

Kinetika *Immunoglobulin Kuning Telur* *Antiparvovirus Anjing Pada Anjing*

(*KINETICS OF ANTICANINE PARVOVIRUS YOLK
IMMUNOGLOBULIN IN DOGS*)

I Gusti Ayu Agung Suartini¹, Indrawati Sendow²,
Ni Luh Putu Agustini³, Agik Suprayogi⁴,
I Wayan Teguh Wibawan⁵, I Gusti Ngurah Kade Mahardika⁶

¹Lab Biokimia, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, ²Departemen Virologi, Balai Besar Penelitian Veteriner, Badan Litbang Kementerian Pertanian- Bogor, ³Lab Bioteknologi Balai Besar Veteriner Denpasar, ⁴Departemen Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi, ⁵Departemen Penyakit Infeksius dan Kesehatan Masyarakat. Institut Pertanian Bogor, ⁶Lab Virologi, FKH Unud
Jl. Sudirman, Denpasar-Bali. Telp: 0361.223791,
Email: gaa.suartini@gmail.com

ABSTRAK

Studi kinetika immunoglobulin *yolk* (IgY) anti-canine parvovirus (CPV) telah dilakukan pada enam ekor anjing umur 5-10 bulan. Immunoglobulin *yolk* diinjeksikan secara intravena dengan dosis 21 mg/10 kg bobot badan. Penentuan kadar IgY dalam darah dideteksi dengan metode enzym lined immunosorbent assay (ELISA). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kinetika IgY anti- CPV dalam darah anjing. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kinetika IgY mengikuti orde satu, sehingga perhitungan kinetika selanjutnya dihitung berdasarkan hubungan antara ln kadar IgY terhadap waktu pengambilan serum. Konstanta laju disosiasi IgY berkisar antara (0,007 sampai 0,015 jam). Konsentrasi IgY dalam darah anjing (CP₀) terdeteksi berkisar (0,746 sampai 0,992 mg/mL). Waktu paruh IgY berkisar antara (1,65 sampai 4,01 hari). Volume distribusi IgY berkisar antara (21,47 sampai 28,55 mL). Jumlah IgY yang ada dalam tubuh anjing (area di bawah kurva) berkisar antara (42,60 sampai 142,00 mg/mL.jam). Lama obat dalam tubuh anjing berkisar antara (3,08 sampai 8,51 hari). Clearance IgY berkisar antara (0,15 sampai 0,50 mL/jam) (0,29±0,11 mL/jam). Disimpulkan bahwa kinetika IgY anti-CPV dalam tubuh anjing mengikuti kinetika orde satu dan satu kompartemen, terdistribusi hanya dalam darah dengan waktu paruh 2,5 hari dan kemungkinan terakumulasi dalam tubuh lebih kecil jika dibandingkan dengan IgG.

Kata-kata kunci : IgY, kinetika, *canine parvovirus*, anjing.

ABSTRACT

Kinetic study on Anti CPV IgY has been performed on six dogs aged 5-10 months. The IgY was injected intravenously at dose of 21.4mg /10kg body weight. IgY levels in the blood were determined by ELISA. A research was conducted to find out the kinetics of Anti CPV IgY in dogs blood. The kinetics of IgY was calculated by using regression analysis to determine the association on the levels of IgY in serum against time at injection. The results showed that kinetic parameters were calculated based on first order kinetics. The constant elimination rate of IgY was at the range between 0.007 to 0.015 / h. IgY concentration in the dogs blood was from 0.746 to 0.992 mg / mL. The half-life of IgY was from 1.65 to 4.01 / d. Volume distribution of IgY was between 21.47 to 28,55 / mL. Total IgY in the dog bodies (AUC) was from 42,60 to 142,00 mg / mL.h. The duration of the IgY in the dog's body was 3.08 to 8.51 days. Clearance time of IgY was 0.15 to 0.50 mL / h. In conclusion the kinetics of anti CPV IgY in dog's body follow one compartment and first order model, which are only distributed in the blood with the half-life at 2.5 days, and IgY has less possibility to accumulate in the body compared to the IgG.

Keywords: IgY, kinetics, *canine parvovirus*, dogs.

PENDAHULUAN

Terapi dan pencegahan penyakit menggunakan antibodi dari kuning telur ayam atau immunoglobulin *yolk* (IgY) terbukti efektif pada manusia dan hewan (Carlender, 2002). Informasi kinetika IgY sangat diperlukan untuk memastikan dosis dan interval pemberian ketika digunakan untuk terapi. Nilai kinetika IgY hingga saat ini belum banyak dilaporkan. Ketersediaan informasi tentang kinetika IgY akan memudahkan aplikasinya secara *in vivo*.

Ayam sangat potensial sebagai penghasil antibodi (Li *et al.*, 2015). Ayam yang diimunisasi akan mentransfer antibodi dari serum ke kuning telurnya sehingga IgY banyak terakumulasi dalam kuning telur (Janson *et al.*, 1995). Syarat antibodi poliklonal untuk tujuan imunoterapi yaitu harus memiliki tingkat kemurnian tinggi dan mudah diproduksi dalam jumlah banyak (Schade *et al.*, 2008). Syarat ini ada pada IgY yang mudah dimurnikan menggunakan metode presipitasi sederhana (Gassmann *et al.*, 1990; Fernanda *et al.*, 2014). Metode pemurnian antibodi yang mudah dan murah sangat diperlukan untuk produksi antibodi komersial (Kovac *et al.*, 2004).

Imunoglobulin atau antibodi adalah protein endogen yang dihasilkan oleh sel-sel B limfosit. Struktur antibodi terdiri dari dua domain yaitu domain variabel dan konstan. Domain variabel berfungsi menetralkan antigen sedangkan domain konstan berikatan dengan berbagai reseptor Fc (*Crystallization Fraction*) (Simon dan Spath, 2003). Kedua domain tersebut berperan mengatur absorpsi, distribusi, eliminasi dan aktivitas antibodi (Desjarlais 2007; Nimmerjahn, 2006). Berdasarkan struktur dan fungsinya antibodi memiliki prospek untuk dikembangkan menjadi agen terapi yang potensial.

Antibodi memiliki karakteristik yang unik yaitu bereaksi sangat spesifik terhadap antigen yang menginduksinya (Prittie, 2004). Hal ini menyebabkan ekspresi dan densitas antigen dalam tubuh sangat berpengaruh terhadap farmakokinetik, farmakodinamik, dan biodistribusi antibodi (Tabrizi *et al.*, 2010). Antibodi sebagai agen terapi memiliki karakteristik stabil, selektif dan sangat spesifik. Antibodi larut dalam darah, beredar lama dalam tubuh, dan tidak dikonversi menjadi metabolit toksik (Wang *et al.*, 2008). Informasi kinetika suatu antibodi dapat digunakan sebagai acuan terapi antibodi (Tabrizi *et al.*, 2010). Data kinetika antibodi bermanfaat untuk menen-

tukan rute, interval dan dosis terapi, memperkirakan kadarnya dalam plasma, jaringan, urin dan kemungkinan akumulasi antibodi dalam tubuh (Shargel, 2004).

Canine parvovirus (CPV) adalah virus infeksius penyebab diare berdarah dan immunosupresif pada anjing (Hoskins, 1998). Infeksi CPV sangat fatal pada anak anjing umur enam minggu sampai enam bulan (Decaro *et al.* 2006). Mortalitas anak anjing dapat mencapai 91 % pada infeksi CPV yang tidak diterapi (Prittie *et al.* 2004). Penyebab utama kematian anak anjing adalah septikemia dan dehidrasi (Meunier *et al.* 1985). Tropisme virus parvo yaitu pada sel-sel yang aktif membelah seperti epitel saluran pencernaan, sumsum tulang dan jaringan limfoid (Martella *et al.* 2004). Terapi yang efektif untuk infeksi CPV belum ditemukan hingga saat ini. Imunoterapi menggunakan IgY anti-CPV nampaknya dapat dicoba sebagai alternatif baru untuk menekan angka kematian anjing akibat infeksi virus parvo. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kinetika IgY anti-CPV dalam tubuh anjing. Data kinetika ini dapat digunakan sebagai acuan menentukan dosis terapi dan interval pemberian terapi antibodi pada anjing yang terinfeksi CPV.

METODE PENELITIAN

Hewan Coba

Anak anjing lokal untuk hewan coba dipelihara di kandang hewan di Balai Besar Veteriner Denpasar, Bali. Enam ekor anak anjing lokal dengan jenis kelamin jantan umur antara 5-10 bulan dikandangkan terpisah dengan ukuran 100 x 50 x 45 cm, diberi pakan anjing *dog food* dicampurkan dengan nasi, diberi obat cacing (pyrantel) dan multivitamin. Anjing dimandikan dua kali dalam seminggu untuk menekan endoparasit dan ektoparasit. Anjing ditimbang bobot badannya untuk menentukan dosis IgY anti CPV yang diinjeksikan secara intravena. Anak anjing dipuaskan semalam dan diberikan minum *ad libitum*. Serum anjing diambil sebelum perlakuan untuk memastikan bahwa anjing tidak terinfeksi CPV. Pemeliharaan dan perlakuan hewan coba pada penelitian ini telah mengikuti aturan yang telah ditetapkan pada *Ethical clearance* yang dikeluarkan oleh Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana: No: 102A KE-PH/VIII/2011.

Produksi dan Pemurnian IgY anti-CPV dari Kuning Telur

Senyawa IgY anti-CPV diproduksi dengan cara vaksinasi ayam petelur galur Isabrown umur 20 minggu, dengan virus parvo dosis 2^{13} HA unit yang sudah dilemahkan. Sebanyak 0,5 mL virus diemulsikan dengan 0,5 mL *adjuvant Freund's complete*. Vaksinasi kedua, ketiga dan keempat menggunakan 0,5 mL virus dan 0,5 mL *adjuvant incomplete*. Vaksinasi pada ayam dilakukan sebanyak empat kali dengan interval dua minggu. Koleksi kuning telur dilakukan ketika titer IgY sudah cukup tinggi yaitu dua minggu setelah vaksinasi. Antibodi dalam kuning telur dimurnikan menggunakan *Egg Stract Protein Purification Kit* (Promega). Karakterisasi dan konsentrasi IgY dideteksi menggunakan *Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE) dan spektrofotometri Nanodrop. Dosis IgY yang digunakan adalah 1000 *Protektif Dose 50* (PD₅₀) berdasarkan uji serum netralisasi IgY terhadap virus parvo secara *in vitro*.

Penentuan Dosis IgY anti-CPV

Rataan bobot badan anak anjing yang digunakan adalah 10 kg, diinjeksi dengan 1 mL IgY anti-CPV 1000 PD₅₀. Dosis protektif ini diperoleh berdasarkan hasil uji serum netralisasi IgY terhadap virus parvo yang dibiakan dalam sel *feline kidney* (Suartini *et al.*, 2014). Berdasarkan studi pendahuluan diketahui PD₅₀ setara dengan 1/256 kali pengenceran konsentrasi IgY yang mengandung 21,4 mg tiap mL. Anjing diinjeksi secara intravena pada vena safena dengan 1 mL IgY. Selanjutnya dilakukan pengambilan darah anak anjing sebanyak 2 mL melalui vena safena dengan interval waktu sampling adalah 1, 3, 6, 18, 27, 54, 72 dan 108 jam. Interval pengambilan darah didasarkan pada waktu paruh IgY dalam tubuh ayam yaitu 36 jam (Carlander, 2002). Lama pengambilan darah untuk uji kinetika suatu obat adalah 3-3,5 kali dari $t_{1/2}$ obat tersebut atau minimal tiga titik untuk satu fase *sampling* (Lazuardi, 2010). Darah dibiarkan membeku dalam *spuite* dan disimpan di refrigerator 4°C semalam. Serum dipisahkan dengan cara disentrifuse pada kecepatan 1000 rpm selama 10 menit. Masing-masing serum dipisahkan dan disimpan pada -70°C hingga digunakan untuk analisis kadar IgY dengan uji *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA).

Penentuan Kadar IgY dalam Serum Anjing

Teknik ELISA digunakan untuk mengetahui adanya aktivitas IgY. *Microtiter plate* dilapisi dengan 100 uL antigen CPV. *Plate* kemudian diinkubasikan selama satu malam pada suhu 37°C. *Plate* dicuci sebanyak tiga kali dengan PBS-Tween. *Plate* diblok dengan 150 µL *bovine serum albumin* 1% selama 30 menit pada suhu 37°C. *Plate* dicuci sebanyak tiga kali dengan PBS-T dan 100 µL sampel ditambahkan ke setiap lubang *plate*. Selanjutnya 100 µL antibodi yang telah dilabel dimasukkan ke dalam lubang *plate* dan diinkubasikan selama satu jam pada suhu ruang, kemudian ditambahkan substrat peroksidase. Reaksi itu dihentikan setelah 10 menit, dengan menambahkan 50 µL 1,8 M H₂SO₄ dan *plate* dibaca dengan *spectra Max* pada panjang gelombang 450 nm (Carlander, 2002).

Parameter yang Diamati

Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah penurunan titer antibodi masing-masing serum sesuai interval waktu pengambilan darah. Penurunan nilai *optical density* (OD) dalam uji ELISA menunjukkan penurunan titer antibodi sesuai selang waktu pengambilan serum. Nilai OD kemudian dicari kesetaraan kadarnya. Satu OD setara dengan 1,14 mg/mL.

Analisis Data

Kadar IgY pada masing-masing interval pengambilan serum versus waktu dianalisis menggunakan *software* Minitabs untuk mengetahui orde eliminasi obat mengikuti orde nol atau orde satu. Data tetapan disosiasi obat (K), kadar IgY tertinggi didalam darah (Cp₀), waktu paruh ($t_{1/2}$), volume distribusi (Vd), area di bawah kurva (AUC), Lama obat dalam tubuh, dan bersihan total/ atau *clearance* (Cl) selanjutnya dihitung dengan rumus farmakokinetik sesuai dengan tipe eliminasi yang dimiliki oleh IgY (Gibaldi dan Perrier, 1982).

Penentuan Kinetika IgY

Berdasarkan analisis data kadar IgY versus waktu diperoleh kinetika IgY model satu kompartemen dan orde satu. Persamaan kinetika model satu kompartemen terbuka dan orde satu adalah : $\ln Cpt = \ln Cp_0 - Kt$, atau $\log Cpt = \log Cp_0 - K/2,303 \cdot t$. Tetapan disosiasi obat (K) menggambarkan hilangnya obat dari sirkulasi sistemik. Konstanta disosiasi obat (K) dihitung berdasarkan persamaan garis lurus

hubungan antara ln kadar terhadap waktu (t) atau $K = 0,693/t_{1/2}$. Waktu paruh ($t_{1/2}$) adalah waktu saat konsentrasi obat telah separuhnya dieliminasi dari sirkulasi, dihitung berdasarkan persamaan : $t_{1/2} = 0,693/K$. Konsentrasi IgY tertinggi dalam tubuh (Cp_0) dihitung berdasarkan persamaan garis lurus $\ln Cpt = \ln Cp_0 - K.t$. Volume distribusi (Vd) dihitung berdasarkan persamaan $(Vd) = \text{dosis}/Cp_0$. Area di bawah kurva (AUC) adalah parameter yang menggambarkan jumlah obat yang berhasil diabsorpsi kedalam tubuh, mencerminkan jumlah total obat aktif yang mencapai sirkulasi.

$AUC = AUC_{t_0}^{t_m} + AUC_{t_m}^{t_\infty} = AUC_{t_0}^{t_\infty}$. Lama obat dalam tubuh dihitung berdasarkan persamaan $\ln Cpt = \ln Cp_0 - K.t$, $t = \ln Cp_0/K$. t adalah waktu atau lamanya obat dalam tubuh. Clearance total atau bersihan total (Cl_{tot}) adalah volume cairan tubuh yang dibersihkan dari obat per satuan waktu $Cl_{tot} = K.Vd$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji kinetika IgY anti-CPV disajikan pada (Tabel 1), menunjukkan bahwa rata-rata konstanta kecepatan disosiasi IgY anti-CPV adalah $(0,013 \pm 0,003/\text{jam})$. Konsentrasi IgY anti-CPV tertinggi di dalam darah (Cp_0) sesaat setelah diinjeksikan secara intravena adalah $(0,95 \pm 0,09 \text{ mg/mL})$. Waktu yang dibutuhkan oleh IgY anti-CPV untuk dieliminasi separuhnya ($t_{1/2}$) adalah $(60,10 \pm 18,96 \text{ jam})$. Volume distribusi (Vd) IgY anti-CPV pada tubuh anjing adalah $(22,72 \pm 2,61 \text{ mL})$. Area di bawah kurva (AUC) atau konsentrasi IgY anti-CPV yang berhasil diabsorpsi di dalam tubuh anjing adalah $(84,79 \pm 31,23 \mu\text{g/mL.jam})$. Lama IgY anti-CPV berada



Gambar 1. Kurva hubungan antara log kadar imunoglobulin-Y (IgY) anti conine parvovirus (CPV) terhadap waktu pengambilan darah.

dalam tubuh anjing adalah $(130,71 \pm 43,84 \text{ jam})$. Konsentrasi IgY anti-CPV yang diekskresikan/bersihan (*clearance*) dari tubuh anjing adalah $(0,29 \pm 0,1 \text{ mL/jam})$.

Anjing yang diinjeksi IgY anti-CPV intravena secara umum tidak menunjukkan gejala toksik maupun anafilaksis. Hal ini telah diantisipasi dengan melakukan ultrafiltrasi IgY dengan *Minisart* $0,20 \mu\text{m}$ untuk mencegah adanya bakteri penyebab *pyrogen*. Berkurangnya konsentrasi IgY per satuan waktu adalah tidak konstan (Gambar 1). Berdasarkan data tersebut teramati bahwa eliminasi IgY pada anjing mengikuti kinetika orde satu (Shargel, 2004). Hal tersebut dapat dibuktikan dari hewan uji no.1, bahwa berkurangnya konsentrasi IgY per jam pada jam ke 6-18 adalah $0,033 \text{ mg/mL}$ dan pada jam ke 18-27 adalah $0,006 \text{ mg/mL}$ (Gambar 1). Nilai keduanya mempunyai selisih yang sangat jauh dan menunjukkan berkurangnya konsentrasi per satuan waktu tidak konstan. Perhitungan

Tabel 1. Hasil perhitungan farmakokinetik imunoglobulin-Y (IgY) anti conine parvovirus (CPV)

Parameter	Rataan Nilai Titer IgY anti CPV dalam Tubuh Anjing	Standar Deviasi
Konstanta Kec. Disosiasi/ Jam	0,007 – 0,015	$0,013 \pm 0,003$
CP_0 (ug/mL)	0,75 – 0,99	$0,95 \pm 0,09$
Waktu Paruh ($t_{1/2}$) (hari)	1,65 – 4,01	$2,50 \pm 0,79$
Volume Distribusi (mL)	21,47 – 28,55	$22,72 \pm 2,61$
Area Under Curve (ug/mL.jam)	42,60 – 142,00	$84,79 \pm 31,23$
Lama Obat Dalam Tubuh (hari)	3,08 – 8,51	$5,45 \pm 1,83$
Clearance (mL/jam)	0,15 – 0,50	$0,29 \pm 0,11$

Keterangan : IgY = Immunoglobulin yolk

CPV = canine parvovirus

kinetika selanjutnya didasarkan pada kinetika orde satu. Kinetika IgY yang mengikuti orde satu juga diperkuat dengan nilai regresi hubungan antara ln kadar versus waktu yang mendekati -1 (-0,7 sampai -0,9) (Tabel 2). Perhitungan parameter kinetika selanjutnya mengikuti persamaan $\ln Cpt = \ln Cp_0 - K \cdot t$ atau $\log Cpt = \log Cp_0 - K/2,303 \cdot t$. Cpt adalah kadar IgY pada waktu tertentu, Cpo adalah kadar IgY mula-mula, K adalah konstanta disosiasi obat, dan t adalah waktu. Waktu paruh ($t_{1/2}$) IgY dihitung dengan persamaan $t_{1/2} = 0,693/K$ dan bersihan/ *clearance* (Cl) dihitung berdasarkan, $Cl = K \cdot Vd$

Rataan konstanta kecepatan disosiasi IgY dalam tubuh anjing adalah $(0,013 \pm 0,003/\text{jam})$. Hubungan antara log kadar antibodi terhadap waktu membentuk garis linear sehingga

memperkuat dugaan bahwa IgY mengikuti kinetika eliminasi orde satu (Gambar. 1). Nilai kecepatan disosiasi memengaruhi waktu paruh IgY dalam tubuh anjing. Tetapan laju disosiasi berbanding terbalik dengan waktu paruh. Tetapan laju disosiasi yang rendah menunjukkan waktu paruh obat semakin lama (Lazuardi, 2010).

Waktu paruh IgY dalam tubuh anjing adalah $(60,10 \pm 18,96 \text{ jam})$. Berdasarkan waktu paruh yang diperoleh, IgY dapat diberikan setiap dua hari sekali atau lebih $(60,1 \text{ jam} : 24 \text{ jam} = 2,5 \text{ hari})$. Interval penggunaan obat umumnya berjarak $t_{1/2}$ dari obat tersebut (Shargel, 2004). Dengan nilai waktu paruh dua hari lebih berarti IgY bisa diberikan dengan interval satu hari dengan dosis yang lebih kecil. Jika waktu paruh

Tabel 2. Nilai kinetika imunoglobulin-Y (IgY) anti conine parvovirus (CPV) berdasarkan interval waktu pengambilan serum anjing

Hewan coba	Waktu (jam)	OD	kadar	ln Kadar	Konstanta Kec.disosiasi (1/jam)	CPO (mg/mL)	$t_{1/2}$ (jam)	Vd (mL)	AUC (mg/mL.jam)	Lama obat dlm tubuh	Clearance (mL/jam)
1	6	0,567	0,646	-0,437	-0,0175	0,746	39,6	28,55	42,6	73,88	0,5
	18	0,509	0,580	-0,545							
	27	0,411	0,468	-0,759							
	36	0,339	0,386	-0,952							
	Rataan	0,457									
	stdev	0,101									
2	1	0,464	0,528	-0,639	-0,0143	0,985	48,46	21,62	71	112,9	0,3
	3	0,453	0,516	-0,662							
	6	0,430	0,490	-0,713							
	18	0,396	0,451	-0,796							
	27	0,308	0,351	-1,047							
	Rataan	0,410									
Stdev	0,063										
3	6	0,486	0,554	-0,590	-0,0118	0,988	58,73	21,56	85,2	129,4	0,25
	18	0,411	0,468	-0,759							
	27	0,381	0,434	-0,835							
	Rataan	0,426									
	Stdev	0,054									
4	3	0,552	0,620	-0,464	-0,0072	0,992	96,25	21,47	142	204,3	0,15
	6	0,507	0,577	-0,549							
	18	0,485	0,552	-0,594							
	27	0,452	0,515	-0,664							
	Rataan	0,499									
Stdev	0,042										
5	1	0,488	0,556	-0,587	-0,0098	0,990	70,72	21,52	101,4	167,7	0,21
	6	0,401	0,457	-0,783							
	18	0,387	0,441	-0,819							
	27	0,360	0,410	-0,891							
	Rata2	0,409									
Stdev	0,055										
6	3	0,579	0,660	-0,416	-0,0148	0,985	46,82	21,62	66,56	96,1	0,32
	6	0,495	0,564	-0,573							
	18	0,447	0,509	-0,675							
	Rataan	0,507									
	Stdev	0,067									

Keterangan: OD = optical density Vd = volume distribusi Ln = logaritma natural AUC = area under the curve CPO = kadar IgY dalam darah anjing pada waktu ke-nol $t_{1/2}$ = waktu paruh

IgY dibandingkan dengan waktu paruh IgG yaitu 27 hari (Carlender, 2002) berarti IgY memiliki nilai kecepatan disosiasi yang lebih tinggi dibandingkan IgG. Dengan demikian kemungkinan IgY untuk terakumulasi dalam tubuh lebih kecil dibandingkan dengan IgG. Data waktu paruh IgY bermanfaat untuk memperkirakan waktu lamanya IgY di dalam tubuh anjing, menentukan interval terapi dan waktu tercapainya *steady state* ketika diberikan berulang. Waktu paruh antibodi tergantung dari dosis dan konsentrasi antigen (Lobo *et al.*, 2004). Ketika konsentrasi antigen tinggi di dalam tubuh maka waktu paruh antibodi menjadi pendek, karena kompleks antibodi-antigen akan cepat dibersihkan dari darah. Penurunan jumlah antigen dalam tubuh akan menurunkan jumlah *clearance* sehingga waktu paruh antibodi diperpanjang (Baumann, 2006).

Konsentrasi IgY anti-CPV sesaat setelah injeksi (C_{p_0}) adalah $(0,95 \pm 0,09 \text{ mg/mL})$. Data ini menunjukkan jumlah IgY tertinggi di darah setelah diinjeksi. Bioavailabilitas antibodi yang diaplikasikan secara intravena akan lebih besar dibandingkan jika diaplikasikan secara intramuskuler dan subkutan. Adanya aktivitas proteolisis dan transit di saluran limfatik menyebabkan bioavailabilitas antibodi intramuskuler dan subkutan lebih rendah dibandingkan secara intravena (Sarghel, 2004).

Rataan volume distribusi umumnya diukur pada hewan yang memiliki persamaan umur, bobot badan, dan jenis kelamin. Nilai volume distribusi IgY anti-CPV pada penelitian ini adalah $(22,72 \pm 2,61 \text{ mL})$. Nilai Vd dapat digunakan untuk memperkirakan dosis yang harus diberikan agar mencapai kadar yang diinginkan, karena ada hubungan antara dosis dan volume distribusi ($\text{dosis} = Vd \cdot C_{p_0}$). Cairan tubuh anak anjing yang bobot tubuhnya sekitar 10 kg adalah sekitar 500 mL. Nilai ini diperoleh berdasarkan perhitungan, volume plasma adalah 5% dari bobot badan. Nilai Vd IgY lebih kecil daripada jumlah plasma dalam tubuh anjing sehingga dipandang IgY hanya terdistribusi dalam darah dan tidak masuk ke jaringan. Hal tersebut terjadi karena IgY adalah suatu protein yang sulit menembus membran sel.

Volume distribusi merupakan suatu parameter yang berguna untuk menilai jumlah relatif obat di luar kompartemen sentral atau jaringan. Jumlah total obat dalam tubuh pada berbagai waktu pemberian dapat ditentukan

dengan mengukur konsentrasi obat dalam darah jika diketahuinya Vd suatu obat. Distribusi bahan biologik biasanya terbatas di plasma dan cairan ekstraselular karena umumnya bersifat polar dan bobot molekulnya besar. Protein dengan bobot molekul di atas 30 kDa sangat lambat melewati kapiler pembuluh darah. Distribusi bahan biologik dipengaruhi oleh ikatannya dengan protein plasma. Konjugasi antibodi dengan protein plasma dapat menghambat metabolisme antibodi dan meningkatkan efikasinya sebagai agen terapi (Baumann, 2006).

Area di bawah kurva (AUC) dalam plasma terhadap waktu adalah ukuran dari jumlah bioavailabilitas suatu obat. Nilai AUC dari IgY anti-CPV adalah $(84,79 \pm 31,23 \text{ mg/mL.jam})$. Lama obat dalam tubuh (*t*) IgY anti-CPV adalah $(130,71 \pm 43,84 \text{ jam})$ atau sekitar 2,1 kali waktu paruhnya.

Antibodi memiliki nilai farmakokinetik yang berbeda-beda. Variasi farmakokinetik ini sangat berpengaruh terhadap nilai *clearance* atau bersihan suatu antibodi. *Clearance* atau bersihan jaringan hati dan ginjal sangat dipengaruhi oleh laju aliran darah dan kemampuan organ tersebut untuk metabolisme dan mengeliminasi obat. Kemampuan hati untuk memetabolisme obat tergantung pada jumlah dan kemampuan enzim hati untuk metabolisme (Baumann, 2006).

Rataan *clearance* IgY anti-CPV dari tubuh anjing adalah $0,29 \pm 0,11 \text{ mL/jam}$. Hal ini berarti rata-rata IgY anti CPV yang dibersihkan dari darah anjing per jam berkisar antara 0,18-0,4 mL/jam. Nilai *clearance* suatu obat sangat berguna dalam menentukan dosis, interval pemberian dalam mencapai kadar atau *steady state* yang diinginkan. Hubungan persamaan tersebut, jika obat diberikan intravena adalah $Cl. C_{ss} = \text{Dosis}/T$, dalam hal ini C_{ss} adalah konstanta *steady state* dan T adalah interval pemberian.

SIMPULAN

Kinetika IgY anti-CPV dalam tubuh anjing mengikuti model satu kompartemen dan orde satu, interval terapi IgY anti-CPV adalah satu kali sehari, dan berdasarkan konstanta ketetapan disosiasi IgY anti-CPV tidak berpotensi toksik.

SARAN

Penggunaan dosis IgY anti-CPV yang lebih tinggi dan metode deteksi yang lebih sensitif dapat memberikan data kinetika yang lebih rinci dan akurat, sehingga penentuan dosis dan interval terapi dapat diaplikasikan pada semua umur anjing.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih disampaikan kepada Direktorat Pendidikan Tinggi (DIKTI) yang telah memberikan beasiswa Program Doktor (mulai 2009) di Institut Pertanian Bogor. Terimakasih ditujukan pula kepada Kepala Balai Besar Veteriner (BBVet) Denpasar yang telah mengizinkan menggunakan fasilitas kandang di instansi tersebut untuk pemeliharaan anjing percobaan. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada Kepala Laboratorium Bioteknologi (BBVet) dan segenap teknisi sebagai konsultan teknis.

DAFTAR PUSTAKA

- Baumann A. 2006. Early Development of Therapeutic Biologics – Pharmacokinetics. *Current Drug Metabolism* 7: 15-21
- Carlender V. 2002. Avian IgY Antibodi: in vitro and invivo. Faculty of Medicine ACTA Universitatis Upsaliensis, UPPSALA. Swedia. Pp. 53. Components for Human Health. *J Agric Food Chem*. 2005.53. 8421-8431. Published on web 09/30/2005
- Decaro N, Maetella V, Desario C, Bellacicco A L, Camero M, Manna L, d'Alojo D, Buonavaglia C. 2006. First detection of canine parvovirus type 2c in pups with haemorrhagic enteritis in Spain. *Jvet Med*. 53: 468-472.
- Desjarlais JR, Lazar GA, Zhukovsky EA, Chu SY. 2007. Optimizing engagement of the immune system by anti-tumor antibodies: an engineer's perspective. *Drug Discov Today* 12(21–22): 898–910.
- Fernanda NS, Beatriz CB, Paula BC, Claudia MM, Valmir LS, Sérgio AMC. 2014. Production and Characterization of IgY against Canine IgG : Prospect of a New Tool for the Immunodiagnostic of Canine Diseases. *Braz Arch Biol Technol* 57 (4): 523-531.
- Gassmann M, Thommes P, Weiser T, Hubscher U. 1990. Efficient production of chicken egg yolk antibodies against a conserved mammalian protein. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal* 4:2528.
- Gibaldi M, Perrier D. 1982. *Pharmacokinetics*. 2nd ed. New York Marcel Dekker, Inc.
- Hoskins J D. 1998. Canine viral enteritis. In: Greene CE, ed. *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders: 40–48.
- Janson AK, Smith CI and Hammarstrom L. (1995) Biological properties of yolk immunoglobulins. *Adv Exp Med Biol* (371): 685.
- Kovacs-Nolan J, Mine Y. 2004. Avian egg antibodies: basic and potential applications. *Avian and Poultry Biology Reviews* 15: 25-46.
- Lazuardi M. 2010. Biofarmasetik dan farmakokinetik klinik medis veteriner. Bogor : Ghalia Indonesia.
- Li X, Lili W, Yuhong Z, Shuying L, Yongping X. 2015. Chicken egg yolk antibodies (IgY) as non-antibiotic production enhancers for use in swine production: a review. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 6:40 DOI 10.1186/s40104-015-0038-8
- Lobo ED, Hansen RJ, Balthasar JP. 2004. Antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics. *J Pharm Sci* 93(11): 2645-2668.
- Martella V, Cavalli A, Pratelli A, Bozzo G, Camero M, Buonavaglia D, Narcisi D, Tempesta M, Buonavaglia C. 2004. A canine parvovirus mutant is spreading in Italy. *J Clin Microbiol* 42, 1333-1336.
- Meunier PC, Cooper BJ, Appel MJG, Slauson DO. 1985. Pathogenesis of canine parvovirus enteritis. The important viraemia. *Vet. Pathol* 22:60-71.
- Nimmerjan F, Ravetch JV. 2006. Anti-inflammatory actions of intravenous immunoglobulin. *Annu Rev Immunol* 26: 513-533

- Prittie J. 2004. Canine Parvoviral Enteritis: A Review of Diagnosis, Management, and Prevention. *JVet Emerg Crit Care* 14(3): 167–176.
- Schade R, Calzado EG, Sarmiento R., Chacana PAJ, Porankiewicz A, Terzolo HR.. 2005. Chicken Egg Yolk Antibodies (IgY-Technology): a Review of Progress in Production and Use in Research and Human and Veterinary Medicine. *Alternatives to Laboratory Animals* 33: 129-54.
- Shargel L, Yu ABC. 2004. Applied Biopharmaceuticals and Pharmacokinetics. 4th ed. New York: McGraw-Hill/ Appleton & Lange.
- Simon HU, Späth PJ. 2003. IVIG: mechanisms of action. *Allergy* 58: 543-52.
- Suartini IGAA, Agik Suprayogi, WibawanIWT, Sendow I, Mahardika GN. 2014. Intravenous Administration of Chicken Immunoglobulin Has a Curative Effect in Experimental Infection of Canine Parvovirus. *Global Veterinaria* 13 (5): 801-808. DOI: 10.5829/idosi.gv. 2014.13.05.86180
- Tabrizi M, Roskos LK. 2006. Exposure–response relationships for therapeutic biologic products. Dalam Meibohem B, Editor. *Pharmacokinetics and pharmacodynamics of biotech drugs*. New York. Wiley Hlm. 295–327.
- Wang SM, Lei HY, Huang KJ, Wu JM, Wang JR, Yu CK, Su IJ, Liu CC. 2008. Pathogenesis of enterovirus 71 brainstem encephalitis in pediatric patients: roles of cytokines and cellular immune activation in patients with pulmonary edema. *J Infect Dis* 188: 564-70