

Waktu Produksi *Yolk Immunoglobulin* (IGY) Kuning Telur Ayam yang Diimunisasi *Streptococcus mutans*

Mufidana Azis*, Dhinintya Hyta N.*, Aurita Siwi R.*, Kristiyani Dwi M.***, Norma Dias L.*, dan Juni Handajani**

* Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

**Bagian Biologi Mulut, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada

***Jl Denta no 1 Sekip Utara Yogyakarta, email: junihandajani@yahoo.com

ABSTRAK

Prevalensi karies di Indonesia menunjukkan angka yang tinggi. Karies diketahui sebagai penyakit multifaktorial rongga mulut yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus mutans*. Salah satu metode terbaru pencegahan karies gigi, yaitu, melalui imunisasi pasif menggunakan antibodi kuning telur ayam (*Yolk Immunoglobulin/IgY*). Beberapa penelitian menunjukkan waktu produksi IgY bervariasi dengan perbedaan teknik pengujian. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan untuk memproduksi IgY kuning telur ayam yang diimunisasi *S. mutans*. Metode penelitian menggunakan 4 ekor ayam Hysex Brown sebagai kelompok perlakuan dan 1 ekor ayam sebagai kontrol. Suspensi *S. mutans* diinjeksikan pada ayam saat minggu pertama hari ke-1,2,3, kemudian ditambahkan Freund Adjuvant pada minggu ke-2 hingga minggu ke-4. Koleksi kuning telur ayam dilakukan mulai minggu ke-2 setelah imunisasi. Untuk mengetahui efektivitas vaksinasi dan keberadaan *S. mutans*, kuning telur ayam selanjutnya diuji dengan AGPT (*Agar Gel Precipitation Test*) dan hasilnya dinyatakan positif apabila terbentuk presipitasi diantara sumuran antigen dan antibodi. Hasil penelitian menunjukkan hasil positif pada kuning telur ayam minggu ke-5. Disimpulkan bahwa waktu yang dibutuhkan untuk produksi IgY spesifik *S. mutans* pada kuning telur ayam mulai minggu ke-5 setelah imunisasi.

Maj Ked Gi. Juni 2013;20(1) : 31 - 34.

Kata kunci: waktu produksi, *yolk immunoglobulin* (IgY), kuning telur ayam, *Streptococcus mutans*.

ABSTRACT: Production Time of Yolk Immunoglobulin (Igy) Yellow Chicken Egg Immunized with *Streptococcus mutans*. Dental caries prevalence in Indonesia appears in high rate. Caries is known as a multifactorial disease in oral cavity caused by *Streptococcus mutans* bacteria. The latest method to prevent dental caries is through passive immunization using chicken yolk antibody (*Yolk Immunoglobulin/IgY*). Some researches showed the variation of IgY production time using different testing technique. The purpose of this research is to determine the time required to produce IgY chicken yolk immunized by *S. mutans*. For the method, this research uses 4 chickens of Hysex Brown as the treatment group and a chicken as the control. *S. mutans* suspension is injected to the chicken from 1st, 2nd, and 3rd day in the first week; Freund Adjuvant was added in the 2nd till 4th weeks. Collection of chicken yolk was started at 2nd week after immunization. The chicken yolk then was tested using Agar Gel Precipitation Test (AGPT) to know the effectiveness of vaccination and the existence of *S. mutans*. The result of the test can be positive if it forms precipitation between antigen and antibody wells. The result has shown a positive response in chicken yolk in the 5th week. From the test, it can be concluded that the time required for the production of IgY specific against *S. mutans* in chicken yolk is in the beginning of 5th week after immunization.

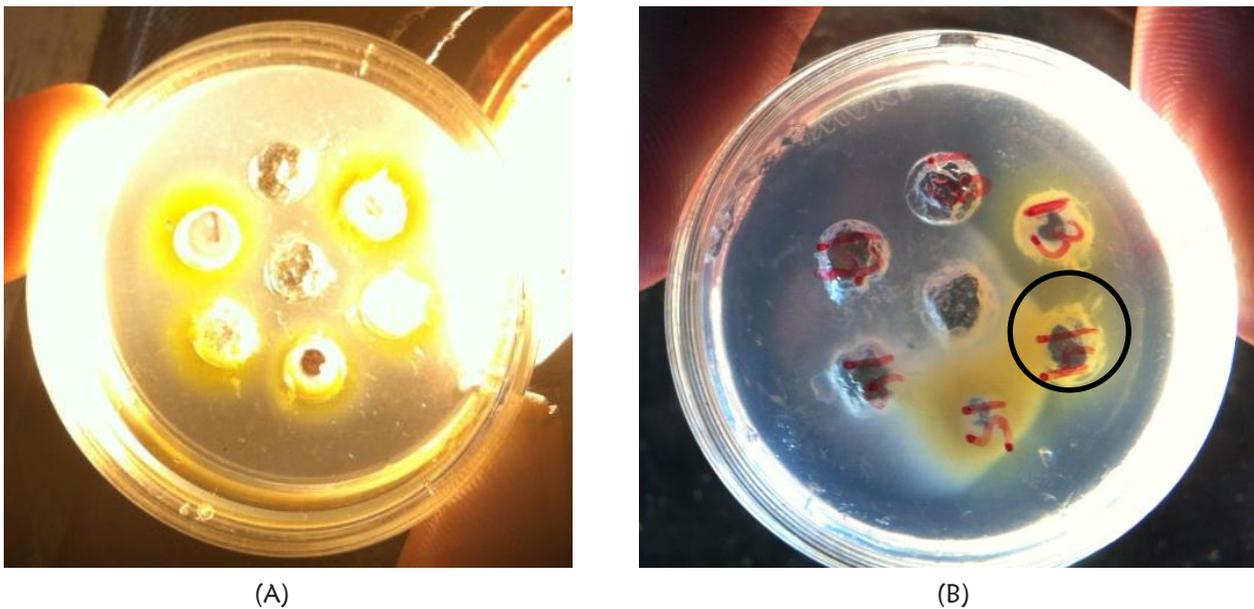
Maj Ked Gi. Juni 2013;20(1): 31 - 34

Keywords: time production, *yolk immunoglobulin* (IgY), chicken yolk, *Streptococcus mutans*.

PENDAHULUAN

Memasuki abad ke-21, dunia mengalami masalah pandemik yang cukup serius mengenai penyakit karies gigi terkait peningkatan jumlah penderita dari masa ke masa. Menurut Bagramian,¹ di Amerika Serikat, data menunjukkan bahwa terdapat prevalensi dental karies sekitar 50% pada anak 5 hingga 9 tahun, dan prevalensi tersebut

meningkat menjadi 78% pada usia 17 tahun ke atas. Riset Kesehatan Dasar (Riskesmas) tahun 2007 oleh Departemen Kesehatan RI menunjukkan bahwa kerusakan gigi karena karies dialami oleh 72,1% penduduk, 46,5% merupakan karies aktif yang tidak mendapatkan perawatan. Bagramian¹ menyatakan permasalahan karies gigi harus mendapatkan perhatian dan dicarikan solusinya karena karies



Gambar 1. Hasil uji agar gel presipitation (AGPT) menunjukkan reaksi negatif pada telur minggu ke-2 dan ke-3 (A). Hasil positif dengan adanya presipitasi (lingkaran) tampak pada telur minggu ke-5 (B).

gigi dapat berdampak negatif terhadap penyakit sistemik.

Karies diketahui sebagai penyakit multifaktorial rongga mulut. Penyakit ini diawali proses perlekatan (*adhesi*) bakteri *Streptococcus mutans* pada permukaan gigi. Pencegahan terhadap *adhesi* *S. mutans* merupakan upaya preventif yang dapat menurunkan tingginya angka karies gigi. Salah satu metode terbaru dalam melakukan tindakan preventif karies gigi adalah dengan menghambat aktivitas *adhesi* antigenik patogen melalui imunisasi pasif menggunakan antibodi kuning telur ayam (IgY). Penelitian Rajan *et al.*,² diperoleh data bahwa antibodi kuning telur spesifik terhadap *S. mutans*, sehingga mampu mencegah terjadinya perkembangan karies gigi melalui imobilisasi dan penekanan potensi perlekatan biofilm bakteri.

METODE PENELITIAN

Produksi IgY Spesifik *S. mutans* dalam Telur. Produksi antibodi menggunakan 5 ekor ayam petelur (*Hysex Brown*-merek dagang) berumur 14-

15 minggu yang siap bertelur dalam 4 minggu ke depan. Ayam sebanyak 4 ekor diberi perlakuan, dan 1 ekor ayam sebagai kontrol. Sebanyak 4 ayam diimunisasi dengan 0,5 ml (10^9 CFU) suspensi *S. mutans* secara intramuskular pada minggu pertama selama tiga hari, yaitu hari ke-1, 2, dan 3.⁴ Kemudian dilanjutkan dengan imunisasi minggu ke-2 dengan 1 ml (10^9 CFU) suspensi bakteri *S. mutans* dalam *Freund adjuvant complete* secara intraperitoneal, serta imunisasi minggu ke-3 dan 4 dengan 1 ml suspensi *S. mutans* (10^9 CFU) dalam *Freund Adjuvant Incomplete* secara intraperitoneal. Satu minggu setelah imunisasi terakhir, dilakukan koleksi telur untuk diperiksa keberadaan antibodi telur. Untuk melakukan identifikasi keberadaan IgY spesifik *S. mutans* dalam kuning telur, digunakan Uji *agar gel precipitation test* (AGPT).³

Ekstraksi Imunoglobulin Y (IgY) dari Kuning Telur dengan Teknik Purifikasi Sederhana.

Kuning telur dipisahkan dari putih telur, kemudian diletakkan di atas kertas saring. Satu bagian kuning telur ditampung ke dalam tabung *conical centrifuge tube*, kemudian ditambahkan 2 bagian PBS pH 7.5 sampai 7.6. Campuran dalam *conical centrifuge tube*

tersebut dihomogenkan dengan *vortex*, kemudian disentrifus dengan kecepatan 2.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang dihasilkan digunakan dalam Uji *agar gel presipitation test* (AGPT).³

Uji Agar Gel Presipitation Test. Agar gel dibuat dengan melarutkan 0,4 g *agarose* dan 1,2 g PEG 6.000, dalam 20 ml PBS 0,5 M pH 7,4 dan 20 ml *aquadest* pH 7,4. Larutan ini ditangas pada air mendidih sampai larut dan warna larutan menjadi jernih. Agar cair dituang dengan pipet sebanyak 3 ml ke dalam *petridish* diameter 35mm dan ditunggu sampai mengeras. Lubang-lubang dibuat di atas agar dengan menggunakan alat gel *puncher*. Lubang tengah diisi dengan 25 μ l antigen *S. mutans* sedangkan lubang di sekitarnya diisi dengan 25 μ l kuning telur yang telah dipurifikasi sederhana. *Petridish* diletakkan di atas kertas saring basah supaya terjaga kelembabannya. Reaksi dibaca setelah 18 – 48 jam, reaksi positif ditunjukkan dengan adanya garis presipitasi diantara sumur antigen dan kuning telur.⁵

HASIL PENELITIAN

Hasil Uji *Agar Gel Presipitation* (AGPT) menunjukkan waktu produksi IgY mulai minggu ke-5. Hal ini diketahui dari hasil positif yang ditunjukkan dengan adanya presipitasi (lingkaran) tampak pada telur minggu ke-5 seperti ditampilkan pada Gambar 1.

PEMBAHASAN

Produksi IgY spesifik *S. mutans* dilakukan dengan imunisasi pasif menggunakan suspensi *S. mutans* pada minggu ke-1 secara intravena, penambahan *freund adjuvant complete* pada minggu ke-2 secara intraperitoneal, dan *freund adjuvant incomplete* pada minggu ke-3 dan ke-4 secara intraperitoneal. Penambahan *freund adjuvant* baik *complete* dan *incomplete* bertujuan untuk memperpanjang persistensi antigen, meningkatkan sinyal *co-stimulatory*, menginduksi formasi granuloma dan merangsang proliferasi non spesifik.⁶ Menurut Hay dan Westwood,⁷ antigen lebih bersifat imunogen saat dilarutkan bersama atau dengan adjuvant. Maka, selanjutnya imunisasi pasif dalam telur ayam

akan menghasilkan antibodi spesifik *S. mutans*, yaitu immunoglobulin Y (IgY) anti *S. mutans*.

Supaya bisa dilakukan Uji *Agar Gel Presipitation Test* (AGPT), kuning telur ayam harus dipisahkan dari putih telurnya karena IgY merupakan suatu protein yang terdapat pada kuning telur. Kuning telur yang mengandung IgY anti *S. mutans* harus diencerkan terlebih dahulu dengan menggunakan PBS agar presipitasi dapat terbentuk dan bereaksi dengan antigen *S. mutans*.

Immunoglobulin Y (IgY) spesifik *S. mutans* pada telur telah diidentifikasi menggunakan Uji *Agar Gel Presipitation Test* (AGPT) sebagai uji kualitatif. Ayam petelur mulai memproduksi pada umur 4,5-5,0 bulan, atau sekitar 18-20 minggu,⁸ sehingga telur yang dikoleksi pertama merupakan telur produksi pertama pula dari ayam tersebut. Keberadaan IgY spesifik *S. mutans* dapat terdeteksi dengan adanya garis presipitasi diantara sumur antigen dengan sumur antibodi kuning telur. IgY spesifik *S. mutans* belum terdeteksi pada minggu pertama hingga minggu keempat setelah imunisasi terakhir. Setelah dilakukan pengulangan imunisasi (*booster*), satu minggu kemudian terdeteksi adanya IgY spesifik *S. mutans* pada kuning telur atau tepatnya pada minggu kelima setelah imunisasi terakhir. *Booster* ini menggunakan prinsip respon kekebalan primer dan sekunder. Pemaparan awal ke antigen A merangsang kekebalan primer, yang berakhir dengan produksi antigen tersebut. Pemaparan berikutnya (kedua) dengan antigen A menghasilkan respon yang lebih cepat dan lebih besar.⁹ Pada imunisasi persiapan antibodi anti *S. mutans* pada ayam mungkin anti *S. mutans* sudah terbentuk, namun belum ditransfer ke telur ayam, karena respon kekebalan primer ini berlangsung sangat cepat, maka saat telur minggu pertama sampai keempat diuji dengan AGPT maka hasilnya negatif. *Booster* disini digunakan untuk merangsang respon kekebalan sekunder yang berlangsung lebih cepat dan lebih besar. Maka setelah dilakukan *booster*, telur ayam minggu kelima positif terhadap uji AGPT, dengan tampak garis presipitasi diantara sumur antigen dengan sumur antibodi.

KESIMPULAN

Untuk mengidentifikasi immunoglobulin Y (IgY) spesifik *S. mutans* secara kualitatif dapat menggunakan AGPT. Pembentukan immunoglobulin Y (IgY) spesifik *S. mutans* pada telur ayam Hysex terjadi pada minggu kelima setelah imunisasi pasif.

DAFTAR PUSTAKA

1. Bagramian RA, Garcia-Godoy F, Volpe AR. The global increase in dental caries: a pending public health crisis. *American Journal of Dentistry*. 2009; 21(1): 3-8.
2. Rajan S, S Karthika, A Michael, Gandhimathi. Generation of egg yolk antibodies in chicken (igy) against streptococcus mutans and its in vitro neutralization efficacy. *Archives of Applied Science Research*. 2011; 3(5): 404-12.
3. Poetri ON, Soejoedono RD. Produksi antibodi kuning telur (igy) anti streptococcus mutans sebagai anti karies gigi. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 2006; 11(3): 6-10.
4. Carlander D. Avian IgY Antibody: In vitro and in vivo [disertasi]. Stockholm : Acta Universitatis Upsaliensis; 2002.
5. Darmawi. Antigen ekskretori/sekretori stadium I₃ ascaridis galli sebagai pemicu pembentukan immunoglobulin yolk (igy) pada ayam petelur [disertasi]. Bogor: Sekolah Pasca Sarjana IPB; 2007.
6. Kuby J. Immunology. Ed 3. New York: WH Freeman and Company; 1997.
7. Hay FC, Westwood OMR. Practical Immunology. Ed 4. United Kingdom: Blackwell Publishing Company. 2002.
8. Sudarmono AS. Pedoman pemeliharaan ayam ras petelur. Yogyakarta : Penerbit Kanisius; 2007.
9. Campbell, Reece, Mitchell. Biologi. Ed 5. Jakarta: Erlangga; 2004.