

## Efek Antigen Laktat Dehidrogenase Spesifik dari Berbagai Tipe Domba Prolifik terhadap Respon Hematologis Antibodi pada Ayam

(Effect of Specific Lactate Dehydrogenase Antigen from Sheep with Different Prolific Type on Hematology and Antibody Responses of Chicken)

Mas Yedi Sumaryadi<sup>1</sup>, Prayitno<sup>1</sup> dan Wasmen Manalu<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto

<sup>2</sup> Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor

**ABSTRACT:** Maternal serum of thirty nine ewes were used to study hematological and antibody responses of chicken injected with antigen protein of specific LDH obtained from sheep with different litter sizes (prolific type). The prolific type of ewes was determined base on litter size (LS), which were low ( $1 \leq LS \leq 1.5$ ), medium ( $1.5 < LS \leq 2.0$ ), and high ( $LS > 2.0$ ). There were ten ewes carrying specific LDH protein. The number of animals of low, medium, and high prolific-type ewes was 3, 5, and 2 heads, respectively. The serum was used to produce antigen and injected to chicken to promote antibody production of anti LDH. The results of research showed that different prolific-type has no significant ( $P > 0.05$ ) effects on hematological and antibody titer of chicken. However, hematological status of chicken injected with specific LDH antigen was significantly ( $P < 0.05$ ) higher than control. It can be concluded that production of specific protein anti LDH can be done in layer by injection of antigen from ewes. Product of specific protein anti LDH of prolific ewes still needs field test for its accuracy for selection of ewes with different prolific type.

**Key Words:** Hematology, antibody, lactate dehydrogenase (LDH), ewes

### Pendahuluan

Kemajuan dibidang imunologi, secara aplikasi dapat digunakan baik sebagai alat deteksi dini untuk penyakit, ovulasi, kebuntingan atau studi genetik pada ternak dengan menggunakan produk antibodi (Murray, 1989). Antibodi yang dihasilkan oleh hewan berbedabeda sesuai dengan antigen yang masuk, antibodi ini hanya akan bereaksi dengan antigen yang digunakan sebagai pemicu. Prinsip ini dapat diterapkan dalam dunia peternakan yaitu untuk menyeleksi secara dini terhadap pemilihan bibit unggul, termasuk tingkat prolififikasi ternak domba.

Penelitian ini menggunakan media ayam petelur (unggas) dan antigen yang diberikan berupa antigen spesifik anti laktat dehidrogenase (LDH) domba dari berbagai tingkat prolififikasi. Ayam mempunyai potensi digunakan sebagai media memproduksi antibodi yang mempunyai kespesifikan terhadap antigen yang berasal dari mamalia dibandingkan menggunakan media sesama mamalia, karena secara taksonomi (filogenik) antara ayam dan mamalia mempunyai hubungan kekerabatan jauh (Marquard, 2000).

Serum ayam mengandung tiga imunoglobulin penting yaitu IgA, IgG dan IgM. Mekanisme deposisi IgG dalam telur hampir sama dengan transfer IgG melalui plasenta pada mamalia (Rose dan Olson,

1981). Percobaan sebelumnya telah dilaporkan, bahwa ayam dapat diimunisasi dengan berbagai macam antigen termasuk bovin serum albumin (BSA) (Ermeling *et al.*, 1992; Li *et al.*, 1998a), albumin serum manusia (Rose dan Oslon, 1981), proteoglikan (Li *et al.*, 1998b), lipopolisakarida (Sunwoo *et al.*, 1996). Selanjutnya dilaporkan, bahwa bila ayam diimunisasi dengan berbagai macam antigen, ternyata dapat menginduksi produksi IgG spesifik terhadap antigen yang diinduksikan. Secara fisika-kimia IgG pada ayam berbeda dengan IgG pada mamalia terutama ukuran molekulnya (Otani *et al.*, 1990). Pembuatan IgG pada ayam merupakan metode yang relatif murah dan ekonomis dalam upaya memproduksi antibodi poliklonal (Akita dan Nakai, 1998).

Dengan demikian, jika antigen spesifik anti LDH domba diinjeksikan pada ayam tentunya akan menimbulkan respon imunologi pada tubuh ayam tersebut. Hal ini sesuai dengan pendapat Tizzard (1988), bahwa bila antigen diinjeksikan pada hewan maka akan terbentuk antibodi yang dapat bereaksi dengan antigen tersebut. Namun masalahnya bagaimana tingkat respon penyuntikan antigen spesifik anti LDH domba yang berasal dari berbagai tipe prolififikasi pembawa gen tunggal *FecJ<sup>F</sup>* (*Fecundity java*) terhadap perubahan hematologis dan pembentukan antibodi pada ayam perlu dikaji dalam

penelitian ini. Penelitian bertujuan untuk mengetahui penyuntikan antigen spesifik anti LDH domba dari berbagai tingkat prolififikasi terhadap respon hematologis dan pembentukan antibodi pada ayam petelur.

## Metode Penelitian

Penelitian dilakukan secara laboratoris, dengan menggunakan serum dari 39 ekor domba yang terdiri dari serum domba tipe prolififikasi rendah dengan jumlah anak sekelahiran (JAS)  $1 - 1,5$  ( $1 \leq \text{JAS} \leq 1,5$ ), tipe prolifik sedang  $1,5 - 2,0$  ( $1,5 < \text{JAS} \leq 2,0$ ), dan prolifik tinggi dengan rata-rata ( $\text{JAS} > 2,0$ ).

### Identifikasi Pola Protein LDH Spesifik

Protein serum dari 39 ekor domba diisolasi proteinnya dengan kromatografi gel kolom penyaringan (filtrasi) menggunakan Sphadex G-70. Protein enzim LDH dalam gel kolom dielusi dengan buffer posfat 0,01M pH 8,2 dengan kecepatan alir 5 ml per 6 menit. Eluat dari kolom ditampung dalam tabung pengumpul fraksi dan keseluruhan diperoleh 50 tabung. Selanjutnya, masing-masing tabung fraksi ditentukan aktifitas LDH-nya dengan metode Wuryastuti (1991). Masing-masing tabung fraksi yang menunjukkan adanya aktifitas LDH dikumpulkan menjadi satu dan selanjutnya dikeringkan dengan pengeringan beku (*freeze dryer*). Serbuk LDH yang diperoleh dilarutkan dengan 0,2 ml aquades dan selanjutnya protein spesifik LDH dipisahkan dengan poliakrilamid gel elektroforesis. Dari 39 ekor domba prolifik ditemukan protein LDH spesifik sebanyak 10 ekor yang terdiri dari prolifik rendah 3 ekor, prolifik sedang 5 ekor, dan prolifik tinggi 2 ekor.

### Pembuatan Antigen (Protein LDH Spesifik)

Sepuluh ekor induk domba yang memiliki pola protein LDH spesifik masing-masing untuk tipe prolififikasi rendah, sedang, dan tinggi adalah 3, 5, dan 2 ekor digunakan dalam percobaan ini untuk membuat antigen.

Pita protein LDH spesifik pada gel poliakrilamid dari masing-masing tipe prolififikasi dipotong kemudian gel dihancurkan dalam aquades. Protein LDH yang telah larut dalam aquades diendapkan dengan larutan Tri Chloro Acetic Acid (TCA) 10% dan dilanjutkan sentrifugasi pada 3000 rpm selama 15 menit. Pelet yang diperoleh dikeringkan dengan *freeze dryer*. Selanjutnya, kristal protein LDH spesifik yang diperoleh digunakan sebagai antigen untuk produksi

antibodi anti LDH domba pada ayam petelur *Isa Brown* umur 50 minggu.

### Produksi Antibodi anti LDH Domba

Dua puluh empat ekor ayam digunakan dalam percobaan ini. Ayam percobaan dikelompokkan menjadi empat kelompok yang terdiri dari kelompok kontrol, kelompok produksi antibodi anti LDH domba prolifik rendah, kelompok produksi antibodi anti LDH domba prolifik sedang, dan kelompok produksi antibodi anti LDH domba prolifik tinggi. Selanjutnya dilakukan imunisasi terhadap ayam percobaan sesuai kelompok perlakuan.

### Prosedur Imunisasi Antigen Protein LDH Spesifik pada Ayam Petelur

Sebanyak 2 mg kristal protein LDH spesifik domba dari masing-masing tipe prolififikasi dilarutkan dalam 0,5 ml NaCl fisiologis 0,8%, kemudian dicampur dengan 0,5 ml *freunt adjuvant complete*. Selanjutnya diinjeksikan pada bagian dada (otot pectoralis) ayam petelur *Isa Brown* umur 50 minggu. Setelah 2 minggu terhitung dari imunisasi pertama dilakukan *booster* dengan menggunakan 2 mg protein spesifik LDH dalam 0,5 ml NaCl fisiologis 0,8% ditambah 0,5 ml *freunt adjuvant incomplete*. Injeksi antigen dilakukan pada bagian yang sama saat imunisasi pertama. Setelah satu bulan terhitung dari imunisasi I ayam diambil sampel darahnya, kemudian pengambilan sampel darah dilakukan setiap 2 minggu sampai dengan 3 bulan dari imunisasi I. Semua sampel serum yang diperoleh dilakukan pengujian hematologis (jumlah sel darah putih non limfosit, limfosit, sel darah merah dan kadar hemoglobin), uji serologik, dan titer antibodinya. Untuk menguji pengaruh perlakuan terhadap peubah yang diamati dilakukan analisis ragam (Steel dan Torrie, 1981).

## Hasil dan Pembahasan

Hasil analisis terhadap kondisi hematologis dan titer antibodi ayam yang diimunisasi antigen protein LDH spesifik dari masing-masing domba prolifik seperti tertera pada Tabel 1.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa antigen protein LDH spesifik dari berbagai tipe prolififikasi domba berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap kondisi hematologis ayam. Kondisi hematologis ayam yang diimunisasi antigen protein LDH spesifik dari berbagai tipe prolififikasi domba berbeda sangat nyata ( $P < 0,01$ ) lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok ayam kontrol. Hal ini berarti bahwa proses

imunisasi cenderung berpengaruh ke pembentukan humoral IgG anti LDH bukan pada proliferasi sel (Tizzard, 1988; Bellanti, 1993). Di samping itu, sesuai dengan fungsi hematologis dari sel darah, baik sebagai transpoter nutrisi maupun oksigen, serta sebagai homeostatis dan pertahanan tubuh terhadap infiltrasi zat asing maupun mikroorganisme, sehingga proses imunisasi meningkatkan limfosit, sel darah merah

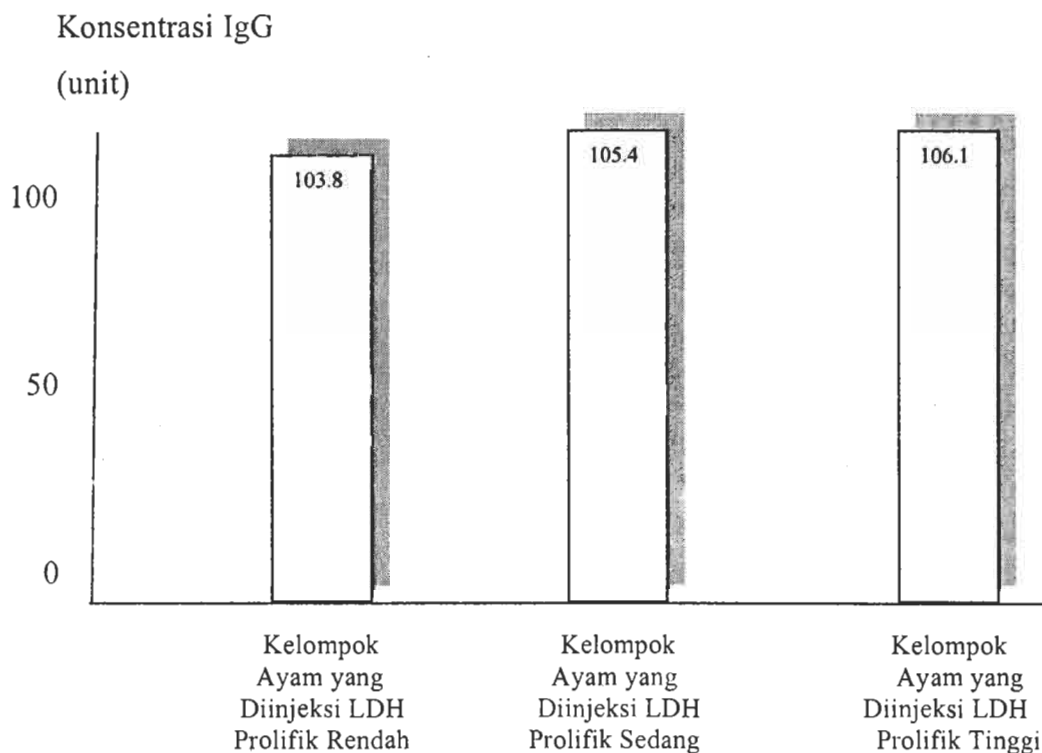
maupun hemoglobin (Bone, 1979; Ganong, 1995), sedangkan sel darah putih non limfosit menurun.

Hasil pengujian serologi kespesifikan produk antibodi yang dihasilkan terhadap antigen (LDH) dari berbagai domba tipe prolifrik ternyata titer antibodi (Tabel 1), kadar IgG anti LDH domba dan profil pembentukan antibodi, seperti terlihat pada Gambar 1.

Tabel 1. Rataan hasil analisis hematologis serta titer antibodi yang diinjeksi antigen LDH spesifik dari masing-masing tipe prolifrikasi domba

| Kondisi Hematologis                     | Antigen LDH Domba Prolifrik |                    |                    |                    |
|---|-----------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|   | Kontrol                     | Rendah             | Sedang             | Tinggi             |
| Sel darah putih non limfosit (%)        | 86,08 <sup>a</sup>          | 71,76 <sup>b</sup> | 71,29 <sup>b</sup> | 70,87 <sup>b</sup> |
| Limfosit (%)                            | 13,92 <sup>a</sup>          | 28,24 <sup>b</sup> | 28,71 <sup>b</sup> | 29,13 <sup>b</sup> |
| Sel darah merah (juta/mm <sup>3</sup> ) | 6,61 <sup>a</sup>           | 8,85 <sup>b</sup>  | 8,83 <sup>b</sup>  | 8,83 <sup>b</sup>  |
| Hemoglobin (g/100cc)                    | 7,10 <sup>a</sup>           | 7,88 <sup>b</sup>  | 7,99 <sup>b</sup>  | 8,43 <sup>b</sup>  |
| Titer antibodi (unit/ml Serum)          | 0,92 <sup>a</sup>           | 2,89 <sup>b</sup>  | 2,91 <sup>b</sup>  | 3,01 <sup>b</sup>  |

<sup>a,b</sup>. Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan ada perbedaan pada  $P < 0,05$



Gambar 1. Konsentrasi IgG anti LDH pada serum Ayam yang diimunisasi protein LDH domba prolifrik

Berdasarkan Gambar 1 maka ayam dapat digunakan sebagai media pembentukan antibodi dari antigen domba dengan spesifitas yang tinggi. Serum ayam mengandung tiga imunoglobulin penting yaitu IgA, IgG dan IgM. Protein imunoglobulin ini dapat berikatan (mengenal) dengan antigen spesifik, sedangkan antibodi terbesar yang terdapat dalam serum ayam adalah IgG (Rose dan Olson, 1981). Jika ayam diimunisasi dengan berbagai macam antigen akan menginduksi produksi IgG spesifik terhadap antigen yang diinduksikan. Secara fisika-kimia IgG pada ayam berbeda dengan IgG pada mamalia terutama ukuran molekulnya (Otani *et al.*, 1991). Hasil penelitian sebelumnya dilaporkan, bahwa ayam dapat diimunisasi dengan berbagai macam antigen termasuk bovin serum albumin (BSA) (Ermeling *et al.*, 1992), Li *et al.*, 1998a), albumin serum manusia (Rose dan Olson, 1981), proteoglikan (Li *et al.*, 1998b), lipopolisakarida (Sunwoo *et al.*, 1996).

Berdasarkan hasil analisis terhadap kondisi hematologis (sel darah putih non limfosit, limfosit, sel darah merah, dan hemoglobin), ternyata proses imunisasi lebih cenderung mempengaruhi humoral pembentuk antibodi dibandingkan terhadap proliferasi sel. Namun imunisasi dengan penyuntikan antigen protein LDH spesifik dari domba prolifrik lebih mempengaruhi fungsi sel-sel darah yang berperan dalam pertahanan tubuh dari infiltrasi benda asing. Ini berarti, penyuntikan antigen LDH sangat mempengaruhi terjadinya sintesis antibodi anti LDH spesifik domba di dalam tubuh ayam. Hal ini tercermin pula dari titer antibodi yang dihasilkan pada ayam yang diimunisasi antigen LDH spesifik domba lebih tinggi daripada kelompok perlakuan kontrol.

## Kesimpulan

Hasil penelitian disimpulkan bahwa pembuatan produksi antibodi anti LDH domba pada ayam dengan menggunakan antigen protein spesifik LDH dari masing-masing tipe prolifrikasi telah berhasil dilakukan pada ayam. Namun demikian, produk kristal antibodi anti LDH dari domba prolifrik pada ayam masih perlu uji akurasi di lapangan untuk seleksi calon induk prolifrik rendah, sedang maupun tinggi.

## Ucapan Terimakasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Proyek Riset Unggulan Terpadu (RUT) X.3 atas penyediaan dana penelitian dengan surat Perjanjian nomor: 14.39/SK/RUT/2005. Ucapan yang sama disampaikan

kepada Kelompok Tani Ternak Domba Amanat Bukateja, Pubalingga yang telah membantu fasilitas dalam pelaksanaan penelitian.

## Daftar Pustaka

- Akita, E.M., and S. Nakai, 1998. Immunoglobulin from egg yolk : Isolation and purification. *Journal of Food Science* 57: 629-634.
- Bellanti, J.A., 1993. *Immunology III*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Bone, J.F., 1979. *Animal Anatomy and Physiology*. Reston Publishing Company Inc. Reston. Virginia.
- Eemerling, B.L., E.K. Steffen, R.E. Fish and R.R. Hoak, 1992. Evaluation subcutaneous chamber as an alternatif to conventional methods of antibody production in chicken. *Laboratory Animal Science* 2: 402-407.
- Ganong, W.F., 1995. *Fisiologi Kedokteran*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Li., X., T. Nakano, H.H. Sunwoo, B.H. Paek, H.S. Chae and J.S. Sim, 1998a. Effect of egg and yolk weight on yolk antibody (IgY) production in laying chicken. *Poultry Science* 77: 266-270.
- Li., X., T. Nakano, H.H. Sunwoo, H.S. Chae and J.S. Sim, 1998b. Production of chicken egg yolk antibody (IgY) against bovine proteoglycan. *Canadian Journal of Animal Science* 78: 287-291.
- Marquardt, R.R., 2000. *Control of Intestinal Diseases in Pigs by Feeding Specific Chicken Egg Antibodies*. In: *Egg Nutrition and Biotechnology*. J.S. Sim, S. Nakai and W. Guenter (Eds). CABI-International, Toronto, Canada.
- Murray, M.Y., 1989. *Applications of Monoclonal Antibodies in Animal Health and Production*. In: *Animal Biotechnology*. Pergamon Press. Canada. Pp.21-34.
- Otani, H., K. Matsumoto, A. Saeki and A. Hosono, 1991. Comparative studies of properties of hen egg yolk IgY and rabbit serum IgG antibodies. *Lekensmittel, Wissenschaft und Technologie* 24: 152-158.
- Rose, M.E. and E. Orlans, 1981. Immunoglobulin in the egg embryo and young chick. *Development and Comparative* 5: 15-20.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie, 1981. *Principle and Procedures of Statistics*. McGraw Hill Book. Co. Inc. New York.
- Sunwoo, H.H., T. Nakano, W.T. Dnou and J.S. Sim, 1996. Immune response in chicken against lipopolysaccharide

of *Eschericia coli* and *Salmonella typhimurium*.  
*Poultry Science* 75: 342-345.

Tizzard, I.R., 1988. *Pengantar Imunologi Veteriner*.  
Penerbit Angkasa. Bandung. Hlm. 7-49.

Wuryastuti, H., 1991. *Teknik Pemeriksaan Darah pada Mamalia*. Yogyakarta. Hlm. 63-64.