

Dinamika Total Protein Serum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Mikrokapsul Imunoglobulin-G Anti-H5N1

(DYNAMICS OF TOTAL PROTEIN SERUM OF RATTUS NOVERGICUS
GIVEN MICROCAPSULES OF IMMUNOGLOBULIN G ANTI H5N1)

**Kathirina Beatrik Riwu Wolo¹,
Anita Esfandiari², Sri Murtini³, Retno Wulansari²**

¹Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor
Babakan, Dramaga, Bogor, Jawa Barat. Indonesia 16680

²Departemen Klinik Reproduksi dan Patologi,

³Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner,
Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor,
Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16680.

Telp. 0251-8625656; Email: esfandiari1962@gmail.com

ABSTRACT

Immunoglobulin G (IgG) from colostrum of hyperimmune colostrum obtained from vaccinated cattle with H5N1 vaccine is potential to be developed into passive immunotherapy product for "bird flu" infection. The administration of passive therapy can be done orally, but the environmental conditions of the digestive tract can cause IgG damage, so the microencapsulation technique was used in this study to protect IgG. This study aimed to evaluate the absorption of H5N1 IgG anti-Avian Influenza which was microencapsulated using rats (*Rattus norvegicus*) as animals model. This study was conducted using 108 adult male white rats (*Rattus norvegicus*), Wistar strain, approx. 250 grams of body weight. Rats were divided into three treatment groups (N = 36), i.e. control group (K) were given aqua distilled water, suspension group (S) were given anti-H5N1 IgG suspension, and microcapsules group (M) were given microcapsules equivalent to suspension with the titer of 2⁵. Necropsy was carried out at four observation points (2, 4, 6 and 8 hours) to collect blood through the heart and collected in vacutainer without anticoagulants to obtain serum. The blood serum then analyzed for total protein and globulin and albumin/globulin ratio (A/G). The results showed that the level of total protein and globulin group M was higher and significantly different (P > 0.05) compared to K and S at the end point of observation. The A/G ratio in group K showed a significant increase (P > 0.05) at the end point of observation while in group M there was a marked decrease (P > 0.05) at the time point of 2 hours to 4 hours and then constant until the end of observation. These results showed that administration of anti-H5N1 IgG microcapsules can increase total levels of protein and globulin in the blood.

Keywords: alginat-chitosan, anti H5N1, colostrum, globulin

ABSTRAK

Imunoglobulin G (IgG) asal kolostrum hiperimun yang diperoleh dari sapi yang divaksinasi H5N1 berpotensi untuk dikembangkan menjadi produk imunoterapi pasif bagi infeksi flu burung. Pemberian imunoterapi pasif dapat dilakukan per oral, namun kondisi lingkungan saluran pencernaan dapat menyebabkan kerusakan IgG, sehingga teknik mikroenkapsulasi digunakan dalam penelitian ini untuk melindungi IgG. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi penyerapan IgG anti Avian Influenza H5N1 yang dimikroenkapsulasi secara in-vivo menggunakan hewan model tikus (*Rattus norvegicus*). Penelitian dilakukan menggunakan 108 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dewasa, galur Wistar, dengan bobot badan ±250 g. Hewan coba dibagi menjadi tiga kelompok (masing-masing kelompok 36 ekor), yaitu kelompok kontrol (K) yang diberi akuades, kelompok yang diberi suspensi IgG anti H5N1 dengan titer 2⁵ dengan dosis 1 mL/ekor (S), dan kelompok yang diberi mikrokapsul IgG anti H5N1 160 butir/ekor yang

setara suspensi dengan anti H5N1 titer 2^5 sebanyak 1 mL (M). Pemberian akuades, suspensi IgG anti H5N1, maupun mikrokapsul diberikan peroral. Nekropsi terhadap hewan coba dilakukan untuk pengambilan sampel darah. Sampel darah dikoleksi secara intra kardial untuk dianalisis terhadap kadar total protein, globulin, dan rasio albumin terhadap globulin (rasio A/G). Pengamatan terhadap masing-masing parameter dilakukan pada 2, 4, 6, dan 8 jam setelah pemberian perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan kadar total protein dan globulin kelompok M lebih tinggi dan berbeda nyata ($P>0.05$) dibandingkan K dan S pada titik akhir pengamatan. Rasio A/G kelompok K mengalami peningkatan nyata ($P>0.05$) pada titik akhir pengamatan sedangkan pada kelompok M mengalami penurunan nyata ($P>0.05$) pada titik waktu 2 jam menuju 4 jam dan selanjutnya konstan hingga akhir pengamatan. Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian mikrokapsul IgG anti H5N1 dapat meningkatkan kadar total protein dan globulin dalam darah.

Kata Kunci: alginat-kitosan, anti H5N1, globulin, kolostrum

PENDAHULUAN

Avian Influenza (AI) atau flu burung merupakan salah satu penyakit zoonosis yang masih menjadi ancaman bagi kesehatan manusia. Jumlah total kasus kematian pada manusia akibat virus AI H5N1 di Indonesia sejak tahun 2003 sampai 2018 yaitu sebanyak 200 kasus dengan 168 kasus diantaranya meninggal dunia (WHO 2019). Sampai saat ini, *case fatality rate* penyakit ini pada manusia masih tinggi. Menurut laporan Karo-karo *et al.* (2019), *case fatality rate* di Indonesia sebesar 84% dan lebih tinggi dari *case fatality rate* global yaitu 53%. Laporan *World Health Organization* tahun 2017 menyatakan bahwa kasus AI H5N1 pada manusia di Indonesia terus berkurang sejak tahun 2003 sampai 2015, dan hilang ditahun 2016, namun muncul kembali pada tahun 2017. *World Health Organization* menyebutkan pada Oktober 2017 terdapat empat kasus AI H5N1 pada manusia yaitu tiga kasus di Mesir dan satu kasus di Indonesia.

Penanganan yang dilakukan selama ini dengan menggunakan obat antivirus seperti oseltamivir, ribavirin dan zanamivir, penggunaan rutin kortikosteroid, dan interferon. Namun Wong dan Yuen (2006) menyatakan bahwa penggunaan obat-obatan dapat menimbulkan resistensi. Selain itu juga, efektifitas kerja obat hanya pada awal infeksi saja. Menurut Hussain *et al.* (2017), kelompok obat-obatan anti AI-H5N1 seperti adamantane dan *Neuraminidase Inhibitors* (NAIs) tidak efektif karena virus H5N1 yang cepat bermutasi.

Alternatif pengendalian yang dapat dilakukan selain pemberian obat anti-AI H5N1 yaitu melalui pengebalan pasif menggunakan antibodi anti H5N1. Antibodi anti H5N1 berupa IgG anti-H5N1 bisa diperoleh salah satunya dari kolostrum. Laporan Esfandiari *et al.* (2008) dan

Esfandiari *et al.* (2014) menunjukkan bahwa induk sapi bunting trimester akhir yang divaksin dengan vaksin H5N1 mampu memproduksi antibodi spesifik terhadap AI H5N1, baik di dalam serum darah induk maupun di dalam kolostrumnya dengan konsentrasi yang cukup tinggi.

Imunoglobulin G (IgG) anti-AI H5N1 asal kolostrum sapi berpotensi untuk dikembangkan menjadi produk anti-AI H5N1 (Esfandiari *et al.* 2008). Namun demikian terdapat kendala dalam aplikasi IgG kolostrum secara oral karena antibodi sangat rentan terhadap lingkungan saluran pencernaan. Aktivitas biologis IgG akan menurun dan IgG akan rusak oleh kondisi lingkungan saluran pencernaan, terutama rendahnya pH (Esfandiari *et al.* 2014) dan enzim digesti pepsin dan tripsin (Murtini *et al.* 2014).

Teknik mikroenkapsulasi dengan bahan penyalut kitosan-alginat menggunakan modifikasi metode Yu Li *et al.* (2007) dapat digunakan untuk melindungi IgG kolostrum agar tidak mengalami kerusakan oleh pengaruh lingkungan saluran pencernaan. Menurut Yu Li *et al.* (2007), imunoglobulin dapat dimikroenkapsulasi menggunakan kombinasi alginat-kitosan tanpa menurunkan aktivitas biologisnya. Penyalut alginat dan kitosan dipilih karena dapat mengurangi porositas dan meningkatkan kestabilan kapsul.

Pemberian pakan berprotein maupun pemberian IgG dapat meningkatkan kadar total protein dalam darah. Protein yang telah tercerna dalam saluran pencernaan selanjutnya akan dibawa oleh darah sehingga kadar total protein dapat diukur. Pengukuran total protein serum sebagai salah satu parameter biokimia klinis dalam dunia kedokteran hewan penting dilakukan untuk membantu diagnosis dan pengobatan suatu penyakit (Nozad *et al.*, 2012). Total protein serum yang terdiri dari albumin

dan globulin dapat memberikan informasi mengenai status gizi, kondisi fisik, dan gangguan kesehatan (Adeyemi *et al.*, 2015). Peningkatan maupun penurunan konsentrasi total protein dapat dianggap sebagai suatu abnormalitas.

Hingga saat ini belum banyak penelitian yang melaporkan tentang dinamika total protein serum pada tikus yang diberikan mikrokapsul IgG anti-H5N1. Sehingga diharapkan dengan pemberian mikrokapsul IgG anti-H5N1 dapat memberikan informasi terkait status konsentrasi total protein dalam serum darah tikus.

METODE PENELITIAN

Persiapan Suspensi IgG dan Mikrokapsul

Suspensi IgG diperoleh dari pemurnian kolostrum sapi hiperimun. Sebelum digunakan, kolostrum terlebih dahulu melalui proses *defatting* dan dekaseinasi. Kandungan lemak dalam kolostrum dipisahkan melalui proses *defatting*. Sampel kolostrum disentrifus dengan kecepatan 8.000 x g selama 30 menit pada suhu 4°C. Supernatan hasil *deffating* diambil dan dipisahkan. Dekaseinasi dilakukan untuk menghilangkan kasein di dalam kolostrum, dengan menambahkan 1 mol/L HCl pada pH 4,2 suhu 30°C. Sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 x g pada suhu 4°C selama 15 menit. Dilakukan pemisahan terhadap supernatan (*whey*). Kolostrum hasil *defatting* dan dekaseinasi selanjutnya dimurnikan dengan metode pengendapan ammonium sulfat. Presipitat hasil pengendapan kemudian dilakukan dialisis untuk mendapatkan IgG murni dalam bentuk suspensi IgG. Suspensi IgG yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji HI terhadap AI H5N1.

Pembuatan mikrokapsul yang mengandung IgG anti-AI H5N1 dilakukan menggunakan metode Yu Li *et al.* (2007) yang telah dimodifikasi. Pembuatan mikrokapsul dilakukan dengan mencampurkan kolostrum hasil dialisis (suspensi IgG anti-AI H5N1) dengan larutan alginat kemudian dihomogenkan. Larutan CaCl₂ dan kitosan disiapkan pada pH tertentu dan dihomogenkan. Campuran larutan alginat dengan suspensi IgG anti-AI dengan perbandingan 30:70 kemudian diekstruksi ke dalam wadah berisi larutan CaCl₂ dan kitosan sehingga diperoleh mikrokapsul.

Hewan Coba

Sebanyak 108 ekor tikus jantan dewasa dengan bobot badan sekitar 250 g galur Wistar (PT. Bio Farma, Bandung, Indonesia) digunakan pada penelitian ini. Hewan coba dibagi ke dalam tiga kelompok perlakuan, yaitu kontrol (K), suspensi IgG anti-H5N1 (S) sebagai kontrol positif, dan mikrokapsul IgG H5N1 (M). masing-masing kelompok perlakuan (sebanyak 36 ekor tikus) dikelompokkan lagi berdasarkan titik waktu pengamatan yaitu pada 2, 4, 6, dan 8 jam setelah pemberian perlakuan. Pada setiap titik waktu pengamatan terdapat sembilan ekor tikus.

Aklimatisasi hewan coba berlangsung selama dua minggu. Siklus pertukaran gelap dan terang dilakukan setiap 12 jam. Tikus ditempatkan dalam kandang plastik yang dilengkapi alas kandang/*bedding* dan ditutup dengan kawat ayam. Masing-masing kelompok tikus diletakkan dalam kandang berdasarkan perlakuan. Pakan (berupa pelet) dan air minum diberikan secara *ad libitum*. Kesehatan tikus dipantau setiap hari.

Perlakuan Hewan Coba

Hewan pada masing-masing kelompok perlakuan dibagi menurut waktu pengamatan. Jumlah tikus pada tiap waktu pengamatan dari tiap kelompok yaitu sembilan ekor. Kelompok kontrol (K) diberikan perlakuan berupa akuades sebanyak 1 mL, pemberian suspensi IgG anti-H5N1 dengan titer 2⁵ dan dosis 1 mL per ekor untuk kelompok suspensi (S), dan pemberian mikrokapsul sebanyak 160 butir setara 1 mL suspensi dengan titer 2⁵ untuk kelompok perlakuan mikrokapsul (M). Tikus yang telah diberi perlakuan dikembalikan ke kandang masing-masing dan selanjutnya nyawa tikus perobaan tersebut dikorbankan nyawanya (*sacrificed*) untuk selanjutnya dilakukan nekropsi berdasarkan titik waktu pengamatan (2, 4, 6, dan 8 jam setelah perlakuan).

Nekropsi, Pengambilan dan Analisis Sampel Darah

Prosedur nekropsi dimulai dengan pemberian anestesi ketamine 10% dan xilazine 2% dengan dosis sesuai Plumb (2013). Selanjutnya dilakukan pembukaan rongga dada untuk pengambilan darah melalui jantung menggunakan *syringe* 3 mL. Sampel darah dikoleksi dari bagian ventrikel kanan sebanyak ±3 mL menggunakan *vacutainer* tanpa

antikoagulan untuk mendapatkan serum. Serum yang diperoleh kemudian dianalisis terhadap kadar total protein dan globulin. Rasio albumin terhadap globulin (rasio A/G) diperoleh dari pembagian antara konsentrasi albumin dengan globulin.

Analisis Data

Hasil analisis konsentrasi total protein, globulin, dan rasio A/G yang diperoleh dibuat rataannya kemudian dilakukan uji statistika menggunakan sidik ragam dan data yang berbeda antar perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji Duncan's *Multiple Range Test*/DMRT.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Protein

Total protein serum merupakan sekumpulan unsur kimia darah yang memberikan informasi mengenai status kesehatan dan nutrisi hewan (Adeyemi *et al.*, 2015). Kadar total protein serum pada semua kelompok perlakuan diperlihatkan pada Tabel 1.

Kadar total protein kelompok M tidak menunjukkan perbedaan yang nyata dari titik waktu 0 sampai 6 jam setelah pemberian perlakuan ($P>0,05$), namun pada titik akhir pengamatan 8 jam menunjukkan peningkatan nyata ($P<0,05$). Kadar total protein kelompok K tidak mengalami perbedaan nyata dari titik waktu 0 sampai 6 jam ($P>0,05$), namun mengalami penurunan nyata pada titik waktu 8 jam ($P<0,05$), sedangkan, kadar total protein kelompok S tidak mengalami perbedaan nyata dari titik waktu 0 sampai 8 jam ($P>0,05$).

Kadar total protein kelompok M pada titik waktu pengamatan 2 dan 4 jam tidak berbeda nyata dibandingkan dengan kelompok K meskipun terlihat terjadi peningkatan. Perbedaan nyata kadar total protein kelompok M terhadap kelompok K baru dimulai pada titik waktu 6 jam ($P<0,05$), dengan kadar total protein yang lebih tinggi namun tidak berbeda nyata dibandingkan dengan kelompok S ($P>0,05$) pada periode waktu yang sama. Peningkatan kadar total protein kelompok M terus berlanjut hingga titik waktu 8 jam, dan menunjukkan perbedaan yang nyata dibandingkan dengan kelompok K dan S ($P<0,05$). Kadar protein pada kelompok K paling rendah dan berbeda nyata dibandingkan dengan dua kelompok perlakuan lainnya pada titik waktu 8 jam ($P<0,05$). Menurut Adeyemi *et al.* (2015), kadar normal total serum protein pada tikus yaitu 6,0-8,2 g/dL. Dalam penelitian ini, peningkatan kadar total protein pada semua kelompok masih berada dalam kisaran normal.

Kadar total protein pada kelompok M meningkat pada titik waktu pengamatan 6 jam. Hal ini diduga karena mikrokapsul sedikit demi sedikit mulai melepaskan zat aktif (IgG anti-H5N1) yang terkandung di dalamnya. Teknik mikroenkapsulasi dengan bahan penyalut kitosan-alginat dengan modifikasi metode Li *et al.* (2007) pada penelitian ini, dapat digunakan untuk melindungi IgG kolostrum sehingga tidak mengalami kerusakan oleh pengaruh lingkungan saluran pencernaan, dan tetap aman hingga selang waktu 8 jam. Diduga mikrokapsul terus melepaskan IgG, dan dapat diamati melalui peningkatan kadar total protein dalam serum.

Globulin merupakan salah satu fraksi protein dalam darah. Globulin dibagi menjadi

Tabel 1. Total serum protein darah tikus pada kelompok kontrol (K), kelompok yang diberi suspensi IgG anti-H5N1 (S), dan kelompok yang diberi mikrokapsul IgG anti-H5N1 (M)

Perlakuan	Rataan total serum protein (g/dL)				
	Waktu pengamatan (jam)				
	0	2	4	6	8
K		6,88±0,18 ^{bA}	6,92±0,11 ^{bA}	6,88±0,23 ^{bA}	6,48±0,36 ^{aA}
S	6,91±0,02 ^b	7,08±0,41 ^{bA}	7,20±0,20 ^{bB}	7,24±0,17 ^{bB}	7,20±0,14 ^{bB}
M		6,96±0,38 ^{bA}	7,08±0,11 ^{aAB}	7,28±0,23 ^{bcB}	7,54±0,17 ^{cC}

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama adalah tidak berbeda nyata pada Uji DMRT (0.05). Huruf kapital menyatakan perbandingan menurut kolom (antar perlakuan), huruf kecil menyatakan perbandingan menurut baris (antar waktu pengamatan).

Tabel 2. Kadar globulin dan rasio (A/G) darah tikus pada kelompok kontrol (K), kelompok yang diberi suspensi IgG anti-H5N1 (S), dan kelompok yang diberi mikrokapsul IgG anti-H5N1 (M)

Parameter	Perlakuan	Waktu pengamatan (jam)			
		2	4	6	8
Globulin (g/dL)	K	3,38±0,07 ^{ba}	3,37±0,12 ^{ba}	3,16±0,23 ^{ba}	2,72±0,27 ^{aA}
	S	3,36±0,36 ^{aA}	3,47±0,15 ^{aA}	3,48±0,25 ^{aA}	3,42±0,17 ^{aB}
	M	3,20±0,38 ^{aA}	3,31±0,14 ^{aA}	3,48±0,17 ^{abA}	3,73±0,13 ^{bc}
Rasio A/G	K	1,04±0,03 ^{aA}	1,06±0,07 ^{abA}	1,18±0,12 ^{ba}	1,39±0,17 ^{cB}
	S	1,12±0,12 ^{aAB}	1,07±0,04 ^{aA}	1,09±0,12 ^{aA}	1,11±0,07 ^{aA}
	M	1,19±0,14 ^{bb}	1,14±0,09 ^{abA}	1,09±0,05 ^{abA}	1,02±0,05 ^{aA}

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama adalah tidak berbeda nyata pada Uji DMRT (0,05). Huruf kapital menyatakan perbandingan menurut kolom (antar perlakuan), huruf kecil menyatakan perbandingan menurut baris (antar waktu pengamatan)

empat kelompok secara elektroforesis, yaitu fraksi α_1 , α_2 , β , γ (Busher 1990). Globulin berperan dalam sirkulasi ion, hormon, dan asam lemak. Beberapa jenis globulin berperan dalam melawan infeksi serta berperan sebagai faktor koagulasi. Immunoglobulin (antibodi) bermigrasi terutama dalam wilayah α , sebagian di wilayah β dan γ . Jenis-jenis immunoglobulin diberikan nama sesuai dengan jenis rantai berat yaitu IgG, IgA, IgM, IgE dan IgD. Sebanyak 75% dari immunoglobulin dalam serum normal adalah IgG. Kisaran normal globulin berada pada 2,4-3,9 g/dL (Giknis dan Clifford, 2008).

Kadar globulin kelompok M mengalami peningkatan, sementara kelompok K terlihat menurun dari awal hingga akhir pengamatan. Analisis statistika menunjukkan kadar globulin kelompok K dari titik waktu 2 sampai 6 jam tidak mengalami perubahan yang nyata ($P>0,05$) namun menurun secara nyata pada titik waktu 8 jam ($P<0,05$). Pada kelompok S, terlihat terjadi perubahan kadar globulin namun tidak menunjukkan perbedaan yang nyata pada semua titik waktu pengamatan ($P>0,05$). Kadar globulin kelompok M mengalami peningkatan dari awal hingga titik waktu 8 jam. Analisis statistika menunjukkan, kadar globulin kelompok M pada titik waktu 2 sampai 6 jam belum mengalami peningkatan yang nyata ($P>0,05$). Peningkatan kadar globulin nyata terjadi pada titik waktu 8 jam ($P<0,05$). Pada titik waktu 8 jam juga terlihat perbedaan kadar globulin yang nyata antar kelompok perlakuan ($P<0,05$), dan kelompok M memiliki kadar globulin paling tinggi sedangkan kelompok K

memiliki kadar globulin paling rendah. Hasil ini membuktikan adanya perbedaan kadar globulin yang nyata antar kelompok perlakuan. Hal tersebut menunjukkan bahwa peningkatan yang terjadi pada kadar total protein dalam darah tikus disebabkan akibat adanya peningkatan pada kadar fraksi globulin. Peningkatan fraksi globulin pada penelitian ini diduga karena pelepasan IgG dari mikrokapsul.

Kompleks *kitosan-alginat* merupakan kompleks penting yang umum digunakan dalam dunia farmasi. Interaksi elektrostatis yang kuat dari grup amina pada kitosan dengan grup karboksil alginat membuat formasi kitosan-alginat yang kompleks. Stabilitas kompleks *kitosan-alginat* dipengaruhi oleh beberapa parameter lingkungan seperti pH dan kekuatan ionik. Adanya campuran CaCl_2 meningkatkan stabilitas dan juga adanya ion kalsium memberikan efek pada campuran *kolostrum-alginat* untuk mengikat kitosan (Mi *et al.*, 2002).

Mekanisme pelepasan zat aktif yang dilapisi kitosan ada tiga cara, yaitu yang pertama adalah melepas zat aktif melalui permukaan partikel, yang kedua dengan cara difusi melalui matriks yang sudah mengembang, dan yang ketiga terjadi dengan melepaskan zat aktif karena erosi polimer (Agnihotri *et al.*, 2004). Kompleks kitosan-alginat mikrokapsul IgG menggunakan cara difusi matriks. Pengeluaran zat aktif dengan cara difusi berlangsung lambat dan akan semakin cepat. Hal ini terlihat pada kadar total protein perlakuan M yang mulai meningkat pada waktu pengamatan 6 dan 8 jam.

Polk (1994) menyatakan bahwa, kondisi pH lingkungan mikrokapsul yang rendah dapat menghambat pelepasan zat aktif dari mikrokapsul. Kondisi pH rendah memperkuat membran mikrokapsul dengan meningkatkan interaksi alginat dan kitosan, sehingga muatan positif dari luar mikrokapsul akan masuk ke dalam matriks gel dan akan memengaruhi pelepasan IgG di dalam mikrokapsul.

Rasio albumin/globulin (A/G) merupakan gambaran perubahan fraksi protein dalam darah. Rasio normal A/G pada tikus normal yaitu lebih besar dari 1.00 (Adeyemi *et al.*, 2015). Rasio A/G kelompok M mengalami penurunan sepanjang titik waktu pengamatan, dan berbeda secara nyata pada titik waktu 8 jam dibandingkan titik waktu 2 jam ($P < 0,05$). Rasio A/G pada kelompok S cenderung konstan dan tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antar titik waktu pengamatan ($P > 0,05$). Rasio A/G kelompok K mengalami peningkatan sepanjang titik waktu pengamatan. Pada titik waktu 6 jam, rasio A/G kelompok K menunjukkan perbedaan nyata terhadap titik waktu 2 jam ($P < 0,05$). Selanjutnya pada titik waktu 8 jam menunjukkan perbedaan nyata terhadap semua titik waktu sebelumnya (2 sampai 6 jam), dan terhadap kelompok perlakuan S dan M ($P < 0,05$)

Menurut Kaneko *et al.* (2008), peningkatan rasio A/G diduga disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu meningkatnya kadar albumin disertai kadar globulin yang tetap dalam darah, kadar albumin yang tetap disertai menurunnya kadar globulin dalam darah, dan meningkatnya kadar albumin disertai penurunan kadar globulin dalam darah. Penurunan rasio A/G dapat terjadi jika kadar globulin meningkat disertai penurunan atau tetapnya kadar albumin dalam darah.

SIMPULAN

Pemberian mikrokapsul IgG anti-H5N1 pada tikus putih (*R. norvegicus*) mampu meningkatkan kadar total protein dan globulin. Pelepasan IgG dari mikrokapsul menyebabkan peningkatan kadar total protein dan globulin darah serta menurunkan rasio A/G, delapan jam setelah pemberian perlakuan.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai mekanisme pelepasan mikrokapsul IgG anti-H5N1 dengan rentang waktu pengamatan yang lebih panjang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi yang telah mendukung jalannya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adeyemi OT, Osilesi O, Adebawo O, Onajobi F, Oyedemi S. 2015. Variations in the levels of total protein, urea and ureate in weaned male albino rats fed on processed atlantic horse mackerel. *J Nat Sci Res* 5(6):29-39.
- Agnihotri SA, Mallikarjuna NN, Aminabhavi TM. 2004. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery. *Journal of Controlled Release* 100: 5-28.
- Busher JT. 1990. Serum albumin and globulin. Di Dalam: Walker HK, Hall WD, Hurst JW, editor. *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations* 3rd Edition. Boston: Butterworths. Hlm. 497-499.
- Curtis KJ, Kim YS, Perdomo JM, Silk DBA, Whitehead JS. 1978. Protein digestion and absorption in the rat. *J Physiol* 274: 409-419.
- Esfandiari A, Wibawan I, Murtini S, Widhyari SD. 2008. Produksi kolostrum anti virus avian influenza dalam rangka pengendalian infeksi virus flu burung. *JUPI* 13(2): 69-79.
- Esfandiari A, Kawitan F, Murtini S, Widhyari SD. 2014. Effect of pH on the stability of IgG anti H5N1 from colostrum of cows vaccinated by H5N1. Dalam: Sripta B *et al.* editor. *Proceeding of South East Asia Veterinary School Association. The 3 Joint' International Meetings; 2014 Okt 13-15; Bogor, Indonesia. Bogor (ID): FKH IPB.*

- Giknis MLA, Clifford CB. 2008. *Clinical laboratory parameters for Crl:WI (Han)*. Wilmington. Charles River Laboratories.
- Hussain M, Galvin HD, Haw TY, Nutsford AN, Hussain M. 2017. Drug resistance in influenza A virus: the epidemiology and management. *Infection and Drug Resistance* 10: 121-134
- Jackson ML. 2007. *Veterinary Clinical Pathology: An Introduction*. Iowa. Blackwell Publishing. Hlm. 25.
- Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. 2008. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 6th Ed. San Diego. Academic Press. Hlm. 845
- Khasanah Y, Ratnayani, Ariani D, Angwar M, Nuraeni T. 2015. In Vivo Study on Albumin and Total Protein in White Rat (*Rattus norvegicus*) after Feeding of Enteral Formula from Tempe and Local Food. *Procedia Food Science* 3: 274-279.
- Mi Fwu-Long, Sung Hsing-Wen, Shyu Shin-Shing. 2002. Drug release from chitosan-alginate complex beads reinforced by a naturally occurring cross-linking agent. *Carbohydrate Polymers* 48: 61-72.
- Murtini S, Amalia F, Esfandiari A, Widhyari SD. 2014. Pengaruh Enzim Pepsin dan Tripsin Terhadap Titer IgG Anti H5N1 dari Kolostrum Sapi yang Divaksin H5N1. Di dalam: Sripta B *et al.* editor. *The 3 Joint International Meetings*. 2014 October 13-15 Bogor Indonesia. Bogor (ID): Fakultas Kedokteran Hewan, IPB.
- Nozad S, Ramin AG, Moghadam G, Asri-Rezaei S, Babapour A, Ramin S. 2012. Relationship between blood urea, protein, creatinine, triglycerides and macro-mineral concentrations with the quality and quantity of milk in dairy holstein cows. *Vet Res* 3: 55-59.
- Plumb D. 2013. *Veterinary Drug Handbook*. 8th ed. Iowa (US). Blackwell Publishing.
- Polk A, Amsden B, De Yao K, Peng T, Goosen MFA. 1994. Contolled release of albumin from chitosan-alginate microcapsules. *Journal of Pharmaceutical Science* 83: 178-185.
- [WHO] World Health Organization. 2017. Cumulative number of confirmed human cases for avian influenza A (H5N1) reported to WHO. Hlm. 2003-2017.
- Wong SSY, Yuen KY. 2006. Avian influenza virus infections in humans. *Chest* 129: 156-168.
- Yu Li X, Ji Jin L, McAllister TA, Stanford K, Yi Xu J, Nan Lu Y, Hong Zhen Y, Xin Sun Y, Ping Xu Y. 2007. Chitosan-alginate microcapsules for oral delivery of egg yolk immunoglobulin (IgY). *J Agric Food Chem* 55: 2911-2917.
- Zaias J, Mineau M, Cray C, Yoon D, Altman NH. 2009. Reference Values for Serum Proteins of Common Laboratory Rodent Strains. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 48: 387-390.