

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL

Penelitian ini telah dilakukan dengan menggunakan sampel sebanyak 25 yang dibagi dalam 5 kelompok, sehingga uji normalitas yang dipilih adalah *Shapiro-Wilk*. Hasil penelitian menyatakan bahwa data pengukuran titer IgY anti-AI memberikan nilai uji normalitas $p=0,000$ ($p<0,05$), yang artinya menunjukkan bahwa sebaran data tidak normal. Oleh karena hasil uji normalitas menunjukkan nilai tidak normal, maka untuk dapat melakukan analisis terhadap efek pemberian jus daun lidah buaya terhadap peningkatan titer IgY anti-AI dilanjutkan dengan melakukan uji *Kruskal-Wallis* yang merupakan uji turunan non parametrik dari uji *One-Way Anova*. Dengan melakukan uji *Kruskal-Wallis*, dapat diketahui perbedaan nilai dari kelima kelompok sekaligus pada penelitian ini.

Pada uji *Kruskal-Wallis* didapatkan nilai $p=0,001$ ($p<0,05$) yang artinya terdapat perbedaan titer IgY anti-AI yang bermakna dari kelima kelompok yang diamati. Setelah melakukan uji *Kruskal-Wallis*, maka uji selanjutnya yang dipilih untuk dapat mencari letak perbedaan bermakna yang lebih terperinci dari hasil penelitian ini adalah dengan menggunakan uji *Mann-Whitney*.

Hasil pengujian *Mann-Whitney* yang telah didapatkan menunjukkan bahwa antara kontrol nol dan kontrol negatif memiliki perbedaan titer IgY

anti-AI yang bermakna dengan nilai $p=0,017$ ($p<0,05$). Apabila mengamati 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 terdapat perbedaan yang bermakna pada masing-masing kelompok yaitu $P=0,016$; $P=0,008$; dan $P=0,007$ ($P<0,05$).

Pengujian antara kelompok perlakuan dosis 1 ml dengan 4 ml tiap 250 g bb menghasilkan nilai $P=1,00$, sedangkan antara kelompok perlakuan dosis 1 ml dengan 2,5 ml tiap 250 g bb menghasilkan nilai $P=0,827$. Kemudian antara kelompok perlakuan dosis 2,5 ml dengan 4 ml tiap 250 g bb menunjukkan nilai $P=0,83$. 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 IgY anti-AI yang bermakna ($P>0,05$) pada masing-masing kelompok. Selanjutnya, untuk mengetahui dosis mana yang lebih efektif pada penelitian ini dalam meningkatkan titer IgY anti-AI, maka dapat diamati dari hasil perhitungan rerata masing-masing kelompok dosis perlakuan. Rerata dan standar deviasi yang didapatkan dari kelompok dosis perlakuan 1 ml; 2,5 ml; dan 4 ml tiap 250 g bb adalah $160,8 \pm 130,7$; $192 \pm 201,1$; dan $147,2 \pm 204,3$.

B. PEMBAHASAN

Salah satu upaya untuk mencegah penyakit AI pada hewan ternak adalah melakukan vaksinasi. Cara yang digunakan untuk melakukan vaksinasi adalah dengan menyuntikkan suatu vaksin ke tubuh hewan. Vaksin adalah suatu produk yang mengandung sejumlah mikroorganisme berupa

bibit penyakit tertentu yang dapat menimbulkan kekebalan tubuh khusus terhadap penyakit. Vaksin dapat mengandung mikroorganisme aktif (hidup) dan inaktif (mati). Kemampuan vaksin aktif untuk meningkatkan daya tahan tubuh lebih tinggi dibandingkan vaksin inaktif. Dikatakan demikian, karena vaksin aktif akan tumbuh dan berkembang biak dalam tubuh unggas sehingga dapat merangsang produksi antibodi yang besar pada tubuh unggas. Sementara itu, kekuatan vaksin inaktif untuk merangsang produksi antibodi pada tubuh unggas diketahui tergantung pada unit *antigenic* (sel virus) yang terkandung dalam dosis vaksin tersebut (Daulay, 2008).

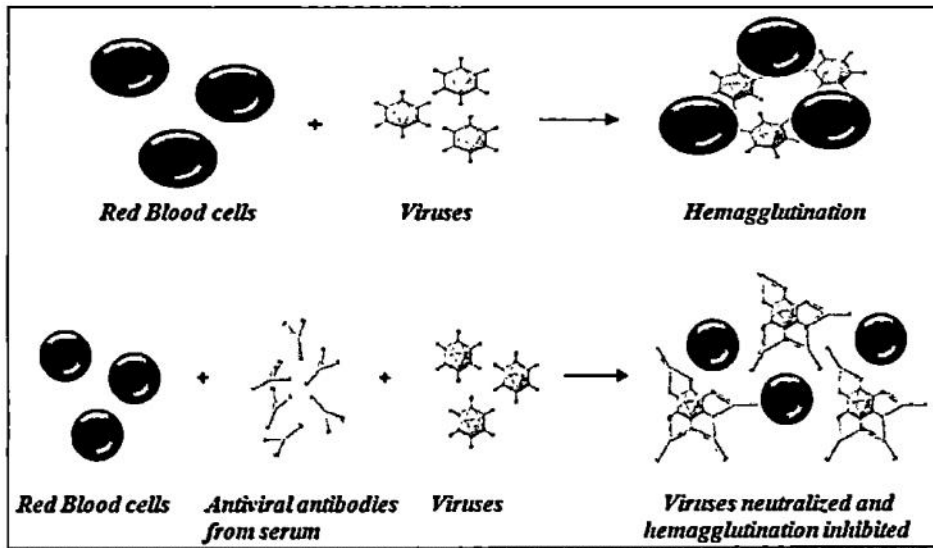
Vaksin yang digunakan pada penelitian ini adalah vaksin AI subtipe H5N1 jenis inaktif dengan merk dagang Medivac[®] yang diproduksi oleh PT. Medion. Medivac[®] mengandung virus AI subtipe H5N1 isolat lokal yang telah diinaktifkan dan diemulsikan ke dalam *adjuvant* untuk meningkatkan dan memperpanjang daya kerja vaksin. Tiap dosis mengandung potensi virus AI minimal 50PD₅₀. Vaksin ini dapat diberikan pada ayam dengan cara suntikan *intramuscular* pada paha, dada, atau subkutan di leher bagian belakang sebelah bawah. Dosis vaksin untuk tiap ekor anak ayam adalah 0,2 ml dan untuk ayam dewasa 0,5 ml (Medion, 2006). Maka aturan inilah yang menjadi landasan dipilihnya dosis 0,5 ml untuk induksi vaksin AI subtipe H5N1 pada *Cortunix japonica* yang diberi perlakuan. Hasil penelitian yang telah di analisis mengungkapkan bahwa terdapat perbedaan bermakna titer IgY anti-AI antara kelompok kontrol nol dengan kelompok negatif, yang artinya memberikan makna bahwa dosis vaksin 0,5 ml tersebut telah berhasil

mempengaruhi sistem kekebalan tubuh unggas dalam memacu respon imun alamiah saat berinteraksi dengan antigen AI.

Selain melakukan upaya vaksinasi untuk mencegah penyakit AI, perlu pemberian suatu agen imunostimulator untuk dapat memberi perlindungan tambahan dalam memacu imunitas tubuh. Pada penelitian ini digunakan lidah buaya sebagai agen herbal alami yang diduga dapat berfungsi sebagai imunostimulator dalam upaya preventif untuk mencegah infeksi virus AI. Lidah buaya telah digunakan sebagai obat sejak ribuan tahun yang lalu pada berbagai tempat di belahan dunia ini mulai dari Mesir kuno, Yunani, Roma, Cina dan India (Combest WL., 2002).

Uji HI yang digunakan pada penelitian ini memiliki prinsip kerja sederhana, yaitu 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). Titer IgY anti AI dikatakan bernilai positif apabila tidak terjadi reaksi aglutinasi, sedangkan jika terjadi aglutinasi, maka dikatakan negatif.

Mekanisme ringkas dari prinsip uji HI akan dijelaskan pada gambar berikut ini:



Gambar 6. Skema terjadinya hemaglutinasi dan penghambatan hemaglutinasi (Nichols dan Nakamura, 1986)

Pengukuran titer IgY pada minggu ke-10 pasca vaksinasi AI subtype H5N1 menggambarkan peningkatan pada seluruh kelompok dosis perlakuan. Hasil penelitian yang didapatkan telah menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan dosis 1 ml; 2,5 ml; dan 4 ml tiap 250 g bb apabila dibandingkan dengan kontrol nol dan kontrol negatif ($p < 0,05$). Hasil analisis tersebut dapat diartikan bahwa jus daun lidah buaya telah mampu meningkatkan titer IgY anti-AI pada *Cortunix japonica* yang diinduksi vaksin H5N1 dalam tingkatan dosis yang telah ditetapkan.

Keberadaan kelenjar *Hadrian* di daerah nasotrakheal dan *Bursa Fabricius* memungkinkan unggas sangat responsif terhadap berbagai protein asing (Coleman, 2000). Carlander (2002) menyatakan bahwa ayam memiliki sensitivitas tinggi terhadap protein asing, sehingga meskipun jumlahnya

sedikit dapat memberikan respon pembentukan antibodi. Suatu penelitian mengungkapkan bahwa pemberian jus lidah buaya terbukti mampu meningkatkan respon imun melalui peningkatan sekukan sel mononuklear di sekitar sel kanker pada mencit yang diinokulasi sel adenokarsinoma mammae (Prihandani dkk, 2010). Selanjutnya, terdapat pula penelitian lain yang menyatakan bahwa pemberian jus lidah buaya pada mencit yang diinfeksi *Salmonella typhimurium* ternyata mampu meningkatkan indeks fagositosis makrofag secara bermakna pada kelompok perlakuan (Suharni, 2004). Hal ini dapat dilihat sejalan dengan efek pemaparan acemannan yang diasumsikan terkandung dalam jus daun lidah buaya pada penelitian ini.

Acemannan yang diduga sebagai kandungan aktif dalam jus daun lidah buaya bekerja meningkatkan *Respiratory Burst* (RB) dan fagositosis oleh makrofag. Peningkatan fungsi makrofag berasosiasi dengan *Binding mannosylated Bovine Serum Albumin* (m-BSA) terhadap reseptor mannose-makrofag. Apabila kemampuan fagositosis meningkat, maka diperkirakan produksi sitokin-sitokin yang mengaktivasi makrofag juga meningkat (Stuart dkk., 1999). Setiap antigen yang masuk melalui jalan selain intravena, maka akan bermuara pada kelenjar getah bening (Bratawidjaja, 2002). Vaksinasi virus AI subtipe H5N1 pada penelitian ini menggunakan injeksi *intramuscular*, sehingga asumsinya antigen akan menuju kelenjar getah bening. Ketika sampai pada kelenjar getah bening, disana antigen akan diproses oleh APC (*Antigen Presenting Cell*), monosit, makrofag, dan sel-sel dentritik. Antigen protein eksogen memasuki APC dari lingkungan sekitarnya

oleh mekanisme pinositosis dan diproses pada vakuola endosomal yang bersifat asam. Peptida yang dihasilkan terikat pada celah di dalam molekul MHC (*Major Histocompatibility Complex*) kelas II dan diangkut ke membran sel.

Acemaman diketahui dapat meningkatkan aktivitas limfosit dan makrofag serta meningkatkan maturasi sel limfosit T-*helper* CD4⁺ menjadi sel Th1 sehingga memproduksi dan melepas sitokin, interleukin (IL)-1, IL-6, IL-12 dan *tumor necrosis factor alpha* (TNF α). Letak peran IL-1, IL-6, dan IL-12 adalah ikut menjadi agen pendukung dalam proses terbentuknya antibodi melalui pengaktifan sel β (Wiedosari, 2007). Acemaman yang terkandung dalam jus daun 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 subtype H5N1.

Titer antibodi dapat dikatakan tinggi apabila hasil pengukuran mencapai angka optimal ($\geq 2^4$) (Braytenbach, 2005). Data penelitian menyatakan bahwa hasil pengukuran titer IgY anti-AI yang memiliki nilai terendah dari semua kelompok uji ditunjukkan oleh kelompok kontrol negatif ($< 2^4$). Sementara itu hasil pengukuran titer IgY anti-AI dengan hasil paling efektif ditemukan pada kelompok dosis 1 ml/250 g bb. Dosis ini dikatakan paling efektif karena hanya dengan menggunakan dosis yang minimal sudah dapat memberikan efek yang sama besarnya dengan peningkatan titer IgY

pada tingkatan dosis perlakuan lainnya yang lebih besar yaitu 2,5 ml dan 4 ml tiap 250 g bb. Dosis efektif 1 ml/250 g bb yang didapatkan dapat dihubungkan oleh beberapa penelitian terdahulu mengenai aktivitas acemannan. Diperkuat dengan beberapa penelitian yang telah disebutkan sebelumnya di atas, efek imunostimulator yang diduga ditimbulkan oleh acemannan dalam jus daun lidah buaya dengan dosis 1 ml/250 g bb merupakan dosis paling efektif dan efisien dalam memberikan efek imunostimulator potensial di antara semua kelompok uji pada *Cortunix japonica* yang diinduksi vaksin AI subtipe H5N1.

Prospek pengembangan IgY hingga saat ini masih sangat memberikan peluang yang potensial karena masih terbatasnya penelitian yang dilakukan. Suatu penelitian menyebutkan bahwa Ig-Y diketahui spesifik terhadap *S. mutans* GBP-B (*Glucan Binding Protein-B*) dengan menghambat akumulasi *S. mutans* pada biofilm gigi dan dapat memproteksi kerusakan gigi (Smith dkk., 2001 dan Hatta dkk., 1997). Soejoedono, RD dkk. (2007) menyatakan bahwa Ig-Y spesifik *S. mutans* dapat diproduksi di dalam kuning telur dan dapat dikemas dalam bentuk berbagai sediaan yang berkaitan dengan kesehatan gigi seperti pasta gigi dan obat kumur. Pembuatan sediaan pasta gigi telah dilakukan berdasarkan pembuatan sediaan farmasi yang sudah baku dengan menambahkan zat aktif Ig-Y anti *S. mutans* dan dilakukan pengujian pasta gigi sesuai dengan prosedur baku yang berlaku. Pada penelitian ini telah berhasil dibuat "*prototipe* pasta gigi" yang selanjutnya dapat dikembangkan

dalam skala industri. Konsep yang sama juga digunakan untuk sediaan obat kumur dan permen anti *plaque*.

Soejoedono, RD dkk. (2007) menyebutkan pula pada penelitiannya yang lain mengenai prospek pengembangan IgY pada sektor perikanan. Budidaya perikanan sangat berkembang pesat di Indonesia, salah satu komoditi yang cukup disukai adalah udang, baik udang windu (*Penaeus monodon*) maupun udang putih (*Penaeus vannamei*). Kedua jenis udang ini sangat rentan terhadap serangan penyakit virus terutama WSSV (*White Spot Syndrome Virus*), yang sangat merugikan petambak. Mengingat sistem kekebalan tubuh udang sangat didominasi oleh kekebalan non-spesifik, maka proses pengebalannya lebih efisien bila diberikan imunisasi menggunakan imunomodulator atau imunostimulan. Penelitian ini menyebutkan bahwa pada hasil PCR tidak ditemukan adanya material genetik WSSV pada kelompok perlakuan yang diberi pakan udang 10% dan 20% Ig-Y anti WSSV dan kontrol negatif yang mati, sedangkan pada kelompok perlakuan yang diberi pakan berkhasiat anti WSSV dengan konsentrasi 5% dapat ditemukan adanya material genetik WSSV.

Soejoedono dkk. (2009) yang tergabung dalam tim peneliti Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor menyebutkan telah melakukan pengembangan produk asal telur ayam yang berkhasiat terhadap virus AI subtype H5N1. Sistem imun ayam sangat responsif terhadap protein asing atau mikroorganisme, baik sebagai akibat vaksinasi ataupun infeksi alamiah. Penelitian yang dilakukan oleh tim peneliti ini selanjutnya difokuskan kepada

aplikasi Ig-Y secara peroral dengan mengacu kepada sifat-sifat Ig-Y yang telah diketahui pada penelitian sebelumnya. Kuning telur yang mengandung Ig-Y anti virus AI H5N1 dibuat dalam bentuk pakan ternak (pelet) yang berkhasiat anti flu burung. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tikus yang diberi pakan dalam bentuk pelet yang berisi Ig-Y anti AI selama 5 hari pengamatan tetap sehat, tidak menunjukkan gejala sakit, sedangkan tikus yang ditantang dan mendapat pakan komersial (tanpa Ig-Y) menunjukkan tanda sakit pada hari ke-3 dan mulai ada kematian pada hari ke-5. Pengujian dengan RT-PCR selanjutnya menunjukkan bahwa tidak ditemukan adanya material genetik virus AI H5N1 pada tikus yang diberi pakan yang mengandung Ig-Y anti virus AI H5N1, sedangkan pada tikus yang tampak sakit dan mati yang berasal dari kelompok yang diberi pakan komersial (tanpa Ig-Y) dapat dideteksi adanya material genetik virus AI H5N1.

Seluruh uraian pada pembahasan penelitian ini telah menggambarkan bahwa banyak manfaat yang dapat diambil dari kandungan IgY yang sangat melimpah pada kuning telur, sehingga hasil penelitian pada karya tulis ilmiah ini diharapkan dapat dijadikan bahan acuan untuk pengembangan IgY lebih lanjut. Riset mengenai metode untuk memperbanyak produksi IgY sebagai bahan baku untuk pengembangan formulasi dalam bentuk sediaan farmasi yang tepat pada skala industri tentu saja sangat dibutuhkan dan dapat memberikan peluang potensial, sehingga produk imunoterapi tersebut dapat diterapkan untuk imunisasi pasif pada manusia di masa yang akan datang.