

**THE ACTIVITY TEST OF IMMUNOSTIMULATORY ALOE VERA JUICE (*Aloe barbadensis* Mill.) IN *Coturnix coturnix japonica* WHICH IS INDUCED BY AVIAN INFLUENZA VACCINATED SUBTYPE H5N1 THROUGH THE MEASUREMENT OF TITER ANTIBODY IgG**

**Budi Setio<sup>1</sup>, Puguh Novi Arsito<sup>2</sup>**

**ABSTRACT**

*Avian influenza* (AI) subtype of H5N1 is a malignancy which is caused by influenza virus and it can spread within fowl to human. Nowadays, the prevention in handling AI case is giving a vaccination, however the efforts of AI vaccination towards the fowl have not enough yet. The utilization of *Immunoglobulin Gamma* (IgG) it can be used to prevent the spread of AI. The purpose of this research is to know the influence of aloe vera juice giving toward the specific antibody production (IgG anti-AI) in quail blood which is induced by AI H5N1 vaccination then to know the aloe vera juice effective dose as an alternate natural immunostimulatory.

There were 15 quail test animals (*Coturnix coturnix japonica*) which is two months with 250-350 g bw was divided into five groups: zero control, negative control and dose treatment group 1 ml; 2,5 ml and 4 ml in every 250 g bw. Vaccinated which was used is AI subtype H5N1 inactive in the form of emulsions. The vaccination giving was given in the first week, third week and sixth week, the dose was 0,5 ml/ a quail. Taking of blood sample was done in tenth week. Titer measurement IgG used hemagglutination inhibition test (*HI test*). The data which was gotten then it was analyzed statistically by using normality measurement *Shapiro-Wilk*, then *Kruskal-Wallis* measurement and *Mann-Whitney* measurement.

The result of this study showed that treatment group 1 ml/250 g bw could improve titer IgG actively toward the negative control and had the average value is 432. While between dose group treatment 1 ml; 2,5 ml and 4 ml in each 250 g bw showed that there was no significant differences ( $p > 0,05$ ) on the increasing of titer IgG. The data of this study showed that aloe vera can be potentially immunostimulatory agent in increasing the production of IgG in quail blood.

**Keywords :** *Avian influenza* (AI), *Aloe barbadensis* Mill., *Coturnix coturnix japonica*, IgG.

**UJI AKTIVITAS IMUNOSTIMULATOR JUS LIDAH BUAYA (*Aloe barbadensis* Mill.) PADA *Coturnix coturnix japonica* YANG TERINDUKSI VAKSIN AVIAN INFLUENZA SUBTIPE H5N1 MELALUI PENGUKURAN TITER ANTIBODI IgG**

**Budi Setio<sup>1</sup>, Puguh Novi Arsito<sup>2</sup>**

**INTISARI**

*Avian influenza* (AI) subtype H5N1 merupakan penyakit berbahaya yang disebabkan oleh virus influenza dan dapat menular antar unggas maupun dari unggas ke manusia. Upaya pencegahan dalam menangani kasus AI saat ini yaitu dengan pemberian vaksinasi, namun upaya vaksinasi AI terhadap unggas selama ini belum mencapai tingkat keberhasilan yang maksimal. Pemanfaatan *Immunoglobulin Gamma* (IgG) merupakan suatu cara yang dapat digunakan dalam mencegah penyebaran virus AI. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian jus lidah buaya terhadap produksi antibodi spesifik (IgG anti-AI) dalam darah burung puyuh yang diinduksi vaksin AI H5N1 serta untuk mengetahui dosis efektif jus lidah buaya sebagai alternatif imunostimulator bahan alam.

Sebanyak 15 ekor hewan uji burung puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) yang berumur 2 bulan dengan berat badan 250-350 g dibagi kedalam 5 kelompok: kontrol nol, kontrol negatif dan kelompok perlakuan dosis 1 ml; 2,5 ml dan 4 ml tiap 250 g bb. Vaksin yang digunakan adalah vaksin AI subtype H5N1 inaktif dalam bentuk emulsi. Pemberian vaksinasi dilakukan pada minggu ke-1, minggu ke-3 dan minggu ke-6, dengan dosis sebesar 0,5 ml/ekor puyuh. Pengambilan sampel darah dilakukan pada minggu ke-10. Pengukuran titer IgG menggunakan uji hambatan hemaglutinasi (*HI test*). Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk*, dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis* dan uji *Mann-Whitney*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok perlakuan dosis 1 ml/250 g bb diketahui dapat meningkatkan titer IgG secara efektif terhadap kontrol negatif dan memiliki nilai rerata sebesar 432. Sedangkan antara kelompok perlakuan dosis 1 ml; 2,5 ml dan 4 ml tiap 250 g bb menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan ( $p > 0,05$ ) pada peningkatan titer IgG. Data dari penelitian ini menunjukkan bahwa lidah buaya berpotensi sebagai agen imunostimulator dalam meningkatkan produksi IgG dalam darah burung puyuh.

**Kata kunci :** *Avian influenza* (AI), Lidah Buaya, *Coturnix coturnix japonica*, IgG.

## LATAR BELAKANG

Flu burung atau *Avian influenza* (AI) merupakan salah satu penyakit yang berbahaya. Penyakit ini disebabkan oleh virus influenza tipe A yang merupakan anggota dari keluarga *Orthomyxoviridae* (Carter dkk., 2008). Kasus AI ditemukan pada manusia pertama di Indonesia pertengahan tahun 2005 yang telah membuat penyakit ini menjadi perhatian khusus, tidak hanya di Departemen Pertanian melainkan juga di Departemen Kesehatan (Naipospos, 2007).

Virus AI sebenarnya bukan termasuk virus yang mudah menular ke manusia, namun hal ini mudah terjadi karena adanya mutasi maupun *gene reassortment* (bercampurnya gen virus influenza hewan dan manusia), sehingga dalam perkembangannya penyakit AI tidak hanya menyerang unggas tetapi juga menyerang manusia (bersifat zoonotik) dan spesies hewan lain selain unggas (Komnas FBPI, 2005). Hingga saat ini telah tercatat beberapa spesies hewan selain unggas yang terdeteksi pernah terpapar oleh virus AI, antara lain adalah: anjing (Songserm dkk., 2006), kucing (WHO, 2006) dan babi (Choi dkk., 2005).

Pada tanggal 19 Januari 2004, *World Health Organization* (WHO) mengkonfirmasi lima warga Vietnam tewas akibat virus AI. Sementara itu di negara Thailand sudah enam orang tewas akibat terserang AI, seorang remaja berusia 6 tahun dipastikan menjadi orang Thailand pertama yang dikonfirmasi tewas

akibat wabah tersebut. Tingkat kematian akibat virus AI sangat tinggi. Berdasarkan hasil penelitian atas 10 orang yang terinfeksi virus AI di Vietnam, WHO menemukan bahwa dari 10 orang yang terinfeksi tersebut ada delapan orang yang meninggal, seorang sembuh dan seorang lagi dalam kondisi kritis (WHO, 2004). Data WHO sampai dengan 19 Juni 2008 menunjukkan kasus AI pada manusia di Indonesia telah mencapai 135 kasus dengan 110 orang diantaranya meninggal (WHO, 2008).

Penyakit AI memiliki angka kematian tinggi, disebabkan karakteristik virus H5N1 yang sangat ganas, hingga disebut sangat patogenik, cepat merusak organ dalam (terutama paru-paru), cepat berkembang dan menular pada unggas, dapat terjadi mutasi adaptif dan *reassortment*, serta mudah resisten terhadap obat antiviral (WHO, 2004). Masih banyak kendala dalam penanganan penyakit AI, diantaranya dalam hal terapi menggunakan antiviral tidak selalu efektif untuk menangani infeksi oleh virus AI.

Belakangan ini telah ditemukan bahwa virus H5N1 yang diisolasi dari beberapa kasus penderita AI telah resisten terhadap Oseltamivir (WHO, 2005; Gupta dkk., 2006). Di Vietnam ditemukan virus AI yang resisten terhadap salah satu antiviral yaitu Oseltamivir yang diisolasi dari penderita infeksi berat H5N1 (de Jong dkk., 2005). Amantadine dan Rimantadine digunakan sebagai

penghambat replikasi virus, namun demikian kedua obat ini sudah tidak mempan lagi untuk membunuh virus H5N1 yang saat ini beredar luas (Beigel dkk., 2005). Kendala lain adalah belum tersedianya vaksin influenza yang memenuhi semua persyaratan, baik secara eksperimental maupun komersial. Imunisasi aktif dengan vaksin AI pada manusia tidak dianjurkan sehingga lebih dipilih imunisasi pasif.

Penggunaan *Immunoglobulin Gamma*(IgG) sebagai agen imunoterapi untuk penanganan kasus AI merupakan salah satu alternatif yang dapat dipertimbangkan. IgG merupakan satu-satunya antibodi yang diturunkan transplasenta untuk menyediakan antibodi bagi perkembangan fetus hingga kekebalan fetus terbentuk sempurna (Harlow dan Lane, 1988).

Vaksinasi merupakan salah satu cara untuk memicu timbulnya respon imun karena adanya paparan antigen yang diberikan. Adanya suplementasi imunostimulator pada unggas yang telah divaksinasi akan meningkatkan produksi respon imun. Salah satu bahan alam yang potensial digunakan sebagai imunostimulator adalah lidah buaya. Kandungan lidah buaya yang dominan diantaranya adalah turunan polisakarida (glukomanan, acemannan, alprogen dan C-glukosil kromon), turunan antraknon (aloin dan emodin), turunan steroid (campesterol, beta sitosterol dan lupeol).

Beberapa penelitian terhadap lidah buaya terkait sistem imun pernah

dilakukan sebelumnya. Acemannan meningkatkan aktivitas makrofag dari sistem imun sistemik terutama dalam darah dan limpa serta meningkatkan produksi Nitrit Oksida (NO) makrofag (Djeraba dan Quere, 2000). Penelitian ini dilakukan untuk melihat apakah suplementasi jus lidah buaya dapat meningkatkan produksi IgG anti-AI dalam darah burung puyuh setelah diinduksi vaksin AI H5N1. Sifat imunostimulator ini selanjutnya juga harus diketahui bekerja pada dosis dan jangka waktu berapa. Apabila diketahui hasil positif, maka jus lidah buaya ini potensial digunakan sebagai imunostimulator produksi IgG anti-AI sebagai agen imunoterapi untuk penanganan kasus AI.

## PERUMUSAN MASALAH

Dari latar belakang tersebut maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Apakah jus lidah buaya memiliki aktivitas imunostimulan dan dapat meningkatkan produksi antibodi spesifik (IgG anti-AI) dalam darah burung puyuh yang terinduksi vaksin AI?
2. Apabila jus lidah buaya dapat meningkatkan produksi titer IgG anti-AI, dosis manakah yang paling efektif?

## KEASLIAN PENELITIAN

Penelitian terdahulu pernah dilakukan pada tanaman lidah buaya diantaranya adalah acemannan meningkatkan aktivitas makrofag dari sistem imun sistemik terutama dalam darah dan limpa serta meningkatkan produksi Nitrit Oksida (NO) makrofag (Djeraba dan Quere, 2000). Efek imunostimulan dari acemannan terhadap makrofag dilaporkan oleh Stuart dkk. (1997), bahwa pemberian acemannan secara *in vitro* ke dalam suspensi sel peritoneal mencit galur C57BL/6 dapat meningkatkan *respiratory burst*, fagositosis, aktivitas *killing* terhadap sel target *Candida albicans*. Meskipun begitu, studi aktivitas imunostimulator pada sistem tubuh unggas khususnya pada *Coturnix coturnix japonica* yang terinduksi vaksin AI subtipe H5N1 selama ini belum pernah dilakukan terhadap tanaman lidah buaya.

## TUJUAN

Penelitian ini bertujuan sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian jus lidah buaya terhadap produksi antibodi spesifik (IgG anti-AI) dalam darah burung puyuh yang diinduksi vaksin AI H5N1.
2. Untuk mengetahui dosis efektif jus lidah buaya sebagai alternatif imunostimulator bahan alam.

## MANFAAT

Penelitian ini dilakukan berkaitan dengan masih banyaknya kasus flu burung yang terjadi akhir-akhir ini, dimana menimbulkan kerugian yang cukup besar. Virus AI sangat mudah untuk bermutasi, sehingga menimbulkan kekhawatiran khusus terjadinya pandemik infeksi virus AI yang meluas. Perlu dilakukan beberapa usaha untuk penanganan masalah flu burung, baik dari segi preventif maupun kuratif. Salah satunya dengan pemanfaatan IgG anti-AI. Untuk memperoleh IgG anti-AI, perlu adanya paparan antigen yang mampu meninduksi antibodi pada unggas. Vaksinasi dengan vaksin subtipe H5N1 merupakan salah satu cara untuk menghasilkan antibodi terhadap H5, dimana pada kasus flu burung yang terjadi saat ini diketahui disebabkan oleh virus influenza H5N1.

Penambahan imunostimulator, akan meningkatkan respon imun yang berdampak pada peningkatan pembentukan antibodi, yang berarti peningkatan produksi IgG pada unggas. Jus lidah buaya diduga bersifat potensial apabila digunakan sebagai imunostimulator. Penelitian ini diharapkan menghasilkan bukti ilmiah serta dapat dijadikan dasar penggunaan lidah buaya sebagai agen imunostimulator alami untuk meningkatkan produksi IgG anti-AI pada darah burung puyuh yang terinduksi vaksin AI H5N1. Diharapkan kedepannya penelitian ini

dapat dijadikan acuan untuk memproduksi sediaan farmasi dengan memanfaatkan titer IgG anti-AI secara efisien dan efektif, sehingga dapat diterapkan dalam imunisasi pasif pada manusia sebagai salah satu upaya tindakan preventif wabah virus AI H5N1.

## TELAAH PUSTAKA

### 1. Flu Burung (*Avian Influenza*)

Virus influenza merupakan virus RNA utas tunggal dan memiliki nucleocapsid yang berbentuk helix dengan dibungkus oleh selubung (*envelope*) lipoprotein (Carter dkk., 2008). Terdapat tiga tipe virus influenza yaitu tipe A, B, dan C. Virus influenza tipe A dan B memiliki delapan segmen RNA, sedangkan virus influenza tipe C hanya memiliki tujuh segmen RNA (Easterday dan Hinshaw, 1991; Specter, 2000). Nukleotida yang tersusun dalam delapan segmen dari viral RNA menyandi 10 macam protein. Tiga dari 10 protein merupakan protein polimerase (PA, PB1 dan PB2), dua lainnya merupakan protein permukaan (HA dan NA), dua protein matriks (M1 dan M2), satu nukleokapsid (NP) dan dua protein non struktural (NS1 dan NS2) (Webster dan Hulse, 2004).

Virus influenza memiliki dua antigen permukaan yaitu Hemagglutinin (HA) dan

Neuraminidase (NA) (Specter, 2000; Soedjodono dan Handharyani, 2005; Carter dkk., 2008; Harder dan Warner, 2006). HA berperan pada proses *attachment* dari virion ke reseptor permukaan sel, selain itu HA juga berperan pada aktivitas hemaglutinasi dari virus. Sementara N berperan pada proses keluarnya virus dari sel inang (Easterday dan Hinshaw, 1991). HA dan NA mampu memicu terjadinya respon imun dan respon yang spesifik terhadap subtype virus (Harder dan Warner, 2006; Carter dkk., 2008). Terdapat 16 varian antigen hemagglutinin (H1-H16) dan sembilan jenis antigen neuraminidase (N1-N9) pada kelompok virus ini (Carter dkk., 2008), sehingga dengan demikian virus ini mempunyai 144 kemungkinan variasi subtype.

Virus influenza tipe A pertama kali diisolasi pada tahun 1933 (Specter, 2000). Virus ini menyebar luas dan menginfeksi banyak spesies hewan seperti babi, kuda, kucing, harimau, macan tutul, mamalia laut, unggas, dan primata termasuk manusia (Easterday dan Hinshaw, 1991). Virus ini merupakan jenis virus yang mampu mengaglutinasikan sel darah merah dan replikasi dari virus ini terjadi di dalam nukleus (Soedjodono dan Handharyani, 2005; Carter dkk., 2008).

Virus AI dapat menyebabkan epidemi dan pandemi karena

mudahnya mereka bermutasi. Antigen permukaan yang dimiliki oleh virus influenza memiliki kemampuan untuk berubah secara periodik. Kemampuan ini dikenal sebagai *antigenic drift* dan *antigenic shift*. *Antigenic drift* merupakan perubahan secara periodik yang terjadi akibat adanya mutasi genetik struktur HA dan atau NA (antigen permukaan), sehingga antibodi yang telah terbentuk oleh tubuh akibat vaksinasi sebelumnya tidak dapat mengenali keberadaan virus tersebut. Sementara *Antigenic shift* merupakan perubahan genetik yang menyebabkan munculnya strain virus baru dan kemampuannya menginfeksi secara lintas spesies (Easterday dan Hinshaw, 1991; Murphy, 2006).

Virus AI yang menyerang unggas digolongkan menjadi dua bentuk berbeda berdasarkan dampak patogenitasnya terhadap unggas yang diserang dan kemampuan dalam menyebabkan sakit yaitu, *Highly Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) dan *Low Pathogenic Avian Influenza* (LPAI) (Akoso, 2006). HPAI ditandai dengan adanya proses penyakit yang cepat, mortalitas tinggi, gangguan produksi telur (berhenti atau menurun drastis), sianosis pada kulit, diare dan gangguan syaraf. Untuk LPAI terjadi penurunan produksi telur, anoreksia, gangguan pernapasan dan mortalitas yang rendah tapi

cenderung meningkat (Tabbu, 2000).

Infeksi virus AI dimulai ketika virus memasuki sel hospes setelah terjadi penempelan *spikes* virion dengan reseptor spesifik yang ada di permukaan sel hospesnya. Virion akan menyusup ke sitoplasma sel dan akan mengintegrasikan materi genetiknya di dalam inti sel hospesnya, dan dengan menggunakan mesin genetik dari sel hospesnya, virus dapat bereplikasi membentuk virion-virion baru dan virion-virion ini dapat menginfeksi kembali sel-sel disekitarnya. Dari beberapa hasil pemeriksaan terhadap spesimen klinik yang diambil dari penderita ternyata virus AI dapat bereplikasi di dalam sel nasofaring (Peiris dkk., 2004), dan didalam sel gastrointestinal (de Jong, 2005; Uiprasertkul dkk., 2005). Virus AI juga dapat dideteksi di dalam darah, cairan serebrospinal, dan tinja pasien (WHO, 2005). Setelah infeksi virus influenza, epitel dan sel-sel imun mukosa pernapasan akan memproduksi sitokin-sitokin dengan cepat, serta hormon-hormon lokal yang mengaktifkan sel-sel, terutama yang berkaitan dengan sistem imun (Kamps, 2006).

Masa inkubasi virus AI bervariasi dari beberapa jam hingga beberapa hari dan kadang-kadang hingga 14 hari (Akoso, 2006). Masa inkubasi tersebut tergantung pada jumlah virus, subtype virus, rute infeksi, dan spesies yang terserang.

Morbiditas dan mortalitas dari penyakit ini tergantung pada gejala klinis, spesies yang terserang, umur, dan kondisi lingkungan. Pada kasus LPAI memiliki morbiditas yang tinggi sementara mortalitas yang rendah, sementara pada kasus HPAI morbiditas dan mortalitas bisa mencapai 100% (Easterday dan Hinshaw, 1991).

Gejala klinis dari penyakit *avian influenza* sangat bervariasi dan tergantung dari spesies yang diserang, kondisi imun penderita, umur, jenis kelamin, mekanisme infeksi, faktor lingkungan dan sebagainya. Gejalanya dapat berupa abnormalitas dari sistem respirasi, pencernaan, reproduksi serta sistem syaraf. Gejala yang umum dilaporkan adalah aktivitas menurun, nafsu makan menurun dan *emaciation*, penurunan produksi telur, gejala respirasi mulai dari yang ringan hingga yang berat seperti batuk, bersin, mendengkur dan pengeluaran cairan yang berlebihan dari mata dan hidung; bulu kusam dan kering; edema pada wajah dan kepala; *cyanosis* pada kulit, jengger dan pial; pendarahan titik (*petechiae*) pada dada, kaki dan telapak kaki; serta gangguan syaraf dan diare (Easterday dan Hinshaw, 1991; Soedjodono dan Handharyani, 2005).

2. Lidah Buaya (*Aloe barbadensis* Mill.)

Lidah buaya adalah tumbuhan hijau dengan daun yang berdaging

tebal, bergetah dan tersusun sirkular. Lidah buaya tumbuh pada area yang kering dan hangat, terutama di bagian selatan Eropa, Asia dan Afrika. Lidah buaya dapat ditemukan di hampir seluruh dunia, biasanya ditanam sebagai tanaman rumah atau karena manfaat medikasinya.

Lidah buaya adalah tanaman yang semua bagian tumbuhannya bermanfaat, pelepah lidah buaya dapat dikelompokkan menjadi 3 bagian yang dapat digunakan untuk pengobatan, antara lain; daun, keseluruhan daunnya dapat digunakan baik secara langsung atau dalam bentuk ekstrak, kemudian eksudat, adalah getah yang keluar dari dalam saat dilakukan pemotongan, eksudat ini berbentuk kental berwarna kuning dan rasanya pahit. Kemudian gel, adalah bagian yang berlendir yang diperoleh dengan cara menyayat bagian dalam daun (Fumawanthi, 2004). Didalam gel lidah buaya ini dipercaya mengandung berbagai zat aktif dan enzim yang sangat berguna untuk menyembuhkan berbagai penyakit. Karena kandungan zat aktif dan enzim inilah maka sifat gel ini sangat sensitif terhadap suhu, udara dan cahaya, serta sangat mudah teroksidasi sehingga mudah berubah warna menjadi kuning hingga coklat (Fumawanthi, 2004).

*Aloe* merupakan suatu residu padat yang diperoleh dari hasil penguapan cairan yang keluar dari

pemotongan transversal daun-daun dari berbagai spesies *Aloe*. Cairan ini kemudian dipekatkan dengan cara didihkan dan dipadatkan dengan pendinginan (Youngken, 1961).

Klasifikasilidah buaya adalah sebagai berikut (Banvard dan Elaine, 2003):

Kingdom : *Plantae*  
Filum : *Anthophyta*  
Kelas : *monocotyledonae*  
Sub kelas : *Liliidae*  
Ordo : *Liliales*  
Famili : *Aloeaceae*  
Genus : *Aloe*  
Spesies : *Barbadensis*



**Gambar 1.** Lidah Buaya (*Aloe barbadensis* Mill.)

Tanaman lidah buaya mengandung 99-99,5 % air, dengan pH rata-rata 4,5. *Acemannan* adalah fraksi karbohidrat terbanyak didalam gel, merupakan polimer mannosan rantai panjang yang larut dalam air, berguna untuk mempercepat penyembuhan, memodulasi fungsi imun (mengaktivasi makrofag dan

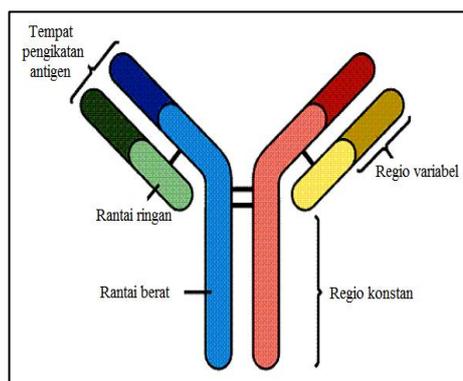
produksi sitokin), antineoplastik dan antivirus (Zang dan Tizard, 1996; Pengdkk., 1991; Ramamoorthy dkk., 1999).

Kandungan dan fungsi dari zat aktif yang terdapat pada tanaman lidah buaya menurut Fumawanthi (2004) antara lain adalah, *Lignin* mempunyai kemampuan penyerapan yang tinggi sehingga memudahkan peresapan gel ke dalam kulit atau mukosa; *Saponin* mampu membersihkan dan bersifat antiseptik, serta bahan pencuci yang baik; *Anthraquinone* sebagai bahan laksatif, penghilang rasa sakit, mengurangi racun, dan sebagai antibiotik; *Acemannan* sebagai anti virus, anti bakteri, anti jamur, dan dapat menghancurkan sel tumor, serta meningkatkan daya tahan tubuh; *Enzim Bradykinase dan Karboksipeptidase* sebagai anti inflamasi, anti alergi dan dapat mengurangi rasa sakit; *Glukomannan dan Mukopolysakarida* memberikan efek imunomodulasi; *Tannin dan Aloctin A* sebagai anti inflamasi; Salisilat menghilangkan rasa sakit dan anti inflamasi; Asam Amino sebagai bahan untuk pertumbuhan dan perbaikan, serta sebagai sumber energi. Lidah buaya menyediakan 20 asam amino dari 22 asam amino yang dibutuhkan oleh tubuh; Mineral yang memberikan ketahanan tubuh terhadap penyakit; Vitamin A, B1, B2, B6, B12, C, E dan asam folat sebagai bahan

penting untuk menjalankan fungsi tubuh secara normal dan sehat.

### 3. *Immunoglobulin Gamma (IgG)*

Antibodi adalah molekul protein yang dihasilkan oleh sel plasma sebagai akibat interaksi antara limfosit B peka antigen dan antigen khusus (Tizard, 1988). Karena molekul antibodi adalah globulin, maka umumnya dikenal sebagai imunoglobulin (Ig). Istilah imunoglobulin dipakai untuk menggambarkan semua protein yang mempunyai aktivitas antibodi maupun beberapa protein yang mempunyai struktur imunoglobulin yang khas tetapi tidak memiliki aktivitas antibodi (Tizard, 1988). Sedangkan menurut Mayer (2009), imunoglobulin adalah molekul glikoprotein yang diproduksi sel plasma sebagai respon terhadap imunogen dan berfungsi sebagai antibodi.



**Gambar 2.** Struktur *Immunoglobulin Gamma (IgG)* (Mader, 1997)

*Immunoglobulin Gamma (IgG)* merupakan antibodi monomer yang umum pada mamalia dan diproduksi

setelah IgM. IgG dibuat dan disekresikan oleh sel plasma di limpa, limfonodus, dan sumsum tulang. IgG ditemukan dalam jumlah paling besar di dalam darah yaitu sebesar 75% dari seluruh jumlah antibodi sehingga memiliki peranan penting dalam mekanisme perlawanan oleh antibodi (Tizard, 2004; Guyton dan Hall, 2007). IgG merupakan satu-satunya antibodi yang diturunkan transplasenta untuk menyediakan antibodi bagi perkembangan fetus hingga kekebalan fetus terbentuk sempurna (Harlow dan Lane, 1988).

IgG merupakan imunoglobulin yang konsentrasinya tertinggi dalam darah. Berat molekul IgG 180.000 dalton dan  $\gamma$  epitop pada rantai beratnya. Dengan ukuran yang relatif kecil, IgG dapat keluar dari pembuluh darah lebih mudah dibanding imunoglobulin lainnya (Tizard, 1987). IgG adalah antibodi pertama yang terlibat dalam respon imunitas lanjutan. Keberadaan IgG tertentu pada umumnya diartikan sebagai puncak respon antibodi terhadap antigen. IgG dapat mengikat berbagai macam patogen seperti virus, bakteri dan fungi. Patogen dihancurkan dengan cara aglutinasi dan imunitasi. Selanjutnya sistem kekebalan komplemen diaktifkan melalui jalur klasik dengan menggunakan fragmen konstan untuk mengikat patogen. Patogen diopsonisasi dan ditelan oleh makrofag serta neutrofil

dengan proses fagositosis dan netralisasi toksin. IgG juga memiliki peran penting dalam mengikat sel NK (Natural Killer) pada ADCC (*Antibody Dependent Cell-mediated Cytotoxicity*) (Tizard, 2004).

## **HIPOTESIS**

1. Pemberian jus lidah buaya (*Aloe barbadensis* Mill.) mampu meningkatkan produksi IgG anti-AI dalam darah burung puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) yang diinduksi vaksin AI subtype H5N1.
2. Pemberian jus lidah buaya (*Aloe barbadensis* Mill.) antara dosis 1 ml sampai 4 ml tiap 250 g bb mampu meningkatkan produksi titer IgG anti-AI dalam darah *Coturnix coturnix japonica* yang terinduksi vaksin AI subtype H5N1.

## **METODOLOGI PENELITIAN**

### **DESAIN PENELITIAN**

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental laboratorium dengan tema imunologi farmasetik.

### **POPULASI DAN SAMPEL**

Pembagian masing-masing hewan uji adalah sebagai berikut : Puyuh yang digunakan sebanyak 15 ekor dalam kandang baterai dibagi menjadi 5 kelompok pelakuan. Tiap kelompok terdiri dari 5 ulangan secara individual.

Kelompok I : Puyuh tanpa diinduksi vaksin AI H5N1 dan tanpa suplementasi jus lidah buaya sebagai kontrol nol (0).

Kelompok II : Puyuh diinduksi vaksin AI H5N1 0,5 ml/250 g bb dan tanpa suplementasi jus lidah buaya sebagai kontrol negatif (-).

Kelompok III : Puyuh diinduksi vaksin AI H5N1 0,5 ml/250 g bb dan suplementasi jus lidah buaya dosis 1 ml/250 g bb tiap puyuh.

Kelompok IV : Puyuh diinduksi vaksin AI H5N1 0,5 ml/250 g bb dan suplementasi jus lidah buaya dosis 2,5 ml/250 g bb tiap puyuh.

Kelompok V : Puyuh diinduksi vaksin AI H5N1 0,5 ml/250 g bb dan suplementasi jus lidah buaya dosis 4 ml/250 g bb tiap puyuh.

### **ANALISIS DATA**

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui apakah data yang diambil merupakan data yang terdistribusi normal. Data yang diperoleh dari hasil pengukuran uji normalitas tersebut kemudian dianalisis secara statistik menggunakan uji *Kruskal-Wallis* (Anova non-parametrik). Langkah berikutnya yaitu dilakukan analisis lanjutan dengan uji *Mann-Whitney* untuk membandingkan dua mean populasi sama atau tidak.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### HASIL

Hasil uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI) terhadap sampel darah burung puyuh setelah dilakukan vaksinasi secara intra muscular dengan dosis 0,5 ml menggunakan vaksin AI subtype H5N1 tertera pada tabel 1.

**Tabel 1.** Titer Antibodi IgG Anti AI H5N1

Kelompok	Replikasi			Rerata Perlakuan
	I	II	III	
K 0	0	0	0	0
K -	32	16	64	37.33
L 1 ml	16	256	1024	432
L 2,5 ml	128	64	512	234.6
L 4 ml	128	64	256	149.3

Keterangan : Kelompok K0 : Tanpa diinduksi vaksin AI H5N1 dan tanpa suplementasi jus lidah buaya; Kelompok K - : Diinduksi vaksin AI H5N1 namun tanpa suplementasi jus lidah buaya; Kelompok L 1 ml, L 2,5 ml dan L 4 ml berurutan : Diinduksi vaksin AI H5N1 dan pemberian jus lidah buaya 1 ml/250 g bb, 2,5 ml/250 g bb dan 4 ml/250 g bb.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan sampel burung puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) sebanyak 15 ekor yang dibagi dalam 5 kelompok perlakuan. Keadaan lingkungan, strain, umur dan pakan dikondisikan dalam keadaan yang standar dan sama, sehingga dapat dijadikan dasar asumsi bahwa keadaan antibodi pada hewan uji seluruhnya sama. Pada saat pemberian vaksinasi, semua hewan uji diasumsikan tidak memiliki titer antibodi terhadap virus AI. Hal ini dapat diartikan bahwa semua hewan uji belum mendapat paparan virus AI baik

berasal dari lingkungan sekitar maupun dari vaksin sendiri.

Pengukuran titer antibodi dilakukan pada minggu ke-10 setelah vaksinasi berdasarkan acuan dari Direktorat Jenderal Peternakan Departemen Pertanian, yang menyatakan bahwa keberhasilan vaksinasi dapat diketahui dengan memeriksa adanya antibodi setelah 3 sampai 4 minggu setelah vaksinasi (Deptan, 2005).

Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa data pengukuran titer IgG anti-AI memberikan nilai uji normalitas  $p=0,000$  ( $p<0,05$ ), dimana hal ini menunjukkan bahwa sebaran data tidak normal. Oleh karena hasil uji normalitas menunjukkan sebaran data tidak normal, maka untuk dapat melakukan analisis terhadap efek pemberian jus lidah buaya terhadap peningkatan titer IgG anti-AI dilanjutkan dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dimana uji ini merupakan uji turunan non parametrik dari uji *One-Way Anova*. Dengan melakukan uji *Kruskal-Wallis*, dapat diketahui perbedaan nilai dari kelima kelompok uji sekaligus pada penelitian ini.

Dari hasil pengujian menggunakan *Kruskal-Wallis*, didapatkan nilai  $p=0,057$  ( $p>0,05$ ) yang artinya tidak terdapat perbedaan titer IgG anti-AI yang bermakna dari kelima kelompok uji yang diamati. Hasil uji *Kruskal-Wallis* dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil Uji Statistik *Kruskal-Wallis*

No	Kelompok	Rerata Perlakuan	Uji Statistik <i>Kruskal-Wallis</i> (Asymp. Sig)
1	K0	0	
2	K -	37.33	
3	L 1 ml	432	0.057
4	L 2,5 ml	234.6	
5	L 4 ml	149.3	

Keterangan :  $p > 0.05$  (Tidak terdapat perbedaan titer antibodi IgG yang bermakna)

Berdasarkan hasil uji *Kruskal-Wallis* tersebut secara keseluruhan kelompok, tidak terdapat perbedaan yang bermakna, namun untuk lebih mengetahui secara rinci lagi digunakan uji *Mann-Whitney* dimana mencari letak perbedaan pada masing-masing kelompok yang lebih terperinci dari hasil penelitian ini. Hasil uji *Mann-Whitney* dari masing-masing kelompok perlakuan tercantum dalam tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil Uji *Mann-Whitney* Test pada Setiap Kelompok Perlakuan

K0	K -	0.037*
	L 1 ml	0.037*
	L 2,5 ml	0.037*
	L 4 ml	0.037*
K -	L 1 ml	0.376
	L 2,5 ml	0.077
	L 4 ml	0.077
L 1 ml	L 2,5 ml	0.827
	L 4 ml	0.658
L 2,5 ml	L 4 ml	0.822

Keterangan : \* $p < 0.05$  (Terdapat perbedaan titer antibodi IgG yang bermakna)

Hasil pengujian *Mann-Whitney* telah didapatkan bahwa antara kontrol nol dan kontrol negatif memiliki

perbedaan titer IgG anti-AI yang bermakna dengan nilai  $p = 0,037$  ( $p < 0,05$ ). Hal ini dapat diartikan bahwa terjadi peningkatan titer antibodi IgG pada burung puyuh kelompok kontrol negatif (K-) terhadap kontrol nol (K0). Berdasarkan pengamatan dari hasil yang didapatkan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan dosis 1 ml; 2,5 ml; dan 4 ml tiap 250 g bb, maka dapat dikatakan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada masing-masing kelompok.

Pengamatan dari keseluruhan hasil uji antara kelompok perlakuan dosis 1 ml; 2,5 ml; dan 4 ml tiap 250 g bb tersebut menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan titer IgG anti-AI yang bermakna ( $p > 0,05$ ) pada masing-masing kelompok uji. Selanjutnya, untuk mengetahui dosis mana yang lebih efektif pada penelitian ini dalam meningkatkan titer IgG anti-AI, dapat diamati dari hasil perhitungan rerata dari masing-masing kelompok dosis perlakuan. Tingkat keberhasilan vaksinasi dipengaruhi oleh kualitas vaksin, program vaksinasi, jenis unggas dan kondisi dari unggas saat divaksinasi.

## PEMBAHASAN

Penyakit AI yang mewabah saat ini merupakan penyakit yang menjadi perhatian khusus di seluruh dunia khususnya di Indonesia. Wabah AI di Indonesia disebabkan oleh virus *Highly*

*Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) H5N1 tipe A yang mulai ditemukan pada tahun 2003 (Dharmayanti dkk., 2005). HPAI merupakan infeksi pada unggas dimana menyebabkan gangguan pernafasan, penurunan produksi, atau menyebabkan kematian secara cepat (Suarez dan Schultz-Cherry, 2000). Dalam upaya pencegahan penyakit AI pada hewan ternak dilakukan dengan vaksinasi. Vaksin merupakan suatu produk yang mengandung sejumlah mikroorganisme yang berupa bibit penyakit tertentu, yang dapat menimbulkan kekebalan tubuh khusus terhadap suatu penyakit.

Vaksin dapat mengandung mikroorganisme aktif (hidup) dan inaktif (mati). Pada umumnya di Indonesia menggunakan jenis vaksin homolog inaktif untuk mengendalikan wabah AI. Vaksin homolog ini mengandung virus yang telah dimatikan dengan tipe H5N1, yaitu tipe yang sama dengan penyebab wabah AI di Indonesia. Kekuatan dari vaksin inaktif dalam merangsang produksi antibodi pada tubuh unggas diketahui tergantung pada unit *antigenic* (sel virus) yang terkandung didalam dosis dari vaksin tersebut (Daulay, 2008).

Vaksinasi terhadap penyakit AI merupakan suatu upaya pencegahan dimana untuk mengurangi resiko co-infeksi dan *genetic reassortment* atau penyusunan ulang materi genetik dari virus AI dengan kata lain mencegah terbentuknya tipe baru virus AI yang lebih ganas. Selain itu, vaksin juga melindungi terhadap epidemik AI pada

hewan dan manusia yang memang selalu terjadi sepanjang tahun di daerah tropis dan subtropik. Ambang proteksi vaksin baru terlihat setelah dua minggu sejak dilakukan vaksinasi, namun diyakini bahwa hal ini tetap bermanfaat meskipun mereka terpapar dalam kurun waktu dua minggu tersebut (WHO, 2006).

Dalam penelitian ini, jenis vaksin yang digunakan adalah vaksin AI sub tipe H5N1 inaktif dengan merk dagang Medivac<sup>®</sup> yang diproduksi oleh PT. Medion Farma Jaya, Bandung, Indonesia. Vaksin Medivac<sup>®</sup> ini mengandung virus AI sub tipe H5N1 isolat lokal yang telah diinaktifkan serta diemulsikan kedalam *adjuvant* minyak mineral yang berfungsi untuk meningkatkan serta memperpanjang efektivitas dari vaksin tersebut. Tiap dosisnya mengandung potensi virus AI minimal PD<sub>50</sub> virus AI. Pemberian vaksin ini melalui injeksi intramuskular pada unggas yaitu melalui otot paha dan dada atau injeksi subkutan di leher belakang bagian bawah. Dosis vaksin untuk tiap ekor unggas yaitu 0,2 ml untuk unggas muda dan 0,5 ml untuk unggas dewasa (Medion, 2006). Berdasarkan aturan ini, maka dijadikan landasan dalam pemakaian dosis 0,5 ml untuk induksi vaksin AI sub tipe H5N1 pada *Coturnix coturnix japonica* yang diberi perlakuan.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dianalisis mengungkapkan bahwa terdapat perbedaan bermakna titer IgG anti-AI antara kelompok kontrol nol dengan kelompok kontrol

negatif. Dikatakan bermakna karena dosis vaksin AI yang digunakan yaitu 0,5 ml tersebut telah berhasil mempengaruhi sistem kekebalan tubuh unggas dalam memacu meningkatkan respon imun alamiah saat berinteraksi dengan antigen AI yang diberikan.

Vaksinasi merupakan salah satu upaya dalam mencegah penyakit AI. Namun selain upaya vaksinasi tersebut, perlu adanya pemberian suatu agen imunostimulator agar dapat memberi perlindungan tambahan dalam memacu peningkatan sistem imun tubuh. Pemberian agen imunostimulator dalam penelitian ini menggunakan tanaman lidah buaya (*Aloe barbadensis* Mill.) sebagai salah satu agen herbal alami yang diduga berfungsi sebagai imunostimulator dalam upaya pencegahan infeksi virus AI. Tanaman lidah buaya merupakan tanaman tradisional yang telah digunakan sejak jaman Mesir kuno, Roma, Yunani, India dan Cina (Combest, WL., 2002). Dilaporkan bahwa kandungan acemannan pada lidah buaya menyebabkan kenaikan titer antibodi yang diberikan bersamaan dengan vaksin NDV (*Newcastle disease virus*) dan IBDV (*Infectious bursal disease*) pada ayam pedaging (Chinnah dkk., 1992).

Pada penelitian ini menggunakan uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI) yang memiliki prinsip kerja sederhana, dimana antibodi homolog akan mengikat virus yang masuk sehingga virus tersebut tidak dapat melekat pada reseptor yang ada

di membran sel darah merah sehingga mengakibatkan proses aglutinasi tidak terjadi (Siregar dkk., 2006). Apabila terjadi aglutinasi, maka titer IgG anti-AI dinyatakan negatif, sedangkan jika tidak terjadi proses aglutinasi, maka dikatakan positif.

Pengukuran terhadap titer IgG anti-AI dilakukan pada minggu ke-10 pasca vaksinasi menggunakan vaksin AI subtipe H5N1 menggambarkan peningkatan pada seluruh kelompok dosis perlakuan. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan dosis 1 ml; 2,5 ml; dan 4 ml tiap 250 g bb bila dibandingkan dengan kelompok kontrol nol ( $p < 0,05$ ).

Pada penelitian Trisnawati (2014), pemberian jus lidah buaya mampu meningkatkan produksi titer IgY anti-AI yang terdapat dalam telur *Coturnix coturnix japonica* yang diinduksi vaksin AI subtipe H5N1. Kandungan acemannan dalam jus lidah buaya pada penelitian ini diduga dapat meningkatkan kemampuan rangsangan komponen imunitas tubuh puyuh dalam memicu pengaktifan sel  $\beta$ . Selanjutnya Sel  $\beta$  akan berdiferensiasi membentuk antibodi IgY pada serum puyuh yang diinduksi vaksin AI subtipe H5N1. Acemannan diketahui mampu meningkatkan aktivitas limfosit dan makrofag serta meningkatkan maturasi sel limfosit T-helper CD4+ menjadi sel Th1 sehingga memproduksi dan melepas senyawa sitokin, interleukin (IL)-1, IL-6, IL-12 dan *tumor necrosis*

*factor alpha* (TNF $\alpha$ ). Peran dari senyawa IL-1, IL-6, dan IL-12 adalah ikut menjadi agen pendukung dalam proses pembentukan antibodi melalui pengaktifan sel  $\beta$  (Wiedosari, 2007).

Dari penelitian diketahui, apabila acemannan diinkubasi bersama suspensi monosit, maka respon dari limfosit T akan meningkat terhadap lektin dan akan meningkatkan sekresi IL-1 (Womble dan Heldeman, 1988). Sebagai imunomodulator, lidah buaya dapat meningkatkan aktivitas anti-kanker pada pengobatan menggunakan melatonin (Lissoni dkk., 1998). Titer antibodi dikatakan tinggi apabila dari hasil pengukuran mencapai angka yang optimal yaitu  $\geq 16$  ( $\geq 2^4$ ) (Braytenbach, 2005). Berdasarkan data penelitian dapat dinyatakan bahwa hasil pengukuran rerata titer IgG anti-AI yang memiliki nilai terendah dari semua kelompok uji ditunjukkan oleh kelompok kontrol negatif ( $< 2^4$ ). Sementara itu, untuk hasil pengukuran rerata titer IgG anti-AI dengan hasil paling efektif terdapat pada kelompok 1 ml/250 g bb. Dosis ini dikatakan paling efektif karena berdasarkan hasil yang didapatkan, titer antibodi mencapai angka yang optimal ( $\geq 2^4$ ) dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang lain.

Seluruh uraian pada pembahasan penelitian ini telah menggambarkan bahwa terdapat banyak manfaat yang dapat diambil dari kandungan IgG yang terdapat pada sampel darah, sehingga hasil penelitian pada karya tulis ilmiah ini diharapkan

dapat dijadikan sebagai bahan acuan untuk mengembangkan IgG lebih lanjut. Riset yang dilakukan mengenai metode untuk memperbanyak produksi IgG sebagai bahan baku dalam pengembangan formulasi dalam bentuk sediaan farmasi yang tepat dan sesuai pada skala industri, tentu saja sangat dibutuhkan dan juga dapat memberikan peluang potensial, sehingga menjadi produk imunoterapi yang dapat diterapkan sebagai agen imunisasi pasif pada manusia di masa yang akan datang.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### KESIMPULAN

Pemberian jus lidah buaya (*Aloe barbadensis* Mill.) mampu meningkatkan produksi IgG anti-AI dalam darah burung puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) yang diinduksi vaksin AI subtipe H5N1 tetapi tidak signifikan secara statistik.

Pemberian jus lidah buaya (*Aloe barbadensis* Mill.) dosis 1 ml/250 g bb mampu meningkatkan produksi titer IgG anti-AI dalam darah *Coturnix coturnix japonica* yang terinduksi vaksin AI subtipe H5N1 secara efektif terhadap kontrol negatif.

### SARAN

Perlu dilakukan penelitian yang lebih lanjut dan mendalam tentang penelusuran senyawa aktif yang dapat meningkatkan titer antibodi IgG anti-AI pada darah burung puyuh (*Coturnix*

*coturnix japonica*) yang diinduksi vaksin AI subtipe H5N1.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut serta pengembangan dalam skala industri mengenai formulasi IgG dalam bentuk sediaan farmasi yang lebih sesuai untuk keperluan imunisasi pasif pada manusia.

## DAFTAR PUSTAKA

- [Komnas FBPI] Komisi Nasional Flu Burung Pandemi Influenza, 2005, *Rencana Strategis Nasional Pengendalian Flu Burung (AI) dan kesiapsiagaan Menghadapi Pandemi Influenza 2006-2007*. Jakarta: Komnas FBPI.
- Akoso, B.T., 2006, *Waspada Flu Burung Penyakit Menular Pada Hewan dan Manusia*, 27-35, Kanisius, Yogyakarta.
- Banvard and Elaine, 2003, Aloe Vera (*Aloe Barbadosis*). <http://www.earlham.edu.2003>.
- Beard, C.W., 1989, Serologic Procedures in a Laboratory manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens, edisi ke-3, 192-200, American Association Avian Pathologist.
- Beigel, J.H., Farrar, J., Han, A.M., dkk., 2005, Avian influenza (H5N1) infection in humans. *N. Engl. J. Med.*, 1374-1385.
- Braytenbach, J.H., 2005, *Guidelines for the Administration of Nobilis Influenza H5 Vaccine as Part of an Avian Influenza Control Strategy*, Intervet International b.v, Netherland.
- Carter, G.R., Wise, D.J., Flores, E.F., (2008, 9 Januari). Orthomyxoviridae. <http://www.IVIS.org>. [9 Januari 2008].
- Chinnah, A.D., M.A. Baig, I.R. Tizard and M.C. Kemp, 1992, Antigen dependent adjuvant activity of a polydispersed  $\beta$ -(1,4)-linked acetylated mannan (acemannan). *Vaccine* 10(8): 551 – 557.
- Choi, Y.K., T.D. Nguyen, H. Ozaki, R.J. Webby, P. Puthavathana, C. Buranathal, A. Chaishingh, P. Auewarakul, N.T.H. Hanh, S.K. Ma, P.Y. Hui, Y. Guan, J.S.M. Peiris, R.G. Webster, 2005, Studies of H5N1 Influenza Virus Infection of Pig by Using Viruses Isolated in Vietnam and Thailand in 2004. *J. of Virol.*, 79 (16) : 10821-10825.
- Daulay, S.R., 2008, Avian Influenza, USU e-Repository, Medan. Diakses pada tanggal 6 Mei 2013, dari <http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/2020/1/08E00076.pdf>
- de Jong, M.D., Tran, Truong, H.K., 2005, Oseltamivir Resistance

- During Treatment Of Influenza A (H5N1) Infection. *N. Eng. J. Med.*, 353 : 2667-72.  
<http://content.nejm.org/cgi/content/full/353/25/2667>.
- Departemen Kesehatan, 2006, *Pedoman Penatalaksanaan Flu Burung di Sarana Pelayanan Kesehatan*. Jakarta, Departemen Kesehatan, 2006, h. 1-55.
- Deptan, 2005, *Flu Burung (Avian Influenza)*. Diakses tanggal 5 Mei 2013, dari <http://www.litbang.deptan.go.id/special/ai>.
- Dharmayanti, NLP. I., R. Damayanti, R. Indriani, A. Wiyono, dan RMA. Adjid, 2005, Karakterisasi Molekuler Virus Avian Influenza Isolat Indonesia. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 10 (2) : 127 – 133.
- Djeraba, A. and P. Quere, 2000, In vivo macrophage activation in chickens with Acemannan, a complex carbohydrate extracted from Aloe vera. *Int. J. Immunopharmacol.* 22 : 365 – 372.
- Easterday, B.C., V.S. Hinshaw, 1991, Influenza. Cit Calnek, B.W., Barnes, H.J., Beard, C.W., Reid, W.M., Yoder, H.W., editor. *Disease of Poultry*. Ed ke-9. Iowa: Iowa State University Press. hlm 532-547.
- Fumawanthi, I., 2004, *Khasiat & Manfaat Lidah Buaya Si Tanaman Ajaib*. Agro Media
- Gupta, R.K., Nguyen-Van-Tam, J.S., de Jong, M.D., Hien, T.T., Farrar, J., 2006, Oseltamivir Resistance in Influenza A (H5N1) Infection. *NEJM*. 354: 1423-1424.
- Guyton, A.C., Hall, J.E., 2007, *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi ke-11*. Irawati, dkk., penerjemah; Rachman LY, editor. Jakarta
- Harder, T.C., and Warner, O., 2006, Avian Influenza. [www.Influenzareport.com](http://www.Influenzareport.com).
- Harlow, E., and Lane, D., 1988, *Antibodies, A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory, New York.
- Kamps, Hoffman, Preiser, 2006, *Influenza Report*, Indeks, Jakarta
- Lissoni, P., S. Zerbini and F. Rovelli, 1998, Biotherapy with the pineal immunomodulating hormone melatonin versus melatonin plus Aloe vera in untreatable advanced solid neoplasma. *Nat. Immun.* 16(1): 27 – 33.
- Mader, S.S., 1997, *Inquiry into Life. 8th Edition*. Columbus: McGraw Hill Company.
- Mayer, G., 2009, *Immunoglobulins Structure and Functions*. <http://pathmicro.med.sc.edu/may>

- er/IgStruct2000.htm [26 Desember 2011].
- Medion, 2006, *Medivac® AI subtype H5N1 vaksin inaktif berbentuk emulsi untuk mencegah penyakit Avian influenza (AI) pada unggas*. Diakses pada tanggal 15 Mei 2014, dari <http://info.medion.co.id/index.php/lain-lain/informasi-produk/medivac-ai>.
- Murphy, F.A., dkk., 2006, *Veterinary Virology Third Edition*. New York: Academic Press.
- Naipospos, T.S.P., 2007, *Kesehatan Hewan untuk Kesejahteraan Manusia*. Bogor: CIVAS Press.
- Peiris, J.S., Yu, W.C., Leung, C.W., dkk., 2004, *Re-emergence of fatal human influenza A subtype H5N1 disease*. *Lancet* 2004; 363: 617-619. Pustaka. Jakarta. Hlm 1-21.
- Peng, S.Y., J. Norman, G. Curtin, D. Corrier, H.R. McDaniel, and D. Busbee, 1991, Decreased mortality of Norman murine sarcoma in mice treated with the immunomodulator, Acemannan. *Molecular Biotherapeutics* 3: 9-87.
- Ramamoorthy, L., M.C. Kemp, and I.R. Tizard, 1996, Acemannan, a beta-(1,4)-acetylated mannan, induces nitric oxide production in macrophage cell line RAW 264.7. *Molecular Pharmacology* 50: 78-84.
- Soedjodono, R.D., dan Handharyani, E., 2005, *Flu Burung, Virus Flu Burung dari Unggas terbukti bisa Menular ke Manusia, Jangan Panik, Tetapi tetap Waspada*. Depok: Penebar Swadaya.
- Songserm, T.A., Amonsin, R. Jam-on, N. Sae-Heng, N. Pariyothorn, S. Payungporn, A. Theamboonlers, S. Chutinimitkul, R. Thanawongnuwech, Y. Poovorawan, 2006, Fatal Avian Influenza A H5N1 in Dog. *Emerging infectious diseases (EID)* 12 (11): 1744-1747. [www.cdc.gov/eid](http://www.cdc.gov/eid) [14 Januari 2008].
- Specter, S., 2000, *Clinical Virology Manual 3rd edition*. Washington D.C: ASM Press.
- Stuart, R.W., D.L. Lefkowitz and S.S. Lefkowitz, 1997, Upregulation of phagocytosis and candidicidal activity of macrophages exposed to the immunostimulant acemannan. *Int. J. Immunopharmacol.* 19 (2): 75 – 82.
- Suarez, D.L. and S. Schultz-Cherry, 2000, Immunology of avian influenza virus: a review. *Develop. and Comp. Immun.* 24: 269 – 283

- Tabbu, C.R., 2000, *Penyakit Ayam dan Penanggulangannya. Penyakit Bakterial, Mikal dan Viral*. Edisi II, Vol. 1, Hal. 232-244, Kanisius, Yogyakarta.
- Tizard, I.R., 1988, *Pengantar Immunologi Veteriner*. (Edition. S. Hasdjosworo). Airlangga Univ. Press. Surabaya.
- Tizard, I.R., 2004. *Veterinary Immunology: an Introduction Sixth Edition*. Pennsylvania: WB Saunders.
- Trisnawati, W., 2014, Uji Aktivitas Immunostimulator Jus Daun Lidah Buaya (*Aloe barbadensis Mill.*) Terhadap Produksi Antibodi Spesifik (IgY Anti-AI) Pada *Cortunix japonica* yang Terinduksi Vaksin Avian Influenza Subtipe H5N1, KTI, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Yogyakarta.
- Uiprasertkul, M., Puthavathana, P., Sangsiriwut, K., dkk., 2005, Influenza A H5N1 replication sites in humans. *Emerg. Infect. Dis.* 2005; 11: 1036-1041.
- Webster, R.G., Hulse, D.J., 2004, Microbial Adaptation and Change : Avian Influenza, Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz., 23 (2), 453-465.
- WHO., 2004. Confirmed Human Cases of Avian Influenza A (H5N1). Available from : [www.who.int/csr/avianinfluenza/country/casestable20040212/en/](http://www.who.int/csr/avianinfluenza/country/casestable20040212/en/) [Accessed on 20 May 2010]
- WHO., 2006, *H5N1 Avian Influenza in Domestic Cat*. [http://www.who.int/csr/don/2006\\_02\\_28a/en/index.html](http://www.who.int/csr/don/2006_02_28a/en/index.html). [9 Maret 2008].
- Wiedosari E., 2007., Peranan Immunomodulator Alami (Aloe vera) Dalam Sistem Imunitas Seluler dan Humoral, *WARTAZOA Vo 17*. 2007.
- Womble, D. and J.H. Heldeman, 1988, Enhancement of allo-responsiveness of human lymphocytes acemannan. *Int. J. Immunopharmacol.* 10 (8): 967 – 974.
- World Health Organization, 2005, WHO inter-country-consultation: influenza A/H5N1 in humans in Asia: Manila, Philippines, 6-7 May 2005. available from: <http://www.who.int/csr/resources/publications/influenza/WHO>.
- World Health Organization., 2008. Cases Table of Avian Influenza. [http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/country/cases\\_table\\_2008\\_7\\_12/en/index.html](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/country/cases_table_2008_7_12/en/index.html). [9 Juli 2008]. Wibawan, I.W.T dkk.,2003. *Diktat Immunologi Veteriner*. Bogor : Laboratorium

Imunologi veteriner Departemen  
IPHK FKH IPB.

Youngken, H.W., 1961, *Textbook of Pharmacology*, 6<sup>th</sup>, Ed., hal 298-203, The Blakiston Division, Mc. Graw-Hill Company, Inc., New York-Toronto-London.

Zhang, L. and I.L. Tizard, 1996, Activation of a mouse macrophage cell line by acemannan: the major carbohydrate fraction from Aloe vera gel. *Immunopharmacol.* 35 (2): 119 – 128.