

## **Respon Pemberian Immunoglobulin *Yolk Anti-Canine Parvovirus* pada Anak Anjing yang Dipelihara di Area Terkontaminasi *Canine Parvovirus***

(*RESPONSE OF ANTI-CANINE PARVOIRUS IMMUNOGLOBULIN YOLK ADMINISTRATION ON PUPPY RAISED IN CANINE PARVOVIRUS CONTAMINATED AREA*)

**Angel Novelyn Leonard<sup>1</sup>, I Gusti Ayu Agung Suartini<sup>2\*</sup>, Iwan Harjono Utama<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Mahasiswi Sarjana Pendidikan Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234;

<sup>2</sup>Laboratorium Biokimia Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234;

\*Corresponding author email: [gaa.suartini@gmail.com](mailto:gaa.suartini@gmail.com)

### **Abstrak**

Canine parvovirus adalah virus infeksius yang banyak menyerang anak anjing. Selama ini pencegahan dan terapi infeksi CPV pada anjing sebatas pemberian terapi pendukung. Pencegahan infeksi CPV sangat penting artinya terutama pada anak anjing yang riwayat induknya tidak divaksin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui respon anak anjing yang diberi kuning telur mengandung IgY anti CPV dosis 3 ml/ekor/hari dan dipelihara di lokasi yang terkontaminasi. Salah satu modalitas yang sangat memungkinkan adalah pemberian antibodi pasif berupa kuning telur mengandung antibodi (Imunoglobulin Yolk/IgY) yang spesifik teradap CPV. Penelitian ini menggunakan 5 ekor anak anjing umur 2 bulan dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok perlakuan (P) yang diberi 3 ml/ekor/hari IgY anti- CPV dengan dosis  $2^{14}$  HI unit dan 2 ekor kelompok kontrol. Selama 14 hari anjing diamati ada tidaknya gejala klinis, serum diuji dengan metoda HI untuk mengetahui adanya antibodi terhadap CPV dan profil leukosit dideteksi melalui ulas darah dan diperiksa secara manual dibawah mikroskop. Hasil penelitian menunjukkan titer antibodi maternal berada dibawa titer protektif. Pemberian kuning telur mengandung IgY anti CPV mampu mempertahankan titer antibodi protektif sampai hari ke 12 perlakuan. Dari 3 ekor anak anjing yang diberi kuning telur mengandung IgY, dua diantaranya mati karena positif terinfeksi CPV. Satu ekor berhasil diselamatkan setelah terapi Intravena IgY anti CPV. Disimpulkan bahwa pemberian kuning telur IgY anti-CPV dosis 3 ml/ekor/hari belum cukup protektif melindungi anak anjing dari infeksi CPV. Untuk meningkatkan efektifitas pemberian IgY, dosis pemberian dapat ditingkatkan.

Kata kunci: *canine parvovirus*; *imunoglobulin yolk*; kekebalan pasif

### **Abstract**

Canine parvovirus is an infectious virus that mostly affects puppies. So far, prevention and therapy of CPV infection in dogs has been limited to providing supportive therapy. Prevention of CPV infection is very important, especially in puppies whose parents have not been vaccinated. The purpose of this study was to determine the response of puppies given egg yolk containing IgY anti-CPV dose of 3 ml/head/day and kept in a contaminated location. One possible modality is the administration of passive antibodies in the form of egg yolk containing antibodies (Immunoglobulins Yolk/IgY) that are specific for CPV. This study used 5 puppies aged 2 months divided into two groups, treatment group (P) which was given 3 ml/head/day of anti-CPV IgY with a dose of  $2^{14}$  HI units and 2 control groups. For 14 days the dogs were observed for clinical symptoms, serum was tested by the HI method to determine the presence of antibodies to CPV and leukocyte profile was detected by blood smear and examined manually under a microscope. The results showed that the maternal antibody titer was below the protective titer. Provision of egg yolk containing anti-CPV IgY was able to maintain protective antibody titers up to day 12 of treatment. Of the 3 puppies who were

given egg yolks containing IgY, two of them died because they were positive for CPV. One recovered after Intravenous IgY anti-CPV therapy. It was concluded that the administration of anti-CPV IgY egg yolk at a dose of 3 ml/puppy/day was not protective enough to protect puppies from CPV infection. Effectivity can be increased by increasing the dose given.

Keywords: canine parvovirus; immunoglobulin yolk; passive immune

## PENDAHULUAN

Salah satu virus infeksius yang sering menyerang anjing adalah *Canine Parvovirus*. Virus ini bersifat sangat infeksius dan baru disadari apabila gejala sudah parah. Anak anjing yang rentan terserang virus ini berumur dibawah 6 bulan (Lobetti, 2003). Pada penelitian Suartha *et al.* (2011), anak anjing berumur dibawah 3 bulan memiliki kemungkinan paling besar terinfeksi CPV, jenis kelamin tidak berpengaruh secara signifikan. Parvovirus umumnya menginfeksi melalui oral dan nasal. Predileksi di daerah basal dan epitel usus halus. Hal ini memicu adanya muntah dan mencret berdarah karena sel epitel yang dirusak oleh virus umumnya berada di daerah dengan banyak pembuluh darah.

Immunoglobulin yolk (IgY) dalam kuning telur merupakan modalitas penting sebagai agen pencegahan dan terapi untuk berbagai jenis penyakit. Penggunaan IgY untuk pencegahan berbagai penyakit sangat berpeluang digunakan karena produksinya relative murah, mudah dan tidak melanggar aturan *Animal welfare*. Protein pada IgY tidak menyebabkan respon inflamasi IgY tidak mampu berikatan dengan protein A maupun G dan tidak menyebabkan reaksi kaskade komplemen (Tini, *et al.* 2002).

Pemanfaatan IgY secara oral telah terbukti mencegah dan menyembuhkan penyakit. Pada penelitian oleh Ikemori *et al.* (1997), pemberian serbuk kuning telur yang mengandung IgY Coronavirus dapat menurunkan gejala infeksi coronavirus sehingga mencret terjadi singkat dan tidak diikuti penurunan berat badan. Menurut Ikemori *et al.* (1992) dan Kuroki *et al.* (1993) pencegahan ETEC (*E. coli* enterotoksigenik) dan bovine rotavirus

(BRV) dapat dilakukan dengan pemberian serbuk kuning telur yang mengandung IgY secara oral. Nguyen *et al.* (2006) membuktikan bahwa anjing yang diberi serbuk CPV gejala klinis yang tampak lebih ringan dan persentase kehidupan lebih tinggi. Apabila hewan sudah mulai muntah dan mencret maka terapi dapat diberikan secara intravena (Suartini, *et al.* 2014), Yousif *et al* (2006) membuktikan bahwa pemberian IgY kepada anak ayam yang sudah terinfeksi IBDV (*Infectious bursal disease virus*) menurunkan angka kematian sebanyak 10% dan anak ayam menunjukkan gejala yang lebih ringan dibandingkan yang tidak diberi IgY.

## METODE PENELITIAN

### Sampel Penelitian

Anjing berumur 2 bulan dalam kelompok perlakuan sebanyak 3 ekor diberikan IgY *Canine Parvovirus crude* sebanyak 3 ml setiap hari selama 14 hari secara oral setiap paginya bersama pakan pagi untuk mencegah infeksi CPV. Anjing dipelihara pada lingkungan yang memiliki riwayat infeksi Canine Parvo Virus dan diperiksa kesehatannya dengan pemeriksaan signalemen setiap harinya. Kelompok kontrol sebanyak 2 ekor tidak diberi perlakuan dan dipelihara di area yang steril.

### Variabel Penelitian

Variabel penelitian ini terdiri dari variable bebas berupa pemberian perlakuan atau tidak, variable terikat terdiri dari titer imun anjing dan variabel kotrol yaitu umur dan area pemeliharaan. Pengumpulan data dilakukan dengan mengambil sampel darah yang dibuat menjadi serum dan ulas darah sebelum perlakuan sebagai kontrol dan 5 kali

selama perlakuan dengan rentang waktu setiap 3 hari.

### Prosedur Penelitian

Sampel darah diambil dari vena cephalica sebanyak 2 ml. Sampel serum dibuat dengan membiarkan spuit berisi darah di ruangan terbuka selama 1 jam sehingga serum terpisah dari sel darah, serum kemudian dimasukkan ke tabung *microcentrifuge*. Serum kemudian disentrifugasi lalu kembali dipisahkan dari sendimennya.

Selanjutnya dilakukan uji HI pada serum anak anjing. Pertama-tama eritrosit dengan kadar 0,5% harus disiapkan dengan cara membilas bersih dan mengencerkan darah yang sudah diketahui volumenya. Setelah itu dapat dilakukan uji HA untuk melihat titer antigen yang akan digunakan dalam uji HI, antigen kemudian diencerkan hingga mencapai nilai 8 HAU.

Pada uji hambatan Hemaglutinasi, serum anjing dipreparasi terlebih dahulu dengan pemanasan 56°C selama 30 menit sebelum dilakukan pengenceran dengan kaolin 25% dengan perbandingan serum terhadap kaolin sebesar 1:3, larutan tersebut lalu dihomogenkan dengan vortex. Campuran kemudian dibiarkan selama 20 menit dengan dilakukan homogenisasi setiap interval 5 menit. Setelah 20 menit, campuran di sentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 1000 rcf. Supernatant kemudian dipindahkan dan siap digunakan pada uji HI.

Microplate bottom v yang steril disiapkan lalu diisi VAD sebesar 25 µl pada setiap sumurnya, pada sumur pertama dan kedua diberi serum sebesar 25 µl kemudian dihomogenkan sebelum dilakukan pengenceran seri dari sumur kedua hingga sumur ke-11 dengan jumlah larutan VAD sebanyak 25 µl pada setiap sumurnya. Pada setiap sumur kemudian ditambahkan antigen dengan titer 8 HIU sebanyak 25 µl lalu dihomogenkan sebelum diinkubasi selama 1 jam di suhu 4 °C. Sel darah merah babi dengan konsentrasi 0,5% kemudian dapat ditambahkan sebanyak 25 µl dalam setiap

sumur lalu dibiarkan semalaman di suhu 4°C. Seusai inkubasi, titer serum dapat diamati. Hasil yang positif ditandai endapan yang menggumpal sempurna membentuk titik di dasar plate sehingga cairan terlihat jernih. Hasil dapat dibandingkan dengan sumur pertama yang merupakan kontrol positif dan sumur terakhir yang merupakan kontrol negatif.

Ulas darah dibuat dengan teknik apusan darah tipis. Sampel ulasan darah harus difiksasi terlebih dahulu dengan cara ditetesi methanol lalu dibiarkan selama 5 menit sebelum dilakukan pewarnaan dengan larutan giemsa. Larutan giemsa diteteskan ke ulasan darah lalu dibiarkan selama 7 menit sebelum dibilas dengan air mengalir hingga pewarna menjadi bersih. Letakkan Object glass dalam keadaan miring dan biarkan sampai kering.

Ulas darah yang telah diwarnai kemudian diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000x setelah ditetesi minyak emersi. Setelah 100 sel darah putih ditemukan maka sel tersebut dikelompokkan menjadi limfosit, monosit, netrofil, eosinofil, dan basophil sehingga didapat hasil berupa jumlah persentase diferensial leukosit.

### Analisis data

Data hasil penelitian ditabulasikan dalam bentuk tabel dan dianalisa dengan metode deskriptif kuantitatif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

Sebelum penelitian semua anjing dipastikan sehat dengan tanda vital yang stabil tanpa reaksi alergi terhadap kuning telur saat diberikan IgY anti-CPV.

Dari hasil yang didapat terlihat bahwa kelompok perlakuan (Tabel 1) mengalami peningkatan titer menjadi protektif setelah pemberian IgY sebanyak 3 kali pada sampel P2 dan 6 kali pada sampel P1 dan P3. Nilai titer P1 dan P2 terlihat stabil dan bertahan hingga hari ke-15 sedangkan pada sampel P3 terdapat peningkatan di hari ke-9 menjadi 7 HIU. Secara

keseluruhan nilai titer anak anjing yang diberi IgY lebih stabil daripada titer anak anjing yang tidak diberi IgY. Titer antibodi pada sampel kontrol relatif diawah titer protektif.

Hasil profil Leukosit dibandingkan dengan standar Schalm 2010 dimana nilai normal monosit 3-10%, Eusinofil 2-10%, Basofil 0-1%, Limfosit 12-30% dan Neutrofil 60-70%. Pada semua sampel uji nilai Eusinofil normal yang menunjukkan bahwa anak anjing tidak mengalami alergi terhadap IgY yang diberikan. Pada infeksi CPV, umumnya terjadi neutropenia dan monositosis Pada anjing yang belum divaksin, limfositosis juga ditemukan (Terzungwe, 2018). Sampel P2 yang pertama mendapat infeksi dimana pada hari ke 12 anjing mengalami neutropenia dengan nilai 48% dan monositosis dengan nilai 15%. Pada hari ke 15 terlihat sampel P2 mengalami neutropenia parah dengan kadar neutrophil 6%, terjadi juga limfositosis dan monositosis. Sampel P3 juga mengalami neutropenia dan monositosis sedangkan kadar limfosit berada di nilai normal maksimal pada nilai 30%. Sampel P1 mengalami neutropenia dan monositosis ringan pada hari ke 15. Pada sampel P1 setelah sembuh nilai profil leukosit mendekati normal dengan neutropenia pada minggu ke-2 dan 3 setelah anak anjing dinyatakan sembuh parvo.

Pada sampel kontrol, nilai profil Leukosit K1 menunjukkan neutropenia pada hari ke-9 dengan nilai 58% dan pada hari ke 12 dengan nilai 59%. Pada sampel K2 terjadi neutropenia ringan pada hari ke-3, 6, 9 dan 12. Tidak terjadi monositosis dan limfositosis pada semua sampel kontrol sehingga dapat dipastikan bahwa anjing tidak terinfeksi CPV.

Pada hari ke 15 Anak anjing di kelompok uji dinyatakan positif dengan tes PCR sehingga diberi penanganan berupa IgY murni anti-CPV dengan dosis 10,000 *protective dose* sebanyak 1ml/ekor/hari selama 3 hari secara intravena. Pada hari ke 15 Sampel P2 sudah mulai

menunjukkan gejala berupa muntah dan diare berdarah sedangkan sampel. Pada hari ke 16 sampel P2 mengalami diare berdarah yang profus serta muntah yang parah lalu suhu tubuhnya turun hingga 34 C. Sampel P2 mati pada hari yang sama Sampel P3 mengalami muntah dan diare. Pada hari ke 17 Sampel P3 muntah dan diare ringan dan sudah mulai aktif. Pada hari ke 18 sampel P3 tidak mengalami muntah dan mencret namun masih terlihat lemas. Pada hari ke 19 sampel P3 mati. Sampel P1 tidak menunjukkan gejala yang jelas selama terinfeksi.

### Pembahasan

IgY anti-CPV dapat bertahan selama 48 jam di epitel usus setelah pemberian (HIU dan Hendriksen, 2005) sehingga saat diuji sampel hari ke 15 titer masih protektif meskipun pemberian IgY terakhir dilakukan di Hari ke 14.

Pada penelitian Meunier *et al.* (1985) infeksi CPV menunjukkan gejala anorexia, depressi dan dehidrasi ringan pada hari ke-5 setelah inokulasi Pada hari ke-6 setelah inokulasi anjing mulai mengalami muntah dan diare Limfopenia mulai terjadi 4-6 hari setelah infeksi. Sampel P1 secara teoritis sudah mengalami infeksi pada hari ke-9. Sampel P2 secara teoritis terinfeksi pada hari ke-10.

Pada penelitian oleh Nyuyen *et al* (2006) pemberian IgY dosis 50.000 *neutralizing titer* dan diberikan dengan dosis 3 x 2 gr/hari pada anak anjing yang diberikan virus CPV mampu menekan gejala klinis sehingga anak anjing tidak menunjukkan gejala sama sekali. Bila dibandingkan, pemberian dosisnya, penelitian ini menggunakan dosis yang lebih rendah sehingga tidak dapat mencegah gejala klinis.

Sampel P1 dinyatakan sembuh pada hari ke 18 setelah mendapat 3 dosis IgY murni. Antibody pasif CPV lebih efektif diberikan pada hari pertama infeksi atau sebelum gejala mulai terjadi (Hoskins, 1998). Sampel darah tetap diambil sebanyak 3 kali setelah kesembuhan dengan interval 1 minggu. Titer antibody P1 terhadap CPV

masih protektif hingga minggu ke-3 setelah kesembuhan. Hasil ini sesuai dengan penemuan oleh Carmichael dan Pollock (1982) yang menyatakan bahwa antibody terhadap CPV dari anjing yang mengalami CPV dapat bertahan hingga 16 bulan setelah anak anjing sembuh dari CPV.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Pemberian kuning telur mengandung IgY anti CPV dosis 3 ml/ekor/hari mampu mempertahankan titer antibody protektif sampai hari ke 12 perlakuan. IgY anti CPV dosis 3 ml/ekor/hari tidak dapat menghindarkan anak anjing dari infeksi CPV.

### Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan menggunakan dosis IgY anti CPV yang lebih tinggi, agar dapat mempertahankan anak anjing dari infeksi CPV.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Rumah Sakit Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Balivet bogor, Lab Biomedik FKH UNUD, Lab Biokimia FKH UNUD, Lab Histoparapat FKH UNUD yang telah memfasilitasi penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Carmichael LE, Joubert JC, Pollock RV. 1980. Hemagglutination by canine parvovirus: serologic studies and diagnostic applications. *Am. J. Vet. Res.* 41(5): 784–791.
- Hoskins JD. 1998. Canine viral enteritis. In: Greene CE, ed. *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders: Pp. 40–48.
- Ikemori Y, Kuroki M, Peralta RC, Yokoyama H, Kodama Y. 1992. Protection of neonatal calves against fatal enteric colibacillosis by administration of egg yolk powder from hens immunized with K99-piliated enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Am. J. Vet. Res.* 53: 2005–2008.
- Ikemori Y, Ohta M, Umeda K, Icatlo F, Kuroki M, Yokoyama H, Kodama Y. 1997. Passive protection of neonatal calves against bovine coronavirus-induced diarrhea by administration of egg yolk or colostrum antibody powder. *Vet. Microbiol.* 58(2-4): 105–111.
- Kuroki M, Ikemori Y, Yokoyama H, Peralta RC, Icatlo FCJ, Kodama Y. 1993. Passive protection against bovine rotavirus-induced diarrhea in murine model by specific immunoglobulins from chicken egg yolk. *Vet. Microbiol.* 37: 135–146.
- Lobetti R. 2003. Canine parvovirus and distemper-world small animal veterinary association world congress proceedings <http://www.vin.com/proceeding/Proceedings.pxl>. Diakses pada 20 Mei 2022
- Meunier PC, Cooper BJ, Appel MJG, Slauson DO. 1985. Pathogenesis of canine parvovirus enteritis. The important viraemia. *Vet. Pathol.* 2: 60–71.
- Nguyen SV, Umeda K, Yokoyama H, Tohya Y, Kodama Y. 2006. Passive protection of dogs against clinical disease due to Canine parvovirus-2 by specific antibody from chicken egg yolk. *Can. J. Vet. Res.* 70: 62–64.
- Suartha IN, Mustikawati D, Erawan IGMK, Widyastuti SK. 2011. Prevalensi dan faktor risiko penyakit virus parvo pada anjing di Denpasar. *J. Vet.* 12: 235–240.
- Suartini GAA, Suprayogi A, Wibawan, Sendow I, Mahardika G. 2014. Intravenous administration of chicken immunoglobulin has a curative effect in experimental infection of canine parvovirus. *Glob. Vet.* 13(5): 801–808.
- Suartini I, Sendow I, Agustini N, Suprayogi A, Wibawan I, Mahardika I. 2016. Kinetika immunoglobulin kuning telur antiparvovirus anjing pada anjing. *J. Vet.* 17(2): 292–299.

Terzungwe TM. 2018. Hematological parameters of dogs infected with canine parvovirus enteritis in sumy. *World J. Inov. Res.* 5(3): 1-5.

Tini M, Jewell UR, Camenisch G, Chilov D, Gassmann M. 2002. Generation and application of chicken egg-yolk antibodies. *Comp. Biochem. Physiol. A.* 131: 569-574.

Yousif AA, Mohammad WA, Khodeir MH, Zeid AZ, el-Sanousi AA, Saber MS, Reda IM. 2006. Oral administration of hyperimmune IgY: an immunoecological approach to curbing acute infectious bursal disease virus infection. *The Egypt. J. Immunol.* 13(2): 85-94.

Tabel 1. Nilai titer kelompok uji

Sampel	Hari ke-									
	Positif					Sembuh				
	0	3	6	9	12	15	18	25	32	39
P1	4	5	6	6	6	6	7	7	7	6
P2	4	6	6	6	6	7				
P3	5	5	6	7	6	6				

Keterangan: titer dalam log<sub>2</sub> HIU

Tabel 2. Nilai titer kelompok kontrol (HIU)

Sampel	Hari ke-					
	0	3	6	9	12	15
K1	5	5	3	6	6	5
K2	4	6	5	6	6	6

Keterangan: titer dalam log<sub>2</sub> HIU

Tabel 3. Nilai profil leukosit kelompok uji (%)

Sampel	Jenis WBC	Hari ke-									
		Positif					Sembuh				
		0	3	6	9	12	15	18	25	32	39
P1	M	7	8	9	6	7	11	8	7	4	7
	E	7	9	4	7	5	4	6	6	6	9
	B	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	L	27	27	27	22	25	30	23	28	28	28
	N	59	56	60	56	63	55	63	59	62	56
P2	M	8	5	8	8	15	54				
	E	6	3	8	4	8	4				
	B	0	0	0	0	0	1				
	L	27	27	26	23	29	35				
	N	57	65	58	64	48	6				
P3	M	8	10	2	6	7	20				
	E	6	10	3	4	1	7				
	B	0	0	0	0	0	0				
	L	29	24	27	26	27	30				
	N	57	56	68	64	65	43				

Tabel 4. Nilai profil leukosit kelompok uji (%)

Anak anjing	jenis WBC	Hari ke-					
		0	3	6	9	12	15
K1	M	8	6	9	9	8	7
	E	2	5	4	8	8	8
	B	0	0	0	0	0	0
	L	28	24	26	25	25	23
	N	62	65	61	58	59	62
K2	M	9	7	9	8	8	5
	E	8	6	6	7	5	2
	B	0	0	0	0	0	0
	L	26	29	27	30	28	28
	N	67	58	58	55	59	65