

BAB II

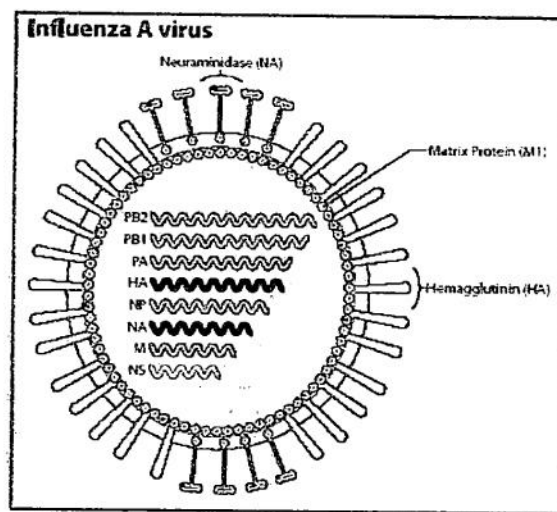
TINJAUAN PUSTAKA

A. FLU BURUNG

Virus Avian Influenza adalah virus jenis Influenza tipe A dimana unggas adalah host (induk semangnya) dan beradaptasi di dalam tubuhnya. Virus influenza Tipe A termasuk dalam famili Orthomyxoviridae memiliki amplop dengan bentuk *pleiomorphic* berukuran antara 80-120 nm. Strain virus influenza Tipe A diklasifikasikan berdasarkan subtipe serologik dari susunan primer protein permukaan virus yaitu haemagglutinin (HA) dan neuraminidase (NA). Haemagglutinin (HA) memiliki 16 subtipe (H1-H16) dan 9 subtipe N (N1-N9). Subtipe H dan N dapat membentuk berbagai macam kombinasi, diperkirakan ada 144 kombinasi yang bisa terjadi dan telah ditemukan di spesies alami yang ada di dunia. Walaupun mungkin ada beberapa kombinasi yang lebih sering muncul dibandingkan dengan kombinasi H dan N lainnya (Russel, 2008). Walaupun *host natural* dari virus AI adalah unggas air tapi virus ini telah beradaptasi pada tubuh unggas lainnya dan mamalia. Virus AI telah secara garis besar dibagi menjadi *Low Pathogenic Avian Influenza* (LPAI) dan *High Pathogenic Avian Influenza* (HPAI).

Office International des Epizooties (OIE) telah mengklasifikasikan virus AI berdasarkan susunan protein HA pada virus AI. Secara biologis perbedaan antara HPAI dan LPAI terletak pada infeksi sistemik yang terjadi pada tubuh hewan. LPAI cenderung mengakibatkan infeksi yang terlokalisasi hanya pada saluran respiratori (Spackman, 2008). Pada manusia hanya terdapat jenis H1N1,

H2N2, H3N3, H5N1, H9N2, H1N2, H7N7. Sedangkan pada binatang H1-H5 dan N1-N98. Strain yang sangat ganas dan menyebabkan flu burung adalah dari subtipe A H5N1. Virus tersebut dapat bertahan hidup di air sampai 4 hari pada suhu 22°C dan lebih dari 30 hari pada 30°C. Virus akan mati pada pemanasan 60°C selama 30 menit atau 56°C selama 3 jam dan dengan detergent, desinfektan misalnya formalin, serta cairan yang mengandung iodin (Aditama, 2004).



Gambar 1. Struktur gen virus *Avian Influenza*

Masa inkubasi AI sangat pendek, yaitu 3 hari dengan rentang 2-4 hari. Virus AI dapat menyerang berbagai organ pada manusia, yaitu paru-paru, mata, saluran pencernaan, dan sistem syaraf pusat. Manifestasi klinis AI pada manusia seperti influenza tipikal yaitu demam, batuk, sakit tenggorokan, nyeri otot, sakit kepala, malaise, infeksi mata (konjungtivitis), pneumonia, *Acute Respiratory Distress Syndrome* (ARDS) dan diare pada gangguan saluran cerna. Manifestasi klinis saluran nafas bagian bawah biasanya timbul pada awal penyakit. Dispneu timbul pada hari ke-5 setelah awal penyakit. Produksi sputum bervariasi dan

kadang-kadang disertai darah. Hampir pada semua pasien menunjukkan gejala klinis pneumonia.

Virus AI mempunyai amplop dengan *lipid bilayer* yang berasal dari hospes dan ditutupi dengan sekitar 500 tonjolan yang mempunyai aktivitas haemaglutinasi dan neuraminidase. Aktivitas ini diperankan oleh 2 glikoprotein utama pada permukaan virus yaitu HA dan NA dalam bentuk homotrimer dan homotetramer (Asmara, 2007). Berdasarkan antigenicity glikoprotein, virus influenza A sekarang ini dikelompokkan menjadi subtipe 16 H (H1-H16) dan 9 N (N1-N9). Pengelompokan ini menurut analisis filogenetis nukleotida dan urutan asam amino gen-gen HA dan NA (Fouchier, 2005).

Mutasi genetik virus AI seringkali terjadi sesuai dengan kondisi dan lingkungan replikasinya. Mutasi gen ini tidak saja untuk mempertahankan diri akan tetapi juga dapat meningkatkan sifat patogenisitasnya. Penelitian terhadap virus H5N1 yang diisolasi dari pasien yang terinfeksi pada tahun 1997, menunjukkan bahwa mutasi genetik pada posisi 627 dari gen PB2 yang mengkode ekspresi *polymesase basic protein* (Glu627Lys) telah menghasilkan *highly cleavable hemagglutinin glycoprotein* yang merupakan faktor virulensi yang dapat meningkatkan aktivitas replikasi virus H5N1 dalam sel hospesnya (Hatta, *et al.*, 2001). Disamping itu adanya substitusi pada nonstructural protein (Asp92Glu), menyebabkan H5N1 resisten terhadap interferon dan *tumor necrosis factor* secara invitro (Seo, *et al.*, 2002).

Infeksi virus H5N1 dimulai ketika virus memasuki sel hospes setelah terjadi penempelan spikes virion (spikes hemagglutinin) dengan reseptor spesifik

yang mengandung *sialic acid* (SA) 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 avian influenza H5N1 dapat bereplikasi di dalam sel nasofaring (Peiris, *et al.*, 2004) dan di dalam sel gastrointestinal (de Jong, 2005; Uiprasertkul, *et al.*, 2005).

Virus H5N1 juga dapat dideteksi di dalam darah, cairan serebrospinal, dan tinja pasien (WHO, 2005). Fase penempelan (*attachment*) adalah fase yang paling menentukan apakah virus bisa masuk atau tidak ke dalam sel hospesnya untuk melanjutkan replikasinya. Ada perbedaan penting antara molekul reseptor yang ada pada manusia dengan reseptor yang ada pada unggas atau binatang. Pada virus flu burung, mereka dapat mengenali dan terikat pada reseptor yang hanya terdapat pada jenis unggas yang terdiri dari oligosakarida yang mengandung N-acetylneuraminic acid-2,3-galactose (SA-2,3-Gal), dimana molekul ini berbeda dengan reseptor yang ada pada manusia. Reseptor yang ada pada permukaan sel manusia adalah SA-2,6-galaktose (SA-2,6-Gal), sehingga secara teoritis virus flu burung tidak bisa menginfeksi manusia karena perbedaan reseptor spesifiknya. Namun demikian, dengan perubahan hanya 1 asam amino saja konfigurasi reseptor tersebut dapat dirubah sehingga reseptor pada manusia dikenali oleh HPAI-H5N1. Potensi virus H5N1 untuk melakukan mutasi inilah yang dikhawatirkan sehingga virus dapat membuat varian-varian baru dari HPAI-H5N1

yang dapat menular antar manusia ke manusia (Russel and Webster, 2005; Stevens, *et al.*, 2006).

Faktor yang dapat membatasi penularan flu burung dari ternak ke manusia adalah jarak dan intensitas dalam aktivitas dalam berinteraksi dengan kegiatan peternakan. Semakin dekat jarak peternakan yang terkena wabah virus dengan lingkungan manusia maka peluang untuk menularnya virus bisa semakin besar. Penularan virus ke manusia lebih mudah terjadi jika orang tersebut melakukan kontak langsung dengan aktivitas ternak. Perlu diperhatikan pula cara pengolahan atau memasak daging unggas. Daging yang dimasak harus dipastikan matang untuk menghindari adanya sisa kehidupan dari virus. Kematian virus dapat terjadi jika dipanaskan dengan suhu 60°C selama 3 jam. Semakin meningkat suhu akan semakin cepat mematikan virus. Telur yang cangkangnya terdapat kotoran kering perlu diwaspadai. Hal ini dilakukan untuk mengantisipasi kotoran yang menempel pada telur tadi berasal dari kotoran unggas yang terjangkit flu burung. Jika memperoleh telur seperti ini maka sebaiknya segera mencuci tangan dengan alkohol. Sebaiknya menghindari makan telur yang tidak matang atau setengah matang karena kemungkinan masih ada virus yang terkandung di dalamnya (Soejoedono, 2005).

Orang yang mempunyai risiko besar terserang flu burung adalah pekerja peternakan unggas, penjual, penjamah unggas, sampai ke dokter hewan yang bertugas memeriksa kesehatan ternak di peternakan. Sampai saat ini, peneliti meyakini bahwa flu burung ditularkan dari unggas ke manusia. Kemungkinan penularan flu burung antar-manusia kecil, tetapi tetap perlu diwaspadai. Hal ini

dikarenakan virus cepat bermutasi dan beradaptasi dengan manusia sehingga memungkinkan adanya varian baru dari flu burung (Russel, *et al.*,2005).

B. SIRIH MERAH



Gambar 2. *Piper crocatum*

Klasifikasi daun sirih merah

Kingdom	: Plantae (tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (berpembuluh)
Superdivisio	: Spermatophyta (menghasilkan biji)
Divisio	: Magnoliophyta (berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua/ dikotil)
Sub-kelas	: Magnoliidae
Ordo	: Piperales
Family	: Piperaceae
Genus	: Piper
Species	: <i>Piper crocatum</i> (Sudewo, 2010).

Sirih merah adalah salah satu tanaman obat potensial yang sejak lama telah diketahui memiliki berbagai khasiat obat untuk menyembuhkan berbagai jenis

penyakit. Tanaman ini tumbuh menjalar seperti halnya sirih hijau. Batangnya bulat berwarna hijau keunguan dan tidak berbunga. Permukaannya kasar dan bila terkena cahaya akan cepat mengering. Batangnya bersulur dan beruas dengan jarak buku 5-10 cm. Daunnya bertangkai membentuk jantung dengan bagian atas meruncing, bertepi rata, dan permukaannya mengilap atau tidak berbulu. Panjang daunnya bisa mencapai 15-20 cm. Warna daun bagian atas hijau bercorak putih keabu-abuan. Bagian bawah daun berwarna merah hati cerah. Daunnya berlendir, berasa sangat pahit, dan beraroma wangi khas sirih. Akar daun sirih merah adalah akar tunggang yang bentuknya bulat dan berwarna coklat kekuningan (Sudewo, 2010).

Sirih merah tidak dapat tumbuh subur di daerah panas. Sementara itu, di tempat berhawa dingin sirih merah dapat tumbuh dengan baik. Jika terlalu banyak terkena sinar matahari, batangnya cepat mengering, tetapi jika disiram secara berlebihan akar batang cepat membusuk. Tanaman sirih merah akan tumbuh dengan baik di tempat yang teduh dan tidak terlalu banyak terkena sinar matahari (Sudewo, 2010).

Berdasarkan pemeriksaan menggunakan uji fitokimia dan KLT menunjukkan daun sirih merah mengandung flavonoid, alkaloid, senyawa polifenolat, terpenoid, tanin dan minyak atsiri (Sudewo, 2010). Senyawa flavonoid adalah senyawa-senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon, terdiri dari dua cincin benzena yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier yang terdiri dari tiga atom karbon. Senyawa flavonoid sebenarnya terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, bunga,

buah, dan biji. Kebanyakan flavonoid ini berada di dalam tumbuh-tumbuhan, kecuali alga (Doloksaribu, 2009).

Tanin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman dan disintesis oleh tanaman. Tanin tergolong senyawa polifenol dengan karakteristiknya yang dapat membentuk senyawa kompleks dengan makromolekul lainnya. Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin yang mudah terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin yang mudah terhidrolisis merupakan polimer gallic atau ellagic acid yang berikatan ester dengan sebuah molekul gula, sedangkan tanin terkondensasi merupakan polimer senyawa flavonoid dengan ikatan karbon-karbon (Westendarp, 2006).

Minyak atsiri adalah cairan jernih berbau seperti tanaman asalnya. Biasanya terdapat dalam kelenjar minyak, pembuluh-pembuluh sekresi atau rambut kelenjar dari kelenjar aromatis. Kegunaan minyak atsiri bagi tanaman sendiri adalah menolak kehadiran binatang. kebanyakan minyak atsiri bersifat anti bakteri dan anti jamur yang kuat. Minyak atsiri berperan sebagai antibakteri dengan cara mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel sehingga tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna (Juliantina, *et al.*, 2009).

C. EKSTRAKSI

Ekstraksi adalah mengeluarkan senyawa dalam jaringan. Untuk mengekstrak suatu senyawa diperlukan pengerusakan atau penghancuran dinding sel atau membran sel secara fisik, mekanik atau kimiawi (Fermeglia, 2008). Jaringan tumbuhan yang digunakan adalah jaringan tumbuhan yang segar. Pengeringan dilakukan dalam keadaan terawasi untuk mencegah terjadinya

perubahan kimia yang terlalu banyak. Macam-macam metode ekstaksi yang dapat dilakukan diantaranya:

1. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur ruangan (Depkes RI Dirjen POM, 2000). Semakin banyak perbandingan simplisia terhadap cairan pengekstraksi, maka semakin banyak pula hasil yang diperoleh (Voight, 2005).

2. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna. Perkolasi dilakukan dalam wadah berbentuk silindris (perkolator) yang memiliki jalan masuk dan keluar yang sesuai. Bahan pengekstraksi yang dialirkan secara terus menerus dari atas, akan mengalir turun secara lambat melalui simplisia yang umumnya berbentuk serbuk sehingga konsentrasi pelarutnya dapat dipertahankan. Sehingga ekstraksi total secara teoritis dimungkinkan (Voight, 1995).

3. Soxhlet

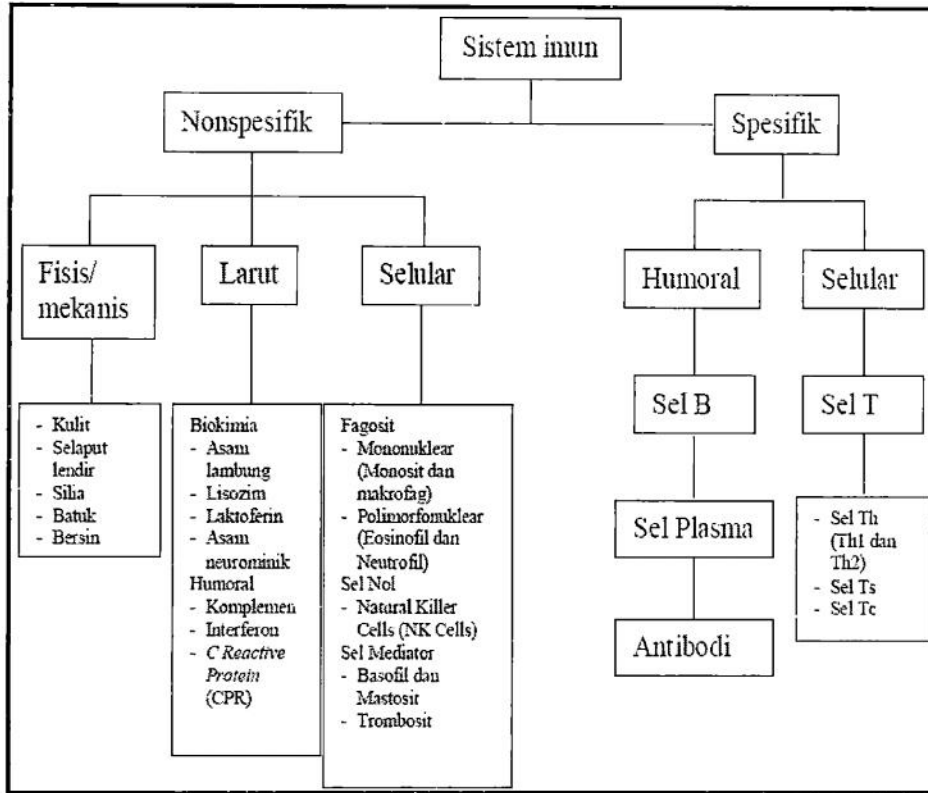
Teknik ini menggunakan ekstraksi kontinu dengan pelarut-pelarut yang polaritasnya makin meningkat. Simplisia ditempatkan dalam wadah soxhlet yang dibuat dari kertas saring, melalui alat ini pelarut akan terus direfluks. Alat soxhlet akan mengosongkan isinya ke dalam labu dasar-bulat setelah pelarut mencapai kadar tertentu. Setelah pelarut segar melewati alat ini melalui pendingin refluks, ekstraksi berlangsung sangat efisien dan senyawa

dari simplisia secara efektif ditarik ke dalam pelarut karena konsentrasi awalnya rendah dalam pelarut (Heinrich, 2010).

D. SISTEM IMUN

Sistem imun merupakan sistem yang mempertahankan kesehatan seseorang. Apabila sistem imun seseorang dalam keadaan baik, dapat merespon segala rangsangan terutama agen-agen infeksi patogen. Gabungan sel, molekul dan jaringan yang berperan dalam resistensi terhadap infeksi disebut sistem imun. Reaksi yang dikoordinasi sel, molekul dan bahan lainnya terhadap mikroba disebut respon imun (Baratawidjaja, 2012).

Sistem imun dapat dibagi menjadi sistem imun alamiah (non-spesifik) dan adaptif (spesifik). Sistem imun non-spesifik berupa komponen normal tubuh, jumlahnya dapat ditingkatkan oleh infeksi. Disebut non-spesifik karena tidak ditujukan terhadap mikroba tertentu, sudah ada dan siap berfungsi sejak lahir. Mekanismenya tidak spesifik terhadap bahan asing dan mampu melindungi tubuh terhadap banyak patogen potensial. Termasuk dalam sistem imun non-spesifik adalah pertahanan fisik, biokimia, humoral dan seluler (Baratawidjaja, 2012).



Gambar 3. Gambaran umum sistem imun

Sistem imun spesifik mempunyai kemampuan untuk mengenal benda yang dianggap asing bagi dirinya. Benda asing yang pertama yang pertama kali terpejan dengan tubuh segera dikenal oleh sistem imun spesifik. Sehingga menimbulkan sensitasi dimana jika antigen yang sama masuk kedalam tubuh untuk kedua kali akan dikenal lebih cepat dan kemudian dihancurkan (Baratawidjaja, 2012).

Menurut Baratawidjaja (2012) sistem imun spesifik terdiri atas :

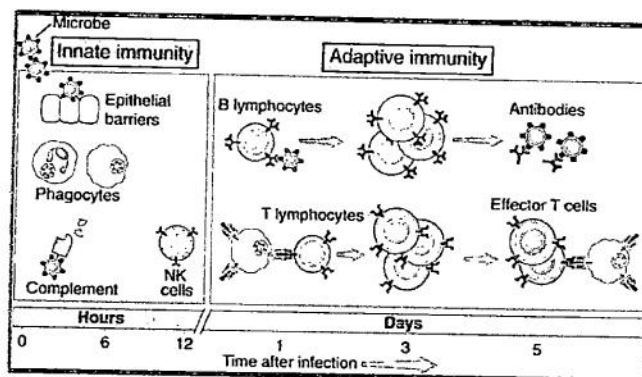
1. Humoral

Pemeran utama dalam sistem imun spesifik humoral adalah limfosit B yang berasal dari sel asal multipoten di sumsum tulang. Pada unggas, sel B akan berdiferensiasi menjadi sel B yang matang dalam alat yang disebut *Bursa*

Fabricus yang terletak dekat kloaka. Pada manusia diferensiasi tersebut terjadi dalam sumsum tulang.

2. Seluler

Dalam sistem imun seluler yang berperan adalah limfosit T yang dibentuk dalam sumsum tulang, tetapi berdiferensiasi di dalam kelenjar timus dan hanya 5-10% menjadi matang yang kemudian akan masuk ke dalam sirkulasi. Limfosit T terdiri atas beberapa subset sel dengan fungsi yang berlainan yaitu sel $CD4^+$ (Th1, Th2), $CD8^+$ dan Ts (Th3). Fungsi utama sistem imun spesifik seluler ialah pertahanan terhadap bakteri yang hidup intraseluler, virus, jamur, parasit dan keganasan. $CD4^+$ mengaktifkan sel Th1 kemudian mengaktifkan makrofag yang kemudian akan menghancurkan mikroba. Sel $CD8^+$ memusnahkan sel yang terinfeksi.

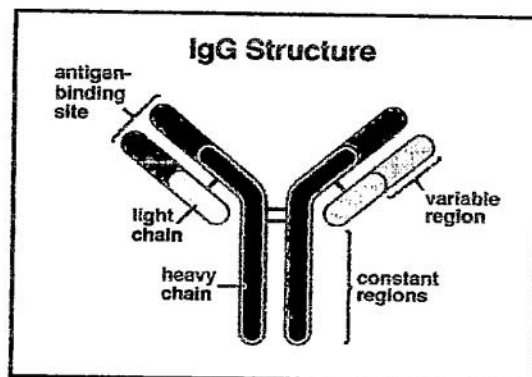


Gambar 4. Perbedaan fungsi sistem imun nonspesifik dan spesifik

E. IMUNOGLOBULIN G

Imunoglobulin G 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). Berat molekul IgG sekitar 180 kDa dan memiliki dua rantai berat serta dua rantai ringan yang identik. Dengan mikroskop elektron, IgG terlihat berupa molekul berbentuk Y dengan lengan dari Y yang mampu mengikat antigen. Kedua fragmen lengan dari molekul adalah identik dan masih memiliki kemampuan untuk mengikat antigen. Bagian hipervariabel pada rantai ringan dan rantai berat bersama-sama membentuk suatu tempat pengikatan antigen tunggal. Kekhususan interaksi antara antigen dan antibodi dijelaskan berdasarkan susunan asam amino pada bagian hipervariabel mengakibatkan terjadinya tempat pengikatan antigen yang berbentuk unik. Bentuk konformasi dari tempat pengikatan antigen dengan imunoglobulin itulah yang menentukan determinan antigen khusus yang akan bereaksi dengannya (Tizard, 2004). IgG merupakan satu-satunya antibodi yang diturunkan transplasenta untuk menyediakan antibodi bagi perkembangan fetus hingga kekebalan fetus terbentuk sempurna (Harlow dan Lane, 1988).



Gambar 5. Struktur IgG (Mader 1997)

IgG memiliki struktur yang kecil sehingga lebih mudah bersirkulasi di dalam darah. IgG berperan khusus dalam reaksi inflamasi jaringan dengan meningkatkan permeabilitas vaskuler. IgG merupakan antibodi yang paling efisien dalam mempresipitasi reaksi imun. Waktu paruh biologik IgG ialah selama 23 hari dan merupakan imunitas paling baik sebagai serum transfer (Tizard 2004).

Molekul IgG dibentuk dan diedarkan oleh sel plasma dalam 4 sub-tipe yaitu IgG1, IgG2, IgG3, IgG4. IgG dapat mengaktifkan makrofag untuk mencerna partikel antigen dengan menempelkannya pada antibodi. Keberadaan molekul antibodi yang terdapat di permukaan bakteri dapat menyebabkan aglutinasi dan opsonisasi. IgG juga dihubungkan dengan hipersensitivitas tipe II dan III. IgG dapat mengaktifkan komponen jalur klasik ketika molekul yang dibutuhkan berakumulasi di permukaan antigen (Tizard 2004). 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).

F. IMUNISASI

Imunisasi adalah suatu cara untuk meningkatkan kekebalan seseorang secara aktif terhadap suatu antigen, sehingga bila kelak ia terpajan pada antigen yang serupa, tidak terjadi penyakit (Ranuh, 2008). Imunisasi merupakan suatu upaya untuk menimbulkan atau meningkatkan kekebalan seseorang secara aktif terhadap suatu penyakit (Atikah, 2010).

Imunisasi merupakan usaha memberikan kekebalan pada bayi dan anak dengan memasukkan vaksin ke dalam tubuh. Agar tubuh membuat zat anti untuk merangsang pembentukan zat anti yang dimasukkan ke dalam tubuh melalui suntikan (misalnya vaksin BCG, DPT dan campak) dan melalui mulut (misalnya vaksin polio) (Hidayat, 2008).

Tujuan imunisasi yaitu untuk mencegah terjadinya penyakit tertentu pada seseorang dan menghilangkan penyakit tertentu pada sekelompok masyarakat (populasi) atau bahkan menghilangkan suatu penyakit tertentu dari dunia (Ranuh, 2008).

Menurut Atikah (2010) secara umum tujuan imunisasi antara lain:

1. Melalui imunisasi, tubuh tidak mudah terserang penyakit menular
2. Imunisasi sangat efektif mencegah penyakit menular
3. Imunisasi menurunkan angka morbidity (angka kesakitan) dan mortalitas (angka kematian) pada balita

Imunisasi telah dipersiapkan sedemikian rupa agar tidak menimbulkan efek-efek yang merugikan. Imunisasi ada 2 macam, yaitu imunisasi aktif dan pasif.

Imunisasi aktif merupakan pemberian suatu bibit penyakit yang telah dilemahkan agar nantinya sistem imun tubuh berespon spesifik dan memberikan suatu ingatan terhadap antigen ini, sehingga ketika terpapar lagi tubuh dapat mengenali dan meresponnya. Contoh imunisasi aktif adalah imunisasi polio dan campak. Dalam imunisasi aktif, terdapat beberapa unsur-unsur vaksin, yaitu:

1. Vaksin dapat berupa organisme yang secara keseluruhan dimatikan, eksotoksin yang didetoksifikasi saja, atau endotoksin yang terikat pada protein pembawa seperti polisakarida, dan vaksin dapat juga berasal dari ekstrak komponen-komponen organisme dari suatu antigen. Dasarnya adalah antigen harus merupakan bagian dari organisme yang dijadikan vaksin.
2. Pengawet, stabilisator atau antibiotik. Merupakan zat yang digunakan agar vaksin tetap dalam keadaan lemah atau menstabilkan antigen dan mencegah tumbuhnya mikroba. Bahan-bahan yang digunakan seperti air raksa dan antibiotik yang biasa digunakan.
3. Cairan pelarut dapat berupa air steril atau juga berupa cairan kultur jaringan yang digunakan sebagai media tumbuh antigen, misalnya antigen telur, protein serum, dan bahan kultur sel.
4. Adjuvan, terdiri dari garam alumunium yang berfungsi meningkatkan sistem imun dari antigen. Ketika antigen terpapar dengan antibodi tubuh, antigen dapat melakukan perlawanan juga, dalam hal ini semakin tinggi perlawanan maka semakin tinggi peningkatan antibodi tubuh.

Imunisasi pasif merupakan suatu proses meningkatkan kekebalan tubuh dengan cara pemberian zat imunoglobulin, yaitu zat yang dihasilkan melalui suatu

proses infeksi yang dapat berasal dari plasma manusia (kekebalan yang didapat bayi dari ibu melalui plasenta) atau binatang (bisa ular) yang digunakan untuk mengatasi mikroba yang sudah masuk dalam tubuh yang terinfeksi. Contoh imunisasi pasif adalah penyuntikan ATS (Anti Tetanus Serum) pada orang yang mengalami luka kecelakaan. Contoh lain adalah yang terdapat pada bayi yang baru lahir dimana bayi tersebut menerima berbagai jenis antibodi dari ibunya melalui darah plasenta selama masa kandungan, misalnya antibodi terhadap campak (Atikah, 2010).

Semua orang yang kontak dengan ternak atau peternakan yang dicurigai atau diketahui terkena AI (H5N1), khususnya orang yang melakukan pemusnahan hewan ternak yang terjangkit atau mati akibat AI, dan orang yang tinggal dan bekerja pada peternakan dimana dilaporkan atau dicurigai terkena dampak AI atau ditempat dimana pemusnahan dilakukan, serta pekerja kesehatan yang setiap hari berhubungan dengan pasien yang diketahui atau dikonfirmasi menderita AI H5N1 dianjurkan untuk vaksinasi. Dalam hal jumlah vaksin yang memadai, maka para pekerja kesehatan dalam unit gawat darurat di area yang terjangkit H5N1 pada unggas dapat diberikan (WHO, 2006).

Vaksin homolog inaktif pada umumnya digunakan untuk mengendalikan wabah AI di Indonesia pada tahun awal ditemukannya wabah penyakit ini. Vaksin semacam ini juga sudah diproduksi di Indonesia dan peternak unggas di lapangan umumnya menyatakan bahwa efektifitas vaksin ini cukup baik, ditinjau dari pemeriksaan serologis sebelum dan sesudah vaksinasi dan juga daya proteksinya terhadap serangan penyakit AI. Vaksin homolog ini mengandung virus mati

dengan tipe H5N1, yaitu tipe yang sama dengan penyebab wabah AI di Indonesia. Bibit virus untuk pembuatan vaksin ini juga berasal dari isolat lokal virus penyebab wabah AI di Indonesia. Sedangkan vaksin heterolog adalah vaksin inaktif dengan kandungan virus AI dari tipe yang berbeda dari virus penyebab wabah AI di Indonesia. Vaksin heterolog yang telah beredar adalah vaksin yang mengandung tipe virus H5N2, vaksin inaktif yang mengandung tipe virus H5N9 dan sebagainya.

Sejak 24 Januari 2004 seperti yang diumumkan oleh Dirjen Produksi Peternakan yang memiliki kewenangan medis veteriner, penyakit flu burung atau AI pada hewan dan unggas berstatus wabah. Pada awal terjadinya wabah tahun 2003, telah kita ketahui banyak vaksin ilegal asal China yang beredar. Vaksin ini mengandung virus AI dengan yang berbagai macam tipe dan terkadang tidak jelas tipe virus AI yang terkandung di dalamnya. Efektifitas vaksin ini di lapangan juga bermacam-macam. OIE meragukan kualitas dari beberapa vaksin produksi China. Tetapi laporan FAO dari Vietnam menunjukkan bahwa vaksin China sudah memberikan dampak pada pengendalian wabah AI pada unggas (FAO, 2006).

Akhir akhir ini, distribusi vaksin AI sudah didominasi oleh vaksin impor heterolog. Hal ini cukup menimbulkan banyak pertanyaan dan perdebatan karena belum ada data hasil penelitian di Indonesia yang mendukung efektifitas vaksin heterolog tersebut. Pada pengamatan di laboratorium dan lapangan, ternyata vaksin AI yang baik harus memenuhi beberapa persyaratan yaitu: dapat melindungi terhadap timbulnya gejala klinis dan kematian, mengurangi *shedding* virus lapangan jika unggas yang divaksin terserang AI, dapat mencegah penularan

kontak dengan virus lapangan, memberikan paling sedikit 20 minggu proteksi sesudah vaksinasi tunggal atau dengan ulangan, melindungi terhadap tantangan dosis rendah sampai tinggi dari virus lapangan, melindungi terhadap adanya perubahan pada virus lapangan dan meningkatkan daya tahan terhadap infeksi virus influenza (Swayne, 2005).

Penentuan vaksin yang baik digunakan untuk mengatasi wabah AI di Indonesia, tentunya kesemua syarat vaksin AI yang telah disebutkan di atas perlu dipenuhi. Untuk itu pengamatan efikasi vaksin tidak hanya perlu dilakukan di laboratorium, tetapi perlu juga diamati efikasinya di lapangan. Untuk kemudian hasil evaluasinya akan dapat menentukan vaksin yang sesuai dan baik untuk mengatasi wabah AI di lapangan (Swayne, 2005).

G. HAEMAGGLUTINATION INHIBITION

Haemagglutination Inhibition Test atau uji hambat hemaglutinasi merupakan salah satu uji sederhana yang dapat digunakan untuk mendeteksi dan titrasi antibodi terhadap virus yang dapat mengaglutinasikan sel darah merah (Siregar, *et al.*, 2006). Virus AI merupakan salah satu virus yang mampu mengaglutinasikan sel darah merah sehingga antibodi terhadap virus tersebut dapat diidentifikasi dengan memanfaatkan uji hambat hemaglutinasi (Rowe, *et al.*, 1999; Kuiken, *et al.*, 2003; Louisirochanakul, *et al.*, 2007)

H. KROMATOGRAFI

Kromatografi pertama kali dikembangkan oleh seorang ahli botani Rusia, Michael Tswett pada tahun 1903 untuk memisahkan pigmen berwarna dalam tanaman dengan cara perkolasi ekstrak petroleum eter dalam kolom gelas yang

berisi kalsium karbonat (CaCO_3) (Rohman, 2011). Kromatografi merupakan teknik pemisahan dua atau lebih senyawa berdasarkan pada perbedaan migrasi dan distribusi senyawa-senyawa tersebut didalam dua fase yang berbeda. Dua fase ini dapat berupa padat-cair, cair-cair, atau gas-cair. Zat terlarut di dalam suatu fase gerak mengalir pada suatu fase diam. Zat terlarut yang memiliki afinitas terhadap fase gerak yang lebih besar akan tertahan lebih lama pada fase gerak, sedangkan zat terlarut yang afinitasnya terhadap fase gerak lebih kecil akan tertahan lebih lama pada fase diam. Sehingga senyawa tersebut dapat dipisahkan komponen demi komponen akibat perbedaan migrasi di dalam fase gerak dan fase diam (Sastrohamidjojo, 2005; Gandjar, 2008).

Menurut Rohman (2011) berdasarkan pada mekanisme pemisahannya, kromatografi dibedakan menjadi:

1. Adsorpsi

Adsorpsi terjadi hanya pada permukaannya saja, yang melibatkan interaksi-interaksi elektrostatik seperti ikatan hidrogen, penarikan dipol-dipol dan penarikan yang diinduksi oleh dipol. Solut akan bersaing dengan fase gerak untuk berikatan dengan sisi-sisi polar pada permukaan adsorben. Jenis adsorben (fase diam) yang digunakan adalah silika gel. Permukaan silika gel terdiri atas gugus Si-O-Si dan gugus silanol (Si-OH). Gugus silanol bersifat sedikit asam dan polar sehingga gugus ini dapat membentuk ikatan hidrogen dengan solut-solut yang agak polar sampai sangat polar.

2. Partisi

Partisi merupakan proses sorpsi yang analog dengan ekstraksi pelarut. Fase diam cair diikatkan pada padatan pendukung. Dalam partisi yang sebenarnya solut akan terdistribusi diantara fase gerak dan fase diam sesuai dengan kelarutan relatif diantara keduanya.

3. Pertukaran ion

Pertukaran ion merupakan proses yang mana solut-solut ion dalam fase gerak dapat bertukar dengan ion-ion yang bermuatan sama yang terikat secara kimiawi pada fase diam.

4. Eksklusi

Pada mekanisme eksklusi tidak ada interaksi spesifik antara solut dengan fase diam. Pemisahan pada teknik ini berdasarkan pada ukuran molekul dari fase diam.

Sedangkan berdasarkan pada alat yang digunakan, kromatografi dapat dibagi menjadi:

1. Kromatografi lapis tipis (KLT)

KLT merupakan bentuk kromatografi planar dimana fase diamnya berupa lapisan yang seragam pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, pelat aluminium atau pelat plastik. Fase diam yang digunakan merupakan penjerap yang berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30 μ m. Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam, maka semakin baik kinerja KLT dalam hal efisiensi dan resolusinya. Penjerap yang paling sering digunakan adalah silika dan

serbuk selulosa, sementara mekanisme penyerapan yang utama adalah partisi dan adsorpsi. Sedangkan, untuk fase gerak yang digunakan biasanya terdiri dari 2 campuran pelarut organik. Karena campuran pelarut organik ini mudah diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan dapat terjadi secara optimal. Fase gerak yang digunakan hendaknya mempunyai kemurnian yang sangat tinggi dan daya elusi gerak harus diatur agar harga R_f antara 0.2-0.8 untuk memaksimalkan pemisahan.

2. Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT)

KCKT merupakan teknik pemisahan untuk analisis dan pemurnian senyawa tertentu dalam suatu sampel. Selain itu metode ini tidak bersifat destruktif dan dapat digunakan baik untuk analisa kualitatif maupun kuantitatif. Kromatografi merupakan teknik dimana solut-solut terpisah oleh perbedaan kecepatan elusi, karena solut-solut ini melewati suatu kolom kromatografi. Pemisahan solut-solut ini diatur oleh distribusi solut dalam fase gerak dan fase diam. Adapun instrumen yang digunakan adalah wadah fase gerak, sistem penghantaran fase gerak, alat untuk memasukan sampel, kolom, detektor, wadah penampung buangan fase gerak, tabung penghubung dan komputer atau integrator.

3. Kromatografi gas (KG)

KG merupakan metode untuk pemisahan dan deteksi senyawa-senyawa yang mudah menguap. KG dapat bersifat destruktif dan non-destruktif tergantung pada detektor yang digunakan.

I. KERANGKA KONSEP

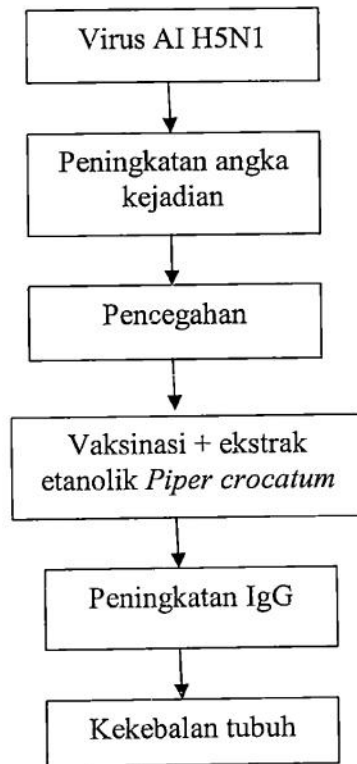
Virus *Avian Influenza* (AI) adalah virus jenis Influenza tipe A dimana unggas adalah hostnya dan beradaptasi di dalam tubuh unggas tersebut. Virus AI adalah virus yang mempunyai asam nukleat berupa RNA. RNA yang dilepaskan di dalam inti sel ditranskripsikan membentuk mRNA kemudian ditranslasikan menjadi protein-protein baru yang dibutuhkan untuk replikasi virus baru. Virus-virus baru inilah yang nantinya akan dilepaskan dan menginfeksi sel lainnya hingga dapat menyebabkan penyakit.

Virus yang menginfeksi dikenali sebagai benda asing oleh tubuh, sehingga tubuh akan memberikan reaksi penolakan terhadap benda asing tersebut. Virus yang masuk ke dalam tubuh akan dikenali oleh APC (*Antigen Presenting Cell*) yang akan mengantarkan sinyal tersebut ke molekul MHC. MHC akan memberikan sinyal kepada sel T, sehingga sel T akan berdiferensiasi dan berproliferasi menghasilkan sel-sel efektor seperti CD4, Th1 dan Th2. Sel efektor dan sitokin seperti IFN γ , IL-2, IL-4, IL-5 ini akan membantu menstimulus sel B untuk berdiferensiasi dan berproliferasi sehingga dapat menghasilkan antibodi. IFN γ juga berperan dalam pengalihan kelas dari IgM menjadi IgG.

Antibodi yang dihasilkan nantinya akan berikatan dengan makrofag, sehingga akan memacu makrofag. Aktivasi makrofag dapat meningkatkan pemusnahan virus ataupun mikroba dengan cara opsonisasi dan fagositosis. Respon antibodi tersebut sangat erat kaitannya dalam pertahanan tubuh. Jika antibodi kurang atau bahkan tidak ada maka pertahanan tubuh terhadap agen infeksi akan

berkurang sehingga agen tersebut dapat menginfeksi dan menyebabkan penyakit pada tubuh.

Untuk menghasilkan pertahanan tubuh tersebut dapat dilakukan dengan pemberian suatu zat yang dapat menstimulus peningkatan titer antibodi. Penstimulus tersebut disebut agen imunostimulator. Di zaman ilmu pengetahuan yang sudah berkembang pesat seperti sekarang ini banyak penelitian yang dilakukan untuk menemukan agen-agen imunostimulator dari bahan alam. Salah satu bahan alam yang berpotensi sebagai imunostimulator adalah daun sirih merah (*Piper crocatum*). Beberapa penelitian menyebutkan bahwa *Piper crocatum* memiliki kandungan flavonoid sehingga dapat meningkatkan fagositosis terhadap antigen. Dimungkinkan peningkatan fagositosis tersebut sejalan dengan peningkatan jumlah antibodi setelah pemberian ekstrak *Piper crocatum*. Sehingga tubuh yang sudah terstimulus ekstrak tersebut dapat terhindar dari penularan agen penyakit khususnya virus AI subtipe H5N1.



Gambar 6. Skema kerangka konsep

J. HIPOTESIS

1. Pemberian ekstrak sirih merah (*Piper crocatum*) dapat meningkatkan produksi IgG anti-AI dalam darah burung puyuh (*Cortunix sp.*) yang diinduksi vaksin AI subtipe H5N1.
2. Pemberian ekstrak sirih merah (*Piper crocatum*) mampu meningkatkan jumlah titer antibodi dengan dosis optimum 10 mg/puyuh/hari pada *Cortunix sp.* yang terinduksi vaksin AI subtipe H5N1.