

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. TELAHAH PUSTAKA

1. *Avian Influenza* (Flu burung)

Virus *Avian Influenza* merupakan virus yang termasuk dalam famili *Orthomyxoviridae* yang diklasifikasikan dalam tipe A, B, dan C. Asam nukleat virus ini berantai tunggal, terdiri dari 8 segmen gen yang mengkode sekitar 11 jenis protein. Virus ini mempunyai tonjolan (*spikes*) yang digunakan untuk menempel pada reseptor spesifik sel-sel hospesnya saat menginfeksi. Terdapat dua jenis *spikes* yang mengandung hemagglutinin (HA) dan mengandung neuramidase (NA), *spikes* ini terletak dibagian terluar dari *virion* atau partikel lengkap dari virus (Radji, 2006).

Strain virus influenza yang sangat virulen dan menyebabkan flu burung pada manusia adalah dari subtipe A H5N1 (Santoso dkk., 2005). Berdasarkan hasil kajian secara genomik menurut Liu dkk. (2005) dikenal beberapa subtipe *Avian Influenza* akan tetapi selama 6 tahun terakhir hanya subtipe H5, H7, dan H9 yang diketahui mampu menyebar dari unggas ke manusia. Menurut Radji (2006), virus *influenza* A sangat mengancam bidang kesehatan karena sangat patogen bagi manusia dan binatang. Infeksi virus *influenza* A menyebabkan angka kesakitan dan kematian tinggi diseluruh dunia. Mulyadi dan Prihatini (2005) mengatakan

penyebab flu burung adalah virus *influenza* tipe A subtype H5, H7, dan H9. Virus AI tipe H9N2 tidak menyebabkan penyakit berbahaya bagi burung, tidak seperti H5 dan H7. Awalnya virus AI H5N1 hanya ditemukan di burung, bebek dan ayam tetapi sejak 1997 virus ini mulai menginfeksi manusia.

Menurut Radji (2006) virus H5N1 lebih patogen daripada subtype lainnya sehingga disebut dengan *Highly Pathogenic H5N1 Avian Influenza* (HPAI). Tabbu dkk. (2000) mengatakan bahwa HPAI ditandai dengan progresivitas penyakit yang cepat, mortalitas tinggi, gangguan produksi telur (berhenti atau menurun drastis), sianosis pada kulit, diare dan gangguan syaraf. Santoso dkk. (2005) menegaskan bahwa unggas terinfeksi H5N1 dapat mengeluarkan virus jumlah besar dalam kotorannya. Virus ini dapat bertahan hidup dalam air sampai 4 hari pada suhu 22⁰C dan lebih dari 30 hari pada 0⁰C. Virus ini dapat bertahan lebih lama di dalam kotoran dan tubuh unggas yang sakit. Virus akan mati pada pemanasan 60⁰C selama 30 menit atau 56⁰C selama 3 jam.

Virus *influenza* tipe A memiliki 2 sifat yang mudah berubah, yaitu *antigenic drift* dan *antigenic shift* yang dapat menyebabkan epidemi dan pandemi (Santoso dkk., 2005). *Antigenic drift* terjadi karena mutasi virus flu burung yang berasal dari subtype yang sama, dan menghasilkan varian virus yang baru. *Antigenic shift* terjadi karena pergantian gen antara kedua virus dari spesies yang berbeda. Setelah infeksi virus influenza, sitokin-sitokin diproduksi dengan cepat oleh epitel dan sel-sel imun mukosa

pernapasan, serta hormon-hormon lokal yang mengaktifkan sel-sel, terutama yang berkaitan dengan sistem imun (Kamps, 2006). Makin banyak virus AI yang bereplikasi, makin banyak pula produksi sitokin-protein dalam tubuh yang akan memicu peningkatan respon imun dan berperan penting dalam peradangan. Sitokin yang membanjiri aliran darah justru akan melukai jaringan tubuh (Santoso dkk., 2005).

Virus AI selain menyerang organ pernafasan diduga dapat menyerang organ pencernaan dan sistem syaraf. Virus *Influenza A* bisa menyebabkan pneumonia karena virus, bakterial sekunder atau kombinasi keduanya, karena dengan infeksi virus akan menyebabkan hilangnya aktivitas pembersihan zat asing (debu, bakteri, dll) oleh silia, disfungsi sel fagosit dan perlengkapan media tumbuh bakteri oleh eksudat alveolus, sehingga memudahkan pasien terkena superinfeksi bakterial (Jawetz dkk, 2005). Pada manusia, gejala flu burung cenderung lebih cepat menjadi parah. Gejalanya demam, batuk, sakit tenggorokan, sakit kepala, nyeri otot dan sendi, sampai infeksi selaput mata (*conjunctivitis*). Bila keadaan memburuk, dapat terjadi *severe respiratory distress* yang ditandai dengan sesak nafas hebat, rendahnya kadar oksigen darah, serta meningkatnya kadar CO₂ (Santoso dkk., 2005). Masa inkubasi penyakit flu burung adalah dari beberapa jam hingga beberapa hari kadang-kadang hingga 14 hari (Akoso, 2006). Virus *influenza* masih tetap infeksiif dalam feses selama 30-35 hari pada temperatur 4⁰C dan selama 7 hari pada temperatur 20⁰C (Tabbu dkk., 2000).

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

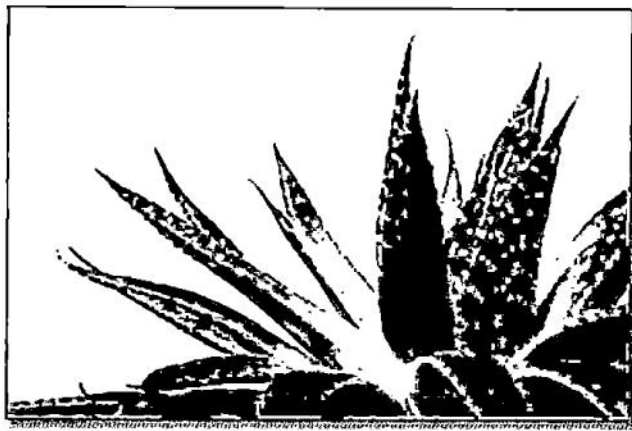
Lidah buaya merupakan tumbuhan asli dari Afrika Timur dan Selatan, ditemukan juga di laut tengah, India, dan pulau-pulau kecil sepanjang pantai Amerika Selatan (Curacao, Aruba, dan Bonaire) (Stahl, 1985). Lidah buaya adalah tumbuhan gurun yang tetap hijau sepanjang tahun, tinggi dan dapat mencapai 20 m dengan diameter batang 3 m, sangat kuat, akarnya berserabut dan banyak, terus-menerus memproduksi air dan daunnya bertipe roset, berdaging dan berduri pada pinggirnya dengan sel tubular tipis yang berfungsi sebagai penahan, apabila dipotong akan keluar cairan berwarna kuning (Atal dan Kapur, 1982). Di India barat, lidah buaya diperkebunkan dan dipotong pada bulan Maret dan April, karena pada bulan tersebut konsentrasi aloinnya tinggi, akan tetapi di Afrika diambil dari tanaman liar. Konsentrasi tertinggi dari *barbaloin* (*aloin*) ini ditemukan dalam eksudat dari daun dewasa muda dan konsentrasi terkecil ditemukan dalam eksudat dari daun yang lebih tua (Groom dan Reynolds, 1987).

Aloe adalah residu padat yang diperoleh dari hasil penguapan cairan yang keluar dari pemotongan transversal daun-daun dari berbagai spesies *Aloe*. Cairan ini biasanya dipekatkan dengan dididihkan dan dipadatkan dengan pendinginan. Jenis *Aloe* yang diakui secara resmi adalah : *Cape*, dari Afrika Selatan dan *Curacao* dari Curacao sebuah kepulauan di India Barat, Araruba, dan Bonaire. Sekitar 180 jenis *Aloe* yang terkenal yaitu *Aloe cape* diperoleh dari *Aloe ferox* dan hibridanya;

Aloe curacao diperoleh dari *Aloe barbadensis*; *Aloe socotrine*; dan *Zanzibar* diperoleh dari *Aloe perryi* (Youngken, 1961).

Klasifikasi tumbuhan lidah buaya pada penelitian ini menurut sistematikanya adalah sebagai berikut :

- Divisi : *Spermatophyta*
Anak divisi : *Angiospermae*
Kelas : *Monocotyledonae*
Bangsa : *Liliales*
Suku : *Liliaceae*
Marga : *Aloe*
Jenis : *Aloe barbadensis* Mill. (Tjitrosoepomo, 1986)



Gambar 1. Lidah Buaya (*Aloe barbadensis* Mill.) (G. R. Waller, 1978)

Sinonim dari *Aloe vera* L. adalah *Aloe barbadensis* Miller dan *Aloe vulgaris* Lamk (Perry, 1980). Morfologi *Aloe barbadensis* Mill. termasuk dalam kategori tumbuhan perdu. Lidah buaya memiliki daun yang tebal, panjang dan sempit, berdaging sangat berair, berisi lendir, permukaan atas

berbentuk cekung atau agak rata dan permukaan bawah berbentuk cembung dengan bagian pangkal melebar dan meruncing ke arah ujung, panjang daun 30-40 cm, berduri tajam pada tepinya dan tidak bertangkai. Batang lidah buaya tergolong pendek, mengayu dengan akar berserabut dan banyak, dan ruas batang luas dengan batas putih. Lidah buaya memiliki bentuk bunga majemuk bertipe tandan, melengkung atau menggantung, bunga satu demi satu sepanjang ruas dengan letak beraturan, panjang tangkai bunga 5-9 mm, benang sari berjumlah 6 tangkai dengan sari berwarna putih, bakal buah terdiri atas 3 sel, tangkai putik berbentuk benang, kepala putik kecil, buah sejati tunggal berbentuk kotak, beruang 3, biji berwarna hitam. Warna bunga kuning terang sampai jingga (Backer dan Bakhuizen, 1968).

Kandungan lidah buaya yang terutama terdapat pada cairan bening seperti jeli yang diperoleh dengan membelah batang Lidah buaya. Gel lidah buaya mengandung zat anti bakteri dan antijamur yang dapat menstimulasi pembentukan fibroblast, dan mengandung salisilat yakni zat peredam rasa sakit dan antiradang. Lektin dan polisakarida yang terkandung di dalamnya diduga dapat mencegah karsinogenesis, sedangkan pada sediaan segar substansi mirip lektin dari daun lidah buaya dapat meningkatkan pertumbuhan sel normal manusia yang dikultur namun menghambat pertumbuhan sel tumor (Furnawanthi, 2004). Gel lidah buaya juga mengandung lignin dan polisakarida yang dapat mempermudah peresapan sel ke dalam kulit sehingga aman untuk

dikonsumsi. Dilihat dari kandungan nutrisinya, daging atau gel buaya mengandung beberapa mineral seperti Zn, K, Fe, dan vitamin seperti vitamin A, B1, B2, B12, C, E, Inositol, asam folat, dan kholin (Furnawanthi, 2004).

Daging daun lidah buaya mengandung 17 jenis asam amino penting lainnya seperti Lisin, Histidin, Arginin, Asam aspartat, Treonin, Serin, Asam glutamate, Glisin, Alanin, Sistin, Valin, Metionin, Isoleusin, Tirosin, Fenilalanin, Leusin, Prolin (Djubaedah dkk., 2003). Lektin dan polisakarida yang terkandung di dalamnya diduga dapat mencegah karsinogenesis, sedangkan pada sediaan segar substansi mirip lektin dari daun lidah buaya dapat meningkatkan pertumbuhan sel normal manusia yang dikultur namun menghambat pertumbuhan sel tumor (Furnawanthi, 2004). Kandungan gel lidah buaya yang lebih penting dan terkait dengan penelitian ini adalah acemannan, yaitu berfungsi sebagai anti virus, anti bakteri, anti jamur, penghancur sel tumor, dan dapat meningkatkan daya tahan tubuh (Purbaya, 2003; Furnawanthi, 2004).

3. Sistem Imun

Sistem imun merupakan mekanisme yang digunakan tubuh untuk mempertahankan keutuhannya terhadap bahaya yang dapat ditimbulkan oleh berbagai bahan dalam lingkungan hidup. Pertahanan imun terdiri dari sistem imun alamiah atau non spesifik (*natural/innate*) dan sistem imun didapat atau spesifik (*adaptive/acquired*) (Baratawidjaja, 2002).

a. Respon imun non spesifik (*innate immunity*)

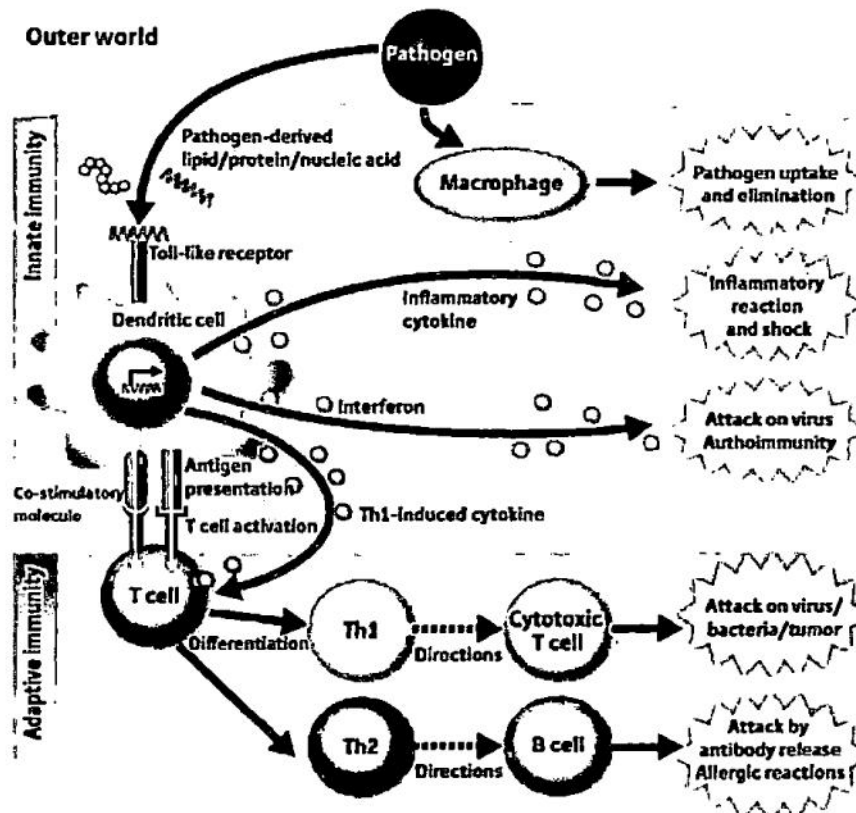
Innate immunity disebut juga *natural/native immunity*. Respon imun non spesifik ini mampu secara cepat memberikan respon terhadap paparan substansi asing yang masuk ke dalam tubuh. Prinsip dari respon imun non spesifik adalah pertahanan fisik dan kimiawi, peran dari sel-sel fagosit dan protein darah, sistem komplemen, mediator inflamasi, serta sitokin yang akan meregulasi dan mengkoordinasi berbagai sel yang terlibat dalam *innate immunity* (Abbas dkk., 2000).

b. Respon imun spesifik (*adaptive immunity*)

Imunitas perolehan adalah imunitas yang merespon antigen dan meningkat dengan adanya paparan ulangan. Respon imun spesifik mencakup rangkaian interaksi seluler yang diekspresikan dengan penyebaran produk-produk spesifik. Ciri utama sistem imun spesifik adalah spesifitas, memori, spesialisasi, membatasi diri (*self limitation*), dan membedakan *self* dan *non self*. Apabila antigen yang sama dikemudian hari masuk ke dalam tubuh, maka klon limfosit tersebut akan berpoliferasi dan menimbulkan respon sekunder spesifik yang berlangsung lebih cepat dan lebih intensif dibandingkan respon primer (Kresno, 2003).

Sel-sel sistem imun tersebar di seluruh tubuh dan ditemukan dalam sumsum tulang, darah, kelenjar getah bening, limpa, saluran nafas, saluran cerna, saluran kemih dan jaringan. Sel-sel tersebut berasal dari prekursor yang multipoten dalam sumsum tulang yang

kemudian berdiferensiasi menjadi dua golongan sel pignitor. Golongan pignitor pertama berkembang menjadi megakarosit (sel asal trombosit), eritroid (sel asal eritrosit), sel mieloid (sel asal granulosit, sel mast/basofil, eosinofil, monosit dan makrofag). Golongan sel pignitor kedua berkembang menjadi sel-sel yang berperan dalam sistem imun non spesifik dan sel limfoid berperan dalam sistem imun spesifik (Guyton dan Hall, 1997).



Gambar 2. Sistem imunitas *Innate dan Adaptive* (Kaisho, 2007)

Sistem imun pada unggas bekerja secara umum seperti sistem imun pada mamalia. Stimulasi antigenik menginduksi respons imun

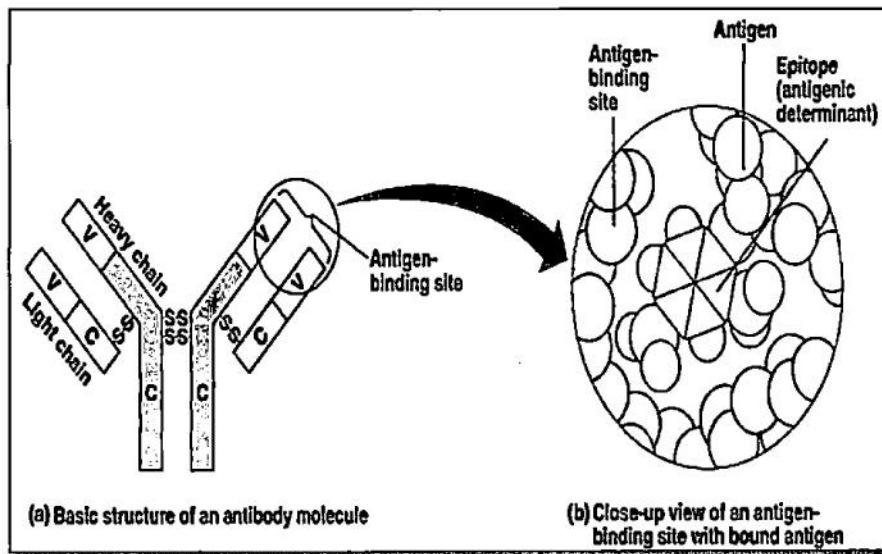
yang dilakukan sistem seluler yang secara bersama-sama diperankan oleh makrofag, limfosit B, dan limfosit T. Makrofag memproses antigen dan menyerahkannya kepada limfosit. Limfosit B, yang berperan sebagai mediator imunitas humoral, mengalami transformasi menjadi sel plasma dan memproduksi antibodi. Limfosit T mengambil peran pada imunitas seluler dan mengalami diferensiasi fungsi yang berbeda sebagai sub populasi (Tizard, 1988).

Limfosit adalah sel yang ada di dalam tubuh hewan yang mampu mengenal dan menghancurkan berbagai determinan antigenik yang memiliki dua sifat pada respon imun khusus, yaitu spesifitas dan memori (Abbas dkk., 2000). Antigen adalah zat yang dapat bereaksi dengan produk respon imun, misalnya antibodi. Namun tidak semua antigen dapat menginduksi produksi antibodi. Zat yang dapat menginduksi produksi antibodi disebut imunogen. Jadi, imunogen selalu bersifat antigenik (bereaksi dengan antibodi) tetapi antigen tidak selalu imunogenik (Jackson, 1993).

4. Antibodi dan IgY (Imunoglobulin Yolk)

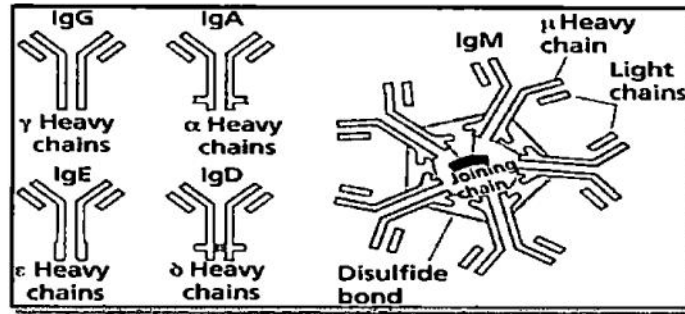
Antibodi adalah molekul protein yang dihasilkan oleh sel plasma sebagai akibat interaksi antar limfosit B peka-antigen dan antigen khusus. Antibodi mampu berikatan khusus dengan antigen serta mempercepat penghancuran dan penyingkirannya. Antibodi terdapat dalam berbagai cairan tubuh tetapi konsentrasi tertinggi terdapat di dalam serum darah (Tizard, 1988). Antibodi merupakan produk organisme yang

komplementer terhadap antigen dan spesifik, terutama golongan gamaglobulin sehingga disebut juga imunoglobulin (Mustchtler, 1991). Semua molekul imunoglobulin mempunyai 4 rantai polipeptida dasar yang terdiri atas 2 rantai berat (*heavy chain*) dan 2 rantai ringan (*light chain*) yang identik serta dihubungkan satu sama lain oleh ikatan disulfida.



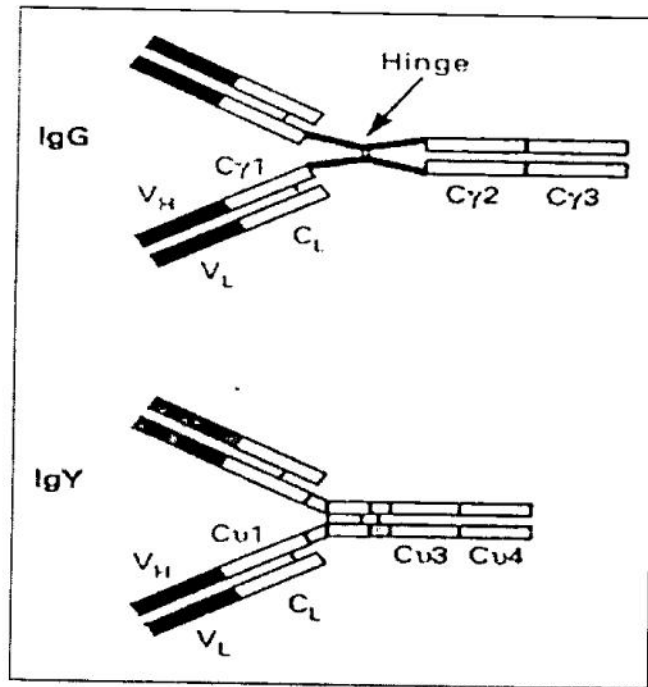
Gambar 3. Struktur Dasar Molekul Antibodi (E. W. Silverton dkk., 1977)

Ada 2 jenis rantai ringan (kappa dan lambda) yang terdiri atas 230 asam amino serta 5 jenis rantai berat yang tergantung pada kelima jenis imunoglobulin yaitu : IgG, IgA, IgM, IgD, IgE. Rantai berat terdiri dari 450-600 asam amino sehingga berat dan panjang rantai berat tersebut adalah dua kali rantai ringan. Molekul imunoglobulin mempunyai rumus bangun yang heterogen, meskipun hanya terdiri atas 4 unit polipeptida dasar (Baratawidjaja, 2002).



Gambar 4. Struktur Molekul Antibodi IgG; IgA; IgM; IgD; IgE
(Anonim, 2011)

IgY merupakan imunoglobulin utama pada unggas, yang strukturnya homolog dengan IgG pada mamalia, IgY mempunyai peranan penting dalam sistem imun unggas, termasuk didalamnya opsonisasi dan fiksasi komplemen. IgY ditransfer ke embrio unggas melalui kuning telur, untuk menyediakan imunitas pasif bagi embrio (Warr dkk., 1995). Secara umum struktur IgY sama dengan struktur IgG dalam mamalia, sama-sama mempunyai dua rantai ringan dan dua rantai berat. Berat molekul IgY dilaporkan sebesar 167-250 kDa, sedikit lebih besar dari IgG yang hanya 160 kDa (Carlander, 2002). IgY dalam kuning telur memiliki isoelektrik *point* yang lebih rendah dan sedikit berbeda sifat fisika kimianya dibandingkan dengan IgG mamalia (Bizanov dan Jonauskiene, 2003).



Gambar 5. Perbandingan Struktur IgG pada Mamalia dengan IgY Unggas
(Anonim, 2011)

Bagian Hinge pada IgY lebih rigid dibandingkan hinge IgG pada mamalia, sehingga fleksibilitas IgY kurang daripada IgG pada mamalia (Carlander, 2002). Schmidt dkk. (1989) telah memproduksi IgY anti-virus distemper terhadap anjing untuk kepentingan imunokimia, selain itu IgY dapat berperan lebih baik dibanding antibodi mamalia dalam munodiagnostik, pencegahan dan pengobatan terhadap patogen pada infeksi Gastrointestinal.

5. Kuning Telur sebagai sumber Imunoglobulin Yolk

Komponen-komponen utama dari sebutir telur adalah titik benih (*blastoderm*), kuning telur, putih telur, membran cangkang dan cangkang.

Membran cangkang bagian luar dan dalam melindungi telur secara mekanis dengan menyediakan suatu tempat yang kuat, tahan lama dan saling menempel kecuali pada ujung tumpul di mana kedua membran tersebut berpisah untuk membentuk rongga udara. Kutikula atau bagian penutup cangkang merupakan suatu material organik yang melindungi telur dari infeksi mikroorganisme dan untuk mengurangi penguapan air, sehingga telur stabil dan tahan terhadap penetrasi oleh mikroorganisme (Blackely dan Bade, 1991).

Kuning telur dari ayam yang diimunisasi sudah sangat terkenal sebagai salah satu sumber antibodi. Produksi immunoglobulin yolk (IgY) dengan memanfaatkan kuning telur ayam sebagai pabrik biologis mempunyai beberapa keunggulan. Ayam memiliki sensitifitas yang tinggi terhadap pemaparan antigen asing, sehingga sistem imun ayam sangat responsif dan persisten untuk produksi IgY (Hau dan Hendriksen 2005).

Antibodi yang terdapat dalam kuning telur merupakan antibodi yang diperoleh dari induk selama respon imun dalam telur tidak ada. Antibodi yang diserap masuk kedalam telur merupakan antibodi terseleksi karena anak ayam akan ditetaskan dalam lingkungan induk dan akan menguntungkan apabila disuplai antibodi yang spesifik untuk melawan penyakit-penyakit yang ada di lingkungan induk (Rasyaf, 1997).

Telur dapat disimpan lebih dari 1 tahun pada suhu 4⁰C sebelum dipurifikasi IgYnya. Setiap 1 butir telur bisa mengandung sampai 100 mg total IgY, tergantung dari ukuran kuning telur. IgY spesifiknya sekitar 1-

10% dari total IgY (Anonim, 1996). Berkenaan dengan *animal welfare* produksi antibodi pada mamalia menyebabkan hewan itu mengalami cekaman stress karena tindakan yang *invasive* waktu pengambilan serum, sedangkan untuk produksi antibodi pada unggas, telur dapat dengan mudah diperoleh dengan metode *non-invasive*. IgY memiliki beberapa keuntungan dibanding poliklonal antibodi dari mamalia. Purifikasi IgY dapat dilakukan dengan cepat dan metode isolasinya mudah (Haak dan Frensch, 1994).

IgY dapat digunakan sebagai alternatif pengganti antibodi mamalia pada penelitian, dan penggunaannya sebagai imunoterapi sedang dikembangkan. Immunoglobulin yolk juga memiliki keuntungan secara biokimia dan purifikasi yang sederhana dibandingkan IgG mamalia (Carlander, 2002). Dari segi ekonomi efisiensi biaya produksi antibodi dalam telur lebih bagus dibandingkan dengan menggunakan hewan percobaan karena biaya untuk memelihara ayam lebih rendah dibandingkan untuk memelihara kelinci (Bizanov dan Jonauskiene, 2003).

6. Transfer imunoglobulin Yolk dari Maternal serum

Transfer IgY pada telur sama halnya dengan transfer IgG melalui plasenta pada mamalia (Raj dkk, 2004). Transfer IgY dari serum ayam betina ke dalam generasinya adalah sebuah proses dua langkah. Pertama, IgY dipindahkan dari serum ke kuning telur yang dianalogikan dengan transfer antibodi melalui plasenta pada mamalia. Langkah kedua adalah

pengiriman IgY dari kantong kuning telur ke embrio yang sedang berkembang (Carlender, 2002).

Imunoglobulin Yolk terikat pada jaringan kantong kuning telur dari hari ke-7 hingga sedikitnya hari ke-18. Terdapat reseptor afinitas tinggi dan afinitas rendah untuk IgY di dalam embrio. Reseptor dengan afinitas rendah, ($K_D 3,4 \times 10^{-7}$), terlihat pada hari ke-8, sedangkan reseptor afinitas tinggi ($K_D 3,0 \times 10^{-8}$) terdeteksi pada hari ke 18. Reseptor afinitas rendah mempunyai densitas yang konstan seperti pertambahan berat total kantong kuning telur. Secara tidak langsung perubahan kecepatan sesuai dengan pertambahan massa jaringan (Tressler dan Roth, 1987). Reseptor IgY dalam ikatan *oocyte* akan memindahkan semua populasi IgY dari serum ayam ke dalam telur. Populasi IgY ditransfer sesuai dengan konsentrasinya dalam maternal serum. Tidak ada pemilihan maupun pengrusakan IgY selama transfer dan IgY kuning telur mempunyai jumlah asam sialic seperti pada IgY serum (Loeken dan Roth, 1983).

7. Isolasi dan Purifikasi Imunoglobulin Yolk

Isolasi dan purifikasi IgY tergolong rumit. Akita dan Nakai (1993) menjelaskan permasalahan utama dalam isolasi IgY adalah memisahkannya dari lemak yang sangat tinggi konsentrasinya. Terdapat berbagai metode untuk melakukan purifikasi IgY. Bizhanov dan Vyshniauskis (2000) telah mengembangkan sebuah metode dengan menggunakan dekstran biru untuk mengisolasi IgY dari kuning telur. Aktivitas spesifik dari metode dekstran biru dibandingkan dengan metode

PEG dan kloroform terbukti sama dalam kisaran \log^2 12,9-14,1. Kandungan IgY dari ketiga metode juga terbukti sama dalam kisaran 4,6-12,8 mg/telur. Akan tetapi, kandungan protein total ketika dimurnikan dengan kloroform 2-4 kali lebih tinggi dibanding metode lain.

Analisis IgY dengan SDS-PAGE menunjukkan bahwa IgY yang dimurnikan dengan dekstran biru mengandung 3 komponen protein terbesar dengan BM 34,7 kDa; 41 kDa dan 66 kDa dan 1 protein kecil 45 kDa. IgY yang diekstraksi dengan kloroform mengandung 2 protein besar 45,7 kDa. IgY yang diekstraksi dengan PEG-6000 mengandung hanya 1 protein besar 66 kDa. IgY yang dihasilkan dari metode PEG juga mengandung beberapa protein kecil berkisar 41-80 kDa (Bizhanov dan Vyshniauskis, 2000).

Rajj dkk. (2004) membandingkan empat metode purifikasi IgY dalam penelitiannya. Hasilnya tidak terlalu berbeda dibanding kit komersial dan metode asam kaprilik. Metode PEG memperlihatkan hasil yang lebih bagus dibanding metode solvent organik. Metode ini masih banyak digunakan karena biayanya tidak terlalu mahal dan hasilnya cukup baik. Sedangkan hasil SDS-PAGE yang dilakukan Nurhadi dkk. (2003) memperlihatkan tingkat kemurnian lebih baik setelah pengendapan kedua. Terdapat pengaruh dari proses pengendapan secara bertingkat. Secara teori penambahan PEG yang meningkat akan mengendapkan protein-protein pengganggu dengan bobot molekul (BM) yang lebih besar daripada immunoglobulin yolk.

8. Immunostimulator

Imunostimulator adalah bahan yang dapat meningkatkan kerja komponen-komponen sistem imun. Pemberian oral antibodi spesifik pada inang patogen adalah sebuah pendekatan menarik untuk membuktikan imunitas perlindungan, terutama dalam mencegah penyakit. Menurut Carlander (2002), kerumitan imun penyusun IgY tidak mengaktivasi sistem komplemen mamalia. Kerumitannya juga tidak mempengaruhi reseptor Fc dan reseptor komplemen. Immunoglobulin Yolk tidak mengaktifkan maupun mempengaruhi reseptor Fc mamalia yang dapat memediasi respon inflamasi pada sistem gastrointestinal. Sebagai hasilnya, IgY kuning telur tampak lebih disukai untuk imunoterapi peroral.

Salah satu contoh imunostimulator yang dikenal adalah penggunaan vaksin untuk mencegah penyakit infeksi. Immunostimulator juga mulai diterapkan dalam penanganan kanker. Menurut Harsono (2006), jika digunakan pada pasien yang tepat, imunostimulator sangat efektif dan aman. Akan tetapi harus tetap memperhatikan adanya efek samping. Seorang yang ahli diperlukan dalam memberikan imunostimulator dan siap dengan penanggulangan efek samping. Menurut Mine dan Kovacs-Nolan (2002), IgY merupakan sebuah antibodi alternatif untuk perawatan patogen usus yang resisten terhadap antibiotik. Pemberian oral IgY telah terbukti berhasil untuk perawatan beberapa macam infeksi gastrointestinal (GI), yaitu seperti *bovine and human rotavirus*, *bovine coronavirus*, *yersinia ruckeri*, *enterotoxigenic*

Escherichia coli, *Salmonella spp.*, *Edwardsiella tarda*, *Staphylococcus*, dan *pseudomonas*.

9. Imunisasi dan Vaksin H5N1

Imunisasi adalah suatu prosedur untuk meningkatkan derajat imunitas seseorang terhadap patogen tertentu (Bratawidjaja, 2002). Imunisasi terdiri dari dua macam, yaitu imunisasi aktif dan imunisasi pasif. Imunisasi aktif dilakukan dengan cara pemberian vaksin. Pada dasarnya vaksin merupakan suatu antigen yang dapat merangsang pembentukan antibodi yang diperlukan tubuh untuk mempertahankan diri terhadap serangan suatu penyakit (Sudarjat, 1991). Imunisasi aktif atau vaksinasi yang berhasil akan memberikan perlindungan kepada tubuh terhadap serangan infeksi. Hal tersebut sangat tergantung pada beberapa hal, misalnya spesifitas vaksin, cara pemberian vaksin, vaksin yang dapat memberikan respon imun, jenis vaksin, dan lain-lain (Brooks, 2005).

Vaksin dibuat dari bakteri, riketsia, atau virus dan dapat berupa suspensi organisme hidup atau inaktif, fraksi-fraksi, atau toksoid (Anonim, 1995). Vaksin yang baik harus dapat menginduksi imunitas yang dapat bertahan lama, aman, dan mudah dalam penyimpanan (Parslow, 2000). Vaksin AI subtipe H5N1 merupakan salah satu produk vaksin dari Medivac[®]. Vaksin ini mengandung virus AI subtipe H5N1 inaktif yang diemulsikan ke dalam adjuvan minyak mineral untuk meningkatkan dan memperpanjang daya kerja vaksin. Keberhasilan vaksinasi dapat diketahui dengan melakukan pemeriksaan adanya antibodi setelah 3 sampai 4

minggu pasca vaksinasi (Deptan, 2005). Sedangkan imunisasi pasif dilakukan dengan cara memberikan pada tubuh hewan berupa antibodi terhadap penyakit tertentu. Tujuan dari imunisasi pasif adalah untuk pemberian perlindungan pada tubuh dalam waktu secepat mungkin.

10. Uji HI (*Haemagglutination Inhibiton Test*)

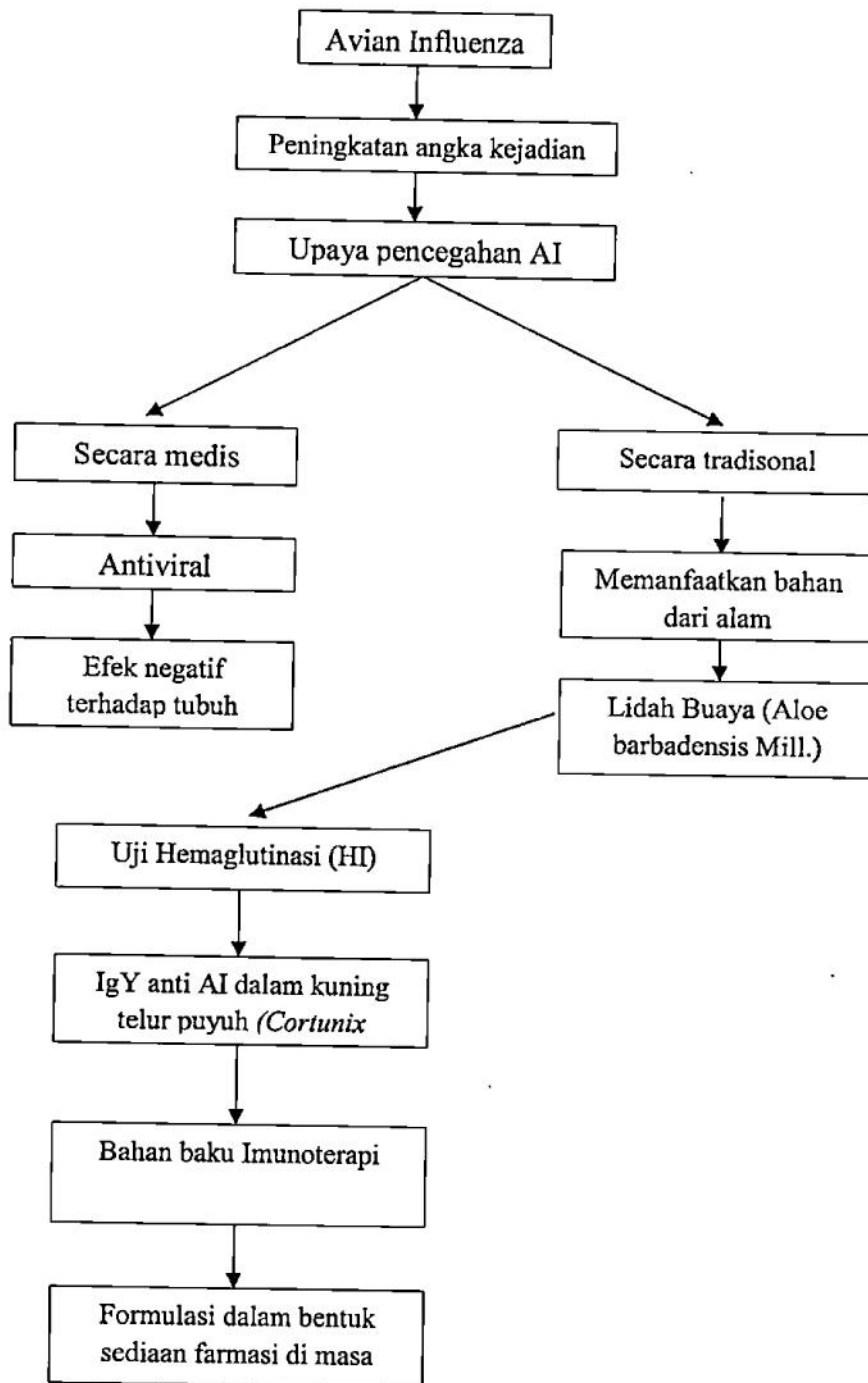
Uji serologis yang sering digunakan para peneliti untuk mendeteksi titer IgY anti AI adalah *Enzym Linked Immunosorbent Assay (ELISA)* dan *Haemagglutination Inhibition (HI)*. ELISA merupakan suatu metode yang dapat digunakan dalam bidang imunologi untuk mengetahui antibodi atau antigen dalam suatu sampel (Sheehan, 1997). Penggunaan ELISA melibatkan setidaknya satu antibodi dengan spesifitas untuk antigen tertentu. Sampel dengan jumlah antigen yang tidak diketahui diimobilisasi pada suatu permukaan solid (biasanya berupa lempeng mikrotiter polistirene), baik yang spesifik maupun non-spesifik. Kelebihan ELISA adalah cukup sensitif, reagen dapat memiliki *half life* yang lebih panjang, dapat digunakan spektrofotometer dan mudah dilakukan otomatisasi, serta tidak mengandung bahan radioaktif. Meskipun demikian, ELISA juga memiliki kekurangan yaitu harga peralatan yang mahal (*ELISA reader*, *washer* dan komputer) serta kit ELISA tidak bisa dibuat sendiri (Kresno, 2003). Berdasarkan pertimbangan dari kekurangan metode ELISA tersebut, maka peneliti memutuskan untuk menggunakan metode uji HI dalam pengukuran titer IgY anti AI pada penelitian ini.

Uji HI telah banyak digunakan secara luas meskipun kurang sensitif dibanding metode ELISA. Kelebihan uji HI yaitu bersifat ekonomis dan tidak perlu menggunakan instrumen khusus yang berharga mahal. Uji HI merupakan uji yang dapat dilakukan untuk mengidentifikasi virus yang dapat mengaglutinasi sel darah merah (Siregar dkk., 2006). Beberapa virus yang mampu mengaglutinasi sel darah merah diantaranya *adenovirus*, *arbovirus*, beberapa *enterovirus*, *virus influenza*, *parainfluenza*, *virus mumps*, *virus measles* dan *reovirus* (Specter, 2000). Prinsip uji HI secara umum adalah virus akan diikat oleh antibodi yang homolog sehingga tidak dapat melekat pada reseptor dari membran sel darah merah dan mengakibatkan aglutinasi tidak terjadi (Siregar dkk., 2006).

Uji HI mempunyai dua fungsi, yaitu pertama sebagai sarana untuk mengidentifikasi jenis antigen tertentu dengan mereaksikannya terhadap antibodi homolog yang telah diketahui. Kedua adalah untuk mengetahui jenis antibodi dan titernya, dengan cara mereaksikan serum yang ingin diketahui jenis antibodinya dengan antigen standar yang telah diketahui (Siregar dkk., 2006). Uji ini dapat dilakukan dengan dua metode yaitu metode alpha (α) dan metode beta (β). Metode α digunakan untuk mengidentifikasi jenis antigen, dalam metode ini antigen diencerkan secara seri sementara antibodi tidak diencerkan.

Metode β digunakan untuk menguji serta untuk mengidentifikasi antibodi, menghitung titer antibodi, serta menguji jenis antigen.

Pengenceran seri pada metode ini berlaku untuk antibodi. Apabila ingin melakukan pengujian antigen dengan metode tersebut maka terlebih dahulu dilakukan uji Hemaglutinasi (HA) untuk membuat virus standarnya (Meijer dkk., 2005 dan Siregar dkk., 2006). Uji HI dapat dilakukan secara makro dan mikro dengan titrasi tergantung dari volume reagen-reagen yang digunakan. Titrasi pada uji HI secara mikro digunakan masing-masing reagen sebanyak 25-50 μ l dengan menggunakan virus standar 4 HAU/50 μ l, sedangkan pada uji makro menggunakan virus standar 10 HAU/50 μ l (Siregar dkk., 2006).

B. KERANGKA KONSEP

Setiap tahunnya angka kejadian *Avian Influenza* terus bertambah, maka dari itu perlu adanya pengembangan obat-obat baru untuk menurunkan angka kejadian tersebut. Salah satu pengobatan secara medis dapat dilakukan dengan cara medikamentosa antiviral, namun pengobatan tersebut banyak menimbulkan efek samping yang berdampak negatif bagi tubuh. Penelitian ini menggunakan tanaman berkhasiat obat yaitu lidah buaya (*Aloe barbadensis Mill.*).

Lidah buaya (*Aloe barbadensis Mill.*) memiliki kandungan acemannan yang diketahui memiliki efek imunomodulator pada hewan. Efek acemannan tersebut pada dosis 250 µg/ml diketahui dapat meningkatkan aktivitas sel-sel efektor seperti limfosit dan makrofag sehingga memproduksi dan melepas sitokin, interleukin (IL)-1, IL-6, IL-12 dan *tumor necrosis factor alpha* (TNFα) (Wiedosari, 2007). Pemberian jus lidah buaya juga terbukti mampu meningkatkan respon imun melalui peningkatan sekuman sel mononuklear di sekitar sel kanker pada mencit yang diinokulasi sel *adenokarsinoma mammae* dengan memberikan jus lidah buaya pada kelompok perlakuan sebesar 0,5 ml/hari selama 3 minggu (Prihandani dkk, 2010). Penelitian lain menyebutkan bahwa acemannan dapat menginduksi pematangan *Dendritic Cell* (DC) (Lee J.K, 2000) dengan memberikan dosis 100 µg/ml pada kelompok perlakuan. Jus lidah buaya juga diketahui dapat menurunkan kadar kolesterol secara bermakna pada tikus hiperlipidemia dengan memberikan dosis sebesar 4 ml/hari selama 15 hari pada kelompok perlakuan (Sunarsih dan Pamuji, 2005). Uji yang digunakan untuk mengukur peningkatan titer IgY anti AI pada penelitian ini adalah uji *Haemagglutination Inhibitor* (HI).

C. HIPOTESIS

1. Pemberian jus daun lidah buaya (*Aloe barbadensis Mill.*) mampu meningkatkan produksi IgY anti-AI dalam telur *Cortunix japonica* yang terinduksi vaksin AI subtipe H5N1.
2. Pemberian jus daun lidah buaya antara dosis 1 ml sampai 4 ml tiap 250 g bb mampu meningkatkan produksi IgY anti-AI dalam telur *Cortunix japonica* yang terinduksi vaksin AI subtipe H5N1.