



JURNAL BIOSAINS

(Journal of Biosciences)

<http://jurnal.unimed.ac.id/2012/index.php/biosains>

email : jbiosains@unimed.ac.id



EFEKTIFITAS BERBAGAI METODE SUPLEMENTASI PIRIDOKSIN MENGOPTIMALISASI PRODUKSI IMMUNOGLOBULIN Y (IgY) KUNING TELUR AYAM

P. Maulim Silitonga¹, Melva Silitonga² dan Meida Nugrahalia²

¹Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Medan

²Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Medan

Email : pasar.silitonga@gmail.com

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengoptimalkan produksi immunoglobulin Y (IgY) kuning telur dengan metode suplementasi piridoksin. Digunakan 12 ekor ayam betina dewasa (jenis *Isa brown*) siap bertelur, antigen yang digunakan *toksoid tetanus*. Pemeliharaan dilakukan dalam kandang baterai selama 10 minggu. Selama percobaan, semua ayam diberi air minum secara *ad libitum* dan ransum komersil standar. Setelah 12 hari masa adaptasi, ayam diberi perlakuan suplementasi piridoksin dosis 3 mg/kg ransum dengan metode yang bervariasi yaitu via air minum (S1), mencampurkannya dalam ransum (S2) dan melalui suntikan intramuscular (S3). Semua ayam disuntik dengan antigen *toksoid tetanus* dosis 100 Lf yang diemulsikan dalam *Freund's adjuvant complete* yang diberikan secara intramuscular. Immunisasi ulang dilakukan dengan menggunakan *freund's adjuvant incomplete* setelah dua, tiga dan empat minggu pemberian perlakuan suplementasi piridoksin. Sampel telur diambil setelah 2 minggu injeksi antigen toksoid terakhir. Ekstraksi IgY kuning telur dilakukan dengan Metode PEG-Kloroform, Uji spesifitas IgY dengan uji AGP, Purifikasi IgY dengan FPLC, kadar IgY kuning telur ditentukan dengan metode Bradford. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan kadar IgY kuning telur ayam yang diberi suplementasi piridoksin via air minum, dicampur dalam ransum maupun via suntikan intravena. Suplementasi piridoksin pada ayam petelur memberikan rata-rata kadar antibodi / immunoglobulin yolk (IgY) kuning telur untuk ketiga jenis metode yang diaplikasikan sebesar 106,6 - 109,0 mg/ butir telur.

Kata Kunci : Piridoksin, IgY, Immunoglobulin

EFFECTIVENESS OF VARIOUS METHODS OF PYRIDOXINE SUPPLEMENTATION TO OPTIMIZE IMMUNOGLOBULIN Y PRODUCTION (IgY) YOLK CHICKEN EGG

ABSTRACT

The research has been conducted which aims to optimize the production of immunoglobulin Y (IgY) egg yolks with pyridoxine supplementation method. Used by 12 adult hens (*Isa brown* type) ready to lay eggs, antigens used by tetanus toxoid. Maintenance is carried out in a battery cage for 10 weeks. During the experiment, all chickens were given *ad libitum* drinking water and standard commercial rations. After 12 days of adaptation, chickens were treated with a pyridoxine supplementation dose of 3 mg / kg ration with a variety of methods, namely via drinking water (S1), mixing it in rations (S2) and through intramuscular injection (S3). All chickens were injected with a 100 Lf dose of tetanus toxoid antigen emulsified in Freund's complete adjuvant given intramuscularly. Re-immunization was carried out using Freund's incomplete adjuvant after two, three and four weeks of pyridoxine supplementation treatment. Egg samples are taken after 2 weeks of injection of the last toxoid antigen. IgY extraction of egg yolks was carried out using PEG-chloroform method, IgY specificity test with AGP test, purification of IgY with FPLC, IgY level of egg yolk was determined by Bradford method. The results showed that there were no significant differences in IgY levels of chicken egg yolk given pyridoxine supplementation via drinking water, mixed in rations or via intravenous injection.

Pyridoxine supplementation in laying hens gave an average antibody level / yolk immunoglobulin (IgY) egg yolk for the three types of methods applied at 106.6 - 109.0 mg / egg.

Keywords : pyridoxine, IgY, Immunoglobulin

Pendahuluan

Ayam telah dikenal sebagai pabrik biologis penghasil antibodi yaitu immunoglobulin Y (IgY) dalam kuning telur (*yolk*) [1] ;[2] ;[3]. Apabila ayam diimunisasi dengan antigen tertentu, maka biosintesis antibodi akan berlangsung dalam sistem imun ayam dan selanjutnya ditransfer ke embrio melalui telur sehingga antibodi dapat ditemukan dalam telur ayam. Selanjutnya jika kuning telur tersebut dikonsumsi, maka yang bersangkutan memperoleh imunisasi pasif dan akan kebal terhadap serangan antigen spesifik tersebut. Berbagai penelitian telah berhasil memproduksi antibodi atau immunoglobulin yolk (IgY) dengan memanfaatkan ayam sebagai pabrik biologis untuk pengobatan dan pencegahan penyakit. Permasalahan yang masih dihadapi dalam hal produksi IgY hingga saat ini adalah jumlah produk IgY yang dihasilkan dari setiap butir telur masih rendah sehingga belum menguntungkan dari segi komersil. Ayam yang diimunisasi empat kali dengan antigen *Pseudomonas aeruginosa* dosis 25-100 µg hanya mampu menghasilkan 40-100 mg IgY per butir telur [4]. Selanjutnya, tidak adanya metode atau cara praktis yang murah dan efektif untuk meningkatkan dan mengoptimalkan jumlah produksi IgY tersebut merupakan masalah yang masih belum terpecahkan hingga saat ini.

Salah satu upaya alternatif yang dapat meningkatkan produksi antibodi dalam kuning telur adalah dengan cara suplementasi piridoksin pada ayam petelur. Piridoksin atau vitamin B6 sebagai salah satu vitamin yang larut dalam air, merupakan vitamin yang sangat penting dalam proses metabolisme. Salah satu peranan piridoksin yang paling menarik adalah adanya fakta-fakta bahwa vitamin ini berperan dalam aspek pembentukan sistem pertahanan tubuh terhadap invasi mikroorganisme. Dari berbagai hasil penelitian telah diketahui bahwa kondisi defisiensi piridoksin pada manusia dan berbagai spesies hewan menunjukkan adanya kelainan-kelainan dalam sistem pertahanan tubuh yang diantaranya adalah total sel-sel pembentuk antibodi lebih sedikit dibandingkan dengan keadaan normal [5], jumlah limfosit lebih sedikit [6], fungsi sistem imun menurun [7]. Upaya meningkatkan produksi IgY dalam kuning telur telah dilakukan yang menunjukkan bahwa suplementasi piridoksin secara oral/cekok dengan dosis 3,0 mg/kg ransum memberikan produksi

antibodi / immunoglobulin yolk (IgY) kuning telur sebesar 106,1 mg/ butir telur yang berarti telah mengalami peningkatan sekitar 6% dibandingkan dengan kandungan IgY yang ditemukan peneliti terdahulu [8]. Walaupun produksi IgY dengan cara suplementasi piridoksin telah menunjukkan peningkatan, namun kandungan IgY kuning telur yang diperoleh belum optimal. Selanjutnya, metode suplementasi yang digunakan masih kurang praktis karena pemberian piridoksin secara oral / cekok membutuhkan tenaga dan waktu yang cukup besar terutama bagi peternakan yang mengelola ayam petelur dengan jumlah ribuan bahkan puluhan ribu ekor. Berdasarkan hal tersebut di atas, penelitian ini dimaksudkan untuk mengoptimalkan produksi immunoglobulin Y (IgY) kuning telur dengan penerapan metode suplementasi piridoksin yang lebih praktis dan efektif.

Bahan dan Metode

Digunakan 12 ekor ayam betina dewasa (jenis *Isa brown*) siap bertelur dan *toksoid tetanus* (produksi PT Biofarma-Bandung) sebagai antigen. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan dan masing-masing perlakuan diberi empat ulangan. Ayam dikelompokkan menjadi 3 (tiga) kelompok dan diberi suplementasi piridoksin dengan metode yang bervariasi yaitu via air minum (S1), dicampur dalam ransum (S2), dan via suntikan intravena (S3). Pemeliharaan dilakukan dalam kandang baterai selama 68 hari (10 minggu) sesuai prosedur [9]. Selama percobaan, semua ayam diberi air minum secara *ad libitum* dan ransum komersil standar yang telah mengandung piridoksin dengan dosis normal.

Proses imunisasi ayam dengan toksoid tetanus dilakukan sesuai prosedur [10]. Pada minggu pertama setelah pemberian perlakuan suplementasi piridoksin, semua ayam percobaan diimunisasi dengan antigen *toksoid tetanus* dosis 100 Lf yang diemulsikan dalam *Freund's adjuvant complete* dan diberikan secara intramuscular. Pada minggu kedua dan ketiga imunisasi ulang dilakukan dengan menggunakan *Freund's adjuvant incomplete*. Imunisasi ulang selanjutnya dilakukan setelah empat minggu kemudian dengan dosis 300 Lf yang diemulsikan dalam *Freund's adjuvant incomplete*. Sampel telur diambil setelah 2 minggu injeksi antigen toksoid terakhir. Identifikasi, purifikasi dan penentuan

kadar IgY spesifik terhadap toksoid dalam kuning telur dilakukan dengan beberapa tahapan sebagai berikut: Uji spesifitas IgY secara kualitatif dilakukan dengan uji AGP (*Agar gel Presipitation*) [11]. Purifikasi immunoglobulin Y (IgY) dari kuning telur dilakukan dengan fast Performan Liquid Chromatography (FPLC) [2], Penentuan kadar IgY kuning telur dengan metode Bradford [12]. Data kadar IgY masing-masing perlakuan ditabulasi, lalu dianalisis secara statistik.

Hasil Dan Pembahasan

Antibodi spesifik terhadap toksoid tetanus pada telur dideteksi dengan menggunakan uji agar gel presipitasi (AGP). Keberadaan antibodi spesifik terhadap toksoid tetanus ditandai dengan terbentuknya garis presipitasi pada agar gel. Dari hasil pengujian diperoleh bahwa antibodi terdeteksi pada semua sampel telur (Tabel 1). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa biosintesis / produksi IgY spesifik anti tetanus pada kuning telur ayam percobaan dalam penelitian ini telah berhasil.

TABEL 1. Hasil Uji AGP IgY Kuning Telur Ayam

Ulangan	Metode Suplementasi Piridoksin		
	Via Air Minum	Dicampur Dalam Ransum	Via Suntikan Intravena
1	+	+	+
2	+	+	+
3	+	+	+
4	+	+	+

Ket : (+) terjadi garis presipitasi pada uji AGP

IgY anti tetanus dikoleksi dari kuning telur yang menunjukkan reaksi positif pada uji AGP kemudian diekstraksi, purifikasi dan dianalisis untuk menentukan kadar IgY setiap sampel telur. Rataan kadar IgY pada kuning telur untuk setiap perlakuan suplementasi piridoksin disajikan pada Tabel 2. Dari hasil uji statistik dengan sidik ragam diperoleh kesimpulan bahwa H_0 diterima yang berarti tidak ada perbedaan yang signifikan kadar IgY kuning telur ayam yang diberi suplementasi piridoksin via air minum, dicampur dalam ransum maupun via suntikan intravena.

TABEL2. Rataan Kadar IgY pada Kuning Telur Ayam yang Diberi Suplementasi Piridoksin dengan Metode yang Berbeda

Peubah	Metode Suplementasi Piridoksin		
	Via air minum	Dicampur dalam ransum	Via Suntikan Intravena
Kadar IgY Kuning Telur (gr/100 ml)	2,151±0,026 ^a	2.132±0,019 ^a	2,18 ± 0,036 ^a

Kandungan n IgY Telur*)	107,55 mg/butir	106,6 mg/butir	109,0 mg/butir
-------------------------	-----------------	----------------	----------------

Ket: Superskrip yang berbeda pada baris yang sama, menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,01$).

*) 1 butir telur = 5 mL

Kandungan IgY yang diperoleh dalam penelitian ini berkisar antara 106 – 109 mg IgY /butir telur. Hal ini berarti lebih tinggi dibandingkan dengan kandungan IgY yang ditemukan pada penelitian-penelitian sebelumnya dimana ayam yang diimunisasi empat kali dengan 25-100 µg antigen *Pseudomonas aeruginosa* hanya mampu menghasilkan 40-100 mg IgY per butir telur [4]. Hal ini membuktikan bahwa suplementasi piridoksin berpotensi sebagai salah satu metode praktis, murah dan efektif untuk meningkatkan produksi antibodi / immunoglobulin yolk (IgY) dalam kuning telur ayam. Hal ini juga memperkuat hasil-hasil penelitian terdahulu yang menunjukkan bahwa piridoksin benar-benar terlibat dalam biosintesis immunoglobulin sebagai respon terhadap masuknya antigen spesifik ke dalam tubuh ayam. Selanjutnya, antibodi yang telah terbentuk tersebut ditransfer ke embrio dalam kuning telur.

Tidak adanya perbedaan yang signifikan kadar immunoglobulin yang disintesis oleh tubuh ayam untuk berbagai perlakuan metode suplementasi piridoksin, diduga karena dosis suplementasi piridoksin yang diterapkan bagi ayam petelur yaitu 3,0 mg/kg ransum sudah sangat sesuai dan distribusi piridoksin yang diberikan cukup merata untuk semua ayam percobaan. Dengan adanya fakta-fakta bahwa dengan penerapan metode suplementasi piridoksin yang berbeda yaitu via air minum, mencampur dalam ransum dan suntikan intravena, diperoleh kadar immunoglobulin Y (IgY) kuning telur yang tidak berbeda secara signifikan, maka untuk implementasi di lapangan sebaiknya metode suplementasi piridoksin yang digunakan adalah via air minum karena lebih praktis, murah dan hemat tenaga dibandingkan dengan metode pencampuran dalam ransum maupun dengan cara suntikan intravena.

Kesimpulan

Berdasarkan analisis data yang dilakukan diperoleh kesimpulan bahwa kadar IgY kuning telur ayam yang diberi suplementasi piridoksin via air minum, dicampur dalam ransum maupun via suntikan intravena tidak berbeda secara signifikan. Suplementasi piridoksin melalui air minum, mencampur dalam ransum, dan via suntikan intravena pada ayam petelur memberikan rata-rata kadar antibodi /

immunoglobulin yolk (IgY) kuning telur berturut-turut sebesar $2,151 \pm 0,026$ gr/100mL atau setara dengan 107,55 mg/ butir telur ; $2,132 \pm 0,019$ gr/100mL atau setara dengan 106,6 mg/ butir telur dan $2,18 \pm 0,036$ gr/100mL atau setara dengan 109,0 mg/ butir telur. Kandungan IgY yang diperoleh ini lebih tinggi dibandingkan dengan kandungan IgY yang ditemukan pada penelitian-penelitian sebelumnya. Pemberian suplementasi piridoksin via air minum pada ayam petelur merupakan metode yang paling praktis, murah dan efektif untuk meningkatkan produksi antibodi / immunoglobulin yolk (IgY) dalam kuning telur ayam.

Penelitian lanjutan sangat perlu dilakukan untuk menguji kemanjuran IgY kuning telur dalam mencegah timbulnya kelainan /penyakit akibat serangan antigen spesifik. Telur diberikan pada tikus putih dengan tingkat kematangan yang bervariasi yaitu mentah, setengah matang dan matang. Dari percobaan tersebut akan diketahui apakah ada pengaruh tingkat kematangan telur yang dikonsumsi terhadap efektivitas IgY kuning telur dalam mencegah timbulnya kelainan /penyakit akibat serangan antigen spesifik.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Rektor Unimed dan Pimpinan DP2M-Kementerian Riset dan Pendidikan Tinggi, atas bantuan biaya penelitian ini melalui Proyek Penelitian Hibah Bersaing.

Daftar Pustaka

- Alexander, R.R., J.M. Griffiths dan M.L. Wilkinson. 1985. *Basic Biochemical Methods*. Jhon Wiley & Sons. New York.
- Carlander, D. 2002. Avian IgY antibody, invitro and invivo. Dissertation. Acta Universitatis Upsaliensis. Upsala
- Chen, H., K.May, W.Zang, Z. Liufu, W.Xu, and B.Tan. 2005. Effects of dietary pyridoxine on immune responses in abalone, *Haliotis discus hannai* Ino. *Fish & shellfish immunology*. 19 (3) :241-52
- Darmawi., U.Balqis., R. Tiuria., M. Hambal dan Samadi. 2010. Purifikasi Immunoglobulin Yolk Ayam yang Divaksin Terhadap Ekskretori/Sekretori Stadium L₃ *Ascaridia galli*. *Agripet* 10 (2): 9-15
- Debes, S.A., and A. Kirksey. 1999. Influence of dietary pyridoxine on selected immune capacities of rat dams and pups. *J. Nutr.* 109: 744-250.
- Djanah, D. 1991. *Beternak Ayam*. CV.Yasaguna, Surabaya.
- Kumar, M., and A.E. Axelrod. 1988. Cellular antibody synthesis in vitamin B6-deficient rats. *J. Nutr.* 96: 53-59.
- Li X., T. Nakano., HH. Sunwoo., BH.Paek., HS. Chae and JS. Sim. 1998. Effects of egg and yolk weight on yolk antibody (IgY) production in laying chickens. *Poult Sci.* 77: 266-270
- Silitonga, P.M., dan M.Silitonga. 2013. Upaya Meningkatkan Produksi Immunoglobulin Y (IgY) Kuning Telur dengan Suplementasi Piridoksin. Laporan Hasil Penelitian Hibah Bersaing Tahun I, Dikti-Kemdiknas.
- Soejoedono, RD., Z.hayati dan IWT.Wibawan. 2005. Pemanfaatan Telur Ayam Sebagai Pabrik Biologis: Produksi Yolk Immunoglobulin (IgY) anti plaque dan diare dengan Titik Berat pada Anti *Streptococcus mutan*, *Escherichia coli* dan *Salmonella Enteridis*. Laporan RUT XII Kerjasama Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat IPB dengan Kementerian Riset dan Tehnologi RI
- Suartha, IN., IWT. Wibawan., dan IBP. Darmono. 2006. Produksi immunoglobulin Y spesifik antitetanus pada ayam. *J. Vet.* 7 (1) : 21-28
- Suartini, IGAA., IWT. Wibawan., MT.Suhartono., Supar dan IN.Suarta. 2007. Aktivitas IgY dan IgG antitetanus setelah perlakuan pada berbagai pH, suhu dan enzim proteolitik. *J.Vet.* 8 (4): 160-166