

Bidang Ilmu: MIPA

**LAPORAN  
HIBAH STRATEGIS NASIONAL  
TAHUN ANGGARAN 2010**



**KAPASITASI *Annona Squamosa* (Sweetsop) SEBAGAI  
IMUNOSTIMULAN UNGGULAN BERBASIS HERBAL PADA  
AYAM PEDAGING TERHADAP *INFECTIOUS BURSAL  
DISEASE (INFECTIOUS LIKE HIV)***

Retno Bijanti, drh., MS  
Dr. Eduardus Bimo Aksono H, drh., M.Kes  
Setyawati Sigit, drh., MS

Dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi,  
Kementerian Pendidikan Nasional, Sesuai  
dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah Penelitian  
Nomor: 509/SP2H/PP/DP2M/III/2010, Tanggal 24 Juli 2010

**Universitas Airlangga  
Nopember, 2010**

**LAPORAN  
HIBAH STRATEGIS NASIONAL  
TAHUN ANGGARAN 2010**



**KAPASITASI *Annona Squamosa* (Sweetsop) SEBAGAI  
IMUNOSTIMULAN UNGGULAN BERBASIS HERBAL PADA  
AYAM PEDAGING TERHADAP *INFECTIOUS BURSAL  
DISEASE (INFECTIOUS LIKE HIV)***

Retno Bijanti, drh.,MS  
Dr. Eduardus Bimo Aksono H, drh., M.Kes  
Setyawati Sigit, drh., MS

Dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi,  
Kementerian Pendidikan Nasional, Sesuai  
dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah Penelitian  
Nomor: 509/SP2H/PP/DP2M/III/2010, Tanggal 24 Juli 2010

**Universitas Airlangga  
Nopember, 2010**

## HALAMAN PENGESAHAN

## 1. JUDUL :

KAPASITASI *Annona Squamosa (Sweetsop)* SEBAGAI IMUNOSTIMULAN UNGGULAN BERBASIS HERBAL PADA AYAM PEDAGING TERHADAP *INFECTIOUS BURSAL DISEASE (INFECTIOUS LIKE HIV)*

## 2. Ketua Peneliti

- a. Nama Lengkap : Retno Bijanti, M.S., Drh  
 b. Jenis Kelamin : Perempuan  
 c. N I P : 195406281981032001  
 d. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala  
 e. Jabatan Struktural : -  
 f. Bidang Keahlian : Patologi Klinik Veteriner  
 g. Fakultas/Jurusan/Puslit : Kedokteran Hewan / -/ Institute of Tropical Disease Unair  
 h. Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

## Tim Peneliti

NO	NAMA PENELITI	BIDANG KEAHLIAN	FAKULTAS	PERGURUAN TINGGI
1.	Retno Bijanti, Drh., M.S	Patologi Klinik	Kedokteran Hewan	Universitas Airlangga
2.	Dr. E. Bimo Aksono H, Drh., M.Kes.	Biokimia dan Biomolekuler	Kedokteran Hewan	Universitas Airlangga
3	Setyawati sigit, drh.,M.S	Biokimia	Kedokteran Hewan	Universitas Airlangga

## 3. Pendanaan dan Jangka Waktu Penelitian

- a. Jangka waktu penelitian yang diusulkan : 1 (satu) tahun  
 b. Biaya yang diusulkan : Rp. 100.000.000,-  
 b. Biaya yang disetujui tahun 2010 : Rp. 72.500.000,-

Surabaya, 01 Nopember 2010

Mengetahui,  
 Ketua Lembaga Penyakit Tropis  
 Universitas Airlangga

Ketua Peneliti

Prof. Dr. Nasronudin, dr., SpPD.,K-PTI  
 NIP. 195611031984031001

Retno Bijanti, M.S., Drh  
 NIP.195406281981032001

Mengetahui,  
 Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Unair

Dr. Djoko Agus Purwanto, M.Si., Apt  
 NIP. 195908051987011001

## KAPASITASI *Annona Squamosa* (Sweetsop) SEBAGAI IMUNOSTIMULAN UNGGULAN BERBASIS HERBAL PADA AYAM PEDAGING TERHADAP INFECTIOUS BURSAL DISEASE (INFECTIOUS LIKE HIV)

(Retno Bijanti \*; E. Bimo Aksono H \*; Setyawati Sigit\*)

\*Institute of Tropical Disease, Airlangga University. Surabaya

### ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah melakukan kapasitasasi potensi metabolit sekunder hasil ekstraksi etanol yang terdapat dalam daun *Annona squamosa* (sweetsop) sebagai imunostimulan yang unggul pada ayam khususnya ayam pedaging terhadap *infectious bursal disease* (IBD) (like HIV) sehingga memberikan alternatif obat antiviral yang lebih aman, murah dan mudah didapat pada lingkungan berbasis tanaman herbal di Indonesia. Pemberian ekstrak etanol daun *Annona squamosa* sebagai imunostimulan herbal unggul pada ayam pedaging yang terinfeksi IBD (like HIV) mempengaruhi profil titer antibodi terhadap IBD, jumlah leukosit dan diferensial leukosit (eosinofil, netrofil, monosit, limfosit), kadar SGPT dan SGOT (fungsi liver), kadar BUN dan kreatinin (fungsi ginjal), kadar glukosa, kadar total lipid.

Penelitian menggunakan 40 ekor ayam pedaging berumur satu hari (DOC). Ayam percobaan adalah ayam pedaging yang diperoleh dari peternakan pembibitan "Multibreeder". Kandang percobaan yang digunakan adalah sistem *multiple cages* berukuran 20 x 15 x 10 cm, masing-masing unit terdiri atas satu ekor sehingga jumlah kandang seluruhnya 40 unit. Penghitungan jumlah leukosit dan diferensiasi leukosit dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik FKH-Unair. Pemeriksaan antibodi IBD dengan metode ELISA dilaksanakan di Laboratorium Virologi FKH-Unair. Penelitian dimulai bulan Juni 2010 sampai dengan Oktober 2010.

Dari hasil penelitian ini membuktikan bahwa pemberian *A. squamosa* pada ayam pedaging yang terinfeksi IBD (like HIV) memberikan pengaruh yang bermakna terutama terkait rata-rata leukosit, rata-rata neutrofil, rata-rata limfosit, rata-rata BUN, Rata-rata kreatinin, rata-rata SGPT dan rata-rata SGOT serta rata-rata hasil titer antibodi ( $p < 0,05$ ) sedangkan untuk rata-rata eosinofil, rata-rata monosit, rata-rata kadar glukosa dan rata-rata kadar lipid total tidak memberikan hasil bermakna ( $p > 0,05$ ). Oleh karena itu ekstrak etanol *A. squamosa* dapat dipertimbangkan sebagai antiviral terhadap infeksi gumboro (like HIV) karena disamping meningkatkan sistem imunitas juga tidak mengganggu fungsi ginjal maupun liver. Selain itu dapat digunakan sebagai penstabil kadar glukosa darah dan lipid total yang cenderung menurun pada kasus infeksi yang berat.

**Kata Kunci : *Annona squamosa* L, imunostimulan, IBD atau Gumboro, Herbal**

Dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional,  
Sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah Penelitian  
Nomor: 509/SP2H/PP/DP2M/III/2010, Tanggal 24 Juli 2010



**CAPACITATION *Annona squamosa* (Sweetsop) AS A LEADING  
IMMUNOSTIMULATORY in broilers HERBAL BASED ON INFECTIOUS BURSAL  
DISEASE (LIKE INFECTIOUS HIV)**

(Retno Bijanti \*; E. Bimo Aksono H \*; Setyawati Sigit\*)

\*Institute of Tropical Disease, Airlangga University. Surabaya

**ABSTRACT**

The purpose of this research is to capacitation potential of secondary metabolites extracted ethanol contained in the leaves of *Annona squamosa* (sweetsop) as imunotimulant in particular broiler chickens against infectious bursal disease (IBD) (like HIV) that provides an alternative antiviral drug that is safer, cheap and easily obtainable in herb-based environment in Indonesia. The ethanol extract of leaves of *Annona squamosa* as herbal immunostimulants in broiler chickens infected with IBD (like HIV) affects the profile of antibody titers against IBD, the number of leukocytes and differential leukocyte (eosinophil, neutrophil, monocytes, lymphocytes), levels of ALT and AST (liver function), levels of BUN and creatinine (kidney function), glucose, total lipid content.

This research using the 40 individuals one-day-old broiler chickens (DOC). Broiler chicken experiment was obtained from livestock breeding "Multibreeder". The cage was used multiple systems Cages measuring 20 x 15 x 10 cm, each unit consisting of one head so that the number of cages all 40 units. Count the number of leukocytes and leukocyte differentiation performed at the Laboratory of Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Airlangga University. IBD antibody examination by ELISA method performed at the Laboratory of Virology Faculty of Veterinary Medicine, Airlangga University. The study began in June 2010 to October 2010.

From these results prove that administration of *A. squamosa* in broilers infected with IBD (like HIV) provide a significant impact especially in relation to an average of leukocytes, an average of neutrophils, lymphocytes average, the average BUN, creatinine average, average and average ALT AST and the average results of antibody titer ( $p < 0.05$ ) whereas the average for eosinophils, monocytes average, average glucose levels and the average total lipid content did not give significant results ( $p > 0.05$ ). Therefore, the ethanol extract of *A. squamosa* can be considered as an antiviral against gumboro infections (like HIV) as well as improve the immune system also does not interfere with kidney or liver function. Moreover, it can be used as a stabilizer of blood glucose and total lipids tend to decline in cases of severe infection.

**Key words : *Annona squamosa* L, imunostimulant, IBD or Gumboro**

Dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional,  
Sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah Penelitian  
Nomor: 509/SP2H/PP/DP2M/III/2010, Tanggal 24 Juli 2010

## KAPASITASI *Annona Squamosa* (Sweetsop) SEBAGAI IMUNOSTIMULAN UNGGULAN BERBASIS HERBAL PADA AYAM PEDAGING TERHADAP INFECTIOUS BURSAL DISEASE (INFECTIOUS LIKE HIV)

(Retno Bijanti \*; E. Bimo Aksono H \*; Setyawati Sigit\*, 33 halaman, 2010)

### RINGKASAN

*Infectious Bursal Disease* (IBD) atau gumboro merupakan salah satu penyakit viral yang sangat berbahaya dalam industri peternakan ayam dan dari aspek ekonomi sangat merugikan. Hal ini disebabkan karena penyakit ini bersifat akut, sangat menular dan pada umumnya menyerang ayam muda (4-6 minggu) (Parkhurst, 1964; Lukert and Saif, 1991). *Infectious Bursal Disease* juga disebut sebagai AIDS ayam karena penyakit ini menyerang sistem kekebalan pada ayam serta mengakibatkan adanya infeksi sekunder. Infeksi sekunder inilah yang nantinya memperparah kondisi dari ayam dan mengakibatkan angka kematian pada ayam.

Selama ini pengobatan terhadap penyakit *Infectious Bursal Disease* belum ditemukan karena virus IBD menyerang organ limfoid (thymus dan bursa fabrisius). Kerusakan yang ditimbulkan biasanya bersifat permanen, karena organ-organ limfoid ini, pada awalnya mengalami hipertropi kemudian berkembang menjadi atropi. Dimana akibat dari organ-organ limfoid yang mengalami atropi ini kinerja dari organ tersebut menjadi tidak optimal seperti pada saat organ limfoid memiliki ukuran normal. Walaupun demikian penyakit IBD ini dapat dicegah dengan pemberian vaksin. Namun pencegahan IBD dengan vaksin pun belum efisien. Hasil ini karena dengan vaksin yang tinggi pun akan mengakibatkan abnormalitas pada bursa fabrisius. Abnormalitas yang terjadi pada bursa fabrisius walaupun kecil akan mengakibatkan gangguan metabolisme dan tingkat kekebalan pada tubuh ayam. Dapat disimpulkan bahwa pemberian vaksin hanya dapat menangani 85-90% dari kasus IBD (Hair *et al.*, 2000).

Tanaman herbal merupakan salah satu alternatif pencegahan terhadap IBD. Perbedaan antara pencegahan melalui vaksin dan dengan menggunakan obat-obat herbal, yaitu keduanya terletak pada efek yang ditimbulkan. Tanaman obat dengan sifat alamiahnya akan meningkatkan daya tahan tubuh penderita terutama pada sistem kekebalan tubuh. Senyawa-senyawa aktif tanaman obat juga akan meredakan keganasan racun-racun yang dikeluarkan sel-sel kanker (anti toksik), menghambat pertumbuhan sel, memutus pasokan zat-zat makanan dan oksigen ke jaringan abnormal dengan cara menghentikan aliran darah. Selain itu, penggunaan obat herbal dalam pencegahan merupakan cara pengobatan dengan biaya yang relatif murah. Hal ini terkait dengan kemudahan dalam mendapatkan bahan baku, bahkan tanaman obat tersebut dapat ditanam sendiri (Herba, 2003), sehingga dapat digunakan untuk industri peternakan ayam skala kecil.

Pemanfaatan bahan alam merupakan salah satu alternatif untuk mencari antiviral baru. Telah dilaporkan bahwa ekstrak gubal biji *Annona squamosa* L. (srikaya) mengandung RIP (*Ribosome-Inactivating Protein*) (Sulistyani dkk, 2009) karena dapat memotong DNA superkoil (Sismindari dkk, 1998). RIP terbukti mempunyai efek sebagai antiviral, baik pada virus tanaman maupun hewan (Barbieri *et al.*, 1993;

Sulistiyani dkk, 2009). Srikaya juga diketahui mengandung senyawa polifenol, flavonoid, tanin, alkaloid dan saponin (Maryumi, 1996). Beberapa komponen kimia dalam tanaman srikaya tersebut dapat diekstraksi dengan etanol, sehingga penelitian antiviral dari ekstrak etanol perlu dilakukan (Sulistiyani dkk, 2009). RIP pada beberapa tanaman telah diketahui mempunyai aktivitas antiviral dengan beberapa kemungkinan mekanisme, antara lain mengubah permeabilitas dan memudahkan masuknya RIP ke dalam sel yang terinfeksi, inaktivasi ribosom sel yang terinfeksi akan mengeblok sintesis protein dan mengurangi replikasi virus (Barbieri *et al.*, 1993). Tanin pada beberapa tanaman juga dapat menghambat interaksi protein permukaan sel inang dan protein virus, sehingga menghambat perlekatan virus dan penetrasi virus ke dalam membran plasma (Moreira *et al.*, 2005 dikutip oleh Sulistiyani dkk, 2009) atau dengan kata lain tanin akan berikatan baik dengan protein virus maupun protein sel inang membentuk kompleks, sehingga mencegah proses adsorpsi virus (Jasim and Naji, 2003 dikutip oleh Sulistiyani dkk, 2009).

Dari hasil penelitian ini membuktikan bahwa pemberian *A. Squamosa* pada ayam pedaging yang terinfeksi IBD (*like HIV*) memberikan pengaruh yang bermakna terutama terkait rata-rata leukosit, rata-rata neutrofil, rata-rata limfosit, rata-rata BUN, Rata-rata kreatinin, rata-rata SGPT dan rata-rata SGOT serta rata-rata hasil titer antibodi ( $p < 0,05$ ) sedangkan untuk rata-rata eosinofil, rata-rata monosit, rata-rata kadar glukosa dan rata-rata kadar lipid total tidak memberikan hasil bermakna ( $p > 0,05$ ). Oleh karena itu ekstrak etanol *A. Squamosa* dapat dipertimbangkan sebagai antiviral terhadap infeksi gumboro (*like HIV*) karena disamping meningkatkan sistem imunitas juga tidak mengganggu fungsi ginjal maupun liver. Selain itu dapat digunakan sebagai penstabil kadar glukosa darah dan lipid total yang cenderung menurun pada kasus infeksi yang berat.

**Kata Kunci : *Annona squamosa* L, imunostimulan, IBD atau Gumboro, Herbal**

Dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional,  
Sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah Penelitian  
Nomor: 509/SP2H/PP/DP2M/III/2010, Tanggal 24 Juli 2010

**CAPACITATION *Annona squamosa* (Sweetsop) AS A LEADING  
IMMUNOSTIMULATORY in broilers HERBAL BASED ON INFECTIOUS  
BURSAL DISEASE (LIKE INFECTIOUS HIV)**

(Retno Bijanti \* and E. Bimo Aksono H \*, 33 pages, 2010)

**SUMMARY**

Infectious bursal disease (IBD) or gumboro is one of the most dangerous viral diseases in poultry and livestock industry and the economic aspect is very detrimental. This disease is acute, highly contagious and generally attacks young chickens (4-6 weeks) (Parkhurst, 1964; Lukert and Saif, 1991). Infectious bursal disease is also referred to as AIDS chicken because this disease attacks the immune system in chickens and resulted in secondary infection. This secondary infection which will aggravate the condition of the chickens and cause mortality in chickens. During this treatment against the IBD has not been found because the virus attacks the lymphoid organs (thymus and exchanges fabrisius). The damage is usually permanent, because these lymphoid organs, hypertrophy initially had developed into atrophy. Where is the result of the organs lymphoid experiencing this atrophy of the organ performance becomes not optimal such as during normal lymphoid organ size. Nevertheless inflammatory bowel disease is preventable by vaccination. However, prevention of IBD with the vaccine was not efficient. This result is due to the high vaccine would result in abnormalities in the stock fabrisius. Abnormality that occurs in the stock fabrisius although small will result in metabolic disorders and immunity levels in the body of chicken. It can be concluded that the vaccine can only handle 85-90% of IBD cases (Hair et al., 2000).

Herbal plant is one of the alternative precaution against IBD. The difference between prevention through vaccines and by using herbal medicines, namely the two lies in the effects. Medicinal plants with their natural properties will improve patient endurance especially in the immune system. Active compounds of medicinal plants will also reduce the malignancy of toxins released cancer cells (anti-toxic), inhibited cell growth, cut off the supply of nutrients and oxygen to the abnormal tissue by stopping blood flow. In addition, the use of herbal medicine in prevention is the way of treatment with relatively low cost. This is related to the ease in obtaining raw materials, and even medicinal plants can be planted alone (Herb, 2003), so it can be used for small-scale industrial chicken farms. Use of natural materials is one alternative to seeking new antivirals. It has been reported that the extract of *Annona squamosa* L. (Srikaya) contains RIP (ribosome-Inactivating Protein) (Sulistyani et al, 2009) because it can cut supercoiled DNA (Sismindari et al, 1998). RIP shown to have antiviral effects as both the plant and animal viruses (Barbieri et al., 1993; Sulistyani et al, 2009). *Annona squamosa* L is also known to contain polyphenol compounds, flavonoids, tannins, alkaloids and saponins (Maryumi, 1996). Several chemical components of *Annona squamosa* L plants can be extracted with ethanol, so that the ethanol extract of antiviral research needs to be done (Sulistyani et al, 2009). RIP in several plants have been known to have antiviral activity with a number of possible mechanisms, among others, change the permeability and facilitate entry of RIP into the infected cells, inactivation of ribosomes of infected

cells would block protein synthesis and reduces viral replication (Barbieri *et al.*, 1993). Tannins in some plants also can inhibit the interaction of the host cell surface proteins and viral proteins, thereby inhibiting viral attachment and penetration of virus into the plasma membrane (Moreira *et al.*, 2005 cited by Sulistyani *et al.*, 2009) or in other words tannins will bind well with viral proteins and host cell proteins form complexes, thus preventing the virus adsorption process (Jasim and Naji, 2003 cited by Sulistyani *et al.*, 2009).

From these results prove that administration of *A. Squamosa L* in broilers infected with IBD (like HIV) provide a significant impact especially in relation to an average of leukocytes, an average of neutrophils, lymphocytes average, the average BUN, creatinine average, SGPT and SGOT average and the average results of antibody titer ( $p < 0.05$ ) whereas the average for eosinophils, monocytes average, average glucose levels and the average total lipid content did not give significant results ( $p > 0.05$ ). Therefore, the ethanol extract of *A. Squamosa L* can be considered as an antiviral against gumboro infections (like HIV) as well as improve the immune system also does not interfere with kidney or liver function. Moreover, it can be used as a stabilizer of blood glucose and total lipids tend to decline in cases of severe infection.

**Key words : *Annona squamosa L*, imunostimulant, IBD or Gumboro**

Dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional,  
Sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah Penelitian  
Nomor: 509/SP2H/PP/DP2M/III/2010, Tanggal 24 Juli 2010

## PRAKATA

Pertama-tama kami panjatkan puji syukur ke Hadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena atas perkenannya maka laporan Hibah Strategis Nasional tahun anggaran 2010 kami tentang “KAPASITASI *Annona Squamosa (Sweetsop)* SEBAGAI IMUNOSTIMULAN UNGGULAN BERBASIS HERBAL PADA AYAM PEDAGING TERHADAP *INFECTIOUS BURSAL DISEASE (INFECTIOUS LIKE HIV)*” dapat kami selesaikan.

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Ditjen Dikti Kementerian Pendidikan Nasional, Rektor Universitas Airlangga, Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Airlangga, Ketua Lembaga Penyakit Tropis (*Institute of Tropical Disease*) Universitas Airlangga atas kesempatan dan perkenannya sehingga penelitian kami dapat berlangsung dengan lancar. Demikian juga ucapan terima kasih, kami sampaikan kepada analis LPT Unair yang telah banyak memberikan tenaga, saran, dan pengetahuan untuk kelancaran penelitian ini

Kami menyadari bahwa laporan ini masih banyak kekurangannya, kritik dan saran sangat kami harapkan demi peningkatan kualitas dari laporan kami. Selain itu besar harapan kami, laporan ini dapat memberikan tambahan pengetahuan dan informasi bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Surabaya, 01 Nopember 2010

Penulis



## DAFTAR ISI

	halaman
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN	i
RINGKASAN	ii
SUMMARY	iv
PRAKATA	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b>	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b>	4
2.1 Tanaman <i>Anona squamosa</i> Linn	4
2.1.1 Uraian dan Klasifikasi <i>Anona squamosa</i> Linn	4
2.1.2 Karakteristik Biologi	4
2.1.3 Kandungan Kimia	5
2.2 <i>Infectious Bursal Disease</i> atau Gumboro ( <i>like HIV</i> )	5
2.2.1 Karakteristik IBD	5
2.2.2 Patogenesis dan Transmisi	6
2.2.3 Sistem Imunitas Pada Ayam Pedaging	7
2.2.4 Hubungan Imunitas dengan IBD	7
2.2.5 Gejala Klinis dan Gambaran Patologi Organ	8
2.2.6 Diagnosis	9
2.2.7 Pencegahan dan Pengendalian	10
<b>BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN</b>	13
3.1 Tujuan	13
3.2 Manfaat	13
3.3 Hipotesis	13
<b>BAB 4. METODE PENELITIAN</b>	14
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	14
4.2 Bahan dan Alat	14
4.3 Metode Penelitian	15
4.4 Analisis Statistik	18



<b>BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	.....	18
5.1 Hasil	.....	18
5.2 Pembahasan	.....	29
<b>BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	.....	31
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	.....	32
<b>LAMPIRAN</b>	.....	34

## DAFTAR TABEL

	halaman
Tabel 5.1. Hasil perhitungan dosis bahan aktif <i>Annona squamosa</i> dan pelarutnya .....	19
Tabel 5.2. Rata-rata jumlah leukosit sebagai pengaruh pemberian <i>A. squamosa</i> pada ayam pedaging yang terinfeksi IBD ( <i>like HIV</i> ) .....	20
Tabel 5.3. Rata-rata jumlah eosinofil, netrofil, limfosit dan monosit sebagai pengaruh pemberian <i>A.squamosa</i> pada ayam pedaging yang terinfeksi IBD ( <i>like HIV</i> ) .....	21
Tabel 5.4. Rata-rata kadar SGOT dan SGPT sebagai pengaruh pemberian <i>A. squamosa</i> pada ayam pedaging yang terinfeksi IBD ( <i>like HIV</i> ) .....	23
Tabel 5.5. Rata-rata kadar BUN dan Kreatinin sebagai pengaruh pemberian <i>A. squamosa</i> pada ayam pedaging yang terinfeksi IBD ( <i>like HIV</i> ) .....	24
Tabel 5.6. Rata-rata kadar glukosa sebagai pengaruh pemberian <i>A. squamosa</i> pada ayam pedaging yang terinfeksi IBD ( <i>like HIV</i> ) .....	26
Tabel 5.7. Rata-rata kadar total lipid sebagai pengaruh pemberian <i>A. squamosa</i> pada ayam pedaging yang terinfeksi IBD ( <i>like HIV</i> ) .....	27
Tabel 5.8. Rata-rata kadar titer antibodi (hasil ELISA) sebagai pengaruh pemberian <i>A. squamosa</i> pada ayam pedaging yang terinfeksi IBD ( <i>like HIV</i> ) .....	28

**DAFTAR GAMBAR**

	halaman
Gambar 5.1. Histogram Rata-rata Jumlah Leukosit .....	20
Gambar 5.2. Histogram Rata-rata Jumlah Eosinofil, Netrofil, Limfosit dan Monosit .....	22
Gambar 5.3. Histogram Rata-rata Nilai SGOT .....	23
Gambar 5.4. Histogram Rata-rata Nilai SGPT .....	24
Gambar 5.5. Histogram Rata-rata Nilai BUN .....	25
Gambar 5.6. Histogram Rata-rata Nilai Kreatinin .....	25
Gambar 5.7. Histogram Rata-rata Nilai Glukosa (mg%) .....	26
Gambar 5.8. Histogram Rata-rata Nilai Total Lipid (mg/dl) .....	27
Gambar 5.9. Histogram Rata-rata Nilai Titer Antibodi IBD .....	28

## DAFTAR LAMPIRAN

	halaman
Lampiran 1. Dokumentasi kegiatan .....	34
Lampiran 2. Analisis Statistik .....	35

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

*Infectious Bursal Disease* (IBD) juga dikenal dengan penyakit gumboro. Penyakit ini merupakan salah satu penyakit viral yang sangat berbahaya dalam industri peternakan ayam dan dari aspek ekonomi sangat merugikan. Hal ini disebabkan karena penyakit ini bersifat akut, sangat menular dan pada umumnya menyerang ayam muda (4-6 minggu) (Parkhurst, 1964; Lukert and Saif, 1991). *Infectious Bursal Disease* juga disebut sebagai AIDS ayam karena penyakit ini menyerang sistem kekebalan pada ayam serta mengakibatkan adanya infeksi sekunder. Infeksi sekunder inilah yang nantinya memperparah kondisi dari ayam dan mengakibatkan angka kematian pada ayam.

Selama ini pengobatan terhadap penyakit *infectious bursal disease* belum ditemukan karena virus IBD menyerang organ limfoid (thymus dan bursa fabrisius). Kerusakan yang ditimbulkan biasanya bersifat permanent, karena organ-organ limfoid ini, pada awalnya mengalami hipertropi kemudian berkembang menjadi atropi. Dimana akibat dari organ-organ limfoid yang mengalami atropi ini kinerja dari organ tersebut menjadi tidak optimal seperti pada saat organ limfoid memiliki ukuran normal. Walaupun demikian penyakit IBD ini dapat dicegah dengan pemberian vaksin. Namun pencegahan IBD dengan vaksin pun belum efisien. Hasil ini karena dengan vaksin yang tinggi pun akan mengakibatkan abnormalitas pada bursa fabrisius. Abnormalitas yang terjadi pada bursa fabrisius walaupun kecil akan mengakibatkan gangguan metabolisme dan tingkat kekebalan pada tubuh ayam. Dapat disimpulkan bahwa pemberian vaksin hanya dapat menangani 85-90% dari kasus IBD (Hair *et al.*, 2000).

Tanaman herbal merupakan salah satu alternatif pencegahan terhadap IBD. Perbedaan antara pencegahan melalui vaksin dan dengan menggunakan obat-obat herbal, yaitu keduanya terletak pada efek yang ditimbulkan. Tanaman obat dengan sifat alamiahnya akan meningkatkan daya tahan tubuh penderita terutama pada sistem kekebalan tubuh. Senyawa-senyawa aktif tanaman obat juga akan meredam keganasan racun-racun yang dikeluarkan sel-sel kanker (anti toksik), menghambat pertumbuhan sel,

memutus pasokan zat-zat makanan dan oksigen ke jaringan abnormal dengan cara menghentikan aliran darah. Selain itu, penggunaan obat herbal dalam pencegahan merupakan cara pengobatan dengan biaya yang relatif murah. Hal ini terkait dengan kemudahan dalam mendapatkan bahan baku, bahkan tanaman obat tersebut dapat ditanam sendiri. (Herba, 2003), sehingga dapat digunakan untuk industri peternakan ayam skala kecil.

Linnaeus menyatakan adanya hubungan antara morfologi tumbuh-tumbuhan dengan zat kandungannya yaitu bahwa tumbuh-tumbuhan yang mempunyai persamaan ciri-ciri morfologi pada umumnya. Juga mempunyai zat yang kandungannya mirip (Hegnaur, 1962). *Annona squamosa* Linn adalah salah satu tanaman familia *Annonaceae* yang banyak ditanam oleh masyarakat Indonesia. Tumbuhan ini dikenal dengan nama srikaya. Bijinya banyak digunakan untuk abortivum, cacingan, mematikan kutu atau serangga dan untuk pencernaan yang lemah. Berdasarkan pernyataan Linnaeus di atas, karena *Annona muricata* dan *Annona squamosa* mempunyai marga yang sama maka diperkirakan mempunyai zat kandungan yang mirip, sehingga dalam penelitian ini dipilih tanaman *Annona squamosa* Linn untuk diteliti apakah mempunyai aktivitas seperti *Annona muricata*.

Mengingat adanya berbagai jenis golongan senyawa yang terkandung di dalamnya, maka perlu dilakukan upaya lebih lanjut untuk mengetahui golongan senyawa yang dikandung untuk dipisahkan berdasarkan kepolarannya (nonpolar, semipolar dan polar). Untuk itu perlu dilakukan ekstraksi soksletasi terhadap daun *Annona squamosa* Linn dengan pelarut etanol sehingga dihasilkan ekstrak etanol dan dilakukan uji imunostimulan dari ekstrak daun *Annona squamosa* Linn terhadap IBD (like HIV).

## 1.2 Rumusan Masalah

Sulistiyani, dkk (2009) mengemukakan dari beberapa sumber bahwa obat-obat antiviral yang diakui FDA (*Food and Drug Administration*), kebanyakan merupakan analog nukleosida sintetik. Resistensi virus terhadap analog nukleosida sintetik telah dilaporkan baik secara *invivo* maupun *in vitro*. Oleh karena itu, dibutuhkan penemuan antiviral-antiviral yang baru (Chiang, *et al.*, 2003). Pemanfaatan bahan alam merupakan

salah satu alternatif untuk mencari antiviral baru. Telah dilaporkan bahwa ekstrak gubal biji *Annona squamosa* L. (srikaya) mengandung RIP (*Ribosome-Inactivating Protein*) karena dapat memotong DNA superkoil (Sismindari dkk, 1998). RIP terbukti mempunyai efek sebagai antiviral, baik pada virus tanaman maupun hewan (Barbieri *et al.*, 1993). Penelitian Triadisti (2005) membuktikan bahwa infusa biji srikaya mempunyai kemampuan sebagai antiviral terhadap NDV dengan IC<sub>50</sub> 3.236 9 g/mL. Srikaya juga diketahui mengandung senyawa polifenol, flavonoid, tanin, alkaloid dan saponin serta dilaporkan memiliki aktivitas antiviral terhadap EBV *Early Antigen* (Maryumi, 1996). Beberapa komponen kimia dalam tanaman srikaya tersebut dapat diekstraksi dengan etanol, sehingga penelitian antiviral dari ekstrak etanol perlu dilakukan.

Walaupun demikian penelitian pengaruh ekstrak etanol daun *Annona squamosa* terhadap gambaran sistem pertahanan tubuh ayam pedaging yang terinfeksi IBD (*Infectious like HIV*) belum banyak dilaporkan



## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tanaman *Anona squamosa* Linn

##### 2.1.1 Uraian dan Klasifikasi *Anona squamosa* Linn

Pada daerah yang beriklim kering dan pada tanah yang berbatu-batu sangat disukai oleh tanaman ini, karena itu tanaman ini dikenal sebagai tanaman tahan akan kekering. Pada semua jenis tanah dan perairan maka dengan mudah tanaman ini tumbuh dan berkembang biak. *Annona squamosa* merupakan tanaman yang berasal dari kepulauan Antillen, selanjutnya menyebar ke Amerika Latin, kemudian ke Asia Tropika, India, Srilangka, Malaysia, Indonesia, Polynesia, Australia, dan Afrika.. Buahnya akan banyak jika ditanam pada ketinggian 100 m di atas permukaan laut (Heyne, 1987).

Annonaceae terdiri dari 50 genera (*Annona*, *Rollinia* dan *Asimina*), diantaranya yang komersial adalah *genera Annona* yang memiliki 100 spesies dan *genera Rollinia* yang memiliki 50 spesies (George, 1985). Menurut Heyne (1987). Klasifikasi tanaman *Annona squamosa* adalah sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Anak divisi	: AnglosPermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Ranales
Suku	: Annonaceae
Marga	: <i>Annona</i>
Jenis	: <i>Annona squamosa</i> Linn

##### 2.1.2 Karakteristik Biologi

Tumbuhan ini berupa perdu atau pohon kecil, tinggi 2 - 7 m berasal dari Antilles (Kepulauan Antillen ). Dari sana menyebar ke Amerika Latin, kemudian ke Asia Tropika. Sekarang banyak ditanam di India, Srilangka, Malaysia, Indonesia, Polynesia, Australia, dan Afrika. Tumbuhan ini tumbuh subur pada semua jenis tanah dengan pengairan yang

tepat. Tempat yang paling disenangi adalah daerah yang beriklim kering dan pada tanah yang berbatu-batu. Tumbuhan ini dikatakan tahan akan kekeringan. Buahnya akan banyak jika ditanam pada ketinggian 100 m di atas permukaan laut (Heyne, 1987).

### 2.1.3 Kandungan Kimia

- Pada Daun : Alkaloid ( Annonain, Reticulin ), mirisil alkohol senyawa polifenol, flavonoid, leukocianidin, asam kafeat, asam kumarat.
- Pada Buah : Protein, kalsium, fosfor, gula, vitamin A, vitamin C, asam amino, dan tanin pada buah muda.
- Pada Biji : Selulosa, amilum, lemak, protein, gula resin, minyak lemak, bahan beracun, acetogenin (Annonacin-A, Squamosten-A, Neoannonin, Squamocin-I, Squamocin-K, Squamocin-N, Squamocin-E, Squamocin, Annonin-III (metrilin), Squamocin-B, Squamocin-D (asiminacin) Squamocin-F, Squamostatin-A (almuneguin), Squamostatin-D, Squamostatin-E).
- Pada akar dan kulit : Borneol, camphor, terpen, alkaloid annonain, acetogenin (Squamone, 2,4 cis dan trans bullatacinone) (Egnauer, 1969; Wijayakusuma, dkk, 1995; Chang, dkk, 1993; Gu, dkk, 1993; Alkofahl, dkk, 1988; Polo, dkk, 1996 ).

## 2.2. *Infectious Bursal Disease* atau Gumboro (like HIV)

### 2.2.1 Karakteristik IBD

*Infectious Bursal Disease* atau Gumboro (*like HIV*) disebabkan oleh famili virus birnaviridae dan genus avibirnavirus (Huang *et al.*, 2004). Virus ini memiliki lapisan tunggal, tidak beramplop, dengan bentuk simetris ikosahedral dan berdiameter 55 sampai 65 nm (Hirai dan Shimakura, 1974 dalam Calnek 1997). Ayam yang terinfeksi virus ini dapat menularkan ayam lain melalui feses, pakan, air minum, dan litter dalam kandang secara ingesti. Virus IBD resisten terhadap berbagai desinfektan dan faktor sekitar dan virus tetap infeksius paling sedikit 4 bulan disekitar peternakan ayam. Karena virus IBD yang resisten, satu saat apabila peternakan ayam terkontaminasi, penyakit cenderung terulang kembali pada kelompok ternak berikutnya (Butcher and Miles, 2009).

IBD ditandai dengan terjadinya kerusakan limfosit pada bursa fabrisius dan sedikit pada organ limfoid lainnya. Penyakit ini merupakan masalah utama pada peternakan ayam diseluruh dunia. Walaupun penyakit ini seringkali tidak diketahui atau dikenali pada keadaan subklinis, akan tetapi ayam yang terinfeksi akan mengalami penurunan respons antibodi terhadap vaksinasi, reaksi post vaksinasi yang kuat dan meningkatkan kepekaan terhadap infeksi sekunder (Butcher and Miles, 2009).

IBD atau gumboro merupakan penyakit infeksi viral yang akut, dan sangat menular pada ayam muda. Sel limfoid terutama sel B merupakan sel target primer penyakit tersebut dan jaringan limfoid pada bursa fabrisius merupakan organ yang terserang paling parah. Penyakit ini sangat penting di dunia perunggasan karena terjadi kematian yang tinggi pada ayam muda (umur 3-6 minggu) dan merupakan penyakit immunosupresif apabila terjadi secara subklinis sehingga mengakibatkan reaksi terhadap vaksinasi rendah, mudah terkena infeksi bakteri, protozoa, dan virus lain (Cereno 2004).

### 2.2.2 Patogenesis dan Transimisi

Untuk mengerti lebih jelas bagaimana virus IBD mempengaruhi sistem kekebalan. Selama perkembangan embrionik dan melewati kira-kira umur 10 minggu, sel sistem kekebalan (limfosit) berpindah ke bursa fabrisius untuk di program menjadi sel yang menghasilkan antibodi. Apabila virus IBD merusak bursa fabrisius pada ayam muda, maka bursa fabrisius tidak mampu memprogram jumlah limfosit yang cukup. Jadi ayam akan mengalami penurunan kemampuan sistem kekebalan (immunosupresi) (Butcher and Miles, 2009).

Apabila kerusakan bursa fabrisius terjadi lebih awal, maka kemampuan limfosit untuk menghasilkan antibodi akan menurun. Oleh karena itu setiap program pengontrolan virus harus dilakukan untuk untuk menjaga bursa fabrisius selama mungkin. Secara praktis, apabila bursa fabrisius dapat dilindungi terhadap penyakit sampai paling sedikit umur 3 minggu, akan diprogram jumlah limfosit yang cukup dan pengaruh immunosupresi karena wabah IBD dapat diminimalkan (Butcher and Miles, 2009).

Terkait transmisi IBD, maka ayam yang terinfeksi virus IBD akan mengeluarkan virus di dalam feses sehingga kemungkinan makanan, minuman dan litter kandang akan terkontaminasi. Ayam-ayam lain yang ada dikandang akan terinfeksi dengan menelan

virus. Demikian juga *Alphitobus diaperinus* yang ada di pakan dapat sebagai pembawa virus. Oleh karena sifat virus IBD yang resisten, secara mudah dapat ditularkan secara mekanik diantara peternakan-peternakan oleh manusia, peralatan dan kendaraan (Butcher and Miles, 2009).

### 2.2.3 Sistem Imunitas Pada Ayam Pedaging

Resistensi dan pemulihan pada infeksi virus bergantung pada interaksi antara virus dan inangnya. Pertahanan inang bekerja langsung pada virus atau secara tidak langsung pada replikasi virus untuk merusak atau membunuh sel yang terinfeksi. Sistem imun pada unggas bekerja secara umum seperti sistem imun pada mamalia.

Stimulasi antigenik menginduksi respons imun yang dilakukan sistem seluler 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, yang mengalami transformasi menjadi sel plasma dan memproduksi antibodi. Limfosit T mengambil peran pada imunitas seluler dan mengalami diferensiasi fungsi yang berbeda sebagai subpopulasi (Sharma 1991). Antigen eksogen masuk ke dalam tubuh melalui endositosis atau fagositosis.

### 2.2.4 Hubungan Imunitas dengan IBD

IBD atau gumboro merupakan penyakit infeksi viral yang menyerang sel limfoid. Sel B merupakan sel limfoid target primer penyakit tersebut dan jaringan limfoid pada bursa fabrisius merupakan organ yang terserang paling parah (Sharma 1991)..

Imunitas pada ayam terdapat pada sel limfoid B karena sel B merupakan sel pembentuk plasma sel dan sel memori pada tubuh ayam. Plasma sel sebagai pembentuk antibodi sedangkan sel memori sebagai pengingat tentang antigen yang masuk dalam tubuh. Virus penyebab IBD berpredileksi pada organ-organ limfoid sehingga menyebabkan kerusakan pada organ-organ limfoid. Organ-organ limfoid merupakan tempat memproduksi sel B, sehingga jika terjadi kerusakan pada organ limfoid maka tidak akan terbentuk sel B, tidak terbentuknya sel B mengakibatkan tidak terbentuknya antibodi sehingga terjadi infeksi-infeksi sekunder yang dapat mengakibatkan IBD semakin parah. Untuk mencegah terjadinya kerusakan bursa fabrisius saat terinfeksi IBD

maka harus dilakukan penghambatan virus IBD untuk mencapai bursa fabrisius (Sharma 1991).

### 2.2.5 Gejala Klinis dan Gambaran Patologi Organ

Penyakit bentuk subklinis terjadi pada umur kurang dari 3 minggu. Ayam tidak menunjukkan gejala klinis penyakit tapi terjadi immunosupresi berat dan permanen. Penyebab kenapa pada ayam muda tidak terjadi gejala klinis masih tidak diketahui, walaupun immunosupresi terjadi disebabkan karena kerusakan bursa fabrisius. Sebagian besar infeksi di lapangan adalah subklinis, dan bentuk ini adalah bentuk penyakit yang lebih penting secara ekonomi (Butcher and Miles, 2009).

Pada peternakan broiler maka akibat infeksi IBD memberikan dampak pada penurunan berat badan dan konversi pakan rendah, serta mortalitas yang tinggi (Butcher and Miles, 2009). Pada banyak kasus, penelitian menunjukkan bahwa peternakan seperti ini tercemar sangat berat dengan virus IBD. Penampilan atau performans yang rendah pada broiler tersebut disebabkan karena faktor yang berhubungan dengan immunosupresan yang disebabkan karena IBD subklinis.

Bentuk klinis IBD umumnya terjadi pada ayam umur 3-6 minggu. Penyakit bentuk klinis terjadi secara tiba-tiba dan angka mortalitas didalam kelompok akan meningkat secara cepat. Gejala klinis dari penyakit meliputi dehidrasi, gemetar, bulu rontok, nafas tersumbat, depresi. Ayam tertular mengalami *transien* immunosupresi dan pada nekropsis ditemukan lesi pada bursa fabrisius (Butcher and Miles, 2009).

Perubahan patologis dari organ bursa fabrisius diawali oleh pembengkakan bursa fabrisius (inflamasi), terlihat hiperemis dan edematous, terdapat transudat seperti gelatin dan berwarna kekuningan menutupi permukaan serosa. Pada kasus yang lebih berat terdapat hemorrhagi dan daerah nekrosis. 5 (lima) hari setelah infeksi, bursa fabrisius akan mengecil ukurannya secara cepat (atrofi). Nekrosis dan pengosongan limfosis juga terjadi pada organ limfoid sekunder seperti limpa, kelenjar Harder, dan tonsil cecal. Organ-organ ini terpengaruh tidak separah bursa fabrisius dan akan pulih sesudah infeksi. Hemoragik juga terjadi pada otot dada karena virus IBD mempengaruhi mekanisme pembekuan darah normal. Ginjal terlihat membengkak pada burung yang mati, atau pada

stadium lanjut dari penyakit. Lesi-lesi tersebut mungkin bentuk akibat dari dehidrasi, tidak langsung akibat kerusakan oleh virus (Butcher and Miles, 2009).

Secara mikroskopis, nekrosis limfosit terjadi pada bursa fabrisius dalam waktu 36 jam sesudah infeksi. Sesudah 48 jam, terdapat sedikit limfosit. Terjadi edema, hiperemis, dan infiltrasi sel inflamasi yang terlihat pada bursa fabrisius yang membesar selama hari-hari awal permulaan sesudah terjadi infeksi IBD. Pada 8-12 hari sesudah infeksi, bursa fabrisius akan mengkerut menjadi kurang dari seperempat ukuran seharusnya. Folikel limfoid menjadi *cystic* dan terjadi pengosongan limfosit. Epitel yang mengelilingi bursa fabrisius menjadi tidak teratur dan *infolded* (melipat kedalam). Terjadi fibroplasia pada jaringan ikat interfolikuler (Butcher and Miles, 2009). Pada kasus IBD yang parah, semua folikel akan dipengaruhi secara simultan. Pada kasus yang kurang parah, hanya berupa bercak-bercak pada folikel yang dipengaruhi dan lesi akan menyebar ke folikel lain.

Faktor-faktor yang menentukan keparahan infeksi antara lain jenis atau strain virus IBD, konsentrasi virus IBD yang masuk, level atau tingkat imunitas melawan virus IBD dan faktor manajemen (Butcher and Miles, 2009).

### 2.2.6 Diagnosis

Diagnosa IBD termasuk mempertimbangkan sejarah ternak, gejala klinis dan lesi yang terjadi. Kenyataannya, ayam umur kurang dari 3 minggu tidak menunjukkan gejala klinis penyakit, sementara ayam umur lebih dari 3 minggu ditemukan mengalami gejala klinis. Keparahan dari gejala klinis akan dipengaruhi antara lain jenis atau strain virus IBD, konsentrasi virus IBD yang masuk, level atau tingkat imunitas melawan virus IBD dan faktor manajemen (Butcher and Miles, 2009).

Penentuan diagnosis IBD klinis dapat dibuat dengan nekropsis dengan pemeriksaan bursa fabrisius selama stadium permulaan penyakit, untuk melihat *gross lesion* yg tersifat (Butcher and Miles, 2009). Selama stadium lebih lanjut dari penyakit IBD, sulit menentukan diagnosis IBD dengan hanya memeriksa bursa fabrisius yang mengkerut dan atrofi seperti yang bisa terjadi pada penyakit lain (misal : Penyakit Marek, serta mikotoksikosis) yang menghasilkan perubahan yang sama. Pada burung umur kurang dari 3 minggu atau ayam muda dengan *maternal antibody*, infeksi virus IBD seringkali subklinis. Jadi, tidak terdapat gejala klinis yang khusus dan diagnosis seharusnya



didukung dengan mempelajari histopatologi bursa fabrisius yang dicurigai, pemeriksaan serologi atau dengan isolasi virus (Butcher and Miles, 2009).

### 2.2.7 Pencegahan dan Pengendalian

Pencegahan IBD yang efektif dan program kontrol harus melibatkan program vaksinasi efektif di peternakan serta program biosekuriti efektif efektif pada broiler. Immunisasi pada peternakan merupakan bagian penting program pengendalian IBD. Antibodi yang dihasilkan oleh induk ayam akan dibawa melalui telur ke anak ayam broiler. *Maternal antibody* ini, apabila terdapat dalam jumlah yang cukup, akan melindungi ayam dari IBD subklinis. Contoh program vaksinasi peternakan dimana terdapat problem IBD subklinis adalah dengan jadwal vaksinasi sebagai berikut : pada umur 12-15 hari dengan *IBD live*, umur 30-33 hari dengan *IBD live*, umur 85 hari *IBD live* atau *inactivated*, umur 120 hari *IBD inactivated* (Butcher and Miles, 2009).

Revaksinasi pada umur 38-42 minggu dengan vaksin *IBD inactivated* diperlukan bila titer rendah atau tidak seragam. Memonitor secara rutin titer antibodi untuk memastikan vaksin dapat diberikan secara baik dan anak ayam akan mendapatkan respons yang benar. Pengendalian IBD yang efektif pada peternakan komersial broiler dibutuhkan untuk mengurangi serangan virus lapangan dengan kebersihan dan desinfektan peternakan yang cukup serta kontrol lalu lintas (orang, peralatan, kendaraan) di peternakan. Perkembangan dan program biosekuriti yang ketat merupakan faktor yang sangat penting dan akan mengurangi kerugian yang disebabkan karena IBD. Senyawa fenol dan formaldehid telah diketahui merupakan desinfektan yang efektif terhadap kontaminasi. Usaha biosekuriti (pengendalian pada kebersihan, desinfeksi, lalu lintas) harus dilakukan secara kontinyu, perbaikan akan terlihat secara perlahan-lahan dan umumnya terlihat sesudah 3-4 kali pergantian kawanan ternak. Faktor ketiga yang dipertimbangkan pada program pengendalian dan pencegahan adalah vaksinasi broiler untuk mencegah IBD klinis. 3 (tiga) kategori vaksinasi berdasarkan patogenitasnya adalah ringan, intermediate dan virulen. Jenis vaksin IBD intermediate adalah yang paling sering dipakai. Vaksin ini dapat menstimulasi broiler untuk menghasilkan antibodi lebih awal dibandingkan dengan vaksin tipe ringan tanpa terjadi kerusakan yang signifikan dari bursa fabrisius seperti yang terjadi dengan vaksinasi jenis virulen.



Waktu vaksinasi pada broiler tergantung pada level *maternal antibody* yang terdapat pada anak ayam. Level *maternal antibody* yang tinggi pada saat vaksinasi akan menetralkan virus yg ada di vaksin. Jadi hanya terjadi respon imun aktif yang terbatas dan anak ayam akan terpengaruh terhadap penyakit karena titer maternal menurun. Apabila titer maternal IBD rendah pada anak ayam, vaksinasi mungkin tidak efektif pada peternakan yang terkontaminasi dengan virus lapangan yang virulen (Butcher and Miles, 2009).

Dibutuhkan kira-kira 10-12 hari sesudah vaksinasi pada anak ayam untuk membentuk titer protektif minimal. Selama "*lag time*" ini, anak ayam peka terhadap IBD. Virus IBD yang virulen mampu untuk diatasi melalui titer *maternal antibody* yang tinggi daripada virus vaksin yang ringan. Jadi apabila terjadi kontaminasi yang tinggi dari virus IBD lapangan pada peternakan broiler tidak ada vaksin broiler yang dapat menstimulasi pencegahan pada ternak sebelum terjadi kerusakan. Apabila titer *maternal antibody* tidak seragam atau tidak sama pada ternak broiler, dibutuhkan vaksinasi berulang yang membutuhkan biaya. Misalnya peternak akan memvaksinasi broiler pada anak ayam umur sehari dan lagi pada umur 14 hari. Vaksinasi IBD berulang ini dianjurkan apabila titer maternal sangat tidak sama, yang merupakan akibat dari pemberian vaksin yang kurang baik pada peternakan atau mencampurkan broiler dari *breeder* berbeda. Pada penelitian terbaru, adalah sama pada kelompok yang berasal dari *breeder* dengan titer IBD yang tidak sama yang mempunyai anak ayam dengan variabel titer dengan banyak anak ayam yang tidak atau sedikit mempunyai proteksi *maternal antibody*. Walaupun vaksinasi pada anak ayam umur 1 (satu) hari mungkin memberikan keuntungan yang sedikit secara langsung pada anak ayam dengan level titer maternal tinggi, vaksinasi berulang akan memberikan perlindungan pada anak ayam dengan level *maternal antibody* yang rendah dan akan mengurangi replikasi virus IBD lapangan yang akan berkembang sekitar kandang peternakan (Butcher and Miles, 2009).

Faktor penting yang perlu dipertimbangkan pada pengendalian IBD adalah mencegah kerugian peternak broiler melalui program vaksinasi IBD yang efektif pada *breeder* (titer maternal) dan menurunkan terjadinya penularan dengan program biosekuriti yang komprehensif. Bertumpu pada vaksinasi broiler akan memberikan

keberhasilan yang terbatas, bila tidak dikoordinasikan dengan vaksinasi *breeder* yang efektif dan program biosekuriti (Butcher and Miles, 2009).

Pengendalian IBD menjadi semakin sulit dengan ditemukannya strain varian dari IBD. Virus varian mengakibatkan kerusakan pada bursa fabrisius anak ayam, sama apabila terdapat titer antibodi tinggi dan titer antibodi yang tidak sama. Strain varian tidak menyebabkan penyakit klinis yang nyata, tetapi menyebabkan immunosupresi yang parah atau berat. Bursa fabrisius dari ayam yang terserang, mengalami atrofi secara cepat (pengosongan limfosit) tanpa perubahan inflamasi yang terlihat pada permulaan infeksi dengan virus IBD klasik. Varian ini tidak membentuk serotipe berbeda tetapi cukup berbeda secara antigenik untuk menyebabkan masalah (Butcher and Miles, 2009).

## **BAB 3**

### **TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN**

#### **3.1 Tujuan**

Melakukan kapasitas potensi metabolit sekunder hasil ekstraksi etanol yang terdapat dalam daun *Annona squamosa* (*sweetsop*) sebagai imunotimulan yang unggul pada ayam khususnya ayam pedaging terhadap *infectious bursal disease* (IBD) (*like HIV*) sehingga memberikan alternatif obat antiviral yang lebih aman, murah dan mudah didapat pada lingkungan berbasis tanaman herbal di Indonesia

#### **3.2 Manfaat**

##### **Bagi Kepentingan Pengembangan Ilmu**

Memberikan serta menambah wawasan ilmiah tentang potensi tanaman herbal Indonesia khususnya hasil ekstrak etanol daun srikaya (*Annona squamosa*) yang mampu bertindak sebagai imunostimulan pada ayam yang terinfeksi IBD (*like HIV*).

##### **Bagi kepentingan Aplikasi**

Sebagai obat antiviral alternatif yang aman, murah dan mudah didapat oleh masyarakat khususnya peternak unggas.

#### **3.3 Hipotesis**

Pemberian ekstrak etanol daun *Annona squamosa* sebagai imunostimulan herbal unggul pada ayam pedaging yang terinfeksi IBD (*like HIV*) mempengaruhi profil titer antibodi terhadap IBD, jumlah leukosit dan diferensial leukosit (eosinofil, netrofil, monosit, limfosit), kadar SGPT dan SGOT (fungsi liver), kadar BUN dan kreatinin (fungsi ginjal), kadar glukosa, kadar total lipid.

## BAB. 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di kandang percobaan unggas Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga. Penghitungan jumlah leukosit dan diferensiasi leukosit dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik FKH-Unair. Pemeriksaan antibodi IBD dengan metode ELISA dilaksanakan di Laboratorium Virologi FKH-Unair. Penelitian dimulai bulan Juni 2010 sampai dengan Oktober 2010.

#### 4.2 Bahan dan Alat

##### *Hewan percobaan*

Penelitian menggunakan 40 ekor ayam pedaging berumur satu hari (DOC). Ayam percobaan adalah ayam pedaging yang diperoleh dari peternakan pembibitan "Multibreeder". Kandang percobaan yang digunakan adalah sistem *multiple cages* berukuran 20 x 15 x 10 cm, masing-masing unit terdiri atas satu ekor sehingga jumlah kandang seluruhnya 40 unit. Setiap kandang dilengkapi tempat makan, minum, dan lampu kandang dipakai secara bersama-sama sebagai alat penerangan, *cages* ditempatkan dalam satu ruangan kandang. Peralatan lain yang digunakan adalah alat pengukur temperatur ruangan, higrometer, plastik wadah ransum, ember, tirai penutup kandang, timbangan, tabung penampung darah, spuit, rak telur, dan peralatan tulis.

##### *Ekstrak Annona squamosa (Sweetsop)*

Srikaya (*Annona squamosa*) diperoleh dari perkebunan srikaya dan ekstraksi dilakukan di Laboratorium Fitofarmaka Fakultas Farmasi Universitas Widya Mandala. *Annona squamosa* (Sweetsop) yang digunakan sebagai bahan uji adalah dari hasil ekstraksi dengan metode *reflux* menggunakan etanol sebagai pelarut.

### *Virus Infectious Bursal Disease (Infectious like HIV)*

Virus IBD yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari laboratorium Virologi FKH-Unair.

#### **4.3 Metode Penelitian**

Ayam percobaan secara acak ditempatkan dalam kandang yang sudah dilengkapi tempat makan, minum, dan lampu penerangan. Adaptasi ayam percobaan tidak dilakukan karena menggunakan ayam umur satu hari (*day old chicken* - DOC). Desain percobaan yang digunakan untuk penentuan titer antibodi pada IBD, jumlah leukosit perml dan proporsi limfosit, fungsi ginjal (BUN dan kreatinin), kadar glukosa, kadar lipid total. Metode statistika yang digunakan pada percobaan ini adalah Rancangan Acak Lengkap.

#### ***Uji ekstrak *Annona squamosa* (Sweetsop) sebagai imunostimulan.***

Pemberian ekstrak *Annona squamosa* (Sweetsop) dengan dosis 10 mg/kg bobot badan, diberikan secara oral dengan cara disonde pada umur 7 hari sampai akhir percobaan, yaitu umur 35 hari, infeksi IBD diberikan pada umur 20 hari secara peroral dengan dosis  $EID_{50} 10^7$ . Adapun desain tersebut sebagai berikut :

Kelompok A : diberi ekstrak *Annona squamosa* (Sweetsop) tanpa diinfeksi IBD

Kelompok B : tanpa diberi ekstrak *Annona squamosa* (Sweetsop) tanpa diinfeksi IBD

Kelompok C : diberi ekstrak *Annona squamosa* (Sweetsop) dan diinfeksi IBD

Kelompok D : tanpa diberi ekstrak *Annona squamosa* (Sweetsop) diinfeksi IBD

#### ***Pengukuran titer antibodi terhadap IBD dengan teknik enzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA)***

##### ***Bahan dan alat.***

Mikroplat, pipet mikro, antigen IBD, serum ayam, PBS- TW20 0,05%, carbonate bicarbonate buffer pH 9,6, Bovine Serum Albumin (BSA) 1%, conjugate (Rabbit anti Chicken), substrat 2-2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazo-line-6-sulphonic acid) (ABTS), *Microplate Reader*, dan inkubator.

*Prosedur kerja.*

1. *Coating* antigen IBD 1/200 dalam *carbonate bicarbonate buffer* pH 9,6 yaitu antigen 50  $\mu$ l dilarutkan pada *carbonate bicarbonate buffer* 9950  $\mu$ l. Tiap sumur diisi 100  $\mu$ l kemudian diinkubasikan 4<sup>o</sup>C semalam.
2. Antigen terabsorpsi secara pasif ke matriks padat melalui interaksi hidrofobik, interaksi ini dapat meningkatkan pengikatan. Mikroplate dicuci 3 sampai 4 kali dengan PBS-TW20 0,05% 200  $\mu$ l sampai dengan 250  $\mu$ l. Pencucian dengan larutan bufer dilakukan untuk menghilangkan materi non pengikatan dan yang berikatan longgar pada fase padat .
3. Selanjutnya dilakukan *blocking* dengan *Bovine Serum Albumin* (BSA) 1% (100  $\mu$ g BSA dalam 10 ml PBS) tiap sumur diisi 200  $\mu$ l kemudian diinkubasi selama 45 menit pada suhu 37<sup>o</sup>C. Perlakuan *blocking* bertujuan untuk mengisi tempat yang belum tertutup (*coated*) antigen pada fase padat sehingga menghambat pengikatan non-spesifik reagent berikutnya, BSA mudah mengikat pada fase padat. Kemudian dicuci 3 sampai 4 kali dengan PBS-TW20 0,05%.
4. Sebanyak 100  $\mu$ l serum ayam dengan konsentrasi 1/100 (10 ul dalam 1 ml larutan PBS) dimasukkan ke dalam tiap sumur, kemudian diinkubasikan selama 1 jam pada suhu 37<sup>o</sup>C. Mikroplate dicuci 3 sampai 4 kali dengan PBS-TW20 0,05%.
5. Kemudian ditambahkan 100  $\mu$ l konjugat (Rabbit anti Chicken, Sigma<sup>®</sup>) dengan konsentrasi 1/2000 dalam larutan PBS, dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37<sup>o</sup>C. Mikroplate dicuci kembali 3 sampai 4 kali dengan PBS-TW20 0,05%. Kemudian disiapkan substrat yang terdiri atas 10  $\mu$ l sitrat bufer pH 4,2, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 5  $\mu$ l., substrat 2-2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazolone-6-sulphonic acid) 200  $\mu$ l. Sebanyak 100  $\mu$ l. substrat tersebut dimasukkan ke dalam tiap sumur yang dilanjutkan dengan inkubasi selama 30 menit pada suhu 37<sup>o</sup>C. Setelah itu, nilai absorbansi segera dibaca pada *Microplate Reader* (Birad<sup>®</sup>) pada panjang gelombang 415 nm.

*Perhitungan jumlah leukosit**Bahan dan alat.*

Pipet, kamar hitung, Larutan Rees Ecker, EDTA, tabung reaksi, alkohol 70%, dan kapas.

*Prosedur kerja.*

Secara hati-hati bagian badan dan kaki ayam dipegang sehingga tidak meronta. Jarum suntik dimasukkan ke bagian sayap (*vena brachialis*) yang sebelumnya dibersihkan dengan alkohol. Darah diambil sebanyak 2 ml, kemudian ditampung dalam tabung reaksi yang telah diisi antikoagulan EDTA dengan tujuan mencegah pembekuan darah. Tabung reaksi yang berisi darah ditutup dengan parafin untuk mencegah kontamina. Darah yang dicampur dengan antikoagulan EDTA dihisap dengan pipet hingga tanda 0,5 dan ujung pipet dibersihkan, kemudian pipet diletakkan pada larutan pengencer leukosit (Larutan Rees Ecker) dan diisi perlahan-lahan hingga tanda angka 11 sehingga didapat konsentrasi menjadi 1 : 20. Pipet yang berisi darah ini dikocok selama 3 menit hingga tercampur homogen, setelah itu sebanyak 2 atau 3 tetes larutan diteteskan dari pipet dibuang sebelum mengisi kamar hitung. Setelah itu, larutan diteteskan ke dalam kamar hitung dan dibiarkan selama 1 menit. Dengan perbesaran rendah jumlah leukosit dihitung dalam 4 kotak sudut kamar hitung darah. Rumus perhitungan yang dipakai adalah :

$$\text{leukosit/cu.mm atau jumlah sel leukosit} = \frac{\text{Jumlah sel} \times 200 \text{ (larutan 1 : 20x10)}}{4}$$

dalam kotak sudut kamar hitung x 50 = leukosit/cu.mm.

*Diferensiasi leukosit*

Pemeriksaan dilakukan dengan membuat preparat ulas darah dan diwarnai dengan pewarnaan Giemsa 10% selama 30 menit. Sampel darah di campur homogen sebelum diambil dengan pipet kapiler, kemudian satu tetes kecil darah diletakkan dekat ujung gelas obyek posisi permukaan datar. Gelas obyek yang kedua ditempatkan dengan ujung menyentuh permukaan gelas obyek pertama sehingga membentuk sudut 30-45°. Gelas obyek kedua ditarik ke samping dan di biarkan darah mengalir dengan daya kapiler sehingga mencapai luasan 2/3 gelas obyek pertama. Gelas obyek kedua didorong



dengan sudut yang sama sehingga membentuk lapisan tipis. Preparat apus dibiarkan mengering di udara terbuka. Preparat apus darah difiksasi dengan metil alkohol selama 3-5 menit, preparat diambil dan dibiarkan kering di udara. Setelah kering preparat direndam dengan pewarna Giemsa yang baru selama 15-60 menit. Preparat dicuci dengan air berkali-kali dan dibiarkan mengering di rak. Penghitungan persentase limfosit dilakukan perbesaran obyektif 100x, klasifikasi leukosit pada beberapa lapangan pandang dan dihitung per 100 leukosit.

*Pemeriksaan BUN, Kreatinin, SGPT, SGOT, Kadar Glukosa Darah, Kadar Lemak Total serta kadar Immunoglobulin Total* mengikuti prosedur pemeriksaan yang ada di patologi klinik FKH-Unair.

#### **4.4 Analisis Statistik**

Data yang diperoleh akan dianalisis menggunakan analisis varian (ANOVA) dan bila terdapat beda nyata antara perlakuan akan dilanjutkan dengan Uji BNT (Steel dan Torrie, 1991).

## BAB 5

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 5.1 Hasil

##### Perhitungan Dosis

Dosis per ekor 10 mg/BB/hari

$$\begin{aligned} \text{Ayam umur 7 hari BB 150 g} &= 150 \text{ g}/1000 \times 50 \times 10 \text{ mg} = 75 \text{ mg}/50 \text{ ekor/hari} \\ &= 525 \text{ mg}/50 \text{ ekor}/7 \text{ hari} \\ 14 \text{ hari BB 450g} &= 450 \text{ mg}/1000 \times 50 \times 10 \text{ mg} = 225 \text{ mg}/50 \text{ ekor/hari} \\ &= 1575 \text{ mg}/50 \text{ ekor}/7 \text{ hari} \\ 21 \text{ hari BB 850 g} &= 850 \text{ mg}/1000 \times 50 \times 10 \text{ mg} = 425 \text{ mg}/50 \text{ ekor/hari} \\ &= 2975 \text{ mg}/50 \text{ ekor}/7 \text{ hari} \\ 28 \text{ hari BB 1300 g} &= 1300 \text{ mg}/1000 \times 50 \times 10 \text{ mg} = 650 \text{ mg}/50 \text{ ekor/hari} \\ &= 4550 \text{ mg}/50 \text{ ekor}/7 \text{ hari} \end{aligned}$$

$$\text{CMC Na 2 \% dijadikan 0,5 \% : } 2/100 \times n = 0,5/100$$

$$n = 1/4$$

Kebutuhan larutan ekstrak per ekor ayam 0,5 ml

$$50 \text{ ekor} = 25 \text{ ml/hari} = 175 \text{ ml}/50 \text{ ekor}/7 \text{ hari}$$

**Tabel 5.1. Hasil perhitungan dosis bahan aktif *Annona squamosa* dan pelarutnya**

Waktu	CMC Na 2 % (1/4 x 175ml)	Aquadest (3/4 x 175 ml)
Minggu I	525 mg (Dosis Bhn Aktif) / 131,25 ml	43,75 ml
Minggu II	1575 mg (Dosis Bhn Aktif) / 131,25 ml	43,75 ml
Minggu III	2975mg (Dosis Bhn Aktif) / 131,25 ml	43,75 ml
Minggu IV	4550mg (Dosis Bhn Aktif) / 131,25 ml	43,75 ml

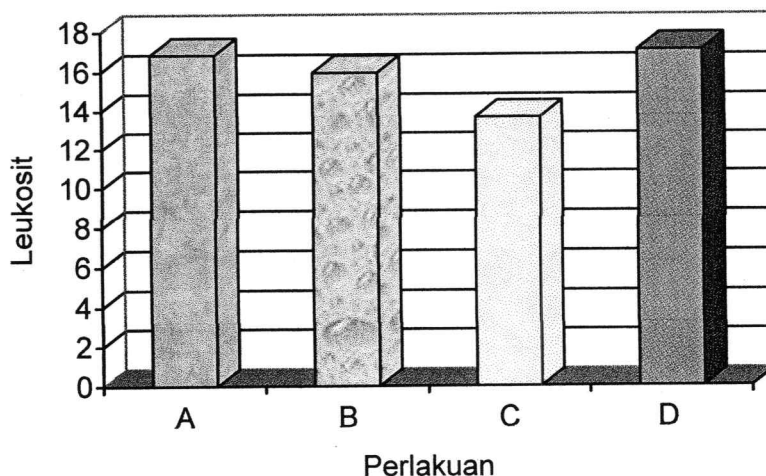
Dari Tabel 5.1. terlihat bahwa CMC dibutuhkan sebagai pelarut karena untuk membutuhkan agar hasil ekstrak tanaman *A. squamosa* dapat larut aquadest.

**Tabel. 5.2 Rata-rata jumlah leukosit sebagai pengaruh pemberian *A. squamosa* pada ayam pedaging yang terinfeksi IBD (*like HIV*)**

Perlakuan	Jumlah leukosit/ $\mu$ l
<b>A</b> : diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) tanpa diinfeksi IBD	16.840 $\pm$ 2,176 <sup>b</sup>
<b>B</b> : tanpa diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) tanpa diinfeksi IBD	15.945 $\pm$ 1,9679 <sup>b</sup>
<b>C</b> : diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) dan diinfeksi IBD	13.665 $\pm$ 1,4110 <sup>a</sup>
<b>D</b> : tanpa diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) diinfeksi IBD	17.080 $\pm$ 1,7830 <sup>b</sup>

Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ )

Dari Tabel 5.2 dan Gambar 5.1 terlihat bahwa rata-rata jumlah leukosit sebagai pengaruh pemberian *A. squamosa* pada ayam pedaging yang terinfeksi IBD (*like HIV*) terendah pada kelompok C (13.665  $\pm$  1,4110 leukosit/ $\mu$ l), hal ini berbeda secara bermakna ( $p < 0,05$ ) dengan kelompok A (16.840  $\pm$  2,176 leukosit/ $\mu$ l), kelompok B (15.945  $\pm$  1,9679 leukosit/  $\mu$ l) serta Kelompok D (17.080  $\pm$  1,7830 leukosit/ $\mu$ l).



**Gambar 5.1. Histogram rata-rata jumlah leukosit**

**Tabel. 5.3. Rata-rata jumlah eosinofil, netrofil, limfosit dan monosit sebagai pengaruh pemberian *A. squamosa* pada ayam pedaging yang terinfeksi IBD (*like HIV*)**

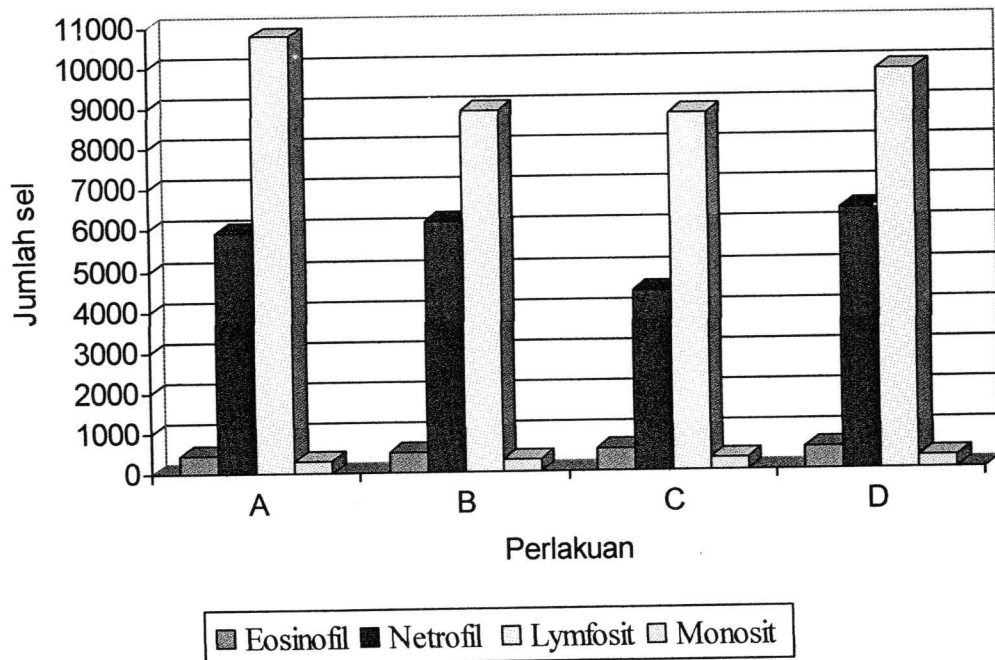
Perlakuan	$\Sigma$ Eosinofil/ $\mu$ l	$\Sigma$ Netrofil/ $\mu$ l	$\Sigma$ Limfosit/ $\mu$ l	$\Sigma$ Monosit/ $\mu$ l
<b>A</b> : diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) tanpa diinfeksi IBD	445,55 <sup>a</sup> $\pm$ 198,06	5912,85 <sup>b</sup> $\pm$ 2574,30	10.774 <sup>b</sup> $\pm$ 2085,60	297,75 <sup>a</sup> $\pm$ 125,8
<b>B</b> : tanpa diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) tanpa diinfeksi IBD	515,58 <sup>a</sup> $\pm$ 313,54	6183 <sup>b</sup> $\pm$ 1118,70	8927,1 <sup>a</sup> $\pm$ 1173,19	284,05 <sup>a</sup> $\pm$ 120,8
<b>C</b> : diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) dan diinfeksi IBD	565,25 <sup>a</sup> $\pm$ 309,47	4423,8 <sup>a</sup> $\pm$ 1232,09	8803,8 <sup>a</sup> $\pm$ 986,80	288.65 <sup>a</sup> $\pm$ 130,8
<b>D</b> : tanpa diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) diinfeksi IBD	531,25 <sup>a</sup> $\pm$ 202,41	6400,1 <sup>b</sup> $\pm$ 1723,30	9838,8 <sup>ab</sup> $\pm$ 1363,80	313,50 <sup>a</sup> $\pm$ 144,16

Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ )

Dari Tabel 5.3 dan Gambar 5.2 terlihat bahwa rata-rata jumlah eosinofil, netrofil, limfosit dan monosit sebagai pengaruh pemberian *A. squamosa* pada ayam pedaging yang

terinfeksi IBD (*like HIV*) terutama untuk profil neutrofil terendah pada kelompok C ( $4423,8 \pm 1232,09$  Neutrofil/ $\mu\text{l}$ ). Hal ini berbeda secara bermakna ( $p < 0,05$ ) dengan kelompok A ( $5912,85 \pm 2574,30$  Neutrofil/ $\mu\text{l}$ ), kelompok B ( $6183 \pm 1118,70$  Neutrofil/ $\mu\text{l}$ ) dan kelompok D ( $6400,1 \pm 1723,30$  Neutrofil/ $\mu\text{l}$ ), sedangkan pada profil limfosit tertinggi pada kelompok A ( $10.774 \pm 2085,60$  Limfosit/ $\mu\text{l}$ ). Hal ini berbeda secara bermakna ( $p < 0,05$ ) dengan kelompok B ( $8927,1 \pm 1173,19$  Limfosit/ $\mu\text{l}$ ), kelompok C ( $8803,8 \pm 986,80$  Limfosit/ $\mu\text{l}$ ) dan kelompok D ( $9838,8 \pm 1363,80$  Limfosit/ $\mu\text{l}$ ).

Adapun terhadap profil eosinofil dan monosit terlihat tidak ada perbedaan bermakna ( $p > 0,05$ ), masing-masing adalah kelompok A ( $445,55 \pm 198,06$  Eosinofil/ $\mu\text{l}$  dan  $297,75 \pm 125,8$  Monosit/ $\mu\text{l}$ ), kelompok B ( $515,58 \pm 313,54$  Eosinofil/ $\mu\text{l}$  dan  $284,05 \pm 120,8$  Monosit/ $\mu\text{l}$ ), kelompok C ( $565,25 \pm 309,47$  Eosinofil/ $\mu\text{l}$  dan  $288,65 \pm 130,8$  Monosit/ $\mu\text{l}$ ) dan kelompok D ( $531,25 \pm 202,41$  Eosinofil/ $\mu\text{l}$  dan  $313,50 \pm 144,16$  Monosit/ $\mu\text{l}$ ).



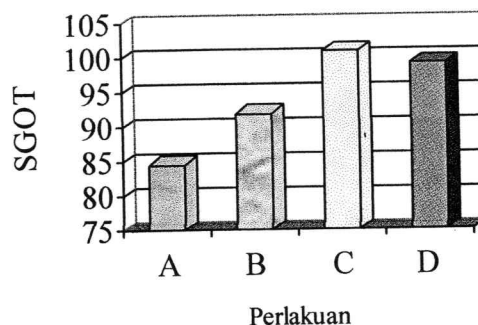
Gambar 5.2. Histogram rata-rata Jumlah eosinofil, netrofil, limfosit dan monosit

**Tabel 5.4. Rata-rata kadar SGOT dan SGPT sebagai pengaruh pemberian *A. squamosa* pada ayam pedaging yang terinfeksi IBD (*like HIV*)**

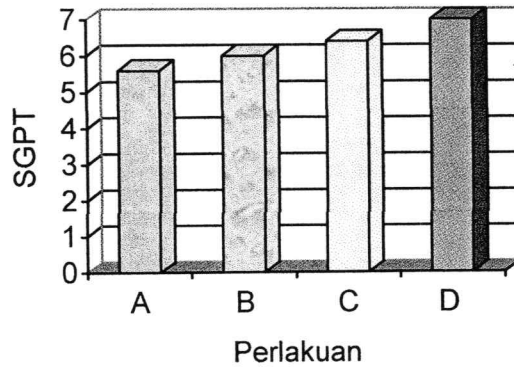
Perlakuan	SGOT	SGPT
<b>A</b> : diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) tanpa diinfeksi IBD	84,5 <sup>a</sup> ± 9,81	5,6 <sup>a</sup> ± 1,35
<b>B</b> : tanpa diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) tanpa diinfeksi IBD	91,9 <sup>ab</sup> ± 18,33	6 <sup>ab</sup> ± 1,15
<b>C</b> : diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) dan diinfeksi IBD	100,8 <sup>b</sup> ± 8,27	6,4 <sup>ab</sup> ± 1,89
<b>D</b> : tanpa diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) diinfeksi IBD	99,1 <sup>b</sup> ± 8,29	7 <sup>b</sup> ± 0,94

Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ )

Dari Tabel 5.4 dan Gambar 5.3 serta 5.4 terlihat bahwa rata-rata kadar SGOT dan SGPT sebagai pengaruh pemberian *A. squamosa* pada ayam pedaging yang terinfeksi IBD (*like HIV*) terendah pada kelompok A ( $84,5 \pm 9,81$  untuk SGOT dan  $5,6 \pm 1,35$  untuk SGPT), hal ini berbeda secara bermakna ( $p < 0,05$ ) dengan kelompok B ( $91,9 \pm 18,33$  untuk SGOT dan  $6 \pm 1,15$  untuk SGPT), kelompok C ( $100,8 \pm 8,27$  untuk SGOT dan  $6,4 \pm 1,89$  untuk SGPT) serta Kelompok D ( $99,1 \pm 8,29$  untuk SGOT dan  $7 \pm 0,94$  untuk SGPT).



**Gambar 5.3. Histogram rata-rata nilai SGOT**



Gambar 5.4. Histogram rata-rata nilai SGPT

**Tabel 5.5. Rata-rata kadar BUN dan kreatinin sebagai pengaruh pemberian *A. squamosa* pada ayam pedaging yang terinfeksi IBD (*like HIV*)**

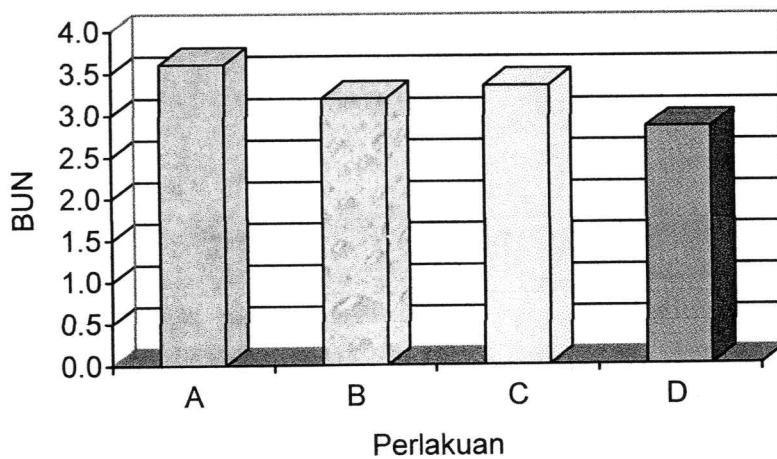
Perlakuan	BUN	KREATININ
<b>A</b> : diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) tanpa diinfeksi IBD	3,61 <sup>b</sup> ± 0,38	1,026 <sup>a</sup> ± 0,291
<b>B</b> : tanpa diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) tanpa diinfeksi IBD	3,2 <sup>ab</sup> ± 0,45	1,301 <sup>a</sup> ± 0,235
<b>C</b> : diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) dan diinfeksi IBD	3,35 <sup>b</sup> ± 0,46	2,249 <sup>b</sup> ± 0,731
<b>D</b> : tanpa diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) diinfeksi IBD	2,86 <sup>a</sup> ± 0,63	3,908 <sup>c</sup> ± 1,311

Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ )

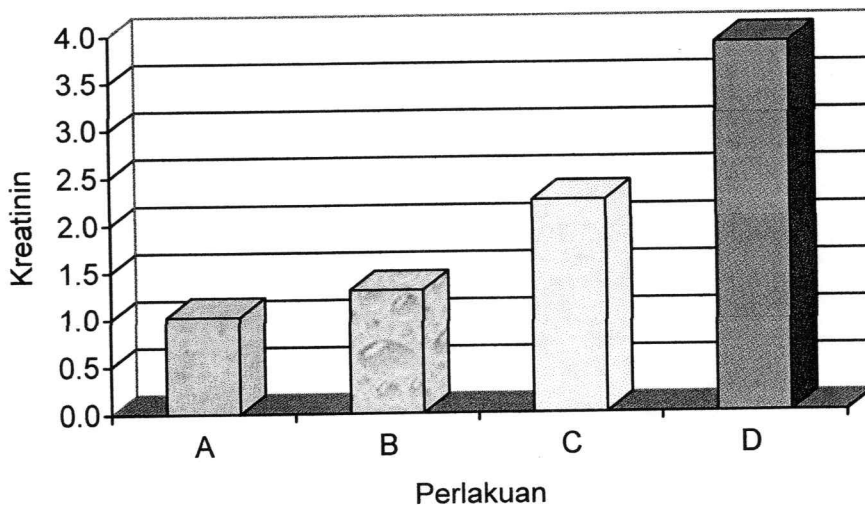
DariT 5.5 dan Gambar 5.5 serta 5.6 terlihat bahwa rata-rata kadar BUN dan kreatinin sebagai pengaruh pemberian *A. squamosa* pada ayam pedaging yang terinfeksi



IBD (*like HIV*) terendah untuk BUN adalah kelompok D ( $2,86 \pm 0,63$ ), hal ini berbeda secara bermakna ( $p < 0,05$ ) dengan kelompok A ( $3,61 \pm 0,38$ ), kelompok B ( $3,2 \pm 0,45$ ) serta Kelompok C ( $3,35 \pm 0,46$ ). Adapun terendah untuk kreatinin adalah kelompok A ( $1,026 \pm 0,291$ ), hal ini berbeda secara bermakna ( $p < 0,05$ ) dengan kelompok C ( $2,249 \pm 0,731$ ) dan kelompok D ( $3,908 \pm 1,311$ ) sedangkan dengan kelompok B ( $1,301 \pm 0,235$ ) tidak bermakna ( $p > 0,05$ )



Gambar 5.5. Histogram rata-rata nilai BUN



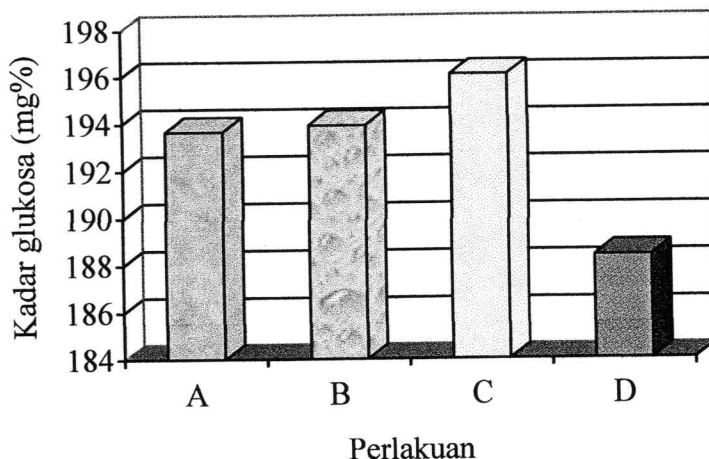
Gambar 5.6. Histogram rata-rata nilai Kreatinin

**Tabel 5.6. Rata-rata kadar glukosa sebagai pengaruh pemberian *A. squamosa* pada ayam pedaging yang terinfeksi IBD (like HIV)**

Perlakuan	Glukosa (mg %)
<b>A</b> : diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) tanpa diinfeksi IBD	193,66 <sup>a</sup> ± 25,27
<b>B</b> : tanpa diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) tanpa diinfeksi IBD	193,92 <sup>a</sup> ± 14,94
<b>C</b> : diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) dan diinfeksi IBD	196,08 <sup>a</sup> ± 36,59
<b>D</b> : tanpa diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) diinfeksi IBD	188,38 <sup>a</sup> ± 12,09

Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ )

Dari Tabel 5.6 dan Gambar 5.7 terlihat bahwa rata-rata kadar glukosa sebagai pengaruh pemberian *A. squamosa* pada ayam pedaging yang terinfeksi IBD (*like HIV*) tidak berbeda bermakna ( $p > 0,05$ ) masing-masing adalah kelompok A ( $193,66 \pm 25,27$  mg%), kelompok B ( $193,92 \pm 14,94$  mg%), kelompok C ( $196,08 \pm 36,59$  mg%), kelompok D ( $188,38 \pm 12,09$  mg%),



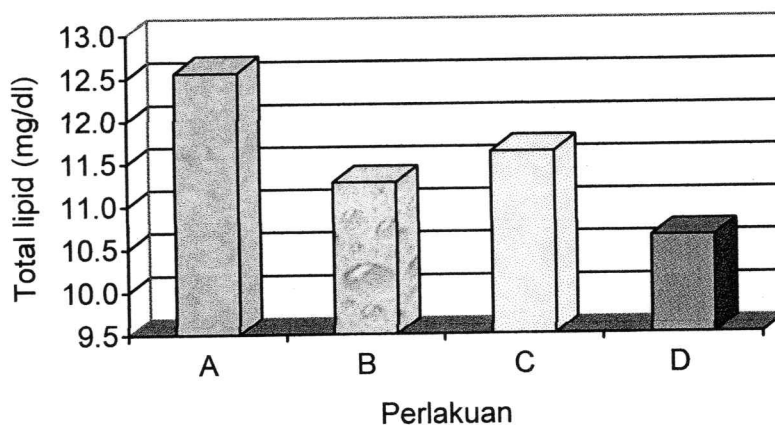
**Gambar 5.7. Histogram rata-rata nilai glukosa (mg%)**

**Tabel 5.7. Rata-rata kadar total lipid sebagai pengaruh pemberian *A. squamosa* pada ayam pedaging yang terinfeksi IBD (like HIV)**

Perlakuan	Total lipid (mg/dl)
<b>A</b> : diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) tanpa diinfeksi IBD	12,56 <sup>a</sup> ± 2,24
<b>B</b> : tanpa diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) tanpa diinfeksi IBD	11,27 <sup>a</sup> ± 1,55
<b>C</b> : diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) dan diinfeksi IBD	11,62 <sup>a</sup> ± 3,69
<b>D</b> : tanpa diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) diinfeksi IBD	10,63 <sup>a</sup> ± 2,16

Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ )

Dari Tabel 5.7 dan Gambar 5.8 terlihat bahwa rata-rata kadar total lipid sebagai pengaruh pemberian *A. squamosa* pada ayam pedaging yang terinfeksi IBD (*like HIV*) tidak berbeda bermakna ( $p > 0,05$ ) masing-masing adalah kelompok A ( $12,56 \pm 2,24$  mg/dl), kelompok B ( $11,27 \pm 1,55$  mg/dl), kelompok C ( $11,62 \pm 3,69$  mg/dl), kelompok D ( $10,63 \pm 2,16$  mg/dl).



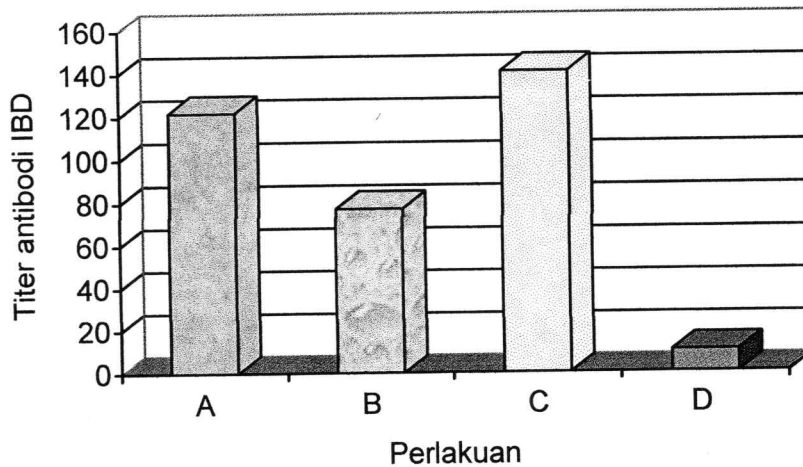
Gambar 5.8. Histogram rata-rata nilai total lipid (mg/dl)

**Tabel 5.8. Rata-rata kadar titer antibodi (hasil ELISA) sebagai pengaruh pemberian *A. squamosa* pada ayam pedaging yang terinfeksi IBD (like HIV)**

Perlakuan	Titer Antibodi
<b>A</b> : diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) tanpa diinfeksi IBD	121,80 <sup>b</sup> ± 72,421
<b>B</b> : tanpa diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) tanpa diinfeksi IBD	77,30 <sup>c</sup> ± 77,361
<b>C</b> : diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) dan diinfeksi IBD	141,00 <sup>a</sup> ± 86,201
<b>D</b> : tanpa diberi ekstrak <i>Annona squamosa</i> (Sweetsop) diinfeksi IBD	10,10 <sup>d</sup> ± 17,298

Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ )

Dari Tabel 5.8 dan Gambar 5.9 terlihat bahwa rata-rata titer antibodi sebagai pengaruh pemberian *A. squamosa* pada ayam pedaging yang terinfeksi IBD (*like HIV*) berbeda bermakna ( $p < 0,05$ ) masing-masing adalah kelompok A (121,80<sup>b</sup> ± 72,421), kelompok B (77,30<sup>c</sup> ± 77,361), kelompok C (141,00<sup>a</sup> ± 86,201), kelompok D (10,10<sup>d</sup> ± 17,298).



Gambar 5.9. Histogram rata-rata nilai titer antibodi IBD

## 5.2 Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kapasitas ekstrak etanol daun *Annona squamosa* terhadap gambaran sistem pertahanan tubuh ayam pedaging yang terinfeksi IBD (*Infectious like HIV*). Penelitian secara intensif terhadap tanaman yang dilakukan oleh National Cancer Institute (NCI) Amerika Serikat sejak tahun 1957, dimana lebih dari 120.000 ekstrak tanaman berasal lebih dari 35.000 spesies telah diskreneng (Mc Laughlin, 1991). Salah satunya didapatkan hasil bahwa tanaman *Annona muricata*, famili *Annonaceae* terbukti mempunyai aktivitas sitotoksik (Rieser *et al*, 1993; Sulistyani dkk, 2009).

Pemanfaatan bahan alam merupakan salah satu alternatif untuk mencari antiviral baru. Telah dilaporkan bahwa ekstrak gubal biji *Annona squamosa* L. (srikaya) mengandung RIP (*Ribosome-Inactivating Protein*) (Sulistyani dkk, 2009) karena dapat memotong DNA superkoil (Sismindari dkk, 1998). RIP terbukti mempunyai efek sebagai antiviral, baik pada virus tanaman maupun hewan (Barbieri *et al.*, 1993; Sulistyani dkk, 2009). Srikaya juga diketahui mengandung senyawa polifenol, flavonoid, tanin, alkaloid dan saponin (Maryumi, 1996). Beberapa komponen kimia dalam tanaman srikaya tersebut dapat diekstraksi dengan etanol, sehingga penelitian antiviral dari ekstrak etanol perlu dilakukan (Sulistyani dkk, 2009). RIP pada beberapa tanaman telah diketahui mempunyai aktivitas antiviral dengan beberapa kemungkinan mekanisme, antara lain mengubah permeabilitas dan memudahkan masuknya RIP ke dalam sel yang terinfeksi, inaktivasi ribosom sel yang terinfeksi akan mengemblok sintesis protein dan mengurangi replikasi virus (Barbieri *et al.*, 1993). Tanin pada beberapa tanaman juga dapat menghambat interaksi protein permukaan sel inang dan protein virus, sehingga menghambat perlekatan virus dan penetrasi virus ke dalam membran plasma (Moreira *et al.*, 2005 dikutip oleh Sulistyani dkk, 2009) atau dengan kata lain tanin akan berikatan baik dengan protein virus maupun protein sel inang membentuk kompleks, sehingga mencegah proses adsorpsi virus (Jasim and Naji, 2003 dikutip oleh Sulistyani dkk, 2009).

Dari hasil penelitian ini membuktikan bahwa pemberian *A. Squamosa* pada ayam pedaging yang terinfeksi IBD (*like HIV*) memberikan pengaruh yang bermakna terutama terkait rata-rata leukosit, rata-rata neutrofil, rata-rata limfosit, rata-rata BUN, Rata-rata

kreatinin, rata-rata SGPT dan rata-rata SGOT serta rata-rata hasil titer antibodi ( $p < 0,05$ ) sedangkan untuk rata-rata eosinofil, rata-rata monosit, rata-rata kadar glukosa dan rata-rata kadar lipid total tidak memberikan hasil bermakna ( $p > 0,05$ ). Oleh karena itu dari hasil penelitian ini maka ekstrak etanol *A. Squamosa* dapat dipertimbangkan sebagai antiviral terhadap infeksi gumboro (like HIV) karena disamping meningkatkan sistem imunitas juga tidak mengganggu fungsi ginjal maupun liver. Selain itu dapat digunakan sebagai penstabil kadar glukosa darah dan lipid total yang cenderung menurun pada kasus infeksi yang berat.

*Annona squamosa* merupakan imunomodulator yang dapat menstimulasi respon imun tetapi sebaliknya juga bisa meregulasi respon imun yang berlebihan. Banyak kandungan biologi maupun kimia yang terdapat pada *Annona squamosa* dan beberapa diantaranya justru mempunyai efek antiinflamasi. *Annona squamosa* diduga memiliki kemampuan menghambat produksi NF $\kappa$ B secara *in vitro*. Dimana NF $\kappa$ B sangat dibutuhkan untuk menginduksi IL-8 sebagai mediator utama bagi neutrofil. *Annona squamosa* juga dapat menghambat induksi IL-1 $\beta$  dan IFN $\gamma$  pada *whole blood* serta reduksi TNF $\alpha$  secara *in vivo*. IL-1 $\beta$ , IFN $\gamma$ , dan TNF $\alpha$ , memiliki peran penting dalam proses radang akut termasuk diantaranya mengaktivasi neutrofil.

## BAB 6

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1 Kesimpulan

Secara umum terlihat bahwa tanaman *Annona squamosa* cukup poten sebagai imunostimulan pada ayam pedaging yang terinfeksi IBD atau gumboro. Hal didasarkan pada rata-rata jumlah leukosit dan diferensial leukosit (terutama neutrofil dan limfosit) disamping juga dapat menjaga stabilitas kadar glukosa dan lipid total yang cenderung menurun pada kasus infeksi berat serta tidak mengganggu fungsi liver dan ginjal.

#### 6.2 Saran

Hasil ini dapat digunakan sebagai dasar pengenalan obat antiviral berbasis herbal yang poten sebagai imunostimulan pada ayam pedaging yang terinfeksi virus terutama IBD atau gumboro (*like HIV*)

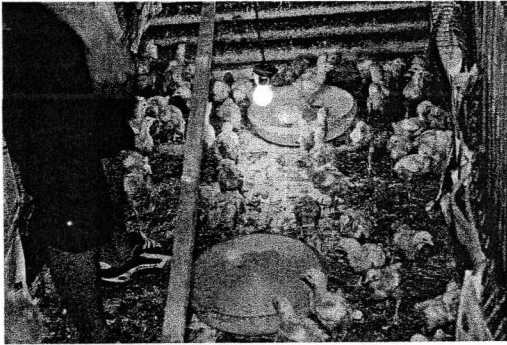


**DAFTAR PUSTAKA**

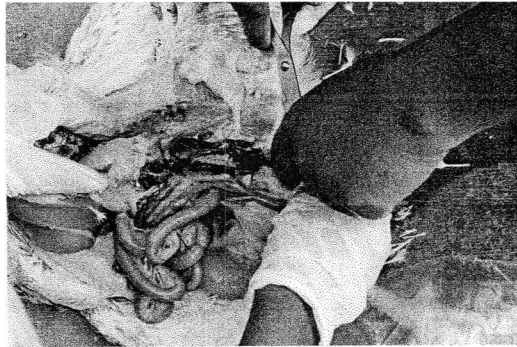
- Barbieri, L., Battelli, M.G., and Stirpe, F., 1993, Ribosome-Inactivating Protein from plants, *Biochem et Biophys Acta*, 1154, 237-282.
- Butcher, GD and RD, Miles. 2009. Infectious Bursal Disease (Gumboro) in Commercial Broilers. the Veterinary Medicine-Large Animal Clinical Sciences Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida
- Blankfard, M. and B. C. Silk, 1989. ELISA Software, KPL, Gaithesburg, Md., USA.
- Brambell, F.W.R., 1970. The transmission of passive immunity from mother to young. *Frontiers of Biology*, 18: 20-41.
- Chin, P.H., 1993. List of approved animal vaccines and biologic importation, sales and use in West Malaysia. First Edition. Veterinary Association Malaysia.
- Cosgrove, A.s., 1962. An apparently new disease of chickens, avian nephrosis. *Avian Disease*, 6:385-389.
- Elfahmi. Phytochemical and biosynthetic studies of Lignans, with a focus on Indonesian medicinal plants (dissertation). University of Groningen. 2006.
- George, A.P., 1985. Custard apple. In: P. Page (Editor), *Tropical Tree Fruits for Australia*. Queensland Department of Primary Industries, Brisbane, pp. 35-41.
- Giambrone, J.J. and R.P. Clay, 1986. Vaccination of day-old broiler chicks against Newcastle disease and infectious bursal disease using commercial live and/or inactivated vaccines. *Avian Disease*, 30: 557-561.
- Hair-Bejo, M., 1992. An outbreak of infectious bursal disease in broilers. *J. Vet. Malaysia*, 4: 168.
- Hair-Bejo, M., 1993. Infectious bursa disease in broilers: pathological changes and virus detection. *J. Vet. Malaysia*, 5: 49-51.
- Hair-bejo, M., H. Hafiza and A.K. Khalilah, 1998. Safety and efficacy of an attenuated local isolate of infectious bursal disease virus seed for vaccine development in broiler chickens. *Proceeding of the 20<sup>th</sup> Malaysian Society of Animal Production Conference*, Putrajaya, pp: 165-166.
- Hair-Bejo, M., S. Salina, H. Hafiza and S. Julaida, 2000. In ovo vaccination against infectious bursal disease in broiler chickens. *J. Vet. Malaysia*, 12: 63-69.

- Lukert, P.D. and y.M. Saif, 1991. Infectious bursal disease of Poultry B. W. Calnek, H. J. Barnes, C. W. Beard, W. M. Reid and H. M. Yoder (Ed.). 9<sup>th</sup> Edition. Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA.
- Nunoya, T., Y. Otaki, M. Tajima, M. Hiraya and T. Saito, 1992. Occurrence of acute infectious disease with high mortality in Japan and pathogenicity of field isolates in SPF chickens. *Avian Diseases*, 36: 597-609.
- Parkhurst, R.T., 1964. Pattern of mortality in avian nephrosis. *Poult. Sci.*, 43: 788-789.
- Rasai, S; A.P. George; A.S. Kantharajah. 1995. Tissue culture of *Annona* spp. (cherimoya, atemoya, sugar apple and soursop): A review. *Scientia Horticulturae* 62 : 1-14.
- Sismindari, Hussana, A., dan Mubarika, S., 1998, Pemotongan DNA Superkoil Untai Ganda Secara In Vitro oleh Ekstrak Gubal *Annona squamosa* L., *Majalah Farmasi Indonesia*, Vol. 9 No.4.
- Sulistiyani, N; I. Azizah; M. Kuswandi. 2009. Aktivitas antiviral ekstrak etanolik biji srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap virus *newcastle disease* pada telur ayam berembrio. *Majalah Farmasi Indonesia*. 20 (2). 62-67
- Triadisti, N., 2005, Uji Daya Antiviral Infus Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.), Pada Embrio Telur Ayam Dengan Virus Newcastle Disease, *Skripsi*, F.Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Whitfill, C.E, E.E. Haddad C. A. Ricks, J.K. Skeeles, L.A. Newberry, J.N. Beasley, P.D. Andrews, J.A. Thoma and P.S. Wakenell, 1995. Determination of optimum formulation of a novel infectious bursal disease virus (IBDV) vaccine constructed by mixing bursal disease antibody with IBDV, *Avian disease*, 39: 687-699.
- Wyeth, P.J. and G.A. Cullen, 1976. Maternally derived antibody effect on susceptibility of chicks to infectious bursal disease. *Avian Pathol.*, 5: 253-260.

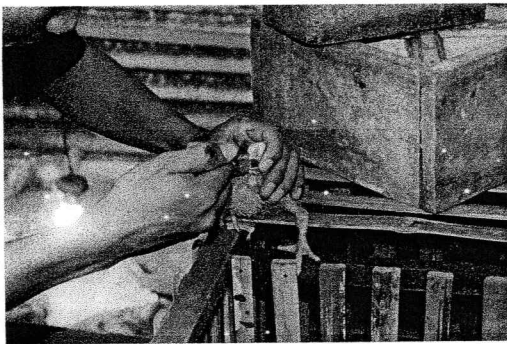
## Lampiran 1. Dokumentasi Kegiatan



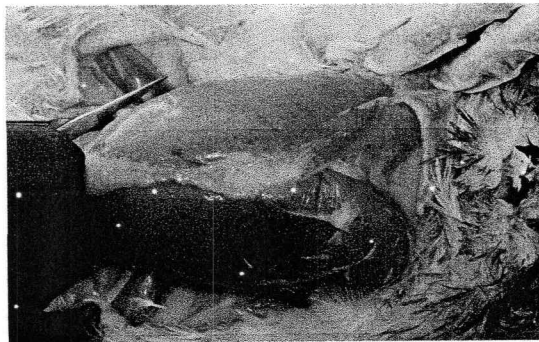
Gambar 1. Kandang Brooder dan DOC



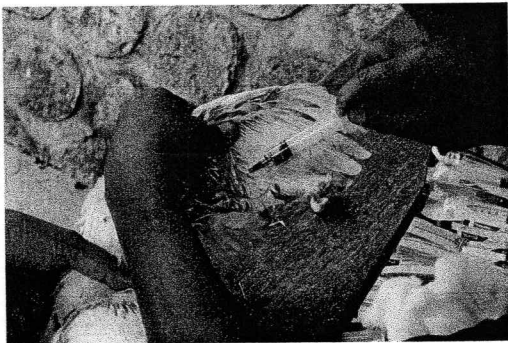
Gambar 4. Pengambilan Organ



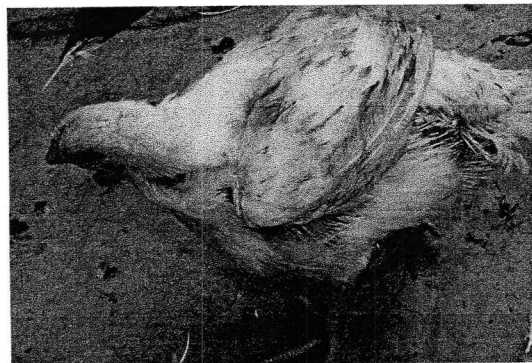
Gambar 2. Pemberian Perlakuan Personde



Gambar 5. Gambaran Otot Pektoralis



Gambar 3. Pengambilan darah



Gambar 6. Profil Ayam Perlakuan

**Lampiran 2. Analisis Statistik****Case Summaries<sup>a</sup>**

			Glukose (mg%)
Perlakuan A	1		171.81
	2		200.00
	3		214.24
	4		226.66
	5		135.75
	6		187.57
	7		207.57
	8		190.30
	9		200.00
	10		202.72
	Total	Sum	1936.62
B	1		189.69
	2		218.48
	3		198.78
	4		199.69
	5		202.12
	6		198.78
	7		164.84
	8		186.66
	9		177.57
	10		202.63
	Total	Sum	1939.24
C	1		192.42
	2		299.69
	3		180.00
	4		183.33
	5		181.81
	6		187.57
	7		185.15
	8		179.69
	9		185.15
	10		186.06
	Total	Sum	1960.87
D	1		200.00
	2		178.48
	3		190.60
	4		213.93
	5		180.30
	6		187.87
	7		186.66
	8		193.93
	9		172.72
	10		179.39
	Total	Sum	1883.88
Total	Sum	7720.61	

a. Limited to first 100 cases.

**Oneway****Descriptives**

Glukose (mg%)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
A	10	193.6620	25.27156	7.99157	135.75	226.66
B	10	193.9240	14.94582	4.72628	164.84	218.48
C	10	196.0870	36.59625	11.57275	179.69	299.69
D	10	188.3880	12.09283	3.82409	172.72	213.93
Total	40	193.0153	23.45147	3.70800	135.75	299.69

**Test of Homogeneity of Variances**

Glukose (mg%)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.933	3	36	.435

**ANOVA**

Glukose (mg%)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	320.912	3	106.971	.182	.908
Within Groups	21127.966	36	586.888		
Total	21448.878	39			

**Post Hoc Tests**

Glukose (mg%)

Duncan<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05
		1
D	10	188.3880
A	10	193.6620
B	10	193.9240
C	10	196.0870
Sig.		.524

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

## Summarize

Case Summaries<sup>a</sup>

			SGOT	SGPT
Perlakuan A	1		93	5
	2		76	4
	3		83	4
	4		73	7
	5		82	5
	6		81	7
	7		92	6
	8		80	7
	9		79	4
	10		106	7
	Total	Sum	845	56
B	1		82	6
	2		142	7
	3		84	7
	4		83	4
	5		83	6
	6		84	6
	7		94	7
	8		87	4
	9		83	7
	10		97	6
	Total	Sum	919	60
C	1		97	11
	2		103	5
	3		108	5
	4		88	5
	5		87	5
	6		108	8
	7		100	6
	8		99	7
	9		109	6
	10		109	6
	Total	Sum	1008	64
D	1		102	8
	2		112	5
	3		92	6
	4		98	7
	5		93	8
	6		102	7
	7		99	8
	8		99	7
	9		84	7
	10		110	7
	Total	Sum	991	70
Total	Sum		3763	250

a. Limited to first 100 cases.

**Oneway****Descriptives**

SGOT

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
A	10	84.50	9.812	3.103	73	106
B	10	91.90	18.333	5.797	82	142
C	10	100.80	8.270	2.615	87	109
D	10	99.10	8.293	2.622	84	112
Total	40	94.08	13.199	2.087	73	142

**Test of Homogeneity of Variances**

SGOT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.898	3	36	.452

**ANOVA**

SGOT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1668.875	3	556.292	3.907	.016
Within Groups	5125.900	36	142.386		
Total	6794.775	39			

**Post Hoc Tests**

SGOT

Duncan<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
A	10	84.50	
B	10	91.90	91.90
D	10		99.10
C	10		100.80
Sig.		.174	.123

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

**Oneway****Descriptives**

SGPT

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
A	10	5.60	1.350	.427	4	7
B	10	6.00	1.155	.365	4	7
C	10	6.40	1.897	.600	5	11
D	10	7.00	.943	.298	5	8
Total	40	6.25	1.428	.226	4	11

**Test of Homogeneity of Variances**

SGPT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.710	3	36	.182

**ANOVA**

SGPT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10.700	3	3.567	1.866	.153
Within Groups	68.800	36	1.911		
Total	79.500	39			

**Post Hoc Tests**

SGPT

Duncan<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
A	10	5.60	
B	10	6.00	6.00
C	10	6.40	6.40
D	10		7.00
Sig.		.230	.135

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.



## Summarize

Case Summaries<sup>a</sup>

			Total lipid (mg/dl)
Perlakuan A	1		10.92
	2		12.62
	3		11.15
	4		16.78
	5		10.42
	6		11.23
	7		14.84
	8		12.22
	9		15.08
	10		10.37
	Total	Sum	125.63
B	1		9.15
	2		11.09
	3		11.87
	4		14.79
	5		10.22
	6		10.97
	7		12.16
	8		11.84
	9		10.77
	10		9.88
	Total	Sum	112.74
C	1		14.12
	2		9.59
	3		10.94
	4		11.09
	5		10.05
	6		8.06
	7		9.50
	8		20.65
	9		13.37
	10		8.92
	Total	Sum	116.29
D	1		10.80
	2		5.63
	3		9.82
	4		11.35
	5		10.77
	6		11.18
	7		11.70
	8		13.83
	9		12.07
	10		9.18
	Total	Sum	106.33
Total	Sum		460.99

a. Limited to first 100 cases.

**Oneway****Descriptives**

Total lipid (mg/dl)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
A	10	12.5630	2.24347	.70945	10.37	16.78
B	10	11.2740	1.55523	.49181	9.15	14.79
C	10	11.6290	3.69143	1.16733	8.06	20.65
D	10	10.6330	2.16247	.68383	5.63	13.83
Total	40	11.5248	2.53823	.40133	5.63	20.65

**Test of Homogeneity of Variances**

Total lipid (mg/dl)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.651	3	36	.195

**ANOVA**

Total lipid (mg/dl)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	19.469	3	6.490	1.008	.400
Within Groups	231.793	36	6.439		
Total	251.263	39			

**Post Hoc Tests**

Total lipid (mg/dl)

Duncan<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05
		1
D	10	10.6330
B	10	11.2740
C	10	11.6290
A	10	12.5630
Sig.		.129

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

**Summarize**

Case Summaries<sup>a</sup>

			BUN	Kreatinin
Perlakuan A	1		4.35	1.30
	2		3.37	1.33
	3		3.60	.80
	4		4.15	1.13
	5		3.60	1.40
	6		3.15	.80
	7		3.23	.93
	8		3.50	.61
	9		3.60	.70
	10		3.52	1.26
	Total	Sum	36.07	10.26
B	1		3.05	1.40
	2		3.19	.93
	3		2.80	.96
	4		3.58	1.40
	5		3.31	1.26
	6		2.49	1.63
	7		3.31	1.23
	8		4.15	1.60
	9		2.90	1.20
	10		3.25	1.40
	Total	Sum	32.03	13.01
C	1		3.54	1.13
	2		2.54	1.80
	3		2.86	1.50
	4		3.82	1.73
	5		3.90	2.16
	6		3.15	2.66
	7		3.03	3.46
	8		3.31	2.56
	9		3.54	2.36
	10		3.84	3.13
	Total	Sum	33.53	22.49
D	1		3.56	4.33
	2		1.70	5.73
	3		2.33	2.70
	4		2.86	5.86
	5		2.68	3.00
	6		2.94	3.20
	7		2.74	4.30
	8		3.82	2.90
	9		3.45	2.13
	10		2.50	4.93
	Total	Sum	28.58	39.08
	Total	Sum	130.21	84.84

a. Limited to first 100 cases.

**Oneway****Descriptives**

BUN

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
A	10	3.6070	.37612	.11894	3.15	4.35
B	10	3.2030	.45341	.14338	2.49	4.15
C	10	3.3530	.45653	.14437	2.54	3.90
D	10	2.8580	.62972	.19914	1.70	3.82
Total	40	3.2553	.54317	.08588	1.70	4.35

**Test of Homogeneity of Variances**

BUN

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.878	3	36	.462

**ANOVA**

BUN

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.938	3	.979	4.115	.013
Within Groups	8.568	36	.238		
Total	11.506	39			

**Post Hoc Tests**

BUN

Duncan<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
D	10	2.8580	
B	10	3.2030	3.2030
C	10		3.3530
A	10		3.6070
Sig.		.123	.088

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

**Oneway****Descriptives**

Kreatinin

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
A	10	1.0260	.29129	.09211	.61	1.40
B	10	1.3010	.23520	.07438	.93	1.63
C	10	2.2490	.73126	.23125	1.13	3.46
D	10	3.9080	1.31100	.41458	2.13	5.86
Total	40	2.1210	1.36207	.21536	.61	5.86

**Test of Homogeneity of Variances**

Kreatinin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
14.491	3	36	.000

**ANOVA**

Kreatinin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	50.812	3	16.937	28.304	.000
Within Groups	21.543	36	.598		
Total	72.355	39			

**Post Hoc Tests****Kreatinin**Duncan<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
A	10	1.0260		
B	10	1.3010		
C	10		2.2490	
D	10			3.9080
Sig.		.432	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

## Summarize

Case Summaries<sup>a</sup>

			Leukosit
Perlakuan A	1		17.25
	2		14.55
	3		16.10
	4		16.20
	5		15.10
	6		17.20
	7		20.35
	8		15.30
	9		15.45
	10		20.90
	Total	Sum	168.40
B	1		16.55
	2		16.15
	3		20.10
	4		17.80
	5		15.05
	6		16.30
	7		14.85
	8		14.15
	9		15.40
	10		13.10
	Total	Sum	159.45
C	1		14.30
	2		12.25
	3		16.40
	4		13.30
	5		12.45
	6		15.30
	7		14.15
	8		13.05
	9		11.90
	10		13.55
	Total	Sum	136.65
D	1		16.65
	2		13.35
	3		16.75
	4		18.30
	5		17.40
	6		17.55
	7		16.85
	8		19.10
	9		15.40
	10		19.45
	Total	Sum	170.80
Total	Sum		635.30

a. Limited to first 100 cases.

**Oneway****Descriptives**

Leukosit

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
A	10	16.8400	2.17649	.68827	14.55	20.90
B	10	15.9450	1.96786	.62229	13.10	20.10
C	10	13.6650	1.41068	.44610	11.90	16.40
D	10	17.0800	1.78235	.56363	13.35	19.45
Total	40	15.8825	2.24584	.35510	11.90	20.90

**Test of Homogeneity of Variances**

Leukosit

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.446	3	36	.722

**ANOVA**

Leukosit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	72.720	3	24.240	7.038	.001
Within Groups	123.988	36	3.444		
Total	196.708	39			

**Post Hoc Tests**

Leukosit

Duncan<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
C	10	13.6650	
B	10		15.9450
A	10		16.8400
D	10		17.0800
Sig.		1.000	.205

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

## Summarize

Case Summaries<sup>a</sup>

			Eosinofil	Netrofil	Lymfosit	Monosit
Perlakuan A	1		517.5	4485.0	11902.5	345.0
	2		291.0	5383.5	8584.5	291.0
	3		161.0	5474.0	10304.0	161.0
	4		324.0	5346.0	10044.0	486.0
	5		453.0	5285.0	9211.0	151.0
	6		344.0	2580.0	13760.0	516.0
	7		814.0	12617.0	12617.0	203.5
	8		306.0	5508.0	9180.0	306.0
	9		618.0	6180.0	8343.0	309.0
	10		627.0	6270.0	13794.0	209.0
	Total	Sum	4455.5	59128.5	107740.0	2977.5
B	1		1158.5	5627.0	9599.0	165.5
	2		807.5	7590.5	7429.0	323.0
	3		603.0	7839.0	11256.0	402.0
	4		712.0	7654.0	9256.0	178.0
	5		451.5	5719.0	8729.0	150.5
	6		489.0	5216.0	10106.0	489.0
	7		297.0	5494.5	8950.0	148.5
	8		283.0	5660.0	7924.0	283.0
	9		223.3	6314.0	8162.0	308.0
	10		131.0	4716.0	7860.0	393.0
	Total	Sum	5155.8	61830.0	89271.0	2840.5
C	1		1001.0	4147.0	8866.0	286.0
	2		367.5	7840.0	7840.0	367.5
	3		984.0	3936.0	10988.0	492.0
	4		532.0	3724.0	8911.0	133.0
	5		249.0	3984.0	7968.0	249.0
	6		918.0	4284.0	9639.0	459.0
	7		424.5	4386.5	9197.5	141.5
	8		261.0	4437.0	8221.5	130.5
	9		238.0	3570.0	7735.0	357.0
	10		677.5	3929.5	8672.0	271.0
	Total	Sum	5652.5	44238.0	88038.0	2886.5
D	1		333.0	6327.0	9823.5	166.5
	2		400.5	5340.0	7342.5	267.0
	3		837.5	6197.5	9380.0	335.0
	4		732.0	7503.0	9882.0	183.0
	5		348.0	6786.0	10092.0	174.0
	6		526.5	7371.0	9301.5	351.0
	7		674.0	4549.5	11121.0	505.5
	8		764.0	6303.0	11460.0	573.0
	9		308.0	6622.0	8316.0	191.0
	10		389.0	7002.0	11670.0	389.0
	Total	Sum	5312.5	64001.0	98388.5	3135.0
Total	Sum		20576.3	229197.5	383437.5	11839.5

a. Limited to first 100 cases.



**Oneway****Descriptives**

Eosinofil

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
A	10	445.550	198.0646	62.6335	161.0	814.0
B	10	515.580	313.5459	99.1519	131.0	1158.5
C	10	565.250	309.4723	97.8637	238.0	1001.0
D	10	531.250	202.4069	64.0067	308.0	837.5
Total	40	514.408	255.4360	40.3880	131.0	1158.5

**Test of Homogeneity of Variances**

Eosinofil

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.502	3	36	.231

**ANOVA**

Eosinofil

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	76113.597	3	25371.199	.370	.775
Within Groups	2468540.751	36	68570.576		
Total	2544654.348	39			

**Post Hoc Tests****Eosinofil**Duncan<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05
		1
A	10	445.550
B	10	515.580
D	10	531.250
C	10	565.250
Sig.		.360

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

**Oneway****Descriptives**

## Netrofil

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
A	10	5912.850	2574.3050	814.0667	2580.0	12617.0
B	10	6183.000	1118.7079	353.7665	4716.0	7839.0
C	10	4423.800	1232.0962	389.6230	3570.0	7840.0
D	10	6400.100	902.0858	285.2646	4549.5	7503.0
Total	40	5729.938	1723.3816	272.4905	2580.0	12617.0

**Test of Homogeneity of Variances**

## Netrofil

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.959	3	36	.422

**ANOVA**

## Netrofil

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	23938355.569	3	7979451.856	3.126	.038
Within Groups	91893360.025	36	2552593.334		
Total	115831715.594	39			

**Post Hoc Tests****Netrofil**Duncan<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
C	10	4423.800	
A	10		5912.850
B	10		6183.000
D	10		6400.100
Sig.		1.000	.526

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

**Oneway****Descriptives**

Lymfosit

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
A	10	10774.000	2085.6130	659.5287	8343.0	13794.0
B	10	8927.100	1173.1992	370.9982	7429.0	11256.0
C	10	8803.800	986.8524	312.0701	7735.0	10988.0
D	10	9838.850	1363.8773	431.2959	7342.5	11670.0
Total	40	9585.938	1619.2320	256.0231	7342.5	13794.0

**Test of Homogeneity of Variances**

Lymfosit

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.808	3	36	.018

**ANOVA**

Lymfosit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	25212631.569	3	8404210.523	3.927	.016
Within Groups	77041952.025	36	2140054.223		
Total	102254583.594	39			

**Post Hoc Tests**

Lymfosit

Duncan<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
C	10	8803.800	
B	10	8927.100	
D	10	9838.850	9838.850
A	10		10774.000
Sig.		.143	.162

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

**Oneway****Descriptives**

Monosit

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
A	10	297.750	125.8481	39.7967	151.0	516.0
B	10	284.050	120.8253	38.2083	148.5	489.0
C	10	288.650	130.8271	41.3712	130.5	492.0
D	10	313.500	144.1608	45.5876	166.5	573.0
Total	40	295.988	126.0924	19.9370	130.5	573.0

**Test of Homogeneity of Variances**

Monosit

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.190	3	36	.903

**ANOVA**

Monosit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5061.369	3	1687.123	.099	.960
Within Groups	615010.875	36	17083.635		
Total	620072.244	39			

**Post Hoc Tests**

Monosit

Duncan<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05
		1
B	10	284.050
C	10	288.650
A	10	297.750
D	10	313.500
Sig.		.651

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

## Summarize

Case Summaries<sup>a</sup>

			Nilai OD ELISA	Titer Antibodi IBD
Perlakuan A	1		.127	226
	2		.127	226
	3		.118	99
	4		.120	127
	5		.117	86
	6		.123	169
	7		.121	140
	8		.118	99
	9		.114	46
	10		.109	0
	Total	Sum	1.194	1218
B	1		.126	212
	2		.123	169
	3		.121	140
	4		.119	113
	5		.114	46
	6		.112	21
	7		.109	0
	8		.110	0
	9		.116	72
	10		.107	0
	Total	Sum	1.157	773
C	1		.127	226
	2		.132	300
	3		.122	154
	4		.121	140
	5		.116	72
	6		.117	86
	7		.117	86
	8		.112	21
	9		.127	226
	10		.118	99
	Total	Sum	1.209	1410
D	1		.114	46
	2		.113	34
	3		.112	21
	4		.106	0
	5		.103	0
	6		.108	0
	7		.104	0
	8		.102	0
	9		.101	0
	10		.097	0
	Total	Sum	1.060	101
Total	Sum	4.620	3502	

a. Limited to first 100 cases.

**Oneway****Descriptives**

Nilai OD ELISA

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
A	10	.11940	.005562	.001759	.109	.127
B	10	.11570	.006395	.002022	.107	.126
C	10	.12090	.006154	.001946	.112	.132
D	10	.10600	.005657	.001789	.097	.114
Total	40	.11550	.008199	.001296	.097	.132

**ANOVA**

Nilai OD ELISA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.001	3	.000	12.670	.000
Within Groups	.001	36	.000		
Total	.003	39			

**Post Hoc Tests**

Nilai OD ELISA

Duncan<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
D	10	.10600	
B	10		.11570
A	10		.11940
C	10		.12090
Sig.		1.000	.072

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

**Oneway****Descriptives**

Titer Antibodi IBD

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
A	10	121.80	72.421	22.902	0	226
B	10	77.30	77.361	24.464	0	212
C	10	141.00	86.201	27.259	21	300
D	10	10.10	17.298	5.470	0	46
Total	40	87.55	83.508	13.204	0	300

**ANOVA**

Titer Antibodi IBD

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	101335.300	3	33778.433	7.126	.001
Within Groups	170634.600	36	4739.850		
Total	271969.900	39			

**Post Hoc Tests**

Titer Antibodi IBD

Duncan<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
D	10	10.10	
B	10		77.30
A	10		121.80
C	10		141.00
Sig.		1.000	.057

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

