

**PERANAN TEKNIK RADIOISOTOP UJI IMUN (RIA)
DALAM PRODUKSI DAN KESEHATAN HEWAN**
(The role of radioimmunoassay in animal production and health)

DJOKOWOERJO SASTRADIPRADJA

Departemen Fisiologi dan Farmakologi
Fakultas Kedokteran Veteriner, Institut Pertanian Bogor

SUMMARY

Radioimmunoassay and similar radioisotope techniques enable the determination of micro quantities of hormones, which greatly enhance the understanding of the role of hormones in regulating body functions. This paper discussed RIA for the proteohormones LH and prolactin, and the steroids progesterone, estradiol - 17 B and cortisol, which are applied in this laboratory.

In the field of animal production and health RIA is used to study hormonal profiles of physiological phenomena, clinical diagnostics, monitoring hormones in association with biotechnical manipulation, residual exogenous hormones, and the use of endocrinological parameters in animal breeding programs. Some application to study reproductive physiology of local domestic animals are discussed.

ABSTRAK

Teknik radioisotop uji imun (radioimmunoassay = RIA) dan teknik radioisotop serupa memberi kemungkinan pengukuran konsentrasi yang sangat kecil dalam analisa hormon, sehingga membuka kemungkinan pemahaman yang lebih baik tentang peran hormon dalam pengaturan faal tubuh. Laboratorium kami mengembangkan RIA untuk proteohormon: LH dan prolaktin, dan hormon steroid: progesterone, estradiol-17B dan kortisol, dan aplikasi teknik ini dibahas. Di bidang produksi dan kesehatan hewan, RIA berguna dalam pemetaan fenomena faal, pendekatan diagnostik di klinik, pengaturan melalui manipulasi bio-teknik, penentuan kadar sisa hormon exogen, dan usaha penggunaan parameter hormon sebagai panduan program pemuliaan ternak. Dibahas beberapa aplikasi di bidang reproduksi untuk hewan tempatan.

PENDAHULUAN

Seiring dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi, Institut Pertanian Bogor juga mengembangkan teknik nuklir di bidang pertanian. Di bidang produksi dan kesehatan hewan, peningkatan efisiensi produksi dan penanggulangan penyakit hanya dapat diperoleh dengan memanfaatkan hasil penelitian yang sesuai dengan kondisi tempatan. Teknik nuklir yang digunakan berdampingan dengan teknik standar lain merupakan alat penelitian amat penting untuk memperoleh informasi ilmu dan teknologi yang diperlukan. Teknik itu diterapkan di hampir semua segi produksi dan kesehatan hewan.

Dilihat dari segi subyek hewan, dua masalah biologi penting yang dihadapi adalah kejayaan (survival) untuk kelangsungan hidup menghadapi tantangan keadaan lingkungan

dan produksi yaitu prestasi menghasilkan yang dituntut manusia dari dirinya. Organisme hidup mempunyai kemampuan yang amat besar dalam daya homeostase menyesuaikan diri pada kondisi lingkungan dalam dan luar yang berubah-ubah. Bangsa hewan tempatan telah menyesuaikan diri dengan baik terhadap makanan kualitas rendah dan kondisi tropika lembab. Integrasi dan kordinasi proses yang terjadi dalam tubuh diatur oleh sistem neuro-endoktrin.

Penelitian hormon dalam produksi dan kesehatan hewan berupa evaluasi ilmiah tentang pengaruh hormon dalam kesehatan dan adaptasi, pertumbuhan dan penggemukan, serta reproduksi dan laktasi (Karg et al., 1976; Edqvist et al., 1976; Stabenfeldt et al., 1976). Walaupun hingga saat ini perhatian ditujukan pada kadar hormon dalam darah perifer sebagai kriteria peran hormon, namun perlu disadari bahwa data demikian perlu dinilai hati-hati, karena konsentrasi tidak merefleksikan dengan sepenuhnya dinamika penggunaan ataupun sintesis zat. Aplikasi teknik perunut seperti RIA memungkinkan kwantifikasi hormon itu dalam kisaran ng, bahkan pg, di samping adanya keuntungan penggunaan volume darah yang sedikit (ul) sehingga memungkinkan penelitian dinamika perubahan kadar dengan pengambilan cuplikan berderet (serial sampling) darah yang cukup kerap.

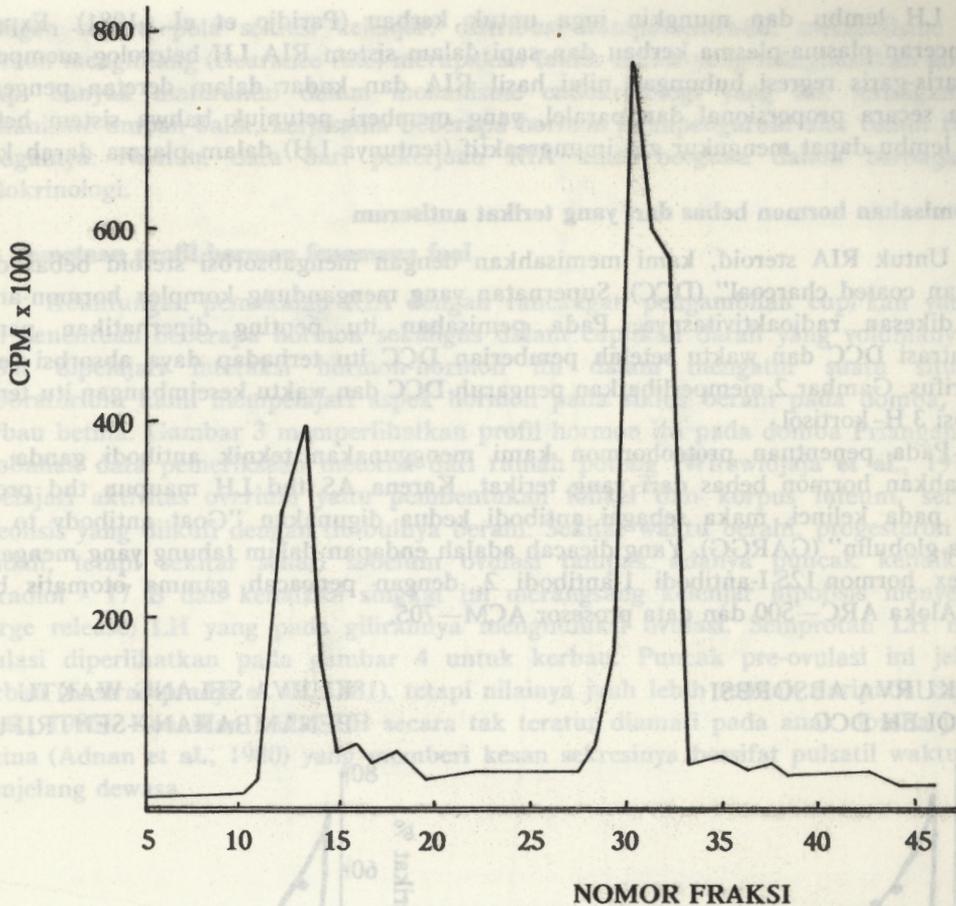
Makalah ini me-review penelitian dengan menggunakan RIA yang sedang berjalan sejak 5 tahun di laboratorium kami untuk mempelajari dinamika fungsi endoktrin reproduksi. RIA yang kami kembangkan adalah untuk proteohormon : sistem homolog dan heterolog untuk LH domba dan lembu (Paridjo et al., 1981) serta prolaktin, dan untuk beberapa steroid : progesteron (Wanananda et al., 1981), estradiol-17 (Wirawidjaja et al., 1979) dan kortisol (Avenell, et al., 1979). Makalah ini mencakup dua aspek yaitu prosedur RIA dan arti faal dari data yang diperoleh.

1. HAL IKHWAL PROSEDUR RIA

Azas RIA telah banyak dibahas dalam kepustakaan (Karg et al., 1976; Edqvist et al., 1976; Skelly et al., 1973). Prosedur RIA untuk menentukan hormon steroid dimulai dengan ekstraksi dari plasma atau serum steroid tersebut dengan pelarut yang sesuai. Ekstrak dalam pelarut dipisahkan dalam tabung baru dan dikeringkan. Tergantung pada spesifisitas antiserum yang akan digunakan, bahan kering itu dapat dimurnikan lebih dahulu dengan khromatografi kolom, kertas dan sebagainya. Langkah berikutnya adalah menambahkan antiserum dan hormon perunut. Setelah inkubasi, hormon bebas dipisahkan dari yang terikat antibodi dan salah satu fraksi itu dicacah. Dalam satu deretan penentuan disertakan deretan standar dengan kadar hormon yang diketahui. Nilai untuk cuplikan dari kurva standar. Penentuan proteohormon tidak memerlukan ekstraksi.

1. Perunut hormon radioaktif

Untuk RIA hormon steroid kami menggunakan perunut steroid komersial (Amersham, Inggris) dengan aktivitas jenis tinggi, yaitu (1, 2, 6, 7— 3 H) progesterone 101 Ci/nM, (2, 4, 6, 7— 3 H) oestradiol-17 B 89 Ci/mM, dan (1, 2, 6, 7— 3 H)-cortisol 93 Ci/mM. Untuk setiap tabung penentuan dipakai sekitar 10.000 cpm. Pencacahan untuk 3 H memakai pencacah sintilasi cair otomatis 500 sampel Aloka LSC—753 dengan data prosesor ACM—201. Untuk RIA proteohormon diperlukan pembuatan hormon perunut sendiri. 2.5 ug hormon murni oLH (LER—1056—C2, sumbangan Dr. L.E. Reichert, Atlanta GA, USA) dan bLH (NIH—LH—B10, sumbangan NIAMDD, USA) atau b-prolactin (NIH—P—B4, NIAMDD, USA) di radioiodinasi dengan 1 mCi Na 125 I menurut kaedah Greenwood et al. (1963). Pemurnian hormon— 125 I dilakukan dengan khromatografi kolom sephadex G50 dan fraksi hormon perunut murni dipakai dalam RIA. Pemisahan khromatografis dilukiskan pada gambar 1.



Gamb. 1. Pemurnian dengan khromatografi kolom sephadex G50 setelah radioiodinasi oLH murni (LER—1506—C2) (Paridjo et al., 1981).

2. Antiserum.

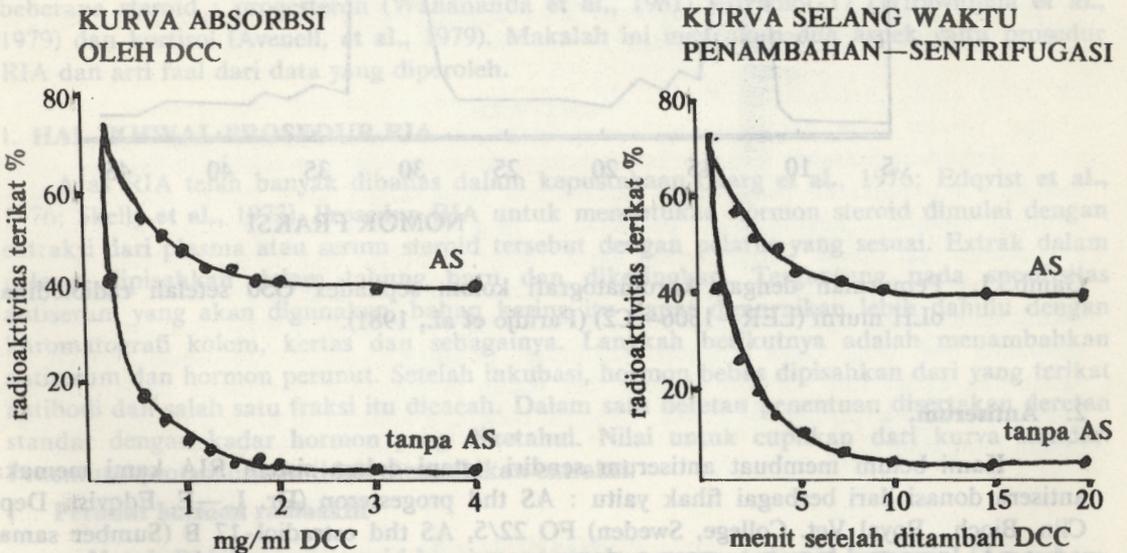
Kami belum membuat antiserum sendiri, tetapi dalam sistem RIA kami memakai antisera donasi dari berbagai pihak yaitu : AS thd progesteron (Dr. L.—E. Edqvist, Dept. Clin. Bioch., Royal Vet. College, Sweden) FO 22/5, AS thd estradiol-17 B (Sumber sama), AS thd kortisol (Dr. R.I. Cox, CSIRO Prospect, Australia), "Midgley's universal # 15 rabbit antiserum to ovine-LH (Dr. G.D. Niswender, Colorado State Univ. USA), dan AS thd prolaktin (Dr. A.B. Slebodzinsky, Polish Acad. of Sci., Poland). Untuk hormon nonprotein tidak ada kesukaran mengenai spesifitas spesies hewan, karena itu sistem RIA steroid dapat digunakan untuk mengukur steroid plasma berbagai spesies hewan. Berlainan halnya hormon polipeptida dimana spesifitas antiserum biasanya terbatas untuk beberapa spesies hewan saja karena adanya heterogenitas struktur hormon tersebut pada berbagai spesies hewan. Oleh karena itu diperlukan RIA tipe homolog, namun untuk hormon protein yang strukturnya diantara spesies tidak banyak berbeda dimungkinkan pembuatan sistem heterolog. AS terhadap oLH yang kami gunakan dapat dipakai mengembangkan sistem

untuk LH lembu dan mungkin juga untuk kerbau (Paridjo et al., 1981). Experimen pengenceran plasma-plasma kerbau dan sapi dalam sistem RIA LH heterolog memperlihatkan garis-garis regresi hubungan nilai hasil RIA dan kadar dalam deretan pengenceran plasma secara proporsional dan paralel, yang memberi petunjuk bahwa sistem heterolog untuk lembu dapat mengukur zat imunoreaktif (tentunya LH) dalam plasma darah kerbau.

3. Pemisahan hormon bebas dari yang terikat antiserum

Untuk RIA steroid, kami memisahkan dengan mengabsorpsi steroid bebas dengan "dextran coated charcoal" (DCC). Supernatan yang mengandung kompleks hormon-antibodi yang dikesan radioaktivitasnya. Pada pemisahan itu penting diperhatikan pengaruh konsentrasi DCC dan waktu setelah pemberian DCC itu terhadap daya absorpsi sebelum disentrifus. Gambar 2 memperlihatkan pengaruh DCC dan waktu keseimbangan itu terhadap absorpsi 3 H-kortisol.

Pada penentuan proteohormon kami menggunakan teknik antibodi ganda untuk memisahkan hormon bebas dari yang terikat. Karena AS thd LH maupun thd prolaktin dibuat pada kelinci, maka sebagai antibodi kedua digunakan "Goat antibody to rabbit gamma globulin" (GARGG). Yang dicacah adalah endapan dalam tabung yang mengandung kompleks hormon ^{125}I -antibodi 1-antibodi 2, dengan pencacah gamma otomatis bentuk perigi Aloka ARC-500 dan data prosesor ACM-705.



Gamb. 2. Penggunaan "dextran coated charcoal" untuk memisahkan kortisol bebas dari yang terikat antibodi (Avenell et al., 1979).

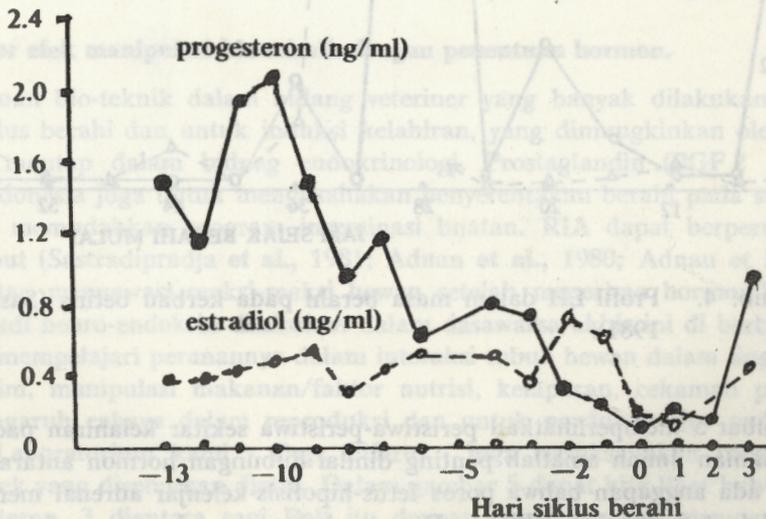
II. ARTI FAAL DATA ENDOKRINOLOGI

Dalam buku-buku teks endokrinologi yang lama, fungsi hormon dinilai dari konsentrasi, tetapi perlu disadari sekarang bahwa data analisa kadar untuk beberapa hormon tidak cukup mencerminkan konsep fungsional hormon. Konsentrasi hormon dalam darah perifer hanyalah satu matarantai saja dalam deretan kejadian endokrinologi. Dinamika

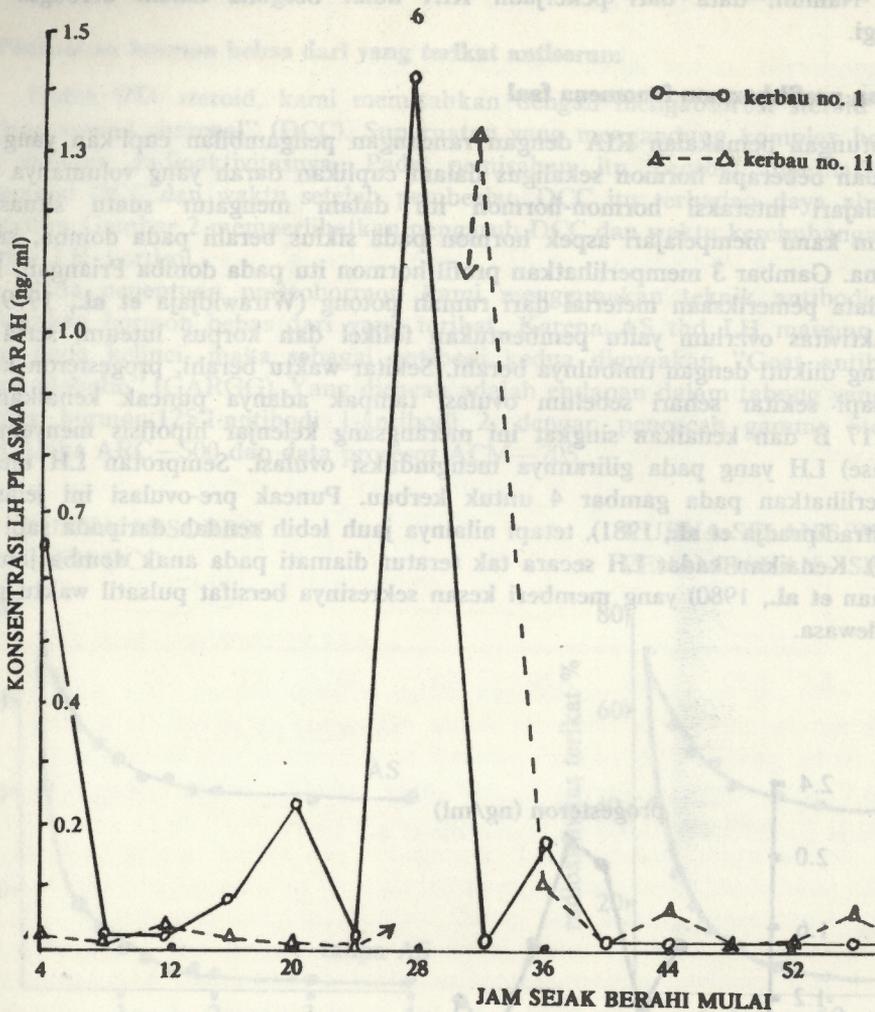
endogen seperti pola sekresi kelenjar, distribusi kompartemental, metabolisme dan laju hormon menghilang (clearance rate) merupakan faktor-faktor yang menghasilkan konsentrasi, tetapi banyak matarantai dalam mekanisme endokrinologi yang tak terungkap seperti mekanisme umpan-balik, kerjasama beberapa hormon mempengaruhi alat tubuh tarjet, dan sebagainya. Namun, data dari pekerjaan RIA amat berguna dalam berbagai bidang endokrinologi.

1. Pemetaan profil hormon fenomena faal

Keuntungan pemakaian RIA dengan rancangan pengambilan cuplikan yang kerap, dan penentuan beberapa hormon sekaligus dalam cuplikan darah yang volumenya sedikit, dapat dipelajari interaksi hormon-hormon itu dalam mengatur suatu situasi faal. Laboratorium kami mempelajari aspek hormon pada siklus berahi pada domba, sapi dan kerbau betina. Gambar 3 memperlihatkan profil hormon itu pada domba Priangan. Dengan tambahan data pemeriksaan meterial dari rumah potong (Wirawidjaja *et al.*, 1979) dapat dipelajari aktivitas ovarium yaitu pembentukan folikel dan korpus luteum, serta proses luteolisis yang diikuti dengan timbulnya berahi. Sekitar waktu berahi, progesteron kadarnya rendah, tetapi sekitar sehari sebelum ovulasi tampak adanya puncak kenaikan kadar estradiol - 17 B dan kenaikan singkat ini merangsang kelenjar hipofisis menyemprotkan (surge release) LH yang pada gilirannya menginduksi ovulasi. Semprotan LH mengawasi ovulasi diperlihatkan pada gambar 4 untuk kerbau. Puncak pre-ovulasi ini jelas untuk kerbau (Sastradipradja *et al.*, 1981), tetapi nilainya jauh lebih rendah daripada sapi (Adnan *et al.*, 1980). Kenaikan kadar LH secara tak teratur diamati pada anak domba jantan dan betina (Adnan *et al.*, 1980) yang memberi kesan sekresinya bersifat pulsatil waktu pubertas menjelang dewasa.

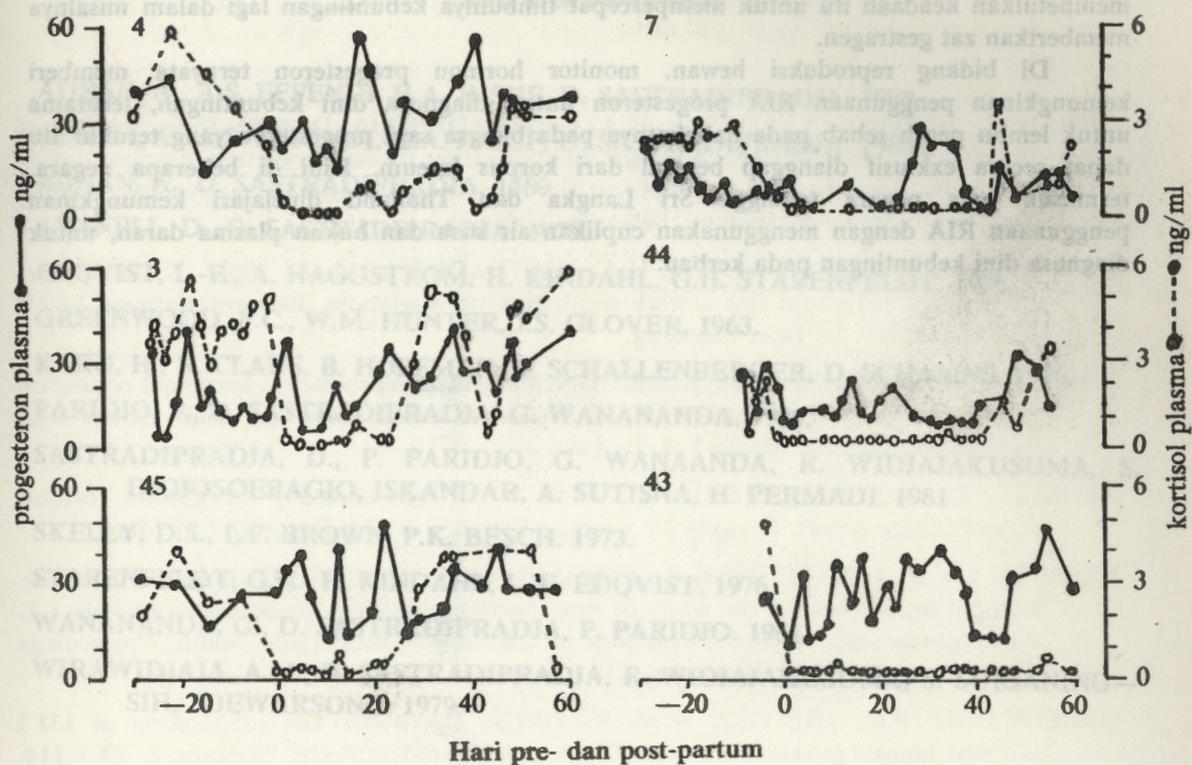


Gamb. 3. Profil progesteron dan estradiol-17 B serum darah domba Priangan bersiklus normal (Wirawidjaja *et al.*, 1979).



Gamb. 4. Profil LH dalam masa berahi pada kerbau betina (Sastradipradja et al., 1981).

Gambar 5 memperlihatkan peristiwa-peristiwa sekitar kelahiran pada sapi Bali. Dari segi pemahaman ilmiah amatlah penting dinilai hubungan hormon antara fetus dan induk, sebab kini ada anggapan bahwa poros fetus-hipofisis-kelenjar adrenal merupakan penyebab pertama dalam induksi kelahiran. Dengan keluarnya plasenta waktu kelahiran, kadar progesteron induk yang pada waktu bunting nilainya tinggi, menurun secara mendadak setelah melahirkan. Pada kasus-kasus itu cekaman kelahiran tidak diiringi dengan kenaikan kadar kortisol seperti dilaporkan dalam kepustakaan.



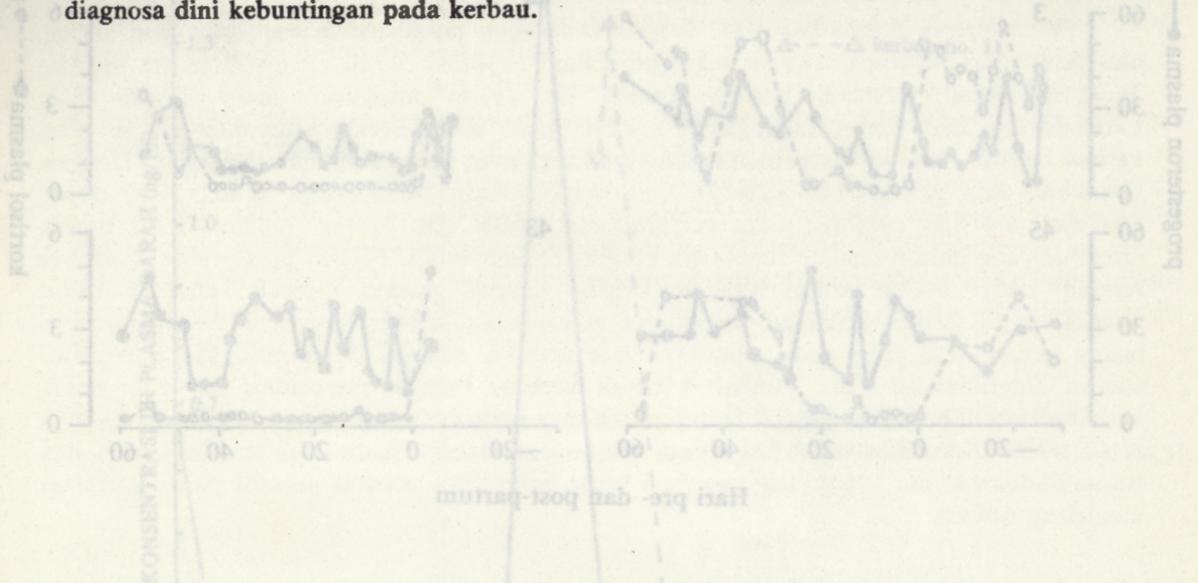
Gamb. 5. Perubahan kadar progesteron dan kortisol plasma darah induk sapi Bali sekitar waktu kelahiran (Pternakan Sukamantri Bogor).

2. Memonitor efek manipulasi bio-teknik dengan penentuan hormon.

Perlakuan bio-teknik dalam bidang veteriner yang banyak dilakukan adalah untuk mengatur siklus berahi dan untuk induksi kelahiran, yang dimungkinkan oleh pengetahuan yang cukup mantap dalam bidng endokrinologi. Prostaglandin (PGF 2) sudah mulai dipakai di Indonesia juga untuk mengusahakan penyerentakan berahi pada sapi dan kerbau betina untuk memudahkan program inseminasi buatan. RIA dapat berperan untuk studi bidang tersebut (Sastradipradja et al., 1981; Adnan et al., 1980; Adnan et al., 1980) guna memonitor atau mengawasi reaksi-reaksi hewan setelah menerima hormon-hormon exogen demikian. Studi neuro-endokrin dilakukan dalam dasawarsa akhir ini di berbagai institut di dunia untuk mempelajari peranannya dalam interaksi tubuh hewan dalam lingkungan seperti pengaruh iklim, manipulasi makanan/faktor nutrisi, kelaparan, cekaman panas, cekaman transpor, pengaruh cahaya dalam reproduksi dan untuk produksi telur pada unggas, dan sebagainya. Laboratorium kami - Dep. Ffarm - juga melaksanakan program penelitian beberapa aspek yang disebutkan diatas. Dalam gambar 5 dapat kita lihat bahwa berdasarkan profil progesteron, 3 diantara sapi Bali itu dengan cepat kembali memperlihatkan siklus berahi, tetapi 3 yang lain menunjukkan anestrus yang lama sampai 40 - 60 hari selepas melahirkan. Mengetahui fenomena hormonal, seperti diterangkan diatas dapat dipakai mencari penyebab anestrus yang merugikan itu, disamping itu kita dapat cepat bertindak

membetulkan keadaan itu untuk mempercepat timbulnya kebuntingan lagi dalam misalnya memberikan zat gestragen.

Di bidang reproduksi hewan, monitor hormon progesteron ternyata memberi kemungkinan penggunaan RIA progesteron untuk diagnosa dini kebuntingan, terutama untuk lembu perah sebab pada hakekatnya pada bangsa sapi progesteron yang terukur itu dapat secara eksklusif dianggap berasal dari korpus luteum. Kini di beberapa negara, termasuk juga negara tetangga Sri Lanka dan Thailand dipelajari kemungkinan penggunaan RIA dengan menggunakan cuplikan air susu dan bukan plasma darah, untuk diagnosa dini kebuntingan pada kerbau.



Gamb. 5. Perubahan kadar progesteron dan kortisol plasma darah induk sapi Bali sekitar waktu kelahiran (Becakman Sukamanti Bogor).

2. Monitor cek manipulasi bio-teknik dengan pemantauan hormon.

Pelakuan bio-teknik dalam bidang veteriner yang banyak dilakukan adalah untuk memantau siklus estrus dan untuk indikasi kelahiran yang dimungkinkan oleh pengetahuan yang cukup tentang dalam bidang endokrinologi. Progesteron (P) sudah mulai dipakai di Indonesia juga untuk melaksanakan pemantauan estrus pada sapi dan kerbau betina untuk memisahkan program inseminasi buatan. RIA dapat berperan untuk studi bidang tersebut (Astridjandja et al, 1981; Adnan et al, 1980; Adnan et al, 1980) guna memonitor atau mengawal waktu estrus hewan ternak pemantauan hormon dengan menggunakan studi neuro-endokrin dalam dasarnya aplikasi di berbagai institusi di dunia untuk mempelajari perannya dalam interaksi tubuh hewan dalam lingkungan seperti pengaruh iklim, manipulasi makanan/faktor nutrisi, kelahiran, cekaman panas, cekaman hujan, program cahaya dalam reproduksi dan untuk produksi telur pada unggas dan ikan. Untuk itu diperlukan alat ukur yang akurat dan sensitif dalam pemantauan progesteron. Untuk itu diperlukan alat ukur yang akurat dan sensitif dalam pemantauan progesteron. Untuk itu diperlukan alat ukur yang akurat dan sensitif dalam pemantauan progesteron.

DAFTAR PUSTAKA

- ADNAN, A., A.S. EFFENDI, H.A. JUSUF, D. SASTRADIPRADJA. 1980.
- ADNAN, A., A.S. EFFENDI, H.A. JUSUF, D. SASTRADIPRADJA. 1980a.
- ADNAN, A., D. SASTRADIPRADJA. 1980.
- AVANELL, D., D. SASTRADIPRADJA. 1979.
- EDQVIST, L.-E., A. HAGGSTROM, H. KINDAHL, G.H. STABENFELDT. 1976.
- GREENWOOD, F.C., W.M. HUNTER, J.S. GLOVER. 1963.
- KARG, H., R. CLAUS, B. HOFFMAN, E. SCHALLENBERGER, D. SCHAMNS. 1976.
- PARIDJO, P., D. SASTRADIPRADJA. G. WANANANDA. 1981.
- SASTRADIPRADJA, D., P. PARIDJO, G. WANANANDA, R. WIDJAJAKUSUMA, S. DJOJOSOE BAGIO, ISKANDAR, A. SUTISNA, H. PERMADI. 1981
- SKELLY, D.S., L.P. BROWN, P.K. BESCH. 1973.
- STABENFELDT, G.H., H. KINDAHL, L.-E. EDQVIST. 1976.
- WANANANDA, G., D. SASTRADIPRADJA, P. PARIDJO. 1981.
- WIRAWIDJAJA, A.M., D. SASTRADIPRADJA, R. WIDJAJAKUSUMA, S. SURJANING—SIH, SOEWARSONO. 1979.

DAFTAR PUSTAKA

- ADNAN, A., EFFENDI, A.S., JUSUF, H.A., SASTRADIPRAJA, D. 1980. Determination of the correct time procedure of estrumate application to induce oestrus synchronization for fertile insemination in Bali cattle. First Asian-Australasian Animal Science Congress, Sept. 2 - 5, Serdang, Selangor, Malaysia.
- ADNAN, A., EFFENDI, A.S., JUSUF, H.A., SASTRADIPRADJA, D. 1980. Kadar normal progesteron pada sapi Bali setelah pemberian prostaglandin. Kongres Nasional ke IV IKAFI, 30 Nov. - 4 Des., Bandung.
- ADNAN, A., SASTRADIPRADJA, D. 1980. Development of reproductive hormonal regulation during the prepubertal period of indigenous fat tailed sheep and their crosses with Suffolk and Dormer. *Media Vet.* 2 : 146.
- AVENELL, D., SASTRADIPRADJA, D. 1979. A radioimmunoassay for plasma cortisol. A preliminary report. Kongres IV Seminar Ilmiah V IAIFI, Bogor 28 - 31 Maret.
- EDQVIST, L.—E., HAGGSTROM, A., KINDAHL, H. STABENFELDT, G.H. 1976. Radioisotopic techniques for the study of reproductive physiology in domestic animals : 1. Assay procedures. Nuclear techniques in animal production and health, Proceedings of a symposium, IAEA Vienna, p. 513.
- GREENWOOD, F.C., HUNTER, W.M., GLOVER, J.S. 1963. The preparation of ^{131}I labelled human growth hormone of high specific radioactivity. *Biochem. J.* 89 : 114.
- KARG, H., CLAU, R., HOFFMAN, B., SCHALLENBERGER, E., SCHAMS, D. 1976. Present status and future possibilities of radioimmunoassay in animal production. Nuclear techniques in animal production and health, Proceedings of a symposium, IAEA Vienna, p. 487.
- PARIDJO, P., SASTRADIPRADJA, D., WANANANDA, G. 1981. Radioimmunoassay for ovine and bovine luteinizing hormone with possible application to LH of the swamp buffalo. To be presented at third Asia-Oceania Biochemistry Symposium, Denpasar, June.
- SASTRADIPRADJA, D., PARIDJO, P., WANANANDA, G., WIDJAJAKUSUMA, R., DOJOSOE BAGIO, S., ISKANDAR, SUTISNA, A., PERMADI, H. 1981. Penelitian dasar hormonal reproduksi kerbau betina. Laporan Penelitian DPPM No. 023/PIT/DPPM/1978, Maret.
- SKELLY, D.S., BROWN, LP., BESCH, P.K. 1973. Radioimmunoassay review. *J. Clin. Chem.* 19 : 146.
- STABENFELDT, G.H., KINDAHL, H., EDQVIST, L.—E. 1976. Radioisotopic techniques for the study of reproductive physiology in domestic animals : 2. Physiological implications. Nuclear Techniques in Animal Production and Health, Proceedings of a symposium, IAEA Vienna, p. 525.
- WANANANDA, G., SASTRADIPRADJA, D., PARIDJO, P. 1981. Uji radioimun (RIA) hormon progesteron : pemantapan metodologi. *Bull. Biokimia* 1981 (akan terbit).

