-72.

This research was conducted to study the effects of jaloh extract (*Salix tetrasperma* Roxb) on broiler chicken exposed to heat stress in constant temperature of $33 \pm 1^\circ\text{C}$ for 4 hours per day for 10 days. Fifteen chickens aged 20 days old (strain Cobb) were divided randomly into 5 groups. The first group was external control (tCP) of the chickens received neither heat stress nor jaloh extract. The second group was internal control (CP) representing chickens given heat stress without jaloh extract. The third, fourth, and fifth groups consisted of chickens given heat stress and 10 mg/kg BB of hexane (CP+Hek), ethyl acetate (CP+EtOAc), and ethanol (CP+EtOH) fractions, respectively. Heat stress and jaloh extract were given every day. Extract of jaloh were given 1 hour before temperature in the cage was raised. On 10th day of the experiment, 3 chickens were killed and necropted. Liver and kidney tissues from each treatment were analyzed for histological condition. The results indicated that heat stress can induce injury degeneration, necrosis, and infiltration of inflammation cells of liver and kidney. It is concluded that the hexane fraction of jaloh extract could protect the detrimental effects on heat stress.

Key Words: Heat Stress, Extract Salix, Liver, Broiler Kidney

ABSTRAK

SUGITO, W. MANALU, D.A. ASTUTI, E. HANDHARYANI dan CHAIRUL. 2007. Histopatologi hati dan ginjal pada ayam broiler yang dipapar cekaman panas dan diberi ekstrak kulit batang Jaloh (*Salix tetrasperma* Roxb). *JITV* 12(1): 68-72.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak jaloh (*Salix tetrasperma* Roxb) pada ayam pedaging yang diberi cekaman panas pada suhu $33 \pm 1^\circ\text{C}$ selama 4 jam per hari dalam masa 10 hari terhadap perubahan histopatologi hati dan ginjal. Lima belas ekor ayam pedaging yang berumur 20 hari (strain Cobb) secara acak dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan. Kelompok pertama adalah kontrol luar (tCP) yaitu ayam tanpa diberi cekaman panas dan ekstrak jaloh. Kelompok kedua adalah kontrol dalam kandang pemanas (CP) yaitu ayam yang diberi cekaman panas tanpa diberi ekstrak jaloh. Kelompok ketiga, keempat, dan kelima terdiri atas ayam yang diberi cekaman panas dan secara berturut-turut diberi juga fraksi heksan (CP+Hek), etil asetat (CP+EtOAc), dan etanol (CP+EtOH) masing-masing dengan dosis 10 mg/kg BB. Cekaman panas dan ekstrak jaloh diberi tiap hari. Ekstrak jaloh diberi 1 jam sebelum suhu di dalam kandang dinaikkan. Pada hari ke-10 perlakuan, 3 ekor ayam dari setiap perlakuan dipotong dan dilakukan nekropsi untuk pengambilan sampel jaringan hati dan ginjal serta diproses secara histologi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa cekaman panas menyebabkan kelainan pada hati dan ginjal berupa degenerasi, nekrosis dan infiltrasi sel-sel radang. Pemberian fraksi heksan dapat mengurangi dampak cekaman panas pada jaringan hati dan ginjal berdasarkan kerusakan yang diamati secara mikroskopis.

Key Words: Cekaman Panas, Ekstrak Jaloh, Hati, Ginjal Broiler

PENDAHULUAN

Pada daerah beriklim panas, peningkatan suhu harian berakibat buruk terhadap kesehatan dan performans ayam. Peningkatan suhu lingkungan melebihi kisaran zona suhu kenyamanan menyebabkan cekaman (stres) pada ayam broiler (AUSTIC, 2000). Pada ayam broiler yang berumur di atas 3 minggu, keadaan suhu lingkungan optimum untuk pertumbuhan berkisar antara $20-25^\circ\text{C}$ dengan kelembaban berkisar

antara 50-70% (BORGES *et al.*, 2004) dan akan mengalami cekaman panas serius bila suhu lingkungan lebih tinggi dari 32°C (COOPER dan WASHBURN, 1998).

Pada ayam yang mengalami cekaman panas menyebabkan peningkatan, sekresi hormon stres, seperti glukokortikoid. Peningkatan kadar glukokortikoid berpengaruh buruk terhadap kesehatan dan pertumbuhan (KUCZYNSKI, 2002; BORGES *et al.*, 2004; NASEEM *et al.*, 2005). Cekaman panas pada ayam menyebabkan kadar Hb dan PCV menurun, sehingga

berakibat terhadap berkurangnya asupan oksigen tubuh (HILLMAN *et al.*, 2000). Keadaan ini menjadi pemicu terjadinya kerusakan sel jaringan pada organ tertentu, baik berupa degenerasi maupun nekrosis. Pemberian cekaman panas secara kronis menyebabkan ditemukannya secara nyata perubahan mikroskopis pada jaringan hati dan ginjal. Aktivitas organ hati dan ginjal selama mengalami cekaman panas meningkat terkait dengan fungsinya sebagai organ detoksifikasi dan sekresi (AENGWANICH dan SIMARAKS, 2004).

Penelitian penanganan stres (cekaman) panas pada ayam broiler telah banyak dilaporkan. Penggunaan elektrolit dan vitamin dilaporkan dapat mengurangi dampak cekaman panas (FURLAN *et al.* 1998; BORGES *et al.*, 2004). Sudah diketahui sejak lama bahwa penggunaan tanaman obat dapat pula digunakan untuk meningkatkan kesehatan dan produktivitas ternak, seperti kurkuma (AL-SULTAN, 2003). Namun, penggunaan tanaman obat sebagai anti stres akibat cekaman panas belum banyak dilakukan.

Di Nanggroe Aceh Darussalam (NAD) terdapat sejenis tanaman perdu dalam bahasa Aceh disebut jaloh (*bak sijalöh*). Tanaman ini biasa digunakan sebagai bahan obat tradisional, baik pada manusia maupun ternak (KHALID, 1996). Di beberapa daerah di Aceh, tanaman jaloh ini biasanya digunakan sebagai bahan obat penurunan panas. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa jaloh termasuk famili *Salicaceae*, yaitu *Salix tetrasperma* Roxb. Menurut BOWMAN dan RAND (1980) dalam dunia farmasi, *Salix* spp (seperti *Salix alba*) telah populer diketahui karena dari ekstrak tanaman inilah asal mulanya ditemukan aspirin. Dijelaskan CHRUBASIK *et al.* (2001) bahwa ekstrak kulit batang *salix* sp biasa digunakan sebagai bahan obat antipiretik dan antiinflamasi. Hampir semua spesies *Salix* spp. mengandung 3 jenis utama asam salisilat, yaitu: salisin, salikortin dan diglukosida salisin.

Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui perubahan histopatologi ginjal dan hati ayam broiler yang diberi cekaman panas dan ekstrak kulit batang tanaman jaloh yang dipartisi dengan larutan etanol, heksan dan etil asetat.

MATERI DAN METODE

Persiapan ekstrak batang jaloh

Kulit batang tanaman jaloh diperoleh dari daerah Kecamatan Kota Baru, Kabupaten Aceh Besar, Propinsi NAD. Identifikasi tanaman dilakukan di Herbarium Bogoriense, LIPI Bogor, sebagai *Salix tetrasperma* Roxb. Serbuk kulit batang jaloh diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 70%. Ekstrak disaring menggunakan kapas dan kertas saring, kemudian filtrat yang diperoleh dikumpul dan diuapkan (dikentalkan) menggunakan alat penguap berputar (*rotary evaporator*) yang dilengkapi penangas air dan

pompa vakum. Selanjutnya ekstrak kasar jaloh ini dipartisi menjadi fraksi dengan menggunakan n-heksan, etil asetat dan etanol 50%.

Pakan dan kondisi kandang berpemanas

Jenis pakan yang digunakan adalah pakan ayam pedaging *starter* kode IF-511. Hasil analisis proksimat pada pakan tersebut diketahui bahwa kadar: protein kasar 18,75%, lemak kasar 6,87%, serat kasar 4,72%, dan energi bruto 3945,5 kkal/g. Ayam ditempatkan pada kandang individu berlantai kawat berukuran panjang 45 cm, lebar 40 cm, dan tinggi 65 cm. Penerangan dalam kandang ayam dilakukan selama 24 jam. Kandang pemanas yang digunakan berukuran panjang 4,5 m, lebar 3,5 m, dan tinggi 3,25 m.

Perlakuan cekaman panas dilakukan dengan meningkatkan suhu di dalam kandang menggunakan alat pemanas (*heater*) yang terbuat dari komponen kawat nikelin berdaya 1000 Watt dan kipas angin (*ventilating fan*). Untuk mengontrol suhu, pada pemanas dipasang termoregulator berupa termostat yang memiliki pengatur (*switch*) berskala 0 sampai 40°C. Untuk mengukur temperatur dan kelembaban dalam kandang berpemanas, dipakai termometer dan higrometer *Hygro/Thermograph Sigma II Model NS II-Q*. Sementara itu, untuk pemantauan temperatur dan kelembaban di luar kandang berpemanas digunakan termometer dan higrometer digital *Corona* yang diletakkan pada posisi ketinggian 70 cm dari lantai kandang. Keadaan suhu di luar kandang perlakuan sengaja tidak dipatok pada suhu tertentu, karena diharapkan akan mengikuti pola suhu dan kelembaban harian secara alami pada saat penelitian ini dilaksanakan. Suhu dalam kandang berpemanas secara perlahan dinaikkan mulai pada pukul 10.00 pagi dan dipertahankan stabil pada suhu $33 \pm 1^\circ\text{C}$ selama 4 jam.

Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan September 2005 di Kandang Percobaan Toksikologi Balai Besar Penelitian Veteriner (BBalivet) Bogor. Ayam yang digunakan sebanyak 15 ekor ayam pedaging betina galur Cobb umur 20 hari yang dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan. Perlakuan pertama adalah kontrol luar (tanpa cekaman panas = tCP) yaitu perlakuan tanpa diberi cekaman panas dan ekstrak jaloh. Perlakuan kedua adalah kontrol dalam kandang pemanas (CP) merupakan perlakuan yang diberi cekaman panas tanpa diberi fraksi ekstrak jaloh. Perlakuan ketiga adalah diberi cekaman panas dan diberi ekstrak jaloh dari fraksi heksan 10 mg/kg BH (CP+H). Perlakuan keempat adalah ayam yang diberi cekaman panas dan diberi ekstrak jaloh dari fraksi etil asetat 10 mg/kg BH (CP+EtOAc). Perlakuan kelima adalah ayam yang

diberi cekaman panas dan diberi ekstrak jalloh dari fraksi etanol 10 mg/kg BH (CP+EtOH). Masing-masing perlakuan terdiri dari 3 ulangan. Pemberian ekstrak jalloh dilakukan sesaat setelah pengukuran suhu tubuh, yaitu 1 jam sebelum diberi cekaman panas. Ekstrak jalloh diberikan sekali sehari selama 10 hari dengan cara pencekokan menggunakan sonde (sputit).

Pengukuran suhu tubuh ayam menggunakan termometer infra red (*Infra-red Ear Thermometer ET-100*) dengan kemampuan pengukuran antara 34°C sampai 44°C dan akurasi 0,2°C. Pengukuran dilakukan di daerah sayap pada *vena brachialis* yang muncul atau terlihat menonjol di bawah kulit pada bagian medial *os humerus*.

Pada hari ke-10 perlakuan, 3 ekor ayam dari setiap perlakuan dipotong dan dilakukan nekropsi untuk pengambilan sampel jaringan hati dan ginjal. Sampel jaringan difiksasi dalam buffer formalin 10%, didehidrasi secara serial dengan alkohol 70, 80, 90, 95, dan 100% serta alkohol absolut, penjernihan dengan xylol, dan penanaman (*embedding*) dalam parafin. Pemotongan dengan ketebalan 6 µl dan sediaan diwarnai dengan pewarnaan hematoxilin eosin (H&E). Pengamatan histopatologi berdasarkan perubahan lesio mikroskopis. Hasil pengamatan histopatologi pada preparat pewarnaan H&E dilakukan secara deskriptif dengan melihat ada tidaknya perubahan pada sel jaringan di bawah mikroskop.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan suhu tubuh ayam

Rata-rata suhu tubuh ayam 1 jam sebelum (kira-kira pukul 10.00) dan 2 jam sesudah (kira-kira pukul 12.00) peningkatan suhu dalam kandang pemanas (dua jam setelah diberi fraksi ekstrak jalloh) dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil percobaan menunjukkan bahwa pemberian cekaman panas (suhu kandang 33 ± 1°C)

dapat meningkatkan ($P < 0,05$) suhu tubuh ayam pada kisaran 0,97 sampai 1,04°C. Peningkatan suhu tubuh ayam ini, diduga terkait dengan terganggunya pengeluaran panas tubuh ayam. Peningkatan suhu di dalam kandang lebih besar dari 31°C, menyebabkan pengeluaran panas tubuh umumnya tidak cukup untuk mempertahankan suhu tubuh ayam dalam kisaran normal, akibatnya suhu tubuh akan meningkat (COOPER dan WASHBURN, 1998). Hasil penelitian ini sejalan seperti yang dilaporkan (LIN *et al.*, 2005) bahwa pemberian cekaman panas pada suhu 35°C dan kelembaban 60% pada ayam broiler umur 4 minggu menyebabkan peningkatan suhu tubuh hingga 42,52 ± 0,181°C.

Pemeriksaan histopatologi hati dan ginjal

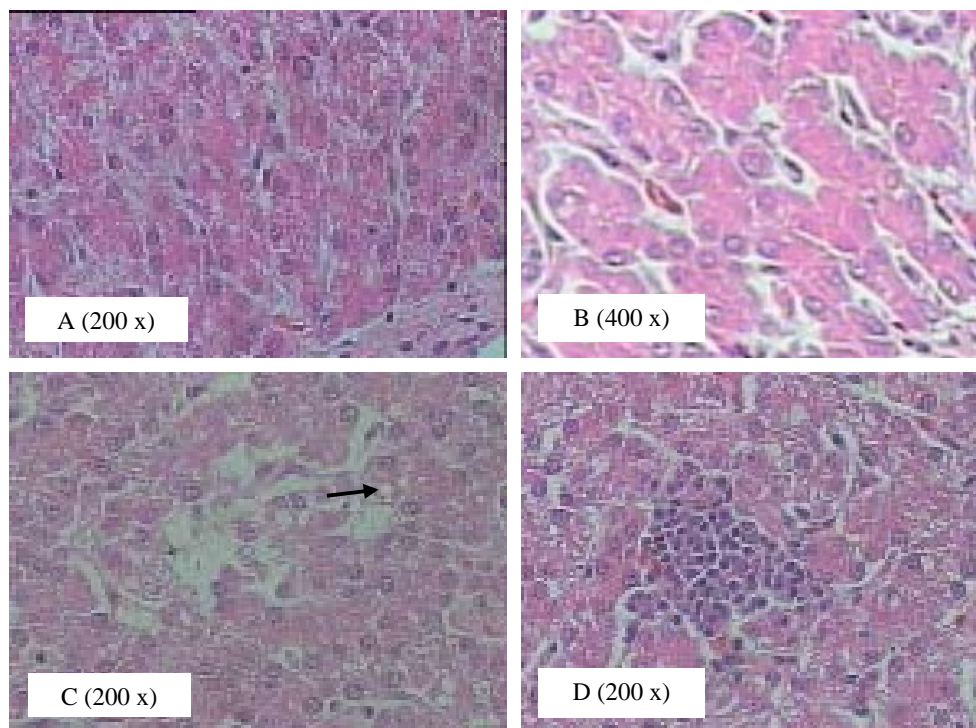
Hasil pemeriksaan pada jaringan hati di bawah mikroskopis, terlihat bahwa cekaman panas (perlakuan CP) selama 10 hari ditemukan adanya perubahan degenerasi lemak dengan adanya vakuola (Gambar 1 C). Disamping itu juga ditemukan adanya nekrosis dan infiltrasi sel-sel radang. Pada perlakuan pemberian fraksi heksan (CP+Hek) tidak ditemukan adanya nekrosis. Degenerasi lemak ditemukan dalam jumlah terbatas. Pada ayam yang diberi perlakuan fraksi etil asetat (CP+EtOAc) dan etanol (CP+EtOH) pada jaringan hati ditemukan adanya degenerasi, nekrosis, dan infiltrasi sel-sel radang seperti yang ditemukan pada perlakuan yang diberi cekaman panas tanpa ekstrak jalloh (CP).

Hasil pemeriksaan mikroskopis jaringan ginjal ayam yang mengalami cekaman panas tanpa diberi ekstrak jalloh (perlakuan CP) ditemukan perubahan dominan berupa infiltrasi sel-sel radang, nekrosis pada tubulus dan kerusakan glomerulus. Hal yang sama ditemukan juga pada ginjal ayam yang diberi cekaman panas dan fraksi etil asetat (CP+EtOAc) dan etanol (CP+EtOH)

Tabel 1. Rata-rata hasil pengukuran suhu tubuh ayam 1 jam sebelum dan 2 jam sesudah diberi perlakuan serta selisih kenaikan suhu tubuh ayam sebelum dan sesudah diberi cekaman panas pada masing-masing perlakuan

Kelompok perlakuan	Suhu tubuh ayam (°C)		
	Sebelum perlakuan	Sesudah perlakuan	Selisih
tCP	41,34 ± 0,35	41,64 ± 0,33	0,30 ± 0,04
CP	41,14 ± 0,18	42,17 ± 0,14	1,04 ± 0,06
CP+H	41,38 ± 0,33	42,35 ± 0,25	0,97 ± 0,18
CP+EtOAc	41,48 ± 0,30	42,47 ± 0,22	1,00 ± 0,14
CP+EtOH	41,49 ± 0,28	42,46 ± 0,13	0,97 ± 0,18

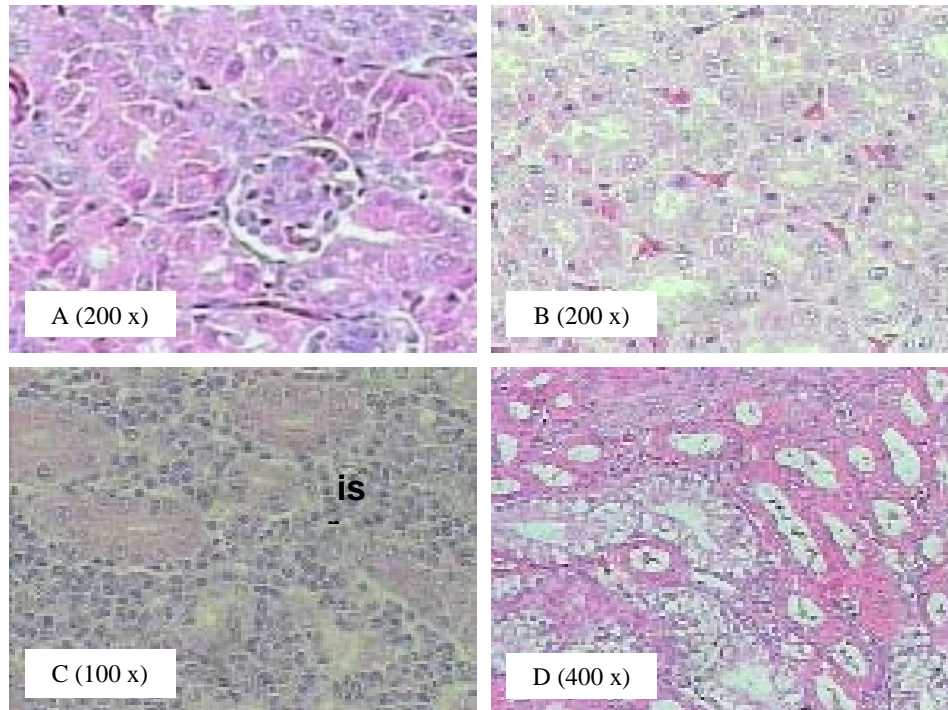
tCP	=	perlakuan tanpa diberi cekaman panas dan ekstrak jalloh
CP	=	diberi cekaman panas tanpa ekstrak jalloh
CP+H	=	diberi cekaman panas dan diberi ekstrak jalloh fraksi heksan 10 mg/kg
CP+EtOAc	=	diberi cekaman panas dan diberi ekstrak jalloh fraksi etil asetat 10 mg/kg BH
CP+EtOH	=	diberi cekaman panas dan diberi ekstrak jalloh fraksi etanol 10 mg/kg BH



Gambar 1. Gambaran histopatologi jaringan hati ayam pada perlakuan tanpa cekaman panas (TCP = Gambar A), perlakuan diberi cekaman panas dan diberi fraksi heksan (CP+H = Gambar B), perlakuan yang diberi cekaman panas tanpa diberi ekstrak jaloh (CP) atau diberi etilasetat (CP+EtOAc) dan etanol (CP+EtOH = Gambar C dan D). Keterangan: d=degenerasi lemak, n=Nekrosis, isr=infiltrasi sel-sel radang (Pewarnaan HE)

(Gambar 2 C dan D). Sementara itu, pada ginjal ayam yang diberi fraksi heksan ditemukan perubahan berupa degenerasi lemak dan pembesaran glomerulus. Selain itu juga terlihat adanya inti sel tubulus yang mengalami piknosis (Gambar 2 B). Degenerasi lemak merupakan reaksi awal sebelum terjadinya nekrosis pada jaringan. Degenerasi dan nekrosis dapat terjadi akibat berbagai kausa, antara lain kekurangan oksigen (CHEVILLE, 1976). Degenerasi dan nekrosis pada hati dan ginjal ayam yang diberi perlakuan cekaman panas diduga karena kekurangan oksigen dan gangguan pengaturan energi pada sel selama mengalami cekaman panas. Menurut HUANG *et al.* (2003) selama hewan mengalami cekaman panas terjadi penurunan asupan oksigen. Hal ini disebabkan adanya gangguan fungsi pada jaringan paru-paru. CASPANI *et al.* (2004) menyampaikan bahwa pada keadaan cekaman panas terjadi respon termoregulasi tubuh dalam upaya mengurangi pembentukan panas dan meningkatkan pengeluaran panas. Akibatnya sel-sel mengalami gangguan pembentukan energi dan hal ini menjadi pemicu terjadinya degenerasi dan nekrosis.

Adanya infiltrasi sel-sel radang, baik pada jaringan hati ataupun ginjal kemungkinan terkait dengan adanya respon tubuh terhadap beberapa kelainan akibat teraktivasi termoregulator. Diduga bahwa sel-sel radang yang ditemukan pada jaringan hati dan ginjal merupakan sel-sel monosit. Sel monosit ini merupakan karakteristik pada kondisi terjadi inflamasi pada hewan baik subkronis maupun kronis. Sel-sel monosit terakumulasi pada daerah-daerah yang mengalami inflamasi dan rusak sebagai respons adanya faktor kemotaktik (AENGWANICH *et al.*, 2003). Pada ayam yang menderita cekaman panas melepaskan berbagai jenis senyawa biokimia, seperti beberapa jenis hormon glukokortikoid dan sitokin. Sitokin yang dilepaskan memegang peran penting dalam upaya tubuh mempertahankan homeostasis akibat stres (HUANG *et al.*, 2003). Selama terjadi cekaman panas sekresi sitokin meningkat, hal ini akan meningkatkan respons inflamasi (CASPANI *et al.*, 2004). Selain itu, pada keadaan cekaman panas yang kronis, protektif protein yang dihasilkan akibat panas (*heat shock protein* = HSP) menjadi tidak terkendali, sehingga menyebabkan beberapa jenis protein seluler mengalami kerusakan (DEMACARIO dan MACARIO, 2000). Demikian pula



Gambar 2. Gambaran histopatologi jaringan ginjal ayam pada perlakuan tanpa cekaman panas (tCP = Gambar A), perlakuan diberi cekaman panas dan diberi fraksi heksan (CP+H = Gambar B), perlakuan yang diberi cekaman panas tanpa diberi ekstrak jalah (CP) atau diberi etilasetat (CP+EtOAc) dan etanol (CP+EtOH = Gambar C dan D). Keterangan: n = nekrosis, isr = infiltrasi sel-sel radang (Pewarnaan HE).

kejadian apoptosis dan nekrosis jaringan juga meningkat (KATSCHINSKI, 2004). Diduga bahwa kandungan senyawa bioaktif yang terdapat pada fraksi etil asetat dan etanol tidak dapat memperbaiki atau melindungi jaringan hati dan ginjal ayam broiler dari dampak cekaman panas. Hal ini dapat dilihat dari perubahan yang ditemukan dalam pengamatan histopatologi pada jaringan hati dan ginjal ayam pada ketiga perlakuan (CP, CP+EtOAc dan CP+EtOH), dan cenderung memiliki pola kerusakan yang hampir sama. Adanya kerusakan jaringan hati ini akan mengganggu metabolisme makronutrien, demikian juga pada ginjal adanya sel yang mengalami nekrosis menyebabkan proses filtrasi dan keseimbangan asam basa akan terganggu. Akibatnya metabolisme tubuh menjadi menurun dan hal ini menyebabkan pertumbuhan terganggu (SUGITO *et al.*, 2006).

Pada jaringan hati ayam yang diberi fraksi heksan (CP+H) terlihat kejadian nekrosis dan infiltrasi sel-sel radang tidak ditemukan, kecuali berupa degenerasi dan adanya perluasan sinusoid, sedangkan pada jaringan ginjal ditemukan kelainan hanya berupa pembesaran

glomerulus. Hal ini diduga senyawa yang terkandung dalam fraksi heksan memberikan efek protektif lebih baik dibandingkan kedua fraksi lainnya. Efek protektif tersebut mungkin dengan cara peningkatan pembuangan panas melalui evaporasi atau mungkin juga melalui efisiensi sistem sirkulasi yang akan mengalirkan nutrisi dan oksigen ke jaringan ataupun juga dapat menginduksi senyawa-senyawa tertentu sehingga mengurangi efek kerja atau produksi senyawa-senyawa biokimia tubuh ayam akibat cekaman panas.

KESIMPULAN

Pemberian cekaman panas selama 10 hari pada suhu $33 \pm 1^{\circ}\text{C}$ selama 4 jam perhari dapat menyebabkan terjadinya peningkatan suhu tubuh dan terjadinya perubahan histopatologi jaringan hati dan ginjal berupa degenerasi dan nekrosis serta adanya infiltrasi sel-sel radang. Pemberian fraksi heksan ekstrak tanaman jalah diduga dapat bersifat protektif, sedangkan fraksi etil asetat dan etanol tidak menunjukkan adanya efek protektif jaringan hati dan ginjal dari dampak cekaman panas pada ayam broiler.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Kepala dan para pegawai di Laboratorium Toksikologi Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor yang telah mengizinkan pemakaian kandang dan membantu selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- AL-SULTAN, S.I. 2003. The effect of *Curcuma longa* (Turmeric) on overall performance of broiler chickens. *Int. J. Poult. Sci.* 2: 351-353.
- AENGWANICH, W., P. SRIDAMA, Y. PHASUK, T. VONGPRALAB, P. PAKDEE, S. KATAWATIN and S. SIMARAKS. 2003. Effects of ascorbic acid on cell mediated, humoral immune response and pathophysiology of white blood cell in broilers under heat stress. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 25: 297-305.
- AENGWANICH, W. and S. SIMARAKS. 2004. Pathology of heart, lung, liver and kidney in broilers under chronic heat stress. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26: 417-424
- AUSTIC, R.E. 2000. Feeding Poultry in Hot and Cold Climates. Di dalam MK Yousef, editor. *Stress Physiology in Livestock Vol III, Poultry*. CRC Press. Florida. pp. 123-136.
- BORGES, S.A., FAV DA SILVA, A. MAIORKA, D.M. HOOGE and K.R. CUMMINGS. 2004. Effects of diet and cyclic daily heat stress on electrolyte, nitrogen and water intake, excretion and retention by colostomized male broiler chickens. *Int. J. Poult. Sci.* 3: 313-321.
- BOWMAN, W.C. and M.J. RAND. 1980. *Textbook of Pharmacology*. Ed ke-2. Blackwell Scientific Publications. London.
- CASPANI, M.L., M. SAVIOLI, S. CROTTI, P. BUZZONE and L. GATTMONI. 2004. Heat stress: characteristics, pathophysiology and avoidable mistakes. *Minerva Anesthesiol.* 70: 617-624.
- CHEVILLE, N.F. 1976. *Cell Pathology*. The IOWA State University Press, Ames.
- COOPER, M.A. and K.W. WASHBURN. 1998. The relationships of body temperature to weight gain, feed consumption, and feed utilization in broilers under heat stress. *Poult. Sci.* 77: 237-242.
- CHRUBASIK, S., O. KUNZEL, A. BLACK, C. CONRADT and F. KERSCHBAUMER. 2001. Potential economic impact of using a proprietary willow bark extract in outpatient treatment of low back pain: an open non-randomized study. *Phytomedicine*. 8: 241-251.
- DEMACARIO, E.C. and A.J.L. MACARIO. 2000. Stressors, stress and survival; overview. *Frontiers Biosci* 5: d780-786.
- FURLAN, R.L., M. MACARI, E.B. MALHEIROS, E.R. SECATO and J.R. GUERREIRO. 1998. Effect of indomethacin on hyperthermia induced by heat stress in broiler chickens. *Int. J. Biometeorol.* 42: 73-76.
- HILLMAN, P.E., N.R. SCOT and A. VAN TIENHOVEN. 2000. *Physiological, Responses and Adaptations to Hot and Cold Environments*. Di dalam Yousef MK, editor. *Stress Physiology in Livestock*. Volume 3, Poultry. CRC Press. Florida. pp. 1-71.
- HUANG, K.L., C.P. WU, Y.L. CHEN, B.H. KANG and Y.C. LIN. 2003. Heat stress attenuates air bubble-induced acute lung injury: A novel mechanism of diving acclimatization. *J. Appl. Physiol.* 94: 1485-1490.
- KATSCHINSKI, D.M. 2004. On heat and cells and proteins. *News Physiol. Sci.* 19: 11-15.
- KHALID, T. 1996. *Inventarisasi Bahan Alam untuk Kesehatan Ternak di Kecamatan Teunom Kabupaten Aceh Barat*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala. Banda Aceh.
- KUCZYNSKI, T. 2002. The application of poultry behaviour responses on heat stress to improve heating and ventilation systems efficiency. *Electr. J. Pol. Agric. Univ.* 5: 1-11.
- LIN, H., H.F. ZHANG, R. DU, X.H. GU, Z.Y. ZHANG, J. BUYSE and E. DECUYPERE. 2005. Thermoregulation responses of broiler chickens to humidity at different ambient temperatures. II. Four weeks of age. *Poult. Sci.* 84: 1173-1178.
- NASEEM, M.T., S. NASEEM, M. YOUNUS, I.C.H. ZAFAR, G.H. AAMIR, A. ASIM and S. AKHTER. 2005. Effect of potassium chloride and sodium bicarbonate supplementation on thermotolerance of broilers exposed to heat stress. *Int. J. Poult. Sci.* 4: 891-895.
- SUGITO, W. MANALU, D.A. ASTUTI, E. HANDHARYANI dan CHAIRUL. 2006. Evaluasi pemberian ekstrak jaloh (*Salix tetrasperma* Roxb) terhadap performans dan indikator stres pada ayam broiler yang diberi cekaman panas. *Majalah Obat Tradisional*. 11: 29-36.