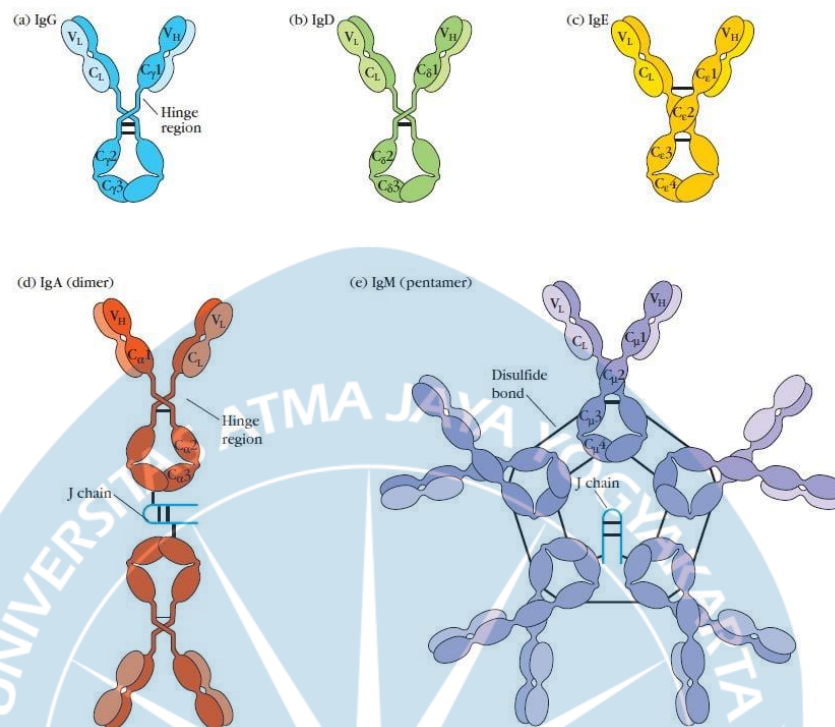


II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Antibodi

Antibodi adalah molekul imunoglobulin (Ig), yakni jenis protein yang dihasilkan oleh sel Limfosit B akibat adanya rangsangan berupa antigen asing yang masuk ke dalam tubuh. Antibodi bersifat spesifik yakni, hanya dapat berinteraksi dengan antigen tertentu atau bereaksi silang dengan antigen lainnya yang “*antigenic determinant*” atau epitopnya serupa. Sifat spesifik dari antibodi disebabkan bagian khusus pada antibodi yang disebut dengan “*antigen-binding fragment*” atau Fab (Haryana dan Tjokronegoro, 1981). Keseluruhan molekul antibodi terdiri atas dua untaian peptida pendek serupa yang dikenal dengan *light chain* (*kappa* dan *lambda*) yang terdiri atas dari 230 asam amino sedangkan antibodi yang tersusun atas untaian peptida panjang disebut dengan *heavy chain* (imunoglobulin) yang terdiri atas 5 jenis yakni IgG, IgA, IgM, IgD dan IgE (Effendi dan Widiastuti, 2014). Lima jenis antibodi kelas utama dapat dilihat pada Gambar 1.

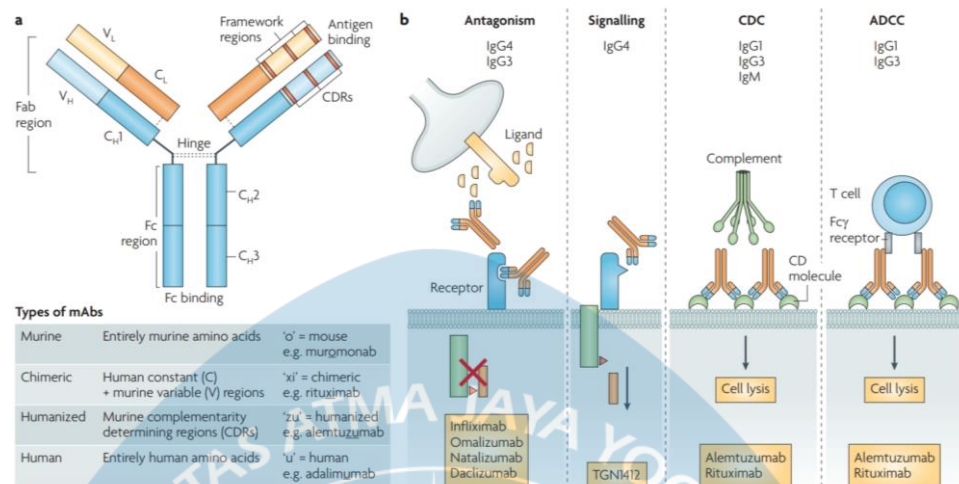


Gambar 1. Struktur Lima Kelas Utama Antibodi (Punt dkk., 2018)

Imunoglobulin G atau IgG adalah jenis antibodi yang paling banyak ditemukan di dalam serum manusia (sekitar 75%) dan jenis antibodi ini berperan dalam proses fagositosis (melapisi patogen), netralisir toksin dan virus hingga mampu menembus plasenta (melindungi janin dari infeksi) dengan *half-life* selama 23 hari di dalam darah. Imunoglobulin M atau IgM adalah jenis antibodi berukuran paling besar, banyak ditemukan di dalam intravaskular (10% dari serum manusia), terbentuk pertama kali ketika antigen masuk ke dalam tubuh dan mampu menyebabkan aglutinasi pada berbagai partikel hingga proses fiksasi komplemen dengan efisiensi yang sangat tinggi. Imunoglobulin A atau IgA adalah jenis antibodi terbanyak kedua (15% dari serum manusia), banyak ditemukan di dalam saliva, air mata, kolostrum, serta sekret bronkus, vagina, dan

prostat, mampu mengikat mikroorganisme sehingga tidak melekat pada permukaan mukosa, membatasi absorpsi antigen yang berasal dari makanan hingga mampu membantu sistem imun bayi yang baru lahir dengan *half-life* selama 5-6 hari di dalam darah. Imunoglobulin D atau IgD adalah jenis antibodi yang ditemukan sedikit di dalam serum namun banyak ditemukan di dalam tali pusat, bersama dengan IgM mampu mengendalikan aktivasi dan penekanan limfosit hingga berperan sebagai reseptor antigen dengan *half-life* selama 2-3 hari di dalam darah. Imunoglobulin E atau IgE adalah jenis antibodi dengan konsentrasi paling kecil di dalam serum (0,0004%), dapat ditemukan di dalam cairan sekresi, mampu melekat pada permukaan mastosit atau basofil melalui reseptor FC, berperan dalam reaksi sensitifitas segera (*immediate*), banyak ditemukan pada penderita infeksi cacing dan IgE mampu meningkatkan aktivitas kerja dari eosinofil (IgE akan melapisi patogen) (Aliviameita dan Puspitasari, 2020).

Tidak hanya 5 jenis antibodi yang memainkan peranan penting di dalam tubuh, terdapat juga antibodi penetral atau Nabs. Antibodi penetral merupakan penanda kekebalan tubuh bahwa terdapat infeksi berulang dari virus yang sama. Durasi kekebalan yang terbentuk juga bersifat seumur hidup (Helmi dan Lestari, 2022). Beberapa jenis antibodi di atas adalah antibodi alami yang disekresikan oleh tubuh. Terdapat antibodi buatan yang disebut dengan antibodi monoklonal (Maliangkay dkk., 2021). Jenis antibodi monoklonal dan mekanisme kerjanya dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Jenis Antibodi monoklonal dan Mekanisme Kerja (Hansel dkk., 2010)

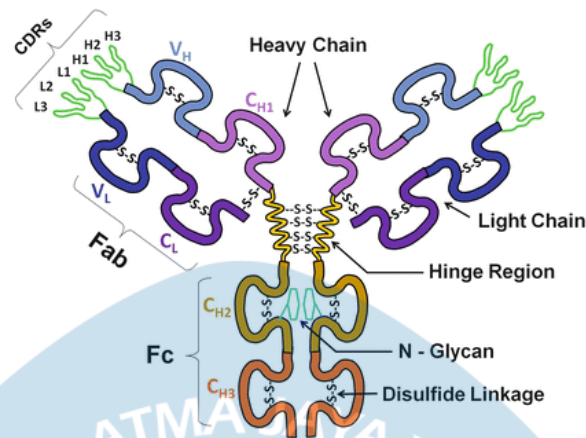
Antibodi akan mengikat dan juga menonaktifkan zat asing, mencegah terjadinya replikasi bakteri dan juga menghancurkan zat asing patogen (Yustitie, 2021). Lebih spesifiknya, antibodi akan mengikat epitop atau bagian yang dimiliki oleh antigen (Uthia dkk., 2019). Antibodi sendiri adalah bentuk dari sistem imun spesifik yakni, sistem imun yang bekerja ketika suatu virus atau bakteri (patogen) sudah dikenali sebelumnya karena adanya memori atau daya ingat mengenai suatu bibit penyakit sebelumnya (Hidayat dan Syahputa, 2020).

B. Antibodi monoklonal

Antibodi monoklonal (mAb atau moAb) adalah antibodi yang bersifat sangat spesifik (monospesifik) yang punya kemampuan untuk berikatan dengan epitop yang sama dan tunggal karena mempunyai paratop yang sesuai. Antibodi jenis ini dibentuk oleh sel hibrida homogen (sel B) yang masing-masing merupakan klon dari sel induk yang sama (Tabll dkk., 2015). Antibodi

monoklonal akan melekat pada protein spesifik dari patogen atau suatu sel abnormal kemudian akan menonaktifkan kemampuan dari patogen atau sel abnormal untuk mengikat atau menyerang sel baru lainnya. Antibodi monoklonal banyak digunakan untuk mengobati kanker hingga mengatasi penyakit menular yang diakibatkan oleh virus dan bakteri. Pengobatan menggunakan antibodi monoklonal yang ditargetkan mampu memberikan efek samping yang lebih minor dengan spesifitas lebih tinggi dibandingkan terapi atau pengobatan konvensional lainnya. Antibodi monoklonal diketahui juga mampu membantu mendekatkan sel T dengan sel kanker atau membantu sel imun membunuh sel kanker (Wexler, 2023).

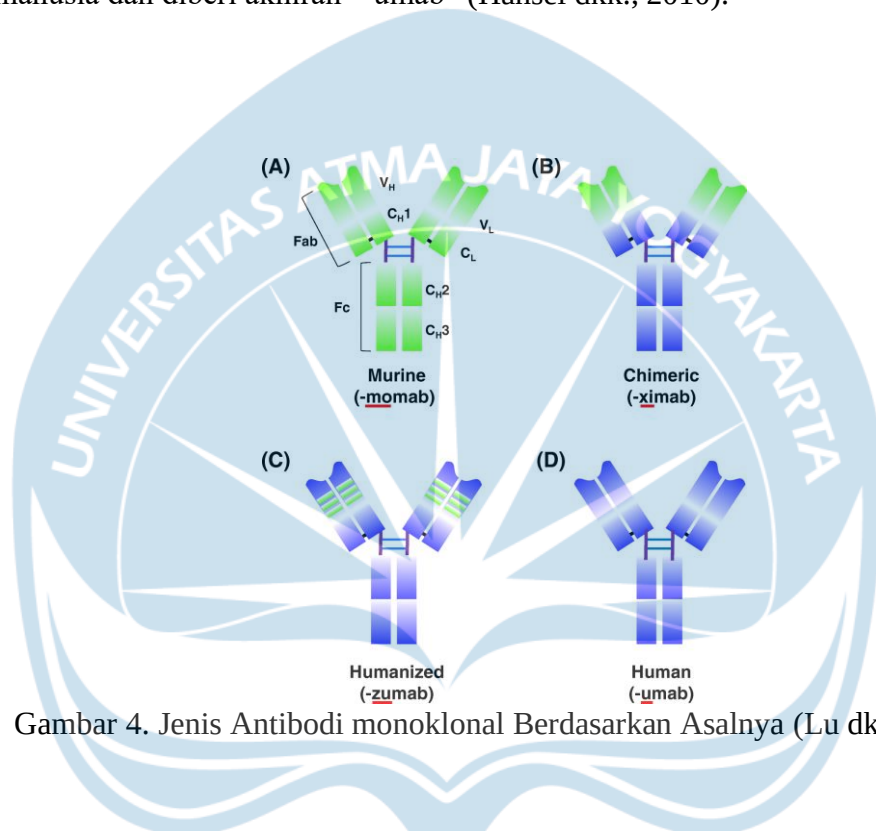
Antibodi monoklonal terdiri dari empat rantai polipeptida yang terdiri atas 2 rantai berat dan 2 rantai ringan yang identik. Total berat molekul dari antibodi monoklonal adalah kurang lebih 150 kD. Rantai pada antibodi monoklonal disatukan dengan ikatan disulfida dan terlipat membentuk tetramer berbentuk Y (Rosenberg dan Demeule, 2015). Struktur antibodi monoklonal dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur Antibodi monoklonal (Rosenberg dan Demeule, 2015)

Berdasarkan bahan baku pembuatan atau asalnya, antibodi monoklonal dapat dibagi menjadi 4 jenis yaitu *murine*, *chimeric*, *humanized* dan *human* yang dapat dilihat pada Gambar 4. *Murine* adalah jenis antibodi monoklonal yang sepenuhnya dibuat dari protein tikus, baik daerah *constant* maupun *variable* dan jenis antibodi monoklonal ini diberi akhiran “-o” atau “-omab” pada akhir nama generik. *Chimeric* adalah jenis antibodi monoklonal yang dibuat dari kombinasi sebagian protein manusia (daerah *constant*) dan sebagian protein tikus (daerah *variable*) dan diberi akhiran “-ximab”. Daerah *constant* dari antibodi monoklonal *chimeric* akan menentukan fungsi dari efektor antibodi sedangkan daerah *variable* dari antibodi ini akan memberikan spesifisitas antigen. *Humanized* adalah jenis antibodi monoklonal yang mayoritas tersusun atas sekuen manusia dan hanya sedikit sekuen (protein) khususnya *complementarity-determining regions* (CDRs) yang hanya tersusun oleh sekuen (protein) tikus, mampu mengurangi imunogenisitas jika dibandingkan dengan antibodi monoklonal *murine* dan diberi akhiran “-

zumab” sedangkan antibodi monoklonal *fully human* adalah antibodi monoklonal yang berasal dari sekuen manusia, mampu meminimalisir imunogenisitas, mampu maksimalkan kompatibilitas dengan sistem imun manusia dan diberi akhiran “-umab” (Hansel dkk., 2010).



Gambar 4. Jenis Antibodi monoklonal Berdasarkan Asalnya (Lu dkk., 2020)

Berdasarkan bentuknya, antibodi monoklonal terbagi menjadi 3 jenis yakni *naked antibodies*, *conjugated antibodies* dan *bispecific antibodies*. *Naked antibodies* adalah jenis antibodi monoklonal yang langsung digunakan untuk pengobatan tanpa berikatan dengan senyawa lain atau berikatan dengan zat tambahan lainnya sehingga *naked antibodies* akan bekerja sendiri. *Naked antibodies* akan langsung mengenali dan juga berikatan dengan antigen target (Lu dkk., 2020). Beberapa contoh dari *naked antibodies* adalah Alemtuzumab

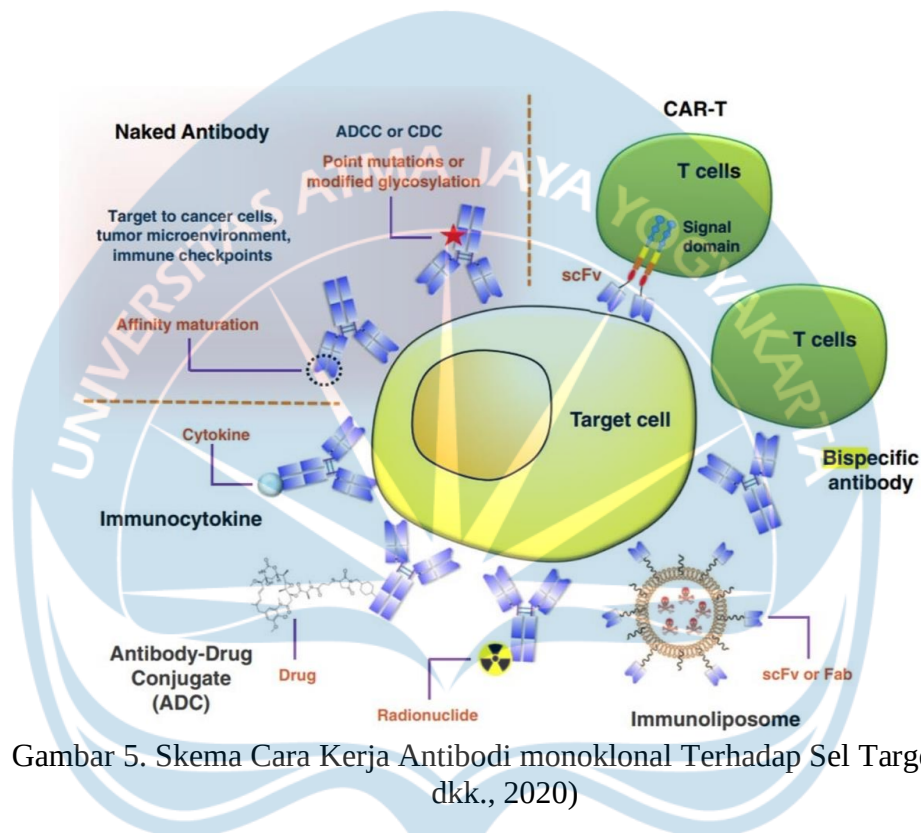
dan Trastuzumab yang digunakan untuk mengatasi leukemia limfositik kronis dan kanker payudara positif HER2 (Noh dan Rahman, 2017).

Conjugated antibodies adalah jenis antibodi monoklonal yang berikatan atau membawa senyawa atau zat yang mampu meningkatkan efikasi atau efek terapeutik dari antibodi monoklonal seperti radionuklida atau senyawa kimia tertentu (Lu dkk., 2020). Beberapa *conjugated antibodies* yang sudah digunakan secara umum adalah Brentuximab dan Ado-Trastuzumab yang digunakan untuk mengobati kanker limfoma Hodgkin dan kanker payudara metastatik HER2-positif (Thomas dkk., 2016).

Bispecific antibodies adalah jenis antibodi monoklonal yang mampu mentargetkan atau mengikat 2 antigen secara sekaligus sehingga mampu meningkatkan efek terapeutik (Lu dkk., 2020). Beberapa contoh dari jenis antibodi monoklonal ini dan telah dikomersialkan adalah Catumaxomab, Blinatumomab dan Emicizumab. Catumaxomab digunakan untuk mengobati *malignant ascites* sedangkan Blinatumomab digunakan untuk mengobati leukemia yang dimediasi oleh sel T. Emicizumab sendiri digunakan untuk mengobati hemofilia A atau pasien yang mengalami defisiensi faktor VIII kongenital (Ma dkk., 2021).

Baik *conjugated antibodies* maupun *bispecific antibodies*, jenis antibodi monoklonal ini lebih baik dalam mengenali antigen. Tidak hanya itu, *conjugated antibodies* maupun *bispecific antibodies* mampu mengenali sel kanker lebih baik, lebih minim efek samping, meningkatkan spesifisitas pengiriman ke lokasi kanker hingga minim toksisitas non-spesifik pada jaringan non target

dibandingkan dengan *naked antibodies* (Lu dkk., 2020). Cara kerja dari *naked antibodies*, *conjugated antibodies* maupun *bispecific antibodies* dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Skema Cara Kerja Antibodi monoklonal Terhadap Sel Target (Lu dkk., 2020)

Antibodi monoklonal menunjukkan hasil yang positif dalam pengobatan berbagai macam penyakit seperti autoimun, kanker, penyakit menular, gangguan neurologis, alergi, penyakit mata, penolakan tubuh akibat transplantasi hingga badai sitokin (Hansel dkk., 2010). Antibodi monoklonal mampu berikatan secara langsung dengan antigen karena relevansi reseptor dan akan langsung menghancurkan antigen tersebut ketika berhasil menempel. Antibodi monoklonal akan berikatan dengan ligan, antigen atau reseptor yang diekspresikan oleh sel B dan mengganggu jalur sinyal yang berhubungan dengan

pertumbuhan seluler, proliferasi dan mekanisme apoptosis. Beberapa target spesifik yang menjadi sasaran antibodi monoklonal ketika mengobati penyakit autoimun adalah CD20, CD19, CD22, CD38 dan *B-cell activating factor* (BAFF) (Zhang dkk., 2023).

C. *Chinese Hamster Ovary* (CHO) Cell

Chinese Hamster Ovary (CHO) adalah sebuah *cell line* yang diperoleh dari kultur primer ovarium *Cricetulus griseus* (hamster Tiongkok) pada tahun 1957. CHO memiliki beberapa derivat *cell line* lainnya seperti CHO-K1 (*cell line* CHO yang bergantung pada glisin) dan CHO-pro3- (*cell line* CHO yang bergantung pada prolin). Mutagenesis pada dua *cell line* ini menghasilkan derivat *cell line* baru yakni CHO-DUKX atau CHO-DUK-XB11 dan CHO-DG44, dua derivat *cell line* CHO yang kekurangan *dihydrofolate reduktase* (DHFR) (Hacker dan Wurm, 2017).

Penggunaan sel mamalia seperti CHO dilakukan karena jenis sel ini mampu melakukan modifikasi pasca-translasi (PTM) seperti pelipatan protein yang tepat dan glikosilasi protein rekombinan. Sel CHO adalah jenis sel mamalia yang paling banyak digunakan untuk memproduksi antibodi monoklonal dan hampir 84% antibodi monoklonal yang telah disetujui dalam rentang tahun 2015-2018 diproduksi menggunakan sel CHO. Sel (CHO)—digunakan karena kemampuan sel ini untuk melakukan pertumbuhan suspensi dengan kepadatan tinggi, modifikasi pasca-translasi yang serupa dengan sel manusia, ekspresi gen yang mudah dimodifikasi dan mudah untuk dilakukan *scale-up*. Sel (CHO) yang

telah dikembangkan dan dioptimasi mampu memproduksi antibodi monoklonal dengan rendemen sebesar 5 g/L atau 10 g/L (Li dkk., 2022). *Cell line* CHO-K1 yang ditumbuhkan pada medium CD (*chemically defined*) CHO secara *fed-batch* dapat memproduksi antibodi monoklonal spesifik sebesar $13,8 \pm 0,5$ pg/sel/hari (Reinhart dkk., 2019). Puncak pertumbuhan *cell line* CHO-K1 dapat mencapai 53×10^6 sel/mL (Chitwood dkk., 2023).

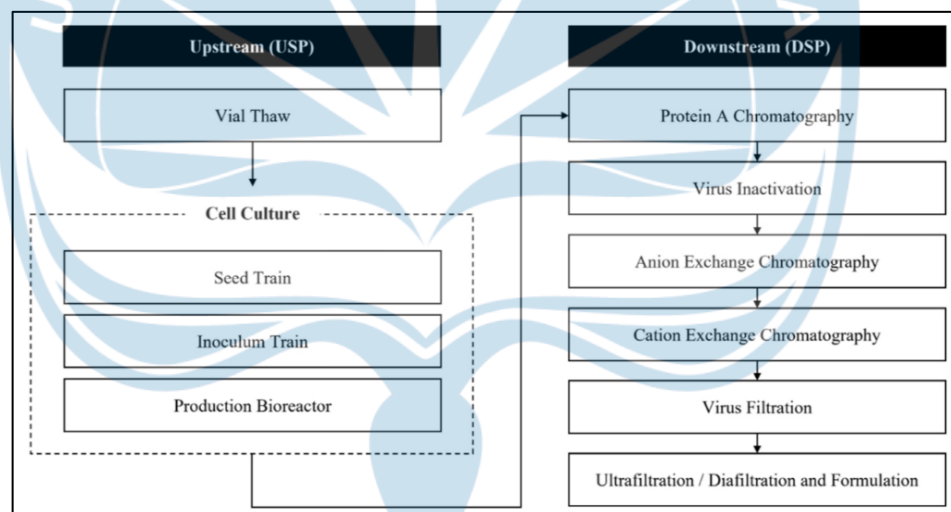
D. Drug Substance dan Drug Product

Drug substance adalah sebuah bahan obat yang memiliki aktivitas farmakologi atau efek terapeutik yang dapat digunakan untuk mendiagnosa, menyembuhkan, mitigasi, mengobati, mencegah penyakit dan mampu mempengaruhi struktur dan fungsi tubuh manusia. *Drug substance* tidak termasuk zat antara yang digunakan untuk mensintesis atau memproduksi *drug substance* tersebut. *Drug product* adalah bentuk sediaan jadi seperti tablet, kapsul atau larutan yang secara umum mengandung *drug substance*. *Drug product* bisa hanya mengandung *drug substance* atau berhubungan dengan bahan lainnya namun tidak menjadi suatu keharusan (Food and Drug Administration, 2023).

E. Desain Proses Produksi Antibodi monoklonal

Desain atau perencanaan proses produksi adalah sebuah kegiatan menentukan operasi manufaktur apa saja yang diperlukan untuk menghasilkan

suatu antibodi monoklonal dan bagaimana alurnya (Lundgren dkk., 2018). Pemodelan atau desain proses produksi umumnya dilakukan untuk membantu pemahaman dan pengendalian terhadap proses produksi yang akan dijalankan. Desain proses produksi dilakukan agar proses produksi dapat berjalan secara berkelanjutan, biaya yang lebih rendah, volume produksi yang lebih tinggi, massa produk akhir yang lebih tinggi dan konsentrasi antibodi yang tinggi (Matte, 2022). Tipikal tahapan proses produksi antibodi monoklonal dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Tipikal Tahapan Proses Produksi Antibodi monoklonal (Pham dkk., 2023)

Beberapa faktor utama yang mempengaruhi hasil produksi antibodi monoklonal adalah waktu yang diperlukan untuk mengumpulkan antibodi monoklonal dengan jumlah sesuai yang diinginkan, durasi berjalannya proses dan produktivitas spesifik dari *cell line* yang digunakan. Hasil dan kualitas

produk antibodi monoklonal juga dipengaruhi oleh beberapa faktor lain seperti *cell line* yang digunakan dan media kultur. Parameter kultivasi dan cara pengoperasian proses juga ikut andil dalam mempengaruhi hasil dan kualitas produk antibodi monoklonal (Heistingner dkk., 2021).

F. Kontrol Kualitas

Kontrol kualitas antibodi monoklonal selama proses produksi disebut dengan *in-process control* (IPC). IPC adalah bagian dari kontrol kualitas atau *quality control* (QC) yang dilakukan untuk memantau proses sintesis senyawa aktif atau *active pharmaceutical ingredients* (APIs). IPC dilakukan untuk menentukan apakah suatu proses sintesis atau produksi berjalan dengan benar dan apakah produk yang telah dibuat siap untuk masuk ke proses manufaktur selanjutnya (Ahuja dan Scypinski, 2011).

G. Neraca Massa

Neraca massa adalah alat bantu yang digunakan untuk menentukan, menghitung dan mengetahui berapa banyak jumlah bahan atau material yang masuk dan produk yang dihasilkan dalam suatu proses produksi. Neraca massa juga digunakan untuk mengkonfirmasi proses, menentukan ukuran instrumen yang akan digunakan dan berapa banyak biaya yang perlu dikeluarkan untuk suatu proses produksi (Toumi dkk., 2010.) Material yang hilang selama proses manufaktur juga dapat diketahui menggunakan neraca massa (Baertschi dkk.,

2013). Neraca massa juga membantu perhitungan apakah bioreaktor yang digunakan ekonomis, efisien, dan efektif. Perhitungan ukuran alat yang digunakan dan kesesuaian alat agar volume optimal dapat tercapai juga dapat dihitung menggunakan neraca massa (Noorlela dkk., 2023).

H. Hipotesis

1. Desain proses produksi *drug substance* dan *drug product* antibodi monoklonal terdiri atas 3 proses utama yakni proses hulu, proses hilir, dan *fill and finish* yang terbagi menjadi 20 tahapan.
2. Pemantauan kualitas produk antibodi monoklonal selama proses produksi adalah *in-process control* (IPC) atau proses kontrol selama produksi. IPC dilakukan pada tahapan penyiapan WCB, ekspansi sel, *seed training* dan produksi pada proses hulu serta pemanenan, klarifikasi, kromatografi afinitas protein A, inaktivasi virus, kromatografi penukar kation, kromatografi penukar anion, filtrasi virus dan UF/DF pada proses hilir. IPC pada proses *fill and finish* meliputi tahapan *final mixing*, filtrasi steril, pengisian aseptik, *stoppering*, *sealing*, inspeksi visual, pengemasan dan penyimpanan.
3. Neraca massa akan menentukan berapa banyak material yang digunakan, ukuran instrumen produksi yang digunakan, skala produksi yang akan dilakukan, fasilitas apa saja yang akan digunakan hingga jumlah *batch* produk yang dibuat dalam setahun.

4. Desain proses produksi *drug substance* dan *drug product* antibodi monoklonal telah memenuhi konsep kesetimbangan massa.

