

Pengaruh Ekstrak Kulit dan Jus Buah Delima Putih (*Punica granatum* L.) Terhadap Titer Antibodi Ayam Kampung Super yang Divaksin Newcastle Disease

by Jola Rahmahani

Submission date: 09-Jun-2022 04:13PM (UTC+0800)

Submission ID: 1853495415

File name: dapTiterAntibodiAyamKampungSuperyangDivaksinNewcastleDisease.pdf (2.23M)

Word count: 493

Character count: 3185

Pengaruh Ekstrak Kulit dan Jus Buah Delima Putih (*Punica granatum L.*) Terhadap Titer Antibodi Ayam Kampung Super yang Divaksin *Newcastle Disease*

(EFFECT OF WHITE POMEGRANATE (*Punica granatum L.*) SKIM EXTRACT AND JUICE ON KAMPUNG SUPER CHICKEN ANTIBODY TITER VACCINATED BY NEWCASTLE DISEASE)

Anlisia Rahmawati^{1*}, Nanik Sianita Wijaya², Muhammad Thohawi Elziyad Pumama³, Jula Rahmahani², Aditya Yudhana⁴, Maya Nurwartanti Yunita⁵

¹Bachelor of Veterinary Medicine,
department of Veterinary Microbiology,

²Department of Veterinary Anatomy,

⁴Department of Parasitology,
department of Pathology,

Faculty of Veterinary Medicine, Unversitas Airlangga,
UNAIR C-Campus Mulyorejo, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia, 60115
Telp. (031)5993016, Fax. (031)5993015

*Corresponding author: anlisia.rahmawati-2014@fkh.unair.ac.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak kulit dan buah delima terhadap titer antibodi ayam kampung super yang divaksin *Newcastle Disease*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Sampel terdiri dari 40 ekor ayam kampung super yang dibagi acak menjadi 4 kelompok perlakuan. Perlakuan yang dibenkan adalah K- tidak divaksin, K+, PI dan P2 divaksin dengan ND Lasota. Kemudian setelah titer antibodi ayam rendah, K- dibenkan aquadest steril, K+ diberikan CMC-Na 0,5 %, PI diberikan ekstrak kulit delima (200 mg/kg BB), P2 diberikan jus buah delima (3 ml/kg BB). Sampel berupa serum di uji HI untuk mengetahui titer antibodi. Hasil rata-rata jumlah titer antibodi uji pertama pada K- yaitu (log 2) 1,10^a±0,994, pada K+ yaitu (log 2) 4,60^b±0,699, pada PI yaitu (log 2) 5,90^c±0,876, dan pada P2 yaitu (log 2) 7,20^d±0,632. Dan pada uji kedua pada K- yaitu (log 2) 0,20^a±0,422, pada K+ yaitu (log 2) 4,90^b±0,876, pada PI yaitu (log 2) 6,50^c±0,707, dan pada P2 yaitu (log 2) 8,00^d±0,816. Ada perbedaan yang nyata mengenai peningkatan titer antibodi pada masing-masing perlakuan. Berdasarkan hasil dapat disimpulkan bahwa ada pengaruh ekstrak kulit dan jus buah delima terhadap titer antibodi ayam kampung super yang divaksin *Newcastle Disease*. Penelitian disarankan untuk menggunakan jus buah delima karena lebih efektif.

Kata kunci: buah Delima Putih, *Punica granatum L.*, *Newcastle Disease*, titer antibodi

Abstract

This study aimed to determine the effect of peel extract and pomegranate juice on antibody titer of kampung super chicken vaccinated by *Newcastle Disease*. This study used a completely random design (CRD). The sample consisted of 40 kampung super chicken were randomized into four treatment groups. K- treatments were not vaccinated, K+, PI and P2 vaccinated with ND Lasota. Then, after antibody titer is low, K- was given with sterile distilled water, K+ given with 0.5% CMC-Na, PI given peel extract (200 mg/kg BB), P2 given with pomegranate juice (3 ml/kg BB). Samples of serum in HI test to determine antibody titer. Result obtained the average number of antibody titers in the first test for the K- is 1.10^a, K+ is 4.60^b, in PI is 5.90^c, and P2 is 7.20^d. On the second test of antibody titer of K- is 0.20^a, K+ is 4.90^b, in PI is 6.50^c, and P2 is 8.00^d. There was significant differences regarding an increase of antibody titer in each treatment. Based on the results it can be concluded that there was an influence of peel extract and pomegranate juice to kampung super chicken antibody titers vaccinated by *Newcastle Disease*. It is suggested to used pomegranate juice because it is more effective to increase antibody.

Keywords: white pomegranate, *Punica granatum L.*, *Newcastle Disease*, antibody titers

PENDAHULUAN

Newcastle Disease (ND) merupakan salah satu penyakit infeksius yang penting dalam industri perunggasan. *Newcastle Disease* dilaporkan sebagai penyakit endemis sejak tahun 1926 yang terjadi di beberapa negara di dunia termasuk Indonesia. *Newcastle Disease* menyebabkan kerugian yang sangat signifikan terhadap perekonomian di bidang perunggasan karena angka morbiditas dan angka mortalitas mencapai 100%. Peternakan unggas yang terserang penyakit *Newcastle Disease* juga berpengaruh terhadap penurunan produksi unggas (Ojok dan Brown, 1996; Aldous et al., 2003; Leuck et al., 2004).

Penyakit ND yang disebabkan oleh avian paramyxovirus dapat menginfeksi lebih dari 200 spesies unggas tetapi tingkat keparahan bervariasi tergantung dari inang dan strain virus. Strain velogenik tipe Asia sering menimbulkan wabah di Indonesia. Strain lentogenik (La Sota, B1, F) dan strain mesogenik (Komarov, Mukteswar, Roakin) dipakai untuk pembuatan vaksin. Ayam mengalami tingkat kepekaan yang paling parah dibandingkan dengan unggas lainnya yaitu kalkun, itik, angsa, dan entok (Tabbu, 2000). Respon kekebalan seluler dan kekebalan humoral berperan penting dalam melawan infeksi avian paramyxovirus (Hewajuli dan Dharmayanti, 2011).

Obat yang efektif untuk pengobatan ayam yang sudah terserang penyakit *Newcastle Disease* sampai saat ini masih belum ada. Pencegahan penyakit *Newcastle Disease* lebih efektif jika dilakukan dengan cara pemberian vaksin (Polana dan Fadilah, 2005). Beberapa jenis tanaman obat dapat menjadi alternatif pencegahan. Tanaman obat di Indonesia pernah dilaporkan memiliki potensi sebagai imunostimulan yakni buah delima putih (*Punica granatum L.*).

Delima putih (*Punica granatum L.*) diketahui mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat yakni fenolik, flavonoid dan tanin. Kandungan tanin, alkaloid, glikosida, flavonoid dan senyawa fenolik sebagai antioksidan dalam jus, kulit, dan fraksi biji delima putih

(Hajimahmoodi et al., 2013). Delima putih mempunyai antioksidan kuat yang lebih unggul dari anggur merah dan teh hijau. (Mohammad dan Kashani, 2012).

Buah Delima putih (*Punica granatum L.*) dapat digunakan sebagai imunostimulant. Kandungan yang terdapat pada buah, biji, dan kulit dapat meningkatkan aktivitas imun. Peningkatan aktivitas imun dapat merangsang respon imun humoral yang dibuktikan dengan penghambatan serta meningkatkan migrasi leukosit dan meningkatkan titer antibodi. (Ross et al. 2001). Buah delima putih dapat merangsang produksi imunoglobulin dalam sel-sel pada limpa tikus dan dapat meningkatkan fungsi sel B in vivo (Yamasaki et al. 2006).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan Penelitian

Sampel penelitian ini adalah 40 ekor ayam kampung super jantan. Alat yang digunakan untuk ekstraksi: corong *butchner*, labu *buchner*, kertas saring, *vacuum pump*, *rotary evaporator*, vial, toples kaca, pengaduk, aluminium foil. Alat yang digunakan untuk keperluan di Kandang: Kandang ayam, kardus, trash bag, tempat pakan, tempat minum, sekam padi, dan gayung. Alat yang digunakan untuk ambil darah dan Uji Hi: spuit 1 cc, spuit 3 cc, needle 27G, microtube, rak microtube, sentrifuse, waterbath, gelas ukur, baker glass, kulkas, *mikropipet* 25 µl dan 50 µl, *mikroplate* bentuk (V), *yellowtip*, baskom, label nama, pinset dan gunting.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah delima, serbuk kulit delima putih, Ayam kampung super, pakan konsentrat, air minum, alas kandang (erbuk padi dan kardus). Vaksin ND live (La Sota), etanol 96%, NaCl fisiologis, antigen ND 4 HA unit, dan eritrosit ayam 0,5 %.

Perlakuan

Ayam diadaptasikan dengan lingkungan selama 4 minggu sambil menunggu titer antibodi rendah, setelah titer antibodi rendah diberi perlakuan selama 35 hari atau 5 minggu.

Vaksinasi dengan ND La Sota dilakukan pada ayam kelompok K+, P1, dan P2 pada musculus pectoralis. Vaksinasi dilakukan dua kali. Vaksinasi pertama dilakukan pada ayam umur 5 minggu, dan vaksinasi kedua dilakukan pada ayam umur 7 minggu. Perlakuan yang dilakukan menurut Sibi dan Varghese (2014) adalah: (K-) Tidak divaksin ND+diberi aquadest steril; (K+) Divaksin ND+diberi CMC Na 0,5%; (P1) Divaksin ND+diberi ekstrak kulit delima putih dengan dosis 200 mg/kg BB; dan (P2) Divaksin ND+diberi jus buah delima putih dengan dosis 3 ml/kg BB.

Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak kulit delima dapat dilakukan dengan cara memasukkan serbuk kulit delima putih sebanyak 500 gram ke dalam toples kaca dan dituangi etanol 96% sebanyak ±1,5 liter sampai terendam semua serta dilakukan pengadukan 3 jam sekali dalam waktu 2x24 jam. Larutan ekstrak disaring dengan corong *buchner* dengan menggunakan *vacuum pump*. Kemudian dipindahkan dalam *rotary evaporator* dengan suhu 60°C sampai didapatkan cairan ekstrak menjadi kental dan berwarna kecoklatan. Ekstrak kental didiamkan pada suhu ruang selama ±2 minggu untuk menguapkan etanol yang terdapat pada ekstrak (Dewi, 2010).

Pembuatan Jus Buah Delima dapat dilakukan dengan cara mengupas kulitnya kemudian mencuci buah dengan air mengalir. Selanjutnya buah dimasukkan dalam *juicer* dan nyalakan. Biji akan terpisah secara otomatis dengan buah. Encerkan jus buah dengan aquadest steril dengan perbandingan 1:3. Kemudian simpan dalam kulkas.

Pengambilan Serum Darah

Pengambilan darah untuk memperoleh serum guna uji HI dilakukan dengan mengambil darah menggunakan spuit secara aseptik lalu darah yang ada didalam spuit tersebut kemudian dimasukkan dalam *microtube* dan didiamkan hingga terjadi pemisahan. Apabila serum darah yang didapatkan kurang jernih maka dilakukan sentrifuge dengan kecepatan 1500 rpm selama 10 menit. Selanjutnya serum diinktivasi

menggunakan waterbath dengan suhu 56°C selama 30 menit. Serum dapat disimpan pada suhu 4°C atau -20°C.

Suspensi eritrosit dengan konsentrasi 0,5% didapatkan dari darah ayam diambil dari *vena brachialis* secukupnya (±3 ml) kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah diisi dengan EDTA. Darah tersebut kemudian di sentrifuse selama 10 menit dengan kecepatan 1500 rpm, setelah disentrifuse kemudian supernatannya dibuang dan disisakan endapannya. Selanjutnya pencucian terhadap endapan dengan NaCl fisiologis dan disentrifuse kembali selama 10 menit. Setelah terjadi endapan, supernatan dibuang lagi dan dilakukan pencucian lagi dengan NaCl fisiologis diulang sampai 3 kali seperti cara yang ada di atas. Untuk mendapatkan suspensi eritrosit 0,5% sebanyak 100 ml, maka endapan eritrosit murni diambil 0,5 ml kemudian di tambahkan NaCl fisiologis 99,5 ml.

Uji Hemaglutinasi (HA)

Cara titrasi antigen 4 HA Unit sebagai berikut: 1) Mengisi lubang mikroplate dengan 25 µl NaCl fisiologis mulai dari lubang 1-5 pada baris I dan II (titrasi duplikat); 2) Mengisi lubang 1 baris I dan II dengan antigen; 3) Mencampurkan antigen dan NaCl fisiologis pada lubang 1 dengan cara hisap-tiup, kemudian pindahkan ke lubang berikutnya. Demikian seterusnya sampai dengan lubang 4 dan lubang 5 digunakan sebagai kontrol eritrosit (tanpa antigen); 4) Mengisi semua lubang dengan eritrosit ayam 0,5 % dengan volume 50 µl. 5) Inkubasi pada suhu kamar selama 30 menit, kemudian dibaca titernya. Bila antigen ND 4 HAU maka hemaglutinasi terjadi pada lubang nomer 1 dan 2. (Ernawati *et al.*, 2013).

Uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI)

Metode dari Uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI) mikroteknik adalah sebagai berikut: 1) Pada lubang nomer 1 sampai dengan lubang nomer 10 dan 12 dari microplate diisi NaCl fisiologis sebanyak 25 µl; 2) Pada lubang 1 ditambahkan serum yang akan diuji sebanyak 25 µl; 3) Micropipet di masukkan ke lubang nomor 1

untuk dilakukan mixing, kemudian dilakukan pengenceran secara seri dengan memindahkan micropipet 25 µl dari lubang 1 ke lubang 2 lalu dilakukan pencampuran dan dipindahkan lagi ke lubang ke 3 dan seterusnya sampai lubang nomor 10; 4) Pada lubang nomor 12 digunakan sebagai kontrol serum; 5) Lubang 1 sampai 10 diisi antigen 4 HAU sebanyak 25 µl lalu di inkubasi selama 30 menit pada suhu kamar; 6) Pada lubang 1 sampai lubang 10 dan 12 ditambahkan eritrosit ayam 0,5% sebanyak 50 µl, kemudian microplate digoyangkan secara perlahan lalu dibiarkan selama 30 menit atau sampai kontrol eritrosit dapat dibaca. Hambatan hemaglutinasi sempurna (100%) adalah terjadinya

pengendapan eritrosit pada dasar lubang microplate yang terlihat seperti pada kontrol. Titer antiserum adalah kebalikan dari pengenceran tertinggi antiserum yang masih mampu menghambat aglutinasi dengan sempurna (Ernawati et al., 2013).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji HI dilakukan untuk analisa statistik kemudian dilakukan uji dengan *Analysis of Variance* satu arah (*one way ANOVA*). Jika terdapat perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil disajikan dalam tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisa statistik rata-rata titer antibodi ayam umur 7 dan 9 minggu

Perlakuan	Titer Antibodi (log ₂) Mean±SD	
	7 minggu	9 minggu
K-	1,10 ^a ±0,994	0,20 ^a ±0,422
K+	4,60 ^b ±0,699	4,90 ^b ±0,876
P1	5,90 ^c ±0,876	6,50 ^c ±0,707
P2	7,20 ^d ±0,632	8,00 ^d ±0,816

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan ($p < 0,05$)

Deteksi titer antibodi yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan uji HI. Prinsip uji HI adalah terdapat hambatan aglutinasi sel darah merah oleh virus akibat terikatnya virus dengan antibodi spesifik. Oleh sebab itu, uji HI hanya bisa digunakan untuk virus yang dapat mengaglutinasi sel darah merah. Virus *paramyxoviridae* merupakan virus penyebab penyakit *Newcastle Disease* yang mempunyai sifat dapat mengaglutinasi sel darah merah. (Ernawati et al., 2013).

Senyawa khas pada buah delima putih (*Punica granatum L.*) yakni ellagitannin, granatin A, dan granatin B. Granatin merupakan salah satu bentuk senyawa dari ellagitannin yang terdapat dalam buah delima putih (*Punica granatum L.*). Granatin terbagi menjadi 2 yakni granatin A dan granatin B. Granatin A terdapat pada kulit buah dan granatin B terdapat dalam buah delima (Romeo et al., 2015).

Mekanisme pembentukan imun dalam tubuh ayam dilakukan oleh sistem imun humoral yakni

limfosit B (sel B). Sel B berkembang dalam bursa fabrisius, yang timbul dari epitel kloaka. Setelah matang, sel B bergerak ke alat-alat seperti limpa, kelenjar limfoid dan tonsil. Atas pengaruh antigen melalui sel T, sel B berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel plasma yang mampu membentuk dan melepas Ig dengan spesifitas yang sama seperti reseptor yang ada pada permukaan sel prekusornya. Sebagian sel yang dibentuk akan kembali ke dalam fase istirahat. Sel B yang matang sebagai sel B memori dapat memberikan respon imun yang lebih cepat. Sel B merupakan 5-15% dari jumlah seluruh limfosit dalam sirkulasi. Fungsi utamanya ialah memproduksi antibodi (Tizard, 1988).

Pada ayam yang tidak divaksin (K-) mengalami penurunan pada uji HI pada umur 9 minggu (2 minggu setelah vaksinasi kedua). K- merupakan ayam kampung super yang tidak divaksin dan diberi aquadest steril. Penurunan titer antibodi yang terjadi pada kelompok K-

disebabkan oleh menurunnya titer antibodi maternal dalam tubuh ayam. Hal ini sesuai dengan pernyataan Indriani dan Darmiento (2000) yakni antibodi asal induk ayam (maternal) akan turun secara linier seiring bertambahnya umur ayam.

Pengaruh ekstrak kulit dan jus buah delima putih terhadap titer antibodi sesuai dengan pendapat Sibi dan Varghese, (2014) yang menyatakan bahwa penelitian secara laboratoris kandungan senyawa flavonoid dapat meningkatkan proliferasi dan diferensiasi limfosit B dan limfosit T.

Ekstrak Kulit dan buah delima putih memiliki kandungan yang sama tetapi berbeda pada persentase kandungannya. Pada uji aktivitas antioksidan (DPPH) pada buah delima putih menyatakan bahwa kandungan pada buah delima putih jauh lebih baik daripada ekstrak kulit delima putih. Hal ini sesuai dengan pernyataan Mootal dan Shaker (2011). Sehingga titer antibodi pada jus buah delima putih memiliki titer antibodi yang lebih tinggi daripada ekstrak kulit delima putih.

Faktor pendukung yang dapat membantu peningkatan titer antibodi diantaranya yaitu pemenuhan kebutuhan pakan, sistem pemeliharaan yang baik, vaksinasi, dan faktor lingkungan. Faktor-faktor tersebut merupakan kesatuan sistem. Apabila salah satu faktor terabaikan maka penanganan terhadap faktor yang lain tidak dapat memberikan hasil yang maksimal (Chopra dan Robert, 2001).

KESIMPULAN

Ekstrak kulit dan jus buah delima putih (*Punica granatum L.*) dapat meningkatkan titer antibodi ayam kampung super yang divaksin ND. Terdapat perbedaan yang nyata antara pemberian ekstrak kulit dan jus buah delima putih (*Punica granatum L.*) terhadap peningkatan titer antibodi ayam kampung super yang divaksin ND.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada kedua orang tua yang telah membiayai penelitian dan Prodi Kedokteran Hewan PSDKU Banyuwangi Universitas Airlangga atas fasilitas penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Aldous, E.W., J.K. Myno, J. Bank dan D.J. Alexander. 2003. A Molecular Epidemiological Study of Avian Paramyxovirus Tipe 1 (*Newcastle Disease Virus*) Isolates by Phylogenetic Analysis of A Partial Nucleotide Sequence of The Fusion Protein Gene. *Avian pathology*. 32(3): 239-257.
- Chopra, I. dan M. Robert. 2001. Tetracycline Antibiotic : mode in action, application, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistances. *Microbiol Mol Biol rev*. 62: 232-260.
- Dewi, F.K. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* Linnaeus) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. Surakarta: Fakultas MIPA, Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Ernawati, R., A.P. Rahardjo, N. Sianita, J. Rahmahani, F.A. Rantam, dan Suwarno. 2013. Petunjuk Praktikum Pemeriksaan Virologik dan Serologik. Laboratorium Virologi dan Imunologi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Hal.31.
- Hajimahmoodi, M., G. Moghaddam, A.M. Ranjbar, H. Khazani, N. Sadeghi, M.R. Oveisi, B. Jannat. 2013. Total Phenolic, Flavonoids, Tannin Content and Antioxidant Power of Some Iranian Pomegranate Flower Cultivars (*Punica granatum L.*). *Am J Plant Sci*, 4(09): 1815.
- Hewajuli, D.A. dan N.L.P.I. Dharmayanti. 2011. Patogenitas Virus Newcastle Disease Pada

- Ayam. Bogor: Balai Besar Penelitian Veteriner. *Wartazoa*, 21(2): 72-80.
- Indriani, R. Dan Darminto. 2000. Penyakit Infectious Bronchitis pada ayam dan cara mengendalikannya. *Wartazoa*, 5(2): 65-72.
- Leuck, D., M. Haley, and D. Harvey. 2004. US 2003 and 2004 Livestock and Poultry Trade Influenced by Animal Disease and Trade Restrictions. US Department of Agriculture, Economic Research Service.
- Mohammad, S.M., H.H. Kashani. 2012. Chemical composition of the plant *Punica granatum L.* (Pomegranate) and its effect on heart and cancer. *J Med Plants Res*, 6(40): 5306-5310.
- Motaal, A.A. and S. Shaker. 2011. Anticancer and Antioxidant Activities of Standardized Whole Fruit, Pulp, and Peel Extracts of Egyptian Pomegranate. *J Open Conf Proceed*, 2: 41-44.
- Ojok, L. and C. Brown. 1996. An Immunohistochemical Study of the Pathogenesis of Virulent Viscerotropic Newcastle Disease in Chickens. *J Comp Pathol*, 115: 221-227.
- Polana, A. dan R. Fadilah. 2005. Aneka Penyakit pada Ayam dan Cara Mengatasinya. Bandung : Agro Media Pustaka. Hal.14.
- Romeo, F.V., G. Ballistreri, S. Fabroni, S. Pangallo, M.G.L.D. Nicosia, L. Schena, and P. Rapisarda. 2015. Chemical characterization of different sumac and pomegranate extracts effective against *Botrytis cinerea* rots. *Molecules*, 20(7): 11941-11958.
- Ross, R.G., S. Selvasubramanian, S. Jayasundar. 2001. Immunomodulatory activity of *Punica granatum* in rabbits-a preliminary study. *J Ethnopharmacol*, 78(1): 85-87.
- Sibi, P.I. and P. Varghese. 2014. Evaluation of In Vivo Immunomodulatory Activity of *Punica Granatum Linn.* India. *J Res Ayuwerda Pharm*, 5(2): 175-178.
- Tabbu, C.R. 2000. Penyakit Ayam dan Penanggulangannya; Penyakit Bakterial, Mikal dan Viral. Volume I. Kanisius. Yogyakarta. Hal.232-244.
- Tizard. 1988. Pengantar Imunologi Veteriner. Airlangga University Press Surabaya. Hal.8-9.
- Yamasaki M., T. Kitagawa, and N. Koyanagi. 2006. Dietary Effect of Pomegranate Seed Oil on Immune Function and Lipid Metabolism in Mice. *Nutrition*, 22(1): 54-59.

Pengaruh Ekstrak Buah Pare (*Momordica charantia*) Terhadap Titer Antibodi Ayam Broiler yang Divaksin *Newcastle Disease*

(THE INFLUENCE OF PARE (*Momordica charantia*) FRUIT EXTRACTS ON THE ANTIBODY TITER OF CHICKEN BROILER IN THE *Newcastle Disease* VACCINE)

Siti Komariyah^{1*}, Jola Rahmahani², Bodhi Agustono³

¹Bachelor of Veterinary Medicine,

²Department of Veterinary Microbiology,

³Department of Animal Husbandry,

Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga,

UNAIR C-Campus Mulyorejo, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia, 60115

Telp. (031)5993016, Fax. (031)5993015

*Corresponding author: siti.komariyah-2014@fkh.unair.ac.id

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia*) terhadap titer antibodi ayam broiler yang di vaksin ND berdasarkan hasil titer antibodi dengan menggunakan uji *Hemagglutination Inhibition* (HI). Metode dalam penelitian ini adalah menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL), sehingga jumlah sampel untuk 5 perlakuan adalah 50 ekor ayam broiler. Data hasil pemeriksaan uji HI dianalisa secara statistik menggunakan ANOVA dengan menggunakan software SPSS v22. Jika terdapat perbedaan pada masing-masing kelompok perlakuan maka dilanjutkan dengan Uji Duncan untuk melihat ada tidaknya perbedaan yang nyata antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Titer protektif terhadap ND untuk ayam adalah 2^6 berarti jika di bawah nilai tersebut, maka antibodi di dalam tubuh ayam tidak dapat melindungi ayam dari virus, begitu juga sebaliknya, jika $\geq 2^6$ maka antibodi di dalam tubuh ayam dapat melindungi tubuh ayam dari infeksi virus. Hasil Penelitian ini kelompok P0 berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok P1, P2, P3, P4 hal tersebut karena pada kelompok P0 merupakan perlakuan tanpa vaksin dan ekstrak buah pare. Kelompok P1 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan kelompok P2, P3, P4. Kelompok P2 dan P3 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan kelompok P1 dan P4 dan memiliki rataan titer antibodi yang sama. Kelompok P4 tidak berbeda nyata dengan kelompok P1, P2, P3 namun memiliki titer yang lebih tinggi. Kesimpulan dari hasil penelitian adalah pemberian ekstrak buah pare tidak berpengaruh nyata terhadap titer antibodi ayam broiler yang di vaksin *Newcastle disease*.

Kata kunci: buah pare, titer antibodi, ayam broiler, *Newcastle Disease*

Abstract

The aims of this research were to examine the effect of giving extract pare (*Momordica charantia*) to broiler antibody titer in ND vaccine based on antibody titer result by using *Hemagglutination Inhibition* (HI) test. The method in this research is using the *Completely Randomized Design* (RAL) method, so the number of samples for 5 treatments is 50 broiler chickens. The HI test results were analyzed statistically using ANOVA using SPSS v22 software. If there is a difference in each treatment group then proceed with Duncan Test to see whether there is a real difference between the treatment group and the control group. The protective titer against ND for the chicken is 2^6 means if, below that value, the antibodies in the body chickens cannot protect chickens from viruses, and vice versa, if $\geq 2^6$ then antibodies in the chicken body can protect the chicken body from virus infection. The results of this study were significantly different ($p < 0,05$) with P1, P2, P3, P4 group because P0 group was treated without vaccine and pare extract. Group P1 was not significantly different ($p > 0,05$) with group P2, P3, P4. The groups P2 and P3 were not significantly different ($p > 0,05$) with the P1 and P4 groups and had the same degree of antibody titer. The P4 group was not significantly different from P1, P2, P3 but had higher titers. The conclusion from the research result is giving of pare extract did not have a real effect to broiler antibody titer in vaccine *Newcastle disease*.

Key words: bitter melon fruit, antibody titer, broiler, *Newcastle Disease*

PENDAHULUAN

Newcastle Disease (ND) disebabkan oleh Paramyxovirus tipe-1 (PMV-1) yang termasuk dalam golongan *Paramyxoviridae* (Miller *et al.*, 2010). Penyakit ND merupakan masalah besar bagi dunia peternakan, karena dapat menimbulkan morbiditas dan mortalitas yang tinggi (mencapai 100%), waktu penyebarannya yang sangat cepat dan bersifat kompleks, sehingga menunjukkan adanya variasi dalam bentuk dan keparahan penyakit. Penyakit ND masih merupakan penyakit endemik di Indonesia, yang ditandai dengan kejadian penyakit yang ditemukan sepanjang tahun (Tabbu, 2000).

Pencegahan infeksi virus ND di Indonesia difokuskan pada biosekuriti dan biosafety untuk mengurangi gejala penyakit yang endemis (Shunlin *et al.*, 2009). Berbagai program telah dilakukan oleh pemerintah dalam upaya mencegah penyebaran penyakit ND. Sampai saat ini belum ada obat yang efektif untuk mengatasi infeksi virus ND. Frekuensi vaksinasi ND awalnya bertujuan untuk mencegah penyakit ND, namun fakta dilapang penyakit ND masih terjadi, meski kasus penyakit sporadis pada ayam yang telah divaksinasi. Beberapa tahun terakhir, wabah ND masih terjadi pada unggas yang telah divaksinasi (Adi *et al.*, 2010; Dharmayanti *et al.*, 2014; Patti *et al.*, 2007; dan Xiao *et al.*, 2012).

Beberapa jenis tanaman obat dapat menjadi alternatif pencegahan maupun pengobatan. Tanaman obat di Indonesia pernah dilaporkan memiliki potensi memiliki kandungan senyawa imunostimulan. Penggunaan senyawa bahan alam dalam pemanfaatannya perlu dioptimalkan, maka pada penelitian ini digunakan ekstrak buah pare (*Momordica charantia*). Buah pare mengandung saponin, flavonoid, steroid/triterpenoid, karbohidrat, momordisin, alkaloid, vitamin A, vitamin B, Vitamin C, asam fenolat, dan karatenoid. Penelitian membuktikan bahwa secara laboratoris senyawa flavonoid dapat meningkatkan produksi IL-2 dan meningkatkan proliferasi dan diferensiasi limfosit sel T, sel B dan sel NK (Saifulhaq, 2009).

Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa buah pare dapat menjadi imunomodulator pada penderita positif HIV (Chunthong-Orn *et al.*, 2012 dan Fang *et al.*, 2012). Penelitian secara in vivo, ekstrak buah pare menunjukkan kemampuan untuk meningkatkan ketahanan terhadap infeksi virus dan memberikan efek imunostimulan pada manusia dan hewan (meningkatkan produksi sel interferon dan aktivitas sel NK) (Gupta *et al.*, 2011).

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh ekstrak buah pare (*Momordica charantia*) sebagai imunostimulan titer antibodi ayam broiler yang divaksin ND.

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah pare, ayam broiler, vaksin ND live (Lasota), alkohol, etanol 96%, PZ, antigen ND 4 HA unit, eritrosit ayam 0,5%, kebutuhan harian ayam seperti pakan dan minum, sekam sebagai alas.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: mikrosaker, freezer, waterbath, centrifuge, tabung centrifuge, spuit 3 cc, pipet, gelas ukur, erlenmeyer, cool box, tabung venoject, pinset dan gunting, mikropipet 25 µl dan 50 µl, mikrolate bentuk (V) atau (U), yellowtip, microtube, tabung EDTA.

Persiapan dan Pembuatan ekstrak buah pare

Serbuk dari buah pare tersebut dimasukkan ke dalam labu ekstraktor dan dituangi etanol 96% sebanyak 1 liter sampai terendam semua. Labu ekstraktor diletakkan pada mesin shaker dan dibiarkan selama 4x24 jam dalam suhu kamar. Larutan ekstrak disaring dan filtrate yang didapatkan dipindahkan dalam cawan penguap kemudian dimasukkan dalam *vacuum evaporator* dengan suhu 40-60°C sampai didapatkan cairan ekstrak buah pare yang kental dan berwarna kecoklatan.

Pemberian Vaksin dan Ekstrak Buah Pare

Pemberian vaksin ND live (Lasota) dilakukan secara intramuskular. Pemberian ekstrak buah pare dosis yang digunakan adalah dosis 150 mg/L, 300 mg/L, 450 mg/L.

Pengambilan Darah Ayam

Pengambilan darah dilakukan pada daerah pembuluh darah *vena brachialis*, terlebih dahulu harus diusap kapas beralkohol 70% untuk menghindari kontaminasi dan membasahi bulu-bulu yang menghalangi area vena dengan menggunakan spuit 3 cc, ukuran jarum 23G.

Uji 4 Hemaglutinasi (HA) Unit

Mengisi microplate dengan 25 μ l PZ mulai lubang 1-5 pada baris A dan B (titrasi duplikat). Alat yang digunakan untuk mengisi lubang microplate dengan PZ adalah multichannel pipet 25 μ l. Microplate diisi pada lubang nomor 1 baris A dan B dengan antigen 25 μ l dan alat yang digunakan adalah multichannel pipet 25 μ l. Antigen dan PZ dicampurkan pada lubang nomor 1, kemudian dipindahkan ke lubang berikutnya, demikian seterusnya sampai lubang nomor 4 dan 5 digunakan sebagai kontrol eritrosit (tanpa antigen). Semua lubang ditambahkan dengan 50 μ l eritrosit ayam 0,5% selanjutnya microplate digoyangkan dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30, kemudian dibaca titernya. (Ernawati, 2008).

Titer 4 HA Unit: terjadi hemaglutinasi sampai lubang no. 2, jika hemaglutinasi terjadi sampai lubang no. 3 berarti harus diencerkan sebanyak dua kali.

Uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI)

Lubang microplate diisi dengan 25 μ l PZ menggunakan mikropipet 25 μ l, dari lubang no.1 sampai 12, lalu lubang no. 1 dan 12 diisi dengan serum, yang diperiksa sebanyak 25 μ l dengan menggunakan mikropipet 25 μ l. Serum dengan PZ dicampur menggunakan mikropipet 25 μ l pada lubang no.1 dengan cara hisap tiup dengan mikropipet kemudian pindahkan ke lubang berikutnya, demikian seterusnya sampai lubang no.10. Lubang no.1 sampai 10 diisi dengan antigen 4 HAU sebanyak 25 μ l dengan menggunakan pipet 25 μ l. Microplate diinkubasi

pada suhu kamar selama 30 menit. Semua lubang ditambahkan dengan 50 μ l eritrosit 0,5% menggunakan mikropipet 50 μ l. Microplate diinkubasi lagi pada suhu kamar selama 30 menit, kemudian dibaca hasil titer (Ernawati, 2008).

Interpretasi hasil: hambatan hemaglutinasi sempurna (100%) adalah terjadinya pengendapan eritrosit pada dasar lubang microplate yang terlihat seperti kontrol eritrosit.

Analisis Data

Data hasil pemeriksaan uji HI dianalisa secara statistik menggunakan ANOVA dengan menggunakan software SPSS v.22 dan dilanjutkan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rataan titer antibodi pada kelompok P0 berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok P1, P2, P3, P4, hal tersebut karena pada kelompok P0 merupakan perlakuan tanpa vaksin dan ekstrak buah pare. Hasil analisis menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata ($p > 0,05$) antara titer antibodi pada kelompok yang diberi vaksin saja maupun diberi vaksin dan ekstrak buah pare. Pada kelompok P1 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan P2, P3, P4. Kelompok P2, P3 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan P1, P4 dan memiliki rata-rata titer antibodi yang sama dengan P1. Kelompok P4 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dan memiliki titer antibodi lebih tinggi dibandingkan dengan P1, P2, P3.

Titer antibodi pasca vaksinasi ND kedua (*booster*) lebih tinggi dari hasil vaksinasi pertama. Rataan titer antibodi pada kelompok P0 berbeda nyata nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok P1, P2, P3, P4, hal tersebut karena pada kelompok P0 merupakan perlakuan tanpa vaksin dan ekstrak buah pare. Hasil analisis menunjukkan bahwa perlakuan diberi vaksin saja tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan perlakuan vaksin dan ekstrak buah pare. Kelompok P1 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan kelompok P2, P3, P4. Kelompok P2, P3 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan P1, P4, hasil rata-rata titer antibodi yang dihasilkan P2 dan P3 sama namun

lebih rendah dibandingkan P1. Kelompok P4 memiliki rata-rata titer antibodi yang lebih tinggi dibandingkan P1, P2, P3.

Berdasarkan analisis hasil penelitian

kelompok P0 menunjukkan rata-rata titer antibodi yang dihasilkan 0,3-0,5 log 2, hal ini karena P0 merupakan kelompok tanpa perlakuan ekstrak buah pare dan vaksin.

Tabel 1. Titer antibodi ayam broiler umur 35 hari dan 49 hari

Perlakuan	Titer Antibodi 35 hari (log 2)	Titer Antibodi 49 hari (log 2)
	Rata-rata±Standar Deviasi	Rata-rata±Standar Deviasi
P0	0,50 ^a ±0,527	0,30 ^a ±0,483
P1	6,60 ^b ±1,429	7,90 ^b ±1,449
P2	6,60 ^b ±1,074	7,30 ^b ±0,483
P3	6,60 ^b ±1,173	7,30 ^b ±1,337
P4	7,20 ^b ±0,788	8,80 ^c ±1,032

Keterangan: (P0) Kontrol negatif atau tanpa perlakuan; (P1) Kontrol positif atau hanya vaksin saja; (P2) Vaksin+dosis ekstrak buah pare 150 mg/L; (P3) Vaksin+dosis ekstrak buah pare 300 mg/L; (P4) Vaksin+dosis ekstrak buah pare 450 mg/L.

Penurunan titer antibodi yang terjadi pada kelompok yang tidak divaksinasi disebabkan oleh menurunnya titer antibodi asal induk didalam tubuh ayam. Hal ini sesuai dengan pernyataan Indriani dan Darminto (2000) yaitu antibodi asal induk akan turun secara linier seiring bertambahnya umur. Kelompok P1, P2, P3 dan P4 peningkatan titer antibodi pasca vaksinasi ND kedua (*booster*) terjadi peningkatan dari hasil vaksinasi pertama. Hal ini karena menurut Tizard (1982), sistem pembentukan antibodi memiliki kemampuan untuk mengingat keterpaparan dengan suatu antigen sebelumnya. Pada vaksinasi kedua atau dosis antigen yang berbeda dengan pertama, titer antibodi akan mencapai tingkat yang lebih tinggi karena tubuh sudah mengenal antigen yang masuk ke dalam tubuhnya sehingga respon kekebalan tubuh lebih tinggi, demikian antibodi pasca vaksinasi ND.

Berdasarkan hasil analisis dari kelompok perlakuan vaksin dan ekstrak buah pare yang diberi dosis 150 mg/L, 300 mg/L dan 450 mg/L tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan yang hanya divaksin saja. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi adanya titer antibodi yang dihasilkan diantaranya dosis, dan tingkat kebal individu yang berbeda. Dosis yang rendah tidak dapat merangsang sel sel imunokompeten. Variasi tanggap kebal tiap individu yang berbeda

akan mempengaruhi kekebalan yang dihasilkan. Individu yang menanggapi vaksinasi dengan baik akan menunjukkan kekebalan yang dapat melindungi dan individu dengan tanggap kebal lemah kurang mampu membentuk titer yang dapat melindungi. Antigen yang berada lama di dalam tubuh akan menghasilkan tanggap kebal lebih lama. Sel peka antigen akan menanggapi dengan memproduksi antibodi jika titer antigen dan cara infeksi yang sesuai (Siregar, 2009).

Efek imunomodulator pada buah pare umumnya sesuai dengan pendapat Saifulhaq (2009), yang menyatakan bahwa penelitian secara laboratoris kandungan senyawa flavonoid dapat meningkatkan produksi IL-2, meningkatkan proliferasi dan diferensiasi limfosit sel T, sel B, sel NK serta menunjukkan kemampuan dalam memberikan efek imunostimulan pada manusia dan hewan (meningkatkan produksi sel interferon dan aktivitas sel NK) (Gupta *et al.*, 2011). Interferon dapat membantu dalam presentasi antigen dan memiliki peranan dalam imunitas humoral. Peran imunoregulasi dari interferon adalah kemampuannya dalam mempromosi fase induktif dari respon imun. IFN terlibat dalam pembentukan dan presentasi peptida antigenik dipermukaan sel dan juga mempunyai kemampuan yang unik dalam meregulasi ekspresi molekul MHC kelas II, sehingga dapat

meningkatkan respon dari sel limfosit ThCD4⁺. Induksi ekspresi molekul MHC kelas II oleh IFN terjadi berbagai macam sel, diantaranya sel fagosit mononuklear, sel endotel dan sel epitel. IFN menghambat ekskresi molekul MHC kelas II di permukaan sel B yang bersifat IL-4-dependent dan memegang peran kunci dalam pemrosesan antigen intraseluler menjadi bentuk peptide antigenik sebelum diekskresikan ke permukaan sel bersama molekul MHC. Modifikasi aktivitas proestom, yaitu suatu subunit kompleks enzim yang bertanggung jawab atas proses terjadinya peptide yang kemudian berikatan dengan molekul MHC kelas I (Wiedosari, 2007).

Beberapa faktor lain yang dapat membantu peningkatan titer antibodi diantaranya pemenuhan kebutuhan pakan, pemeliharaan yang baik, vaksin, lingkungan. Faktor - faktor produksi tersebut merupakan kesatuan sistem, apabila salah satu faktor terabaikan atau kurang mendapat perhatian maka penanganan terhadap faktor yang lain tidak dapat memberikan hasil yang maksimal. Pemeliharaan yang baik juga akan tercipta lingkungan yang baik. Lingkungan juga merupakan faktor yang sangat berpengaruh terhadap sistem kekebalan ayam broiler (Chopra and Robert, 2001).

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak buah pare tidak berpengaruh nyata terhadap titer antibodi ayam yang divaksin *Newcastle disease*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada PSDKU Banyuwangi Universitas Airlangga atas izin yang diberikan dan fasilitas untuk melaksanakan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Adi, A.A., N.M. Astawa, K.S. Putra, Y. Hayashi, and Y. Matsumoto. 2010. Isolation And Characterization of a Pathogenic Newcastle Disease Virus From a Natural Case in Indonesia. *Vet Med Sci*, 72: 313-319.
- Chopra, I. and M. Robert. 2001. Tetracycline Antibiotic: mode in action, application, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistances. *Microbiol Mol Biol Rev*, 62: 232-260.
- Chunthong-Orn, J., S. Panthong, and A. Itharat. 2012. Antimicrobial, Antioxidant Activities and Total Phenolic Content of Thai Medicinal Plants Used to Treat HIV Patients. *J Med Assoc Thai*, 95(1): 154-158.
- Dharmayanti, N.L.P.I., R. Hartawan, D.A. Hewajuli, and R. Indriani. 2014. Phylogenetic analysis of genotype VII of new castle disease virus in Indonesia. *Afric J Microbiol Res*, 8(13): 1368-1374.
- Fang, E.F., C.Z. Zhang, T.B. Ng, J.H. Wong, W.L. Pan, and X.J. Ye. 2012. Momordica charantia Lectin, A Type II Ribosome Inactivating Protein, Exhibits Antitumor Activity Toward Human Nasopharyngeal Carcinoma Cells in Vitro And in Vivo. *Cancer Prev Res (Phila)*, 5: 109-121.
- Gupta, P., S. Kalpara, and S. Avinash. 2011. Isolation of Cellulose Degrading Bacteria Determination of Their Cellulolytic potential. *Int J Microbiol*.
- Indriani, R., Darmianto. 2000. Penyakit Infectious Bronchitis pada ayam dan cara mengendalikannya. *Wartazoa*, 5(2): 65-72.
- Miller, P.J., C.L. Afonso, E. Spackman, M.A. Scott, J.C. Pedersen, D.A. Senne, J.D. Brown, C.M. Fuller, M.M. Uhart, W.B. Karesh, I.H. Brown, D.J. Alexander, & D.E. Swayne. 2010. Evidence for a New Avian Paramyxovirus Serotype-10 Detected in Rockhopper Penguins from the Falkland Islands. *J Virol*, 84(21): 11496-11504.

- Patti, J.M., D.J. King, C.L. Afonso, & D.L. Suarez. 2007. Antigenic Differences Among Newcastle Disease Virus Strains Of Different Genotypes Used In Vaccine Formulation Affect Viral Shedding After A Virulent Challenge. *Vaccine*, 25: 7238-7246.
- Saifulhaq, M. 2009. Pengaruh pemberian Ekstrak Buah Mahkota Dewa Dosis Bertingkat Terhadap Proliferasi Limfosit Lien pada Mencit BALB/C. *Biomedika*, 2: 33.
- Shunlin, H., H. Ma, Y. Wu, W. Liu, X. Wang, Y. Liu, & X. Liu. 2009. A vaccine candidate of attenuated genotype VII Newcastle disease virus generated by reverse genetics. *Vaccine*, 27: 904-910.
- Siregar, C.J. 2009. Gambaran respon kebal terhadap Infectious Bursal Disease (IBD) pada ayam pedaging yang divaksin IBD killed setengah dosis dan ditantang dengan virus IBD [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Tabbu, C.R. 2000. Penyakit Ayam dan Penanggulangannya: Penyakit Bakterial, Mikal, dan Viral. Kanisius, Yogyakarta.
- Tizard I. 1982. Pengantar imunologi veteriner. M. Partodiredjo, penerjemah. Edisi ke-2. Surabaya: Airlangga University Press.
- Wiedosari, Ening. 2017. Peranan Imunomodulator Alami (Aloe vera) dalam Sistem Imunitas Seluler dan Humoral. Bogor: Balai Besar Penelitian Veteriner, Hal.168.
- Xiao, S., A. Paldurai, B. Nayak, A. Samuel, E.E. Bharoto, T.Y. Prajitno, P.L. Collins, & S.K. Samala. 2012. Complete Genome Sequences of Newcastle Disease Virus Strain Circulating in Chicken Population of Indonesia. *J Virol*, 86: 5969-5970.

Pengaruh Ekstrak Kulit dan Jus Buah Delima Putih (*Punica granatum L.*) Terhadap Titer Antibodi Ayam Kampung Super yang Divaksin Newcastle Disease

ORIGINALITY REPORT

9%

SIMILARITY INDEX

9%

INTERNET SOURCES

2%

PUBLICATIONS

0%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1

www.neliti.com

Internet Source

7%

2

digitalcommons.unl.edu

Internet Source

2%

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography On

Pengaruh Ekstrak Kulit dan Jus Buah Delima Putih (*Punica granatum L.*) Terhadap Titer Antibodi Ayam Kampung Super yang Divaksin Newcastle Disease

GRADEMARK REPORT

FINAL GRADE

/0

GENERAL COMMENTS

Instructor

PAGE 1

PAGE 2

PAGE 3

PAGE 4

PAGE 5

PAGE 6

PAGE 7

PAGE 8

PAGE 9

PAGE 10

PAGE 11

PAGE 12
