

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. 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 sub tipe 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

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.

Tabel 2. Hasil Uji Statistik *Kruskal-Wallis*

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

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. 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 |

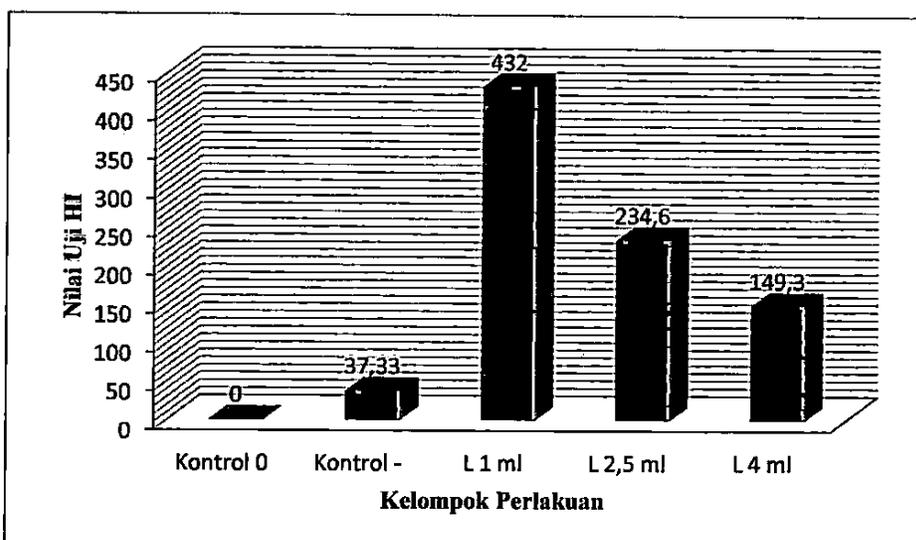
Keterangan : * $p<0.05$ (Terdapat perbedaan titer antibodi IgG yang bermakna)

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

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. Berikut merupakan rerata nilai dari HI tes yang diproyeksikan dalam bentuk histogram.



Histogram 1. Rerata Titer Antibodi IgG yang Menggambarkan Produksi IgG anti-AI antar Kelompok Perlakuan

Berdasarkan histogram diatas, dapat dilihat bahwa terjadi perbedaan yang signifikan dari rerata peningkatan titer antibodi IgG pada semua kelompok perlakuan dengan pemberian jus lidah buaya dibandingkan dengan kontrol nol dan kontrol negatif. Pemberian jus lidah buaya dengan dosis 1 ml tiap 250 g bb memberikan nilai rerata peningkatan titer antibodi IgG tertinggi. Sedangkan nilai rerata titer antibodi IgG terendah terdapat pada kelompok kontrol negatif dengan nilai 37,33.

B. 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

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[®] yang diproduksi oleh PT. Medion Farma Jaya, Bandung, Indonesia. Vaksin Medivac[®] 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 PD₅₀ virus AI. Pemberian vaksin ini melalui injeksi intramuskular pada unggas yaitu melalui otot paha

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 subtype 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

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 β . Selanjutnya Sel β 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

(IL)-1, IL-6, IL-12 dan *tumor necrosis factor alpha* (TNF α). Peran dari senyawa IL-1, IL-6, dan IL-12 adalah ikut menjadi agen pendukung dalam proses pembentukan antibodi melalui pengaktifan sel β (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 ≥ 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

... 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.