



# Pengaruh Immunoglobulin-Y pada Kuning Telur Ayam yang Diinjeksi Vaksin Prevenar-13 sebagai Antibiotik *Streptococcus Pneumoniae*

Aiman Hilmi Asaduddin<sup>1</sup>, Hamzah Haryo Prakoso<sup>1</sup>, Andayani Yuwana Sari<sup>2</sup>, Adennisa Kurnia Putri<sup>1</sup>, Daffa Sadewa<sup>1</sup>, Muchtar Hanafi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Prodi S1 Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret

<sup>2</sup>Prodi D4 Kesehatan dan Keselamatan Kerja, Sekolah Vokasi, Universitas Sebelas Maret

<sup>3</sup>Departemen Radiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret/RSUD Dr. Moewardi

Corresponding author: aimanhilmi02@student.uns.ac.id

**Abstrak.** Pneumonia adalah salah satu penyebab utama kematian Infeksi Saluran Napas Akut (ISPA). Tatalaksana pneumonia yang direkomendasi dari beberapa paduan adalah pemberian antibiotik. Namun, penggunaan antibiotik memiliki berbagai faktor risiko yang melibatkan penyakit lainnya sehingga perlu adanya pengembangan terapi alternatif untuk infeksi Pneumonia. Di sisi lain, Immunoglobulin-Y (IgY) kuning telur ayam kini dikembangkan sebagai terapi baru antibiotik, antiviral, maupun imunisasi pasif pada manusia. Akan tetapi, belum ada pengembangan terkait IgY spesifik pneumonia. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui daya hambat IgY kuning telur ayam *Hay-line* (*Gallus gallus domesticus*) yang diinjeksi vaksin Prevenar-13 terhadap *Streptococcus Pneumoniae* (*S. Pneumoniae*). Metode penelitian yang digunakan yaitu dengan isolasi dan purifikasi isolat IgY kuning telur ayam yang sebelumnya telah diberi perlakuan vaksin Prevenar-13. Selanjutnya, dilakukan kultur dan uji daya hambat pertumbuhan bakteri *S. Pneumoniae*. Hasil penelitian menunjukkan tidak adanya daya hambat pertumbuhan bakteri yang signifikan pada kelompok isolat IgY (tanpa perlakuan dan dengan perlakuan) dengan antibiotik Penicilin. Hal tersebut dapat disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu adanya perbedaan metode kecepatan sentrifugasi dan tahapan purifikasi sehingga memungkinkan isolat IgY tidak terbentuk dengan baik, belum dilakukan uji analisis kadar IgY spesifik *S. pneumoniae*, adanya kemungkinan IgY tidak menghambat pertumbuhan bakteri secara langsung melainkan melalui aktivasi sel imun (mekanisme imunisasi pasif), dan adanya kemungkinan kontaminasi selama proses penelitian. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lanjutan untuk mengevaluasi hasil penelitian ini sehingga pemanfaatan IgY spesifik *S. pneumoniae* pada kuning telur ayam yang diinjeksi vaksin Prevenar-13 dapat dioptimalkan.

## 1. Pendahuluan

*Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*) merupakan bakteri gram positif yang menginfeksi saluran napas bagian atas manusia. Prevalensi infeksi akibat *S. pneumoniae* di Indonesia adalah 49.5% Pada tahun 2017, *World Health Organization* (WHO) memasukkan bakteri tersebut sebagai salah satu dari 12 patogen yang diprioritaskan [1]. Anak-anak di bawah 5 tahun dan orang dewasa usia lebih dari 55-65 tahun memiliki risiko yang lebih tinggi untuk terkena infeksi Pneumonia [2]. Resistensi antibiotik yang meningkat membuat studi tentang antibiotik *S. pneumoniae* penting untuk dikembangkan. Tatalaksana pneumonia yang direkomendasi dari beberapa paduan adalah pemberian antibiotik seperti macrolides, fluoroquinolones, atau doxycycline (Vibramycin) [3]. Akan tetapi, penggunaan antibiotik memiliki berbagai faktor risiko yang melibatkan penyakit lainnya seperti penyakit kronis (jantung, ginjal, hati, dan paru), immunosupresan (HIV, diabetes mellitus, atau dalam terapi immunosupresif), atau risiko pada daerah dengan tingkat tinggi pneumokokus yang resistan terhadap obat [4]. Untuk itu, strategi spesifik lain sangat diperlukan, walaupun tidak banyak digunakan. Salah satu yang sudah digunakan adalah immunomodulator dengan pemberian kortikosteroid, komplemen inhibitor, dan *Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor* (GM-CSF) [5].



No.	Proses	Volume Hasil	
		K. Kontrol	K. Perlakuan
1.	Sebelum ekstraksi	45 ml	45 ml
2.	Ekstraksi tahap 1	15,8 ml	18,5 ml
3.	Ekstraksi tahap 2	12 ml	11,5 ml
4.	Hasil Akhir	7 ml	7,5 ml

Selanjutnya, dilakukan kultur bakteri *S. pneumoniae* pada medium agar darah selama 24 jam. Setelah itu, dilakukan uji daya hambat pertumbuhan pada bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada medium Muller Hinton darah dan diinkubasi selama 24 jam. Hasil uji daya hambat pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada tabel 2 sebagai berikut,

**Tabel 2.** Hasil Uji Daya Hambat *S. Pneumoniae* ATCC 6303

Kelompok Uji	Percobaan 1 (mm)	Percobaan 2 (mm)	Rata-rata
P1	0	0	0
P2	0	0	0
K-	0	0	0
K+ (Penicillin G)	39	39	39

Berdasarkan percobaan uji daya inhibisi pertumbuhan bakteri, didapatkan hasil seluruh kelompok perlakuan (Isolat IgY tanpa vaksin dan dengan perlakuan injeksi Prevenar-13) yang digunakan tidak menunjukkan adanya inhibisi pertumbuhan bakteri berdasarkan pengamatan diameter zona hambat yang terbentuk. Sedangkan, kelompok kontrol positif dengan antibiotik penicillin G menunjukkan daya inhibisi yang signifikan. Karena hasil inhibisi kelompok perlakuan menunjukkan hasil yang negatif, maka tidak dilakukan uji analisis statistik dengan *One Way ANOVA*.

Hasil tersebut dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor. Pada beberapa riset dan penelitian terkait teknik ekstraksi dan purifikasi IgY menggunakan presipitat PEG dan metode *water dilution* digunakan kecepatan sentrifugasi sebesar 10.000 rpm dalam 20 menit. Perbedaan ini tentu memengaruhi ekstrak IgY hasil purifikasi, mengingat semakin besar kecepatan sentrifugal maka hasil sedimentasi (pellet) akan semakin baik untuk diamati maupun diujikan. Selain itu, hasil negatif pada pengujian juga dapat dipengaruhi karena tidak digunakannya saline khusus dengan kadar 0,1 % untuk proses dialisis seperti pada beberapa riset terkait metode purifikasi IgY [12].

Hal lain yang dapat memengaruhi kurang berhasilnya uji yang telah dilaksanakan adalah belum dilakukan uji analisis kadar IgY pada sampel isolat, mengingat metode yang digunakan adalah *water dilution* dimana hasil dari metode ini dapat meningkatkan volume pellet sampai 10x lipat namun dengan kadar kemurnian dan protein spesifik isolat IgY yang lebih rendah dibanding dengan metode PEG-Ammonium Sulfat maupun *Protein Purification KIT* seperti yang telah dibuktikan pada beberapa riset. Karena beberapa hal tersebut kompensasi yang dapat diberikan adalah dengan dilakukan teknik pengeringan beku yang berfungsi untuk mengurangi volume air sekaligus menekan turunnya aktivitas netralisasi IgY [13].

Setelah dilakukan purifikasi dan isolasi IgY, dilakukan uji daya hambat isolat IgY spesifik *S. pneumoniae* kuning telur ayam dengan menggunakan metode cakram difusi menggunakan disk antibiotik dan media Muller Hinton darah. Perlu diketahui bahwa peran IgY sebagai imunitas pasif salah satunya untuk menghambat aktivitas pertumbuhan bakteri, sehingga untuk pengambilan data penelitian dilakukan uji daya hambat isolat IgY terhadap pertumbuhan bakteri. Kemungkinan faktor yang menyebabkan hasil penelitian ini tidak didapati pertumbuhan bakteri pada sampel isolat IgY kuning telur ayam adalah karena isolat IgY dari kuning telur berperan sebagai imunitas pasif, bukan sebagai antibakteri. Imunitas pasif yang didapat melibatkan perolehan antibodi spesifik antigen dari

sumber lain (individu atau hewan yang kebal) yang kemudian diberikan kepada individu yang rentan untuk melindunginya [14]. Sehingga, kompensasi patogen yang masuk ke dalam tubuh tidak hanya dengan cara menghambat bakteri secara langsung, dapat melakukan beberapa hal lainnya, seperti meningkatkan kesehatan dan respon imunitas dari sel yang target, menghambat pertumbuhan dan internalisasi patogen, membentuk ulang kapsul sel anti patogen, mereduksi ikatan antara patogen dengan sel, serta meningkatkan kemampuan *uptake* makrofag terhadap patogen.

Hal lain yang dapat memengaruhi hasil penelitian kali ini adalah adanya kemungkinan bahwa terjadi kontaminasi dalam sampel isolat IgY akibat kelalaian peneliti, baik kontaminan yang ada berupa supernatant yang melebihi ambang batas, putih telur yang belum dapat dipisahkan seluruhnya, maupun kotoran serta mikroba yang dapat menghasilkan bias pada hasil penelitian. Namun sejauh ini peneliti telah berusaha mengurangi kemungkinan adanya kontaminan mikroba dalam sampel isolat dengan melakukan teknik pengeringan beku yang telah terbukti secara riset lebih baik dibanding teknik *spray-drying* [13]. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengevaluasi hasil, metode, serta kemungkinan-kemungkinan yang dapat terjadi dalam penelitian kali ini.

#### 4. Kesimpulan

Immunoglobulin-Y (IgY) merupakan salah satu antibodi yang terdapat pada unggas dan telurnya. IgY pada kuning telur ayam telah banyak dikembangkan dalam produk kesehatan, baik untuk manusia maupun hewan, khususnya dalam bidang imunologi dan mikrobiologi. Penelitian ini ditujukan untuk mengembangkan manfaat IgY terhadap *S. pneumoniae* dengan metode uji daya hambat pertumbuhan bakteri. Namun, hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat penghambatan pertumbuhan bakteri pada isolat IgY kuning telur ayam. Hal tersebut dapat disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu adanya perbedaan metode kecepatan sentrifugasi dan tahapan purifikasi sehingga memungkinkan isolat IgY tidak terbentuk dengan baik, belum dilakukan uji analisis kadar IgY spesifik *S. pneumoniae*, adanya kemungkinan IgY tidak menghambat pertumbuhan bakteri secara langsung melainkan melalui aktivasi sel imun (mekanisme imunisasi pasif), dan adanya kemungkinan kontaminasi selama proses penelitian. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lanjutan untuk mengevaluasi hasil penelitian ini sehingga pemanfaatan IgY spesifik *S. pneumoniae* pada kuning telur ayam yang diinjeksi vaksin Prevenar-13 dapat dioptimalkan dengan baik.

#### 5. Referensi

- [1] Weiser JN, Ferreira DM, Paton JC. Streptococcus pneumoniae: transmission, colonization and invasion. *Nat Rev Microbiol.* 2018;16(6):355–367.
- [2] Prado CAN. Pneumococcal Infections (Streptococcus pneumoniae). *Medscape.* 2018.
- [3] Metlay JP, Waterer GW, Long AC, Anzueto A, Brozek J, Crothers K, et al. Diagnosis and treatment of adults with community-acquired pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2019;200(7):E45–E67.
- [4] Postma DF, Van Werkhoven CH, Van Elden LJ, Thijsen SF, Hoepelman, A. I., Kluytmans JA, Al. E. Antibiotic treatment strategies for community-acquired pneumonia in adults. *N Engl J Med.* 2015;372(14):1312–23.
- [5] Müller-Redetzky H, Lienau J, Suttorp N, Witzenrath M. Therapeutic strategies in pneumonia: Going beyond antibiotics. *Eur Respir Rev.* 2015;24(137):516–24.
- [6] Kementerian Pertanian RI. Outlook Telur. *Pus Data dan Sist Inf Pertan.* 2016;1–76.
- [7] Nguyen HH, Tumphey TM, Park HJ, Byun YH, Tran LD, Nguyen VD, et al. Prophylactic and therapeutic efficacy of avian antibodies against influenza virus H5N1 and H1N1 in mice. *PLoS One.* 2010;5(4).
- [8] Thomsen K, Christophersen L, Bjarnsholt T, Jensen PØ, Moser C, Høiby N. Anti-Pseudomonas aeruginosa IgY antibodies augment bacterial clearance in a murine pneumonia model. *J Cyst Fibros.* 2016;15(2):171–17.
- [9] Abbas AT, El-Kafrawy SA, Sohrab SS, Azhar E. IgY antibodies for the immunoprophylaxis and



- therapy of respiratory infections. *Hum Vaccin Immunother.* 2019;15(1):264–275.
- [10] Hussain CNB. Isolation and Estimation of Chicken Immunoglobulins (IgY) from Egg Yolk by Optimizing Polyethylene Glycol (PEG) Precipitation Method. *Sch J Agric Vet Sci* [Internet]. 2016;4(7):286–92. Available from: <http://saspjournals.com/sjavs-31>
- [11] Jorgensen JH, Ferraro MJ. Antimicrobial susceptibility testing: A review of general principles and contemporary practices. *Clin Infect Dis.* 2009;49(11):1749–55.
- [12] Pauly D, Chacana PA, Calzado EG, Brembs B, Schade R. IgY Technology: Extraction of Chicken Antibodies from Egg Yolk by Polyethylene Glycol (PEG) Precipitation. *J Vis Exp* [Internet]. 2011;i(51):2–7. Available from: <http://www.jove.com/index/Details.stp?ID=3084>
- [13] Janah M. Purification of Immunoglobulin Y by PEG-Amonium Sulfat Method, Water Dilution, And Protein Purification Kit. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana. 2018.
- [14] Kovacs-nolan J, Mine Y. Egg Yolk Antibodies for Passive Immunity. *Annu Rev Food Sci Technol.* 2012;163–84.