

636.09

TEM

P



PROSIDING

TEMU ILMIAH NASIONAL BIDANG VETERINER

BOGOR, 12 - 13 MARET 1996



BALITVET



BALAI PENELITIAN VETERINER
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN
DEPARTEMEN PERTANIAN

BOGOR, 1996

PROSIDING

**TEMU ILMIAH NASIONAL
BIDANG VETERINER**

Bogor, 12-13 Maret 1996

Penyunting:

Sjamsul Bahri
Sutijono Partoutomo
Darminto
Fachrian Pasaribu
Yulvian Sani

Redaksi Pelaksana:

Iman Salihin
Gerhat

**KERJASAMA ANTARA:
BALAI PENELITIAN VETERINER
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN
DENGAN
PERHIMPUNAN DOKTER HEWAN INDONESIA**

STUDI PENDAHULUAN : EFEK IMUNOSUPRESI PADA AYAM YANG MENETAS DARI TELUR BEREMBRIO YANG DIINOKULASI DENGAN AFLATOKSIN

R. WIDIASTUTI, S. BAHRI dan DARMINTO

Balai Penelitian Veteriner,
Jalan R.E. Martadinata 30, Kotak Pos 52, Bogor 16114, Indonesia

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari efek immunosupresi pada ayam yang ditetaskan dari telur berembrio yang diinokulasi dengan aflatoksin B1 (AFB1). Dalam penelitian ini, sejumlah telur berembrio berusia lima hari disuntik melalui rute kantung udara dengan 10 µl larutan AFB1 (dilarutkan dalam 5% etanol) dengan dosis 1 ppm, 2 ppm dan 4 ppm. Sedangkan kelompok kontrol disuntik dengan 10 µl larutan 5% etanol tanpa AFB1. Kemudian dari keempat kelompok ayam yang ditetaskan tersebut, dipilih tiga ekor ayam untuk divaksinasi dua kali pada umur 4 dan 14 hari dengan vaksin Newcastle disease (ND) dan selanjutnya keempat kelompok tersebut adalah kelompok I (1 ppm + ND), kelompok II (2 ppm + ND), kelompok III (4 ppm + ND) dan kelompok IV (Kontrol + ND). Dalam penelitian ini juga disertakan 3 ekor anak ayam yang menetas dari kelompok kontrol, tetapi tidak mendapat vaksinasi ND, kelompok V (Kontrol - ND). Pemantauan titer antibodi dengan uji hemaglutinasi inhibisi (HI) dilakukan setiap minggu selama percobaan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ayam dari kelompok IV (Kontrol + ND) memperlihatkan perkembangan antibodi paling tinggi. Sedangkan ayam yang menetas dari telur yang mendapat inokulasi AFB1 memperlihatkan perkembangan titer antibodi yang rendah, dimana makin tinggi dosis AFB1 yang diberikan menyebabkan makin rendah titer antibodinya. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa AFB1 yang diinokulasikan pada telur berembrio memiliki efek immunosupresi.

Kata kunci: immunosupresi, aflatoksin, Newcastle disease, telur berembrio

A PRELIMINARY STUDY : AN IMMUNOSUPPRESSIVE EFFECT ON CHICKS HATCHED FROM EMBRYONATED EGGS INOCULATED WITH AFLATOXIN

ABSTRACT

This preliminary research was conducted as attempts to investigate a possible immunosuppressive effect on chicks hatched from embryonated eggs contaminated with aflatoxin (AFB1). In the present study, 5-day-old chicken embryos were inoculated via the air sac, by 10 µl solution of AFB1 (dissolved in 5% ethanol) at concentrations of 1 ppm, 2 ppm and 4 ppm. Whereas the control were inoculated by 10 µl of 5% ethanol. Three chicks hatched both from treated eggs and control were vaccinated twice at 4 and 14 days of age by Newcastle Disease (ND) virus, and therefore those chicks were assigned as group I (1 ppm + ND), group II (2 ppm + ND), group III (4 ppm + ND) and group IV (Control + ND). In this study 3 chicks from control group but without vaccination, group V (Control - ND) was also chosen. The observation of antibody titres was done every week during experimentation. The results showed group IV (Control + ND) gave the highest antibody titres compared to others. Meanwhile, chicks hatched from eggs with AFB1 inoculation gave lower antibody titres which decreased as the AFB1 increasing. From this study, it can be concluded that AFB1 inoculated to the embryonated eggs showed the immunosuppressive effect to those chicks hatched.

Key words: immunosuppressive, aflatoksin, Newcastle disease, embryonated eggs

PENDAHULUAN

Aflatoksin adalah salah satu jenis mikotoksin yang merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan terutama oleh kapang *Aspergillus flavus*. Aflatoksin pada pakan tidak hanya berpengaruh terhadap kesehatan hewan tetapi juga dapat menimbulkan residu pada produk ternak termasuk telur (JACOBSON and WISEMAN, 1974). Percobaan laboratorium mengenai pengaruh pemberian aflatoksin B1 (AFB1) pada embrio ayam tidak hanya menyebabkan tingginya tingkat kematian (VERRET *et al.*, 1964 dan VESELY *et al.*, 1982), tetapi juga memperlihatkan bahwa pada ayam yang dapat menetas dijumpai eritroid anemia (DIETERT *et al.*, 1983). Selain itu aflatoksin pada unggas diketahui

dapat menekan respon imunitas (THAXON *et al.*, 1974; WYATT *et al.*, 1975; CHANG and HAMILTON, 1982; CAMPBELL *et al.*, 1983 dan RAO *et al.*, 1988).

Berdasarkan pertimbangan bahwa embrio ayam sangat peka terhadap aflatoksin dan juga diketahui bahwa aflatoksin dapat mempengaruhi respon imunitas, maka dapat dihipotesiskan bahwa aflatoksin juga akan menimbulkan immunosupresi terhadap ayam yang menetas dari embrio yang terkontaminasi aflatoksin. Oleh karenanya tujuan dari penelitian pendahuluan ini adalah untuk mengetahui efek immunosupresi pada vaksinasi terhadap penyakit tetelo (Newcastle disease, ND) pada ayam yang ditetaskan dari telur yang diinokulasi dengan aflatoksin B1 (AFB1).

MATERI DAN METODA

Materi sampel

Percobaan ini dilakukan dengan menggunakan sejumlah telur berembrio usia lima hari yang diinokulasi dengan 10 µl larutan AFB1 yang dilarutkan dalam 5% etanol dengan dosis 1 ppm, 2 ppm dan 4 ppm dan kelompok kontrol diinokulasi dengan 10 µl larutan 5% etanol tanpa AFB1. Inokulasi dilakukan melalui kantung udara. Kemudian dari keempat kelompok ayam yang ditetaskan tersebut, dipilih tiga ekor ayam untuk divaksinasi dua kali pada umur 4 dan 14 hari dengan vaksin ND dan selanjutnya keempat kelompok tersebut adalah kelompok I (1 ppm + ND), kelompok II (2 ppm + ND), kelompok III (4 ppm + ND) dan kelompok IV (Kontrol + ND). Dalam penelitian ini juga disertakan 3 ekor anak ayam yang menetas dari kelompok kontrol, tetapi tidak mendapat vaksinasi ND, kelompok V (kontrol - ND). Kemudian ayam dipelihara selama 6 minggu dengan pemberian pakan normal. Penimbangan berat badan dan pemantauan titer antibodi dengan uji hemaglutinasi inhibisi (HI) dilakukan setiap minggu selama percobaan.

Prosedur uji HI

Pengujian titer HI dilakukan dengan cara standar yang disederhanakan dari prosedur yang dilakukan oleh SHORTRIDGE *et al.* (1982) dan ALEXANDER (1988). Serum yang akan diuji diinaktivkan dengan pemanasan 56° C selama 30 menit, kemudian serum-serum tersebut diencerkan serial dalam plat mikrotiter dengan kelipatan 2, 4, 8 dan seterusnya, dengan PBS atau NaCl fisiologis. Volume setiap enceran adalah 0,025 mL. Ke dalam setiap enceran serum tersebut ditambahkan antigen ND sebesar 4 HAU/0,025 mL dan digoyang dengan penggosokan elektrik selama 30-60 detik dan kemudian didiamkan selama 15-30 menit. Setelah itu, ke dalam setiap enceran tersebut ditambahkan 0,05 mL suspensi butir-butir darah merah ayam berkonsentrasi 0,5% dan digoyang kembali dengan alat penggosok elektrik selama 30-60 detik. Plat dibiarkan beberapa saat dan kemudian dibaca hasilnya. Titer HI didefinisikan sebagai pengenceran serum tertinggi yang masih memperlihatkan kegiatan hemaglutinasi sempurna. Titer HI tersebut kemudian diekspresikan dalam bilangan log₂.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pengamatan berat badan dan berat hati

Berat telur, berat badan ayam pada saat menetas dan pada minggu ke-6 serta berat organ hati rata-rata dari ayam yang diamati selama percobaan dapat dilihat pada Tabel 1.

Berat rata-rata ayam yang menetas proporsional dengan berat telur yang ditetaskan yang berarti bahwa dosis AFB1 yang dipergunakan tidak berpengaruh terhadap berat ayam yang ditetaskan. Hal ini berbeda dengan ABDELHAMID dan DURRA (1990) yang mendapatkan bahwa berat ayam yang ditetaskan dari ayam petelur yang mengkonsumsi aflatoxin lebih tinggi dibandingkan kontrolnya.

Ternyata dalam perkembangan selanjutnya, ayam yang berasal dari telur berembrio yang mendapat inokulasi AFB1 menunjukkan adanya perbedaan perkembangan yang terlihat dari perbedaan berat badan rata-rata pada minggu keenam. Kelompok ayam yang dipelihara asal telur berembrio yang mendapat inokulasi AFB1 menunjukkan adanya berat badan rata-rata yang lebih rendah dibandingkan kelompok IV (kontrol + ND), dan berat rata-rata yang dicapai pada minggu keenam setiap kelompok tersebut semakin rendah dengan meningkatnya AFB1 yang diinokulasikan pada masa embrionya. Hal ini diamati pula TIWARI *et al.*, (1989) yang mendapatkan bahwa ayam yang mendapat inokulasi AFB1 pada masa embrio dan dipelihara selama 4 minggu dengan pakan yang bebas aflatoxin tetap menunjukkan berat badan yang rendah. Di lain pihak, DIERTERT *et al.* (1985) mendapatkan bahwa ayam yang menetas dari telur berembrio yang mendapat inokulasi 0,1 µg AFB1 dan dipelihara selama 26 minggu tidak menunjukkan adanya perbedaan berat badan yang berarti dibandingkan kontrol.

Sedangkan berat organ hati pada minggu keenam dari kelompok ayam yang menetas asal telur berembrio yang mendapat inokulasi AFB1 menunjukkan berat lebih tinggi dibandingkan kelompok IV (kontrol + ND). SMITH dan HAMILTON (1970) mendapatkan bahwa ayam pedaging yang mendapat cekokan AFB1 memperlihatkan berat hati yang lebih tinggi dibandingkan kontrolnya.

Dari kedua kenyataan tersebut di atas dapat dikatakan bahwa ternyata AFB1 masih mempengaruhi perkembangan ayam selanjutnya meskipun dipelihara dengan pakan normal.

2. Pemantauan titer HI

Titer antibodi terhadap virus ND yang diamati mulai dari minggu kedua hingga minggu keenam dari setiap kelompok perlakuan diperlihatkan pada Tabel 2.

Titer antibodi terhadap virus ND yang diamati pada ayam kelompok III (4 ppm AFB1 + ND) menunjukkan perkembangan titer antibodi yang paling rendah dibandingkan dengan kelompok ayam yang menetas yang berasal dari telur berembrio yang hanya mendapat suntikan 1 maupun 2 ppm AFB1. Titer antibodi pada

kelompok III (4 ppm + ND) teramati hingga minggu kelima dan kemudian menghilang pada minggu keenam. Sebaliknya dengan ayam kelompok IV (kontrol + ND) memperlihatkan titer tertinggi. Sedangkan kelompok V (kontrol - ND) pada minggu-minggu awal memperlihatkan adanya titer antibodi yang diturunkan dari induknya (*maternal antibody*) yang makin lama makin berkurang.

Titer antibodi yang rendah tersebut juga diamati oleh Hegaz (1985) yang melakukan vaksinasi virus ND setelah pemberian aflatoxin terlebih dahulu selama 4 hari. Demikian pula yang dilakukan RAO *et al.*, (1988) yang memberi pakan yang mengandung AFB1 sebesar 1 ppm AFB1 pada ayam petelur, namun setelah dilakukan pemberian booster vaksinasi, titer antibodi yang diperoleh antara kelompok perlakuan dan kontrol tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Sedangkan percobaan yang dilakukan dengan pemberian 5 ug AFB1 melalui air minum pada ayam (OZER *et al.*, 1989) juga menyebabkan rendahnya titer antibodi yang diproduksi.

ORTIZ dan QURESHI (1992) menyimpulkan adanya efek immunosupresi dari penantauan berkurangnya trombosit yang dihasilkan pada ayam hasil pencetasan dari embrio yang mendapat inokulasi 1 µg AFB1. Demikian pula dengan penelitian TIWARI *et al.*, (1989) yang mengindikasikan adanya ketidakseimbangan dalam sistem kekebalan berupa tingginya tingkat kematian pada ayam yang ditetaskan dari telur berembrio yang mendapat suntikan AFB1 akibat adanya infeksi *Salmonella pullorum*.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa AFB1 yang diinokulasikan pada telur berembrio memiliki efek immunosupresi, dimana makin tinggi dosis AFB1 yang disuntikkan makin rendah pula respon imunitasnya. Sedangkan berat badan dari ayam yang ditetaskan dari kelompok embrio yang mendapat suntikan AFB1 proporsional dengan berat telur. Berat hati dari kelompok embrio yang mendapat suntikan AFB1 menunjukkan berat yang lebih tinggi sesuai dengan besarnya dosis AFB1 yang disuntikkan. Namun demikian, hasil penelitian ini perlu diinterpretasikan dengan lebih hati-hati mengingat jumlah sampel yang sedikit. Oleh karenanya, penelitian lebih mendalam perlu dilakukan untuk mempelajari lebih lanjut efek immunosupresi pada ayam yang ditetaskan dari telur berembrio yang mendapat suntikan aflatoxin.

DAFTAR PUSTAKA

ABDELHAMID, A.M. and T.M. DORRA. 1990. Study on effects of feeding laying hens on separate

mycotoxins (aflatoxins, patulin, or citrinin) contaminated diets on the egg quality and tissue constituents. Arch. Animal Nutrition. 40:305-316.

ALEXANDER, D.J. 1988. Newcastle Disease diagnosis. In Newcastle Disease. pp. 147-160 (ed. D.J. ALEXANDER). Chair Academic Publication, London.

CAMPBELL, M.L., J.D. MAY, W.E. HUFF, and J.A. DOERR, 1983. Evaluation of immunity of young broiler chickens during simultaneous aflatoxicosis and ochratoxicosis. Poul. Sci. 62: 2138-2144.

CHANG, C.F., and P.B. HAMILTON, 1982. Increased severity and new symptoms of infectious bursal disease during aflatoxicosis in broiler chickens. Poul. Sci. 61:1061-1066.

DIETERT, R.R., S.E. BLOOM, M.A. QURESHI, and U.C. NANNA, 1983. Hematological toxicology following embryonic exposure to aflatoxin B1. Proc. the Society for Experimental Biology and Medicine. 173:481-485.

DIETERT, R.R., M.A. QURESHI, U.C. NANNA and S.E. BLOOM, 1985. Embryonic exposure to aflatoxin B1 mutagenicity and influence on development and immunity. Environ. Mutagenesis. 7: 715-725.

HEGAZ, A. 1985. Immunosuppressive effect of Aflatoxicosis in Chicks vaccinated against Newcastle Disease. Veteriner Fakultesi Dergisi Istanbul Universitesi. 9:62-72

JACOBSON, W.C., and H.G. WISEMAN. 1974. The transmission of aflatoxin B1 into eggs. Poul. Sci. 53: 1743-

ORTIZ, DL and M.A. QURESHI. 1992. Effects of AFB1 embryonic exposure on chicken mononuclear phagocytic cell functions. Development and Comparative Immunology. 16: 187-196.

OZER, A. A., MINBAY, Z. OZCAN, M. YAKISIK and T. CARLI, 1989. Effect of Experimentally Induced Aflatoxicosis on the Cell Immune System and on Antibody Production in Chickens. Doga Turk Veterinerlik ve Hayvancilik. 13: 164-170

RAO, N.A., V. RAVINDRA REDDY and P.V. RAO, 1988. Breakdown of Immunity against Newcastle Disease Virus due to dietary aflatoxicosis. Proceedings 112 of 2nd Asian/Pacific Poultry Health Conference. Post Graduate Committee in Veterinary Science The University of Sydney, Australia. 243-247.

SHORTTRIDGE, K.F., W.H. ALAN and D.J. ALEXANDER. 1982. Newcastle Disease:

- Laboratory diagnosis and vaccine evaluation. 53 pp. Hongkong University Press, Hongkong.
- SMITH and P.B. HAMILTON. 1970. Aflatoxicosis in Broiler Chicken. *Poult. Sci.* 49:207-215
- THANON, J.P., H.T. TUNG and P.B. HAMILTON, 1974. Immunosuppression in Chickens by Aflatoxin. *Poult. Sci.* 53: 721-725.
- TIWARI, R.P., J.S. VIRDI, L.K. GUPTA, S.S. SAINI and D.V. VADEHRA, 1989. Development of chicks exposed to aflatoxin B1 during embryogenesis. *Indian J. Animal Sci.*, 59: 1473-1474.
- VESELY, D., D. VESELA, and R. JELINEK, 1982. Nineteen mycotoxins tested on chicken embryos. *Toxicol Lett.* 13: 239-245.
- WYATT, R.D., M.D. RUFF, and R.K. PAYNE, 1975. Interaction of aflatoxins with *Eimeria tenella* infection and monensin in young broiler chickens. *Avian Dis.* 19:730-736.

Tabel 1. Rata-rata berat badan dan hati dari dari tiap kelompok ayam yang diamati

Perlakuan	Berat telur (gr)	Berat ayam (gr) saat menetas	Berat ayam (gr) minggu ke-6	Berat hati (gr)
1 ppm AFB1 + ND	64,9 ± 0,92	44,4 ± 0,3	1524 ± 61,0	23,49 ± 3,75
2 ppm AFB1 + ND	66,9 ± 0,46	46,8 ± 2,1	1481 ± 82,7	25,23 ± 2,62
4 ppm AFB1 + ND	69,1 ± 0,53	48,4 ± 1,2	1427 ± 94,4	28,69 ± 0,98
Kontrol + ND	63,3 ± 0,95	44,6 ± 3,3	1569 ± 82,1	23,37 ± 5,07
Kontrol - ND	62,1 ± 0,45	42,5 ± 2,3	1324 ± 63,8	27,79 ± 2,02

Keterangan :

+ ND : divaksinasi ND

- ND : tidak divaksinasi ND

Tabel 2. Titer antibodi dari tiap kelompok ayam yang diamati selama 6 minggu

Perlakuan	Minggu II	Minggu III	Minggu IV	Minggu V	Minggu VI
1 ppm AFB1 + ND	2,3 ± 0,6	2,7 ± 0,6	3,0 ± 0,0	4,3 ± 0,6	4,7 ± 0,6
2 ppm AFB1 + ND	2,3 ± 0,6	2,3 ± 0,6	2,0 ± 0,0	3,3 ± 0,6	3,0 ± 0,0
4 ppm AFB1 + ND	2,3 ± 0,6	1,3 ± 0,6	0,7 ± 0,6	0,3 ± 0,6	0,0 ± 0,0
Kontrol + ND	2,7 ± 0,6	2,7 ± 0,6	4,7 ± 0,6	7,0 ± 1,0	7,7 ± 0,0
Kontrol - ND	2,7 ± 0,6	1,7 ± 0,6	1,0 ± 0,0	0,7 ± 0,6	0,3 ± 0,6

Keterangan :

+ ND : divaksinasi ND

- ND : tidak divaksinasi ND