



KEMANJURAN IgY KUNING TELUR AYAM YANG TELAH MEMPEROLEH SUPLEMENTASI PIRIDOKSIN MENCEGAH KELAINAN OLEH *Salmonella enteritidis*

¹Pasar Maulim Silitonga, ²Melva Silitonga dan ²Meida Nugrahalia

¹Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Medan

²Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Medan

Jln. Willem Iskandar Pasar V, Medan 20221

Email korespondensi: pasar.silitonga@gmail.com

Diterima: September 2019; Direvisi: Oktober 2019; Disetujui: Desember 2019

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian untuk menguji kemanjuran IgY kuning telur ayam yang telah memperoleh suplementasi piridoksin dalam mencegah kelainan yang diakibatkan oleh infeksi bakteri *S.Enteritidis*. Telur dikoleksi dari ayam petelur yang telah diberi suplementasi piridoksin dosis 3 mg/kg dan diinjeksi dengan *S. Enteritidis* sebanyak 1,0 ml (109sel/ml). Pada uji kemanjuran IgY digunakan 10 ekor tikus putih dewasa yang dibagi menjadi 2 kelompok yang terdiri dari lima ekor setiap kelompok. Kelompok P diberi kuning telur selama 31 hari, kelompok K (control) tidak diberi kuning telur. Setelah perlakuan kuning telur selesai, semua tikus putih disuntik dengan *S.Enteritidis* 1,0 ml (109sel/ml). Hasil penelitian menunjukkan bahwa IgY antidiare yang terkandung dalam kuning telur ayam yang telah memperoleh suplementasi piridoksin, cukup efektif mempertahankan kadar kalium dan albumin serum sebagaimana pada kondisi normal.

Kata Kunci: *Piridoksin, IgY, Immunoglobulin*

EFFICACY OF EGG YOLK IgY FROM CHICKEN SUPPLEMENTED WITH PYRIDOXINE AGAINST *Salmonella enteritidis*

ABSTRACT

Efficacy of egg yolk (IgY) from chicken supplemented with pyridoxine on *Salmonella Enteritidis* has been investigated. The eggs were collected from chicken supplemented with pyridoxine (3 mg/kg food) and has injected with 1,0 mL *S. Enteritidis*. The efficacy test was carried out using 10 mice. The mice were divided in to two groups and each group consists of 5 mice. Each mouse in Experiment (P) group was given egg yolk for 31 days. K group was the control group. All mice in all groups was then injected with 1 mL *Salmonella Enteritidis*. The result showed that the egg yolk IgY which produced by chicken supplemented with pyridoxine was effective for maintaining potassium and albumin serum level as in normal mice.

Keywords : *Pyridoxine, Immunoglobulin, IgY*

Pendahuluan

Pencegahan berbagai jenis penyakit yang ditimbulkan oleh mikroorganisme patogen seperti virus dan bakteri, sangat perlu dilakukan. Pencegahan dapat dilakukan dengan cara menyuntikkan antigen tertentu ke dalam tubuh sehingga tubuh akan membentuk antibodi spesifik (imunisasi aktif) dan dapat juga dilakukan dengan cara mengkonsumsi

bahan makanan yang telah mengandung antibodi spesifik terhadap antigen tertentu sehingga tubuh akan kebal terhadap serangan antigen tersebut (imunisasi pasif).

Ayam telah dikenal sebagai pabrik biologis penghasil antibodi yaitu immunoglobulin Y (IgY) dalam kuning telur [1] ; [2]; [3]. Apabila ayam diimunisasi dengan antigen tertentu, maka biosintesis antibodi akan berlangsung

dalam sistem imun dan selanjutnya ditransfer ke embrio melalui telur sehingga antibodi dapat ditemukan dalam telur ayam. Selanjutnya, jika kuning telur tersebut dikonsumsi, maka konsumen akan memperoleh imunisasi pasif sehingga kebal terhadap antigen spesifik tersebut. Berbagai penelitian telah memproduksi antibodi dengan memanfaatkan ayam sebagai pabrik biologis dan telah diaplikasikan untuk pengobatan dan pencegahan penyakit seperti Marek [4], flu burung [5], dan tetanus [6]. Namun demikian, permasalahan hingga saat ini adalah jumlah produk IgY yang diperoleh dari setiap butir telur masih rendah sehingga belum menguntungkan dari segi komersil. Ayam yang diimunisasi empat kali dengan 25-100 µg antigen hanya mampu menghasilkan 40-100 mg IgY per butir telur [7].

Salah satu upaya untuk meningkatkan produksi antibodi dalam kuning telur adalah dengan cara suplementasi piridoksin pada ayam petelur. Piridoksin atau vitamin B6, merupakan vitamin yang sangat penting dalam proses metabolisme. Piridoksal posfat (PLP) sebagai bentuk aktif dari vitamin B6 merupakan koenzim yang berperan mengkatalisis berbagai reaksi metabolisme asam amino dan protein dan terlibat juga dalam aspek pembentukan sistem pertahanan tubuh. Upaya meningkatkan produksi IgY kuning telur spesifik anti tetanus dengan suplementasi piridoksin telah dilaporkan. Suplementasi piridoksin dosis 3,0 mg/kg ransum pada ayam petelur memberikan IgY anti tetanus sebesar 106,1 mg/ butir telur atau meningkat sekitar enam persen [8]. Walaupun produksi IgY anti tetanus telah meningkat dengan suplementasi piridoksin, tetapi masalahnya apakah peningkatan tersebut berlaku umum untuk bakteri patogen atau antigen lainnya ?. Apakah suplementasi piridoksin dapat diimplementasikan untuk optimalisasi produksi IgY anti diare dan penyakit lainnya?. Hal ini merupakan tantangan yang sangat menarik untuk diverifikasi.

Diare merupakan salah satu jenis penyakit infeksi usus yang disebabkan oleh invasi bakteri *S. Enteritidis* atau *S. Typhimurium* yang sering terjadi di Indonesia dengan kejadian penyakit 400 per 1000 penduduk [9]. Secara biokimiawi, penyakit ini mengakibatkan menurunnya kadar albumin serum hingga dibawah normal (hipoalbuminemia) dan kadar

kalium darah berada dibawah normal (hipokalemia) [10]. Mengingat bahwa penyakit diare sangat berbahaya bagi masyarakat, sementara fakta telah menunjukkan bahwa suplementasi piridoksin dapat meningkatkan produksi IgY, maka penelitian untuk memproduksi IgY kuning telur spesifik anti diare seoptimal mungkin dengan suplementasi piridoksin sangat perlu dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan IgY yang terkandung dalam kuning telur mencegah kelainan yang diakibatkan oleh bakteri *S. Enteritidis* pada tikus putih. Melalui penelitian ini diharapkan akan diperoleh metode praktis yang dapat digunakan untuk meningkatkan dan mengoptimalkan jumlah produksi IgY untuk berbagai jenis penyakit.

Bahan dan Metode

Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap yaitu: (1) Memproduksi IgY kuning telur dengan cara memberi perlakuan suplementasi piridoksin pada ayam petelur dengan dosis 3 mg/kg ransum, dan (2) Melakukan Uji kemanjuran IgY kuning telur pada tikus putih.

Produksi IgY pada Telur Ayam

Bakteri *S. Enteritidis* rujukan ATCC 130706 dan lokal 821/94 ditumbuhkan pada media BHI dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18 jam. Suspensi disentrifugasi pada kecepatan 10 000 rpm selama 10 menit. Pelet diresuspensi dua kali, dengan 5 ml NaCl fisiologis lalu disentrifugasi seperti sebelumnya. Pelet dilarutkan dalam 5 ml NaCl fisiologis, dihomogenkan dan diukur konsentrasi selnya pada λ 620 nm untuk menentukan kandungan bakteri 109 sel/ml. Suspensi diinaktifkan dalam penangas air pada suhu 56 °C selama 60 menit, didinginkan dan siap digunakan sebagai vaksin untuk produksi antibodi [11].

Untuk produksi IgY anti diare dalam kuning telur ayam dilakukan sesuai prosedur [11]. Digunakan 12 ekor ayam betina dewasa (jenis Isa brown) siap bertelur dan dimasukkan dalam kandang yang berbentuk sangkar empat persegi panjang ukuran 45 x 30 x 45 cm yang disusun berderet memanjang saling bertolakan. Pemeliharaan dilakukan dalam kandang baterai selama 10 minggu. Selama percobaan semua ayam diberi air minum secara ad libitum dan ransum komersil yang telah mengandung piridoksin dengan dosis normal. Setelah 12 hari

adaptasi, ayam diberi perlakuan suplementasi piridoksin dosis 3,0 mg/kg ransum via air minum. Satu minggu setelah pemberian perlakuan suplementasi, semua ayam diinjeksi dengan 0,5 ml (109sel/ml) suspensi *S. Enteritidis* secara intravena selama tiga hari berturut-turut. Immunisasi ulang dilakukan pada minggu kedua dengan *S. Enteritidis* sebanyak 1,0 ml (109sel/ml) yang diemulsikan dalam Freund's adjuvant complete. Pada minggu ketiga dan keempat, suntikan ulang dilakukan dengan antigen *S. Enteritidis* sebanyak 1,0 ml (109sel/ml) yang diemulsikan dalam Freund's adjuvant incomplete. Sampel telur diambil setelah 2 minggu injeksi antigen *S. Enteritidis* yang terakhir untuk uji kemanjuran IgY kuning telur pada tikus percobaan.

Uji Kemanjuran IgY kuning Telur Ayam pada Tikus Putih

Untuk tahap uji kemanjuran IgY kuning telur, digunakan 10 ekor tikus putih dewasa berumur 2-3 bulan dengan berat badan 140-200 gram. Pemeliharaan dilakukan dalam kandang yang telah disediakan sebelumnya. Tikus dikelompokkan menjadi 2 (dua) kelompok masing-masing 5 ekor tiap kelompok. Untuk kelompok I (eksperimen) tikus diberi kuning telur yang telah diperoleh pada prosedur sebelumnya dengan cara mencampurnya dalam ransum. Kelompok II (Kontrol) tidak diberi tambahan makanan kuning telur. Selama pemeliharaan dan perlakuan, tikus percobaan diberi makan dan minum ad libitum. Pada hari ke 31, semua tikus disuntik dengan *S. Enteritidis* aktif. Tiga hari setelah suntikan, dilakukan pengamatan terhadap setiap tikus percobaan terutama mengenai kelainan-kelainan yang terjadi dan gejala penyakit yang timbul. Pengambilan darah dilakukan seminggu setelah suntikan *S. Enteritidis* aktif untuk analisis kadar albumin serum dan kadar kalium darah. Kadar kalium serum ditentukan dengan metode kompleksometri dan kadar albumin serum ditentukan dengan Metoda Bromo Cresol Green (BCG) [10].

Hasil Dan Pembahasan

Gejala Klinis dan Tingkat Kematian

Kemampuan IgY kuning telur mencegah kelainan pada tikus putih dilihat dari ada

tidaknya gejala khas yang ditimbulkan oleh *S. Enteritidis* yaitu meningkatnya frequensi buang air besar disertai tinja yang lembek dan berair dimana tubuh mengeluarkan cairan dan badan lemas.

Pada hari pertama pasca injeksi toksin, gejala klinis khas diare muncul pada tikus putih kelompok kontrol (kelompok yang tidak diberi kuning telur ayam). Gejala klinis yang pertama muncul adalah semakin meningkatnya frequensi buang air besar yang lembek dan berair. Gejala ini semakin parah hingga hari keempat pasca injeksi bakteri *S. Enteritidis* namun tidak sampai menimbulkan kematian. Pada kelompok tikus yang diberi perlakuan kuning telur ayam yang telah memperoleh suplementasi piridoksin, gejala klinis khas direseperti diatas muncul pada hari ketiga pasca injeksi bakteri *S. Enteritidis*, tetapi kemudian berangssur berkurang bahkan hilang pada hari keempat dan tidak ada menimbulkan kematian.

Kadar Kalium Serum Tikus Putih

Pemberian kuning telur produk ayam yang telah memperoleh suplementasi piridoksin pada tikus putih memberikan rataan kadar kalium serum sebesar $5,376 \pm 0,18$ mEq/ liter, sementara tikus putih yang tidak diberi kuning telur ayam memberikan rataan kadar kalium serum sebesar $3,64 \pm 0,59$ mEq/ liter (Tabel 1). Dari hasil uji beda rataan dengan uji t diperoleh kesimpulan bahwa pemberian kuning telur produk ayam yang telah memperoleh suplementasi piridoksin memberikan rataan kadar kalium serum yang berbeda nyata dengan tikus putih yang tidak diberi kuning telur ayam.

Tabel 1. Rataan Kadar Kalium Serum Tikus Putih Yang Diberi Kuning Telur Ayam yang telah memperoleh suplementasi piridoksin

Peubah	Perlakuan	
	Diberi Kuning Telur	Tidak Diberi Kuning Telur
Kadar Kalium Serum (mEq/liter)	$5,376 \pm 0,18^a$	$3,64 \pm 0,59^b$

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

Pada keadaan normal, kadar kalium serum tikus putih adalah 4,85 – 5,85 mEq/ liter [10]. Dalam penelitian ini, pada tikus putih yang diberi kuning telur ayam yang telah memperoleh suplementasi piridoksin diperoleh kadar kalium serum tetap dalam keadaan normal walaupun telah disuntik dengan bakteri *S.Enteritidis*. Sebaliknya rataan kadar kalium serum tikus putih yang tidak diberi kuning telur berada di bawah normal. Disimpulkan bahwa Ig Y kuning telur yang diproduksi dengan pemberian suplementasi piridoksin pada ayam petelur cukup efektif mempertahankan kadar kalium serum tikus putih sebagaimana pada kondisi normal.

Kadar Albumin Serum Tikus Putih

Dari hasil analisis kadar albumin serum tikus putih diperoleh bahwa pemberian kuning telur produk ayam yang telah memperoleh suplementasi piridoksin pada tikus putih memberikan rataan kadar albumin serum sebesar $4,69 \pm 0,10$ mg/100ml, sementara tikus putih yang tidak diberi kuning telur ayam memberikan rataan kadar albumin serum sebesar $2,34 \pm 0,16$ mg/100ml.

Dari hasil uji beda rataan dengan uji t diperoleh kesimpulan bahwa pemberian kuning telur produk ayam yang telah memperoleh suplementasi piridoksin memberikan rataan kadar albumin serum yang berbeda nyata dengan tikus putih yang tidak diberi kuning telur ayam.

Tabel 2.Rataan Kadar Albumin Serum Tikus Putih Yang Diberi Kuning Telur Ayam yang telah memperoleh suplementasi piridoksin

Peubah	Perlakuan	
	Diberi Kuning	Tidak Diberi Kuning
Kadar Albumin Serum	$4,69 \pm 0,10^a$	$2,34 \pm 0,16^b$
(mg/100ml)		

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

Pada keadaan normal, kadar albumin serum tikus putih adalah 2,70 – 5,10 mg/100ml

[10]. Pada semua sampel tikus putih yang diberi kuning telur produk ayam yang telah memperoleh suplementasi piridoksin ditemukan bahwa kadar albumin serum tetap dalam keadaan normal walaupun telah disuntik dengan bakteri *S.Enteritidis*, sebaliknya rataan kadar albumin serum tikus putih yang tidak diberi kuning telur berada di bawah normal. Berdasarkan data tersebut dapat disimpulkan bahwa Ig Y kuning telur yang diproduksi dengan pemberian suplementasi piridoksin pada ayam petelur cukup efektif mempertahankan kadar albumin serum tikus putih sebagaimana pada kondisi normal. Dengan kata lain IgY yang diproduksi cukup efektif mencegah timbulnya kelainan /penyakit akibat serangan antigen *S.Enteritidis*.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Coleman yang mengemukakan bahwa pemberian IgY memberikan dampak sistemik sehingga mampu menggertak sistem immun humorai dan selular [12] Immunisasi pasif melalui pemberian IgY sangat efektif dalam pencegahan karies gigi dan diare [13] Hasil penelitian ini juga mendukung penelitian Tamilzarasan yang mengemukakan bahwa immunotherapy passif dengan menggunakan IgY spesifik dari kuning telur dapat mencegah penyakit akibat serangan bakteri *E.coli*, *Salmonella pulporum*, *Clostridium perfringens* dan *C.jejuni*.[14]. Immunisasi passif pada tikus percobaan dengan pemberian secara oral IgY kuning telur spesifik terhadap *Vibrio cholerae* secara efektif dapat mencegah timbulnya penyakit kolera [15]. Dari hasil penelitian sebelumnya yang telah kami lakukan menyimpulkan bahwa IgY antitetanus yang terkandung dalam kuning telur ayam yang telah memperoleh suplementasi piridoksin, cukup efektif mencegah kelainan yang diakibatkan oleh toksin tetanus pada tikus putih yang utamanya dapat mempertahankan kadar hemoglobin darah dan kadar globulin serum sebagaimana pada kondisi normal [16]. Berdasarkan temuan-temuan ini maka suplementasi piridoksin pada ayam petelur direkomendasikan sebagai suatu metode praktis,murah dan efektif untuk meningkatkan produksi berbagai jenis antibodi / immunoglobulin yolk (IgY) spesifik dalam kuning telur ayam yang cukup efektif untuk pencegahan penyakit diare dan berbagai jenis

penyakit yang ditimbulkan oleh mikroorganisme patogen.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia yang telah menyediakan dana untuk pelaksanaan penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Carlander, D. 2002. Avian IgY antibody, invitro and invivo. Dissertation. Acta Universitatis Upsaliensis. Upsala
- Coleman,M.A. 2000. Using eggs antibodies to treat desease. In Eggs nutrition and technology. Sim JS, Nakai S and Gueter W (Eds). CABI Publishing Wallingford, UK.
- Efrizal. 2007. Peran Immunoglobulin Y (IgY) sebagai Anti Adhesi dan Opsonin untuk Pencegahan Serangan *Salmonella Enteritidis*. Tesis: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor
- Girindra, A. 1989. Petunjuk Praktikum Biokimia Patologi PAU -Hayati. IPB Bogor.
- Hirai, K., H. Arimitsu., K. Umeda., K. Yokota., L. Shen., K. Ayada., Y. Kodama., T. Tsuji., Y. Hirai and. K. Oguma. 2010. Passive oral immunization by egg yolk immunoglobulin (IgY) to *Vibrio cholerae* efectively prevents cholera. *Acta Med. Okayama.* 64 (3) 163-170
- Juneja, L.R. 2000. Biological Characteristics of Eggs Components, Specifically Sialyloligosaccharides in Egg Yolk. *Egg Nutrition and Biotchnology.* Pp.234-242
- Kermani, AV., T. Moll., BR. Cho., WC. Davis and YS. Lu. 2001. Effects of IgY antibodi on the development of marek's disease. *Avian Dis.* 20: 32-41
- Nurhalimah,H., N.Wijayanti dan T.D.Widyaningsih. 2015. Efek Antidiare Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica* L) Terhadap Mencit Jantan yang diinduksi Bakteri *Salmonella thypimurium*. *Jurnal Pangan dan Agrobisnis.* 3 (3) : 1083-1094
- Selim,A.M., E.M.Ibrahim, A.H.El Meshad and FK.Hamouda. 2015. Development of IgY Antibodies for Control of Tetanus. *Biotechnology in Animal Husbandry.* 31 (1): 109-122
- Silitonga,P.M dan M.Silitonga. 2013. Upaya Meningkatkan Produksi Immunoglobulin Y (IgY) Kuning Telur dengan Suplementasi Piridoksin. Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung hal. 325-328.
- Silitonga,P.M.dan M.Silitonga. 2015. Kemanjuran Immunoglobulin Y (IgY) Kuning Telur Ayam yang telah Memperoleh Suplementasi Piridoksin Mencegah Kelainan oleh Toksin Tetanus. Prosiding SEMIRATA Bidang MIPA BKS-PTN Barat,Universitas Tanjung Pura,Pontianak ,hal.171-179
- 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 imunoglobulin Y spesifik antitetanus pada ayam. *J. Vet.* 7 (1) : 21-28
- Tamilzarasan, K.B., A.M. Dinakaran., G. Sevaraju and N. Dorairajan. 2009. Efficacy of egg yolk immunoglobulins (IgY) against enteric pathogens in poultry. *Tamilnadu J. Veterinary & Animal Sciences* 5 (6) 264-268
- Wibawan, IWT. 2008. Pemanfaatan Telur Ayam Sebagai Pabrik Biologis. Majalah Ilmiah Veternakan. 11 (1); 36-40
- Wibawan, IWT., S.Murtini., RD.Soejoedono dan IGNK.Mahardika 2009. Produksi IgY Antivirus Avian Influenza H5N1 dan Prospek Pemanfaatannya dalam Pengebalan Pasif. *J. Vet.* 10 (3): 118-124