

Perubahan Malonaldehida Hati, Bobot Relatif *Bursa Fabricius* dan Rasio Heterofil/Limfosit (H/L) Ayam Broiler yang Diberi Cekaman Panas

The Change of Liver Malonaldehyde (MDA), Relative Weight of Bursa Fabricius and Heterophyl Lymphocyte Ratio (H/L) of Heat-Stressed Broilers

E. Kusnadi*

Jurusan Produksi Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Andalas Padang
Kampus Limau Manis Padang 25163
(Diterima 03-10-2008; disetujui 14-04-2009)

ABSTRACT

The objective of the research was to determine the influences of heat stress and temperature-exposed time on liver malonaldehyde (MDA), relative weight of bursa fabricius and heterophil/lymfocite ratio of broilers. The research used 140 male broilers of 2 weeks of age. The treatments consisted of two factors. The first factor was five treatments: S1A (28.55 ± 1.53 °C) with *ad libitum* of feeding, S1BT1 (S1 with pair feeding as S2A), S1BT2 (S1 with pair feeding as S3A), S2A (31.07 ± 1.29 °C) with *ad libitum* of feeding and S3A (33.50 ± 1.17 °C) with *ad libitum* of feeding. The second factor was five of temperature-exposed times (0, 4, 8, 16, and 32 days after treatments). Variables measured were liver MDA, relative weight of bursa fabricius and ratio of heterophil/lymphocyte (H/L). The experiment used a completely randomized design in split plot (5x5), with 4 replications. The result indicated that liver MDA, relative weight of bursa fabricius and H/L ratio of S2 and S3 were higher than those of S1A, S1BT1 and S1BT2. H/L ratio of 4, 8, 16, and 32 days of temperature-exposed times were higher than that of 0 day. It was concluded that heat stress increased the liver MDA and H/L ratio, but decreased the relative weight of bursa fabricius. The temperature-exposed time increased the H/L ratio, but it did not affect the liver MDA and relative weight of bursa fabricius of broilers.

Key words: heat stress, malonaldehyde, heterophil/lymphocyte ratio, bursa fabricius, broiler

PENDAHULUAN

Tingginya suhu lingkungan di daerah tropis merupakan pemicu terjadinya stres oksidatif (kondisi aktivitas radikal bebas melebihi antioksidan) pada ayam broiler (Fellenberg & Speiski, 2006; Mujahid *et al.*, 2007). Radikal bebas akan mudah menyerang asam lemak tidak jenuh jamak (PUFA) pada membran

*Korespondensi:
Jurusan Produksi Ternak, Fakultas Peternakan,
Universitas Andalas
Kampus Limau Manis Padang 25163
e-mail: e_kusnadi@ymail.com

sel yang disebut serangan lipida peroksida. Terbentuknya lipida peroksida dalam tubuh menyebabkan kerusakan sel seperti sel imun, mencetuskan aterosklerosis dan kanker, serta dapat mengakibatkan penggumpalan darah yang dapat menimbulkan stroke dan penyakit jantung koroner (Noda & Wakasugi, 2001; Yamada, 2001). Peroksidasi lipida dapat merusak lipida dengan menghasilkan antara lain malonaldehid (MDA) dan 4-hidroksinonenal. Kedua senyawa tersebut dapat menyebabkan kerusakan pada protein dengan menghasilkan protein karbonil, hidroksileusin, hidrovalin dan nitrotirosin, sehingga menyebabkan protein mudah mengalami lisis (Supartondo, 2002). Kerusakan lainnya terjadi pada DNA dengan hasil 8-oksoguanin (8-hidroksiguanin) dan timinglikol (Yoshikawa & Naito, 2002) yang menyebabkan mutasi serta penuaan dini (Yokode & Kita, 2002).

Selain itu, tingginya suhu lingkungan dapat mengakibatkan turunnya bobot beberapa organ limfoid seperti *bursa fabricius*, limfa dan timus, sehingga limfosit yang dihasilkan menjadi berkurang. Akibatnya antibodi yang dihasilkan oleh limfosit tersebut (antara lain gama globulin) menjadi lebih rendah. Menurunnya jumlah limfosit mengakibatkan meningkatnya rasio heterofil/limfosit (H/L), sebagai indeks tingginya tingkat cekaman panas pada ayam tersebut (Siegel, 1995).

Penelitian Lu *et al.* (2007) menunjukkan bahwa konsumsi ransum dan pertambahan bobot badan (PBB) ayam broiler umur 5-8 minggu yang dipelihara pada suhu 34 °C adalah 93,6 g/hari dan 22,29 g/hari, keduanya nyata lebih rendah dibandingkan yang dipelihara pada suhu 21 °C, yakni 169,9 g/hari dan 61,45 g/hari. Penelitian Maini *et al.* (2007) membuktikan bahwa pemeliharaan ayam broiler pada musim panas dapat meningkatkan kandungan MDA pada sel darah merah. Keadaan tersebut dapat ditekan dengan pemberian vitamin E (antioksidan), bahkan pemberian vitamin E tersebut mampu meningkatkan aktivitas beberapa enzim yang tergolong antioksidan enzimatis (glutathion, katalase dan superoksida dismutase). Peningkatan rasio H/L terjadi pula

pada ayam petelur yang mengalami stres karena *molting* dan dapat diatasi dengan pemberian probiotik (Khajali *et al.*, 2008).

Penelitian Takahashi & Akiba (1999) membuktikan bahwa pemberian lemak teroksidasi pada ayam broiler, nyata menurunkan konsumsi ransum, PBB, vitamin C dan α -tokoferol plasma. Hasil tersebut diikuti dengan meningkatnya MDA plasma dan rasio H/L darah sebagai indeks dari cekaman. Penelitian Taniguchi *et al.* (1999) membuktikan bahwa stres oksidatif karena pemberian hormon kortikosteron dapat meningkatkan kandungan lemak abdomen, MDA dan kolesterol plasma ayam broiler. Berdasarkan hal tersebut di atas dilakukan penelitian dengan tujuan untuk mengukur pengaruh stres panas serta lamanya waktu terpapar suhu terhadap perubahan kandungan MDA hati, bobot relatif *bursa fabricius* dan rasio H/L pada ayam broiler.

MATERI DAN METODE

Perlakuan

Penelitian menggunakan 140 ekor ayam broiler jantan umur 2 sampai 6 minggu. Penggunaan ayam broiler jantan bertujuan untuk menjaga kehomogenan, juga ayam jantan relatif lebih cepat besar dibandingkan ayam betina sehingga responsnya lebih cepat. Ayam umur 2 minggu digunakan dalam penelitian ini, karena pada umur tersebut sudah tidak diperlukan pemanas lagi sehingga ketika diberi perlakuan panas akan nampak efeknya. Ayam percobaan ditempatkan pada kandang terbuka tanpa lampu pemanas (S1), satu lampu pemanas 40 watt (S2) dan dua lampu pemanas 40 watt (S3). Seng dipasang di atas kandang yang berfungsi sebagai reflektor untuk memantulkan panas dari lampu. Rataan suhu dan kelembaban selama penelitian berlangsung pada kandang S1 adalah $28,55 \pm 1,53$ °C dan $67,98 \pm 5,75\%$, pada S2 adalah $31,07 \pm 1,29$ °C dan $61,39 \pm 4,17\%$; serta pada S3 adalah $33,50 \pm 1,17$ °C dan $55,73 \pm 3,96\%$. Ransum yang diberikan adalah ransum komersial produksi Charoen Phokphand (CP 512), dengan

kandungan nutrien: kadar air 13%, protein kasar 19%–21%, lemak kasar 5%, serat kasar 5%, abu 7%, kalsium 0,9% dan fosfor 0,6%.

Ayam broiler secara acak dibagi ke dalam 5 perlakuan dan 4 ulangan sehingga tiap unit percobaan terdiri atas 7 ekor ayam. Setiap unit percobaan dialokasikan secara acak pada 20 kandang. Terdapat tiga perlakuan tanpa lampu pemanas dengan pemberian ransum *ad libitum* (S1A) atau terbatas sesuai dengan jumlah pakan yang dikonsumsi ayam yang diukur sehari sebelumnya pada kandang S2 (S1BT1) atau S3 (S1BT2). Dua perlakuan lainnya adalah penempatan ayam pada kandang S2 (S2A) dan pada kandang S3 (S3A) dengan pemberian pakan *ad libitum*. Pembatasan pemberian ransum pada kelompok ayam yang ditempatkan dalam kandang S1 yaitu perlakuan S1BT1 dan S1BT2 dimaksudkan untuk membandingkan respons ayam terhadap dua perlakuan suhu kandang dengan jumlah konsumsi ransum seperti pada perlakuan S2A dan S3A.

Perlakuan lampu pemanas atau kombinasinya dengan pembatasan pemberian pakan selanjutnya dikombinasikan dengan periode terpapar suhu yang indentik dengan waktu pengambilan sampel. Pengambilan sampel dilakukan sebanyak 5 kali, yakni pada 0, 4, 8, 16, dan 32 hari dari mulai perlakuan panas. Peubah yang diukur meliputi: kandungan MDA hati, menggunakan metode penetapan bilangan *tiobarbituric acid* (TBA), rasio H/L menggunakan metode hemositometer dan bobot relatif *bursa fabricius* dengan cara menimbanginya, kemudian dibagi dengan bobot badan. Setiap kali pengambilan sampel untuk pengukuran peubah digunakan 1 ekor ayam per unit percobaan atau sebanyak 20 ekor per waktu pengambilan sampel, sehingga jumlah ayam keseluruhan yang dipotong untuk 5 kali pengambilan sampel bobot *bursa fabricius* berjumlah 100 ekor, sisanya 40 ekor tidak dipotong.

Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dalam split plot

(5x5) dengan ulangan 4 kali. Perlakuan suhu merupakan faktor utama, sedangkan periode terpapar atau waktu pengambilan sampel sebagai faktor pendukung. Data dianalisa dengan ANOVA, sementara uji lanjut dilakukan dengan uji duncan (Steel & Torrie, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan Malonaldehida (MDA)

Kandungan MDA pada S1A, S1BT1, dan S1BT2 nyata ($P < 0,05$) lebih rendah dibandingkan pada S2A dan S3A. Perbedaan ini menunjukkan bahwa pada S2 dan S3, yang suhu ruangnya mencapai 31,07 dan 33,5 °C telah terjadi peningkatan stres oksidatif artinya terjadi kelebihan radikal bebas dibandingkan antioksidan. Hasil ini sejalan dengan temuan Sahin *et al.* (2007) yang membuktikan bahwa cekaman panas dapat meningkatkan kandungan MDA serum, hati, otot leher dan otot dada pada burung puyuh. Hasil tersebut ternyata diikuti dengan turunnya konsumsi ransum dan pertambahan bobot badan (PBB) burung puyuh tersebut. Keadaan ini mengindikasikan bahwa pemaparan pada suhu lingkungan tinggi telah meningkatkan radikal bebas, baik radikal bebas eksogen (dari luar) maupun radikal bebas endogen (hasil sampingan dari respirasi oksidatif yang terjadi dalam sel) sehingga terjadi kenaikan hasil MDA-nya (Supari, 1996). Radikal bebas yang berasal dari luar (eksogen) telah menyerang asam lemak tidak jenuh jamak (PUFA) pada membran sel yang disebut serangan peroksidasi lipida sehingga meningkatkan hasil sampingan berupa MDA (Fellenberg & Speiski, 2006; Mujahid *et al.*, 2007).

Tabel 1 juga menunjukkan bahwa waktu terpaparnya suhu tidak menghasilkan perbedaan kandungan MDA yang nyata. Namun demikian waktu terpapar suhu tersebut cenderung meningkatkan kandungan MDA, terutama pada pengambilan sampel hari ke 16 dan 32. Keadaan tersebut mungkin disebabkan oleh suhu tempat penelitian yang sudah tinggi (suhu yang paling rendah

Tabel 1. Kandungan malonaldehida (MDA) hati (mg/kg hati) ayam broiler pada suhu ruang dan waktu terpapar suhu yang berbeda

Suhu ruang (°C)	Waktu terpapar suhu (hari setelah perlakuan)					
	0	4	8	16	32	Rataan
S1 A (28,55±1,53)	0,081±0,026	0,035±0,024	0,034±0,009	0,069±0,027	0,168±0,136	0,077±0,055 ^a
S1BT1 (28,55±1,53)	0,080±0,032	0,076±0,017	0,057±0,035	0,114±0,067	0,155±0,045	0,096±0,063 ^a
S1BT2 (28,55±1,53)	0,071±0,005	0,086±0,045	0,093±0,010	0,056±0,013	0,134±0,058	0,088±0,028 ^a
S2A (31,07±1,29)	0,065±0,035	0,140±0,057	0,175±0,162	0,985±0,402	0,197±0,037	0,312±0,377 ^c
S3A (33,50±1,17)	0,080±0,025	0,126±0,052	0,203±0,130	0,116±0,046	0,306±0,051	0,166±0,090 ^b
Rataan	0,075±0,038	0,101±0,058	0,146±0,105	0,268±0,403	0,202±0,089	

Keterangan: superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$); S1A=suhu 28,55±1,53 °C dengan pakan *ad libitum*; S1BT1=suhu 28,55±1,53 °C dengan pakan dibatasi sesuai jumlah pakan *ad libitum* pada S2A yang diukur sehari sebelumnya; S1BT2=suhu 28,55±1,53 °C dengan pakan dibatasi sesuai jumlah pakan *ad libitum* pada S3A yang diukur sehari sebelumnya; S2A=suhu 31,07±1,29 °C dengan pakan *ad libitum*; S3A=suhu 33,50±1,17 °C dengan pakan *ad libitum*.

adalah 28,55 °C, sudah berada di atas suhu nyaman bagi ayam broiler yakni 21 °C), sehingga makin lama pemaparan cenderung akan meningkatkan terjadinya peroksidasi lipida sehingga kandungan MDA cenderung meningkat. Menurut Winarsi (2007), MDA selain merupakan produk akhir dari peroksidasi lipida dalam tubuh terutama asam lemak tidak jenuh jamak (PUFA), juga merupakan produk dekomposisi dari asam amino, karbohidrat kompleks, pentosa dan heksosa.

Bobot Relatif Bursa Fabricius

Bobot *bursa fabricius* pada S1A tidak berbeda nyata dibandingkan pada S1BT1 dan S1BT2. Bobot *bursa fabricius* pada S1A, nyata lebih tinggi dibandingkan bobot *bursa fabricius* pada S2A dan S3A (Tabel 2).

Keadaan ini menunjukkan bahwa meningkatnya suhu lingkungan dapat menyebabkan menurunnya bobot *bursa fabricius*. *Bursa fabricius* merupakan salah satu organ limfoid yang ternyata sangat dipengaruhi oleh adanya hormon kortikosteron. Ternak yang menderita cekaman panas biasanya kandungan hormon kortikosteronnya akan meningkat (Yunianto *et al.*, 1999). Peningkatan kortikosteron tersebut dimaksudkan antara lain untuk merangsang terjadinya perombakan (katabolisme) protein

sebagai usaha penyediaan glukosa darah melalui sistem glukoneogenesis sehingga terjadi penurunan pertumbuhan (Yunianto *et al.*, 1997; Sahin *et al.*, 2002).

Selain itu, hormon kortikosteron tersebut terbukti menekan pertumbuhan organ limfoid (bursa fabricius dan limpa) (Siegel, 1995). Penelitian Puvadolpirod & Thaxton (2000) membuktikan bahwa pemberian ACTH pada ayam broiler selain terbukti meningkatkan kandungan hormon kortikosteron juga terbukti menurunkan bobot *bursa fabricius*. Begitu pula penelitian Heckert *et al.* (2002) membuktikan bahwa terjadi penurunan bobot *bursa fabricius* pada ayam broiler yang dipelihara dengan kepadatan kandang tinggi. Turunnya bobot *bursa fabricius* ternyata menurunkan jumlah limfosit sehingga antibodi antara lain gama globulin yang penting dalam sistem kekebalan dalam tubuh menjadi rendah (Siegel, 1995).

Rasio Heterofil/Limfosit (H/L)

Tabel 3 menunjukkan bahwa rasio H/L pada S1 tidak berbeda nyata dibandingkan S1BT1 dan S1BT2. Rasio H/L ketiganya nyata lebih rendah dibandingkan rasio H/L pada S2A dan pada S3A. Hasil ini membuktikan bahwa meningkatnya suhu lingkungan menyebabkan turunnya jumlah limfosit. Tabel 3 menunjuk-

Tabel 2. Bobot relatif *bursa fabricius* (g/kg bobot badan) ayam broiler pada suhu ruang dan waktu terpapar suhu yang berbeda

Suhu ruang (°C)	Waktu terpapar suhu (hari setelah perlakuan)					
	0	4	8	16	32	Rataan
S1A (28,55±1,53)	0,266±0,053	0,296±0,062	0,295±0,032	0,250±0,049	0,309±0,066	0,283±0,024 ^a
S1BT1 (28,55±1,53)	0,254±0,043	0,236±0,071	0,298±0,049	0,271±0,092	0,276±0,058	0,267±0,022 ^{ab}
S1BT2 (28,55±1,53)	0,245±0,054	0,242±0,044	0,272±0,440	0,256±0,029	0,271±0,076	0,257±0,013 ^{ab}
S2A (31,07±1,29)	0,298±0,038	0,222±0,028	0,131±0,036	0,159±0,039	0,191±0,054	0,200±0,053 ^b
S3A (33,50±1,17)	0,227±0,051	0,145±0,053	0,173±0,043	0,131±0,031	0,171±0,053	0,169±0,053 ^c
Rataan	0,258±0,047	0,228±0,067	0,234±0,790	0,213±0,075	0,244±0,078	

Keterangan: superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P<0,05$); S1A=suhu 28,55±1,53 °C dengan pakan *ad libitum*; S1BT1=suhu 28,55±1,53 °C dengan pakan dibatasi sesuai jumlah pakan *ad libitum* pada S2A yang diukur sehari sebelumnya; S1BT2=suhu 28,55±1,53 °C dengan pakan dibatasi sesuai jumlah pakan *ad libitum* pada S3A yang diukur sehari sebelumnya; S2A=suhu 31,07±1,29 °C dengan pakan *ad libitum*; S3A=suhu 33,50±1,17 °C dengan pakan *ad libitum*.

kan pula bahwa rasio H/L pada waktu terpapar suhu hari ke-0 nyata lebih rendah ($P<0,05$) dibandingkan pada hari ke-4, 8, 16, dan 32. Paparan suhu selama 4, 8, dan 16 hari tidak menunjukkan perbedaan yang nyata, sementara pada hari ke 32, nyata lebih tinggi ($P<0,05$) dibandingkan ketiganya dan sangat nyata ($P<0,01$) dibandingkan hari ke-0.

Perbedaan tersebut menunjukkan bahwa lamanya pemeliharaan dapat mengakibatkan meningkatnya rasio H/L. Artinya lamanya waktu terpapar suhu panas menyebabkan terjadinya penurunan jumlah limfosit, sehingga

sistem kekebalan menjadi lebih rendah. Seperti dijelaskan sebelumnya, bahwa rata-rata suhu tempat penelitian sudah cukup tinggi dibandingkan suhu nyaman ayam broiler, sehingga lebih lama terpapar pada suhu tersebut maka ayam akan merasakan cekaman panas dan terlihat adanya kenaikan pada rasio H/L. Rasio H/L merupakan indikator stres yang utama pada unggas, makin tinggi angka rasio tersebut maka makin tinggi pula tingkat stresnya.

Bagian terbanyak dari sel darah putih pada ayam adalah limfosit yang menghasilkan sistem kekebalan. IgG adalah antibodi yang

Tabel 3. Rasio heterofil/limfosit (H/L) ayam broiler pada suhu ruang dan waktu terpapar suhu yang berbeda

Suhu ruang (°C)	Waktu terpapar suhu (hari setelah perlakuan)					
	0	4	8	16	32	Rataan
S1A (28,55 ± 1,53)	0,442±0,102	0,410±0,239	0,708±0,159	0,993±0,566	1,257±0,526	0,762±0,363 ^a
S1BT1 (28,55 ± 1,53)	0,452±0,071	0,567±0,234	0,697±0,262	0,804±0,287	1,133±0,506	0,731±0,264 ^a
S1BT2 (28,55 ± 1,53)	0,345±0,106	0,676±0,171	0,609±0,158	0,948±0,453	1,498±0,429	0,815±0,413 ^a
S2A (31,07 ± 1,29)	0,475±0,163	1,513±0,774	1,813±0,834	1,187±0,732	1,292±0,713	1,256±0,511 ^b
S3A (33,50 ± 1,17)	0,549±0,237	1,459±0,749	1,828±0,492	1,189±0,559	1,325±0,153	1,270±0,509 ^b
Rataan	0,453±0,195 ^a	0,925±0,659 ^b	1,131±0,708 ^b	1,024±0,503	1,301±0,460	

Keterangan: superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P<0,05$); S1A=suhu 28,55±1,53 °C dengan pakan *ad libitum*; S1BT1=suhu 28,55±1,53 °C dengan pakan dibatasi sesuai jumlah pakan *ad libitum* pada S2A yang diukur sehari sebelumnya; S1BT2=suhu 28,55±1,53 °C dengan pakan dibatasi sesuai jumlah pakan *ad libitum* pada S3A yang diukur sehari sebelumnya; S2A=suhu 31,07±1,29 °C dengan pakan *ad libitum*; S3A=suhu 33,50±1,17 °C dengan pakan *ad libitum*.

utama yang dihasilkan limfosit (Swenson, 1993). Penurunan jumlah limfosit terjadi pada kondisi stres, hal ini terlihat dari meningkatnya rasio H/L (Kusnadi *et al.*, 2005; Zulkifli *et al.*, 2000). Turunnya jumlah limfosit dapat disebabkan oleh berkurangnya bobot organ limfoid termasuk *bursa fabricius* dan cekaman panas (Siegel, 1995). Hasil ini sesuai dengan pembahasan di atas, bahwa suhu lingkungan yang tinggi dapat menyebabkan turunnya bobot *bursa fabricius*. Namun pada Tabel 3, waktu pengambilan sampel ternyata meningkatkan rasio H/L, sementara pada Tabel 2, waktu tersebut tidak mempengaruhi bobot *bursa fabricius*. Hal ini dapat saja terjadi sebab limfosit selain dihasilkan oleh *bursa fabricius*, juga dihasilkan oleh kelenjar lainnya seperti limfa dan timus (Swenson, 1993).

KESIMPULAN

Peningkatan suhu ruangan menyebabkan naiknya kandungan MDA hati sebagai indikator tingginya stres oksidatif serta naiknya rasio H/L sebagai indeks tingginya stres panas. Peningkatan suhu ruangan juga menurunkan bobot relatif *bursa fabricius*. Semakin lama ayam terpapar cekaman panas cenderung meningkatkan kandungan MDA hati dan nyata meningkatkan rasio H/L, namun tidak mempengaruhi perubahan bobot relatif *bursa fabricius*.

DAFTAR PUSTAKA

- Fellenberg, M.A. & H. Speisky.** 2006. Antioxidants: their effects on broiler oxidative stress and its meat oxidative stability. *World's Poultry Sci. J.* 62: 53 – 67.
- Heckert, R.A., I. Estevez, E.R. Cohen, & R.P. Riley.** 2002. Effects of density and perch availability on the immune status of broilers. *Poultry Sci.* 81:451-457.
- Khajali, F., S. Karimi & Qujeq.** 2008. Probiotics in drinking water alleviate stress of induced molting in feed-deprived laying hens. *Asian-Aust J. Anim. Sci.* 21:1196 – 1200.
- Kusnadi, E., R. Widjajakusuma, T. Sutardi, & A. Habibie.** 2005. Effect of antanan (*Centella asiatica*) and vitamin C on the bursa of fabricius, liver malonaldehyde and performance of heat-stressed broilers. *Biotropia* 24: 46 – 53.
- Lu, Q., J. Wen & H. Zhang.** 2007. Effect of chronic heat exposure on fat deposition and meat quality in two genetic types of chicken. *Poultry Sci.* 86: 1059 – 1064.
- Maini, S., S.K. Rastog, J.P. Korde, A.K. Madan & S.K. Shukla.** 2007. Evaluation of oxidative stress and its amelioration through certain antioxidants in broilers during summer. *Poultry Sci.* 44: 339- 347.
- Mujahid, A., Y. Akiba & M. Toyomizu.** 2007. Acute heat stress induces oxidative stress and decreases adaptation in young white leghorn cockerels by down regulation of avian uncoupling protein. *Poultry Sci.* 86: 364-371.
- Noda, N. & H. Wakasugi.** 2001. Cancer and oxidative stress. *JMAJ* 44: 535-539.
- Puvadolpirod, S. & J.P. Thaxton.** 2000. Model of physiological stress in chickens 2. Dosimetry of adrenocorticotropin. *Poultry Sci.* 79:370-376.
- Sahin, N., C. Orhan, M. Tuzcu, K. Sahin & O. Kucuk.** 2007. The effect of tomato powder supplementation on performance and lipid peroxidation in quail. *Poultry Sci.* 87:276–283.
- Siegel, H.S.** 1995. Stress, strain and resistance. *Brit. Poultry Sci.* 36: 3-22
- Steel, R.G.D. & J.H. Torrie.** 1993. Principles and procedures of statistic, 2nd ed. Graw-Hall, Book Comp, New York.
- Supari, F.** 1996. Radikal bebas dan patofisiologi beberapa penyakit. Di dalam: Prosiding Seminar Senyawa dan Sistem Pangan, Reaksi Biomolekuler, Dampak terhadap Kesehatan dan Penangkalan. Kerja sama Pusat Studi Pangan dan Gizi – IPB dengan Kedutaan Besar Perancis, Jakarta.
- Supartondo.** 2002. Antioksidan dan proses menua. Di dalam: Penatalaksanaan Pasien Geriatri/Usia Lanjut secara Terpadu dan Paripurna. Prosiding Temu Ilmiah Geriatri 2002, Jakarta 25 Mei 2002. Pusat Informasi dan Penerbitan Bagian Ilmu Penyakit Dalam, Fak. Kedokteran UI – Jakarta. Hlm 1-6.
- Swenson, M.J.** 1993. Physiological Properties and Cellular and Chemical Constituent of Blood in Dukes Physiology of Domestic Animals. 11th ed. Comstock Publishing Associates a division of Cornell University Press Ithaca and London.
- Takahashi, K. & Y. Akiba.** 1999. Effect of oxidized fat on performance and some physiological responses in broiler chickens. *Poultry Sci.* 36: 304-310.

- Taniguchi, N., A. Ohtsuka & K. Hayashi.** 1999. Effect of dietary corticosteron and vitamin E on growth and oxidative stress in broiler chickens. *J. Anim. Sci.* 70:195-200.
- Winarsi, H.** 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas, Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan. Kanisius, Yogyakarta.
- Yamada, N.** 2001. Atherosclerosis and oxidative stress. *JMAJ.* 44: 529-534.
- Yokode, M. & T. Kita.** 2002. Aging and oxidative stress. *JMAJ.* 45: 277-282.
- Yoshikawa, T. & Y. Naito.** 2002. What is oxidative stress ? *JMAJ.* 45: 271-276.
- Yunianto, V.D., K. Hayashi, S. Kaneda, A. Ohtsuka, & Y. Tomita.** 1997. Effect of environmental temperature on muscle protein turnover and heat production in tube-fed broiler chickens. *Br. J. Nutr.* 77: 897 (Abstr.).
- Yunianto, V.D., N. Tiguchi, A. Ohtsuka & K. Hayashi.** 1999. Effect of environmental temperature on heat production and muscle protein turnover in layer chickens. *Poultry Sci.* 36: 219-228.
- Zulkifli, I., M.T.C. Norma, C.H. Chong & T.C. Loh.** 2000. Heterophil to lymphocyte ratio and tonic immobility reactions to preslaughter handling in broiler chickens treated with ascorbic acid. *Poultry Sci.* 79: 401- 406.