

Penggunaan Antibodi Anti-idiotipe Sebagai Vaksin Terhadap Streptokokosis

(THE USING OF ANTI-IDIOTYPE ANTIBODY
AS VACCINE AGAINST STREPTOCOCCOSIS)

I NYOMAN SUARTHA¹, IWAN HARYONO UTAMA²,
BAMBANG PONTJO PRISOERYANTO³, I WAYAN TEGUH WIBAWAN³

1.Lab. Penyakit Dalam,

2. Lab. Biokimia Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Udayana, Jl. PB Sudirman Denpasar

3.Lab. Patologi Veteriner, Bagian Parasitologi Patologi,
Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor,
Jl Agathis, Darmaga, Bogor.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk memproduksi antibodi anti-idiotipe (Ab2), yang akan digunakan sebagai antigen buatan untuk merangsang pembentukan antibodi terhadap *S. equi* subsp. *zooepidemicus*. Produksi Ab2 dilakukan dengan metode imunisasi kelinci dengan Ab1 secara berurutan (2 mg/ml Ab1). Penelitian ini menggunakan hewan percobaan mencit yang dikelompokkan menjadi empat yaitu: (I) tanpa perlakuan; (II) disuntikkan imonuglobulin kelinci normal (2 mg/ml); (III) disuntikkan antigen bakteri utuh (0,1 ml suspensi bakteri 10^9 sel/ml); dan (IV) disuntikkan Ab2 (2mg/ekor). Selanjutnya seluruh mencit pada masing-masing kelompok di uji tantang dengan isolat lapang terhadap *S. equi* subsp. *zooepidemicus* yang ganas (SGC 560).

Penyuntikkan antibodi anti-idiotipe (Ab2) kelinci mampu menggertak pembentukan antibodi anti anti-idiotipe (Ab3) pada mencit, dengan titer antibodi rata-rata $16,00 \pm 3,58$, berdeda nyata dibandingkan kontrol ($P < 0,05$). Antibodi 3 memberikan perlindungan protektif sebesar 88,8 %. Kelompok lain yang diberi tanpa perlakuan, antibodi normal dan antigen bakteri utuh memberikan perlindungan masing-masing 16,6%, 33,3%, dan 16,6%.

Kata-kata Kunci : Antibodi anti-idiotipe, *S. equi* subsp. *zooepidemicus*; vaksin

J Vet 2001 2 (4) : 126 - 130

ABSTRACT

Study on the use of the anti-idiotype antibody (Ab2) as vaccine against *Streptococcus* has been conducted. Production of Ab2 was done by means of immunizing rabbits with Ab1 (2 mg/ml Ab1). Four groups of experimental animals (mice) were used in the study: (I) animals receive no treatment; (II) animals injected with normal rabbit immunoglobulin (2 mg/ml); (III) animals injected with whole cell bacteria antigen (0.1 ml bacteria suspension of 10^9 cell/ml); and (IV) animals injected with Ab2 (2 mg/animal). Further, all of animals from all the groups were challenge with the wild strain of *S. equi* subsp. *zooepidemicus* (SGC 560).

Injected of Ab2 to mice were able to trigger the production of anti anti-idiotype antibody (Ab3) with average titre of Ab3 (16.00 ± 3.58) which was significantly higher compared to in the untreated group ($P < 0.05$). In addition, antibody 3 (Ab3) showed protection activities of 88.8 %. Whereas, the challenge test to animals in group I, II, and III showed protection at 16.6%, 33.3%, and 16.6%, respectively.

Key words : anti-idiotype antibody, *S. equi* subsp. *zooepidemicus*; vaccine

J Vet 2001 2 (4) : 126 - 130

PENDAHULUAN

Idiotipe (Id) adalah kumpulan epitop spesifik yang diekspresikan sebagai reseptor antigen pada sel B dan sel T. Antibodi yang dihasilkan dari antigen eksternal disebut antibodi idiotipe (Ab1), antibodi yang dihasilkan oleh Ab1 adalah antibodi anti-idiotipe (Ab2), antibodi yang dihasilkan oleh Ab2 adalah antibodi anti-idiotipe (Ab3), dan seterusnya. Antibodi Ab1 mengekspresikan beberapa kumpulan idiotipe dan populasi Ab2 yang mengenalinya disebut sebagai antibodi anti-idiotipe (Male *et al.*, 1987). Kemampuan meniru sifat antigenik pada antibodi internal image Ab2b digunakan sebagai pertimbangan penggunaannya sebagai imunogen untuk menimbulkan respon imun yang spesifik terhadap agen infeksius (Zhou dan Lin, 1997). Antibodi *internal image* Ab2b dapat digunakan sebagai kandidat vaksin. Antigen tiruan (antibodi anti-idiotipe) dapat digunakan sebagai alternatif untuk vaksin terhadap penyakit yang dengan antigen utuh tidak menimbulkan respon antibodi dengan baik (Nisonoff, 1991). Utama (1998) melaporkan imunisasi menggunakan kapsul asam hyaluronat *S. equi* subsp. *zooepidemicus* sebagai imunogen pada kelinci, menimbulkan kekebalan lemah.

Prinsip anti-idiotipe (Anti-Id) telah dikembangkan dan digunakan sebagai antigen dalam serodiagnosis dan persiapan vaksin untuk mengontrol infeksi viral (Tackaberry *et al.*, 1992; Zhou dan Afshar, 1995; Lin dan Zhou, 1995; Zhou dan Huang, 1995; Kennedy *et al.*, 1996; Zhou dan Lin, 1997), bakterial (McNamara *et al.*, 1984), parasit (Potoenjak, 1982), alergi (Zhou *et al.*, 1991; Zhou dan Kisil, 1995) dan pengobatan kanker (Lin *et al.*, 1996).

MATERI DAN METODE

Materi

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelinci untuk pembuatan antibodi anti-idiotipe (Ab2). Hewan lain yang digunakan adalah mencit untuk menguji efektivitas vaksin (uji tantangan).

Bahan atau zat kimia yang diperlukan antara lain, alkohol 70 %, PBS (*Phosfat Buffer Saline, Merck*), NaCl fisiologis (*Merck*), alfa kloronaptol, kertas nitroselulose, susu skim, H₂O₂ 3%, methanol. Peralatan yang dibutuhkan adalah: alat suntik, tabung reaksi, cawan petri, sentrifus, tabung sentrifus, penangas (*water bath*), *Refrigrator, vortex*, timbangan analitik, pipet 1 ml, 5 ml dan 10 ml, mikropipet, mikrotip, gelas obyek, kapas, korek api, autoklaf, inkubator, timbangan, pH meter, pengering rambut.

Memproduksi Antibodi Anti-Idiotipe (Antibodi 2)

Kelinci diimunisasi dengan antibodi 1 yang telah disiapkan (Suartha, 1999) dengan metode imunisasi berurutan sebanyak 2 mg/ml Ab1 setiap injeksi. Injeksi dilakukan melalui vena aurikularis. Satu minggu setelah injeksi terakhir, darah diambil melalui arteri aurikularis. Darah yang didapat diinkubasi pada suhu 27°C (suhu kamar) selama satu jam kemudian diinkubasi pada suhu 4°C selama 18 sampai 24 jam. Serum dipisahkan, kemudian imunoglobulin (antibodi anti-idiotipe) diisolasi seperti cara isolasi antibodi 1. Karakterisasi dilakukan dengan uji AGPT, uji koaglutinasi, *Dot-blot* dan SDS-PAGE. Antibodi 2 (antibodi anti-idiotipe) akan digunakan sebagai vaksin terhadap hewan percobaan.

Uji Tantang Vaksin

Hewan percobaan (mencit) dikelompokkan menjadi empat kelompok yaitu kelompok I, tanpa perlakuan, kelompok II divaksinasi dengan imunoglobulin kelinci normal sebanyak 2 mg tiap ekor, kelompok III dengan antigen bakteri utuh sebanyak 0,1 ml suspensi bakteri (10^9 sel/ml), dan kelompok IV dengan antibodi anti-idiotipe sebanyak 2 mg tiap ekor. Vaksinasi pertama dilakukan dengan antigen dalam *Freud's adjuvan* komplit, dan 14 hari kemudian vaksinasi diulang dengan *Freud's adjuvan* tidak komplit (Zhou dan Afshar, 1995), dengan dosis sama dengan vaksinasi pertama. Volume vaksin yang diberikan setiap vaksinasi adalah 0,2 ml dan disuntikan di bawah kulit. Darah diambil sebelum dan seminggu setelah vaksinasi terakhir untuk mengetahui titer antibodi yang terbentuk. Masing-masing kelompok ditantang dengan *S. equi* subsp. *zooepidemicus* galur ganas sebanyak 0,1 ml LD₅₀. (OD 0,167 panjang gelombang 620 nm) yang telah diuji sebelumnya.

Analisis Data

Karakteristik uji dari antibodi anti-idiotipe dideskriptifkan. Titer antibodi yang diukur dari masing-masing perlakuan dicatat dan dianalisis dengan uji sidik ragam. Apabila terdapat perbedaan nyata dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan (Steel dan Torrie, 1980).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyuntikan Ab2 kelinci mampu menggertak pembentukan antibodi (Ab3) pada mencit, dengan titer antibodi yang terbentuk rata-rata $16,00 \pm 3,58$ (Tabel 1) berbeda nyata dibandingkan kontrol ($P < 0,05$).

Spesifisitas Antibodi-3 (Ab3) mencit yang terbentuk diamati dengan uji koaglutinasi (Tabel 2) mampu mengenali antigen bakteri utuh SGC 560 dan antibodi 2 dan tidak bereaksi dengan antigen dari bakteri SGB. Uji *dot-blot* juga menunjukkan hal yang sama, hal ini membuktikan bahwa Ab2 bersifat *internal image*. Lin dan Zhou (1995) menyatakan bahwa antibodi anti-idiotipe mempunyai spesifitas tinggi, yaitu hanya bereaksi dengan antisera dari antigen asli yang digunakan untuk memproduksi Ab2 dan tidak bereaksi dengan antisera dari antigen lain meskipun agen itu dalam satu genus.

Kemampuan Ab2 kelinci untuk merangsang pembentukan antibodi pada mencit (Ab3) juga sebagai indikasi bahwa Ab2 bersifat *internal image* dan mampu menembus barrier spesies (Zhou et al., 1990).

Mencit yang diberikan Ab2 memberikan perlindungan sebesar 88,8 %, setelah ditantang dengan bakteri SGC dari strain lapang yang ganas (*wild*

Tabel 1. Rataan dan Galat Baku Titer Antibodi Mencit

Mencit dipapar dengan	Mencit (ekor)	Titer Antibodi
Antibodi Normal (Abn)	5	1,60 \pm 0,75 ^a
Ag 560	3	6,76 \pm 1,34 ^b
Antibodi 2	6	16,00 \pm 3,58 ^c
Tanpa Perlakuan	6	0,00 \pm 0,00 ^a

Angka yang diikuti huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji jarak berganda Duncan.

Tabel 2. Karakterisasi Antibodi Mencit (Uji koaglutinasi)

	Ag SGC 560	Antibodi 1	Ag SGB
Antibodi 3	++	++	-

Keterangan :

+ artinya terjadi aglutinasi

- artinya tidak terjadi aglutinasi

strain). Kelompok lain, yang tidak mendapat perlakuan, antibodi normal, dan antigen bakteri utuh memberikan perlindungan masing-masing sebesar 16,6%; 33,3 %, dan 16,6 %.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan hal-hal sebagai berikut:

1. Penggunaan Ab2 sebagai antigen nyata mampu menggertak pembentukan antibodi pada mencit (Ab3) dengan kadar $16,00 \pm 3,58$.
2. Antibodi-3 spesifik terhadap antigen 560 (*S. equi* subsp. *zooepidemicus*), Ab2, namun tidak terhadap antigen kuman lain (SGB).
3. Antibodi anti-idiotipe mampu memberikan perlindungan 88,8 % terhadap serangan bakteri SGC ganas, sedangkan hewan yang tidak mendapat perlakuan, diberikan antibodi normal (Abn), dan antigen isolat 560 (Ag 560) tingkat perlingkungannya masing-masing 16,6%, 33,3% dan 16,3%.

DAFTAR PUSTAKA

Kennedy, R. C., M. H. Shearer, T. C. Chanh, H. B. Jenson and J. R. Stanley. 1996. Molecular and Structural Characterization of An-

tibodies to Hepatitis B Surface Antigen: Developing a Non-Human Primate Model to Evaluate Maternal Therapeutic Vaccination Strategies During Pregnancy. *Antiviral Therapy*. 1 : 76-83.

Lin, M., E-M. Zhou, and R. A. Heckert. 1996. Induction of Antibodies to the Bluetongue Virus Core Polypeptide VP7 in Sheep by Internal Image Rabbit Antiidiotypic Antibodies. *Viral Immunol*. 9 (1) : 35- 43.

Lin, M. and E-M. Zhou. 1995. Internal Image Rabbit Anti-Idiotypic Antibody Detects Sheep Antibodies to the Bluetongue Virus Core Protein VP7. *Immunotechnol*. 1 : 151 - 155.

Male, D., B. Champion and A. Cook. 1987. *Advanced Immunology*. Gower Med. Publisher London.

McNamara, M. K., R. E. Ward and H. Kohler. 1984. Monoclonal idiotypic Vaccine Against *Streptococcus pneumoniae* Infection. *Science*. 226: 1325 - 1326.

Nisonoff, A. 1991. Idiotypes : Concepts and Applications. *J. Immunol*. 147 (8) 2429 - 2438.

Potocnjak, P., F. Zavala, R. Nussenzweig, V. Nussenzweig. 1982. Inhibition of Idiotypic-Anti-Idiotypic Interaction for Detection of a Parasite Antigen : A New Immunoassay. *Science* 215 : 1637 - 1369.

- Steel, R. G. D. and J. H. Torrie. 1980. Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometrik. Penerbit Gramedia, Jakarta.
- Suartha, I. N. 1999. Preparasi Antibodi Anti-idiotipe Sebagai Dasar Pembuatan Vaksin Untuk Pencegahan Streptokokosis. Tesis. Institut Pertanian Bogor.
- Tackaberry, E. S., J. Hamel, Y. Larose, R. Kuhl and B. R. Brodeur. 1992. Monoclonal Anti-Idiotypes for The Rapid Detection of Human Cytomegalovirus. *J. Virol. Methods.* 40 : 175 - 182.
- Utama, I .H. 1998. Studi Respon Immunologis terhadap *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus*. Sebagai Landasan Pencegahan Wabah Streptokokosis pada Babi. Laporan Hasil Penelitian Hibah Bersaing VI/1 Perguruan Tinggi T.A 1997-1998. FKH UNUD.
- Zhou, E-M., K. L. Lohman, and R. C. Kennedy. 1990. Administration of Noninternal Image Monoclonal Anti-idiotypic Antibodies Induces Idiotypic-Restricted Responses Specific for Human Immunodeficiency Virus Envelope Glycoprotein Epitopes. *Virology* 174 : 9 - 17.
- Zhou, E-M., J. M. M. Dzuba-Fischer, E.S.Rector, A. H. Sehon and F. T. Kisil. 1991. A Murine Monoclonal Anti-idiotypic Antibody Detects a Common Idiotope on Human, Mouse and Rabbit Antibodies to Allergen Lol p IV. *Scand . J. Immunol.* 34 : 307 - 316.
- Zhou, E-M. and W. Huang. 1995. Anti-Idiotypic Antibody as Potential Serodiagnostic Reagent for Detection of Bluetongue Virus Infection. *J. Clin. Microbiol.* 33 (4) : 850- 854.
- Zhou, E-M. and A. Afshar. 1995. Comparison of Freud's Adjuvant and TiterMaxTM in Inducing Anti-Idiotypic to Idiotypic Antibodies Against Pseudorabies Virus Antigens. *Vet. Immunol. and Immunopathol.* 48 : 113 - 122.
- Zhou, E-M. and F. T. Kisil. 1995. Regulation of Levels Serum Antibodies to Ryegrass pollen Allergen Lol p IV by an Internal Image Anti-Idiotypic Monoclonal Antibody. *Immunol.* 84 : 343 - 349.
- Zhou, E-M, and M. Lin. 1997. Anti-Idiotypic to Bluetongue Virus VP7 Antigen : Potential Diagnostic Reagent and Vaccine. p 347 - 355. In Y. Shoenfeld, R. C. Kennedy, S. Ferrone (Editors). *Idiotypes in Medicine : Autoimmunity, Infection and Cancer.* Elsevier. New York.



Selamat Tahun Baru
2002



EKA POULTRY
Industrial Interprise
PABRIK MAKANAN
TERNAK & OBAT HEWAN
JL. IMAM BONJOL No. 188
Telp. 21746 - 21748
Semarang



LAB PENYAKIT UNGGAS
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS UDAYANA
Jln. Doktor Goris Denpasar 80232