

## PROSPEK PEMANFAATAN TELUR AYAM BERKHASIAT ANTI VIRUS AVIAN INFLUENZA DALAM USAHA PENGENDALIAN INFEKSI VIRUS FLU BURUNG DENGAN PENDEKATAN PENGEBALAN PASIF

Wibawan IWT<sup>1\*)</sup>, RD Soejoedono<sup>1)</sup>, S Murtini<sup>1)</sup>, IGK Mahardika<sup>2)</sup>

### ABSTRACT

#### THE PROSPECT OF USE OF CHICKEN EGG CONTAINING SPECIFIC ANTIBODY AGAINST BIRD FLU VIRUS IN PASSIVE IMMUNIZATION

Production of polyclonal antibody against avian influenza type H5N1 and H5N2 was done in horse, cavia and chicken using respective commercial avian influenza vaccine. The presence of specific antibody in sera as well as egg yolk was detected with haemagglutination inhibition test (HI) and agar gell precipitation test (AGPT). One week after first vaccination the presence of specific antibody in chicken sera could be detected in HI test with titer  $2^2-2^4$  using homolog antigen. The titer value discrepancy of 1–2 digits was detected using heterolog antigen. The titer of antibody increase significantly after booster treatment, in horse sera with HI value  $2^4$ ,  $2^5-2^9$  in cavia and  $2^5-2^7$  in chicken sera. The purification of IgG and IgY was done using affinity chromatography technique. Cavia Ig G had neutralization ability to AI virus H5N1 isolate 2005 with the titer of  $10^4$  EID 50 was 1,3. This indicated that by the dilution of sera  $10^{1,3}$ , could neutralize 50% of the AI virus with titer of  $10^4$  EID 50. Egg yolk containing specific antibody with the same titer could neutralize all viral particles used in the assay (100%). Using spray dried egg yolk containing antibody with titer  $10^{1,3}$  could neutralize 50% of AI virus  $10^4$  EID 50, and titer antibody of  $10^{1,5}$  neutralized 80% of AI virus  $10^4$  EID 50. These results indicated a good prospect of using chicken egg for the production specific antibody (IgY) against AI virus and could be used in the passive immunization.

**Keywords:** egg yolk, passive immunization, specific IgY against AI virus H5N1

### ABSTRAK

Produksi antibodi poliklonal dalam serum kuda, serum ayam petelur, kuning telur dan pada serum marmot telah dapat dilakukan dengan menyuntikkan antigen virus H5N1 dan H5N2 yang dikemas dalam bentuk vaksin. Pemunculan dan titrasi antibodi di dalam serum mamalia dan unggas dideteksi dengan teknik *haemagglutination inhibition test* (HI-test) dan teknik presipitasi Agar Gel Presipitation Test (AGPT). Antibodi dalam serum dan kuning telur telah dapat dideteksi pada 1 minggu setelah penyuntikan vaksin pertama dengan nilai titer  $2^2-2^4$  menggunakan antigen homolognya. Titer antibodi dengan antigen heterolognya lebih rendah 1–2 digit. Peningkatan titer antibodi terjadi setelah dilakukan *booster* (penyuntikan vaksin kedua), pada serum kuda titer antibodi  $2^4$ , pada serum dan kuning telur berkisar antara  $2^5-2^7$ , sedangkan pada serum marmot titer antibodi  $2^5-2^9$  dengan antigen homolognya. Pada penelitian selanjutnya dilakukan pemurnian antibodi spesifik terhadap virus AI H5N1 dari kuning telur (IgY). Ig G asal marmot memiliki kemampuan menetralkan virus AI, H5N1 isolat 2005 dengan titer  $10^4$  EID 50 adalah 1,3; jadi pada

pengenceran serum  $10^{1,3}$  mampu menetralisasi virus AI  $10^4$  EID 50 sebesar 50%. Kuning telur dengan titer yang sama memiliki kemampuan menetralkan virus dengan titer  $10^4$  EID 50 sebanyak 100%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kuning telur yang telah *dispray dry* dengan titer  $10^{1,3}$  mampu menetralkan virus AI  $10^4$  EID 50 sebesar 50%, pada  $10^{1,5}$  mampu menetralisasi virus AI  $10^4$  EID 50 sebesar 80%. Hasil ini menunjukkan bahwa kuning telur yang mengandung IgY meskipun dikeringkan masih dapat menetralkan virus AI  $10^4$  EID 50 sebesar 80%.

**Kata kunci:** IgY spesifik terhadap virus AI H5N1, imunisasi pasif, kuning telur

### PENDAHULUAN

Zat kebal terhadap berbagai penyakit, yang ada dalam darah ayam dapat ditransfer secara efektif ke dalam kuning telurnya. Secara alamiah hal ini ditujukan untuk melindungi anak ayam dari infeksi penyakit, kekebalan yang diperoleh anak ayam ini kemudian dikenal dengan *maternal antibody*.

Sistem imun ayam sangat responsif terhadap protein asing atau mikroorganisme yang memaparnya, baik sebagai akibat vaksinasi ataupun infeksi alam. Carlander (2002) menyatakan, ayam memiliki sensitivitas tinggi terhadap

<sup>1)</sup> Fakultas Kedokteran Hewan IPB, Jl Agatis Darmaga Bogor 16680.

<sup>2)</sup> Fakultas Kedokteran Hewan, UNUD, Kampus Bukit, Denpasar Bali

\*) Penulis korespondensi: 02518629469

protein asing, sehingga dengan jumlah sedikit dapat memberikan respon pembentukan antibodi. Keberadaan kelenjar *Hadrian* di daerah nasotrakheal dan *Bursa Fabricius* memungkinkan unggas sangat responsif terhadap berbagai protein asing (Coleman 2000). Secara filogenik, antara ayam dan mamalia terdapat jarak yang jauh yang menyebabkan aviditas antibodi ayam lebih tinggi terhadap protein mamalia dibandingkan aviditas antibodi mamalia terhadap protein mamalia. Antibodi ayam dapat mengenali lebih banyak epitop antigenik pada antigen mamalia. Produksi  $Ab_2$  pada ayam juga sangat menguntungkan karena respons imun unggas (ayam) terbukti persisten. Antigen mamalia yang disuntikkan pada ayam mampu menginduksi titer IgY yang tinggi dan bertahan lama pada telur (Gassmann, *et al.* 1990).

Selain itu, IgY dapat diperoleh dari telur tanpa harus menyakiti hewan dan jumlah antibodi yang dihasilkan lebih banyak. Ayam biasanya bertelur 5 sampai 6 butir per minggu dan sebutir kuning telur yang mempunyai volume 15ml rata-rata mengandung 50–100mg IgY, dengan 2% sampai 10% adalah antibodi spesifik (Schade, *et al.* 1996). Keunggulan lainnya, karena pemeliharaan ayam lebih mudah dan murah.

Tujuan dari penelitian ini adalah memproduksi IgY anti virus Flu Burung dalam telur ayam, Memproduksi IgG anti virus Flu Burung dalam serum kuda, Mempelajari efikasi (khasiat) IgY dan IgG spesifik AI sebagai pengebalan pasif, salah satu cara penanganan kasus AI pada manusia Dan Menentukan dosis dan cara aplikasi IgY dan IgG yang efektif agar memiliki khasiat yang tinggi terhadap infeksi virus AI.

## BAHAN DAN METODE

### Vaksin Avian Influenza

Dalam penelitian ini digunakan vaksin AI mati homolog (H5N1) dan vaksin mati heterolog (H5N9). Kedua jenis vaksin ini digunakan untuk melihat perbedaan efikasi IgY dan IgG yang dihasilkannya.

### Produksi IgY Anti Virus Flu Burung pada Telur Ayam

Produksi IgY anti flu burung dalam telur ayam dilakukan dengan menyuntik 1ml suspensi vaksin ( $10^9$  HA) secara intra muskular dan diulang 2 minggu setelah penyuntikan pertama pada 50 ekor ayam betina dewasa (tipe *large size hens*) siap bertelur (umur 20 minggu) yang dipelihara dalam kandang baterai dan diberi makanan komersial standar. Jika titer antibodi tinggi dalam darah, maka telur yang dihasilkan dikoleksi dan disimpan untuk penelitian selanjutnya (Soejoedono, Wibawan 2005).

### Produksi IgY Anti Virus Flu Burung pada Serum Kuda

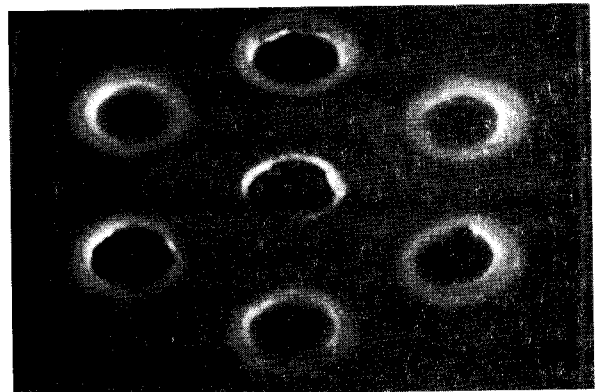
Produksi IgG anti virus Flu Burung pada serum kuda dilakukan dengan menyuntik 1ml suspensi vaksin ( $10^9$  HA) tanpa adjuvant intra vena selama lima hari berturut-turut, kemudian dilanjutkan dengan rute subkutan dengan vaksin inaktif beradjuvant dan diulang 2 minggu setelah penyuntikan pertama terhadap seekor kuda dewasa umur 2 tahun. Jika titer antibodi tinggi dalam darah, maka serum dikoleksi dan disimpan untuk penelitian selanjutnya (Soejoedono, Wibawan 2005).

### Penentuan Titer IgY dan IgG

Penentuan titer antibodi spesifik dalam telur dan serum darah dilakukan dengan teknik *HI test* dan AGPT. Hal ini dilakukan untuk melihat masa panen telur dan serum kuda, serta penentuan waktu booster berikutnya.

### Purifikasi IgY dari Kuning Telur

Purifikasi IgY dari kuning telur dilakukan dengan *Promegas EGGstarct IgY purification system*. Telur dipecahkan, dan kuning telur dipisahkan dengan menggunakan *egg separator*. Pemisahan lemak telur dan pengendapan IgY dilakukan sesuai dengan prosedur pabrik (Gambar 1). Sebagai pembanding dilakukan juga pemurnian IgG serum kuda menggunakan Protein A-Sepharose (Wibawan 1993; Soejoedono, Wibawan 2005).



Gambar 1 Uji Presipitasi untuk Menentukan Keberadaan Antibodi Spesifik H5N1 pada Serum Kuda. Garis Presipitasi Menunjukkan Adanya Reaksi Spesifik antara Antibodi dengan Antigen Homolognya

### Identifikasi Kemurnian IgY dan IgG

Identifikasi kemurnian Ig Y ditentukan secara fotometrik ( $\lambda=280\text{nm}$ ) dan analisis pita protein dengan *sodium dodecylsulphate polyacrylamide gel electrophoresis* (SDS-PAGE) dan diwarnai dengan *Fast Coomassie® Stain*. Kandungan protein IgY ditentukan dengan metode *Lowry* yang umum dipakai.

### Aktivitas Hayati Biologis IgY

Aktivitas biologis IgY dan IgG diuji terhadap pengaruh pH, panas dan enzim pencernaan seperti pepsin dan trypsin. Pengujian ini dilakukan berkaitan dengan kemungkinan aplikasi secara per oral.

#### Pengaruh pH.

IgY dan IgG diinkubasikan ke dalam larutan HCl pH 2, 3, 4, dan 5 selama 30 menit, kemudian dikembalikan ke pH normal (7-7,5) dan diuji aktivitasnya dengan uji netralisasi (Soejoedono, Wibawan 2005).

#### Pengaruh Panas

Pengujian ketahanan IgY dan IgG terhadap panas dilakukan dengan merebus telur pada berbagai tingkatan suhu antara 80°C dan 100°C pada selang waktu 5-15 menit (Soejoedono, Wibawan 2005).

#### Pengaruh Enzim

Pengujian aktivitas IgY dan IgG setelah pemberian enzim pepsin dan trypsin dilakukan dengan uji penetralan (Soejoedono, Wibawan 2005).

### Prospek Efikasi dengan Aplikasi Parental (Suntik)

Aplikasi secara suntik kemungkinan akan memberikan hasil yang lebih baik dan efektif bila dibandingkan dengan cara pesoral. Cara pemberian lewat suntikan adalah menghindari IgY dan IgG dari efek panas, pH dan reaksi enzimatik dalam saluran cerna adalah pengujian dilakukan secara *in vitro* menggunakan *serum neutralization test* (SNT) dan pengukuran titer protektif, secara *in vivo* dilakukan dengan menggunakan telur embrio tertunas (TET) (metode *in ovo*). Sebanyak masing-masing 10 butir telur tertunas diinokulasi IgY atau IgG berbagai tingkat titer antibodi 2<sup>2</sup>-2<sup>6</sup>, kemudian masing-masing ditantang dengan virus AI dengan dosis LD50. Efikasi IgY dan IgG yang digunakan dilihat dari jumlah embrio yang bertahan hidup setelah penantangan dan 10 butir TET tanpa IgY dan IgG digunakan sebagai kontrol. Antibodi aktif (IgY dan IgG) dikemas dalam bentuk prototipe produk. Jika memungkinkan, uji efikasi dilakukan dengan menggunakan hewan coba (marmot) pada laboratorium BSL3 (PT Medion, Bandung). Setelah pemberian perlakuan (peroral maupun parenteral dengan menggunakan serum spesifik terhadap H5), ditantang dengan virus H5N1. Gejala klinis dan kematian (*mortalitas*) dicatat dan dievaluasi sebagai indikator efikasi serum H5.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Produksi IgG dan IgY

Kuda, marmot, dan ayam petelur berespons sangat baik terhadap antigen vaksin virus H5N1 dan H5N9 yang disuntikkan. Pembentukan antibodi spesifik terhadap H5N1 dan H5N9 telah dapat dideteksi dengan uji HI pada minggu pertama setelah penyuntikan pertama dan titer antibodi semakin tinggi setelah dilakukan *booster* (penyuntikan vaksin kedua dan ketiga atau seterusnya).

Antibodi terhadap virus AI H5N1 dalam serum kuda dan marmot belum dapat dideteksi pada minggu pertama setelah penyuntikan; pada serum dan kuning telur ayam antibodi terdeteksi dengan uji HI dengan kisaran nilai titer 2<sup>2</sup>-2<sup>4</sup> menggunakan antigen homolognya. Titer antibodi dengan antigen heterolognya lebih rendah 1-2 digit. Peningkatan titer antibodi terjadi setelah dilakukan booster (penyuntikan vaksin kedua dan ketiga dan seterusnya), pada serum kuda dengan uji HI titer antibodi spesifik H5N1 adalah 2<sup>4</sup>, 2<sup>6</sup>, 2<sup>6</sup>, 2<sup>9</sup>, dan 2<sup>11</sup> masing-masing untuk serum hasil penyuntikan ke 2, 3, 4, 5 yang dilakukan secara intra vena menggunakan virus inaktif 10<sup>6</sup> HAU, dan vaksinasi ke 6 digunakan 1ml vaksin inaktif H5N1 *reverse genetic Shigeta-IPB* dan vaksin dari PT Vaksindo. Titer IgY pada kuning telur adalah 2<sup>5</sup>-2<sup>7</sup>, pada serum marmot titer antibodi IgG adalah 2<sup>5</sup>-9 dengan antigen homolognya, seperti hasil sebelumnya dengan antigen hetero-lognya lebih rendah 1-2 digit (Tabel 1).

Tabel 1 Nilai titer antibodi H5N1 dan H5N9 dengan antigen homolog dan heterolog ditentukan dengan uji HI

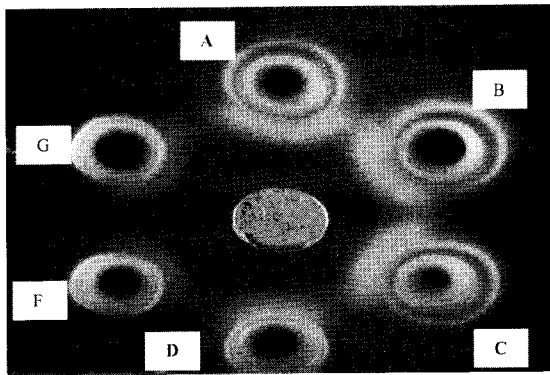
Antigen	Vaksinasi I		Vaksinasi II		Vaksinasi III	
	H5N1	H5N9	H5N1	H5N9	H5N1	H5N9
Kuda H5N1	2 <sup>0</sup>	-	2 <sup>4</sup>	-	2 <sup>9-11</sup>	-
Marmot H5N1	-	-	2 <sup>5-9</sup>	2 <sup>5</sup>	-	-
Ayam dan telur H5N1	2 <sup>2-4</sup>	-	2 <sup>5-7</sup>	2 <sup>2-3</sup>	2 <sup>6-7</sup>	2 <sup>2-4</sup>

Keberadaan antibodi spesifik H5N1 dan H5N9 terhadap antigen homolognya dapat ditampilkan dalam uji presipitasi (AGPT). Reaksi spesifik akan ditandai dengan adanya garis presipitasi antara sumur antigen dan antibodi homolognya.

Hasil penelitian menunjukkan adanya prospek yang sangat baik untuk memproduksi antibodi (IgG dan IgY) secara massal, karena kuda dan ayam sangat responsif terhadap antigen vaksin yang disuntikkan. Penggunaan marmot dalam penelitian ini hanya untuk mencari alternatif jika kuda menunjukkan respons negatif (*bad post vaccinal effect*) karena kuda sangat peka akan material asing yang disuntikkan, Namun, ternyata setelah kuda disuntik secara subkutan menggunakan 1ml vaksin AI H5N1 inaktif, titer antibodi (HI) melonjak sangat tinggi dari 2<sup>4-9</sup> menjadi 2<sup>11</sup> dan pada saat titer mencapai tingkat ini menunjukkan reaksi

presipitasi yang sangat jelas pada uji AGPT menggunakan antigen homolognya (H5N1), sebaiknya, bila titer IgG dalam serum belum mencapai  $2^{11}$  reaksi presipitasi pada AGPT tidak terdeteksi (Gambar 12). Gejala *post vaccinal* pada kuda dalam penelitian ini tidak terjadi, untuk itu digunakan serum kuda dalam penelitian selanjutnya dan serum marmot digunakan untuk kebutuhan lain (pengembangan diagnostik dan pengembangan vaksin idiotipe).

Keberadaan antibodi spesifik terhadap virus AI pada kuning telur menunjukkan pula prospek yang sangat baik untuk memproduksi antibodi AI dalam telur ayam atau telur unggas lainnya (Gambar 2). Peluang sangat terbuka lebar untuk memanfaatkan telur sebagai pabrik hayati dalam produksi bahan hayati penting yang bersifat massal.



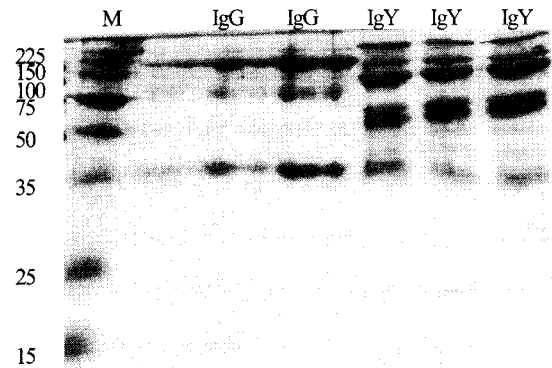
Gambar 2 Uji Presipitasi untuk Menentukan Keberadaan Antibodi Spesifik H5N1 (A-C) dan H5N9 (D-G) Kuning Telur. Garis Presipitasi Menunjukkan Adanya Reaksi Spesifik antara Antibodi dengan Antigen Homolognya

**Pemurnian dan Identifikasi IgG dan IgY**

Pemurnian serum kuda dilakukan dengan teknik afinitas khromatografi menggunakan matrix Protein-A. Protein-A memiliki sifat yang unik yakni mampu berikatan dengan Fc-fraksi IgG yang ada di dalam serum. Ikatan Protein-A dan IgG dilepas dengan elusi menggunakan larutan Glycin-HCl pH 2,5. Eluat yang diperoleh dinetralkan ke pH 7-7,5 menggunakan NaOH. Hasil penghitungan konsentrasi protein IgG murni yang diperoleh dari pemurnian menunjukkan bahwa konsentrasi IgG adalah 7,87 mg.ml<sup>-1</sup>. Berdasarkan karakterisasi protein IgG dengan elektroforesis SDS-PAGE diketahui bahwa IgG kuda terdiri dari tiga jenis protein yang masing-masing berukuran 150 kD, 75kD serta 35 kD (Gambar 3).

IgY yang dimurnikan dengan *Promegas EGGstart* IgY purification system menghasilkan IgY dengan tingkat kemurnian 90%. IgY tersebut memiliki konsentrasi protein sebanyak 7,89mg.ml<sup>-1</sup>. Berdasarkan karakterisasi protein IgY dengan elektroforesis SDS-PAGE diketahui bahwa IgY

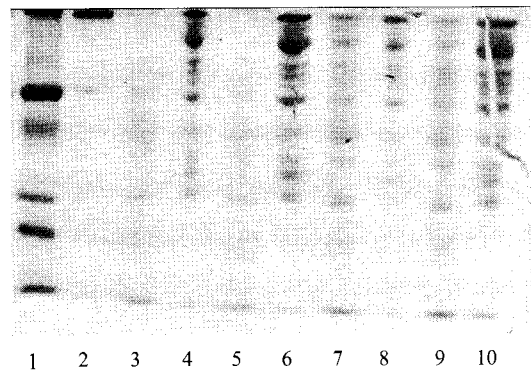
terdiri atas enam jenis protein yang masing-masing



Gambar 3 Hasil Elektroforesis SDS-PAGE dari IgG Kuda dan IgY Anti AI

berukuran 225,150, 100, 75, 57,5 serta 35 kD (Gambar 3).

Aktivitas spesifik IgG dan IgY murni terhadap H5N1 diuji dengan menggunakan teknik HI test dan AGPT. Berdasarkan uji HI diperoleh titer IgG pada masing-masing waktu pemurnian adalah  $2^6-2^7$ , titer IgY 90% adalah  $2^7$ . IgG dan IgY telah murni tersebut setelah diuji dengan uji AGPT belum menunjukkan hasil positif adanya presipitasi. Seperti telah dilaporkan di atas bahwa presipitasi baru akan tampak pada saat titer dengan uji HI mencapai  $2^{11}$ , sehingga hanya dengan titer sebesar  $2^7$  belum akan tampak adanya presipitasi.



Gambar 4 Degradasi Protein IgY setelah Perlakuan (pH2 dan pepsin). 1 (Marker), 2 (IgY utuh), 3-10 (IgY terdegradasi)

**Aktivitas Biologi IgY**

Uji biologi IgY dilakukan dengan menguji kepekaan IgY pada suhu (pemanasan), pH, dan ketahanan terhadap enzim pencernaan seperti pepsin dan tripsin. Berdasarkan pengamatan menunjukkan bahwa IgY tahan terhadap

pemanasan 65°C selama 30 menit, tetapi tidak tahan terhadap pemanasan 75°C selama 30 menit. Perlakuan dengan pH 2 dan pepsin IgY menunjukkan degradasi protein, tetapi tahan terhadap pH 4 namun tidak tahan terhadap aktivitas tripsin (Gambar 4).

Produksi antibodi klonal dalam serum kuda, serum ayam petelur, kuning telur dan pada serum marmot dapat dilakukan dengan menyuntikkan antigen virus H5N1 dan H5N2 yang dikemas dalam bentuk vaksin. Pemunculan dan titrasi antibodi di dalam serum mamalia dan unggas dideteksi dengan teknik *haemagglutination inhibition test* (HI-test) dan teknik presipitasi *Agar Gel Precipitation Test* (AGPT). Antibodi dalam serum kuda telah dapat dideteksi pada 1 minggu setelah penyuntikan vaksin pertama dengan titer antibodi berkisar antara 2<sup>0</sup> dengan uji HI dan kisaran 2<sup>2</sup>-2<sup>4</sup> pada serum ayam dan kuning telur menggunakan antigen homolognya.

Titer antibodi dengan antigen heterolognya lebih rendah 1-2 digit. Peningkatan titer antibodi terjadi setelah dilakukan *booster* (penyuntikan vaksin ke-dua), pada serum kuda titer antibodi 2<sup>4</sup>, pada serum dan kuning telur berkisar 2<sup>5</sup>-2<sup>7</sup> pada serum marmot titer antibodi 2<sup>5-9</sup> dengan antigen homolognya, seperti hasil sebelumnya. Antigen heterolognya lebih rendah 1-2 digit. Pada saat titer antibodi dinilai cukup tinggi ini, keberadaan antibodi spesifik terhadap H5N1 pada serum kuda, ayam, dan marmot serta pada kuning telur dapat ditampilkan pada uji presipitasi. Hal ini menunjukkan bahwa antibodi dari serum dan kuning telur telah siap di-panen untuk dilakukan uji selanjutnya.

Pada penelitian selanjutnya dilakukan pemurnian antibodi spesifik terhadap virus AI H5N1 dari kuning telur (IgY). Ayam petelur disuntik dengan vaksin AI (*killed vaccine*) sesuai dengan prinsip-prinsip vaksinasi yang direkomendasikan. Sebagai pembanding dilakukan pula produksi serum kebal (IgG) pada kuda, yaitu dengan menyuntikkan vaksin AI (*killed vaccine*) pada kuda. Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas hayati antibodi yang dihasilkan (IgY dalam telur maupun IgG dalam serum kuda) dalam me-netralkan aktivitas dan replikasi virus secara *in vitro* (uji *haemagglutination inhibition* (HI) dan ELISA) dan *in vivo* dilakukan uji tantang menggunakan embrio ayam dalam telur tertunas (*in ovo*). Dari kegiatan ini akan dapat di-tentukan dosis serum imun yang akan diaplikasikan serta pengulangan pemberiannya pada saat penanganan kasus.

### Hasil Uji Netralisasi

Uji netralisasi Virus H5N1 dengan menggunakan serum yang mengandung antibodi dengan titer 2<sup>4</sup> hingga 2<sup>8</sup> tidak mampu menetralkan virus AI H5N1 (10<sup>4</sup> EID 50) secara signifikan.

$$\text{Jarak Proporsional (PD)} = \frac{\% \text{ infeksi tepat} > 50\% - 50\%}{\% \text{ infeksi tepat} > 50\% - 50\% \text{ infeksi} < 50\%}$$

$$PD = \frac{100 - 50}{100 - 33} = 0,75$$

Penghitungan indeks netralisasi (IN):

$IN = PD \times \log$  dari faktor pengenceran serum + log pengenceran terendah yang digunakan dalam menghitung PD

$$IN = 1,08$$

$$50\% \text{ netralisasi end point} = 1:12,02$$

### Uji Netralisasi Virus H5N1 dengan Menggunakan Kuning Telur Berkhasiat dan IgY Murni Anti H5N1

Uji netralisasi Virus H5N1 menggunakan kuning telur berkhasiat dan IgY murni anti-H5N1. Kuning telur yang mengandung IgY dengan titer 2<sup>3</sup> dan IgY murni dengan titer 2<sup>4</sup> mampu menetralkan virus AI H5N1 (10<sup>4</sup> EID 50). Dalam penelitian ini digunakan masing-masing 3 butir telur SPF berembrio masing-masing untuk kontrol positif, kontrol negatif, uji efikasi kuning telur berkhasiat, dan uji efikasi IgY murni. Pada control setelah diinokulasi dengan virus AI H5N1, seluruh embrio pada telur mengalami kematian dengan tanda perdarahan yang hebat, pada control negatif, yakni telur yang diinokulasi dengan virus, seluruh embrio hidup dan berkembang secara sempurna, praperlakuan virus AI H5N1 menggunakan kuning telur berkhasiat mampu menginaktifkan virus sehingga tidak menyebabkan kematian embrio. Hasil serupa diamati pula jika menggunakan IgY murni.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pengebalan pasif menggunakan kuning telur yang mengandung antibodi spesifik terhadap H5N1 yang mungkin dapat dikemas dalam berbagai bentuk sediaan memiliki prospek yang sangat baik. Sebagai bahan obat biomedik IgY murni spesifik terhadap H5N1 dapat digunakan dalam pengobatan secara perenteral (aplikasi suntikan secara subcutan, intramuscular atau intra-vena). Untuk hal ini masih diperlukan uji lebih lanjut menggunakan mamalia sebagai hewan coba disertai dengan tantangan virus AI H5N1 yang bersifat patogen pada laboratorium dengan tingkat BSL3.

### Produksi Ab dan Kuning Telur yang Mengandung Ab Anti-AI

Pada kegiatan berikutnya kembali diproduksi kuning telur yang mengandung Ab anti AI dengan cara memvaksin ayam petelur dengan vaksin AI H5N1 selama 3 kali dengan interval 4 minggu serum diperiksa. Serum yang diperoleh diuji dengan uji HI setelah 3 kali penyuntikan, telah diperoleh titer Ab dalam serum sebesar 2<sup>7</sup> dan telur mulai dikumpulkan. (kuning telur yang dikumpulkan dari telur-telur ayam telah memiliki titer Ab tinggi (>2<sup>7</sup>). Hasil pemeriksaan kuning telur menunjukkan bahwa kuning telur mengandung Ab terhadap AI H5N1 dengan titer 2<sup>10</sup>. Ig G asal marmot memiliki kemampuan menetralkan virus AI H5N1 isolat 2005 dengan titer 10<sup>4</sup> EID 50 adalah 1,3, Jadi, pada

pengenceran serum  $10^{1.3}$  mampu menetralkan virus AI  $10^4$  EID 50 sebesar 50%. Kuning telur dengan titer yang sama memiliki kemampuan netralisasi virus dengan titer  $10^4$  EID 50 sebanyak 100%. Dalam penggunaannya kuning telur akan digunakan peroral, sehingga kuning telur dibuat menjadi produk yang mudah diberikan per oral dan tahan penyimpanan. Kuning telur dikeringkan menjadi serbuk kuning telur dengan cara di *spray dry*. Kuning telur yang telah di *spray dry* diuji kemampuan netralisasinya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kuning telur yang telah di *spray dry* dengan titer  $10^{1.3}$  mampu menetralkan virus AI  $10^4$  EID 50 sebesar 50% pada  $10^{1.5}$  mampu menetralkan virus AI  $10^4$  EID 50 sebesar 80%. Hasil ini menunjukkan bahwa kuning telur yang mengandung IgY meskipun telah dikeringkan masih dapat menetralkan virus AI  $10^4$  EID 50 sebesar 80%.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Antibodi spesifik terhadap virus AI H5N1 dan H5N9 dapat diproduksi pada kuda dan telur ayam dalam jumlah yang memadai. Prospek pemanfaatan telur ayam untuk memproduksi antibodi spesifik terhadap virus AI sangat baik dan produksi dapat dilakukan secara massal.

### Saran

Perlu dilakukan penelitian secara spesifik terhadap kemungkinan penggunaan bahan imunomodulator untuk meningkatkan respon pembentukan antibodi, khususnya pada kuda.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Kementerian Negara Riset dan Teknologi, pengelola Pusat Insentif KNRT atas pendanaan penelitian ini dalam kurun waktu 2 tahun, 2007–2008.

## DAFTAR PUSTAKA

- Carlander D. 2002. Avian IgY Antibody. In *Vitro and In Vivo. Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from Faculty of Medicine* 119. ACTA Universitatis Uppsala, Center Texas A & M University Kingsville.
- Coleman MA. 2000. Using Egg Antibodies to Treat Diseases. In: *Egg Nutrition and Biotechnology*. Sim JS, Nakai JS, Guenter W (Eds). Wallingford. UK. CABI Publish.
- Gassmann M, P Thommes, T Weiser, U Hubscher. 1990. Efficient Production of Chicken Egg Yolk Antibodies Against A conserved mammalian protein. *FASEB Journal* 4: 2528–2532.
- Schade R, P Henklein, A Hlinak. 1997. Egg yolk Antibody: state of the Art And Advantageous Use In The Life Sciences. In: *Animal Alternatives, Welfare And Ethics* (Zutphen, L. F. M., And Balls, M., eds) pp. 973–981, Elsevier, Amsterdam.
- Soejoedono RD, IWT Wibawan. 2005. Pemanfaatan Telur Ayam Sebagai Pabrik Biologis: Produksi IgY Anti Plaque dan Diare dengan Titik Berat pada Anti S. Mutan dan Salmonella Enteritidis. Laporan RUT XII.
- Wibawan IWT. 1993. Untersuchungen an Typenantigenen von Streptokokken der Serologischen Gruppe B und deren Bedeutung als Virulenzfaktoren. Dissertation, Justus Liebig Universitaet Giessen, Deutschland.