SKRIPSI

PROFIL ANTI PROLAKTIN PADA AYAM RAS PETELUR FASE *MOULTING* AWAL SETELAH DILAKUKAN IMUNISASI PASIF DENGAN ANTI PROLAKTIN

KH 134 /06
Wid
P

Oleh :

PONCO EDDY WIDODO
JEPARA – JAWA TENGAH

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2006

UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

PROFIL ANTI PROLAKTIN PADA AYAM RAS PETELUR FASE *MOULTING* AWAL SETELAH DILAKUKAN IMUNISASI PASIF DENGAN ANTI PROLAKTIN

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

Ponco Eddy Widodo
060213048

Menyetujui,

Komisi Pembimbing

Husni Anwar, Drh.	Trilas Sardjito, M.Si., Drh.
Pembimbing Pertama	Pembimbing Kedua

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar SARJANA KEDOKTERAN HEWAN.

Menyetujui

Panitia Penguji,

Dr. I.G.K. Paridjata Westra, M Agr. Sc., M. Agr. S., Drh.

Ketua

Budi Utomo, M.Si., Drh.

Sekretaris

Maslichah Mafruchati, M.Kes., Drh.

Anggota

Husni Anwar, Drh.

Anggota

Trilas Sardjito, M.Si., Drh.

Anggota

Surabaya, 30 Mei 2006

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,

Prof. Dr. Ismudiono, M.S., Drh.

NIP. 130687297

Profil anti prolaktin pada ayam ras petelur Fase *moulting* awal setelah dilakukan Imunisasi pasif dengan anti prolaktin

Ponco Eddy Widodo

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil anti prolaktin yang diimunisasikan pasif secara intra muscular di daerah muskulus pektoralis ayam. Profil anti prolaktin dapat menunjukkan kapan anti prolaktin berikatan dengan prolaktin dan selanjutnya menetralisasi kerja prolaktin penyebab ayam memasuki fase *moulting* awal dan berhenti bertelur. Profil anti prolaktin juga digunakan untuk mengetahui sampai kapan anti prolaktin yang diimunisasikan tersebut terdapat di dalam darah.

Imunisasi pasif dilakukan dengan tiga dosis anti prolaktin yaitu 50 µg/ml, 100 µg/ml, dan 200 µg/ml. Pengambilan darah dilakukan sebanyak lima kali yaitu sebelum dilakukan imunisasi pasif dan setelah dilakukan imunisasi pasif selama empat hari berturut-turut. Dilakukan pemisahan serum darah dengan sentrifugasi dan dilakukan pengamatan titer anti prolaktin dengan metode *indirect* ELISA.

Hasil dari penelitian berdasarkan metode *indirect* ELISA menunjukkan bahwa titer anti prolaktin pada satu hari setelah diimunisasi pasif dengan anti prolaktin adalah masih tinggi dan berbeda nyata dengan sebelum diimunisasi (pengambilan darah pertama). Titer anti prolaktin pada dua hari setelah imunisasi anti prolaktin (pengambilan darah ke tiga) menurun dengan drastis dan berbeda nyata dengan titer pada pengambilan darah ke dua dan pengambilan darah pertama (satu hari setelah imunisasi dan sebelum imunisasi). Titer anti prolaktin pada tiga dan empat hari setelah imunisasi (pengambilan darah ke empat dan ke lima) semakin menurun dan berbeda nyata pada setiap pengambilan darah.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa anti prolaktin telah berikatan dan menetralisasi kerja prolaktin pada dua hari setelah imunisasi dengan anti prolaktin (pengambilan darah ke tiga), yang ditandai dengan penurunan titer anti prolaktin yang sangat drastis dibandingkan pada satu hari setelah imunisasi (pengambilan darah ke dua). Anti prolaktin masih terdapat di dalam darah pada empat hari setelah imunisasi (pengambilan darah ke lima).

KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul **"Profil Anti Prolaktin Pada Ayam Ras Petelur Fase *Moulting* Awal Setelah Dilakukan Imunisasi Pasif Dengan Anti Prolaktin"** dengan baik. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada :

- Prof. Dr. Ismudiono, M.S., Drh selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Bapak Husni Anwar, Drh selaku dosen pembimbing pertama dan bapak Trilas Sardjito, M.Si., Drh selaku dosen pembimbing ke dua yang telah memberikan bimbingan dan nasehat kepada penulis.
- Bapak Dr. I.G.K. Paridjata Westra, M. Agr. Sc., M.Agr. S., Drh , bapak Budi Utomo, M.Si, Drh dan Ibu Maslichah Mafruchati, M. Kes., Drh yang telah memberikan saran dan nasehat dalam perbaikan penulisan ini.
- Ibu Dr. Hj. Mustikoweni P., M.A., Ir. Sebagai dosen wali atas dukungan dan nasehatnya.
- Ibu Erma Safitri., M.Si., Drh yang telah banyak memberikan saran dan nasehat kepada penulis.
- Ayah dan Ibu tercinta atas segala do'a dan kasih sayang serta dukungannya selama ini.

- Kakak-kakakku (Eko, Naning, Titin, Ayuk) dan keponakanku (Lia, Melly, Bagas, Hanif, Hafiz, dan Rifki) yang telah memberikan semangat dan kasih sayangnya.
- Teman-teman penelitian Laila, Ratna, Yudha, dan Seindira.
- Teman-teman angkatan 2002 dan teman-teman kost di Jl. Mulyorejo Utara 118 B.
- Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah banyak membantu di dalam penulisan ini.

Akhirnya penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari sempurna, sehingga kritik dan saran demi perbaikan serta kesempurnaan sangat diharapkan. Walaupun demikian, semoga apa yang tertuang dalam skripsi ini bermanfaat bagi pengembangan peternakan di Indonesia pada khususnya dan masyarakat luas pada umumnya

Surabaya, Mei 2006

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL vi

DAFTAR GAMBAR vii

DAFTAR LAMPIRAN viii

I. PENDAHULUAN 1

1.1 Latar Belakang Masalah 1

1.1. Rumusan Masalah 4

1.2. Landasan Teori 4

1.3. Tujuan Penelitian 5

1.4. Manfaat Penelitian 6

1.5. Hipotesis Penelitian 6

II. TINJAUAN PUSTAKA 7

2.1. Ayam Ras Petelur 7

2.2. Fase *Moulting* 8

2.3. Prolaktin 10

2.4. Anti Prolaktin 12

2.5. *Indirect* ELISA *(Enzym Linked Immunosorbent Assay)* 14

III. MATERI DAN METODE PENELITIAN 17

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian 17

3.2. Materi Penelitian 17

3.3. Metode Penelitian 18

3.4. Rancangan Penelitian 19

3.5. Rancangan Penelitian dan Analisa Data 20

IV. HASIL PENELITIAN 21

4.1. Profil Anti Prolaktin 21

V. PEMBAHASAN 32

VI. KESIMPULAN DAN SARAN 36

RINGKASAN 38

DAFTAR PUSTAKA 40

LAMPIRAN 45

DAFTAR TABEL

Tabel Halaman

1.1. Kadar prolaktin dalam darah ayam ras petelur (*Gallus Domesticus*).. 2

4.1. Titer anti prolaktin pada absorbansi 405 nm dosis 50 µg/ml 22

4.2. Analisis Varian satu arah titer anti prolaktin dosis 50 µg/ml 23

4.3. Rataan titer anti prolaktin dosis 50 µg/ml 23

4.4. Titer anti prolaktin pada absorbansi 405 nm dosis 100 µg/ml 25

4.5. Analisis varian satu arah titer anti prolaktin dosis 100 µg/ml 26

4.6. Rataan titer anti prolaktin dosis 100 µg/ml 26

4.7. Titer anti prolaktin pada absorbansi 405 nm dosis 200 µg/ml 28

4.8. Analisis varian satu arah titer anti prolaktin 200 µg/ml 29

4.9. Rataan titer anti prolaktin dosis 200 µg/ml 29

4.10. Rataan titer per dosis anti prolaktin.....30

4.11. Rataan waktu pengamatan dosis titer anti prolaktin.....31

4.12. Rataan hubungan dosis dengan waktu pengamatan
titer anti prolaktin.....31

DAFTAR GAMBAR

Gambar Halaman

2.1. Mekanisme kerja hormon prolaktin.....11

4.1. Profil anti prolaktin serum darah ayam ras petelur fase *moulting* awal sebelum dan setelah diimunisasi anti prolaktin dengan dosis 50 µg/ml.....22

4.2. Profil anti prolaktin serum darah ayam ras petelur fase *moulting* awal sebelum dan setelah diimunisasi anti prolaktin dengan dosis 100 µg/ml.....25

4.3. Profil anti prolaktin serum darah ayam ras petelur fase *moulting* awal sebelum dan setelah diimunisasi anti prolaktin dengan dosis 200 µg/ml.....28

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran Halaman

1. Prosedur kerja penentuan profil anti prolaktin metode *indirect* ELISA..45
2. Pemeriksaan *Optical Density* titer anti prolaktin.....47
3. Analisa statistik titer anti prolaktin pada dosis 50 µg.....49
4. Analisa statistik titer anti prolaktin pada dosis 100 µg/ml 51
5. Analisa statistik titer anti prolaktin pada dosis 200 µg/ml 53
6. Uji faktorial.....55
7. Penyuntikan *pure* anti prolaktin pada ayam ras petelur 58
8. Pengambilan darah melalui vena auricularis untuk isolasi dan purifikasi anti prolaktin 59
9. Imunisasi pasif anti prolaktin pada ayam ras petelur fase *moulting* awal.....60
10. Pengambilan darah pada vena axilaris ayam ras petelur Fase *moulting* awal.....61
11. Proses sentrifugasi untuk memperoleh serum darah ayam ras petelur Fase *moulting* awal.....62
12. Pengerjaan prosedur *indirect* ELISA.....63
13. Pembacaan *Optical Density* anti prolaktin dengan menggunakan ELISA *reader* 64

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang masalah

Dalam masa hidupnya semua unggas mengalami suatu periode dimana bulu-bulu yang terdapat pada tubuh lepas dan berganti dengan bulu-bulu yang baru. Keadaan yang demikian dikenal dengan istilah rontok bulu atau peranggasan (*moulting*). Menurut Indarto (1989), dan Jull (1982) fase *moulting* adalah fase istirahat bertelur dari seekor ayam ras petelur yang ditandai dengan rontoknya bulu primer, sekunder dan axial di daerah sayap. Bulu primer adalah bulu-bulu besar yang terdapat pada sayap dan terletak pada bagian luar apabila sayap dibentangkan (Anonimus, 2005).

Seekor ayam dapat dikatakan memasuki fase *moulting* jika satu helai bulu primer yang nomor satu dari sayap mengalami rontok. Jumlah bulu primer, sekunder, dan axial di daerah sayap masing-masing terdiri dari 10, 14, dan satu helai. Bulu primer dan sekunder dipisahkan oleh bulu axial (Anonimus, 2005). Damar Y Widhanarto (1996) menyatakan, *moulting* mempunyai hubungan dengan produksi telur, dimana peristiwa *moulting* akan diikuti dengan penurunan produksi bahkan berhenti bertelur sama sekali.

Menurut Hafez (2000) dan Knobil (1988) *moulting* disebabkan oleh tingginya kadar hormon prolaktin dalam darah. Prolaktin merupakan senyawa polipeptida yang mengandung 198 asam amino dan memiliki berat molekul 23 kilo Dalton, terdiri dari enam cystin, tiga ikatan disulfida (Messer, 2000).

UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

Menurut Ramesh *et al* (2001) pada fase *moulting* kadar prolaktin yang tinggi menyebabkan terjadinya regresi folikel ovarium, sehingga tidak terjadi pertumbuhan folikel dan produksi telur berhenti.

Menurut Amador (2003), pada ayam ras petelur fase *moulting* mempunyai kadar prolaktin dalam darah sebesar 1609,8 ± 18,5 ng/ml. Kadar tersebut hampir empat kali lipat dari kadar prolaktin dalam darah pada ayam fase bertelur yang hanya 433,2 ± 5,5. Seperti yang tertera pada tabel 1.1.

Tabel 1.1. Kadar prolaktin dalam darah ayam ras petelur (*Gallus domesticus*)

	Kadar rata-rata (ng/ml)
Selain ayam ras petelur	12,1 ± 1,5
Fase bertelur	433,2 ± 5,5
Fase Moulting	1609,8 ± 18,5
Ayam jantan muda	2,9 ± 0,4

Sumber : Amador (2003)

Hormon prolaktin bersifat imunogen dan dapat menimbulkan antibodi (anti prolaktin) apabila diimunisasikan di dalam tubuh (Anonimus, 2004). Antibodi (anti prolaktin) bekerja secara spesifik terhadap prolaktin dengan cara menetralisasi kerja prolaktin dalam darah. Akibatnya proses *moulting* akan dihambat dan ayam dapat berproduksi kembali (Safitri, 2005).

Menurut Muhammad Rasyaf M.S. (1991) penggunaan metode untuk menghambat proses *moulting* oleh manusia yaitu pembatasan ransum, pembatasan air minum, pembatasan cahaya serta kombinasi ketiga cara tersebut banyak dilakukan. Beberapa negara pada umumnya menggunakan cara pemuasaan dan pembatasan pakan yang dilakukan selama 30 hari (Sainsbury, 1995; Barton, 2003; Holt dalam poultry 2003). Hanya saja penggunaan kedua

cara di atas ternyata banyak menyebabkan pertentangan diantara beberapa organisasi keselamatan dan penyayang binatang seperti *United Poultry Concern and The Association of Veterinarians* di *United States* (Allen, 2002).

Kedua Organisasi keselamatan dan penyayang binatang tersebut telah mengajukan permohonan pada *United States Departemen of Agriculture and Food and Drug* untuk menghilangkan kedua cara tersebut yang umumnya digunakan oleh beberapa negara untuk tujuan mengatasi *moulting*. Permohonan tersebut didasari atas kekejaman terhadap "perampasan pakan" yang panjang, sehingga menyebabkan stress fungsi imun yang berat pada ayam (Alodan and Mashlay, 1999). Menurut Butcher and Miles (2002), pembatasan pakan dalam upaya mengatasi *moulting* pada ayam petelur akan menurunkan jumlah sel T di dalam peredaran darah. Penurunan sel T dalam darah akan menyebabkan penurunan reaksi kekebalan dan meningkatkan kepekaan terhadap suatu penyakit. Salah satu penyakit yang sering mengikuti induksi *moulting* tersebut adalah *Salmonella enteridis* pada unggas petelur (Poultry, 2003; Anonimus, 2001; Webster, 1999). Menurut Fact (2001); dan Webster (1999) *Salmonella enteridis* ini sangat berbahaya karena bersifat zoonosis pada manusia.

Telah dilakukan penelitian oleh Safitri (2005), bahwa proses *moulting* pada ayam arab petelur dapat dihambat dengan pemberian anti prolaktin secara intra muscular. Pada penelitian lanjutan oleh Safitri, dkk (2006) pada ayam ras petelur fase *moulting*, pemberian anti prolaktin dapat menyebabkan ayam ras petelur tersebut dapat berproduksi kembali.

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui profil anti prolaktin di dalam darah ayam ras petelur setelah dilakukan imunisasi pasif dengan isolat anti prolaktin. Dengan mengetahui profil anti prolaktin di dalam darah setelah imunisasi, dapat diketahui berapa lama anti prolaktin bekerja menetralisasi prolaktin penyebab ayam mengalami fase *moulting*. Selanjutnya dapat ditentukan sampai kapan anti prolaktin terdapat di dalam darah ayam ras petelur fase *moulting* awal.

1.2 Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang masalah tersebut, dapat dirumuskan bahwa :

Bagaimana profil anti prolaktin pada ayam ras petelur fase *moulting* awal setelah dilakukan imunisasi pasif dengan anti prolaktin ?

1.3 Landasan teori

Studi yang dilakukan oleh Safitri, dkk (2004) dan Safitri (2005) menemukan teknik mengurangi masa *moulting* (rontok bulu) pada ayam arab dengan menggunakan serum anti prolaktin.

Cole and Cups (1977), Knobil (1988) dan Hafez (2000), menerangkan bahwa proses *moulting* pada ayam di bawah pengaruh sistem hormonal. Hormon gonadotropin seperti FSH dan LH ditemukan sangat rendah pada ayam yang sedang *moulting*. Hormon gonadotropin diperlukan untuk perkembangan folikel dan ovoposisi telur ayam.

Turner dan Bagnara (1988) dan Hafez (2000) mengatakan bahwa ditemukan hormon prolaktin yang tinggi pada ayam yang sedang *moulting*. Prolaktin mempunyai pengaruh anti gonadal yang langsung pada gonad atau secara tidak langsung menekan pelepasan gonadotropin yang dihasilkan oleh hipofisa anterior (Gan *et al*., 1987).

Safitri (2006) menerangkan bahwa anti prolaktin yang disuntikan pada ayam yang memasuki fase *moulting* akan bekerja menetralisasi prolaktin penyebab ayam *moulting* dan berhenti bertelur. Cara kerjanya adalah melalui ikatan antara antibodi dan antigen sehingga proses *moulting* akan dihambat. Pada penelitian ini anti prolaktin berfungsi sebagai antibodi yang disuntikkan secara eksogen dengan tujuan mengikat prolaktin yang bekerja sebagai antigen dalam tubuh ayam, sehingga pada akhirnya ayam dapat berproduksi telur kembali.

1.4 Tujuan penelitian

Penelitian ini dirancang dengan tujuan :

Untuk mengetahui profil anti prolaktin setelah dilakukan imunisasi pasif dengan anti prolaktin pada ayam ras petelur fase *moulting* awal. Secara detail tujuan penelitian dapat diurai sebagai berikut :

1. Kapan anti prolaktin mulai berikatan dengan prolaktin penyebab ayam *moulting* dan berhenti bertelur ?
2. Berapa lama waktu anti prolaktin terdapat di dalam darah ayam ras petelur fase *moulting* awal ?

1.5 Manfaat penelitian

1.5.1 Manfaat bagi peneliti

Untuk mengetahui kerja anti prolaktin sebagai penghambat proses *moulting* awal pada ayam ras petelur dan mempercepat produksi telur tanpa harus menyakiti atau menekan fungsi imun.

1.5.2 Manfaat bagi peternak

Dengan penggunaan anti prolaktin dapat meningkatkan efisiensi produksi dalam menghambat fase *moulting* awal pada ayam ras petelur

1.6 Hipotesis penelitian

Bertitik tolak dari landasan teori di atas, maka hipotesis penelitian dapat diajukan sebagai berikut :

Anti prolaktin yang diimunisasikan secara pasif pada ayam ras petelur fase *moulting* awal akan mengalami penurunan titer setelah terjadi ikatan dengan prolaktin yang terdapat di dalam darah pada hari ke dua sampai hari ke lima.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ayam ras petelur

Ayam ras petelur yang merupakan bangsa unggas menurut Blakely and Bade (1998) mempunyai klasifikasi sebagai berikut di :

Kelas : Aves

Order : Galliformes

Family : Phasionidae

Genus : Ghallus

Species : *Gallus domesticus*

Ayam ras petelur adalah ayam betina dewasa yang dipelihara khusus untuk diambil telurnya. Asal mula ayam ras petelur berasal dari ayam hutan dan itik liar yang dipelihara untuk tujuan produksi telur dalam jumlah banyak (Anonimus, 2000). Ciri khas ayam ras petelur adalah bentuk tubuh langsing, kulit berwarna putih sampai kuning, tingkah laku lincah dan jarang mempunyai sifat mengeram. Produksi telur rata-rata 200 – 250 butir /tahun (Djanah, 1985).

Produksi telur pada unggas dipengaruhi oleh bangsa atau breed, strain, hormonal (Thamrin dan Nurrohmah, 2003). dan masa bertelur (Shutze yang dikutip Sugandi, 1973). Menurut Rasyaf (1991) juga dipengaruhi waktu, yaitu hubungan antara waktu, dalam hal ini umur unggas dengan masa produksi telur unggas yang dinamakan lintas produksi. Awal masa bertelur ayam umumnya dimulai saat ayam berumur ± 4,5 bulan atau sekitar 18 minggu dengan awal

produksi telurnya mencapai 5% sampai 45% dari banyaknya populasi ayam yang diternakkan dan umur ± 28 minggu dengan produksi 70% sampai 90% sebagai produksi puncak.

Menurut Wahyu dan Sugandi (1984) dari pemeliharaan ayam ras petelur perlu dilakukan *culling* yaitu mengeluarkan ayam yang sudah tidak produktif, yaitu pada umur lebih dari satu setengah tahun. Pada umumnya produksi telur sudah menurun sampai 50% dari produksi rata-rata per tahun. Djanah (1985) mengemukakan bahwa produksi telur rata-rata pertahun menurun saat ayam ras petelur berumur lebih dari satu tahun.

2.2 Fase *moulting*

Fase *Moulting* adalah suatu keadaan biologis yang dapat terjadi pada ternak unggas. *Moulting* dapat mengakibatkan penurunan produksi telur bahkan berhenti bertelur (Maijon, dkk, 2005). Menurut Indarto (1989), dan Jull (1982) seekor ayam dapat dikatakan memasuki fase *moulting* jika satu helai bulu primer, kemudian sekunder, dan axial di daerah sayap masing-masing rontok. Secara alamiah setiap ayam ras petelur akan mengalami *moulting* yang terjadi pada bulu primer tubuh apabila telah berproduksi cukup lama (Anonimus, 2005)

Fase *moulting* ini memakan waktu sekitar 60-75 hari (Marhiyanto, 2000; Darmana dan Sitanggang, 2002; Jull, 1982). Seekor ayam dikatakan memasuki fase bertelur jika ke seluruh bulu primer, sekunder dan axial di daerah sayap tersebut tumbuh lengkap dan sempurna. Waktu dari berhentinya *moulting* (semua bulu primer, sekunder dan axial tidak lagi rontok) sampai tumbuh lengkap dan

kemudian berproduksi telur kembali membutuhkan waktu sekitar 10-14 hari (Sitanggang, 2002; Jull, 1982).

Berdasarkan terjadinyan *moulting* maka dapat dibedakan antara ayam yang mengalami rontok bulu awal (*early moulting*) atau rontok bulu akhir (*lately moulting*). Ayam yang mengalami *moulting* awal akan ditandai dengan kehilangan satu helai bulu primer, kemudian sekunder dan axial. Setiap terjadi *moulting* ayam akan berhenti bertelur. Oleh karena itu akan dibutuhkan waktu sekitar enam bulan untuk memperbaiki semua bulu primer yang rontok tersebut, baru mulai berproduksi kembali (Anonimus, 2005).

Ayam yang termasuk *moulting* awal (*early moulting*) akan membutuhkan waktu lebih lama untuk memperbaiki semua bulu-bulu primernya, bila dibandingkan dengan ayam yang termasuk *moulting* akhir (*lately moulting*). Tanda yang jelas ayam dengan tipe *early moulting* adalah masa tidak produktif yang lebih lama, sedangkan ayam yang dengan tipe *lately moulting* masa tidak produktifnya lebih singkat. Perlu dilakukan upaya untuk mempercepat atau bahkan menghambat fase *moulting* itu sendiri (Anonimus, 2005).

Fase *moulting* yang ditandai dengan berhentinya produksi telur untuk waktu yang lama yaitu sekitar 80 hari (Marhiyanto, 2000; Indarto 1989; Jull 1982), jika dibiarkan akan merugikan peternak dari segi bisnis dan waktu.

Cara umum yang digunakan untuk mengatasi *moulting* adalah dengan pemuasaan dan pembatasan pakan yang dilakukan selama 30-60 hari (Rasyaf, 1994; Barton, 2003; Holt, 2003). Menurut Bell and Kuney (2003) dan cortex (2003), ada tiga cara mengatasi *moulting* di United States, yaitu (1). Tidak

memberi makan atau membatasi makan dan minum, (2). Memberi makan rendah nutrisi seperti protein. kalsium, atau sodium, (3). Penggunaan obat dan logam methalibure, chlormadinane, yodium dosis tinggi , diet alumunium dan seng.

Metode *force moulting* yaitu metode pengaturan proses atau masa rontok bulu oleh manusia. Dalam hal ini terdapat perbedaan pada waktu *moulting* dan pelaksanaannya. *Force moulting* merupakan masa istirahat ayam untuk mempersiapkan diri masuk ke masa produksi berikutnya.

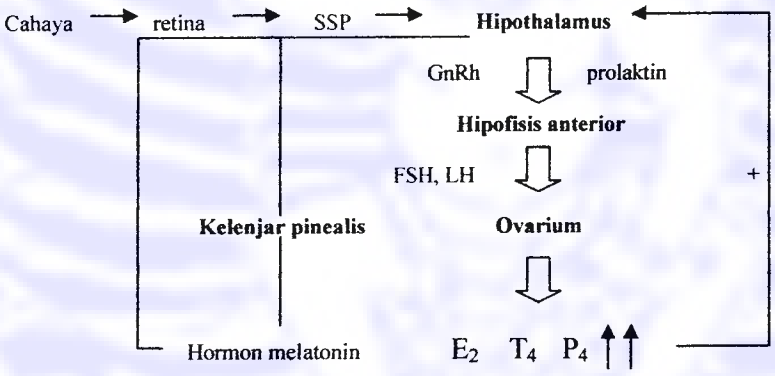
Di Indonesia metode *force moulting* dilakukan dengan teknik sederhana dan konvensional yaitu pembatasan dalam ransum dan minum dan mempergunakan obat-obatan khusus. Secara umum kejadian *force moulting* melalui : pembatasan ransum, pembatasan pemberian air minum, pembatasan cahaya, kombinasi ketiga cara tersebut (Rasyaf, 1991).

2.3 Prolaktin

Prolaktin termasuk hormon protein, berat molekul prolaktin pada ayam sekitar 24-27 kilo Dalton (Yamamoto and Tanaka, 2003; Bedecarrats *et al.*, 1999; March *et al.*, 1999) dan mempunyai reseptor yang ukurannya sama dengan reseptor hormon pertumbuhan (*Growth Hormone*) (Murray *et al.*, 1997).

Kerja hormon prolaktin langsung pada jaringan sasaran dan tidak mengatur fungsi kelenjar endokrin yang lain. Hormon prolaktin disekresikan oleh kelenjar hipofisa anterior, yaitu oleh sel *lactotrop* dari sel asidofil (Hardjopranjoto dalam hand out kuliah Endokrinologi Reproduksi, 2003).

Pelepasan hormon prolaktin diteruskan melalui ujung syaraf aferen dan sel neurosekretorik pada hipothalamus dengan memproduksi faktor pelepas (RF = *Releasing Factor*). Faktor ini diangkut melalui sistem portal secara langsung ke lobus anterior yang menanggapinya dengan melepaskan hormon yang tepat yang sebelumnya sudah disintesis. Pada hipothalamus membentuk dua faktor pelepas yaitu faktor yang menghambat pelepasan prolaktin (PIF = *Prolactin Inhibiting Factor*) dan yang menyebabkan lepasnya prolaktin (PRF = *Prolactin Releasing Factor*) (Nalbandov, 1990). Target prolaktin pada unggas betina adalah pada ovarium (Ramesh *et al.*, 2001); epithel tembolok, jaringan kulit dan otak (Hardjopranjoto, 2003 dan Ramachandran *et al.*, 2003).



Gambar 2.1. Mekanisme kerja hormon prolaktin (Austin, 2000)

Keterangan :
+ (*Feedback positif*) : umpan balik positif ke hipothalamus untuk merangsang pengeluaran hormon tertentu

Mufti (2005) menerangkan bahwa kadar hormon prolaktin meningkat ketika ayam mengeram dan sebaliknya. Pada ayam yang mengalami masa bertelur disuntik hormon prolaktin akan menunjukkan tingkah laku mengeram.

Menurut Ramesh *et al.*, (2001), kadar protein yang tinggi atau *hyperprolactinemia* pada fase *moulting* menyebabkan terjadinya regresi folikel ovarium, sehingga tidak terjadi pertumbuhan folikel, yang akibatnya tidak akan terjadi produksi telur.

Pada unggas prolaktin merangsang pertumbuhan kelenjar ludah tembolok pada burung merpati, mendorong sifat mengerami telur (Dartodiharjo, 1982) menggertak tingkah laku migrasi pada burung liar, efek somatotropin dan metabolisme lemak (Hardjopranjoto, *et. al.*, 2003; Ramesh *et al.*, 2001).

2.4 Anti prolaktin

Berat molekul prolaktin lebih besar dari 10 kilo Dalton sehingga bersifat imunogen, dengan demikian prolaktin dapat menginduksi timbulnya antibodi yang disebut anti prolaktin jika disuntikkan secara berulang pada kelinci, kambing dan ayam (Fitzgearld, 2004; Agrisera, 2004; Upstate, 2002). Preparat prolaktin mempunyai potensi biologik dan spektrum imunologik (Bagnara, 1988).

Imunogen merupakan suatu zat yang mampu membangkitkan respon imun. Sifat imunogen ditentukan oleh sifat fisik, sifat kimia dan biologi zat tersebut. Jumlah imunogen yang disuntikkan juga mempengaruhi respon imun. Penelitian tentang toleransi imunologik menggambarkan bahwa dosis benda asing yang sangat rendah atau sangat tinggi dapat menghambat respon yang akan datang pada suntikan berikutnya dengan dosis imunogenik lain. Dosis dan

interval antara suntikan yang berbeda dibuktikan menghasilkan kelompok antibodi dengan titer dan kekuatan yang berbeda. (Bellanti, 1993).

Injeksi suatu substansi asing ke dalam binatang yang mampu membuat respon imun akan menghasilkan antibodi spesifik yang muncul dalam serum sesudah beberapa waktu berlangsung. Pemaparan pertama pada imunogen membangkitkan respon primer. Dosis imunogen yang diperlukan untuk menghasilkan respon sekunder jauh lebih sedikit daripada yang diperlukan pada pencetusan respon primer (Bellanti, 1993). Menurut Smith (1995) faktor yang terlibat dalam mengoptimalkan respon imun adalah sifat imunogen, pelarut, hewan, rute injeksi dan protokol dosis. Dosis imunogen yang dianjurkan untuk kelinci atau hewan coba adalah 50-1000 μg per imunisasi (Hallow and Line, 1988).

Sistem kekebalan pada ayam sedikit berbeda bila dibandingkan dengan sistem kekebalan mamalia. Perbedaan tersebut terletak pada kelengkapan alat-alat tubuhnya yang berperan dalam mekanisme imunologi yaitu ayam mempunyai bursa fabrisius, tetapi tidak mempunyai limfe nodus. Ada tiga sistem kekebalan pada ayam yaitu sistem kekebalan humoral, sistem kekebalan lokal dan sistem kekebalan seluler. Sistem kekebalan humoral terdiri dari limfosit B yang memproduksi sekumpulan asam amino yang disebut imunoglobulin atau antibodi (Dep. Eurindo Combained p.t., 1988).

Produksi serum hiperimun (antiserum) yang mengandung antibodi dapat dilakukan melalui imunisasi terhadap hewan dengan suatu imunogen spesifik. Antibodi didapat dengan jalan mengumpulkan sampel darah hewan yang

diimunisasi (Smith, 1995). Individu bisa memperoleh imunitas spesifik dengan cara (1). melalui pernafasan alami oleh injeksi atau imunisasi dengan agen spesifik atau produk-produknya (imunitas aktif) atau (2). dengan memperoleh secara pasif antibodi yang dibuat sebelumnya (imunitas pasif) (Bellanti, 1993).

Antibodi yang dibentuk sebagai reaksi terhadap salah satu jenis antigen mempunyai susunan asam amino yang berbeda dengan antibodi yang dibentuk terhadap antigen lain, dan masing-masing hanya dapat berikatan dengan antigen yang relevan. Sifat inilah yang disebut spesifisitas antibodi (Kresno, 2000)

Pendekatan secara imunologis dapat dilakukan untuk membuat antibodi yang melawan atau menghambat kerja prolaktin, sehingga hipofisa anterior mampu mengeluarkan hormon gonadotropin secara normal. Dengan demikian tujuan mengatasi fase *moulting* melalui pendekatan imunologis dengan membuat anti prolaktin perlu mendapat perhatian dan penelitian lebih lanjut. Pemberian anti prolaktin merupakan suatu alternatif yang bisa diaplikasikan, dengan harapan mampu untuk menghambat terjadinya proses *moulting* tanpa menimbulkan penderitaan dan stres yang dapat menurunkan kekebalan ayam.

2.5 *Indirect* ELISA (*Enzym Linked Immunosorbent Assay*)

ELISA adalah salah satu metode yang sensitif untuk mendeteksi antibodi, antigen, hormon maupun material toksik. Dua macam antibodi yang digunakan dalam ELISA, antibodi pertama (*primary antibody*) mengikat pada antigen dan antibodi kedua (*secundary antibody*) atau antibodi antiglobin mengikat pada antibodi pertama. Antiglobin ini yang dilabel dengan enzim seperti *horseradish*

peroxidase, *alkaline phospatase* yang mempermudah untuk monitor dengan perubahan warna. Adanya reaksi dari enzim ini secara kuantitatif antibodi pertama dapat dianalisis (Rantam, 2003).

Enzim yang dipakai untuk melabel antigen atau antibodi harus memenuhi persyaratan, diantaranya tidak boleh mengurangi sifat imunologi antigen maupun antibodi, harus dapat diperoleh dalam keadaan murni serta stabil untuk dapat disimpan selama jangka waktu tertentu (Kresno, 2000). Menurut Suwarno (2003) Penentuan antibodi dapat dilakukan dengan pelabelan pada Ig nya yaitu dengan menggunakan metode *indirect* ELISA

Prinsip teknik *indirect* ELISA yaitu mereaksikan antigen dalam sampel dengan antibodi yang dilabel enzim. Kompleks antigen dengan antibodi yang dilabel enzim kemudian dipisahkan dengan antigen dan antibodi yang bebas, lalu diinkubasi dengan substrat kromogenik yang semula tidak berwarna, tetapi kemudian menjadi berwarna apabila dihidrolisis oleh enzim. Intensitas warna yang terbentuk dapat diukur dan merupakan parameter untuk antigen yang diuji. Kelebihan teknik *indirect* ELISA adalah cukup sensitif, dapat menggunakan spektrofotometer biasa dan mudah dilakukan automatisasi (Kresno, 2000).

Interpretasi *indirect* ELISA dapat dilakukan secara kualitatif (visual) ataupun secara kuantitatif (dengan spektrofotometer). Secara kualitatif *indirect* ELISA dibaca dengan melihat perubahan warna antara kelompok yang diperiksa dengan kelompok kontrol (positif dan negatif). Secara semi kuantitatif atau kuantitatif, *indirect* ELISA dibaca dengan spektrofotometer (ELISA *reader*)

dengan berdasarkan pada nilai titer atau absorban atau kerapatan optik (*Optical Density*/OD) (Suwarno dkk., 2003).

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1 Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan di peternakan ayam ras petelur milik bapak Samsul di desa Tlekung, Kecamatan Batu, Kabupaten Malang. Laboratorium Biomolekuler FMIPA UNIBRAW dan Laboratotium invitro Fisiologi Reproduksi UNAIR. Pelaksanaan penelitian berlangsung dari bulan Juni sampai November 2005.

3.2 Materi penelitian

3.2.1 Sampel penelitian

Sampel penelitian yang digunakan berupa serum darah ayam ras petelur fase *moulting* awal sebanyak 0,5 cc.

3.2.2 Alat dan bahan

Peralatan yang diperlukan meliputi : *disposible syringe* 1 ml dan 5 ml, tabung reaksi 10 ml, *sentrifuge*, *microplate* bentuk datar "U", pipet eppendrof, pipet pasteur, pipet hisap, gelas ukur, beker glass, erlenmeyer, *microtube* steril, alumunium foil, vortex, inkubator, ELISA *reader*. Bahan-bahan yang digunakan untuk penentuan profil anti prolaktin metode *indirect* ELISA adalah antigen (isolat prolaktin) sebanyak 100 µg/ml, *buffer carbonat-bicarbonat* (*coating buffer*), 0.05 % PBS-Tween 20, antibodi primer (anti prolaktin), *buffer* BSA 1%.

Antibodi sekunder (*anti chicken Ig G Alkhaline Phospatase Conjugated*), substrat pNPP, diethanolamine 10% dan NaOH 3 M.

3.2.3 Hewan coba

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah ayam ras petelur fase *moulting* awal (strain *hysex brown*) umur 19 bulan sebanyak 30 ekor, untuk tiga dosis anti prolaktin yang diberikan.

3.3 Metode penelitian

3.3.1 Pengambilan darah pada ayam

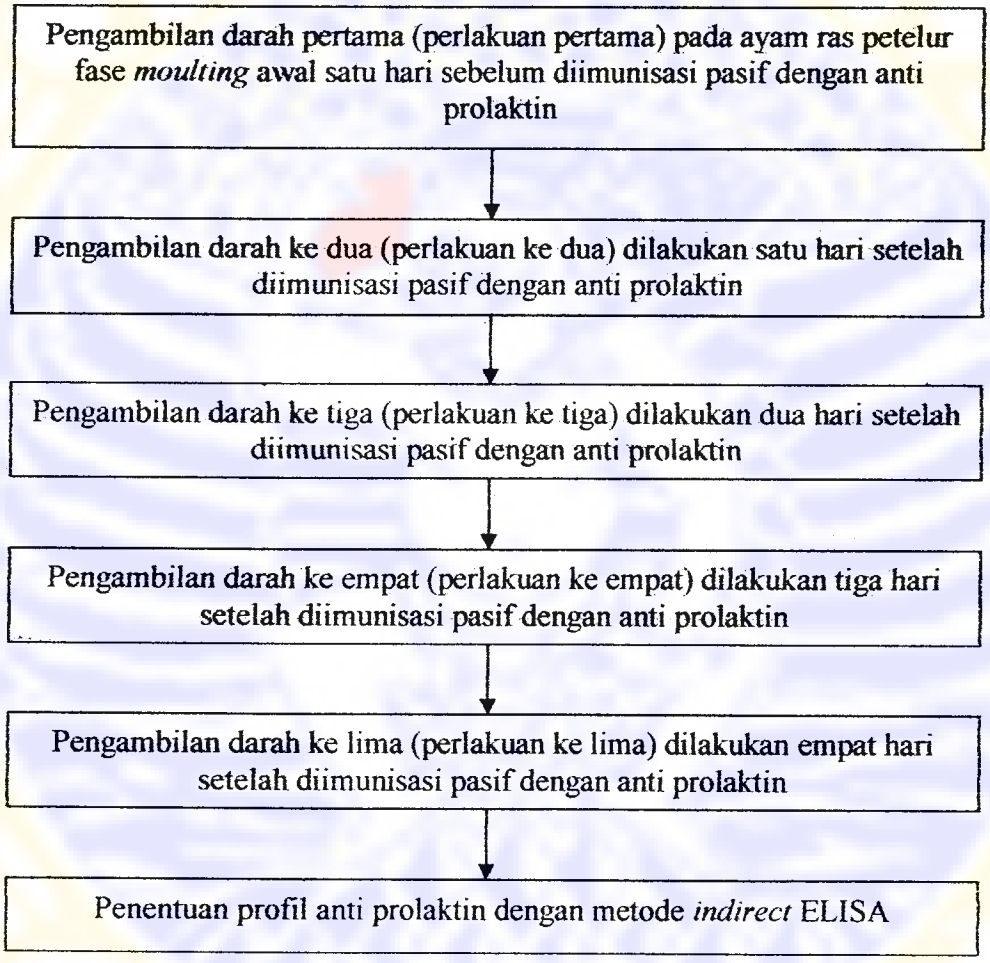
Pengambilan darah dilakukan sebanyak lima kali yaitu sehari sebelum imunisasi pasif dan setiap hari setelah imunisasi pasif selama empat hari berturut-turut. Pengambilan darah dilakukan di daerah sayap pada vena axilaris dengan menggunakan *disposible syringe*. Selanjutnya dilakukan pemisahan serum darah dengan sentrifugasi, dan dilakukan pengamatan titer anti prolaktin dengan metode *indirect* ELISA.

Prosedur kerja penentuan profil anti prolaktin dengan metode *indirect* ELISA (lampiran 1) dilakukan setelah imunisasi pasif dengan anti prolakitn. Penentuan ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kapan anti prolaktin bekerja mengikat prolaktin dan berapa lama anti prolaktin terdapat di dalam darah ayam setelah diimunisasikan pada ayam ras petelur fase *moulting* awal.

3.4 Rancangan penelitian

Skema Penelitian sebagai berikut :

a. Pengumpulan sampel serum darah ayam ras petelur fase *moulting* awal



3.5 Rancangan penelitian dan analisis statistik data

Rancangan percobaan yang digunakan adalah RAL (Rancangan Acak Lengkap) yaitu :

1. Data mengenai anti prolaktin diukur berdasarkan titer anti prolaktin dengan metode *indirect* ELISA (Suwarno dkk., 2003).
2. Data titer anti prolaktin (profil anti prolaktin) dianalisis dengan ANOVA untuk mengetahui perbedaan antara tiap perlakuan (bleeding pertama sampai ke lima) dan dilanjutkan dengan uji BNT 5% (Beda Nyata Terkecil) apabila terdapat perbedaan (Steel and Torrie, 1995). Data selanjutnya di analisis dengan program SPSS (*Statistical Programs for Social Scientific*) (Wahana Komputer, 2003)
3. Data titer per dosis anti prolaktin, waktu pengamatan dosis titer anti prolaktin, dan hubungan dosis dengan waktu pengamatan titer anti prolaktin di analisis dengan uji faktorial.

BAB IV

HASIL PENELITIAN

4.1 Profil Anti Prolaktin

4.1.1. Imunisasi pasif anti prolaktin dosis 50 µg/ml

Hasil penelitian berdasarkan metode *indirect* ELISA menunjukkan bahwa titer anti prolaktin pada satu hari setelah diimunisasi anti prolaktin dengan dosis 50 µg/ml (pengambilan darah ke dua) adalah masih tinggi dan berbeda nyata dengan sebelum diimunisasi (pengambilan darah pertama). Selanjutnya titer anti prolaktin pada dua hari setelah imunisasi anti prolaktin menurun dengan drastis dan berbeda nyata dengan titer pada pengambilan darah ke dua dan pengambilan darah pertama (satu hari setelah imunisasi dan sebelum imunisasi) (tabel 4.1 dan gambar 4.1)

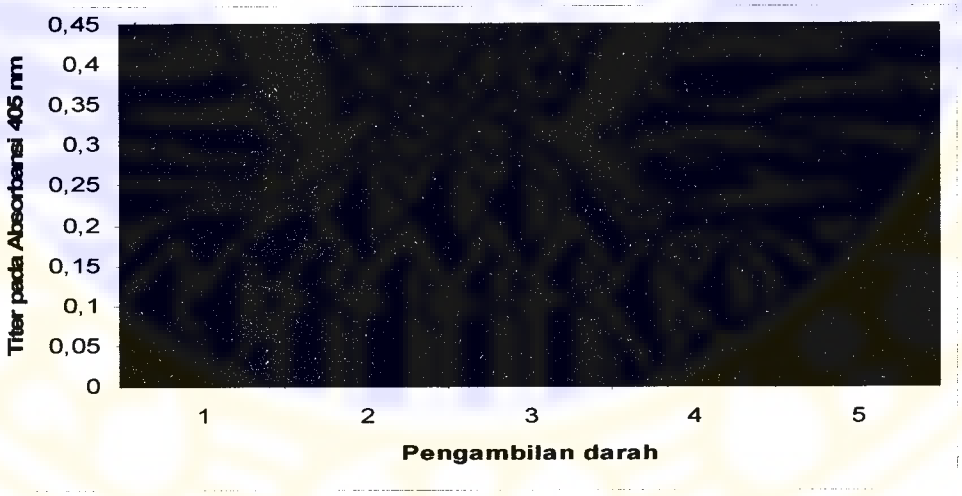
Titer anti prolaktin pada tiga dan empat hari setelah imunisasi semakin menurun dan berbeda nyata dengan pengambilan darah ke dua dan ke tiga, akan tetapi antara pengambilan darah ke empat, lima, dan pertama tidak berbeda nyata.

Tabel 4.1 Titer anti prolaktin pada absorbansi 405 nm metode *indirect* ELISA pada ayam ras petelur fase *moulting* awal setelah diimunisasi pasif anti prolaktin dengan dosis 50 µg/ml.

Ulangan	Pengambilan darah				
	1 (Kontrol)	2	3	4	5
1	0,089	O,420	0,215	0,107	0,099
2	0,099	0,422	0,210	0,115	0,095
3	0,109	0,419	0,209	0,110	0,083
4	0,072	0,421	0,207	0,099	0,109
5	0,119	0,425	0,205	0,095	0,119
6	0,110	0,420	0,210	0,096	0,111
7	0,095	0,417	0,214	0,109	0,095
8	0,092	0,418	0,206	0,115	0,099
9	0,103	0,423	0,207	0,117	0,103
10	0,106	0,421	0,208	0,110	0,108
Rentangan	0,072 – 0,119	0,417 – 0,425	0,205 – 0,215	0,095 – 0,117	0,083 –0,119
Jumlah	0,99	4,206	2,091	1,073	1,021
Rataan	0,099±0,013	0,420±0,024	0,209±0,021	0,107±0,080	0,102±0,010

Keterangan :

Pengambilan darah pertama = Sebelum diimunisasi anti prolaktin (sebagai Kontrol)
Pengambilan darah ke dua = satu hari setelah diimunisasi anti prolaktin
Pengambilan darah ke tiga = dua hari setelah diimunisasi anti prolaktin
Pengambilan darah ke empat = tiga hari setelah diimunisasi anti prolaktin
Pengambilan darah ke lima = empat hari setelah diimunisasi anti prolaktin



Gambar 4.1 Profil anti prolaktin serum darah ayam ras petelur fase *moulting* awal sebelum dan setelah diimunisasi pasif anti prolaktin dengan dosis 50 µg/ml

Berdasarkan uji statistik dengan Anova satu arah (lampiran 3) ternyata terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p<0,01$) antara pengambilan darah pertama (kontrol) dengan pengambilan darah ke dua sampai ke lima (tabel 4.2).

Tabel 4.2 Rangkuman analisis varian satu arah terhadap titer anti prolaktin dosis 50 µg/ml pada absorbansi 405 nm antara pengambilan darah pertama, ke dua, ke tiga, ke empat sampai ke lima.

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F	Sig
Perlakuan	4	,760	,190	1199,449	,000
Sisa	45	,007	,000		
Total	49	,768			

Berdasarkan uji BNT 5% diperoleh hasil bahwa titer anti prolaktin pada pengambilan darah ke tiga menurun drastis dari titer sebelumnya yang berbeda nyata dengan pengambilan darah pertama dan ke dua, dimana pada pengambilan darah pertama mempunyai titer anti prolaktin paling rendah (negatif). Rataan titer anti prolaktin pada absorbansi 405 nm yang diperoleh pada pengambilan darah pertama (kontrol) dan pengambilan darah ke dua sampai ke lima berturut-turut adalah 0,099±0,013; 0,420±0,024; 0,209±0,021; 0,107±0,080; 0,102±0,010 (tabel 4.3 dan lampiran 3).

Tabel 4.3 Rataan titer anti prolaktin pada absorbansi 405 nm dari pengambilan darah pertama (kontrol), ke dua, ke tiga, ke empat dan ke lima

Pengambilan darah	**N**	**Rentangan**	**Rataan**
Pertama	10	0,072 – 0,119	$0,099±0,013^a$
Ke dua	10	0,417 – 0,425	$0,420±0,024^b$
Ke tiga	10	0,140 – 0,215	$0,209±0,021^c$
ke empat	10	0,095 – 0,117	$0,107±0,080^a$
Ke lima	10	0,083 – 0,119	$0,102±0,010^a$

Angka dengan superskrip berbeda dalam kolom yang sama berbeda nyata ($p<0,05$)

MILIK PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA

4.1.2. Imunisasi pasif anti prolaktin dosis 100 µg/ml.

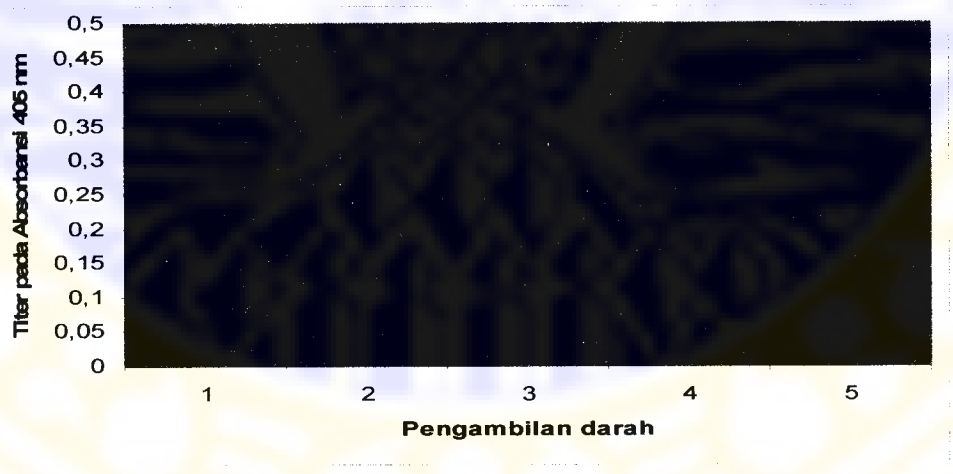
Hasil penelitian berdasarkan metode *indirect* ELISA menunjukkan bahwa titer anti prolaktin pada satu hari setelah diimunisasi anti prolaktin dengan dosis 100 µg/ml (pengambilan darah ke dua) adalah masih tinggi dan berbeda nyata dengan sebelum diimunisasi (pengambilan darah pertama). Selanjutnya titer anti prolaktin pada dua hari setelah imunisasi anti prolaktin (pengambilan darah ke tiga) menurun dengan drastis dan berbeda nyata dengan titer pada pengambilan darah ke dua dan pertama (satu hari setelah imunisasi dan sebelum imunisasi). Titer anti prolaktin pada tiga dan empat hari setelah imunisasi (pengambilan darah ke empat dan ke lima) semakin menurun dan berbeda nyata pada setiap pengambilan darah (tabel 4.4 dan gambar 4.2).

Tabel 4.4 Titer anti prolaktin pada absorbansi 405 nm metode *indirect* ELISA pada ayam ras petelur fase *moulting* awal setelah diimunisasi pasif anti prolaktin dengan dosis 100 µg/ml.

Ulangan	Pengambilan darah				
	1 (Kontrol)	2	3	4	5
1	0,089	0,427	0,220	0,209	0,099
2	0,099	0,430	0,225	0,210	0,115
3	0,109	0,435	0,227	0,215	0,120
4	0,072	0,425	0,225	0,205	0,109
5	0,119	0,428	0,224	0,215	0,087
6	0,110	0,437	0,229	0,210	0,117
7	0,095	0,432	0,225	0,211	0,098
8	0,092	0,434	0,223	0,215	0,103
9	0,103	0,426	0,221	0,213	0,109
10	0,106	0,429	0,226	0,209	0,113
Rentangan	0,072-0,119	0,425 – 0,437	0,220 – 0,229	0,205 – 0,215	0,087 – 0,120
Jumlah	0,99	4,303	2,245	2,112	1,07
Rataan	0,099± 0,013	0,43±0,041	0,224±0,027	0,211±0,033	0,107±0,010

Keterangan :

Pengambilan darah pertama = Sebelum diimunisasi anti prolaktin (sebagai Kontrol)
Pengambilan darah ke dua = satu hari setelah diimunisasi anti prolaktin
Pengambilan darah ke tiga = dua hari setelah diimunisasi anti prolaktin
Pengambilan darah ke empat = tiga hari setelah diimunisasi anti prolaktin
Pengambilan darah ke lima = empat hari setelah diimunisasi anti prolaktin



Gambar 4.2 Profil anti prolaktin serum darah ayam ras petelur fase *moulting* awal sebelum dan setelah diimunisasi pasif anti prolaktin dengan dosis 100 µg/ml

Berdasarkan uji statistik dengan anova satu arah (lampiran 4) ternyata terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p<0,01$) antara pengambilan darah pertama (kontrol) dengan pengambilan darah ke dua sampai ke lima (tabel 4.5).

Tabel 4.5 Rangkuman analisis varian satu arah terhadap titer anti prolaktin dosis 100 µg/ml pada absorbansi 405 nm antara pengambilan darah pertama, ke dua, ke tiga, ke empat sampai ke lima.

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F	Sig
Perlakuan	4	,715	,179	2845,128	,000
Sisa	45	,003	,000		
Total	49	,718			

Berdasarkan uji BNT 5% diperoleh hasil bahwa titer anti prolaktin pada pengambilan darah ke tiga menurun drastis dari titer sebelumnya yang berbeda nyata dengan pengambilan darah pertama dan ke dua, dimana pada pengambilan darah pertama (kontrol) mempunyai titer anti prolaktin paling rendah (negatif). Rataan titer anti prolaktin pada absorbansi 405 nm yang diperoleh pada pengambilan darah pertama (kontrol) dan pengambilan darah ke dua sampai ke lima berturut-turut adalah 0,099±0,013;0,43±0,041; 0,224±0,027; 0,211±0,033; 0,170±0,010 (tabel 4.6 dan lampiran 4).

Tabel 4.6 Rataan titer anti prolaktin pada absorbansi 405 nm dari pengambilan darah pertama (kontrol), ke dua, ke tiga, ke empat dan ke lima

Pengambilan darah	**N**	**Rentangan**	**Rataan**
Pertama	10	0,072 – 0,119	$0,099±0,013^{a}$
Ke dua	10	0,425 – 0,437	$0,43 ±0,041^{b}$
Ke tiga	10	0,220 – 0,229	$0,224±0,027^{c}$
Ke empat	10	0,205 – 0,215	$0,211±0,033^{d}$
Ke lima	10	0,087 – 0,120	$0,170±0,010^{e}$

Angka dengan superskrip berbeda dalam kolom yang sama berbeda nyata ($p<0,05$)

4.1.3. Imunisasi pasif anti prolaktin dosis 200 µg/ml.

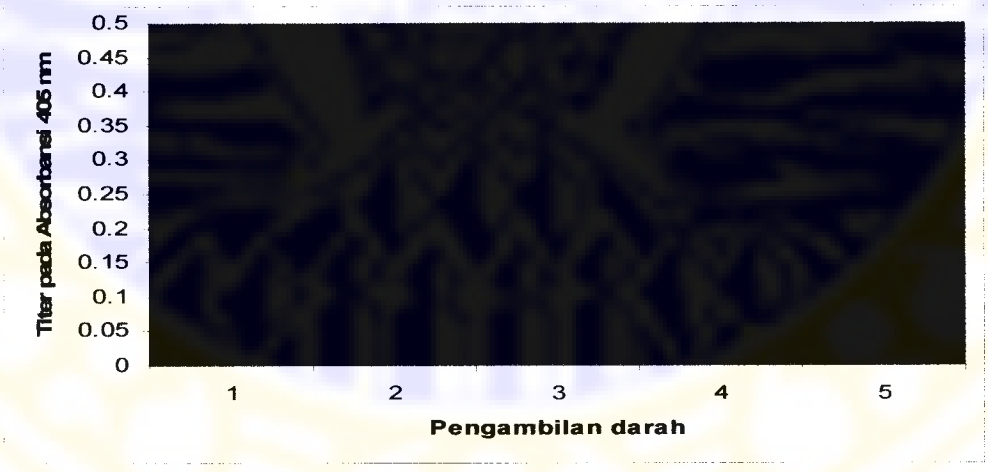
Hasil dari penelitian berdasarkan metoda *indirect* ELISA menunjukkan bahwa Titer anti prolaktin pada satu hari setelah diimunisasi anti prolaktin dengan dosis 200 µg/ml (pengambilan darah ke dua) adalah masih tinggi dan berbeda nyata dengan sebelum diimunisasi (pengambilan darah pertama). Selanjutnya titer anti prolaktin pada dua hari setelah imunisasi anti prolaktin (pengambilan darah ke tiga) menurun dengan drastis dan berbeda nyata dengan titer pada pengambilan darah ke dua dan pengambilan darah pertama (satu hari setelah imunisasi dan sebelum imunisasi). Titer anti prolaktin pada tiga dan empat hari setelah imunisasi (pengambilan darah ke empat dan ke lima) semakin menurun dan berbeda nyata (tabel 4.7 dan gambar 4.3).

Tabel 4.7 Titer anti prolaktin pada absorbansi 405 nm metode *indirect* Elisa pada ayam setelah diimunisasi pasif anti prolaktin dengan dosis 200 µg/ml

Ulangan	Pengambilan darah				
	1 (Kontrol)	2	3	4	5
1	0,089	0,438	0,230	0,210	0,119
2	0,099	0,436	0,234	0,212	0,121
3	0,109	0,441	0,228	0,214	0,125
4	0,072	0,435	0,236	0,218	0,120
5	0,119	0,429	0,229	0,206	0,123
6	0,110	0,445	0,235	0,213	0,118
7	0,095	0,432	0,232	0,211	0,124
8	0,092	0,439	0,237	0,208	0,126
9	0,103	0,440	0,227	0,215	0,121
10	0,106	0,437	0,232	0,213	0,123
Rentangan	0,072-0,119	0,429-0,445	0,227-0,235	0,206-0,218	0,118-0,126
Jumlah	0,99	4,36	2,32	2,12	1,22
Rataan	0,099± 0,013	0,436± 0,004	0,232± 0,003	0,212± 0,003	0,122±0,003

Keterangan :

Pengambilan darah pertama = Sebelum diimunisasi anti prolaktin (sebagai Kontrol)
Pengambilan darah ke dua = satu hari setelah diimunisasi anti prolaktin
Pengambilan darah ke tiga = dua hari setelah diimunisasi anti prolaktin
Pengambilan darah ke empat = tiga hari setelah diimunisasi anti prolaktin
Pengambilan darah ke lima = empat hari setelah diimunisasi anti prolaktin



Gambar 4.3 Profil anti prolaktin serum darah ayam ras petelur sebelum & setelah diimunisasi pasif anti prolaktin dengan dosis 200 µg/ml

Berdasarkan uji statistik dengan anova satu arah (lampiran 5) ternyata terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p<0,01$) antara pengambilan darah pertama (kontrol) dengan pengambilan darah ke dua sampai ke lima (tabel 4.8).

Tabel 4.8 Rangkuman analisis varian satu arah terhadap titer anti prolaktin dosis 200 µg/ml pada absorbansi 405 nm antara pengambilan darah pertama, ke dua, ke tiga, ke empat sampai ke lima.

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F	Sig
Perlakuan	4	,715	,179	3936,996	,000
Sisa	45	,002	,000		
Total	49	,717			

Berdasarkan uji BNT 5% diperoleh hasil bahwa titer anti prolaktin pada pengambilan darah ke tiga menurun drastis dari titer sebelumnya yang berbeda nyata dengan pengambilan darah pertama dan ke dua, dimana pada pengambilan darah pertama (kontrol) mempunyai titer anti prolaktin paling rendah (negatif). Rataan titer anti prolaktin pada absorbansi 405 nm yang diperoleh pada pengambilan darah pertama (kontrol) dan pengambilan darah ke dua sampai ke lima berturut-turut adalah 0,099± 0,013, 0,436± 0,004, 0,232± 0,003, 0,212± 0,003, 0,122± 0,003 (tabel 4.9 dan lampiran 5).

Tabel 4.9 Rataan titer anti prolaktin pada absorbansi 405 nm dari pengambilan darah pertama (kontrol), ke dua, ke tiga, ke empat dan ke lima.

Pengambilan darah	**N**	**Rentangan**	**Rataan**
Pertama	10	0,072-0,119	$0,099\pm 0,013^{a}$
Ke dua	10	0,429-0,445	$0,436\pm 0,004^{b}$
Ke tiga	10	0,227-0,235	$0,232\pm 0,003^{c}$
Ke empat	10	0,206-0,218	$0,212\pm 0,003^{d}$
Ke lima	10	0,118-0,126	$0,122\pm 0,003^{e}$

Angka dengan superskrip berbeda dalam kolom yang sama berbeda nyata ($p<0,05$)

Berdasarkan uji BNT 5% dan data SPSS maka dilanjutkan analisis titer per dosis anti prolaktin, waktu pengamatan dosis titer anti prolaktin, dan hubungan dosis dengan waktu pengamatan titer anti prolaktin menggunakan uji faktorial (lampiran 6).

4.1.4. Analisis titer per dosis anti prolaktin

Analisis titer per dosis anti prolaktin digunakan untuk membandingkan tiap dosis yang diberikan selama perlakuan (imunisasi pasif) (lampiran 6)

Tabel 4.10. Rataan titer per dosis anti prolaktin

Dosis	Rataan
Kontrol	0,099±0,013[a]
50 µg/ml	0,208±0,117[b]
100 µg/ml	0,251±0,131[c]
200 µg/ml	0,251±0,117[c]
Sig	1,000

Berdasarkan tabel diatas diperoleh hasil bahwa pada dosis kontrol dengan perlakuan terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p<0,01$). Pada dosis 50 µg/ml berbeda nyata dengan dosis 100 µg/ml dan 200 µg/ml. Pada dosis 100 µg/ml dan 200 µg/ml tidak berbeda nyata

4.1.5. Analisis waktu pengamatan dosis titer anti prolaktin.

Analisis waktu pengamatan dosis titer anti prolaktin digunakan untuk membandingkan tiap waktu pengamatan pada masing-masing dosis selama perlakuan (imunisasi pasif) dengan uji duncan (lampiran 6)

Tabel 4.11 Rataan waktu pengamatan dosis titer anti prolaktin

Waktu Pengamatan	Rataan
4 hari setelah imunisasi	0,111±0,013[a]
3 hari setelah imunisasi	0,158±0,117[b]
2 hari setelah imunisasi	0,191±0,131[c]
1 hari setelah imunisasi	0,349±0,117[d]
Sig	1,000

Berdasarkan tabel diatas diperoleh hasil bahwa waktu pengamatan tiap dosis titer anti prolaktin berbeda nyata. ($p<0,05$).

4.1.6. Analisis hubungan dosis dengan waktu pengamatan titer anti prolaktin.

Tabel 4.12 Rataan hubungan dosis dengan waktu pengamatan titer anti prolaktin

Perlakuan Kombinasi	Rataan
Hari 1 kontrol	0,099±0,013[a]
Hari 1 dosis 50 µg/ml	0,437±0,005[g]
Hari 1 dosis 100 µg/ml	0,421±0,002[f]
Hari 1 dosis 200 µg/ml	0,437±0,005[g]
Hari 2 kontrol	0,099±0,013[a]
Hari 2 dosis 50 µg/ml	0,232±0,003[e]
Hari 2 dosis 100 µg/ml	0,202±0,002[c]
Hari 2 dosis 200 µg/ml	0,232±0,003[e]
Hari 3 kontrol	0,099±0,013[a]
Hari 3 dosis 50 µg/ml	0,212±0,003[d]
Hari 3 dosis 100µg/ml	0,107±0,008[a]
Hari 3 dosis 200 µg/ml	0,212±0,003[d]
Hari 4 kontrol	0,099±0,013[a]
Hari 4 dosis 50 µg/ml	0,122±0,002[b]
Hari 4 dosis 100 µg/ml	0,102±0,010[a]
Hari 4 dosis 200 µg/ml	0,122±0,003[b]
Sig	1,000

Berdasarkan data (lampiran 6) diperoleh hasil bahwa hubungan dosis dengan waktu pengamatan titer anti prolaktin berbeda nyata ($p<0,05$). Hubungan dosis dengan waktu pengamatan titer anti prolaktin terendah terjadi pada kontrol (sebelum dilakukan imunisasi pasif).

BAB V

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pemeriksaan *Optical Density* dengan uji *indirect* ELISA diperoleh data bahwa profil titer anti prolaktin satu hari setelah dilakukan imunisasi pasif (pengambilan darah ke dua) masih tinggi dan berbeda nyata dengan sebelum diimunisasi (pengambilan darah pertama). Selanjutnya titer anti prolaktin pada dua hari setelah imunisasi anti prolaktin (pengambilan darah ke tiga) menurun dengan drastis dan berbeda nyata dengan titer pada pengambilan darah ke dua dan pengambilan darah pertama (satu hari setelah imunisasi dan sebelum imunisasi). Pada dosis 50 µg/ml titer anti prolaktin menurun pada hari ke dua setelah imunisasi pasif, sedangkan pada hari ke tiga dan ke empat setelah imunisasi anti prolaktin sudah tidak terdapat di dalam darah. Hal ini menunjukkan, bahwa mulai pengambilan darah ke empat titer anti prolaktin sudah menurun dan tidak berbeda nyata dengan sebelum diimunisasi. Pada dua hari setelah dilakukan imunisasi pasif anti prolaktin mengikat prolaktin di dalam darah, akibatnya kadar prolaktin menurun (Safitri, 2005).

Pada dosis 100 µg/ml profil titer anti prolaktin menurun pada tiga dan empat hari setelah imunisasi (pengambilan darah ke empat dan ke lima) dan berbeda nyata pada setiap pengambilan darah. Pada dosis 200 µg/ml profil titer anti prolaktin juga menurun pada tiga dan empat hari setelah imunisasi (pengambilan darah ke empat dan ke lima) dan berbeda nyata pada setiap pengambilan darah. Hal ini menunjukkan pada dosis 100 µg/ml dan 200 µg/ml

titer anti prolaktin mulai berikatan dengan prolaktin di dalam darah pada dua hari setelah dilakukan imunisasi pasif, dan selanjutnya masih terdapat di dalam darah sampai pengambilan darah kelima. Semakin besar dosis antibodi (anti prolaktin) yang diberikan, maka semakin lama interaksi dengan antigen (prolaktin) di dalam darah (Katzung, 2002)

Berdasarkan *Optical Density* yang diperoleh dari uji *indirect* ELISA dapat dinyatakan kapan anti prolaktin mulai berikatan dengan prolaktin penyebab ayam *moulting* dan berhenti bertelur, dan berapa lama waktu anti prolaktin terdapat di dalam darah ayam ras petelur fase *moulting* awal. Dari uji *indirect* ELISA yang telah dilakukan diperoleh nilai *Optical Density* pada dosis 50 µg/ml, bahwa anti prolaktin mulai berikatan dengan prolaktin terjadi pada hari ke dua setelah dilakukan imunisasi pasif dengan anti prolaktin. Hal ini dibuktikan dengan terjadi penurunan rataan titer dari 0,420±0,024 menjadi 0,209±0,021 yang berbeda nyata ($p<0,05$). Pada hari ke tiga sampai ke empat setelah imunisasi pasif titer anti prolaktin semakin menurun dan tidak berbeda nyata dengan sebelum diimunisasi pasif. (tabel 4.1).

Pada dosis 100 µg/ml anti prolaktin mulai berikatan dengan prolaktin terjadi pada hari ke dua setelah dilakukan imunisasi pasif. Hal ini dibuktikan dengan terjadi penurunan rataan titer dari 0,430±0,041 menjadi 0,224±0,027 yang berbeda nyata ($p<0,05$). Pada hari ke tiga sampai ke empat setelah imunisasi pasif titer anti prolaktin berbeda nyata pada setiap pangambilan darah (tabel 4.4).

Pada dosis 200 µg/ml anti prolaktin mulai berikatan dengan prolaktin terjadi pada hari ke dua setelah dilakukan imunisasi pasif. Hal ini dibuktikan

dengan terjadinya penurunan titer dari 0,436±0,004 menjadi 0,232±0,003 yang berbeda nyata ($p<0,05$). Pada hari ke tiga sampai ke empat setelah imunisasi pasif titer anti prolaktin berbeda nyata pada setiap pangambilan darah (tabel 4.7).

Hal tersebut sesuai dengan pendapat Beckman-Coulter (2001), bahwa *onset of action* anti prolaktin terhadap prolaktin adalah dua hari. Hal ini menunjukkan bahwa imunisasi pasif anti prolaktin akan menyebabkan terjadinya penurunan titer prolaktin di dalam darah. Hasil dari pengukuran *Optical Density* (titer) anti prolaktin pada serum darah ayam yang diimunisasi pasif menunjukkan bahwa terjadi penurunan titer anti prolaktin setelah terjadi ikatan dengan prolaktin di dalam darah pada hari ke dua sampai ke lima setelah dilakukan imunisasi pasif.

Hasil analisis titer per dosis anti prolaktin diperoleh bahwa pada dosis 50 µg/ml berbeda nyata dengan dosis 100 µg/ml dan 200 µg/ml. Pada dosis 100 µg/ml dan 200 µg/ml tidak berbeda nyata. Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis 50 µg/ml anti prolaktin lebih cepat diabsorbsi oleh tubuh sebelum terjadi ikatan antara anti prolaktin dengan prolaktin di dalam darah (Safitri, 2005).

Hasil waktu pengamatan dosis titer anti prolaktin (tabel 4.11) diperoleh bahwa waktu pengamatan pada masing-masing dosis selama perlakuan (imunisasi pasif) berbeda nyata. Analisis hubungan antara dosis dengan waktu pengamatan titer anti prolaktin pada masing-masing dosis berbeda nyata (tabel 4.12). Menurut Katzung (2002) faktor yang mempengaruhi hubungan dosis dengan waktu pengamatan diantaranya adalah banyaknya bahan yang diinjeksikan, dosis, waktu dan interval imunisasi.

Keberhasilan berproduksi telur dari seekor ayam ditentukan dari jumlah folikel yang terbentuk dan diovulasikan. Folikel ayam yang tersusun sebagai *hierarki folikuler* tidak akan terbentuk selama titer prolaktin yang sangat tinggi ada di dalam darah. Mekanisme kerja prolaktin dalam meregresikan folikel ovarium adalah secara langsung atau dengan menekan pelepasan gonadotropin yang dihasilkan oleh hipofisa anterior melalui kompetisi dengan hormon progesterone yang dihasilkan oleh ovarium (Gan *et al*., 1987). Anti prolaktin yang diimunisasikan secara pasif tersebut akan mengikat dan menetralisasi kerja prolaktin yang terdapat di dalam darah dan akibatnya ayam akan dapat berproduksi telur kembali lebih cepat (Safitri, 2005).

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik kesimpulan dan saran sebagai berikut :

6.1 Kesimpulan

1. Anti prolaktin mulai berikatan dengan prolaktin penyebab ayam berhenti bertelur pada dua hari setelah dilakukan imunisasi pasif (pengambilan darah ke tiga).
2. Anti prolaktin yang diimunisasikan secara pasif pada ayam ras petelur fase *moulting* awal akan mengalami penurunan titer setelah terjadi ikatan dengan prolaktin yang terdapat di dalam darah pada hari ke dua sampai hari ke lima (empat hari setelah diimunisasi pasif)
3. Pada dosis 50 µg/ml titer anti prolaktin menurun pada hari ke dua setelah imunisasi, sedangkan pada hari ke tiga dan ke empat setelah imunisasi anti prolaktin sudah tidak terdapat di dalam darah.
4. Pada dosis 100 µg/ml dan 200 µg/ml titer anti prolaktin mengalami penurunan di dalam darah setelah dilakukan imunisasi pasif pada hari ke dua sampai hari ke lima.

6.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis efektif penggunaan anti prolaktin sebagai penghambat fase *moulting* pada ayam ras petelur.

RINGKASAN

Ponco Eddy Widodo "Profil anti prolaktin pada ayam ras petelur fase *moulting* awal setelah dilakukan imunisasi pasif dengan anti prolaktin". Di bawah bimbingan bapak Husni Anwar, Drh dan bapak Trilas Sardjito, M.Si., Drh.

Fase *moulting* awal pada ayam ditandai dengan rontoknya satu helai bulu primer nomor satu di daerah sayap. Salah satu faktor penyebab terjadinya *moulting* adalah tingginya kadar prolaktin dalam darah sehingga menyebabkan terjadinya regresi folikel ovarium. Hal ini berdampak pada berhentinya produksi telur pada ayam.

Prolaktin merupakan hormon protein dengan berat molekul yang besar sehingga bersifat imunogen, dan dapat menginduksi timbulnya antibodi yang disebut anti prolaktin. Antibodi (anti prolaktin) bekerja secara spesifik terhadap prolaktin dengan cara mengikat dan menetralisasi kerja prolaktin di dalam darah.

Pada pengamatan profil anti prolaktin, digunakan ayam ras petelur fase *moulting* awal sebanyak 30 untuk tiga dosis anti prolaktin yang diberikan. Pada masing-masing dosis anti prolaktin dilakukan lima perlakuan berupa lima kali pengambilan darah sebelum dan setelah dilakukan imunisasi pasif, dengan demikian masing-masing perlakuan mendapat 10 ulangan

Pengambilan darah melalui vena axillaris dari ayam dilakukan sebelum imunisasi pasif dan setiap hari setelah imunisasi pasif selama empat hari berturut-turut. Selanjutnya dilakukan pengukuran terhadap *Optical Density* (titer) anti

prolaktin dengan menggunakan *indirect* ELISA. Semakin rendah titer anti prolaktin didalam darah setelah dilakukan imunisasi pasif, maka semakin besar anti prolaktin yang mengikat prolaktin di dalam darah.

Data dianalisa dengan ANOVA untuk mengetahui kapan anti prolaktin mulai bekerja menetralisasi prolaktin dan berapa lama anti prolaktin terdapat di dalam darah.

Hasil ANOVA dilanjutkan dengan uji BNT 5 % yang menunjukkan bahwa antibodi (anti prolaktin) mulai bekerja menetralisasi prolaktin di dalam darah pada dua hari setelah dilakukan imunisasi pasif. Titer tersebut mengalami penurunan di dalam darah setelah hari ke dua sampai hari ke lima. Data titer per dosis anti prolaktin, waktu pengamatan dosis titer anti prolaktin, dan hubungan dosis dengan waktu pengamatan titer anti prolaktin dianalisis dengan uji faktorial. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis efektif penggunaan anti prolaktin sebagai penghambat fase *moulting* pada ayam ras petelur.

DAFTAR PUSTAKA

Agrisera 2004. Polyclonal Antibody Production Program Distated by Customer's Requirements. Aves Labs, Inc. http://www.aveslab.com/service.php4

Allen T. 2002 . Information Resources on Induced Moulting in Chicken 1902-2002. Animal Welfare Information Center. Email: awic@nal.usda.gov http://www.nal.usda.gov/awic/. Download : 25 Januari 2004.

Alodan M.A., and Mashaly M.M., 1999. Effect of Induced Moulting in Laying Hens on Production and Immune Parameters. Education and Production. Poultry Science. 78:171-177. Download : 27 Januari 2004.

Anonimus. 2000. Budidaya Ayam Ras (Gallus sp.). Deputi Meneg Ristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi. http//www.digilib.brawijaya.ac.id. Download : 3 Mei 2006.

Anonimus. 2004. Anti prolaktin. Biogenex. Netherlands. http:// www.biogenex.com. Download : 2 April 2006

Anonimus. 2005. Moulting, Petunjuk Pengafkiran Pada Ayam. http//www.poultryindonesia.com. Download : 27 Mei 2005

Austin. 2000. Poultry. Australia

Barton J., DVM. 2003. Moulting. Palm Beach Country Poultry Fanciers Association. Florida. http://www.metimes.com/issue99-24/eg/chicken.htm.p. 3.

Bedecarrats G., Guemene D., Morvan C., Kuhnlein U., Zadworny D. 1999. Quantification of Prolactin Messenger Ribonucleic Acid, Pituitary Content and Plasma Levels of Prolactin and Detection of Immunoreactive Isoform of Prolactin in Pituitaries from Turkey Embryos during Ontogeny. Biology of Reproduction 61, 757-763. zadworny@agradm.lan.mcgill.ca. Download : 2 Maret 2004.

Bellanti, A. J. 1993. Imunologi. Edisi III. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta

Bell and Kuney. 2003. Forced Moulting of Laying Birds. Poultry Organization. p. 8-10. Poultry.org is an educational effort of Farm Sanctuary. Download : 2 Maret 2004.

Cole. H.H and P.T. Cupps. 1977. Reproduction in Domestic Animals. 3 rd ed. Academic Press, New York, San Francisco, London.

Cortex B.. 2003 . Polyclonal Antibodi Anti-Prolactin. Cortex Biochem Purified Biochemicals Purification Nucleic Acid Antibodi. P. 1-2. Chem.com/objects/catalog/product/extran/pdf. Download: 3 April 2004.

Darmana W. dan M. Sitanggang. 2002. Kiat Mengatasi Permasalahan Praktis. Meningkatkan Produktivitas Ayam Arab Petelur. Cetakan I. Agro Media Pustaka. Jakarta. H.

Dartodiharjo, S. 1982. Ilmu Reproduksi Hewan. Mutiara. Jakarta

Departemen Eurindo Combained p.t. 1988. Aspek-Aspek Imunologis dari Penyakit Ayam Sering Ditemukan Pada Peternakan Ayam Ras di Indonesia. Technical Service. Veterinary Division. Jakarta

Djanah, D. 1985. Beternak Ayam dan Itik .CV.Yasaguna. Jakarta

FACT. 2001. Nears Major Food Safety Goal. Chicago IL 60614 (773) 525-4952. PO BOX 14599. Info@FACT.cc.www.fact.cc/se-Main.htm. Download : 21 April 1004

Fitzgerald I.I.. 2004 . Purified Polyclonal Antibodies. Fitzgerald Industries International, Inc. http://www.fitzgerald-fii.com/p-p-prolactin-1.shtml. Download : 31 Maret 2004.

Gan. S., R. Setiabudy, U. Sjamsudin dan Z.S. Bustami. 1987. Farmakologi dan Terapi. Edisi 3. Gaya Baru, Jakarta.

Hafez, E.S.E, 2000. Reproduction in Farm Animal. 6 th Ed. Philadelphia : Lea & Febiger. P.

Hardjopranjoto S. 2003. Luteotropic Hormon (LTH). Hand Out Kuliah. Mata Kuliah Endokrinologi Reproduksi. Program Studi Ilmu Biologi Reproduksi. Pasca Sarjana. Universitas Airlangga. Surabaya.

Indarto, P. 1989. Beternak Unggas Berhasil. Penerbit CV. Armico. Bandung. Hal. 63-69.

Holt. 2003. Forced Moulting of Laying Birds. Poultry Organization. p. 10-12. Poultry.org is an educational effort of Farm Sanctuary. Download : 2 Maret 2004.

Jull, M.A. 1982. Poultry Husbandry. TMH Edition 1972, Reprinted 1982. Tata McGraw-Hill Publishing Company Ltd. New Delhi. 119-149.

Katzung, G. B. Farmakologi Dasar dan Klinik. 2002. Salemba Medika. Jakarta

Knobil, E., D. Neill, L.L. Ewing, C.L. Market, G.S. Greenwald and D.W. Pfaff.1988. The Physiologi of Reproduction. Vol. 2. Raven Press, New York. P. 1379-1385.

Kresno, SB. 2000. Imunologi : Diagnosis dan Prosedur Laboratorium. Ed. 3. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.

Maijon, P et al. 2005. Pola rontok bulu itik betina Alabio Dan Mojosari Serta Hubungannya Dengan Kadar Lemak Darah (Trigliserida), Produksi dan Kualitas telur. Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner. Vol.10(2)96-105

March J.B., Sharp P.J., Wilson P.W. and Sang H.M. 1999. Effect of Active Immunization Against Recombinant-Derived Chicken Prolactin Fusion Protein on the Onset of Broodiness and Photoinduced Egg Laying in Bantam Hens. Journal of Reproduction and Fertility; 101:227-233. Download : 3 April 2004.

Marhiyanto B. 2000. Sukses Beternak Ayam Arab. Cetakan I. Difa Publisher. Indonesia. H. 9-11 & 88-97

Messer, S W. 2000. Pituitary Hormones I. http//www.gnrh, %20Growth%20hormone. Download : 28 Mei 2005

Mufti, M. 2005. Perilaku Ayam Mengeram dan Mengasuh Anak Bisa Dikendalikan Dengan Memandikan dan Pemberian Cahaya. Infovet Edisi 133. Jakarta

Murray, R K et al. Biokimia Harper. Edisi 24. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.

Nalbandov, A V. 1990. Fisiologi Reproduksi Pada Mamalia dan Unggas. Edisi III. Universitas Indonesia. Jakarta

Poultry. O. 2003. Forced Moulting of Laying Birds. Poultry Organization. p. 1-7. Poultry.org is an educational effort of Farm Sanctuary. Download : 2 Maret 2004.

Ramachandran R., Kuenzel WJ., Buntin JD., Proudman JA., 2003. Distribution of Growth Hormon and Prolaktin Containing Neurons within the Avian Brain. Regular Article Biology of Reproduction 77,315-321. Download : 16 Maret 2004.

Ramesh R., Kuenzel W.J. and Proudman J.A. 2001. Increased Proliferative Activity and Programmed Cellular Death in the Turkey Hen Pituitary Gland Following Interruption of Incubation Behavior. Regular Article Biology of Reproduction 64,611-618. Download : 27 Januari 2004.

Rantam F.E. 2003. Metode imunologi. Cetakan 1. Airlangga University Press. Surabaya. Hal. 148-162.

Rasyaf, M. 1991. Pengelolaan Produksi Telur. Kanisius. Yogyakarta

Rasyaf, M. 1994. Beternak Ayam Petelur. Edisi Revisi. Penebar Swadaya. Jakarta. Hal. 146-151

Safitri E., Samik A. dan Hendarti GA., 2004. Produksi Bahan Bioaktif Antibodi Poliklonal Anti Prolaktin. Universitas Airlangga. Surabaya

Safitri E. 2005. Karakterisasi dan Produksi Antibodi poliklonal anti prolaktin (Abpo-αPrl) sebagai Penghambat Proses Moulting. Tesis. Program Studi Ilmu Biologi reproduksi. Program Pascasarjana. Universitas Airlangga. Surabaya]

Safitri. 2006. Produksi anti prolaktin (α Prl), uji biopotensi dan pengaruhnya terhadap profil prolaktin dan anti prolaktin di dalam darah. DUE-Like Batch III. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.

Sainsbury D. 1995. Poultry Health and Management; Chicken, Turkey, Ducks, Geese and Quail. 3 Th. Ed. University of Cambride. 195.

Smith, J.R. 1995. Produksi serum hiperimun. Dalam Teknologi ELISA dalam Diagnosis dan Penelitian. James Cook University of North Quensland. G.W. Burgess Ed.

Steel, R.G.D dan J.H. Torrie. 1995. Principles and procedures of statistics A biometrical Approach. International Student Edition. Me Graw-Hill Koga Kusha, LTD. P. 137-167.

Sugandi, D. 1973. The Effect of Various Energy and Protein Levels on The Performance of Laying Hens Under Cage and Floor Systems. Dissertation The Faculty Of Animal Husbanding. Agricultural University. Bogor.

Suwarno, Ernawati R., Rahardjo AP, Sianita N, Rahmahani J, Rantam FA. 2003. Prinsip Dasar, Optimalisasi dan Interpretasi Hasil Uji ELISA. Laboratorium Virologi dan Imunologi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya Hal. 1-10.

Thamrin, N., dan Nurrohmah, S. 2003. Ransum Kampung. Penerbit Swadaya. Jakarta.

Turner, C.D dan J.T. Bagnara. 1988. Endokrinologi Umum. Cetakan keenam. Airlangga University Press.

Upstate B. 2002. Anti-Prolactin (Rabbit Antiserum) and Immunoblot Protocol. P. 1-2. Upstate Biotechnology. Certificate of Analysis. www.upstatebiotech.com. Download : 2 April 2004.

Wahana Komputer. 2003. Pengolahan Data Statistik Dengan SPSS 11.5. Salemba Infotek. Jakarta

Wahyu, J. dan Sugandi. 1984. Penuntun Praktis Beternak Ayam. Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor. Bogor

Watahiki M, Tanaka M., Masuda N., Sugisaki K., Yamamoto M., Yamakawa M., Nakashima K., 1989. Primary structure of Chicken Pituitary Prolactin deduced from the cDNA sequence. Conserved and Spesifik Amino Acid Residues in the Domains of the Prolactins. J. Biol. Chem. Apr 5;264(10):5535-9. JBC Online. Entrez Pub Med. www.jbc.or. Download : 29 April 2004.

Webster A.B. 1999. Commercial Egg Tip-the Induced Molt: A Critical Control Point for Hazard Minimization of Salmonella Enteritidis Contamination of Eggs. Institute of Agriculture and Natural. Poultry News. Winter 1999. P.2-4. http://ianr.www.snl.edu/ianr/asdk/newslet.htm

Widhanarto, D T. 1996. Moulting Petunjuk Pengafkiran Pada Ayam. http//www.poultryindonesia.com. Download : 27 Mei 2005

Yamamoto Wakita M., and Tanaka M. 2003. Tissue Distribution of Prolactin Receptor mRNA during Late Stage Embryogenesis of the Chick. Poultry Science 82:155-157. Download : 29 Januari 2004.

Lampiran 1. Prosedur kerja penentuan profil anti prolaktin dengan metode ELISA *indirect*

1. Antigen (isolat prolaktin) dengan kadar 100 µg/ml dilarutkan dalam *buffer Carbonat-Bicarbonat* (*Coating buffer*) dimasukkan dalam *microplate* sebanyak 50 µl tiap sumuran
2. Sumuran *microplate* diinkubasi pada suhu 4° C selama 24 jam
3. Dilakukan pencucian dengan 0.05% PBS-Tween 20 sebanyak empat kali @ tiga menit dan diblok dengan *Blocking buffer* sebanyak 50 µl tiap sumuran
4. Sumuran *microplate* diinkubasi pada suhu ruang selama dua jam.
5. Dilakukan pencucian dengan 0.05% PBS-Tween 20 sebanyak empat kali @ tiga menit.
6. Direaksikan dengan antibodi primer (anti prolaktin) dari ayam ras petelur fase *moulting* awal yang dilarutkan ke dalam *blocking buffer* BSA 1%, kemudian dimasukkan ke dalam *microplate* masing-masing 50 µl tiap sumuran.
7. Sumuran *microplate* diinkubasi pada suhu 4° C selama semalam.
8. Dilakukan pencucian dengan 0.05 % PBS-Tween 20 sebanyak empat kali @ tiga menit.
9. Sumuran microplate di*coating* dengan antibodi sekunder *(Anti Chicken Ig G Alkhaline Phospatase Conjugated)* yang dilarutkan dalam TBS-Tween 20 dengan pengenceran 1/2500.

10. Dimasukkan pada *microplate* sebanyak 50 µl tiap sumuran.
11. Diinkubasi pada suhu ruang selama dua jam.
12. Dilakukan pencucian dengan 0.05% PBS-Tween 20 sebanyak empat kali @ tiga menit.
13. Ditambahkan substrat pNPP dalam diethanolamine 10% dimasukkan pada *microplate* sebanyak 50 µl tiap sumuran
14. Diinkubasi pada suhu ruang dan gelap selama 30 menit
15. Jika warna pada kontrol sudah berubah kuning maka reaksi dihentikan dengan penambahan NaOH 3 M (*stop reaction*) sebanyak 50 µl tiap sumuran.
16. Diukur dengan menggunakan ELISA *reader* dengan panjang gelombang 405 nm. Kontrol dipakai sumuran yang tidak berisikan antigen atau tanpa di*coating* dengan isolat prolaktin.

Penentuan profil anti prolaktin dilakukan sehari sebelum imunisasi pasif dan tiap hari setelah imunisasi pasif selama empat hari berturut-turut. Semakin rendah titer anti prolaktin di dalam darah, semakin besar anti prolaktin yang mengikat prolaktin.

Lampiran 2. Pemeriksaan Optical Density titer anti prolaktin serum darah ayam ras petelur fase *moulting* awal dengan metode *indirect* ELISA

Antigen (isolat prolaktin) dengan kadar 100 µg/ml dilarutkan dalam *buffer carbonat-Bicarbonat* (*coating buffer*) dimasukkan dalam *microplate* sebanyak 50µl tiap Sumuran

↓

Inkubasi pada suhu 4°C selama 24 jam

↓

Pencucian dengan 0.05% PBS-Tween 20 sebanyak empat kali @ tiga menit

↓

Tambahkan *buffer blocking* (BSA 1%)

↓

Inkubasi pada suhu 37°C selama dua jam

↓

Dicuci dengan 0.05 % PBS Tween-20 sebanyak empat kali @ tiga menit

↓

Direaksikan dengan Antibodi primer (anti prolaktin) diencerkan BSA 1%

↓

Inkubasi pada suhu 4°C semalam

↓

Dicuci dengan 0.05 % PBS Tween-20 sebanyak empat kali @ tiga menit

↓

Antibodi sekunder *(Anti Chicken IgG Alkhaline Phospatase Conjugated)* yang diencerkan TBS Tween-20 dengan pengenceran 1/2500

↓

Inkubasi pada suhu 37°C selama dua jam

↓

Dicuci dengan 0.05% PBS Tween-20 sebanyak empat kali @ tiga menit

↓

pNPP dilarutkan Diethanolamin 10%

↓

Inkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit

↓

NaOH 3 M untuk menghentikan reaksi

↓

Pembacaan dengan ELISA *reader*

Lampiran 3. Analisa statistik titer anti prolaktin pada dosis 50 µg/ml

Oneway

Descriptives

Titer anti prolaktin

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1,000	10	,09940	,013243	,004188	,08993	,10887	,072	,119
2,000	10	,42060	,002366	,000748	,41891	,42229	,417	,425
3,000	10	,20170	,021858	,006912	,18606	,21734	,140	,215
4,000	10	,10730	,008015	,002534	,10157	,11303	,095	,117
5,000	10	,10210	,010181	,003220	,09482	,10938	,083	,119
Total	50	,18622	,125161	,017700	,15065	,22179	,072	,425

ANOVA

Titer anti prolaktin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,760	4	,190	1149,449	,000
Within Groups	,007	45	,000		
Total	,768	49			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: titer

LSD

(I) Bleeding	(J) Bleeding	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1,000	2,000	-,321200(*)	,005750	,000	-,33278	-,30962
	3,000	-,102300(*)	,005750	,000	-,11388	-,09072
	4,000	-,007900	,005750	,176	-,01948	,00368
	5,000	-,002700	,005750	,641	-,01428	,00888
2,000	1,000	,321200(*)	,005750	,000	,30962	,33278
	3,000	,218900(*)	,005750	,000	,20732	,23048
	4,000	,313300(*)	,005750	,000	,30172	,32488
	5,000	,318500(*)	,005750	,000	,30692	,33008
3,000	1,000	,102300(*)	,005750	,000	,09072	,11388
	2,000	-,218900(*)	,005750	,000	-,23048	-,20732
	4,000	,094400(*)	,005750	,000	,08282	,10598
	5,000	,099600(*)	,005750	,000	,08802	,11118
4,000	1,000	,007900	,005750	,176	-,00368	,01948
	2,000	-,313300(*)	,005750	,000	-,32488	-,30172
	3,000	-,094400(*)	,005750	,000	-,10598	-,08282
	5,000	,005200	,005750	,371	-,00638	,01678
5,000	1,000	,002700	,005750	,641	-,00888	,01428
	2,000	-,318500(*)	,005750	,000	-,33008	-,30692
	3,000	-,099600(*)	,005750	,000	-,11118	-,08802
	4,000	-,005200	,005750	,371	-,01678	,00638

* The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 4. Analisa statistik titer anti prolaktin pada dosis 100 µg/ml

Oneway

Descriptives

Titer anti prolaktin

Bleed	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1,000	10	,09940	,013243	,004188	,08993	,10887	,072	,119
2,000	10	,43030	,004057	,001283	,42740	,43320	,425	,437
3,000	10	,22450	,002677	,000847	,22258	,22642	,220	,229
4,000	10	,21120	,003293	,001041	,20884	,21356	,205	,215
5,000	10	,10700	,010209	,003228	,09970	,11430	,087	,120
Total	50	,21448	,121022	,017115	,18009	,24887	,072	,437

ANOVA

Titer anti prolaktin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,715	4	,179	2845,128	,000
Within Groups	,003	45	,000		
Total	,718	49			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Titer

LSD

(I) Bleeding	(J) Bleeding	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1,000	2,000	-,330900(*)	,003544	,000	-,33804	-,32376
	3,000	-,125100(*)	,003544	,000	-,13224	-,11796
	4,000	-,111800(*)	,003544	,000	-,11894	-,10466
	5,000	-,007600(*)	,003544	,037	-,01474	-,00046
2,000	1,000	,330900(*)	,003544	,000	,32376	,33804
	3,000	,205800(*)	,003544	,000	,19866	,21294
	4,000	,219100(*)	,003544	,000	,21196	,22624
	5,000	,323300(*)	,003544	,000	,31616	,33044
3,000	1,000	,125100(*)	,003544	,000	,11796	,13224
	2,000	-,205800(*)	,003544	,000	-,21294	-,19866
	4,000	,013300(*)	,003544	,000	,00616	,02044
	5,000	,117500(*)	,003544	,000	,11036	,12464
4,000	1,000	,111800(*)	,003544	,000	,10466	,11894
	2,000	-,219100(*)	,003544	,000	-,22624	-,21196
	3,000	-,013300(*)	,003544	,000	-,02044	-,00616
	5,000	,104200(*)	,003544	,000	,09706	,11134
5,000	1,000	,007600(*)	,003544	,037	,00046	,01474
	2,000	-,323300(*)	,003544	,000	-,33044	-,31616
	3,000	-,117500(*)	,003544	,000	-,12464	-,11036
	4,000	-,104200(*)	,003544	,000	-,11134	-,09706

* The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 5. Analisa statistik titer anti prolaktin pada dosis 200 µg/ml

Oneway

Descriptives

Titer anti prolaktin

Bleed	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1,000	10	,09940	,013243	,004188	,08993	,10887	,072	,119
2,000	10	,43720	,004566	,001444	,43393	,44047	,429	,445
3,000	10	,23200	,003464	,001095	,22952	,23448	,227	,237
4,000	10	,21200	,003464	,001095	,20952	,21448	,206	,218
5,000	10	,12200	,002625	,000830	,12012	,12388	,118	,126
Total	50	,22052	,120995	,017111	,18613	,25491	,072	,445

ANOVA

Titer anti prolaktin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,715	4	,179	3936,996	,000
Within Groups	,002	45	,000		
Total	,717	49			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Titer

LSD

(I) Bleeding	(J) Bleeding	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1,000	2,000	-,337800(*)	,003014	,000	-,34387	-,33173
	3,000	-,132600(*)	,003014	,000	-,13867	-,12653
	4,000	-,112600(*)	,003014	,000	-,11867	-,10653
	5,000	-,022600(*)	,003014	,000	-,02867	-,01653
2,000	1,000	,337800(*)	,003014	,000	,33173	,34387
	3,000	,205200(*)	,003014	,000	,19913	,21127
	4,000	,225200(*)	,003014	,000	,21913	,23127
	5,000	,315200(*)	,003014	,000	,30913	,32127
3,000	1,000	,132600(*)	,003014	,000	,12653	,13867
	2,000	-,205200(*)	,003014	,000	-,21127	-,19913
	4,000	,020000(*)	,003014	,000	,01393	,02607
	5,000	,110000(*)	,003014	,000	,10393	,11607
4,000	1,000	,112600(*)	,003014	,000	,10653	,11867
	2,000	-,225200(*)	,003014	,000	-,23127	-,21913
	3,000	-,020000(*)	,003014	,000	-,02607	-,01393
	5,000	,090000(*)	,003014	,000	,08393	,09607
5,000	1,000	,022600(*)	,003014	,000	,01653	,02867
	2,000	-,315200(*)	,003014	,000	-,32127	-,30913
	3,000	-,110000(*)	,003014	,000	-,11607	-,10393
	4,000	-,090000(*)	,003014	,000	-,09607	-,08393

* The mean difference is significant at the .05 level

Lampiran 6. Uji Faktorial

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Waktu Pengamatan	1	1 hari stl Imunisasi	40
	2	2 hari stl Imunisasi	40
	3	3 hari stl Imunisasi	40
	4	4 hari stl Imunisasi	40
Dosis Imunisasi	0	Kontrol	40
	1	50 ug/ml	40
	2	100 ug/ml	40
	3	200 ug/ml	40

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Titer Anti-Prolaktin

Waktu Pengamatan	Dosis Imunisasi	Mean	Std. Deviation	N
1 hari stl Imunisasi	Kontrol	,09940	,013243	10
	50 ug/ml	,43720	,004566	10
	100 ug/ml	,42060	,002366	10
	200 ug/ml	,43720	,004566	10
	Total	,34860	,146046	40
2 hari stl Imunisasi	Kontrol	,09940	,013243	10
	50 ug/ml	,23200	,003464	10
	100 ug/ml	,20170	,021858	10
	200 ug/ml	,23200	,003464	10
	Total	,19128	,056560	40
3 hari stl Imunisasi	Kontrol	,09940	,013243	10
	50 ug/ml	,21200	,003464	10
	100 ug/ml	,10730	,008015	10
	200 ug/ml	,21200	,003464	10
	Total	,15768	,055639	40
4 hari stl Imunisasi	Kontrol	,09940	,013243	10
	50 ug/ml	,12200	,002625	10
	100 ug/ml	,10210	,010181	10
	200 ug/ml	,12200	,002625	10
	Total	,11138	,013575	40
Total	Kontrol	,09940	,012723	40
	50 ug/ml	,25080	,116839	40
	100 ug/ml	,20793	,131246	40
	200 ug/ml	,25080	,116839	40
	Total	,20223	,121725	160

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Titer Anti-Prolaktin

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2,343[a]	15	,156	1716,024	,000
Intercept	6,544	1	6,544	71895,036	,000
Waktu	1,271	3	,424	4656,174	,000
Dosis	,613	3	,204	2244,959	,000
Waktu * Dosis	,458	9	,051	559,663	,000
Error	,013	144	9,10E-005		
Total	8,899	160			
Corrected Total	2,356	159			

a. R Squared = ,994 (Adjusted R Squared = ,994)

Post Hoc Tests

Waktu Pengamatan

Titer Anti-Prolaktin

Duncan[a,b]

Waktu Pengamatan	N	Subset 1	Subset 2	Subset 3	Subset 4
4 hari stl Imunisasi	40	,11138			
3 hari stl Imunisasi	40		,15768		
2 hari stl Imunisasi	40			,19128	
1 hari stl Imunisasi	40				,34860
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = 9,10E-005.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 40,000.

b. Alpha = ,05.

Dosis Imunisasi

Titer Anti-Prolaktin

Duncan[a,b]

Dosis Imunisasi	N	Subset 1	Subset 2	Subset 3
Kontrol	40	,09940		
100 ug/ml	40		,20793	
50 ug/ml	40			,25080
200 ug/ml	40			,25080
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = 9,10E-005.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 40,000.

b. Alpha = ,05.

Interaksi Waktu*Dosis

Titer Anti-Prolaktin

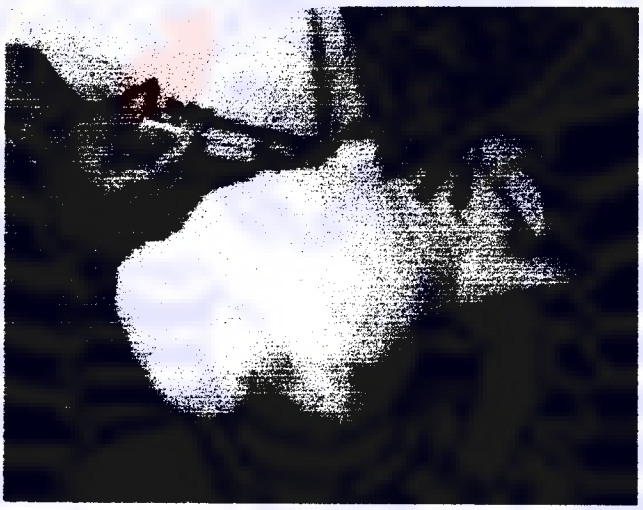
Duncan[a]

Perlakuan Kombinasi	N	Subset for alpha = .05: 1	2	3	4	5	6	7
Hari-1*Kontrol	10	,09940						
Hari-2*Kontrol	10	,09940						
Hari-3*Kontrol	10	,09940						
Hari-4*Kontrol	10	,09940						
Hari-4*100 ug/ml	10	,10210						
Hari-3*100 ug/ml	10	,10730						
Hari-4*50 ug/ml	10		,12200					
Hari-4*200 ug/ml	10		,12200					
Hari-2*100 ug/ml	10			,20170				
Hari-3*50 ug/ml	10				,21200			
Hari-3*200 ug/ml	10				,21200			
Hari-2*50 ug/ml	10					.23200		
Hari-2*200 ug/ml	10					.23200		
Hari-1*100 ug/ml	10						,42060	
Hari-1*50 ug/ml	10							,43720
Hari-1*200 ug/ml	10							,43720
Sig.		,108	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

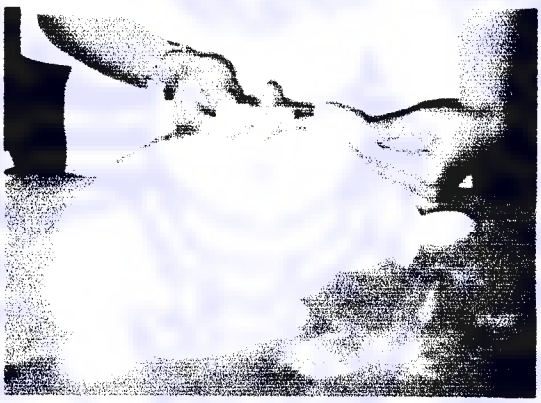
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10,000.

Lampiran 6. Penyuntikan *pure* prolaktin dari ayam ras petelur fase *moulting* awal secara sub cutan pada kelinci untuk produksi anti prolaktin.



Lampiran 7. Pengambilan darah melalui vena auricularis untuk isolasi dan purifikasi anti prolaktin

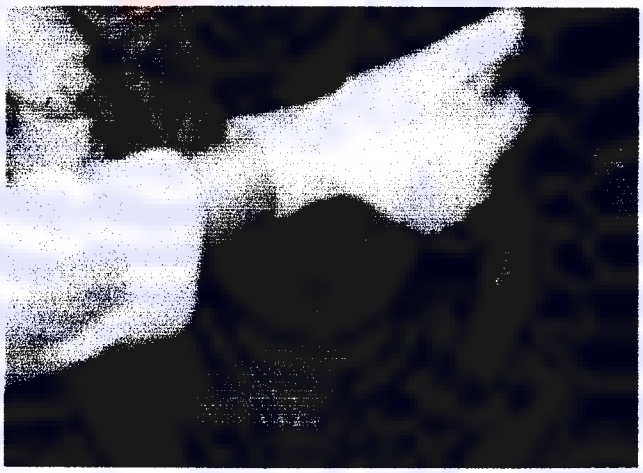


Lampiran 8. Imunisasi pasif anti prolaktin pada ayam ras petelur fase *moulting* awal

Lampiran 9. Pengambilan darah pada vena axilaris dari ayam ras petelur fase *moulting* awal.

Lampiran 10. Proses sentrifugasi untuk memperoleh serum darah ayam ras petelur fase *moulting* awal.

Lampiran 12. Pengerjaan prosedur *indirect* ELISA



Lampiran 13. Pembacaan *Optical Density* anti prolaktin dengan menggunakan ELISA *reader*