

Metabolit dan Profil Darah Ayam Akhir Periode Bertelur yang Disuplementasi Enzim Bromelin dalam Ransumnya

Metabolite and Blood Profile of Late Laying Period Supplemented with Bromelain Enzyme in The Ration

H N Rafis¹, A Sudarman^{1*}, R Mutia¹

Corresponding email:
asudarman@apps.ipb.ac.id,

¹Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, IPB University, Jl. Agatis Kampus IPB Dramaga, Bogor, Jawa Barat, Indonesia

ABSTRACT

This experiment aimed to evaluate the effect of bromelain enzyme supplementation in a late-laying period diet on blood metabolite and blood profile parameters. A total of 200 Isa Brown at late laying period hens, 85 weeks of age, were randomly distributed into four dietary treatments and fed for eight weeks. The bromelain enzyme was used at the level of 0% (control diet), 0.025%, 0.050%, and 0.075%. Each treatment was replicated five times. Experimental design data were analyzed using ANOVA and Duncan multiple range test. Bromelain supplementation had a significant effect on the concentration of blood protein ($p < 0.01$), reduced blood cholesterol ($p < 0.05$), and increased concentration of immunoglobulin Y (IgY) ($p < 0.05$). It is concluded that supplementation at dosages 0.05% and 0.075% of bromelain can improve the birds' immunity by increasing the IgY content in blood serum. supplementation at 0.05% reduces blood cholesterol and increases blood protein.

Key words: blood metabolite, blood profile, bromelain, IgY, late laying period

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek suplementasi enzim bromelain dalam pakan ayam akhir periode bertelur terhadap metabolit darah dan profil darah. Sebanyak 200 ekor ayam petelur periode akhir strain Isa Brown, umur 85 minggu, dipelihara selama 8 minggu. Rancangan percobaan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL), terdiri dari empat perlakuan serta lima ulangan. Perlakuan terdiri atas suplementasi enzim bromelain dalam pakan dengan 0% (kontrol) 0,025%, 0,050% dan 0,075%. Data dianalisis menggunakan ANOVA dan bila berbeda nyata diuji lanjut dengan Uji Jarak Berganda Duncan. Hasil penelitian menunjukkan suplementasi bromelain berpengaruh nyata meningkatkan kandungan protein darah ($p < 0,01$), dan imunoglobulin Y (IgY) ($p < 0,05$) serta menurunkan kolesterol darah ($p < 0,05$). Dapat disimpulkan bahwa suplementasi bromelain 0,050% dan 0,075% dapat meningkatkan imunitas ayam dengan ditandai meningkatnya kandungan IgY di serum darah. Suplementasi bromelain 0,050% dapat menurunkan konsentrasi kolesterol darah dan meningkatkan protein darah.

Kata kunci: ayam akhir periode bertelur, bromelain, IgY, metabolit darah, profil darah

PENDAHULUAN

Enzim bromelain adalah jenis enzim protease yang berasal dari tanaman nanas (*Ananas comosus*). Enzim proteolitik sulfhidril adalah konstituen utama dari bromelain. Seluruh bagian nanas mengandung enzim bromelain (Hossain *et al.* 2015) dengan kandungan konsentrasi enzim yang bervariasi (Ketnawa *et al.* 2012). Bromelain yang terdapat pada buah nanas memiliki nomor EC 3.4.22.33 dan dianggap sebagai *fruit bromelain* (FBM). Bromelain yang ada di batang nanas disebut *stem bromelain* (SBM) dan memiliki nomor EC 3.4.22.32. SBM mempunyai sifat biokimia yang berbeda jika dibandingkan dengan FBM (Agrawal *et al.* 2022), serta mengandung campuran tiol-endopeptidase yang beraneka ragam. Aktivitas kerja bromelain mempunyai rentang pH yang lebar yaitu pH 3 – 8 untuk FBM, dan pH 4 - 8 untuk SBM (Agrawal *et al.* 2022). Enzim bromelin merupakan enzim protease maka bromelain juga berfungsi memecah protein dengan cara menghidrolisa ikatan peptida pada asam-asam amino dalam rantai polipeptida. Pemecahan makro molekul protein tersebut menjadi molekul lebih kecil seperti asam amino akan membantu pencernaan dan penyerapan di saluran cerna (Zainudin & Wahid, 2019). Menurut Dave *et al.* (2012) bromelain mempunyai aktivitas proteolitik 2500 unit g^{-1} dan aktivitas lipolitik 65 unit g^{-1} , yang dapat membantu meningkatkan pencernaan protein dan lemak. Menurut Hikisz & Bernasinska-Slomczewska (2021), sebanyak 40% enzim bromelain dapat diserap disaluran cerna ke pembuluh darah. Menurut Hikisz & Bernasinska-Slomczewska (2021) manfaat bromelain diantaranya adalah sebagai anti-inflamasi (Sahbaz *et al.* 2015; Agrawal *et al.* 2022) yang bekerja mengurangi level dari *prostaglandine E2* dan *thromboxane A2* di dalam eksudat saat terjadi akut inflamasi, dan juga berfungsi mengatur fungsi sel imun (Chakraborty *et al.* 2021; Varilla *et al.* 2021).

Pemberian enzim bromelain dalam ransum ayam petelur umur 28 minggu, meningkatkan kapasitas antioksidan serum, menurunkan MDA (*malondialdehyde*), menurunkan total kolesterol darah, meningkatkan SOD (*superoxide dismutase*), dan mengubah profil lipid kuning telur, menurunkan triacilglycerol, menurunkan FFA (*free fatty acid*), meningkatkan phospholipid, meningkatkan diacilglycerol & monoacilglyserol dan juga merubah profil protein (meningkatkan total protein telur) (Yenice *et al.*, 2019). Yenice *et al.* (2019) melakukan penelitian tersebut pada kondisi suhu lingkungan kandang berkisar 20 – 25°C. Selain itu juga menurut Lien *et al.* (2012) pemberian suplementasi enzim bromelain dalam pakan ayam petelur umur 75 minggu, mampu menurunkan kolesterol darah, meningkatkan kandungan HDL (*high density lipoprotein*), menurunkan kandungan LDL (*low density lipoprotein*) dalam serum darah, meningkatkan kandungan *immunoglobulin G* serta meningkatkan konsentrasi protein darah. Penelitian mengenai suplementasi enzim bromelain pada ayam petelur masih

sangat terbatas, terutama untuk daerah tropis masih belum banyak penelitian yang membahasnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek suplementasi bromelain terhadap metabolit darah dan profil darah ayam akhir periode bertelur.

METODE

Ternak dan Pakan Perlakuan

Penelitian ini menggunakan 200 ekor ayam petelur umur 85 minggu (*strain* Isa Brown) diacak kedalam 4 perlakuan berdasarkan dosis enzim bromelain dengan 5 ulangan, dan setiap ulangan terdiri dari 10 ekor ayam petelur, Ayam dipelihara dalam kandang individual. Sebelum dilakukan pemberian pakan penelitian, masing-masing ayam ditimbang beratnya dan diakhir penelitian seluruh ayam penelitian ditimbang kembali.

Pakan penelitian yang digunakan adalah pakan dengan spesifikasi nutrien mengacu pada standard Isa Brown dengan estimasi konsumsi pakan per ekor perhari sekitar 110 – 115 $g\ ekor^{-1}\ hari^{-1}$. Enzim bromelain yang digunakan diproduksi oleh Great Giant Pineapple dengan kandungan 1200 GDU (*gelatine digesting units*) per gram. Waktu adaptasi pergantian pakan dilakukan selama dua minggu, dan lama pengamatan untuk penelitian ini adalah 8 minggu. Formula dan spesifikasi pakan yang digunakan dalam penelitian ditunjukkan pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Rancangan Percobaan Dan Analisis Data

Rancangan percobaan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL), terdiri dari 4 perlakuan serta 5 ulangan, dan setiap unit percobaan terdapat 10 ekor ayam petelur periode akhir umur 85 minggu strain Isa Brown. Pemberian pakan pelakukan penelitian ini diberikan selama 10 minggu.

Tabel 1 Formula ransum penelitian

No.	Bahan baku	Ransum Basal (%)
1	Jagung Lokal	51,82
2	Bungkil Kedelai	17,62
3	Dedak padi	10,00
4	Wheat Bran	1,29
5	Bungkil Kopra	2,00
6	DDGS	5,00
7	Limestone	9,70
8	Olein	1,00
9	L Methionine 98%	0,15
10	NaCl	0,25
11	MCP 22 %	0,63
12	Choline Chloride 75%	0,10
13	Lysine Sulphate	0,10
14	Sodium Bicarbonat	0,11
15	Vitamin & Mineral Premix	0,15
16	Magnesium silicate	0,05
17	L Threonine 98,5%	0,02
18	L Tryptophan 98%	0,01
Total		100,00

Tabel 2 Spesifikasi nutrisi pakan

No	Nutrien	Unit	Nutrisi Pakan	Std ISA Brown 2020 (110g)
1	Kadar Air	%	10,61	-
2	Abu	%	13,76	-
3	Serat Kasar	%	4,32	-
4	Lemak Kasar	%	4,24	-
5	Protein Kasar	%	15,78	min 14,7
6	Energi Metabolis	kcal kg ⁻¹	2700	2700 – 2850
7	Kalsium	%	4,00	3,91 – 4,27
8	Fosfor tersedia	%	0,33	0,33 – 0,35
9	Natrium	%	0,16	min 0,16
10	Klorin	%	0,21	0,17 – 0,26
11	Dig Lysine	%	0,69	min 0,69
12	Dig Methionine	%	0,37	min 0,37
13	Dig M+C	%	0,59	min 0,59
14	Dig Threonine	%	0,48	min 0,48
15	Dig Tryptophan	%	0,15	min 0,15
16	Dig Valine	%	0,64	min 0,61
17	Dig Isoleucine	%	0,55	min 0,55
18	Dig Arginine	%	0,91	min 0,72

Keterangan : Dig = *digestible*; Std = standar; min = minimum; M+C = methionine + cystine; kg = kilogram; Kcal = kilokalori; g = gram; Vitamin A = 9600 IU; Vitamin D3 = 3150 IU; Vitamin K3 = 2,70 mg kg⁻¹; Vitamin E = 36 IU; Vitamin B1 = 2,40 mg kg⁻¹; Vitamin B2 = 5,40 mg kg⁻¹; Vitamin B6 = 4,89 mg kg⁻¹; Vitamin B12 = 0,03 mg kg⁻¹; Biotin = 0,02 mg kg⁻¹; Pantothenic acid = 14,70 mg kg⁻¹; Niacin = 47,40 mg kg⁻¹; Folic acid = 1,26 mg kg⁻¹; Fe = 60 mg kg⁻¹; Cu = 8 mg kg⁻¹; Zn = 60 mg kg⁻¹; Mn = 70 mg kg⁻¹; Se = 0,25 mg kg⁻¹; I = 1 mg kg⁻¹; Co = 0,15 mg kg⁻¹.

Perlakuan penelitian yang diterapkan yaitu T0: tanpa bromelain (Kontrol), T1: T0 + bromelain 0,025%, T2: T0 + bromelain 0,050% dan T3: T0 + bromelain 0,075%.

Data dianalisis menggunakan sidik ragam (ANOVA), bila ada berbeda nyata dilanjutkan kemudian dengan Uji Jarak Berganda Duncan.

Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan di fasilitas kandang yang terletak di daerah Ciseeng, Bogor. Penelitian ini dilakukan dari bulan Februari – April 2022. Suhu udara dalam kandang selama periode penelitian diukur setiap hari, hasil pengukuran rata-rata suhu udara siang hari 29,4 ± 2,1 °C (minimum 26,6 ± 0,6 °C dan maksimum 32,1 ± 1,1 °C), dengan kelembaban rata-rata 75,4 ± 9,6 % (minimum 61,7 ± 6,9 % dan maksimum 90,9 ± 5,2%). Menurut Pawar et al. (2016) suhu optimum (*thermoneutral zone*) untuk pemeliharaan ayam petelur agar mencapai performa yang optimal adalah 19 – 22 °C.

Peubah yang diamati adalah metabolit darah, profil darah dan analisis kadar IgY (Yolk Immunoglobulin) yang diukur pada ayam petelur umur 95 minggu.

Analisis metabolit darah

Preparasi sampel darah telah dilakukan agar diperoleh filtrat darah bebas protein berdasarkan metode Folin-Wu & Somogyi untuk penetapan kadar glukosanya, dan serum digunakan untuk penetapan kadar albumin, total protein darah, sedangkan untuk analisa kandungan trigliserida menggunakan kit berdasarkan metode *Diagnostic System International* (2005) dan analisa kolesterol darah menggunakan metode Tindler (1969).

Preparasi serum dilakukan dengan menggunakan tabung penampung darah 9 mL. Darah diambil melalui vena brachialis dan ditampung dalam tabung kurang lebih 6 mL. Agar diperoleh serum darah yang banyak,

maka tabung ditempatkan dalam keadaan miring kurang lebih 45° guna memperluas permukaan darah. Cairan bening kekuningan akan berada disebelah atas darah, cairan ditampung ke dalam kuvet berukuran 4 mL.

Glukosa darah

Analisis atau pembacaan kadar glukosa dilakukan dengan teknik spektrofotometrik. Serapan kadar glukosa dibaca dengan panjang gelombang 420 nm. Penetapan kadar glukosa dilakukan dengan metode Folin-Wu. Larutan dan bahan yang digunakan terdiri dari filtrat darah bebas protein, standar glukosa, pereaksi tembaga alkalis, dan asam fosfomolibdat. Nilai serapan yang telah dicatat pada kuvet blanko, standar dan kuvet plasma darah yang diuji, dianalisis dengan rumus berikut:

$$\text{Kadar glukosa (mg dL}^{-1}\text{)} = \frac{Au - Ab}{As - Ab} \times 0,2 \times \frac{100}{0,2}$$

Keterangan: Au = serapan sampel yang diuji
Ab = serapan blanko
As = serapan standar

Total protein darah

Analisis kadar protein serum total, dilakukan dengan menggunakan prinsip uji biuret. Ion Cu²⁺ bereaksi dengan ikatan peptida dalam larutan alkalis menghasilkan kompleks senyawa berwarna lembayung. Intensitas warna yang terbentuk berbanding lurus dengan konsentrasi proteinnya. Larutan sampel uji, standar, dan blanko dibaca serapannya pada panjang gelombang 540 nm. Nilai baca serapan dianalisis dengan rumus berikut:

$$\text{Kadar protein (g dL}^{-1}\text{)} = \frac{Au - Ab}{As - Ab} \times 6$$

Keterangan: Au = serapan sampel yang diuji
Ab = serapan blanko
As = serapan standar

Albumin darah

Analisis kadar albumin darah telah dilakukan dengan menggunakan teknik pewarnaan bromkesol hijau. Bromkesol hijau meru pakan pewarna anionik yang dapat berikatan erat dengan protein albumin, kompleks senyawa yang terbentuk dapat menyerap cahaya dengan panjang gelombang 628 nm. Hasil baca serapan dianalisis dengan rumus berikut:

$$\text{Kadar Albumin (g dL}^{-1}\text{)} = \frac{A_u - A_b}{A_s - A_b} \times 6$$

Keterangan: Au = serapan sampel yang diuji
Ab = serapan blanko
As = serapan standar

Trigliserida darah

Analisis trigliserida darah dilakukan dengan menyiapkan tabung blanko yang berisi 10 μL akuades dimasukkan dalam 1.000 μL reagen kit. Selanjutnya siapkan juga tabung standar yang berisi 10 μL standar trigliserida serta 1.000 μL reagen kit, dan tabung sampel berisi 10 μL plasma dan 1.000 μL reagen kit. Campuran kemudian dihomogenkan dengan vortex, diinkubasi pada suhu 20–25°C selama 10 menit. Absorbansi kemudian dianalisa menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang (λ) 546 nm dalam waktu satu jam. Rumus perhitungan kadar trigliserida adalah sebagai berikut:

$$\text{Trigliserida (mg dL}^{-1}\text{)} = \frac{A_1}{A_2} \times \text{Konsentrasi standar trigliserida}$$

Keterangan:
A1 = Absorbansi sampel
A2 = Absorbansi standar

Kolesterol darah (Trinder, 1969)

Sampel darah dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril. Sampel ini kemudian disentrifugasi pada kecepatan 7.000 rpm selama 15 menit. Hasil sentrifugasi berupa plasma darah diambil sebanyak 10 μL menggunakan pipet mikro ke dalam tabung reaksi. Larutan standar dengan konsentrasi 200 mg/dL diambil sebanyak 10 μL , 10 μL blanko, dan 10 μL sampel. Ketiga larutan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang selanjutnya divortex selama 10 detik. Selanjutnya, larutan didiamkan 10 menit dan setelah 10 menit sampel diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm.

$$\text{Kolesterol darah (mg dL}^{-1}\text{)} = \frac{A_1}{A_2} \times 200$$

Keterangan:
A1 = Absorbansi sampel
A2 = Absorbansi standar

Analisa profil darah

Darah sebanyak 1 mL diambil pada *vena brachialis* menggunakan spoid dengan total jumlah sampel sebanyak 60 sampel yaitu 4 perlakuan, 5 ulangan dan masing masing ulangan 3 sampel. Sampel darah

dimasukkan ke dalam tabung vakum dengan antikoagulan EDTA dan diputar menyerupai gerakan angka delapan. Tabung vakum yang telah berisi darah dimasukkan ke dalam cooling box.

Eritrosit

Darah diambil menggunakan pipet eritrosit sampai batas nilai 1.0. Larutan Rees & Ecker dihisap hingga tanda tera 101, kemudian dihomogenkan. Setetes darah dimasukkan ke dalam kamar hitung, didiamkan hingga menyebar ke dalam ruang kamar hitung. Perhitungan dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Total eritrosit yang diperoleh kemudian dikalikan dengan 5.000 sehingga bisa diketahui jumlahnya dalam 1 mm^3 darah (Sastradipraja *et al.* 1989).

Hematokrit atau PVC (*Packed Cell Volume*)

Nilai hematokrit di analisa menggunakan metode mikrohematokrit. Sampel darah dimasukan ke dalam pipa mikrokapiler, kemudian sampel darah ditempatkan di ujung mikrokapiler yang bertanda merah. Pipa diisi sampai mencapai 3/5 bagian, selanjutnya ujung pipa ditutup dengan crestaseal. Sampel darah kemudian disentrifuse pada kecepatan 12.000 rpm selama 5 menit. Alat baca micro-hematocrit tube reader digunakan untuk menghitung nilai hematokrit (Sastradipraja *et al.* 1989).

Hemoglobin

Pengamatan kadar hemoglobin menggunakan alat spectrophotometer. Reagen potassium heksasianoferrat (III) atau $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ dihisap sebanyak 5 mL dan ditambahkan 20 μL darah dengan pipet sahli. Sampel tersebut kemudian dihomogenkan dan dimasukkan ke dalam alat spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm. Menurut Sastradipraja *et al.* (1989), hasil yang didapatkan dikalkulasikan dengan cara:

$$\text{Hemoglobin} = \text{Absorban} \times 3,68 \text{ h Hb} / 100 \text{ mL}$$

Leukosit

Pengujian leukosit dilakukan menurut Sastradipadja *et al.* (1989). Butir darah putih dihitung dengan mikroskop pada pembesaran 400 kali. Leukosit dihitung dalam hemocytometer neubauer menggunakan kotak leukosit yang berjumlah 5 buah dari 9 kotak utama dengan mengambil bagian sebagai berikut: satu kotak pojok kiri atas, satu kotak pojok kanan atas, satu kotak pojok kiri bawah, satu kotak pojok kanan bawah dan satu kotak di tengah. Jumlah leukosit setiap 1 mm^3 darah di peroleh dari hasil perhitungan dengan jumlah hasil hitungan di mikroskop dikalikan 200.

Analisis IgY

Deteksi IgY dilakukan dengan uji indirect ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) di Lab iRATco Dramaga Bogor yang mengacu pada metode Yokoi *et al.* (2002). Prinsip dari metode ELISA adalah mereaksikan antigen dengan antibodi yang di label enzim dan dihasilkan wana dari substrat. Intensitas warna menunjukkan nilai IgY.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Efek Suplementasi Bromelain terhadap Metabolit Darah

Pada umumnya nutrisi yang dicerna dan diserap serta hormon-hormon yang mengatur berbagai fungsi tubuh utama diangkut ke berbagai organ tubuh melalui peredaran darah. Oleh karena itu, kandungan komponen tertentu dalam serum mencerminkan proses metabolisme di dalam tubuh (Tao et al. 2021). Suplementasi bromelain secara signifikan berpengaruh terhadap kandungan kolesterol darah ($p < 0,05$), protein darah ($p < 0,01$) dan albumin darah ($p < 0,05$). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Lien et al. (2012) dan Yenice et al. (2019) bahwa suplementasi bromelain mampu menurunkan kandungan kolesterol dan meningkatkan protein darah, selain itu juga menurut Lien et al. (2012) suplementasi bromelain dapat menaikkan rasio HDL dan menurunkan rasio VLDL+LDL (*very-low density lipoprotein + low density lipoprotein*). Perlakuan T2 secara signifikan menurunkan kolesterol darah, nilai kolesterol darah perlakuan T2 sekitar $91,68 \pm 14,60$ mg dL⁻¹, tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan T1 sekitar $95,63 \pm 12,06$ mg dL⁻¹. dan nilai kolesterol berada dibawah nilai normal menurut Clinical Diagnostic Division (1990). Kandungan kolesterol darah ayam yang normal adalah 129-297 mg dL⁻¹ (Clinical Diagnostic Division 1990; Adewole et al. 2021). Tabel 3 memperlihatkan pengaruh suplementasi bromelain terhadap metabolit darah.

Kandungan protein darah perlakuan T2 lebih nyata paling tinggi ($p < 0,01$) dibandingkan perlakuan lainnya, sedangkan kandungan albumin darah perlakuan T3 secara signifikan nilainya lebih rendah dibandingkan perlakuan T1 dan T2. Menurut Harlap et al. (2021) konsentrasi protein total dalam darah ayam tidak tergantung pada umur unggas yaitu masa reproduksi, tingkat produksi telur, dan berfluktuasi pada tingkat 37,2-42,0 g L⁻¹. Tingginya kandungan protein darah pada perlakuan T2 karena efek proteolitik bromelain dan dosis bromelain 0,050% merupakan level optimum yang

berpengaruh terhadap kandungan protein darah. Menurut Hendarto & Budiyo (2022) konsentrasi enzim mempengaruhi laju reaksi antara substrat dan enzim sehingga akan mempengaruhi produk yang dihasilkan. Namun jika konsentrasi enzim yang digunakan terlalu tinggi atau berlebihan juga dapat menyebabkan enzim tidak bekerja maksimal karena adanya enzim bebas yang tidak dapat berikatan dengan substrat, sehingga proses hidrolisis menjadi tidak efisien (Hendarto & Budiyo 2022). Pemberian suplementasi bromelain menurut Yenice et al. (2019) dan Lien et al. (2012) nyata menaikkan kandungan protein serum darah. Menurut Yenice et al. (2019) pada pemberian enzim bromelain 0,30 g kg⁻¹ menghasilkan nilai protein darah tertinggi sebesar 5,06 g dL⁻¹ kemudian menurun pada dosis pemberian enzim bromelain lebih tinggi yaitu 0,45 g/kg pada pakan, dengan kandungan protein darah sebesar 4,93 g dL⁻¹. Lien et al. (2012) melaporkan bahwa suplementasi bromelain secara signifikan menaikkan kandungan protein serum darah, pemberian bromelain dengan dosis tertinggi 0,28 g kg⁻¹ menghasilkan nilai protein darah tertinggi.

Bromelain memberikan efek lipolitik, namun efek proteolitiknya lebih besar (aktivitas proteolitik 2500 unit g⁻¹ serta aktivitas lipolitik 65 unit g⁻¹) (Dave et al. 2012). Mekanisme bromelain meningkatkan metabolisme lipid adalah dengan menurunkan ekspresi mRNA dari protein pengikat asam lemak adiposit, asam lemak sintase, dan asetil-KoA karboksilase. Bromelain menginduksi lipolisis dengan menurunkan regulasi gen anti lipolitik perilipin, *fosfodiesterase-3B*, dan *Gα1* (*GTP binding protein*), serta meningkatkan ekspresi lipase sensitif hormon (Dave et al. 2012). Menurut Hu et al. (2020) bromelain meningkatkan kadar protein reseptor lipoprotein LRP1 (*lipoprotein receptor-related protein 1*), LDLR (*low-density lipoprotein receptor*) dan SR-BI (*scavenger receptor class B type I*), yang berkontribusi pada penurunan kadar serum kolesterol dan trigliserida oleh bromelain.

Tabel 3 Efek suplementasi bromelain terhadap metabolit darah

Perlakuan	Kolesterol Darah (mg dL ⁻¹)	Protein Darah (g dL ⁻¹)	Albumin Darah (g dL ⁻¹)	Trigliserida Darah (mg dL ⁻¹)	Glukosa Darah (mg dL ⁻¹)
T0	122,77±14,25 ^{bc}	5,75±0,39 ^B	2,48±0,23 ^{ab}	799,27±145,85	271,23±33,93
T1	95,63±12,06 ^{ab}	5,46±0,27 ^B	2,71±0,26 ^a	737,07±98,07	272,90±16,42
T2	91,68±14,60 ^a	6,50±0,58 ^A	2,80±0,31 ^a	612,10±143,62	260,49±11,20
T3	130,80±29,10 ^c	5,43±0,34 ^B	2,31±0,16 ^b	804,53±229,69	252,70±23,35
Referensi*	129,00-297,00	3,00-4,90	1,50-3,00	-	197,00-299,00

T0: tanpa bromelain (Kontrol), T1: T0 + bromelain 0,025%, T2: T0 + bromelain 0,050% dan T3: T0 + bromelain 0,075%; a, b, c Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$); A, B Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$); Clinical Diagnostic Division (1990).

Selain itu juga menurut Chen *et al.* (2022) bromelain mengaktifasi TFEB (*transcription factor EB*), yang mengatur ekspresi protein terkait autophagy dan antioksidan serta mengurangi akumulasi lipid dihati, stres oksidatif dan peradangan, sehingga menurunkan kejadian *atherosclerotic*, dimana secara tidak langsung bromelain dapat memecah plak kolesterol yang menempel pada dinding pembuluh darah.

Dalam penelitian ini, suplementasi bromelain mengurangi kadar kolesterol serum pada level dosis pemberian 0,025% dan 0,050%, tetapi pada taraf dosis pemberian 0,075% kadar kolesterol serum meningkat. Peningkatan kadar kolesterol tersebut diharapkan memiliki konsentrasi HDL yang lebih tinggi. Menurut Lien *et al.* (2012) suplementasi bromelain dapat menaikkan rasio HDL dan menurunkan rasio VLDL+LDL.

Kandungan albumin darah ayam perlakuan masih berada pada batas normal. Kandungan albumin darah perlakuan T3 secara signifikan nilainya lebih rendah dibandingkan perlakuan T1 dan T2. Albumin, globulin merupakan komponen protein darah yang penting. Albumin, selain berfungsi sebagai zat pengangkut bermacam-macam molekul yang lebih kecil di dalam darah, misalnya asam-asam lemak, pigmen-pigmen empedu. Selain sebagai zat pengangkut juga berperan sebagai prekursor sel-sel darah putih (Umar *et al.* 2017). Protein-protein darah termasuk albumin dan globulin, disintesis di dalam sel sebagai respon sinyal transduksi atas terbentuknya kompleks estrogen dengan reseptornya (Gomperts *et al.* 2009).

Suplementasi bromelain tidak berpengaruh terhadap kandungan glukosa darah, hal ini disebabkan karena bromelain hanya mempunyai efek lipolitik dan proteolitik (Dave *et al.* 2012) tidak mempunyai efek glikolitik di dalam darah. Nilai standar kandungan glukosa darah pada ayam petelur berkisar antara 197 – 299 mg dL⁻¹ (Clinical Diagnostic Division 1990).

Efek Suplementasi Bromelain terhadap Profil darah dan IgY

Suplementasi bromelain tidak berpengaruh nyata terhadap hematologi darah. Rata-rata nilai eritrosit masih dalam batas range normal ayam petelur yaitu 2,75

– 2,93 (x10⁶ mm⁻³). Menurut Swensondan William (1993) kadar eritrosit normal berkisar antara 2,50 – 3,20 (x10⁶ mm⁻³), sedangkan menurut Jain *et al.* (1993) kadar eritrosit normal berkisar antara 2,50 - 3,50 (x10⁶ mm⁻³). Hal ini menunjukkan bahwa suplementasi bromelain pada dosis perlakuan masih aman diberikan pada ayam akhir periode bertelur. Tabel 4 memperlihatkan efek suplementasi bromelain terhadap hematologi darah dan IgY.

Suplementasi bromelain pada perlakuan T2 dan T3 secara signifikan meningkatkan kandungan IgY, konsentrasi IgY berturut-turut 64,76±13,18 ng mL⁻¹ dan 69,18±25,21 ng mL⁻¹, dan ini sejalan dengan hasil dari penelitian yang dilakukan oleh Lien *et al.* (2012). Menurut Lien *et al.* (2012) suplementasi bromelain dengan dosis 0,14 g kg⁻¹ dan 0,28 g kg⁻¹ meningkatkan konsentrasi IgG secara berturut-turut 45,54 mg dL⁻¹ dan 49,83 mg dL⁻¹, dibandingkan dengan kontrol tanpa suplementasi bromelain nilai IgG 35,85 mg dL⁻¹. Protein pada plasma darah terdiri dari albumin dan globulin. Total globulin terdiri dari α-, β- dan γ-globulin, disintesis menjadi antibodi (Umar *et al.* 2017), menyiratkan bahwa bromelain dapat meningkatkan kapasitas kekebalan hewan ternak. Menurut Kritis *et al.* (2020), bromelain memodulasi respon imun sel T dan sel B, meningkatkan oksida nitrat yang dimediasi IFN-γ (*interferon gamma*) dan produksi TNF-α oleh makrofag. Bromelain juga meningkatkan produksi IFN-γ yang dimediasi IL (*interleukin*)-2 dan IL-12 oleh *natural killer cells* (Kritis *et al.* 2020).

IgY merupakan antibodi utama pada ayam dan memiliki struktur yang homolog dengan IgG pada mamalia. Immunoglobulin dibuat dan disekresikan oleh sel plasma di limpa, limfonodus, dan sumsum tulang. Immunoglobulin G ditemukan dalam jumlah paling besar di dalam darah, sehingga memiliki peranan penting dalam mekanisme perlawanan terhadap infeksi patogen (Umar *et al.* 2017, Wu *et al.* 2017, Dong *et al.* 2016). Menurut Wasti *et al.* (2020) respon imun ayam mengalami penurunan pada saat mengalami stress, ditunjukkan dengan menurunnya produksi antibodi dan jumlah leukosit.

Tabel 4 Efek suplementasi bromelain terhadap hematologi darah dan IgY

Perlakuan	Eritrosit (x10 ⁶ mm ⁻³)	Leukosit (x10 ³ mm ⁻³)	Hemoglobin (%)	Hematokrit (%)	IgY (ng mL ⁻¹)
T0	2,85 ± 0,25	11,16 ± 2,33	10,56 ± 1,03	26,13 ± 1,63	26,48±3,59 ^b
T1	2,75 ± 0,23	14,45 ± 2,66	10,09 ± 0,39	24,60 ± 0,76	25,83±3,45 ^b
T2	2,78 ± 0,35	14,06 ± 2,32	10,23 ± 0,65	23,17 ± 1,66	64,76±13,18 ^a
T3	2,93 ± 0,45	12,83 ± 2,02	10,17 ± 1,09	24,97 ± 1,49	69,18±25,21 ^a
Referensi*	2,50-3,50	12,00-30,00	7,00-13,00	22,00-35,00	-

T0: tanpa bromelain (Kontrol), T1: T0 + bromelain 0,025%, T2: T0 + bromelain 0,050% dan T3: T0 + bromelain 0,075%.; a, b Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (p<0,05); ng mL⁻¹ = nanogram per mililiter; mm = milimeter, *) Jain (1993).

SIMPULAN

Suplementasi bromelain sebanyak 0,050% dapat meningkatkan imunitas ayam dengan ditandai meningkatnya kandungan IgY di serum darah dan menurunkan kadar kolesterol darah.

DAFTAR PUSTAKA

- Adewole FA, Egbeyale LT, Ekunseitan DA, Bello KO, Lala OA & Famakinde SA. 2021. Effect of strain and sex on haematological and serum biochemical indices of tropical indigenous chickens. *Nigerian Journal of Animal Production* 48 (2): 18-26.
- Agrawal P, Nikhade P, Patel A, Mankar N & Sedani S. 2022. Bromelain: a potent phytomedicine. *Cureus* 14(8): e27876. <https://doi.org/10.7759/cureus.27876>
- Chen CH, Hsia CC, Hu PA, Yeh CH, Chen CT, Peng CL, Wang CH, & Lee TS. 2022. Bromelain ameliorates atherosclerosis by activating the TFEB-Mediated autophagy and antioxidant pathways. *Antioxidants* 12(1): 72. <https://doi.org/10.3390/antiox12010072>
- Chakraborty AJ, Mitra S, Tallei TE, Tareq AM, Nainu F, Cicia D, Dhama K, Emran TB, Simal-Gandara J & Capasso R. 2021. Bromelain a potential bioactive compound: a comprehensive overview from a pharmacological perspective. *Life* 11(4): 317. <https://doi.org/10.3390/life11040317>
- Clinical Diagnostic Division. 1990. *Veterinary Reference Guide*. New York (US): Eastman Kodak Company
- Dave S, Kaur NJ, Nanduri R, Dkhar HK, Kumar A & Gupta P. 2012. Inhibition of adipogenesis and induction of apoptosis and lipolysis by stem bromelain in 3T3-L1 adipocytes. *PLoS One*. 7(1): e30831.
- Dong XY, Azzam MMM, & Zou XT. 2016. Effects of dietary L-isoleucine on laying performance and immunomodulation of laying hens. *Poultry Science* 00:1-9. <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pew163>
- Gomperts BD, Kramer IM & Tatham PER. 2009. *Signal Transductions*. San Diego (US) : Elsevier
- Harlap SY, Kadirov NN, Gorelik LS, Meshcheryakova GV, & Mukhamedyarova LG. 2021. Age-related variability of indicators of protein metabolism in the blood of laying hens. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 677 (2021) 042019. IOP Publishing Ltd.
- Hendarto T & Budiyanto D. 2022. Anticholesterol bioactive peptides from bromelain hydrolysates of mangrove sonneratia alba protein. *International Journal of Multidisciplinary Research and Analysis* 5 (12):3589-3597. <https://doi.org/10.47191/ijmra/v5-i12-39>
- Hossain MM, Lee SI, & Kim IH. 2015. Effects of bromelain supplementation on growth performance, nutrient digestibility, blood profiles, faecal microbial shedding, faecal score and faecal noxious gas emission in weanling pigs. *Veterinarni Medicina*, 60(10): 544-552. <https://doi.org/10.17221/8493-VETMED>
- Hu PA, Chen CH, Guo BC, Yu RK & Lee TS. 2020. Bromelain confers protection against the non-alcoholic fatty liver disease in male C57BL/6 mice. *Nutrients* 12(5): 1458 doi:10.3390/nu12051458
- Jain NC. 1993. *Essential of Veterinary Hematology*. Philadelphia.(US): Lea & Febiger.
- Ketnawa S, Chaiwut P & Raudkeun S. 2012. Pineapple wastes: a potential source for bromelain extraction. *Food and Bioprocess Processing*.90 (3): 385-391 <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2011.12.006>
- Kritis P, Karampela I, Kokoris S & Dalamaga M. 2020. The combination of bromelain and curcumin as an immune-boosting nutraceutical in the prevention of severe COVID-19. *Metabolism Open* 8 : 100066. <https://doi.org/10.1016/j.metop.2020.100066>
- Li GM, Liu LP, Yin B, Liu YY, Dong WW, Gong S, Zhang J, & Tan JH. 2020. Heat stress decreases egg production of laying hens by inducing apoptosis of follicular cells via activating the FasL/Fas and TNF- α systems. *Poultry Science*. 99 (11): 6084-6093 <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.07.024>
- Lien TF, Cheng YH & Wu CP. 2012. Effects of supplemental bromelain on egg production and quality, Serum and liver traits of laying hens. *Journal of Animal Science Advances*, 2(4): 386-391.
- Liu Z, Sun C, Yan Y, Li G, Shi F, Wu G, Liu A & Yang N. 2018. Genetic variations for egg quality of chickens at late laying period revealed by genome-wide association study. *Science Report*. 8:10832
- Pawar SS, Sajjanar B, Lonkar VD, Kurade NP, Kadam AS, Nirmal AV, Brahmene MP & Bal SK. 2016. Assessing and mitigating the impact of heat stress on poultry. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. 4(6): 332-341.
- Sastradipraja D, Sikar SHS, Wijayakusuma R, Ungerer T, Maad A, Nasution H, Suriawinata R & Hamzah R. 1989. Penuntun Praktikum Fisiologi Veteriner. Pusat Antar Universitas Ilmu Hayati. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor
- Sahbaz A, Aynioglu O, Isik H, Ozmen U, Cengil O, Gun BD & Gungorduk K. 2015. Bromelain: a natural proteolytic for intra-abdominal adhesion prevention. *International Journal of Surgery* 14: 7-11. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijisu.2014.12.024>
- Swenson MJ, & William OR. 1993. *Duke's Physiology of Domestic Animals*. Ed ke-11. Ithaca and London. (US): Publishing Associates a Division of Cornell University,
- Trinder P. 1969. Recommended method for the determination of cholesterol and triglyceride in blood. *Annals of Clinical Biochemistry* 6: 24-27.
- Tao Y, Wang T, Huang C, Lai C, Ling Z, Zhou Y & Yong Q. 2021. Production performance, egg quality, plasma biochemical constituents and lipid metabolites of aged laying hens supplemented with incomplete degradation products of galactomannan. *Poultry Science* 100 (80):101296. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101296>
- Umar S, Munir MT, Ahsan U, Raza I, Chowdhury MR, Ahmed Z & Shah MAA. 2017. Immunosuppressive interactions of viral diseases in poultry. *World's Poultry Science Journal* 73 (1) :121-135. doi:10.1017/S0043933916000829
- Varilla C, Marcone M, Paiva L & Baptista J. 2021. Bromelain, a group of pineapple proteolytic complex enzymes (ananas comosus) and their possible therapeutic and clinical effects. A summary. *Foods* 10 (10) :2249. <https://doi.org/10.3390/foods10102249>
- Wasti S, Sah N & Mishra B. 2020. Impact of heat stress on poultry health and performances, and potential mitigation strategies. *MDPI. Animals* 10 (8): 1266 doi:10.3390/ani10081266
- Wu YN, Yan FF, Hu JY, Chen H, Tucker CM, Green AR & Cheng HW. 2017. The effect of chronic ammonia exposure on acute-phase proteins, immunoglobulin, and cytokines in laying hens. *Poultry Science* 96 (6): 1524-1530 <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pew454>
- Yenice G, Iskender H, Dokumacioglu E, Kaynar O, Kaya A, Hayirli A, dan Sezmis G. 2019. Dietary bromelain supplementation for improving laying performance, egg quality and antioxidant status. *European Poultry Science* 83: 1-16. <https://doi.org/10.1399/eps.2019.272>
- Yokoi K, Kobayashi F, Sakai J, Usui M & Tsuji M. 2002. Sandwich ELISA detection of excretory-secretory antigens of toxocara canis larvae using a specific monoclonal antibody. *The Southeast Asian journal of Tropical Medicine and Public Health* 33 (1) :33-37
- Zainudin MN & Wahid A. 2019. Dietary bromelain improves nutrient digestibility, digesta viscosity and intestinal villus height as well as reduces intestinal *E. coli* population of broiler chickens. *Malaysia Journal of Animal Science* 22: 1-16.