

ANTI-PROLAKTIN SEBAGAI PENGHAMBAT PROSES MOULTING

Husni Anwar dan Erma Safitri
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

ABSTRACT

A experimental study had been done using anti-prolactin as moulting process inhibitor and to know the affect of anti-prolactin on the time of egg laying recovery of laying bird. The objective of this study was to prove that, moulting phase can be stopped with pasif immunisation antiprolactin intra muscular. The stages of this study as follow: used anti-prolactin from the third stage of study with the dose of 50 mg/ml (P1), 100 mg/ml (P2), and 200 mg/ml (P3) and 0.5 ml PBS (as control). In this stage, moulting was ceased respectively in day 4.8 ± 1.033 (P1); 4.6 ± 0.843 (P2); 4.68 ± 0.516 (P3) and 61.9 ± 2.079 (control). Statistical test using one way Anova revealed significant difference ($p < 0.01$) between control and treatment groups, and BNT 5% test showed that the fastest moulting inhibition was found in P3 group (200 mg/ml), which was not significantly different ($p < 0.05$) with P1 (50 mg/ml) and P2 (100 mg/ml). The time of egg laying recovery was respectively at 9.3 ± 0.675 (P1); 7.4 ± 0.843 (P2); 3.3 ± 0.823 (P3) and 18.4 ± 1.174 (control). Statistical test using one way Anova test showed significant difference ($p < 0.01$) between control and treatment groups, and BNT 5% test indicated that the shortest time of egg laying recovery was at group P3 (200 mg/ml), which was significantly different ($p < 0.05$) from P1 (50 mg/ml); P2 (100 mg/ml); and control (PBS 0.5 ml). Conclusively, anti prolactin (50 mg/ml, 100 mg/ml and 200 mg/ml) to inhibit moulting process and to affect the time of egg laying recovery.

Key words: anti-prolactin, moulting, egg laying recovery, laying bird

PENGANTAR

Berbagai cara konvensional yang telah dilakukan selama ini dalam mengatasi fase *moulting* menarik perhatian penulis untuk mencari cara lain yang dapat menggantikannya. Selanjutnya dilakukanlah penelitian yang bertujuan untuk mengatasi fase *moulting* melalui pemberian antiprolaktin, yaitu suatu antibodi poliklonal yang dapat menghambat dan mempercepat fase *moulting* tanpa harus menyakitinya dan menurunkan fungsi imun seekor unggas petelur.

Fase *moulting* adalah fase rontok bulu dari seekor unggas yang diikuti dengan fase berhenti bertelur selama 3–4 bulan, hal tersebut tentu saja sangat merugikan peternak unggas petelur. Selama ini dilakukan cara-cara konvensional dalam mengatasi fase *moulting*, yaitu dengan cara pemuasaan dan pembatasan pakan selama 30–60 hari (Sainsbury, 1995; Barton, 2003; Poultry, 2003). Hanya saja penggunaan kedua cara di atas banyak ditentang oleh beberapa organisasi keselamatan dan penyayang binatang seperti *United Poultry Concern* dan *The Association of Veterinarians di United States* (Allen, 2002). Hal ini didasari bahwa pemuasaan dan pembatasan pakan dalam waktu lama dapat menyebabkan stres yang berakibat penurunan fungsi imun sehingga ayam mudah terserang penyakit (Alodan and Mashaly, 1999). Salah satu penyakit yang sering mengikuti induksi *moulting* tersebut adalah *Salmonella enteridis* (SE) (Poultry, 2003; FACT, 2001; Webster, 1999), oleh karena itu sejak tahun 2000 telah dilarang pembatasan dan pemuasaan pakan untuk mengatasi *moulting* (Avma, 2003).

Menurut FACT, (2001); dan Webster, (1999), SE sangat berbahaya, karena bersifat *zoonosis*.

Menurut Hafez (2000) dan Knobil *et al.*, (1988), *moulting* disebabkan oleh tingginya kadar hormon prolaktin dalam darah. Prolaktin merupakan hormon protein dengan berat molekul (BM) 24–27 kDa (Yamamoto and Tanaka, 2003; Bedecarrats *et al.*, 1999; March, *et al.*, 1999) dan kandungan asam amino sebanyak 199 (Jabbour and Kelly, 1997). Tingginya kadar hormon prolaktin dalam darah dapat menyebabkan terjadinya regresi ovarium (Ramesh *et al.*, 2001). Prolaktin dapat digolongkan ke dalam bahan yang bersifat imunogen karena BM yang lebih besar dari 10.000 Da, sehingga bila disuntikkan secara berulang pada hewan dapat menginduksi timbulnya antibodi poliklonal antiprolaktin (Fitzgerald, 2004; Agrisera, 2004; Upstate, 2002). Pemberian antiprolaktin dapat bekerja secara spesifik terhadap prolaktin dengan cara menetralisasi kerja prolaktin dalam darah, sehingga proses *moulting* dapat dihambat dan ayam dapat memproduksi telur kembali.

BAHAN DAN CARA KERJA

Antiprolaktin yang telah diproduksi dan dipurifikasi dari penelitian sebelumnya digunakan sebagai uji lapangan dengan cara melakukan imunisasi pasif beberapa dosis antiprolaktin yaitu 50 μ g/ml, 100 μ g/ml, dan 200 μ g/ml serta PBS 0,5 ml (sebagai kontrol), dengan prosedur kerja sebagai berikut.

Empat puluh ekor ayam arab petelur fase *moulting* yang pertama (umur 14 bulan) dan sedang memasuki awal

moulting (rontok 1 helai bulu primer nomor satu di daerah sayap) dikelompokkan dan ditempatkan pada kandang baterai. secara acak menjadi empat perlakuan dengan masing-masing perlakuan mendapat sepuluh ulangan sebagai berikut:

PO (kontrol) : Sepuluh ekor ayam arab fase *moulting* tanpa mendapat imunisasi antiprolaktin dan diganti dengan PBS sebanyak 0,5 ml.

P1 : Sepuluh ekor ayam arab fase *moulting* diimunisasi pasif secara intramuskuler dengan antiprolaktin 50 $\mu\text{g/ml}$ pada awal *moulting*

P2 : Sepuluh ekor ayam arab fase *moulting* diimunisasi pasif secara intramuskuler dengan antiprolaktin 100 $\mu\text{g/ml}$ pada awal *moulting*

P3 : Sepuluh ekor ayam arab fase *moulting* diimunisasi pasif secara intramuskuler dengan antiprolaktin 200 $\mu\text{g/ml}$ pada awal *moulting*.

Identifikasi penghentian *moulting* (bulu primer, aksial dan sekunder di daerah sayap tidak lagi rontok) dilakukan setiap hari setelah imunisasi. Pengamatan Kecepatan mulai bertelur kembali dilakukan setiap hari setelah fase *moulting* berhenti, dihitung dari bulu di daerah sayap tidak lagi rontok sampai tumbuh lengkap dan mulai produksi telur.

ANALISIS DATA

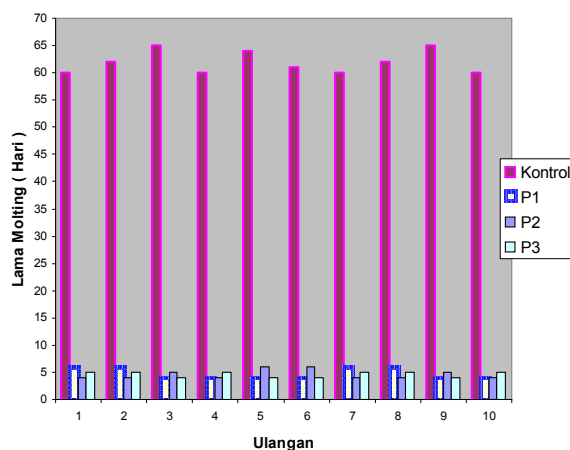
Rancangan dalam penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap. Data kemampuan menghentikan proses *moulting* (lama *moulting* dalam hari) dan kecepatan mulai bertelur dianalisa dengan menggunakan *Analysis of Variant (ANOVA)* dan dilanjutkan dengan uji BNT 5% (Beda Nyata Terkecil) apabila terdapat perbedaan (Steel and Torrie, 1995).

HASIL

Lama *moulting* dapat dilihat pada Tabel 1 dan gambarannya berdasarkan perbedaan pemberian antiprolaktin pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 1. Lama *moulting* (hari) yaitu dihitung dari rontok 1 helai bulu primer nomor satu dari sayap sampai tumbuh bulu lengkap di daerah sayap

Ulangan Ayam Arab nomor	Perlakuan			
	Kontrol (PBS)	P1 (50 $\mu\text{g/ml}$ Antiprolaktin)	P2 (100 $\mu\text{g/ml}$ Antiprolaktin)	P3 (200 $\mu\text{g/ml}$ Antiprolaktin)
1	60	6	4	5
2	62	6	4	5
3	65	4	5	4
4	60	4	4	5
5	64	4	6	4
6	61	4	6	4
7	60	6	4	5
8	62	6	4	5
9	65	4	5	4
10	60	4	4	5
Rentangannya	60-65	4-6	4-6	4-5
Jumlah	619	48	46	46
Rataan	61,9 \pm 2,079	4,8 \pm 1,033	4,6 \pm 0,843	4,6 \pm 0,516



Keterangan:

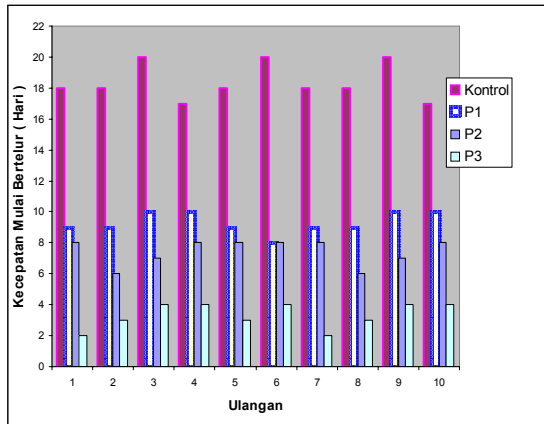
- Kontrol : imunisasi pasif dengan PBS (phosphat buffer saline)
- P1 : 50 mg/ml antiprolaktin
- P2 : 100 mg/ml antiprolaktin
- P3 : 200 mg/ml antiprolaktin

Gambar 1. Diagram batang lama *moulting* (hari) pada kelompok kontrol dan perlakuan dengan imunisasi pasif antiprolaktin

Pengamatan kecepatan mulai bertelur dilakukan setiap hari setelah fase *moulting* dihambat (setelah bulu di daerah sayap tumbuh secara lengkap) sampai ayam mulai bertelur (lihat Tabel 2 dan Gambar 2).

Tabel 2. Kecepatan mulai bertelur (hari) dihitung dari fase *moulting* yang dihambat setelah bulu sayap tumbuh lengkap sampai ayam mulai bertelur

Ayam Arab nomor	Kontrol (0,5 ml PBS)	P1 (50 µg/ml) Anti prolaktin	P2 (100 µg/ml) Anti prolaktin	P3 (200 µg/ml) Anti prolaktin
1	18	9	8	2
2	18	9	6	3
3	20	10	7	4
4	17	10	8	4
5	18	9	8	3
6	20	8	8	4
7	18	9	8	2
8	18	9	6	3
9	20	10	7	4
10	17	10	8	4
Rentangan	17–20	8–10	6–8	2–4
Jumlah	184	93	74	33
Rataan	18,4 ± 1,174	9,3 ± 0,675	7,4 ± 0,843	3,3 ± 0,823



Keterangan:

- Kontrol : immunisasi pasif dengan PBS (phosphat buffer saline)
 P1 : 50 mg/ml antiprolaktin
 P2 : 100 mg/ml antiprolaktin
 P3 : 200 mg/ml antiprolaktin

Gambar 2. Diagram batang kecepatan mulai bertelur (hari) pada kelompok kontrol dan perlakuan dengan immunisasi pasif antiprolaktin

Berdasarkan uji statistik dengan anova, terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$) antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan terhadap lama *moulting* maka setelah dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) diperoleh hasil bahwa yang paling berpengaruh terhadap lama *moulting* yang paling cepat adalah kelompok perlakuan dengan immunisasi 200 mg/ml antiprolaktin (P3) yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan P2 (100 mg/ml antiprolaktin) dan P1 (50 mg/ml antiprolaktin), sedangkan kelompok kontrol mempunyai masa *moulting* paling lama. Rerata berhentinya *moulting* (hari) yang diperoleh pada

kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang mendapat immunisasi antiprolaktin dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rerata lama *moulting* (hari) kelompok kontrol dan perlakuan dengan immunisasi Antiprolaktin

Perlakuan	N	Rentangan	Rerata
Kontrol	10	60–65	61,9 ± 2,079 ^a
P1 (50 µg/ml antiprolaktin)	10	4–6	4,8 ± 1,033 ^b
P2 (100 µg/ml antiprolaktin)	10	4–6	4,6 ± 0,843 ^b
P3 (200 µg/ml antiprolaktin)	10	4–5	4,6 ± 0,516 ^b

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

Berdasarkan uji statistik dengan anova terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$) antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan terhadap kecepatan mulai bertelur, maka setelah dilakukan uji BNT, diperoleh hasil bahwa yang paling berpengaruh terhadap kecepatan mulai bertelur (paling cepat) dari ayam adalah kelompok perlakuan dengan immunisasi 200 µg/ml antiprolaktin (P3) diikuti perlakuan 2, 1, dan kontrol. Rerata kecepatan mulai bertelur (hari) yang diperoleh pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang mendapat immunisasi pasif antiprolaktin dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rerata kecepatan mulai bertelur (hari) kelompok kontrol dan perlakuan dengan immunisasi antiprolaktin

Perlakuan	N	Rentangan	Rerata
Kontrol	10	17–20	18,4 ± 1,174 ^a
P1 (50 µg/ml antiprolaktin)	10	8–10	9,3 ± 0,675 ^b
P2 (100 µg/ml antiprolaktin)	10	6–8	7,4 ± 0,843 ^c
P3 (200 µg/ml antiprolaktin)	10	2–4	3,3 ± 0,823 ^d

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

PEMBAHASAN

Prolaktin merupakan hormon protein yang mempunyai pengaruh antigonadal baik secara langsung maupun tidak langsung. Secara langsung pada gonad, dapat menyebabkan terjadinya regresi ovarium atau secara tidak langsung dengan cara berkompetisi dengan hormon progesteron yang dihasilkan ovarium. Rendahnya kadar progesterone yang dihasilkan ovarium akan menyebabkan umpan balik negatif pada hypothalamus dan hipofisa anterior sehingga menekan pelepasan gonadotropin yang dihasilkan oleh hipofisa anterior (Gan *et al.*, 1987). Hormon gonadotropin seperti FSH dan LH yang sangat rendah pada seekor ayam akan menyebabkan tidak terjadinya pertumbuhan folikel, karena ke dua hormon gonadotropin tersebut diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan folikel serta proses oviposisi telur ayam. Selain hal tersebut, akibat lain dari

aktivitas biologis ini menyebabkan terjadinya regresi ovarium dan ayam memasuki fase *moulting* yang ditandai dengan berhentinya ayam memproduksi telur, terjadinya kerontokan bulu primer, sekunder, dan aksial pada daerah sayap (Blakely and Bade, 1998; Indarto, 1989; Jull, 1982).

Antibodi terhadap prolaktin yang terbentuk akan mengadakan perlawanan atau menetralisasi terhadap biopotensi prolaktin dan reaksi *moulting* akan dihentikan. Menurut Beckman-Coulter (2001), bahwa *onset of action* dari antiprolaktin secara *in vitro* adalah 48 jam. Hal ini akan menyebabkan terjadinya penurunan kadar prolaktin dalam darah secara cepat. Baratawidjaja (2000), menyatakan bahwa interaksi antara *antigenic determinant* pada permukaan antigen dan antigen *binding site* pada permukaan antibodi dapat menimbulkan salah satu reaksi yaitu: *presipitasi*, *aglutinasi*, *aktivasi komplemen* dan *netralisasi*. Penghentian fase *moulting* pada penelitian ini terjadi pada hari ke-4 sampai ke-6 (Tabel 3). Hilangnya proses *moulting* dapat dilihat dengan berhentinya ayam merontokkan bulu di daerah sayap sampai tumbuh bulu lengkap di daerah sayap tersebut.

Prolaktin merupakan hormon endogen yang mempunyai efek terjadinya regresi ovarium. Regresi ovarium adalah suatu keadaan di mana jika pada ovarium sudah terjadi pertumbuhan folikel maka akan dilisiskan dan diserap oleh tubuh, sehingga tidak ada pertumbuhan folikel dan berarti tidak akan terjadi ovulasi dan pembentukan telur. Terjadinya regresi ovarium merupakan proses biologis secara alamiah menyebabkan ayam berhenti bertelur selama ± 80 hari, yang ditandai dengan rontoknya bulu primer, sekunder dan aksial di daerah sayap (Marhiyanto, 2000; Indarto 1998; Jull, 1982). Ayam petelur termasuk ayam arab yang digunakan dalam penelitian ini mempunyai sifat alamiah merontokkan bulu dan berhenti bertelur sebanyak 3 kali dalam siklus kehidupannya.

Keberhasilan produksi telur dari seekor ayam ditentukan dari jumlah folikel yang terbentuk dan diovasikan. Folikel ayam yang tersusun sebagai *hierarki folikuler* tidak akan terbentuk selama kadar prolaktin yang sangat tinggi ada dalam darah. Mekanisme kerja prolaktin dalam meregresikan ovarium adalah secara langsung atau dengan menekan pelepasan gonadotropin yang dihasilkan oleh hipofisa anterior melalui kompetisi dengan hormon progesteron yang dihasilkan oleh ovarium (Gan *et al.*, 1987). Hal ini sesuai dengan pernyataan Cole and Cups (1977), Knobil (1988) dan Hafez (2000), bahwa proses *moulting* pada ayam di bawah pengaruh sistem hormonal. Hormon gonadotropin seperti FSH dan LH diperlukan untuk perkembangan folikel dan oviposisi telur ayam. Rendahnya kadar FSH dan LH menyebabkan tidak terbentuknya

pertumbuhan folikel dan pada akhirnya ayam tidak memproduksi telur.

Antiprolaktin yang diimunitasikan secara pasif akan mengikat dan menetralisasi kerja prolaktin yang ada di dalam darah selama ayam berhenti bertelur dan akibatnya ayam akan dapat memproduksi telur kembali lebih cepat dari fase alamiahnya tetapi tetap bersifat aman karena tidak menyebabkan terjadinya penurunan respons imun. Ayam mulai memproduksi telur kembali setelah kerontokan bulu di daerah sayap berhenti dan tumbuh bulu lengkap (bulu sayap primer, sekunder, dan aksial). Kecepatan mulai bertelur pada penelitian ini terjadi pertama kali setelah hari ke-2 dari tumbuh bulu lengkap di daerah sayap bagian primer yaitu pada perlakuan P3 (200 mg/ml antiprolaktin) yang berbeda sangat nyata baik dengan kontrol ataupun dengan perlakuan P2 (100 μ g/ml antiprolaktin) dan perlakuan P1 (50 μ g/ml Antiprolaktin).

Hasil dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemberian antiprolaktin dengan dosis 50 μ g/ml atau lebih dapat menghambat proses *moulting* dan mempengaruhi kecepatan mulai bertelur.

KEPUSTAKAAN

- 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 Molting in Chicken 1902-2002. Animal Welfare Information Center. Email: awic@nal.usda.gov <http://www.nal.usda.gov/awic/> Down load: 25 Januari 2004.
- Alodan MA and Mashaly MM, 1999. Effect of Induced Molting in Laying Hens on Production and Immune Parameters. Education and Production. *Poultry Science*, 78:171-177. Down load: 27 Januari 2004.
- Avma HA, 2003. The Animal Welfare and Food Safety Issues Associated with the Forced Molting of Laying Birds. AVMAHurtsAnimals: Vets Without Hearts. United Poultry Concerns, Inc. UPC.online.org. Down load: 20 Pebruari 2004.
- Baratawidjaja KG, 2000. Immunologi Dasar. Ed. 4. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. Hal. 275-279.
- Barton J, DVM, 2003. Molting. 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. Down load: 2 Maret 2004.

- Beckman-Coulter, 2001. Prolactin Characteristics. www.becmancoulter.com. Down load: 21 Oktober 2004.
- Blakely J and Bade DH, 1998. Ilmu Peternakan. Edisi keempat. Gadjah mada University Press. Yogyakarta. Indonesia, 537–550.
- Cole HH and Cupps PT, 1977. Reproduction in Domestic Animals. 3rd ed. Academic Press, New York, San Francisco, London.
- 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. Down load: 21 April 1004
- Fitzgerald II, 2004. Purified Polyclonal Antibodies. Fitzgerald Industries International, Inc. <http://www.fitzgerald-fii.com/p-p-prolactin-1.shtml>. Down load: 31 Maret 2004.
- Gan S, Setiabudy R, Sjamsudin U, dan Bustami ZS, 1987. Farmakologi dan Terapi. Edisi 3. Gaya Baru, Jakarta.
- Hafez ESE, 2000. Reproduction in Farm Animal. 6th Ed. Lea & Febiger P, Philadelphia.
- Indarto P, 1989. Beternak Unggas Berhasil. Penerbit CV. Armico. Bandung, 63–69.
- Jabbour HN and Kelly PA, 1997. Prolactin receptor subtypes: a possible mode of tissue spesific Regulation of Prolactin Function. *Journals of Reproduction and Fertility*; 2, 14–18. Down load: 25 Januari 2004.
- Jull MA, 1982. Poultry Husbandry. TMH Edition 1972, Reprinted 1982. Tata McGraw-Hill Publishing Company Ltd. New Delhi, 119–149.
- Knobil E, Neill D, Ewing LL, Market CL, Greenwald GS and Pfaff DW, 1988. The Physiologi of Reproduction. Vol. 2. Raven Press, New York. P, 1379–1385.
- March JB, Sharp PJ, Wilson PW, and Sang HM, 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. Down load: 3 April 2004.
- Marhiyanto B, 2000. Sukses Beternak Ayam Arab. Cetakan I. Difa Publisher. Indonesia, 9–11 & 88–97
- Poultry O, 2003. Forced Molting of Laying. Birds. Poultry Organization. p. 1–7. Poultry.org is an educational effort of Farm Sanctuary. Down load: 2 Maret 2004.
- Ramesh R, Kuenzel WJ, and Proudman JA, 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. Down load: 27 Januari 2004.
- Sainsbury D, 1995. Poultry Health and Management; Chicken, Turkey, Ducks, Geese and Quail. 3rd. Ed. University of Cambride. 195.
- Steel RGD dan JH Torrie. 1995. Principles and procedures of statistics A biometrical Approach. International Student Edition. McGraw-Hill Koga Kusha, LTD. P. 137–167.
- Upstate B. 2002. Anti-Prolactin (Rabbit Antiserum) and Immunoblot Protocol., 1-2. Upstate Biotechnology. Certificate of Analysis. www.upstatebiotech.com. Down load: 2 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, 2–4. <http://ianr.www.snl.edu/ianr/asdk/newslet.htm>.
- 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. Down load: 29 Januari 2004.