

Produksi dan Karakterisasi Antibodi Monoklonal terhadap *Phytophthora palmivora* Isolat Kelapa

Suryanti, S. Somowiyarjo, Y.M.S. Maryudani, dan B. Hadisutrisno

Fakultas Pertanian Universitas Gajah Mada, Yogyakarta

ABSTRAK

Untuk mendukung program pengendalian penyakit yang berwawasan lingkungan, telah diproduksi antibodi monoklonal terhadap *Phytophthora palmivora* isolat kelapa. Imunisasi dilakukan pada mencit secara intrasplenik dengan imunogen berupa suspensi zoospora. Dari hasil fusi, dipilih empat klon sel hibrid yang mempunyai nilai absorbansi tinggi untuk produksi antibodi. Karakterisasi dilakukan untuk mengetahui titer, spesifisitas antibodi, dan penentuan klas antibodi.

Kata kunci: Antibodi monoklonal, *P. palmivora*, pengendalian penyakit, kelapa.

ABSTRACT

To support the environmentally sound pest control program, monoclonal antibody against *Phytophthora palmivora* coconut isolate was produced. The immunization was conducted intrasplenically on mice with the immunogen in the form of zoospore suspension. From the fusion, four clones of hybrid cells which had high absorbent value in producing antibody were chosen. The characterization was performed to find out the titer, antibody specificity, and to determine the class of the antibody.

Key words: Monoclonal antibody, *P. palmivora*, pest control, coconut.

PENDAHULUAN

Penyakit busuk tunas kelapa yang disebabkan oleh *Phytophthora palmivora* adalah penyakit penting dan berbahaya pada kelapa hibrida yang banyak dikembangkan pada saat ini. Kehilangan hasil akibat serangan penyakit ini mencapai 40% (Varghese, 1989).

Pada umumnya penyakit busuk tunas baru diketahui pada serangan yang agak lanjut, sehingga tanaman tidak dapat diselamatkan lagi. Usaha pengendalian penyakit yang banyak dilakukan adalah dengan menggunakan fungisida sistemik, namun penggunaan fungisida sistemik memberikan efek samping yang merugikan yaitu timbulnya strain baru yang tahan terhadap fungisida. Selain itu, penggunaan fungisida juga mengakibatkan pencemaran lingkungan.

Dalam rangka mendukung program pembangunan di bidang perkebunan yang berwawasan kelestarian lingkungan, seperti yang dijabarkan dalam sistem PHT yang

tercantum dalam Undang Undang No. 12 Tahun 1992 dan diamanatkan oleh GBHN 1993, telah diproduksi antibodi monoklonal terhadap *P. palmivora* isolat kelapa.

Antibodi monoklonal yang dihasilkan, dikarakterisasi untuk mengetahui, titer, spesivitas antibodi, dan penentuan klas antibodi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fitopatologi dan Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Pertanian UGM serta Laboratorium Ilmu Hayati UGM.

Preparasi imunogen dilakukan dengan memproduksi sporangium dengan mengikuti metode Vallaveille (1983). Suspensi sporangium yang diperoleh diinkubasikan pada suhu 10°C, dan zoospora yang dibebaskan disaring untuk memisahkan zoospora dari miselium. Suspensi zoospora yang diperoleh diukur kerapatannya dengan haemocytometer. Suspensi zoospora difiksasi dengan glutaraldehyde 1% dan didialisis dengan PBS 0,01M pH 7,4. Immunisasi dilakukan pada mencit BALB/C secara intrasplenic. Fusi dilakukan empat hari setelah mencit diimunisasi.

Fusi sel myeloma SP2 dan sel limfa dari mencit yang telah diimunisasi, dilakukan dengan mengikuti metode Galfre *et al.* (1977). Seleksi sel hibridoma dilakukan dengan menggunakan media HAT. Skreening dilakukan dengan menggunakan teknik *Indirect-ELISA*, mengikuti metode Koenig (1981). Kloning dilakukan dengan metode pengenceran berulang-ulang mengikuti metode Galfre *et al.* (1977).

Produksi antibodi secara *in vivo* dilakukan dengan menyuntikkan sel hibridoma terpilih ke dalam rongga perut mencit yang sebelumnya telah disuntik dengan prestan (2, 6, 10, 14, - tetramethylpentadecane, Sigma).

Pengujian titer dan spesivitas antibodi dilakukan dengan menggunakan metode *Indirect-ELISA* mengikuti metode Koenig (1981), dan penentuan klas antibodi dilakukan dengan ISO-1 dari isotyping kits yang diproduksi oleh Sigma dengan menggunakan supernatan kultur hibridoma.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fusi sel myeloma dengan sel limfa mencit yang telah diimunisasi dengan suspensi zoospora mendapatkan 30 fusan yang positif menghasilkan antibodi terhadap *P. palmivora*. Selanjutnya dipilih empat fusan yang mempunyai nilai absorbansi tinggi untuk dikloning lebih lanjut, dan disuntikkan ke rongga perut mencit untuk produksi antibodi secara *in vivo*. Nilai absorbansi tertinggi yang pernah dicapai dari keempat fusan terpilih disajikan pada Tabel 1.

Dari keempat sel fusan terpilih yang disuntikkan ke rongga perut mencit, baru satu mencit (satu klon) yang mampu menghasilkan acites yaitu nomor 14.2.3.4.

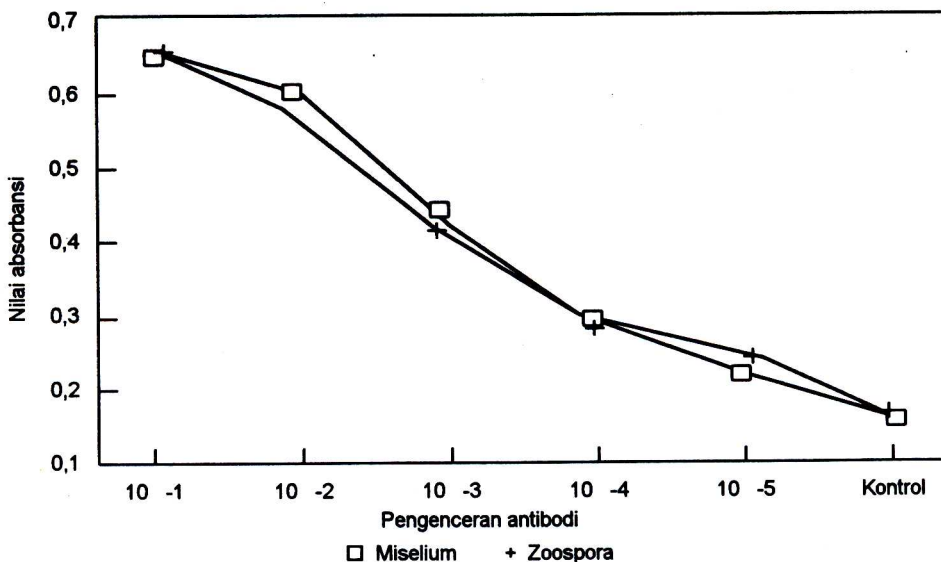
Penentuan titer antibodi yang dihasilkan dari acites dilakukan dengan metode *Indirect-ELISA*, dengan hasil seperti tertera pada Gambar 1.

Dari hasil pengujian diketahui bahwa antibodi mempunyai titer 10^{-4} , dan hasil optimum akan diperoleh pada pengenceran 10-100 kali. Antibodi yang dihasilkan mampu mengenal antigen yang berasal dari ekstrak miselium maupun suspensi zoospora dan di antara keduanya tidak ada perbedaan yang nyata.

Hasil penentuan klas antibodi yang dilakukan dengan ISO-1 dari isotyping kits yang diproduksi oleh Sigma, menunjukkan bahwa antibodi yang diperoleh termasuk dalam klas IgM.

Tabel 1. Nilai absorbansi tertinggi yang pernah dicapai dari fusan terpilih.

Nomor hibridoma	Absorbansi
3.1.1.1	0,774
14.2.3.4	0,830
16.1.3.2	0,814
29.1.9.3	0,407



Gambar 1. Titer antibodi.

DAFTAR PUSTAKA

- De Vallaveille C. 1983.** Structure d'une population phytopathogene selectionnee sous la pression d'une population hote perenne: le cas de *Phytophthora* sp. Infesode aux agrumes de la plante orientale corse. These Docteur d'Etat, Universite de Paris-Sus, Centre d'Orsay, 162 pp.
- Galfre, G., S.C. Howe, C. Milstein, G.W. Butcher, and J.C. Howard. 1977.** Antibodies to major histocompatibility antigens produced by hibrid cell lines. Nature 266: 550-552.
- Koenig, R. 1981.** Indirect-*ELISA* methods for the broad specificity detection of plant viruses. J. Gen. Virol. 67: 53-62
- Varghese, G. 1989.** Major fungal diseases of coconuts and their management. *In* Coconut Diseases and Their Management. Directorate General of Estate Crops. Jakarta. Indonesia. 51 pp.