

Pelacakan Perlekatan Bakteri *Escherichia Coli* K99 pada Zona Pelusida Embrio Mencit dengan Metode *Enzym Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) dan *Scanning Electron Microscope* (SEM)

(DETECTION OF *ESCHERICHIA COLI* K99 ATTACHMENT ON MOUSE EMBRYOS ZONA PELLUCIDA BY MEANS ENZYME LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY (ELISA) AND SCANNING ELECTRON MICROSCOPE (SEM))

I WAYAN BATAN^{1,2}, ARIEF BOEDIONO³, ITA DJUWITA³,
BIBIANA WIDIATI LAY³, SUPAR⁴

¹Sekolah Pascasarjana Program Studi Sains Veteriner
Institut Pertanian Bogor Jl. Agatis Kampus IPB Dramaga Bogor 16680

²Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana,
Kampus Bukit Jimbaran Kuta Badung Bali

³Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor,
Jl. Agatis Kampus IPB Dramaga Bogor 16680

⁴Balai Penelitian Veteriner Jl. Martadinata No 30, Bogor 16114

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian laboratoris tentang perlekatan *E.coli* K99 pada zona pelusida mencit. Sampai kini belum ada informasi mengenai perlekatan antara *E.coli* K99 dengan zona pelusida yang dilacak menggunakan ELISA dan SEM. Uji ELISA dipersiapkan guna melacak perlekatan ini. Untuk itu, zona pelusida mencit dipisahkan, setelah embrio *hatching* dan selanjutnya disonikasi. Zona pelusida yang telah disonikasi dipandang sebagai antigen dan digunakan untuk melapisi sumuran cawan ELISA. Suspensi *E.coli* dalam PBS, baik bakteri yang memiliki K99 mau pun yang tidak, dipersiapkan dari sel-sel bakteri utuh yang berasal dari isolat yang berbeda. Antigen pili K99 dipersiapkan dengan pemanasan suspensi *E.coli* K99 pada suhu 60°C selama satu jam. Pili K99 diperoleh dengan melakukan sentrifugus. Embrio yang memiliki zona pelusida utuh dicemari dengan bakteri *E.coli* K99 sebanyak 10⁵ per ml, diinkubasikan selama satu jam pada suhu 37°C. Selanjutnya embrio yang tercemar itu dicuci dengan mPBS dan dipersiapkan untuk pemeriksaan mikroskop electron. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kepadatan optik sample-sampel yang mengandung antigen K99, angkanya lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak (K88 dan F41). Dalam penelitian ini ditemukan adanya perlekatan antara antigen K99 dengan zona pelusida pada sumuran yang dilapisi dengan zona pelusida, dan tidak dengan K88 dan F41. Hal ini berarti bahwa terjadi perlekatan antara antigen K99 dengan zona pelusida. Dengan SEM, bakteri *E.coli* K99 terlacak melekat pada permukaan embrio. Kesimpulan yang dapat ditarik dari penelitian ini bahwa terjadi perlekatan yang spesifik antara *E.coli* K99 dengan zona pelusida, yang ditunjukkan antara pili K99 dengan ekstrak zona pelusida.

Kata-kata kunci : ELISA, SEM, zona pelusida, *E.coli* K99.

J Vet 2006 7 (1) : 29 - 38

ABSTRACT

A laboratory study on the attachment of *Escherichia coli* K99 on the zona pellucida of mouse embryos was carried out by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and scanning electron microscopy (SEM). The zona pellucida of mouse embryo was separated from embryo by embryo hatching and sonification. The separated zona pellucida was then used antigen for ELISA. Suspension of several different *Escherichia coli* isolates with or without K99 antigen was prepared in PBS. K99 villous antigen was prepared by heating of the bacterial suspension at 60°C for 1 hour, and followed by centrifugation. Embryos with an intact zona pellucida were inoculated with *E. coli* at the dose of 10⁵ cells per ml and incubated for 1 hour at 37°C. After 3 times washes with PBS, the embryos were examined by scanning electron microscope. The result showed that the ELISA readings (optical density) of samples with K99 antigen was significantly higher than those without K99 antigen (K88 and F41). The attachment of *E. Coli* to the plate coated with zona pellucida was observed only in the well containing K99 antigen, but not in the well containing K88 or F41 antigen. The attachment of K99 bacterial cells was also observed by SEM. This study provide a clear evidence for the specific attachment between *E. coli* K99 and the zona pellucida of mouse embryo.

Key words: ELISA, SEM, Zona pellucida, *E.coli* K99

J Vet 2006 7 (1) : 29 - 38