



AKTIVITAS BIOLOGIS IMUNOGLOBULIN (Ig) Y SPESIFIK INFLUENZA DAN SARS-CoV-2 DALAM *FACE MIST*

INDI AMALIA NUGRAHENI



**PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN HEWAN
SEKOLAH KEDOKTERAN HEWAN DAN BIOMEDIS
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Aktivitas Biologis Imunoglobulin (Ig) Y Spesifik Influenza dan SARS-CoV-2 dalam *Face Mist*” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir skripsi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Juli 2024

Indi Amalia Nugraheni
B0401201099

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

ABSTRAK

INDI AMALIA NUGRAHENI. Aktivitas Biologis Immunoglobulin (Ig) Y Spesifik Influenza dan SARS-CoV-2 dalam *Face Mist*. Dibimbing oleh OKTI NADIA POETRI dan SRI RAHMATUL LAILA.

Infeksi Saluran Pernapasan Akut atau ISPA adalah penyakit yang dapat disebabkan oleh infeksi virus influenza atau corona. Pencegahan infeksi virus dapat dilakukan dengan memanfaatkan sediaan imunoglobulin (Ig) Y spesifik dalam sediaan kosmetik. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi aktivitas biologis IgY spesifik influenza dan SARS-CoV-2 yang dicampurkan dalam *face mist* secara *in vitro*. Komposisi *face mist* adalah *rose hydrosol*, akuades, *glycerin*, dan *leucidal* yang disimpan pada suhu ruang selama 5 minggu. Konsentrasi IgY didalam *face mist* sebesar 0.25% (P1) dan 0.5% (P2) (b/v) yang dibandingkan dengan kontrol negatif (KN, *face mist* tanpa IgY) serta kontrol positif (KP, akuades dengan 0.5% IgY). Pengamatan organoleptik dilakukan dengan mengamati perubahan aroma, warna, dan kekeruhan. Aktivitas biologis IgY spesifik diuji dengan *Enzyme-linked-immunosorbent-assay* (ELISA) dan *Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide* (SDS-PAGE), serta uji antiviral terhadap virus *Avian Influenza*. Hasil pengamatan organoleptik menunjukkan adanya perubahan aroma, warna, dan kekeruhan pada KP dan P2 mulai dari minggu ke-1, sedangkan pada KN tidak terjadi perubahan selama masa observasi. Hasil ELISA spesifik influenza A menunjukkan hasil positif pada sampel KP dan P2, sedangkan KN menunjukkan hasil negatif. Hasil SDS-PAGE menunjukkan adanya pita protein fragmen *heavy chain*, *light chain*, dan fragmen Fab dari IgY pada KP dan P2. Berdasarkan hasil ELISA dan SDS-PAGE, aktivitas biologis 0.5% IgY pada *face mist* terdeteksi dan bertahan selama 5 minggu pada suhu ruang. Hasil uji antiviral terhadap virus *Avian Influenza* menunjukkan bahwa kandungan 0.25% IgY pada *face mist* belum mampu menurunkan titer EID₅₀ > 4 log, hasil ini mengindikasikan bahwa *face mist* dengan konsentrasi IgY 0.25% belum optimal berperan sebagai antiviral.

Kata kunci: aktivitas biologis, *face mist*, imunoglobulin Y, influenza, SARS-CoV-2

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



ABSTRACT

INDI AMALIA NUGRAHENI. Biological Activity of Immunoglobulin (Ig) Y Specifically Influenza and SARS-COV-2 in Face Mist. Supervised by OKTI NADIA POETRI and SRI RAHMATUL LAILA.

Acute respiratory infections (ARI) generally caused by viral infection such as influenza virus or coronavirus. Viral infections can be prevented by utilizing immunoglobulin Y in cosmetics. This study aims to evaluate the biological activity of influenza-specific IgY and SARS-CoV-2 mixed in face mist in vitro. The composition of the face mist is rose hydrosol, aquadest, glycerin, and leucidal, which is stored at room temperature for 5 weeks. The IgY concentration in the face mist was 0.25% (P1) and 0.5% (P2) (w/v) which was compared with the negative control (KN, face mist without IgY) and positive control (KP, distilled water with 0.5 % IgY). Organoleptic observations were carried out by observing changes in aroma, color and turbidity. The biological activity of specific IgY was determined by Enzyme-linked-immunosorbent-assay (ELISA) and Sodium-Dodecyl-Sulfate-Polyacrylamide (SDS-PAGE), also an antiviral test against Avian Influenza virus. Organoleptic observations showed changes in aroma, color and turbidity in KP and P2 starting at week 1, whereas no changes observed in KN. The results of the influenza A specific ELISA showed positive results in samples KP and P2, whilst KN showed negative results. SDS-PAGE results showed the presence of IgY heavy chain, light chain and Fab fragment protein bands in KP and P2 samples, while no protein band detected in KN. Based on ELISA and SDS-PAGE results, the biological activity of 0.5% IgY in the face mist was detected and persisted for 5 weeks at room temperature. The results of antiviral test against the Avian Influenza virus showed that the 0.25% IgY in the face mist was not able to reduce the EID50 titer > 4 log, these results indicate that the face mist with an IgY concentration of 0.25% did not have an optimal role as an antiviral.

Keyword: biological activity, face mist, immunoglobulin Y, influenza, SARS-CoV-2



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2024¹
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



AKTIVITAS BIOLOGIS IMUNOGLOBULIN (Ig) Y SPESIFIK INFLUENZA DAN SARS-CoV-2 DALAM *FACE MIST*

INDI AMALIA NUGRAHENI

Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan pada
Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis

**PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN HEWAN
SEKOLAH KEDOKTERAN HEWAN DAN BIOMEDIS
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Judul Skripsi : Aktivitas Biologis Imunoglobulin (Ig) Y Spesifik Influenza dan SARS-CoV-2 dalam *Face Mist*

Nama : Indi Amalia Nugraheni
NIM : B0401201099

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Dr. drh. Okti Nadia Poetri, M.Si., M. Sc.

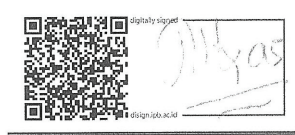


Pembimbing 2:
Dr. drh. Sri Rahmatul Laila



Diketahui oleh

Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran Hewan:
Dr. drh. Wahono Esthi Prasetyaningtyas, M.Si
NIP 19800618 200604 2 026



Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kemahasiswaan
Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis:
Prof. drh. Ni Wayan Kurniani Karja, MP, PhD
NIP 19690207 199601 2 001



Tanggal Ujian:
2 Juli 2024

Tanggal Lulus: 10 JUL 2024

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanaahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan dengan judul “Aktivitas Biologis Imunoglobulin (Ig) Y Spesifik Influenza dan SARS-CoV-2 dalam *Face Mist*”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada para pembimbing Dr. drh. Okti Nadia Poetri, M.Si., M. Sc. dan Dr. drh. Sri Rahmatul Laila yang telah membimbing dan banyak memberi saran serta masukan dari awal penulisan hingga selesai. Ungkapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada orang tua penulis Bapak Bakti Budi Prabawa dan Ibu Ina Dwigiyanti, serta seluruh keluarga yang telah memberikan dukungan, doa, dan kasih sayangnya. Tidak lupa ucapan terima kasih penulis kepada Kak Salsa, drh. Rudy, drh. Cahya, drh. Rifa, drh. Rahmat, dan Kak Aldo yang telah membantu dan membimbing selama penelitian di laboratorium. Selanjutnya, ucapan terima kasih penulis sampaikan atas doa dan dorongan moral kepada rekan-rekan seperjuangan pada penelitian ini Andrea, Nada dan Rani yang bersama-sama menyusun penelitian, sahabat-sahabat tercinta Najwa, Selvia, Nelza, Pahlita, Saum, Hasnah, Gita, Yumna dan seluruh rekan-rekan saya yang tidak bisa penulis tuliskan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna dan memiliki banyak kekurangan. Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Juli 2024

Indi Amalia Nugraheni

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR ISI

| | |
|---|-----|
| DAFTAR TABEL | xiv |
| DAFTAR GAMBAR | xiv |
| I PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 2 |
| 1.3 Tujuan | 2 |
| 1.4 Manfaat | 2 |
| II TINJAUAN PUSTAKA | 3 |
| 2.1 Influenza | 3 |
| 2.2 <i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2</i> | 3 |
| 2.3 <i>Immunoglobulin Yolk (IgY)</i> | 4 |
| 2.4 Pemanfaatan IgY untuk Diagnostik, Imunoterapi, dan Kosmetik | 5 |
| III METODE | 6 |
| 3.1 Waktu dan Tempat | 6 |
| 3.2 Alat dan Bahan | 6 |
| 3.3 Prosedur Kerja | 7 |
| 3.4 Analisis Data | 9 |
| IV HASIL DAN PEMBAHASAN | 10 |
| 4.1 Hasil | 10 |
| 4.2 Pembahasan | 14 |
| V SIMPULAN DAN SARAN | 17 |
| 5.1 Simpulan | 17 |
| 5.2 Saran | 17 |
| DAFTAR PUSTAKA | 18 |
| LAMPIRAN | 21 |
| RIWAYAT HIDUP | 25 |



DAFTAR TABEL

| | | |
|---|--|----|
| 1 | Perlakuan yang dilakukan untuk penelitian | 7 |
| 2 | Perubahan aroma pada kontrol dan perlakuan | 10 |
| 3 | Perubahan warna pada kontrol dan perlakuan | 11 |
| 4 | Perubahan kekeruhan pada kontrol dan perlakuan | 11 |
| 5 | Hasil rerata uji ELISA pada kontrol dan perlakuan | 12 |
| 6 | Karakterisasi IgY berdasarkan metode SDS-PAGE | 13 |
| 7 | Hasil pengujian antiviral terhadap AI H5N1 terhadap sampel <i>face mist</i> dengan IgY 0.25% | 13 |

DAFTAR GAMBAR

| | | |
|---|--|----|
| 1 | Perbedaan struktur IgG dan IgY (Pereira <i>et al.</i> 2019) | 4 |
| 2 | Hasil uji SDS-PAGE KP. Keterangan K= kontrol IgY 5%; Mg= minggu ke-n | 12 |
| 3 | Hasil uji SDS-PAGE KN. Keterangan K= kontrol IgY 5%; Mg= minggu ke-n | 12 |
| 4 | Hasil uji SDS-PAGE P2. Keterangan K= kontrol IgY 5%; Mg= minggu ke-n | 13 |

I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Infeksi Saluran Pernapasan Akut atau ISPA merupakan infeksi pada saluran pernapasan atas atau bawah yang bisa menyebabkan penyakit tanpa gejala (asimtomatis), maupun dengan gejala ringan, gejala berat hingga kematian. Gejala klinis ISPA antara lain batuk, demam, sakit tenggorokan, sesak napas, pilek dan mengigil. Gejala klinis dapat timbul dalam hitungan jam hingga beberapa hari setelah terpapar patogen penyebab (Aprilia *et al.* 2019). Infeksi ini dapat disebabkan oleh infeksi virus maupun bakteri (Putra dan Wulandari 2019). Virus penyebab ISPA bagian atas, antara lain virus influenza, virus corona, *Rhinovirus*, *Parainfluenzavirus*, *Respiratory syncytial virus* (RSV), dan *Adenovirus* (Aprilia *et al.* 2019).

Virus influenza merupakan salah satu penyebab ISPA dengan tingkat morbiditas dan mortalitas yang cukup tinggi. Selain itu, influenza menyebabkan kerugian ekonomi dan kejadian yang serius, seperti perawatan di rumah sakit, komplikasi penyakit hingga kematian (Boianelli *et al.* 2015). Virus influenza dapat memengaruhi fungsi berbagai organ di dalam tubuh dan dapat menginfeksi secara sistemik (Javarian *et al.* 2021). Virus lain yang menyebabkan ISPA adalah virus corona. Virus corona menyebabkan infeksi saluran pernapasan dengan tingkat morbiditas yang tinggi, dengan periode inkubasi yang lama, dan menimbulkan gejala klinis yang bervariasi. Beberapa kejadian wabah yang disebabkan oleh virus corona yaitu pada tahun 2002 disebabkan oleh SARS-CoV-1 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 1*) dan tahun 2012 disebabkan oleh MERS-CoV (*Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus*), kemudian pada tahun 2020 terjadi pandemi global *Coronavirus Infectious Disease* (COVID-19) yang disebabkan oleh SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*) (Shin *et al.* 2020).

Antibodi atau imunoglobulin (Ig) adalah molekul protein yang terbentuk akibat adanya paparan antigen dan dapat merespon aktivitas antigen (Pereira *et al.* 2019). Struktur antibodi terdiri dari *light chains* (LCs) dan *heavy chains* (HCs). Terdapat berbagai macam tipe imunoglobulin di berbagai spesies. Pada mamalia terdapat 5 kelas Ig yaitu: IgA, IgD, IgE, IgG, and IgM (Chiu *et al.* 2019). Sedangkan pada kelas hewan yang lain, terdapat kelas imunoglobulin yang berbeda, misalnya pada unggas memiliki IgM, IgA dan IgY (Tarigan *et al.* 2016). Sifat imunoglobulin yang dapat mengikat target spesifik dapat dimanfaatkan dalam penelitian, diagnosis dan terapi (Pereira *et al.* 2019). Salah satu imunoglobulin yang banyak digunakan untuk penelitian adalah IgY. Imunoglobulin Y adalah imunoglobulin yang dihasilkan oleh hewan yang bertelur seperti unggas, reptil, amfibi serta *lungfish* dan ditemukan pada serum dan kuning telur. Penelitian terdahulu menunjukkan pemanfaatan IgY untuk diagnostik dan terapi terhadap bakteri, virus, fungi pada penyakit tanaman dan penyakit hewan (Munhoz *et al.* 2014).

Imunoglobulin Y dapat dimanfaatkan dalam pengebalan pasif, sebagai proteksi dari infeksi patogen spesifik, namun proteksi yang diberikan dari pengebalan pasif bersifat segera dan berumur pendek (Gadde *et al.* 2015). Constantin *et al.* (2020) melakukan penelitian mengenai pengebalan pasif

menggunakan IgY spesifik anti-*P. aeruginosa* untuk imunoterapi pada pasien *cystic fibrosis* (CF).

Selain untuk diagnostik dan terapi pada bidang medis, IgY juga dimanfaatkan dalam bidang kosmetik. Tsukamoto *et al.* (2018), memanfaatkan IgY spesifik anti alergen serbuk sari yang dijadikan komposisi *gel mist* untuk meringankan gejala alergi. Dalam penelitian ini, IgY spesifik influenza dan SARS-CoV-2 disisipkan pada *face mist* dengan yang bertujuan agar IgY dapat menetralkan virus influenza dan corona sehingga tidak dapat masuk ke dalam saluran pernapasan. Penelitian ini merupakan kelanjutan dari studi sebelumnya oleh Setyawati (2022) yang mempelajari daya tahan aktivitas biologis IgY spesifik influenza yang disisipkan dalam *face mist* komersil (PIXY® Aqua Beauty Protecting Mist Setting Spray - Face Mist Make Up). Yang membedakan dari penelitian sebelumnya adalah, pada penelitian ini *face mist* yang digunakan bukan produk komersil, tanpa kandungan etanol serta konsentrasi IgY yang digunakan lebih rendah dibandingkan studi sebelumnya.

1.2 Rumusan Masalah

Penelitian dan pemanfaatan IgY spesifik telah banyak dilakukan, salah satunya dalam bidang kosmetik. Immunoglobulin Y dapat disisipkan sebagai bahan aktif dalam kosmetika, misalnya pada *face mist*. *Face mist* digunakan untuk menjaga kelembapan kulit wajah, penyisipan IgY spesifik pada produk ini dapat menambah daya guna produk yang bermanfaat untuk memitigasi penyakit. Namun, studi pendahuluan mengenai daya tahan aktivitas biologi IgY di dalam *face mist* secara *in vitro* perlu dilakukan.

1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan mengevaluasi aktivitas biologis IgY spesifik influenza dan SARS-CoV-2 yang dicampurkan dalam *face mist* secara *in vitro*. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi mengenai pemanfaatan IgY spesifik dalam bidang kosmetik.

1.4 Manfaat

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi mengenai pemanfaatan IgY spesifik dalam bidang kosmetik.

II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Influenza

Virus influenza merupakan patogen penyebab penyakit pernapasan akut. Virus ini termasuk ke dalam anggota famili *Orthomyxoviridae* yang terdiri dari empat genus, yakni *Alphainfluenzavirus* yang memiliki spesies virus influenza A, *Betafluenzavirus* yang memiliki spesies virus influenza B, *Gammafluenzavirus* yang memiliki spesies virus influenza C dan *Deltafluenzavirus* yang memiliki spesies virus influenza D (Asha dan Kumar 2019). Virus ini memiliki amplop dengan gen *negative-sense* RNA untai tunggal tersegmentasi yang memiliki glikoprotein hemagglutinin (HA) dan neuraminidase (NA) (Javanian *et al.* 2021). Virus influenza melakukan replikasi utamanya di epitelium saluran napas (Kalil dan Thomas 2019). Protein HA akan menempel pada permukaan sel reseptor dan menginisiasi virus untuk masuk ke dalam sel, sedangkan protein NA berperan dalam membantu replikasi dan memungkinkan virus untuk keluar dari sel inang (Javanian *et al.* 2021).

Virus influenza A merupakan tipe virus penyebab flu musiman dengan tingkat morbiditas dan mortalitas yang cukup tinggi (Boianelli *et al.* 2015). Inang dari virus ini terdiri dari berbagai macam spesies seperti mamalia, unggas, serta burung liar. Subtipe virus influenza A sangat beragam, karena terdapat total 18 HA dan 11 NA yang telah ditemukan (Peteranderl *et al.* 2016). Virus influenza B dapat menginfeksi manusia dengan tingkat penularan yang tinggi dibandingkan pada spesies lain. Virus influenza B dibagi menjadi dua kategori, yaitu B/*Victoria/2/1987-like* dan B/*Yamagata/16/1988-like*. Virus influenza C umumnya menginfeksi manusia dan menyebabkan gejala penyakit saluran pernapasan atas yang ringan. Virus influenza D teridentifikasi di beberapa hewan seperti babi, sapi dan domba. Virus ini memiliki potensi zoonosis (Asha dan Kumar 2019).

Gejala klinis influenza adalah demam, menggigil, sakit kepala, lemah, nyeri otot, nyeri sendi, mata merah, sakit tenggorokan dan batuk kering. Pada anak-anak, gejala tambahan yang dapat terlihat antara lain mual, sakit perut, otitis media dan muntah. Kasus influenza umumnya akan pulih beberapa hari setelah infeksi. Namun, jika gejala yang dialami tidak kunjung sembuh, terdapat kemungkinan indikasi komplikasi seperti sinusitis, pneumonia atau penyakit yang lain (Javanian *et al.* 2021).

2.2 Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2

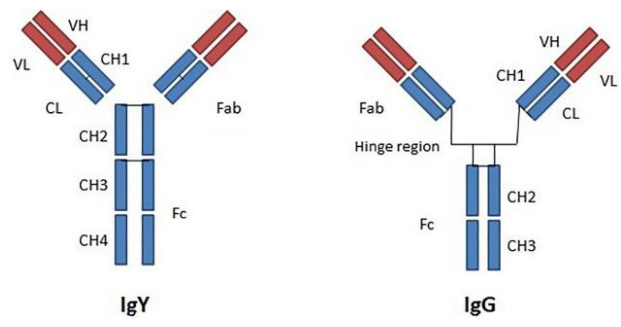
Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) adalah virus yang menyebabkan *Coronavirus disease 19* (COVID-19). Penyakit ini pertama kali ditemukan di Wuhan, Cina pada Desember 2019 (Yuki *et al.* 2020). Virus corona adalah virus beramplop, partikel ikosahedral simetris, dengan *positive-sense* RNA untai tunggal yang tidak bersegmen berukuran sekitar 26–32 kb. Virus ini termasuk ke dalam famili *Coronaviridae*. Berdasarkan struktur gen, virus ini terbagi menjadi empat genus, yaitu *Alphacoronavirus* (α CoV), *Betacoronavirus* (β CoV), *Gammacoronavirus* (γ CoV), and *Deltacoronavirus* (δ CoV) (Helmy *et al.* 2020). Virus ini terdiri dari empat struktur protein, yakni glikoprotein *spike* (S), membran (M), *envelope* (E) dan nukleokapsid (N) (Shin *et*

al. 2020). Glikoprotein *spike* memiliki dua unit fungsional, yakni S₁ yang berfungsi dalam pengikatan virus dengan sel reseptor inang dan S₂ berfungsi saat fusi virus dengan membran sel (Yuki *et al.* 2020). Virus corona terkenal dengan kemampuannya dalam bermutasi secara cepat, dapat menginfeksi berbagai spesies, dan beradaptasi di situasi epidemiologi yang berbeda (Helmy *et al.* 2020).

Sekuensi gen dari virus SARS-CoV-2 homolog dengan SARS-CoV sebanyak 77% dan MERS-CoV sebanyak 50% (Shin *et al.* 2020). Penularan SARS-CoV-2 dapat melalui kontak langsung, droplet aerosol, rute *oral-fecal* dan fomites perantara dari pasien dengan gejala atau tanpa gejala saat masa inkubasi (Helmy *et al.* 2020). Masa inkubasi SARS-CoV-2 berkisar antara 2.1-11.1 hari. Namun, monitor aktif dari SARS-CoV-2 direkomendasikan adalah 14 hari (Ciotti *et al.* 2020). Gejala klinis yang umumnya ditunjukkan oleh penyakit ini, antara lain demam, batuk kering, bersin, kesulitan bernapas, hilangnya sensasi rasa dan bau, sakit tenggorokan. Dalam kasus yang berat ditandai dengan pneumonia, asidosis metabolisme, syok septik dan perdarahan (Helmy *et al.* 2020).

2.3 Immunoglobulin Yolk (IgY)

Imunoglobulin adalah glikoprotein yang disekresikan oleh sel plasma sebagai respon paparan antigen dan terdiri dari produk utama imunitas humoral. Ayam menghasilkan tiga kelas atau isotipe imunoglobulin, antara lain IgY, IgM, dan IgA. Imunoglobulin Y pada ayam memiliki konsentrasi yang tinggi sebanyak 5-15 mg/mL, IgM sebanyak 1-3 mg/mL dan IgA sebanyak 0,3-0,5 mg/mL. Imunoglobulin Y adalah antibodi utama yang diproduksi pada unggas, reptil, amfibi serta *lungfish* dan ditemukan pada serum darah ayam dan telur unggas (Munhoz *et al.* 2014). Imunoglobulin Y pada telur ayam terdapat dalam jumlah banyak di kuning telur, IgM dan IgA terdapat di putih telur (Tarigan *et al.* 2016).



Gambar 1 Perbedaan struktur IgG dan IgY (Pereira *et al.* 2019)

Imunoglobulin Y merupakan antibodi utama yang dihasilkan oleh sistem kekebalan tubuh pada unggas yang dianggap analog dengan imunoglobulin G yang terdapat pada serum, plasenta dan kolostrum mamalia (Saputri *et al.* 2022). Dengan kata lain IgY berbeda dengan IgG secara filogenetik namun memiliki fungsi yang sama dengan IgG (Poetri *et al.* 2008). Perbedaan yang mencolok dari keduanya adalah adanya perbedaan ukuran dari HCs. Imunoglobulin Y memiliki 4 regio konstan (CH1-CH4), sedangkan IgG memiliki 3 regio konstan (CH1-CH3). Selain itu, IgG memiliki engsel yang lebih jelas diantara CH1 dan CH2 daripada IgY sehingga IgG memiliki struktur yang lebih lentur (Pereira *et al.* 2019; Saputri *et al.* 2022). Imunoglobulin Y pada unggas memiliki fungsi yang sama dengan IgG pada mamalia yaitu sebagai immunoglobulin utama dalam melawan agen infeksius

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

(Munhoz *et al.* 2014). Namun, IgY unggas dapat menunjukkan respons kekebalan terhadap dan/atau mengenali lebih banyak epitop protein mamalia daripada IgG mamalia (Redwan *et al.* 2021).

Struktur molekul IgY terdiri dari dua *heavy chains* (H) yang masing-masing memiliki berat 67-70 kDa, dan dua *light chains* (L) dengan berat 25 kDa. Pada *light chains* terdapat satu bagian konstan (C_L) dan satu bagian variabel (V_L). Immunoglobulin Y memiliki empat bagian konstan (CH1-CH4) dan berat molekul 180 kDa (Pereira *et al.* 2019). Struktur IgY terbagi menjadi Fc dan Fab. Bagian Fc berperan dalam fiksasi komplemen, reaksi anafilaktik, dan opsonisasi. Sedangkan bagian Fab berperan sebagai area pengikatan antigen (Munhoz *et al.* 2014). Immunoglobulin Y memiliki rantai kurang fleksibel karena tidak terdapat engsel pada bagian antara CH1 dan CH2. Rantai kurang fleksibel ini meningkatkan resistensi IgY terhadap degradasi proteolitik dan fragmentasi. Immunoglobulin Y stabil pada suhu 30°-70°C dan aktif pada pH 3.5-11 (Pereira *et al.* 2019).

2.4 Pemanfaatan IgY untuk Diagnostik, Imunoterapi, dan Kosmetik

Imunoglobulin Y telah banyak dimanfaatkan dalam penelitian, diagnostik dan terapi. Immunoglobulin Y dipilih sebagai objek penelitian karena beberapa alasan, antara lain berdasarkan jarak filogenetiknya antibodi yang diproduksi lebih spesifik terhadap protein mamalia, banyaknya jumlah antibodi yang dihasilkan sehingga dapat diproduksi dalam skala besar, serta cara koleksi yang tidak invasif (Tarigan *et al.* 2016). Selain itu, IgY tidak berinteraksi dengan *rheumatoid factor* (RF), produksi IgY dan penyesuaian dengan berbagai antigen tergolong mudah, serta stabil pada suhu tinggi dan jangkauan pH yang luas (Redwan *et al.* 2020). Berdasarkan *European Centre for the Validation of Alternative Methods* (ECVAM), penggunaan telur ayam untuk studi IgY direkomendasikan sebagai alternatif substitusi antibodi mamalia dalam segi kesejahteraan hewan (Munhoz *et al.* 2014).

Pemanfaatan IgY untuk diagnostik telah dilakukan untuk mendiagnosa virus, bakteri, fungi, tanaman dan penyakit hewan. Beberapa studi yang telah dilakukan adalah *immunoassay tests* untuk mendeteksi antigen dari *Schistosoma japonicum*, perkembangan studi mengenai antibodi IgY terhadap protein dari *Pythium insidiosum* (Munhoz *et al.* 2014). Selain itu, untuk deteksi *Canine Parvovirus* (CPV-VLPs), *Bovine Viral Diarrhea Virus* (BVDV), *Hepatitis A Virus* (HAV), *Soft-shelled Turtle Systemic Septicemia Spherical Virus* (STSSSV), *Coronavirus* (CoV), *Toxoplasma gondii*, *Cryptosporidium hominis*, diagnosis demam berdarah dengue, potensial diagnostik IgY untuk *Staphylococcus aureus* (Pereira *et al.* 2019).

Pemanfaatan IgY untuk imunoterapi dilakukan untuk antibakteri, antiviral, antifungal, antiparasit, antitumor, antiobesitas, antialergi, antivenom (Pereira *et al.* 2019). Immunoglobulin Y juga dimanfaatkan sebagai imunisasi pasif untuk pencegahan infeksi *Mycobacterium tuberculosis* penyebab penyakit TBC, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus mutans* penyebab karies gigi, *Candida albicans* penyebab candidiasis oral dan *Helicobacter pylori* (Sudjarwo *et al.* 2017; Norouzi *et al.* 2020; Rahman *et al.* 2013). Pemanfaatan IgY untuk kosmetik telah dilakukan di beberapa penelitian, salah satunya adalah untuk krim atau gel, antara lain krim dan gel anti-*Candida albicans* IgY, krim untuk mengontrol *Staphylococcus aureus* pada kulit, dan perawatan wajah untuk melawan *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes* penyebab jerawat (Vieira-Pires *et al.* 2021; Kota *et al.* 2020; Yakhkeshi *et al.* 2022).



sebelumnya. Imunoglobulin Y spesifik influenza merupakan hasil dari penelitian Saputri *et al.* (2023) dan IgY SARS-CoV-2 merupakan hasil dari penelitian Saputri *et al.* (2022).

3.3 Prosedur Kerja

3.3.1 Persiapan *Face Mist* berisi IgY

Proses persiapan dilakukan secara aseptis. *Face mist* dibuat dengan langkah menyiapkan 3 gelas piala 100 ml dengan masing-masing berisi 60 gram *rose hydrosol*, 57 gram akuades, dan 0.6 gram *leucidal*, serta gelas piala 500 ml yang diisi dengan *vegetable glycerin* sebanyak 2.4 gram. Selanjutnya, akuades yang sudah ditimbang dituangkan ke gelas piala 500 ml yang berisikan *vegetable glycerin*, kemudian diaduk dengan batang pengaduk hingga homogen. Setelah itu, *rose hydrosol* yang sudah ditimbang dituang ke gelas piala 500 ml dan diaduk kembali hingga homogen. *Leucidal* yang sudah ditimbang dituang, kemudian diaduk kembali hingga homogen.

Konsentrasi IgY dalam sediaan *face mist* yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0.25% dan 0.5% b/v (gr/100 mL) IgY influenza dan SARS-CoV-2. Perlakuan yang dilakukan dijelaskan pada Tabel 1.

Tabel 1 Perlakuan yang dilakukan untuk penelitian

| Kode sediaan | Keterangan | Konsentrasi IgY | Metode uji |
|----------------------|------------------|-----------------|-------------------------------|
| Kontrol positif (KP) | akuades + IgY | 0.5% | Organoleptik, ELISA, SDS-PAGE |
| Kontrol negatif (KN) | <i>face mist</i> | - | Organoleptik, ELISA, SDS-PAGE |
| Perlakuan 1(P1) | <i>face mist</i> | 0.25% | Uji antiviral <i>in ovo</i> |
| Perlakuan 2 (P2) | <i>face mist</i> | 0.5% | Organoleptik, ELISA, SDS-PAGE |

Setiap sediaan dibuat sebanyak 20 mL dan disimpan dalam botol plastik steril yang ditutup rapat kemudian disimpan di suhu ruang selama empat minggu. Pengamatan dilakukan setiap minggu dengan pengoleksian 0.8 mL larutan sediaan yang disimpan di dalam tabung mikro. Sampel per minggu disimpan pada suhu -20 °C sampai uji dilaksanakan.

3.3.2 Pengamatan Organoleptik

Indikator yang diamati pada pengamatan organoleptik, yaitu aroma, warna dan kekeruhan. Pengamatan pencatatan perubahan yang terjadi dilakukan selama empat minggu. Perubahan aroma, warna dan kekeruhan dinilai dengan pancaindera serta diamati dengan membandingkan antara kontrol positif (KP), negatif (KN) dan perlakuan 2 (P2).

3.3.3 Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay (ELISA)

Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay (ELISA) dilakukan terhadap sampel KN, KP dan P2 menggunakan kit ELISA *ID Screen® Influenza A Antibody Competition Multi-species* (ID Vet).

Pengujian ELISA dilakukan sesuai dengan protokol yang tertera di dalam kit ELISA. Persiapan pengujian ELISA awal dilakukan dengan pengenceran *wash solution* menjadi 1/20 dengan akuabides dan pengenceran larutan konjugat menjadi 1/10 menggunakan larutan *buffer* 3. Perlu dipastikan semua sampel divorteks sebelum digunakan. Sebanyak 40 µL *dilution buffer* 2 dimasukkan pada setiap sumur sampel, 10 µL kontrol positif pada sumur A1 dan B1, 10 µL kontrol negatif pada sumur C1 dan D1, serta 10 µL sampel pada setiap sumur uji sisanya. Kemudian, *plate* ditutup menggunakan *aluminium foil* dan diinkubasi selama 60 menit ± 6 menit pada suhu 37 °C ± (2 °C). Selanjutnya, air di dalam sumur dibuang dan dipastikan semua sumur telah kosong, kemudian dibilas dengan *wash solution* sebanyak 300 µL/sumur dan dilakukan lima kali pengulangan pencucian. Setelah itu, larutan konjugat ditambahkan sebanyak 50 µL pada setiap sumur. *Plate* kemudian ditutup dengan *aluminium foil* dan diinkubasi selama 30 menit ± 3 menit pada suhu 21 °C ± (5 °C). Selanjutnya, air di dalam sumur dibuang dan dipastikan semua sumur telah kosong, kemudian dibilas dengan *wash solution* sebanyak 300 µL/sumur dan dilakukan tiga kali pengulangan pencucian. Lalu, dengan keadaan gelap, *Substrate solution* ditambahkan sebanyak 50 µL pada setiap sumur. *Plate* ditutup menggunakan *aluminium foil* dan diinkubasi selama 10 menit ± 1 menit pada suhu 21 °C ± (5 °C) dalam ruang gelap (waktu dimulai dari penambahan substrat pada sumur pertama). Selanjutnya *stop solution* ditambahkan sebanyak 50 µL/sumur untuk menghentikan reaksi. Hasil dibaca pada spektrofotometer atau ELISA *reader* dengan panjang gelombang 450 nm. Uji dinyatakan valid apabila rata-rata *Negative Control* O.D. (OD_{NC}) lebih besar dari 0.7 dan rata-rata *Positive Control* O.D. (OD_{PC})/ *Negative Control* O.D. (OD_{NC}) kurang dari 0.3. Hasil dari pengujian kemudian dihitung persentase kompetisi (S/N%) nilai OD_{sampel} dengan rumus:

$$S/N\% = \frac{OD_{Sampel}}{OD_{NC}} \times 100$$

Interpretasi dari hasil perhitungan S/N% dinyatakan positif jika nilai S/N% lebih kecil sama dengan 45% (S/N% ≤ 45%), dubius atau meragukan jika nilai S/N% berada pada rentang 45% hingga 50% (45% < S/N% < 50%), dan negatif jika nilai S/N% lebih besar sama dengan 50% (S/N% ≥ 50%).

3.3.4 Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)

Pengujian SDS-PAGE dilakukan terhadap sampel KP, KN, dan P2. Persiapan untuk pengujian SDS-PAGE dilakukan dengan pembuatan agar SDS. Agar SDS elektroforesis yang digunakan berasal dari larutan 1.4 M Tris-HCl *running gel* (pH 8.8), larutan *acrylamide/bis* 40%, larutan SDS 20%, larutan

amonium persulfat 30%, TEMED sebagai *running gel*, larutan 1 M Tris-HCL *stacking gel* (pH 6.8), larutan *acrylamide/bis* 40%, larutan SDS 20%, larutan amonium persulfat 30%, dan TEMED sebagai *stacking gel*. *Running gel* memiliki konsentrasi 12% dan *stacking gel* 4%. Sebanyak 40 μ L sampel protein dan 10 μ L *buffer* dibuat dalam *microtube* PCR 1.5 mL. Lalu sampel dipanaskan menggunakan penangas selama 10 menit pada suhu 95 °C. Alat elektroforesis SDS-PAGE disiapkan dan pelat kaca berisi gel SDS-PAGE disusun. Kemudian, *running buffer* pH 8.3 dituangkan pada kolom atas dan kolom bawah alat elektroforesis hingga penuh. Sebanyak 10 μ L marker dan sampel protein dimasukkan pada sumur-sumur agar. Tangki elektroforesis dihubungkan dengan arus listrik 100 V, 100 mA selama 90 menit. Setelah itu, agar SDS-PAGE diwarnai dalam larutan *coomassie brilliant blue*, perendaman dilakukan selama 30 menit sambil digoyangkan secara perlahan. Kemudian, agar SDS-PAGE yang telah selesai direndam, dimasukkan ke dalam larutan *destaining* selama satu malam. Setelah itu, larutan *destaining* diganti dengan larutan baru dan dibiarkan selama 3 jam. Selanjutnya, larutan *destaining* dibuang dan pita-pita protein yang terbentuk pada agar SDS-PAGE dihitung.

3.3.5 Uji Antiviral terhadap Virus AI H5N1

Metode dan parameter uji antiviral terhadap virus *Avian Influenza* H5N1 mengacu pada BS EN 14476 (2019) dengan modifikasi dan OIE (2018). Modifikasi metode terletak pada media kultur virus, yaitu digunakan telur ayam berembrio *clean egg* serta sel darah ayam sebagai pengganti sel darah merah domba. Pengujian ini menggunakan sampel *face mist* dengan konsentrasi IgY 0.25% (P1).

Pengujian dilakukan pada dua kondisi, yaitu kondisi bersih dan kotor. Perlakuan dengan kondisi bersih menggunakan 0.1 ml virus AI H5N1 ditambahkan dengan 0.1 ml *bovine serum albumin* (BSA) 0.3% (konsentrasi BSA pada campuran 0.03%) dan 0.8 ml sampel uji. Setelah itu, campuran diinkubasi pada suhu ruang selama 5 menit. Pada perlakuan dengan kondisi kotor dilakukan dengan 0.1 ml virus AI H5N1 ditambah dengan 0.1 ml SDM+BSA 0.3% (konsentrasi SDM+BSA pada campuran 0.03%) dan 0.8 ml sampel uji, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 5 menit. Kontrol yang digunakan adalah virus AI H5N1 yang tidak ditambah apapun. Infektivitas virus diamati dengan *Egg Infectious Dose* (EID) 50 dan nilai EID50 akan ditentukan dengan *Reed & Muench formula* (OIE 2018). Bahan uji dianggap memiliki efek antiviral apabila titer virus AI H5N1 dengan uji EID50 pada sampel perlakuan mengalami penurunan paling tidak sebesar 4 log (BS EN 14476 2019).

3.4 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan organoleptik dalam bentuk tabel, hasil uji ELISA dalam bentuk tabel, uji SDS-PAGE dalam bentuk gambar dan tabel serta hasil uji antiviral terhadap virus AI H5N1 dalam bentuk tabel di analisa secara deskriptif.

IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Pengamatan Organoleptik

Indikator yang diamati pada pengamatan organoleptik, yaitu aroma, warna dan kekeruhan. Perubahan aroma, warna dan kekeruhan dinilai dengan pancaindera serta diamati dengan membandingkan antara kontrol positif (KP), negatif (KN) dan sediaan *face mist* dengan 0.5% IgY (P2) yang dicampur dengan IgY kering beku.

Aroma

Berdasarkan hasil pengamatan selama pengujian, terdapat perubahan aroma seiring dengan berjalannya waktu pengamatan. Pada minggu ke-0, KP tidak memiliki aroma sedangkan KN dan P2 memiliki aroma khas yang kuat dari bahan *face mist*. KP mengalami perubahan aroma mulai dari minggu ke-1. Untuk KN, aroma khas *face mist* tidak mengalami perubahan. Sedangkan untuk sampel P2, mulai terjadi perubahan aroma pada minggu ke-1. Perubahan aroma pada ketiga sampel dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Perubahan aroma pada kontrol dan perlakuan

| Minggu | KP | KN | P2 |
|--------|----|----|-----|
| 0 | - | - | - |
| 1 | + | - | + |
| 2 | ++ | - | ++ |
| 3 | ++ | - | ++ |
| 4 | ++ | - | +++ |

Keterangan:

KP = Kontrol positif
KN = Kontrol negatif
P2 = Sediaan *face mist*
dengan 0.5 % IgY

Perubahan aroma:

(-) Tidak beraroma/ aroma khas *face mist*
(+) Aroma telur tercium samar/ aroma khas *face mist* berkurang
(++) Aroma telur tercium/ aroma khas *face mist* mulai menghilang
(+++ Aroma telur pekat/ aroma khas *face mist* hilang

Warna

Perubahan warna pada KP mulai terlihat pada minggu ke-1, yaitu mulai terlihat putih. Untuk KN, dari minggu ke-0 hingga minggu ke-4 tidak terlihat adanya perubahan warna. Pada P2, terjadi perubahan warna mulai dari minggu ke-1, yaitu dari putih menjadi putih kekuningan. Perubahan warna pada sampel disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3 Perubahan warna pada kontrol dan perlakuan

| Minggu | KP | KN | P2 |
|--------|----|----|----|
| 0 | - | - | - |
| 1 | + | - | + |
| 2 | + | - | + |
| 3 | + | - | ++ |
| 4 | + | - | ++ |

Keterangan:
 KP = Kontrol positif
 KN = Kontrol negatif
 P2 = Sediaan *face mist* dengan 0.5% IgY

Perubahan warna:
 (-) Bening
 (+) Putih
 (++) Putih kekuningan
 (+++) Kekuningan

Kekeruhan

Pada KP sampel terlihat sedikit keruh pada minggu ke-1 dan menjadi keruh dari minggu ke-2. Kontrol negatif (KN) tidak terlihat adanya perubahan kekeruhan hingga minggu ke-4. Sedangkan untuk P2 terlihat perubahan mulai pada minggu ke-1. Perubahan kekeruhan sampel dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4 Perubahan kekeruhan pada kontrol dan perlakuan

| Minggu | KP | KN | P2 |
|--------|----|----|----|
| 0 | - | - | - |
| 1 | + | - | + |
| 2 | ++ | - | + |
| 3 | ++ | - | ++ |
| 4 | ++ | - | ++ |

Keterangan:
 KP = Kontrol positif
 KN = Kontrol negatif
 P2 = Sediaan *face mist* dengan 0.5% IgY

Tingkat kekeruhan:
 (-) Jernih
 (+) Sedikit keruh
 (++) Keruh
 (+++) Sangat keruh

4.1.2 Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay (ELISA)

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada uji ELISA spesifik influenza A, IgY pada P2 terdeteksi dari minggu ke-0 hingga minggu ke-4. Nilai S/N% sampel P2 menunjukkan peningkatan pada setiap minggunya. Hasil ELISA terhadap sampel disajikan dalam Tabel 5.



Tabel 5 Hasil rerata uji ELISA pada kontrol dan perlakuan

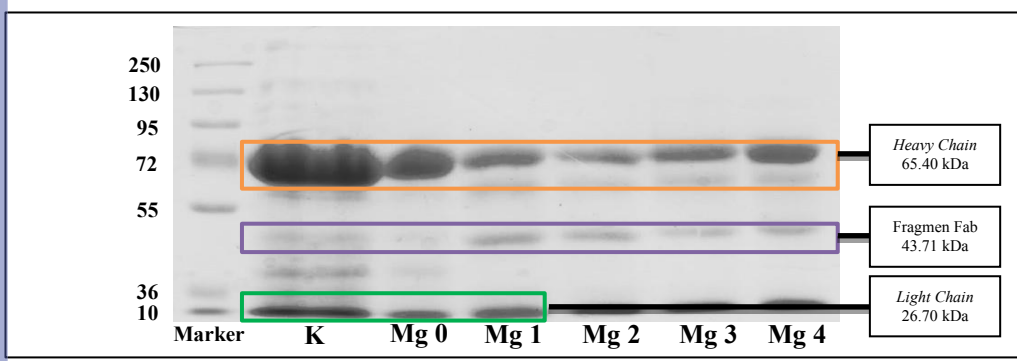
| Mg | KP | | KN | | P2 | |
|----|-----------------------|--------------|-----------------------|--------------|----------------------|--------------|
| | S/N% | Interpretasi | S/N% | Interpretasi | S/N% | Interpretasi |
| 0 | 15.75439 ^a | + | 97.29825 ^a | - | 22.5614 ^a | + |
| 1 | 34.59649 ^a | + | 84.5614 ^a | - | 29.0877 ^a | + |
| 2 | 29.7193 ^a | + | 99.19298 ^a | - | 34.7719 ^a | + |
| 3 | 40.42105 ^a | + | 102.1754 ^a | - | 35.0175 ^a | + |
| 4 | 34.66667 ^a | + | 98.73684 ^a | - | 37.5087 ^a | + |

Keterangan:
Mg = Minggu ke-n
KP = Kontrol positif
KN = Kontrol negatif
P2 = Sediaan *face mist* dengan 0.5% IgY
^a = *Superscript* pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata (P>0.05)

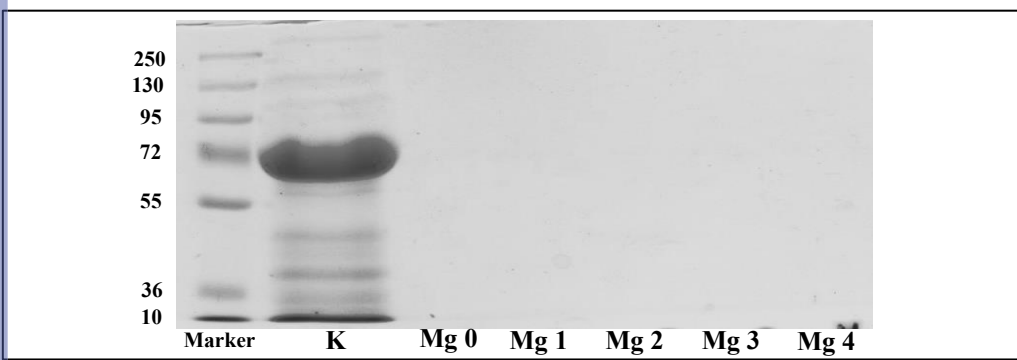
Interpretasi:
S/N% ≤ 45% = Positif (+)
45% < S/N% < 50% = Dubius
S/N% ≥ 50% = Negatif (-)

4.1.3 Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)

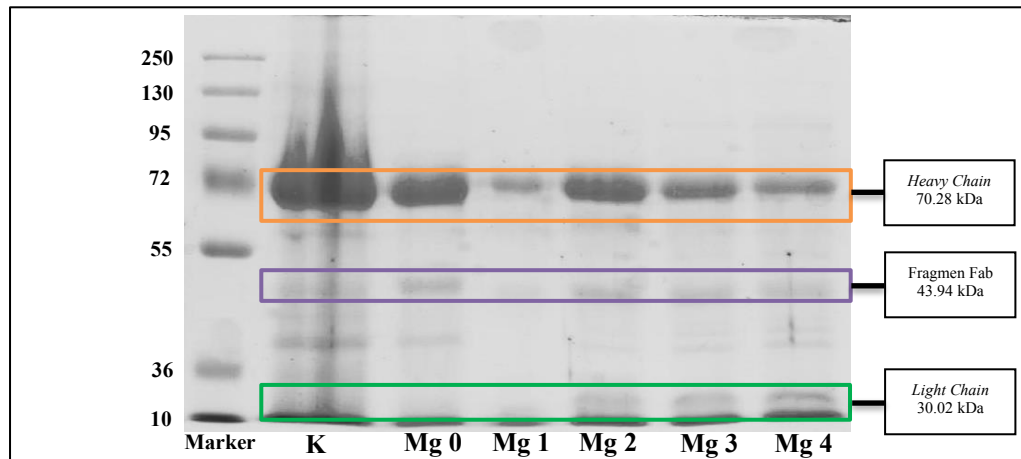
Hasil uji SDS-PAGE menunjukkan adanya tiga pita protein IgY pada sampel KP dan P2. Gambar 2, 3, dan 4 merupakan hasil pengukuran berat molekul pita protein IgY pada sampel KP, KN, dan P2.



Gambar 2 Hasil uji SDS-PAGE KP. Keterangan K= kontrol IgY 5%; Mg= minggu ke-n



Gambar 3 Hasil uji SDS-PAGE KN. Keterangan K= kontrol IgY 5%; Mg= minggu ke-n



Gambar 4 Hasil uji SDS-PAGE P2. Keterangan K= kontrol IgY 5%; Mg= minggu ke-n

Tabel 6 Karakterisasi IgY berdasarkan metode SDS-PAGE

| Sampel | Berat Molekul (kDa) | Deskripsi |
|--------|---------------------|-------------|
| KP | 65.40 | Heavy chain |
| | 43.71 | Fragmen Fab |
| | 26.70 | Light chain |
| KN | - | - |
| P2 | 70.28 | Heavy chain |
| | 43.94 | Fragmen Fab |
| | 30.02 | Light chain |

4.1.4 Uji Antiviral terhadap Virus AI H5N1

Uji antiviral terhadap virus AI H5N1 menunjukkan bahwa *face mist* yang disisipkan IgY influenza dan SARS-CoV-2 dengan konsentrasi 0.25% dapat menurunkan titer virus influenza sebesar 3.76 log pada kondisi bersih, dan pada kondisi kotor sebesar 3.26 log. Kedua nilai ini kurang dari 4 log. Hasil pengujian antiviral *face mist* yang disisipkan dengan IgY dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7 Hasil pengujian antiviral terhadap AI H5N1 terhadap sampel *face mist* dengan IgY 0.25%

| Kondisi | Titer EID50 (log ₁₀)/mL | | Selisih log |
|---------|-------------------------------------|-----------------|-------------|
| | Kontrol virus | Virus+bahan uji | |
| Bersih | 7.5 | 3.74 | 3.76 |
| Kotor | 7.5 | 4.24 | 3.26 |

4.2 Pembahasan

Face mist atau penyegar wajah merupakan salah satu jenis kosmetik perawatan wajah yang dapat digunakan sehari-hari dan berfungsi untuk melembapkan serta menyegarkan kulit wajah. Dalam pemanfaatannya, fungsi *face mist* dapat diperkaya, misalnya dengan menambahkan bahan aktif seperti IgY spesifik sehingga produk ini memiliki fungsi ganda selain sebagai kosmetik. Tsukamoto *et al.* (2018) menyisipkan IgY burung unta yang spesifik terhadap serbuk sari pada produk *gel mist* yang dapat menginaktivasi alergen pada kulit di area wajah dan hidung, sehingga fungsi *gel mist* bertambah sebagai anti alergi serbuk sari.

Pada penelitian ini ditentukan daya tahan aktivitas biologis serta kemampuan antiviral IgY spesifik influenza dan SARS-CoV-2 yang disisipkan dalam *face mist*. Pada penelitian ini, dibuat *face mist* dengan dua konsentrasi IgY yang berbeda yaitu 0.25% dan 0.5% b/v. Penentuan kedua konsentrasi ini mengacu dari hasil uji sebelumnya (data tidak ditampilkan) yaitu konsentrasi terkecil yang masih menunjukkan hasil positif pada uji ELISA. Daya tahan aktivitas biologis IgY ditentukan dengan pengamatan organoleptik, ELISA dan SDS-PAGE untuk sediaan *face mist* yang mengandung IgY konsentrasi 0.5%. Hasil pengamatan organoleptik sampel KP dan P2 menunjukkan adanya perubahan aroma, warna dan kekeruhan. Pada P2 aroma khas dari *face mist* yang awalnya tercium kuat makin lama makin berkurang dan hilang pada minggu ke-4 sedangkan aroma telur mendominasi pada minggu ke-4. Begitu juga pada sampel KP, aroma telur paling kuat saat minggu ke-4. Pada sampel KN, aroma khas *face mist* tercium dari minggu ke-0 hingga minggu ke-4.

Perubahan warna terjadi pada sampel P2. Pada minggu ke-0, sampel tidak menunjukkan adanya warna/bening. Mulai dari minggu ke-1 terjadi perubahan warna menjadi putih. Kemudian, pada minggu ke-3 sampel menjadi warna putih kekuningan hingga minggu ke-4. Perubahan juga terjadi pada KP, pada minggu ke-0 sampel terlihat bening dan berubah menjadi putih dari minggu ke-1 dan tidak mengalami perubahan lagi hingga minggu ke-4. Untuk sampel KN tidak terjadi perubahan pada warna dari awal hingga akhir. Kekeruhan terjadi pada sampel KP mulai pada minggu ke-1 dengan tampilan sedikit keruh dan pada minggu ke-2 menjadi keruh hingga minggu ke-4. Untuk sampel P2, tampilan sedikit keruh terjadi mulai minggu ke-1 hingga minggu ke-2 dan menjadi keruh pada minggu ke-3. Sampel KN tidak mengalami perubahan kekeruhan dari minggu ke-0 hingga minggu ke-4.

Perubahan aroma, warna serta kekeruhan yang terjadi pada sampel KP dan P2 kemungkinan besar disebabkan karena adanya aktivitas mikroorganisme pada sampel. Mikroorganisme misalnya *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas* sp. melakukan metabolisme dengan cepat karena mengambil nutrisi, yaitu protein untuk tumbuh dan berkembang sehingga merubah keadaan fisik sampel (Angelica *et al.* 2022; Hidayat 2018; Labadie *et al.* 2015). Penyimpanan sampel penelitian ini berada di suhu ruang. Suhu juga berpengaruh dalam metabolisme mikroorganisme. Hal ini sejalan dengan Mizana *et al.* (2016) yang menyatakan suhu optimal mikroorganisme dapat tumbuh pada suhu 20-30 °C.

Perkembangan mikroorganisme juga dapat dipengaruhi karena pH. Jika pH sediaan memiliki sifat basa, maka keadaan tersebut dapat meningkatkan kemungkinan berkembangnya bakteri penyebab jerawat seperti *Staphylococcus*

epidermidis. Face mist yang baik untuk digunakan seharusnya memiliki pH pada rentang 4.5-6.5 (Angelica *et al.* 2022). Kemungkinan lain yang mendukung perkembangan mikroorganisme adalah kandungan bahan *face mist*. *Pseudomonas* sp. dan *Burkholderia* sp. dapat tumbuh pada bahan *rose hydrosol*. Mikroorganisme ini dapat cepat tumbuh karena membutuhkan sedikit nutrisi untuk tumbuh dan dapat tumbuh pada isolat air (Labadie *et al.* 2015). Kontaminasi pada *face mist* juga dapat terjadi pada saat pembuatan, saat pengambilan sampel yang kurang steril, karena lingkungan yang kurang steril atau bahan pengawet pada sampel yang kurang sehingga tidak dapat bekerja secara maksimal.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Setyawati (2022), perubahan organoleptik seperti warna, kekeruhan dan aroma juga terjadi. Perubahan aroma dan kekeruhan terjadi pada minggu ke-1. Hal ini juga terjadi pada sampel penelitian ini. Perbedaan terjadi pada perubahan kekeruhan, sampel pada penelitian yang dilakukan oleh Setyawati (2022) terjadi perubahan mulai pada minggu ke-2, sedangkan pada sampel penelitian ini terjadi perubahan kekeruhan mulai dari minggu ke-1. Terdapat perbedaan lain yang terjadi pada penelitian kali ini, yaitu tidak adanya padatan hijau pada dasar sampel seperti pada penelitian sebelumnya. Hal ini terjadi karena konsentrasi IgY pada penelitian sebelumnya lebih besar sehingga protein pada sampel lebih banyak sehingga mikroorganisme dapat tumbuh dengan cepat.

Hasil ELISA spesifik antibodi influenza A, menunjukkan positif antibodi pada semua sampel yang dikoleksi mulai minggu ke-0 hingga minggu ke-4 dari sediaan KP dan P2. Pada setiap minggunya, sampel KP memberikan hasil positif antibodi namun nilai S/N% menunjukkan angka yang fluktuatif dari minggu ke-0 sampai ke-4. Batas nilai S/N% yang menunjukkan positif antibodi adalah $S/N\% \leq 45\%$, nilai S/N% yang semakin rendah mengindikasikan jumlah antibodi yang semakin tinggi, sehingga diharapkan nilai S/N% akan meningkat seiring dengan lamanya masa penyimpanan. Nilai S/N% sampel KN menunjukkan hasil negatif antibodi pada setiap minggunya yang ditandai dengan nilai $S/N\% \geq 50\%$. Nilai S/N% sampel KN juga menunjukkan angka yang fluktuatif dari minggu ke-0 sampai ke-4. Setiap nilai S/N% dalam grup dianalisa dengan Kruskal-Wallis test ditemukan tidak ada perbedaan nyata di dalam masing-masing grup ($P > 0,05$) sehingga nilai fluktuatif pada KP dan KN bisa diabaikan. Nilai S/N% yang fluktuatif diduga karena kurang homogenisasi sampel.

Nilai S/N% pada P2 menunjukkan positif antibodi selama masa observasi, dan nilai ini mengalami peningkatan seiring lamanya masa simpan. Nilai positif antibodi mengindikasikan bahwa IgY yang disisipkan dalam sediaan *face mist* menunjukkan aktivitas biologis yang masih baik secara *in vitro* setelah disimpan pada suhu ruang selama 1, 2, 3, dan 4 minggu. Hal ini sesuai dengan Nilsson *et al.* (2013) yang mengatakan bahwa terjadi peningkatan nilai S/N% pada IgY yang disimpan pada suhu ruang. Peningkatan nilai S/N% mengindikasikan jumlah antibodi yang semakin turun karena antigen yang berikatan dengan antibodi semakin sedikit. Dari hasil pengujian ini kemampuan IgY kering beku yang dimasukkan ke dalam *face mist* tidak berpengaruh pada pengikatan dengan antigen spesifik Influenza A.

Pengujian *Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE) dilakukan untuk melihat keutuhan molekul IgY di dalam produk serta mengamati perubahan struktur IgY selama masa penyimpanan sediaan. Pada



sampel KP, pada minggu ke-0 sampai ke-4 terdeteksi pita protein dengan berat molekul (BM) 65.40 kDa, 43.71 kDa yang teridentifikasi sebagai *heavy chain* dan fragmen Fab, serta pada minggu ke-0 sampai ke-4 terdeteksi pita protein dengan BM 26.70 kDa yang teridentifikasi sebagai *light chain*. Pada sampel P2 di minggu ke-0 sampai ke-4 terdeteksi pita protein dengan BM 70.28 kDa, 52.68 kDa, 43.94 kDa dan 30.02 kDa yang teridentifikasi sebagai *heavy chain*, fragmen Fab dan *light chain*. Sedangkan untuk sampel KN tidak terdeteksi adanya pita protein. Menurut Grando *et al.* (2017), BM *heavy chain* IgY berada di rentang 50-70 kDa dan *light chain* berada di rentang 25-37 kDa.

Literatur lain mengatakan fragmen Fab merupakan fragmen yang memiliki *antigen-binding sites* yang dapat berikatan dengan antigen memiliki BM ~45 kDa sedangkan fragmen Fc bertugas untuk memicu imun pertahanan melalui interaksi dengan reseptor spesifik memiliki berat molekul ~40 kDa. (Zhou *et al.* 2020). Hasil SDS-PAGE menunjukkan adanya perbedaan BM pada struktur IgY dari sampel yang berbeda, hal ini bisa disebabkan oleh adanya variabilitas dari BM yang diproduksi oleh IgY (Grando *et al.* 2017). Selain itu, menurut Shimelis *et al.* (2022), adanya *protein band* lain yang tertera pada agar SDS-PAGE menggambarkan pemurnian yang tidak sempurna sehingga belum hilang saat isolasi. Dari sampel KP dan P2 tidak terdeteksi pita protein IgY utuh yang memiliki berat molekul ~180 kDa. Tidak ditemukan pita protein IgY yang utuh kemungkinan terjadi karena ketidaksempurnaan saat purifikasi IgY sehingga hanya ditemukan *heavy chain*, *light chain* dan fragmen Fab. Walaupun tidak ditemukan struktur IgY utuh pada sampel KP dan P2, namun hasil uji ELISA menunjukkan positif antibodi influenza A, hal ini dapat terjadi karena baik pada sampel KP maupun P2 terdeteksi fragmen Fab yang merupakan *antigen binding site* (Zhou *et al.* 2020).

Pengujian antiviral pada penelitian ini mengacu pada BS EN 14476 (2019) dengan modifikasi dan OIE (2018) yang merupakan panduan untuk pengujian kemampuan suatu produk sebagai antiseptik. Pada pengujian antiviral ini, sediaan *face mist* yang digunakan adalah P1 yang mengandung IgY 0.25% b/v, dan virus yang digunakan adalah avian influenza subtype H5N1 *clade* 2.1.3 dengan titer virus awal 7.5 log₁₀ EID₅₀/mL. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sediaan P1 mampu menurunkan titer virus sebesar 3.76 log pada kondisi bersih dan 3.26 log pada kondisi kotor. Penurunan log virus lebih rendah dari ketentuan BS EN 14476 (2019) yang menyebutkan bahwa kemampuan virusidal suatu bahan sebagai antiseptik apabila dapat menurunkan titer virus ≥ 4 log pada uji *Tissue Culture Infectious Dose* (TCID) 50 sehingga dapat dikatakan sampel *face mist* dengan konsentrasi IgY 0.25% belum memenuhi kriteria sebagai antiseptik yang berfungsi sebagai antiviral. Apabila ingin mengembangkan *face mist* dengan fungsi tambahan sebagai antiviral maka perlu ditambahkan konsentrasi IgY pada sampel sehingga saat dilakukan uji antiviral, sampel memiliki kemampuan virusidal suatu bahan sebagai antiseptik apabila dapat menurunkan titer virus ≥ 4 log pada uji *Tissue Culture Infectious Dose* (TCID) 50.

V SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa IgY kering beku dapat larut dalam sediaan *face mist* yang mengandung *rose hydrosol*, akuades, *glycerin*, dan *leucidal*. Hasil juga menunjukkan bahwa *face mist* yang disisipkan IgY 0.5% mengalami perubahan organoleptik selama masa penyimpanan di suhu ruang, dan IgY yang disisipkan dalam *face mist* yang disimpan selama empat minggu pada suhu ruang masih menunjukkan aktivitas biologis yang baik secara *in vitro*. Hasil uji antiviral terhadap virus AI H5N1 pada *face mist* dengan konsentrasi IgY 0.25% belum optimal berperan sebagai antiseptik yang berfungsi sebagai antiviral.

5.2 Saran

Penambahan jumlah bahan pengawet diperlukan agar produk dapat bertahan lebih lama dan tidak terjadi pertumbuhan mikroorganisme pada produk. Selain itu, perlu kehati-hatian dan ketelitian yang tinggi agar pengujian dapat berjalan dengan baik sehingga kesalahan dapat diminimalisir.



DAFTAR PUSTAKA

- Angelica EO, Herawati E, Puspitasari M, Yuniarsih N. 2022. Formulation and evaluation of face mist preparations from plant extracts: a literature review. *Archive of the Medicine and Case Reports*. 3(3):280-284. doi:10.37275/amcr.v3i3.210.
- Aprilia N, Yahya E, Ririn. 2019. Hubungan antara perilaku merokok pada orang tua dengan kejadian ISPA pada balita di Desa Pulau Jambu wilayah kerja Puskesmas Kuok tahun 2019. *Jurnal Ners*. 3(1):112-117.
- Asha K, Kumar B. 2019. Emerging influenza d virus threat: what we know so far. *Journal of Clinical Medicine*. 8(2):192. doi:10.3390/jcm8020192.
- Boianelli A, Nguyen VK, Ebensen T, Schulze K, Wilk E, Sharma N, Stegemann-Koniszewski S, Bruder D, Toapanta FR, Guzmán CA, Meyer-Hermann M, Hernandez-Vergas EA. 2015. Modeling influenza virus infection: a roadmap for influenza research. *Viruses*. 7(10):5274-5304. doi:10.3390/v7102875.
- BS EN 14476:2013+A2:2019. 2019. Chemical disinfectans and antiseptics - Quantitative suspension test for the evaluation of virucidal activity in the medical area -Test method and requirements (Phase 2/Step 1). BSI Standards Publication.
- Chiu ML, Coulet DR, Teplyakov A dan Gilliland GL. 2019. Antibody structure and function: the basis for engineering therapeutics. *Antibodies*. 8(4):1-78. doi:10.3390/antib8040055.
- Ciotti M, Ciccozzi M, Terrinoni A, Jiang WC, Wang CB, Bernardini S. 2020. The COVID-19 pandemic. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. 57(6):365-388. doi:10.1080/10408363.2020.1783198.
- Constantin C, Naegu M, Supeanu TD, Chiurciu V, Spandidos DA. 2020. IgY-turning the page toward passive immunization in COVID-19 infection (review). *Experimental and Therapeutic Medicine*. 20(1):151-158. doi:10.3892/etm.2020.8704.
- Gadde U, Rathinam T, Lillehoj HS. 2015. Passive immunization with hyperimmune egg-yolk IgY as prophylaxis and therapy for poultry disease- a review. *Animal Health Research Reviews*. 16(2):163-176. doi:10.1017/s1466252315000195.
- Grando TH, Baldissera MD, de Sá MF, do Carmo G, Porto BCZ, Aquirre GSV, de Azevedo MI, de Jesus FPK, Santurio JM, SAGRILLO MR, Stefani LM, Monteiro SG. 2017. Avian antibodies (IgY) against *Trypanosoma cruzi*: purification and characterization studies. *Journal of Immunological Methods*. 449:56-61. doi:10.1016/j.jim.2017.07.002.
- Helmy YA, Fawzy M, Elswad A, Sobieh A, Kenney SP, Shehata AA. 2020. The COVID-19 pandemic: a comprehensive review of taxonomy, genetics, epidemiology, diagnosis, treatment, and control. *Journal of Clinical Medicine*. 9(4):1-29. doi:10.3390/jcm9041225.
- Hidayat N. 2018. *Mikroorganisme dan Pemanfaatannya*. Malang:Universitas Brawijaya Pr.
- Javanian M, Barary M, Ghebrehewet S, Koppoli V, Vasigala V, Ebrahimpour S. 2021. A brief review of influenza virus infection. *Journal of Medical Virology*. 93(8):4638-4646. doi:10.1002/jmv.26990.

- Kalil AC, Thomas PG. 2019. Influenza virus related critical illness: pathophysiology and epidemiology. *Critical Care*. 23:258. doi:10.1186/s13054-019-2539-x.
- Kota RK, Reddy PN, Sreerama K. 2020. Application of IgY antibodies against staphylococcal protein A (SpA) of *Staphylococcus aureus* for detection and prophylactic functions. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 104:9387-9398. doi:10.1007/s00253-020-10912-5.
- Labadie C, Ginies C, Guinebretiere MH, Renard CMGC, Cerutti C, Carlin F. 2015. Hydrosol of orange blossom (*Citrus aurantium*), and rose flower (*Rosa damascene* and *Rosa centifolia*) support the growth of a heterogeneous spoilage microbiota. *Food Research International*. 76:576-586. doi:10.1016/j.foodres.2015.07.014.
- Mizana DK, Suharti N, Amir A. 2016. Identifikasi pertumbuhan jamur *Aspergillus* sp pada roti tawar yang dijual di Kota Padang berdasarkan suhu dan lama penyimpanan. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 5(2):355-360.
- Munhoz LS, Vargas GD, Fischer G, de Lima M, Esteves PA, Hubner SO. 2014. Avian IgY antibodies: characteristics and applications in immunodiagnostic. *Ciência Rural*. 44(1):153-160. doi:10.1590/S0103-84782014000100025.
- Nillson E, Stalberg J, Larsson A. 2013. IgY stability in eggs stored at room temperature or at +4°C. *British Poultry Science*. 53(1):42-46. doi:10.1080/00071668.2011.646951.
- Norouzi F, Behrouz B, Ranjbar M, Gargari SLM. 2020. Immunotherapy with IgY antibodies toward outer membrane protein f protects burned mice against *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Journal of Immunology Research*. 2020:1-8. doi:10.1155/2020/7840631.
- [OIE] International Office of Epizootics. 2018. OIE Terrestrial Manual: Avian Infectious Bronchitis.
- Pereira EPV, van Tilburg MF, Florean EOPT, Guedes MIF. 2019. Egg yolk antibodies (IgY) and their applications in human and veterinary health: A review. *International Immunopharmacology*. 73:293-303. doi:10.1016/j.intimp.2019.05.015.
- Peteranderl C, Herold S, Schmoltdt C. 2016. Human influenza virus infections. *Semin Respir Crit Care Med*. 37(4):487-500. doi:10.1055/s-0036-1584801.
- Poetri ON, Soejoedono RD, Indrawati A, Wibawan IWT. 2008. Peran antibodi kuning telur (IgY) sebagai opsonin untuk pencegahan serangan mutan *Streptococcus* serotipe D (*Streptococcus sobrinus*). *Berkala Penelitian Hayati*. 13(2):129-134. doi:10.23869/359.
- Putra Y, Wulandari SS. 2019. Faktor penyebab kejadian ISPA. *Jurnal Kesehatan*. 10(1):37-40.
- Rahman S, Nguyen SV, Icatio Jr FC, Umeda K, Kodama Y. 2013. Oral passive IgY-based immunotherapeutics. *Human Vaccines and Immunotherapeutics*. 9(5):1039-1048. doi:10.4161/hv.23383.
- Redwan EM, Aljadawi AA, Uversky VN. 2020. Simple and efficient protocol for immunoglobulin Y purification from chicken egg yolk. *Poultry Science*. 100(3):1-8. doi:10.1016/j.psj.2020.12.053.
- Saputri ME, Effendi ASR, Nadila R, Fajar SA, Soejoedono RD, Handharyani E, Poetri ON. 2022. Immunoglobulin yolk targeting spike 1, receptor binding domain of spike glycoprotein and nucleocapsid of SARS-CoV-2 blocking



RBD-ACE2 binding interaction. *International Immunopharmacology*. 112:1-7. doi:10.1016/j.intimp.2022.109280.

Saputri ME, Esfandiari A, Rachmawan WP, Soejoedono RD, Handharyani E, Jupisa C, Pathmanathan D, Poetri ON. 2023. Infuenza immunoglobulin (ig) y derived from chicken egg yolk: production, characterization, and its cross-reactivity. *Proceeding of the National Academy of Science*. doi:10.1007/s40011-023-01510-2.

Setyawati YM. 2022. Evaluasi kemampuan immunoglobulin Y spesifik influenza dalam cairan penyegar wajah untuk mengikat antigen influenza [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Shimelis E, Tadesse F, Bashir S, Paeshuyse J. 2022. Extraction, purification and invitro challenging of IgY of commercial chicken eggs with the Newcastle Disease. *Journal of Scientific and Technical Research*. 45(5):36784-36791. doi:10.26717/BJSTR.2022.45.007253.

Shin MD, Shukla S, Chung YH, Beiss V, Chan SK, Ortega-Rivera OA, Wirth DM, Chen A, Sack M, Pokorski JK, Seinmetz NF. 2020. COVID-19 vaccine development and a potential nanomaterial path forward. *Nature Nanotechnology*. 15:646-655. doi:10.1038/s41565-020-0737-y.

Sudjarwo SA, Eraiko K, Sudjarwo GW, Koerniasari. 2017. The potency of chicken egg yolk immunoglobulin (IgY) specific as immunotherapy to *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*. 8(3):91-96. doi:10.4103/japtr.JAPTR_167_16.

Tarigan R, Satyaningtjas AS, Darmawan A, Prabuwati D, Rahmah M, Hamdi T. 2016. Pengaruh suplementasi minyak ikan lemuru terhadap status kesehatan ayam petelur yang diimunisasi berulang. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 21(3):203-208. doi:10.18343/jipi.21.3.203.

Tsukamoto Y, Maeda O, Shigekawa G, Greenberg S, Hendler B. 2018. Ostrich antibody and its application to skin diseases, a review and case report. *Health*. 10(10):1357-1370. doi:10.4236/health.2018.1010105.

Vieira-Pires RS, Ahn HC, Bok M, Caulfield CD, Chacana P, Elahi F, Larsson AO, Leiva CL, Moran LM, Morgan PM, Parreño V, Vega CG, Wigdorovitz A. 2021. IgY industri and markets. Di dalam: Zhang XY, Vieira-Pires RS, Morgan PM, Schade R, editor. *IgY-Technology: Production and Application of Egg Yolk Antibodies*. Switzerland: Springer. doi:10.1007/978-3-030-72688-1.

Yakhkeshi S, Wu R, Chelliappan B, Zhang XY. 2022. Trend in industrialization and commercialization of IgY technology. *Frontiers in Immunology*. 13:1-8. doi:10.3389/fimmu.2022.991931.

Yuki K, Fujiogi M, Koutsogiannaki S. 2020. COVID-19 pathophysiology: a review. *Clinical Immunology*. 215:1-7. doi:10.1016/j.clim.2020.108427.

Zhou X, Wang Y, Ahn DU, Cai Z. 2020. An Easy and simple separation method for Fc and Fab fragments from chicken immunoglobulin Y (IgY). *Journal of Chromatography B*. 1141:122011. doi:10.1016/j.jchromb.2020.122011.