

APLIKASI KUNING TELUR UNTUK MENDETEKSI ANTIBODI PENYAKIT PADA UNGGAS

Rama Dharmawan¹; Rina Astuti Rahayu²

Medik Veteriner Laboratorium Virologi-Serologi Balai Besar Veteriner Wates Yogyakarta

Jl Jogja – Wates Km 27 , Gunung Gempal, Giripeni, Kulonprogo, Yogyakarta

*Korespondensi penulis: sangpencerah5@gmail.com ; rinaastutirahayu@yahoo.co.id

ABSTRAK

Pada peternakan ayam layer umumnya memiliki riwayat vaksinasi yang panjang, dan beberapa vaksin tentu telah mengalami *boster* beberapa kali, namun dalam beberapa kasus peternak tidak mengijinkan ayamnya untuk diambil sampel darahnya, oleh karena itu harus ada solusi untuk mendapatkan serum tanpa harus mengambil darah unggas, metode ini bertujuan untuk memisahkan *antibodi* (IgY) dari kuning telur melalui prosedur presipitasi (Polson et al.; 1980). Ada dua langkah penting dalam memisahkan IgY. yang pertama adalah pengangkatan *lipid* dan yang kedua adalah presipitasi total IgY dari supernatan. Setelah dialisis terhadap *buffer* (biasanya PBS), Kemurnian ekstrak kuning telur sekitar 80% dan tergantung pada umur ayam petelur (Diana Pauly et al ; 2011).

Hasil ekstraksi kuning telur akan diperoleh serum yang dapat diaplikasikan untuk pengujian HI test titer virus, pada pengujian kali ini menggunakan 45 telur ayam layer dari 9 peternak atau setiap peternak memberikan 5 butir telur untuk dilakukan Empat jenis pengujian antibodi penyakit terhadap *AI H5 clade 2.1.3* dan *2.3.2* , *ND* dan *AI H9N2*., dari pengujian tersebut diperoleh hasil sebagai berikut dari peternak 1-9 semua terdeteksi antibodinya, dan variasi titer antibodi yang di peroleh adalah 0 – 256 untuk *AI H5 clade 2.1.3* ; 0 – 128 untuk *AI H5 clade 2.3.2*; 8 – 2048 untuk *AI H9N2* dan 2 - 512 untuk penyakit *ND*, namun rata-rata diperoleh umumnya memiliki titer antibodi tinggi atau ≥ 16 pada ke empat pengujian.

Kesimpulan dari hasil tersebut maka penggunaan serum dari kuning telur untuk deteksi antibodi penyakit penyakit *AI* dan *ND* dan dapat dikembangkan untuk penyakit lain seperti *pulorum*, *EDS* dan *IB*

Kata Kunci : *Boster*, *Antibodi*, *Lipid*, *AI H5 clade 2.1.3* dan *2.3.2* , *ND* dan *AI H9N2*

PENDAHULUAN

Pada peternakan ayam layer umumnya memiliki riwayat vaksinasi yang panjang, dan ada beberapa vaksin tentu telah mengalami *boster* beberapa kali, namun dalam kondisi tertentu para peternak layer sulit atau tidak mengijinkan ayamnya untuk diambil sampel darahnya, oleh karena itu harus ada solusi untuk mendapatkan serum tanpa harus mengambil darah unggas pada peternakan layer yang kita inginkan. metode ini bertujuan untuk memisahkan *antibodi* (IgY) dari kuning telur melalui prosedur presipitasi (Polson et al.; 1980). Ada dua langkah penting dalam memisahkan IgY. yang pertama adalah pengangkatan *lipid* dan yang kedua adalah presipitasi total IgY dari supernatan. Setelah dialisis terhadap *buffer* (biasanya PBS), Kemurnian ekstrak kuning telur sekitar 80% dan tergantung pada umur ayam petelur (Diana Pauly et al ; 2011).

Protein pada kuning telur terdiri dalam dua bagian yaitu granula dan plasma. Protein granula tersusun atas α dan β lipovitellin (70%), phosvitine (16%) dan lipoprotein dalam takaran rendah (12%) (Burley & Cook, 1961). Beberapa protein ini berfungsi sangat penting karena karakteristik (Baldwin, 1986). Pada Protein plasma terdiri dari α , β dan γ -livetins dengan tingkat protein rendah (McCully et al., 1962). Protein α dan β livetini ini diidentifikasi mirip serum ayam yang terkandung didalam telur di bagian albumin dan α 2-glikoprotein (Hatta et al., 1990). γ -livetins adalah imuno globulin ayam, yang disekresikan dari plasma darah ke dalam folikel telur telah masak (L'osch et al., 1986). Bahkan, immunoglobulin pada kuning telur sesuai dengan immunoglobulin IgG serum darah dan dikenal sebagai IgY (Leslie & Clem, 1969). Sedangkan immunoglobulin pada serum darah, yang lain Ig M dan Ig A, dapat ditemukan dominan dalam putih telur (Rose et. Al., 1974)

Tujuan

1. Untuk Mendeteksi hasil vaksinasi pada peternakan layer tanpa harus mengambil darah secara langsung
2. Sebagai metode alternative untuk mendiagnosa penyakit unggas yang dapat diaplikasikan secara serologis
3. Sebagai bahan investigasi jika ada kasus di suatu peternakan tidak terlaporkan.

MATERI DAN METODE

Materi

Telur ayam yang diperoleh dari peternakan ayam layer di daerah Jawa Tengah, yang di peroleh dari 9 peternak yang diambil 5 butir telur per peternak sehingga diperoleh total sampel telur 45 butir, semua telur hanya di berikan kode Peternak 1-9 dan dalam beberapa variasi umur. Peternak yang memberikan telurnya adalah peternak yang diduga mengalami penurunan produksi telur 90/40

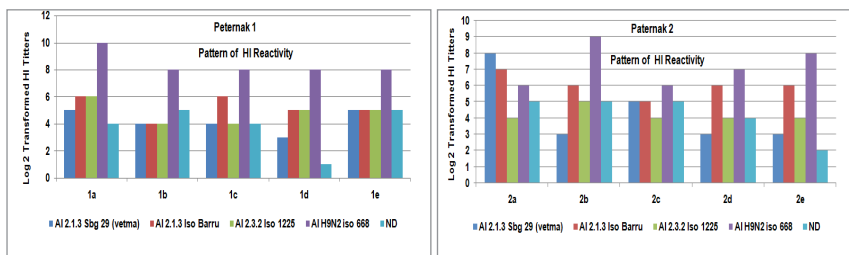
Metode

Antibodi diekstraksi dari kuning telur dengan metode pengambilan kuning telur (2 ml) dengan hati-hati dipisahkan dari putih dengan “Pipet 1 ml “ untuk memperoleh kuning telur yang murni., dan ditampung dalam tube 15 ml tambahkan 1 bagian PBS, Vortex sampai tercampur merata, inkubasi 5 menit, tambahkan 6 ml chloroform absolut, campur sampai merata selama 20 menit, selanjutnya sentrifuge 6000 -7000 rpm selama 15 menit, maka protein akan terpisah menjadi 3 bagian didalam tabung, bagian cairan kuning dan padat di tengah dan di atas cairan jernih, dan cairan jernih tersebut dapat kita ambil karena mengandung IgY dan kita sebut sebagai serum dari telur. Serum selanjutnya di lakukan pengujian HI test untuk diketahui titer antibodinya,

pengujian deteksi titer antibodi menggunakan 5 antigen, 1) A/chicken/West Jawa/subang 29/2007 dari pusvetma, AI H5N1 clade 2.1.3 , 2) isolate A/chicken/Barru/BBVM 41-13/2013, (H5N1; clade 2.1.3), dari BBVet Wates, 3) isolate A/chicken/Semarang/04141225-07/2014 (H5N1; clade 2.3.2.1c) BBVet Wates 4) Newcastle Disease (ND) Pusvetma dan 5) isolate A/chicken/Banyumas/04170832-01/2017 (H9N2) BBVet Wates.

HASIL

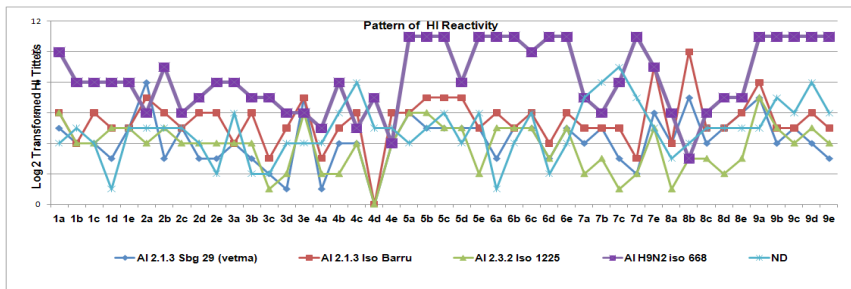
Semua telur ayam sudah dilakukan pemurnian agar diperoleh *antibodi* (IgY) serum dari kuning telur, untuk pengujian HI test diperoleh hasil sebagai berikut untuk peternak 1 seperti tampak pada Graph batang 1 dan Graph batang 2 dalam beberapa warna



Graph 1 memperlihatkan hasil uji dengan menggunakan serum kuning telur dapat bereaksi dengan baik dengan pengujian HI test dengan menggunakan 5 antigen referent terlihat titer Log 2 untuk AI H5N1 dalam interval 4 -6, sedangkan untuk titer log 2 ND 3 – 5 dan terlihat paling tinggi titer log 2 H9N2 dalam interval 8-10 dan semua setabil tinggi merata, artinya peternak sudah melakukan vaksinasi dan melakukan booster.

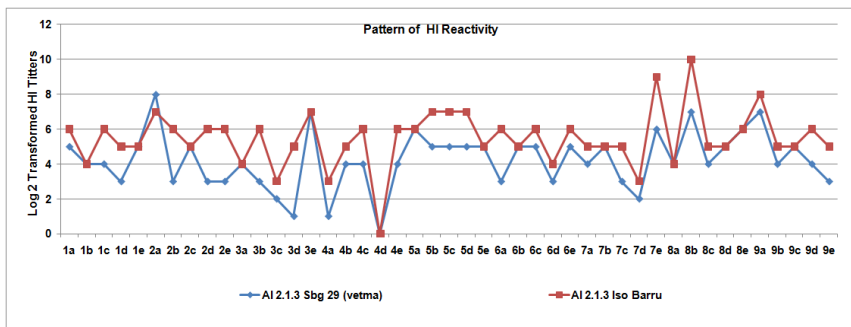
Graph 2 memperlihatkan hasil uji dengan menggunakan serum kuning telur juga bereaksi dengan baik dengan pengujian HI test dengan menggunakan 5 antigen referent terlihat titer Log 2 untuk AI H5N1 dalam interval 3 - 8, sedangkan untuk titer log 2 ND 2 – 5 dan terlihat paling tinggi titer log 2 H9N2 dalam interval 6 - 9 dan semua setabil tinggi, artinya peternak kemungkinan sudah melakukan vaksinasi dan booster.

Dari gambaran perwakilan 2 analisa tersebut hasil uji HI test serum kuning telur dari 2 peternak terhadap 5 antigen tampak semua memperlihatkan hasil uji yang baik dan hasil diperoleh seperti pengujian dengan serum yang berasal dari darah ayam, untuk melihat keseluruhan proses pengujian HI test terhadap 45 telur dari 9 peternak layer seperti terlihat pada tampilan **Graph.3**



Graph 3 korelasi antara pengujian serum kuning telur terhadap 5 antigen AI H5N1, AI H9N2 dan ND

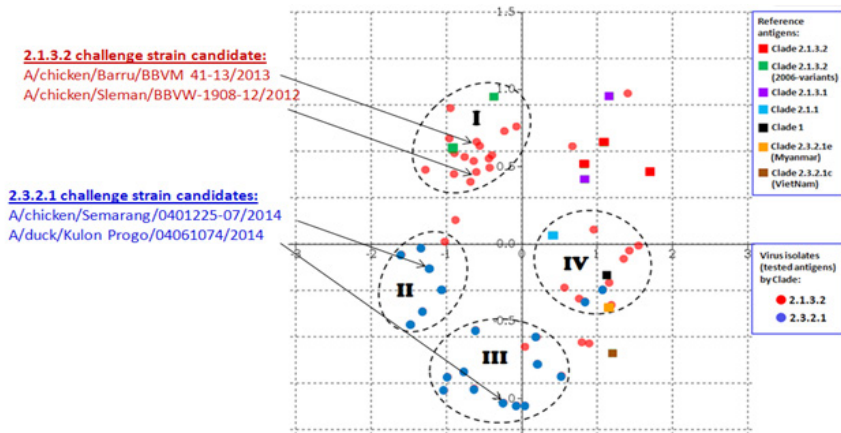
Pada **graph 3** memperlihatkan bahwa semua serum kuning telur dari peternak bereaksi baik dengan antigen yang diujikan, ada hal menarik yang terlihat ada gambaran 2 reaksi yang kuat terlihat pada kasus ini yaitu deteksi AI H9N2 isolate A/chicken/Banyumas/04170832-01/2017 (H9N2) dari BBVet Wates. dan isolate AI H5N1 clade 2.1.3 A/chicken/Barru/BBVM 41-13/2013 (H5N1; clade 2.1.3) dari BBVet Wates dan diikuti dengan antigen ND dari pusvetma, hal yang menarik di sini jika kita cermati yaitu gambaran (pattern) dari **graph 4**



Graph 4 korelasi antara antigen) A/chicken/West Jawa/subang 29/2007 dari pusvetma, AI H5N1 clade 2.1.3 dibandingkan dengan isolate A/chicken/Barru/BBVM 41-13/2013,

Antigen subang 29 sudah menjadi hal yang umum digunakan sebagai bahan deteksi titer AI dari hasil vaksinasi yang dilaksanakan dipeternakan unggas, antigen ini ditetapkan antigen deteksi AI laboratorium, sejak 2010. sebagai antigen ini juga untuk mengetahui sejauh mana homologeninitas strain vaksin AI dari pihak produsen swasta gunakan, dari tinjauan graph 4 maka terlihat antigen subang 29 potensi deteksinya sudah menurun di bandingkan dengan antigen A/chicken/Barru/BBVM 41-13/2013, yang dalam waktu dekat akan di komersialkan, hal ini sesuai pernyataan (Fenner. et al, 2011) tingkat homologenitas sebuah isolat akan mencerminkan tingkat

kuat tidaknya sebuah *avinitas* dan *aviditas* sebuah ikatan antara antigen dan antisera dan berdasarkan hasil rekomendasi pemilihan isolate A/chicken/Barru/BBVM 41-13/2013, seperti tampak pada gambar 1 pemerintah telah menetapkan 4 isolat AI H5N1 yang akan digunakan sebagai isolateantang untuk strain vaksin baru yang akan diproduksi produsen vaksin.



Gambar 1 Mapping antigenik dengan menggunakan isolate 2012-2014 pada program IVM online

Terlihat bahwa spot warna merah mewakili gambaran letak isolate AI H5N1 clade 2.1.3.2 dan spot biru merupakan gambaran letak isolate AI 2.3.2.1.c, tampak bahwa isolate AI H5N1 2.1.3 sudah banyak di tinggalkan oleh isolate AI H5N1 clade 2.3.2.1.c karena sejak tahun 2014 – 2018 mejadi isolate yang paling dominan, begitu juga AI H5N1 2.1.3 mengalami pergeseran posisinya sehingga mengurangi potensi ikatan avinitas dan aviditas, sehingga untuk ke depan akan lebih tepat memperbaharui antigen uji labolatoris untuk pengujian, dari gambaran tersebut juga kita dapat menggunakan A/chicken/Semarang/04141225-07/2014 (H5N1; clade 2.3.2.1c) digunakan sebagai antisera yang relevan untuk identifikasi virus jika kita dapat menumbuhkan virusnya. Pada grap 3 menunjukkan bahwa gambaran berwarna ungu H9N2 menunjukan titer yang kuat di dibandingkan dengan H5N1 dan ND, hal ini berarti bahwa peternakan layer yang di ambil sampel telurnya menunjukkan sudah melakukan vaksinasi secara illegal pada peternakannya, dan ini perlu difikirkan antisera maupun antigen untuk mendeteksi isolate maupun hasil vaksinasinya. Dan tentunya perlu kajian yang mendalam terkait seeding virus LPAI ini karena peternak sudah terlanjur sudah beredar dan sudah terbiasa memvaksinasi unggasnya, padahal jika berdasarkan teori, menyatakan bahwa AI strain H9N2 dapat bertukar tempat atau internal gen dengan strain AI yang lain. Hal inilah yang perlu diwaspadai terutama bahaya terjadinya pandemi.

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Penggunaan serum dari kuning telur berdasarkan pengujian yang telah dilakukan ternyata dapat digunakan untuk beberapa penyakit dan untuk mendeteksi riwayat hasil vaksinasi ternak ayam
2. Penggunaan serum dari kuning telur dapat digunakan sebagai data monitoring penggunaan antigen subang 29 yang telah ditetapkan tahun 2010, dengan membandingkan dengan penggunaan antigen A/chicken/Barru/BBVM 41-13/2013 sesuai dengan rekomendasi tahun 2015.
3. Telah terdeteksi penggunaan vaksin H9N2 pada peternakan layer yang diambil telurnya, sedangkan pada saat itu belum ada legalitas penggunaan vaksin tersebut, tanpa mempertimbangkan karakterisasi virus yang digunakan.
4. Penggunaan Serum dari kuning telur dapat digunakan sebagai bahan dan data awal untuk kegiatan investigasi dan masih diperlukan validasi uji dengan menggunakan serum darah untuk perbandingan hasil
5. Perlu pemantauan penggunaan vaksin H9N2 karena telah beredar dilapangan untuk melihat karakterisasi virus ini terhadap virus –virus AI yang lain.

KETERBATASAN DAN LIMITASI

Kajian ini masih terbatas untuk pengujian penyakit AI dan ND, sehingga perlu kedepannya untuk memvalidasi hasil yang di peroleh dan untuk penyakit yang lain mungkin juga bisa untuk digunakan baik dengan pengujian HI test maupun Elisa.

DAFTAR PUSTAKA

- BURLEY, R. W. & COOK, W. H. (1961) Isolation and composition of avian yolk granules and their constituent alpha and beta-lipovitellins, *Canadian Journal of Biochemical Physiology*, **39**, 1295.
- BALDWIN, R. E. (1986) Functional properties of eggs in foods, in *Egg Science and Technology* (STADELMAN, W. J. & COTTERILL, O. J., Eds), Macmillan, Basingstoke, pp. 345–383.
- HATTA, H., KIM, M. & YAMAMOTO, T. (1990) A novel isolation method for henn egg yolk antibody, 'IgY', *Agricultural and Biological Chemistry*, **54**, 2531– 2535.
- MCCULLY, K. A., MOK, C. C. & COMMON, R. H. (1962) Papar electrophoretic characterization of proteins and lipoproteins of hen's egg yolk, *Canadian Journal of Biochemical Physiology*, **40**, 937.

- LESLIE, G. A. & CLEM, L. W. (1969) Phylogeny of immunoglobulin structure and function. III.
- Immunoglobulin of the chicken, *Journal of Experimental Medicine*, **130**, 1337.
- ROSE, M. E., ORLANS, E. & BUTTRESS, N. (1974) Immunoglobulin classes in hen's egg: their segregation in yolk and white, *European Journal of Immunology*, **4**, 521–523.
- LÖSCH, U., SCHRANNER, I., WANKE, R. & JURGENS, L. (1986) The chicken egg, an antibody source, *Journal of Veterinary Medicine Series B Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, **33**, 609–619.