

Kapsul Temulawak Meningkatkan Titer Antibodi pada Anak Anjing Kintamani Pascavaksinasi Rabies

(TEMULAWAK CAPSULE INCREASE ANTIBODY TITER IN KINTAMANI PUPPIES
AFTER RABIES VACCINATION)

I Wayan Sudira¹, Putu Ayu Purbani Novia Dewi², Ida Bagus Kade Suardana³

¹Laboratorium Farmakologi Veteriner,

²Mahasiswa Program Sarjana Kedokteran Hewan,

³Laboratorium Virologi Veteriner,

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana,

Jl. P.B. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234; Telp/Fax: (0361) 223791

e-mail: wayan.sudira@unud.ac.id

ABSTRAK

Rabies merupakan penyakit zoonosis yang dapat dicegah dengan vaksinasi. Diperlukan pemberian bahan yang bersifat *immunostimulator* agar menghasilkan titer antibodi yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi pemberian kapsul temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) untuk meningkatkan titer antibodi pada anak anjing kintamani pascavaksinasi rabies. Penelitian ini menggunakan serum darah 25 anak anjing kintamani berumur 2-6 bulan, yang dibagi ke dalam lima perlakuan yang terdiri dari: P₀ (kontrol), P₁ (100 mg/kgBB/hari), P₂ (200 mg/kgBB/hari), P₃ (300 mg/kgBB/hari), dan P₄ (400 mg/kgBB/hari). Pemberian kapsul temulawak satu kali sehari selama dua minggu. Pada hari ke-15 dilakukan vaksinasi dengan vaksin rabies Rabisin. Minggu ke-1 dan ke-2 pascavaksinasi dilakukan pengambilan darah. Pemeriksaan titer antibodi rabies dilakukan dengan Uji *Enzim Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Hasil penelitian menunjukkan rata-rata titer antibodi yaitu 1,1 IU, 1,3 IU, dan 2,4 IU yang artinya pemberian kapsul temulawak dapat meningkatkan titer antibodi, tetapi tidak signifikan ($P > 0,05$). Sedangkan waktu pengambilan darah berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap peningkatan titer antibodi pada dua minggu pascavaksinasi rabies.

Kata-kata kunci : anjing kintamani, rabies, temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.), titer antibodi

ABSTRACT

Rabies is a zoonotic disease that can be prevented by vaccination. Material used for immunostimulators to produce high antibody titers. The aim of this research was to determine the potency of temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) capsule in order to increase antibody titer in kintamani puppies post rabies vaccination. This study used 25 kintamani puppies blood serum which 2 to 6 months old, divided into five treatments consisting of: P₀ (control), P₁ (100 mg/kgBB/day), P₂ (200 mg/kgBB/day), P₃ (300 mg/kgBB/day), and P₄ (400 mg/kgBB/day). The capsule treatments were given once a day for two weeks. On the 15th day was treated a vaccination with Rabisin. After 1 or 2 weeks from the last vaccination, blood sample test was taken. Examination of rabies antibody titer was performed by *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). The results showed that the mean of antibody titers were 1.1 IU, 1.3 IU, and 2.4 IU which is mean that temulawak capsule was increase the antibody titer, but it was not significant effect ($P > 0,05$). The blood collection time has significant effect ($P < 0,05$) to the titer's increasing on two weeks after vaccination.

Keywords: antibody titers, kintamani's puppy, rabies, temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)

PENDAHULUAN

Reservoir utama rabies adalah anjing. Penyakit ini memiliki tingkat prediksi kesembuhan yang buruk. Jika anjing terkena penyakit rabies dan sebelumnya tidak dilakukan vaksinasi, angka kematian anjing akan mencapai 100% (Tanzil, 2014). Kasus rabies di Bali pertama kali dilaporkan terjadi di Semenanjung Bukit, Kabupaten Badung pada November 2008. Sampai saat ini wabah telah menyebar ke seluruh kabupaten atau kota di Bali (Dibia *et al.*, 2015). Provinsi Bali telah melakukan upaya untuk pemberantasan rabies. Upaya-upaya pemberantasan rabies di Bali dilakukan dengan menggunakan pendekatan teknis dan pendekatan sosial budaya seperti: vaksinasi, pengawasan pemeliharaan anjing, pengawasan lalu lintas anjing, dan eliminasi selektif (Putra, 2011). Kurang berhasilnya upaya-upaya tersebut diakibatkan oleh multifaktor, seperti: tidak tersedianya dana tanggap darurat, belum optimalnya koordinasi kepemimpinan dan pengambilan keputusan, populasi anjing di Bali yang cukup padat. Faktor di lapangan yang sangat mempengaruhi keberhasilan vaksinasi anjing, terutama anjing kintamani yang memiliki sifat agresif, menyebabkan para petugas kesusahan dalam hal *restrain*. Kesulitan dalam *restrain* sangat berdampak pada tingkat *stress* seekor anjing yang nantinya berpengaruh terhadap respons imun.

Upaya untuk menghilangkan atau mencegah wabah rabies diperlukan setidaknya 70% populasi anjing harus mendapatkan kekebalan (Cleaveland *et al.*, 2003). Studi menunjukkan masih rendahnya respons antibodi pada anjing yang telah divaksin, dimana titer antibodi hasil pengujian uji ELISA menunjukkan 50% protektif dan 50% sampel menunjukkan titer negatif di Desa Gulingan, Kecamatan Mengwi, Kabupaten Badung, Bali (Prasatya *et al.*, 2018). Salah satu upaya yang bisa dilakukan untuk mengatasi hal tersebut adalah dengan pemberian bahan yang dapat meningkatkan respons imun tubuh atau yang biasa disebut dengan *imunostimulator*. Salah satu bahan alami yang bersifat sebagai *imunostimulator* adalah temulawak. Kandungan utama dalam temulawak adalah kurkuminoid. Fraksi kurkuminoid terdiri dari desmetoksikurkumin, kurkumin, dan bis-desmetoksikurkumin (BPOM, 2005). Hasil penelitian Antony, *et al.* (1999) menunjukkan bahwa disamping berfungsi sebagai senyawa antikanker, kurkumin juga menunjukkan aktivitas sebagai *immunomodulator*, yang dapat mengembalikan ketidakseimbangan sistem imun. Menurut Sufiriyanto dan Indradji (2007), ekstrak temulawak bersifat sebagai *imunostimulan* dan memiliki efek konstruktif yaitu mampu memperbaiki jaringan dan kelenjar yang rusak. Maka dipandang perlu dilakukan penelitian mengetahui pemberian kapsul temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*

Roxb.) dan waktu pengambilan darah memiliki potensi untuk meningkatkan titer antibodi pada anak anjing kintamani pascavaksinasi rabies.

METODE PENELITIAN

Objek yang digunakan dalam penelitian ini adalah serum darah 25 anak anjing kintamani berumur 2 sampai dengan 6 bulan. Darah diambil dari vena cephalica antebrachii anterior. Kapsul temulawak diberikan secara oral. Anak anjing kintamani dibagi ke dalam lima kelompok secara acak yaitu : kelompok kontrol negatif (P0) yang diberikan kapsul tanpa tepung temulawak, P1 dosis 100 mg/kgBB/hari, P2 dosis 200 mg/kgBB/hari, P3 dosis 300 mg/kgBB/hari, dan P4 dosis 400 mg/kgBB/hari. Pemberian kapsul temulawak dilakukan satu kali sehari selama 2 minggu. Pada hari ke-15 dilakukan vaksinasi dengan vaksin rabies jenis rabisin produksi Romindo. Satu dan dua minggu pascavaksinasi dilakukan pengambilan darah dan diuji dengan uji *Enzim Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) untuk mengetahui titer antibodi. Data hasil penelitian diuji menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA). Apabila terdapat perbedaan yang nyata, dilanjutkan dengan uji Duncan, untuk mengetahui perbedaan pengaruh kapsul temulawak dari masing-masing dosis yang diberikan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian disajikan dalam Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Titer Antibodi Hasil Uji ELISA Rabies pada Anak Anjing Kintamani Sebelum dan Setelah Perlakuan Vaksinasi (P0-P1)

No	BB	Dosis Perlakuan	Umur	Sebelum Perlakuan & Vaksinasi	Titer	
					1 Minggu Pascavaksi nasi	2 Minggu Pascavaksina si
P0						
1	5kg	0 mg/kg	6bln	0,5 IU	0,1 IU	1,0 IU
2	3kg	0 mg/kg	2bln	1,0 IU	1,0 IU	0,5 IU
3	3kg	0 mg/kg	2bln	2,5 IU	1,3 IU	0,9 IU
4	4kg	0 mg/kg	5bln	0,4 IU	0,4 IU	0,4 IU
5	5kg	0 mg/kg	4bln	0,6 IU	0,4 IU	0,3 IU
Rata-rata				1,0 IU	0,6 IU	0,6 IU
P1						
1	3kg	100 mg/kg	3bln	0,3 IU	1,3 IU	0,2 IU
2	3kg	100 mg/kg	2bln	0,3 IU	0,4 IU	0,4 IU
3	3kg	100 mg/kg	2bln	0,4 IU	0,6 IU	0,5 IU
4	3kg	100 mg/kg	2bln	0,4 IU	0,5 IU	0,5 IU
5	3kg	100 mg/kg	2bln	0,2 IU	0,7 IU	0,8 IU
Rata-rata				0,3 IU	0,7 IU	0,5 IU

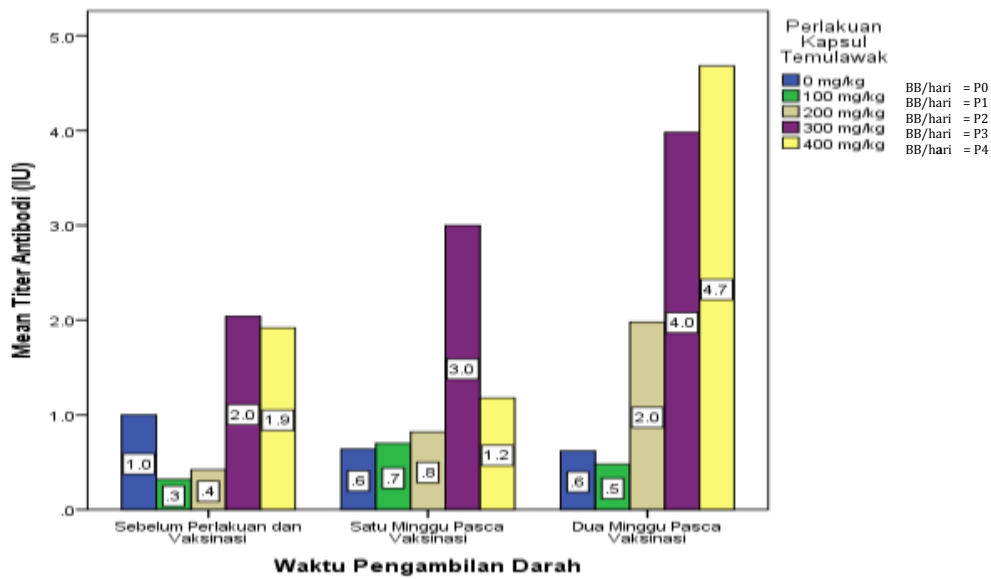
Keterangan: Titer $\geq 0,5$ IU : Seropositif ; Titer $< 0,5$ IU : Seronegatif

Tabel 2. Titer Antibodi Hasil Uji ELISA Rabies pada Anak Anjing Kintamani Sebelum dan Setelah Perlakuan Vaksinasi (P2-P4)

No	BB	Dosis Perlakuan	Umur	Sebelum Perlakuan Vaksinasi	Titer 1 Minggu Pascavaksin asi	Titer 2 Minggu Pascavaksina si
P2						
1	3kg	200 mg/kg	3bln	0,8 IU	2,3 IU	2,5 IU
2	3kg	200 mg/kg	3bln	0,2 IU	0,2 IU	5,1 IU
3	3kg	200 mg/kg	2bln	0,4 IU	0,3 IU	0,5 IU
4	3kg	200 mg/kg	3bln	0,3 IU	0,8 IU	1,0 IU
5	3kg	200 mg/kg	2bln	0,4 IU	0,5 IU	0,8 IU
		Rata-rata		0,4 IU	0,8 IU	2,0 IU
P3						
1	4kg	300 mg/kg	3bln	8,5 IU	3,6 IU	4,4 IU
2	4kg	300 mg/kg	4bln	0,4 IU	3,9 IU	5,8 IU
3	4kg	300 mg/kg	3bln	0,6 IU	1,0 IU	1,4 IU
4	4kg	300 mg/kg	4bln	0,3 IU	2,5 IU	3,8 IU
5	4kg	300 mg/kg	3bln	0,4 IU	4,0 IU	4,5 IU
		Rata-rata		2,0 IU	3,0 IU	4,0 IU
P4						
1	4kg	400 mg/kg	3bln	8,4 IU	4,0 IU	17,1 IU
2	4kg	400 mg/kg	4bln	0,2 IU	0,2 IU	4,0 IU
3	4kg	400 mg/kg	3bln	0,3 IU	0,2 IU	0,3 IU
4	4kg	400 mg/kg	4bln	0,4 IU	0,5 IU	0,5 IU
5	4kg	400 mg/kg	4bln	0,3 IU	1,0 IU	1,5 IU
		Rata-rata		1,9 IU	1,2 IU	4,7 IU

Keterangan: Titer $\geq 0,5$ IU : Seropositif ; Titer $< 0,5$ IU : Seronegatif

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata titer antibodi anak anjing kintamani yaitu 1,1 IU, 1,3 IU, dan 2,4 IU yang artinya pemberian kapsul temulawak dan vaksinasi rabies terhadap anak anjing kintamani, tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap peningkatan titer antibodi anak anjing kintamani karena peningkatan tidak terjadi secara signifikan. Sedangkan waktu dalam pengambilan darah anak anjing kintamani berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap peningkatan titer antibodi. Grafik rata-rata titer antibodi pascavaksinasi rabies pada anak anjing kintamani disajikan pada Grafik 1.



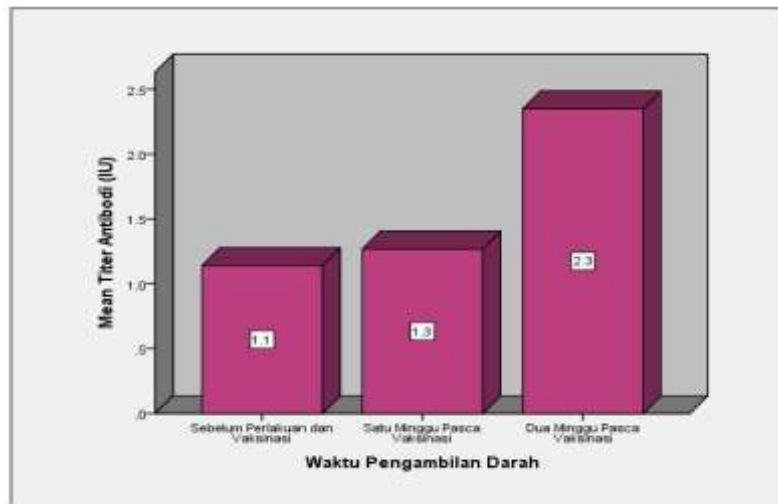
Grafik 1. Grafik Rata-rata Titer Antibodi pada Anak Anjing Kintamani Sebelum dan Setelah Perlakuan Vaksinasi, dengan Pemberian Kapsul Temulawak pada Perlakuan Dosis P0 = 0 mg/kgBB/hari, P1 = 100 mg/kgBB/hari, P2 = 200 mg/kgBB/hari, P3 = 300 mg/kgBB/hari, dan P4 = 400 mg/kgBB/hari.

Bedasarkan analisis sidik ragam (ANOVA) waktu pengambilan darah anak anjing kintamani berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap peningkatan titer antibodi, sehingga dilanjutkan dengan uji Duncan. Tabel hasil uji duncan disajikan dalam Tabel 3.

Tabel 3. Uji Duncan Rata-rata Titer Antibodi pada Anak Anjing Kintamani Umur 2-6 Bulan, Sebelum dan Setelah Perlakuan Vaksinasi

No	Waktu	Rata-rata	Signifikansi (0,05)
1	Sebelum Perlakuan dan Vaksinasi	1.140	a
2	Satu Minggu Pascavaksinasi	1.268	a
3	Dua Minggu Pascavaksinasi	2.348	b

Keterangan: Huruf yang sama dalam kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata, sedangkan huruf yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata.



Grafik 2. Grafik Rata-rata Titer Antibodi pada Anjing Kintamani Sebelum dan Setelah Perlakuan Vaksinasi

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian kapsul temulawak dapat meningkatkan titer antibodi anak anjing kintamani, tetapi secara statistik tidak berpengaruh nyata (Grafik 1). Hal ini disebabkan karena kurkumin dapat memodulasi sistem imun dengan cara meningkatkan kemampuan proliferasi sel T (Varalakshmi *et al.*, 2008). Sel T umumnya berperan pada inflamasi, aktivasi fagositosis makrofag, aktivasi, dan proliferasi sel B dalam produksi antibodi (Baratawidjaja, 2013). Pemberian kapsul temulawak tidak berpengaruh nyata ($P > 0.05$) setelah dilihat dari hasil analisis sidik ragam (ANOVA). Hal ini disebabkan karena pemberian kapsul temulawak yang terlalu singkat yaitu hanya selama 14 hari sebelum dilakukannya vaksinasi rabies.

Peningkatan titer antibodi yang kurang signifikan disebabkan juga karena umur anjing yang digunakan adalah 2-6 bulan dimana pada umur ini sistem imunnya sedang mengalami perkembangan, hal ini sejalan dengan penelitian Utami *et al.* (2012) yang menyatakan anjing yang divaksin pertama kali pada umur 6-12 bulan (65%) memiliki titer antibodi protektif 18,6 kali lebih besar jika dibandingkan dengan anak anjing yang divaksin pertama kali pada umur 1-6 bulan (9,1%). Penyebab lainnya yang membuat peningkatan titer antibodi kurang signifikan yaitu anjing yang berumur 1-6 bulan mendapat kekebalan secara natural atau masih memiliki antibodi maternal. Kekebalan anjing setelah vaksinasi rabies dipengaruhi oleh beberapa hal, antara lain umur, jenis kelamin, bangsa, jenis vaksin, dan periode pascavaksinasi (Ohore *et al.*, 2007). Faktor lain yang mempengaruhi tingkat kekebalan anjing terhadap rabies adalah status kondisi lingkungan pemeliharaan anjing dengan populasi yang tinggi (Widdowson *et al.*, 2002).

Pada penelitian ini yang berpengaruh nyata terhadap peningkatan titer antibodi adalah waktu pengambilan darah (Tabel 3). Pengukuran pertama pada anak anjing dilakukan sebelum perlakuan kapsul temulawak dan sebelum vaksinasi. Pengukuran titer ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh antara sebelum diberikannya kapsul temulawak dengan sesudah diberikannya kapsul temulawak, serta untuk mengetahui ada tidaknya maternal antibodi yang dimiliki anak anjing tersebut. Data titer antibodi memperlihatkan hasil yang beragam (Tabel 1 dan 2). Hasil uji ELISA pada pengukuran antibodi pertama menunjukkan delapan dari 25 sampel di masing-masing perlakuan menunjukkan titer antibodi yang tinggi dan dinyatakan sebagai seropositif, berarti anak anjing memiliki antibodi maternal tinggi yang didapat dari induk anak anjing tersebut (Utami *et al.*, 2012). Adanya titer maternal antibodi yang tinggi pada anak anjing disebabkan oleh karena induknya telah memiliki antibodi yang tinggi.

Pengukuran titer antibodi kedua pada anak anjing dilakukan setelah diberikan kapsul temulawak selama 14 hari dan satu minggu pascavaksinasi rabies. Pengukuran titer antibodi ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kapsul temulawak terhadap respons imun anak anjing kintamani. Data titer antibodi hasil uji ELISA menunjukkan kecenderungan peningkatan titer antibodi pada satu minggu pascavaksinasi, tapi terdapat enam sampel anjing yang menunjukkan penurunan titer antibodi (Tabel 1 dan 2). Penurunan titer antibodi tersebut akibat terjadinya reaksi netralisasi antara antibodi maternal dengan antigen vaksin rabies, sehingga anak anjing yang awalnya memiliki antibodi maternal tinggi, akan menetralkan antigen vaksin, yang menyebabkan antigen vaksin tidak dapat merangsang antibodi. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Sarosa *et al.* (2004) tindakan vaksinasi terlalu awal, dengan maternal antibodi masih tinggi maka akan terjadi reaksi netralisasi antara maternal antibodi terhadap virus vaksin yang masuk ke tubuh.

Pengukuran titer antibodi ketiga pada anak anjing dilakukan setelah diberikan kapsul temulawak selama 14 hari dan dua minggu pascavaksinasi rabies. Data titer antibodi hasil uji ELISA menunjukkan kecenderungan peningkatan titer antibodi pada dua minggu pascavaksinasi (Tabel 1 dan Tabel 2). Dari hasil uji Duncan dua minggu pascavaksinasi menunjukkan titer antibodi pada anak anjing kintamani yang berbeda nyata, yang mengalami peningkatan yang signifikan dari pengambilan darah sebelum perlakuan dan sebelum vaksinasi serta 1 minggu pascavaksinasi. Ini disebabkan karena pada dua minggu pascavaksinasi rabies telah terjadi proses proliferasi dan diferensiasi sel T dan sel B.

Proses terbentuknya antibodi dibedakan dalam tiga fase yaitu, fase logaritmik, fase datar, dan fase penurunan. Dua minggu pascavaksinasi berada pada fase logaritmik, dimana

terjadi kenaikan kadar antibodi secara logaritmik. Dalam fase ini waktu yang diperlukan untuk melipatkan konsentrasi dua kali sekitar 5 – 8 jam. Hal ini disebabkan oleh bertambah banyaknya plasmasit sebagai hasil pembelahan berulang sel-sel B (Subowo, 1993). Ini sejalan dengan data hasil penelitian yang menunjukkan bahwa vaksin rabies memberi respons kebal pada hari ke-14 setelah vaksinasi yakni 87% (Minke *et al.*, 2009). Terdapat anak anjing kintamani yang mengalami penurunan titer antibodi sebanyak empat ekor (Tabel 1 dan 2), hal tersebut dipengaruhi adanya faktor individu setiap anjing yang berbeda-beda dalam hal merespons vaksin yang masuk ke dalam tubuh (Utami *et al.*, 2012).

SIMPULAN

Pemberian kapsul temulawak dan vaksinasi rabies terhadap anak anjing kintamani, tidak secara signifikan dapat meningkatkan titer antibodi tetapi waktu pengambilan darah pada anak anjing kintamani berpengaruh nyata terhadap peningkatan titer antibodi pada dua minggu pascavaksinasi.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai dosis yang optimal dari kapsul temulawak untuk meningkatkan titer antibodi pascavaksinasi rabies dan waktu pemberian kapsul temulawak sebelum vaksinasi rabies terhadap anjing kintamani umur 6-12 bulan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih terutama kepada Balai Besar Veteriner Kelas I Denpasar, Provinsi Bali serta semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Antony S, Kuttan R, Kuttan G. 1999. Immunomodulatory Activity of Curcumin. *Immunology Invest.* 28: 291-303.
- Baratawidjaja KG. 2013. *Imunologi Dasar*. Edisi ke 10, Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- BPOM RI. 2005. Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK 00.05.41.1384 tentang Kriteria dan Tata Laksana Pendaftaran Obat Tradisional, Obat Herbal Terstandar dan Fitofarmaka. Jakarta: Kepala BPOM.
- Cleveland S, Kaare M, Tiringa P, Mlengeya T, Barrat J. 2003. A Dog Rabies Vaccination Campaign in Rural Africa: Impact on The Incidence of dog Rabies and Human Dog-bite Injuries Vaccine. 21(17-18): 1965-1973.

- Dibia IN, Sumiarto B, Susetya H, Putra AAG, Scott OH. 2015. Faktor-Faktor Risiko Rabies pada Anjing di Bali. *Jurnal Veteriner* 3: 389-398.
- Minke JM, Bauvet J, Cliquet F, Wasniewski M, Gulot AL, Lemaiter L, Cariou C, Cozette V, Vergne L, Guigal PM. 2009. Comparison of Antibody Responses After Vaccination with Two Inactivated Rabies Vaccines. Short Communication. *Vet Microbiology*. 133: 283-286.
- Ohore OG, Emikpe BO, Oluwayelu DO. 2007. The seroprofile of Rabies antibodies in companion urban dogs in Ibadan, Nigeria. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 6 (1): 53-56.
- Prasatya IGMA, Suardana IBK, Suartha IN. 2018. Respons Imun Anjing Lokal Jantan Umur Diatas Satu Tahun Pascavaksinasi Rabies. *Indonesia Medicus Veterinus*. 7(1): 69-75.
- Putra AAG. 2011. Epidemiologi Rabies di Bali: Hasil Vaksinasi Massal Rabies Pertama di Seluruh Bali dan Dampaknya Terhadap Status Desa Tertular dan Kejadian Rabies pada Hewan dan Manusia. *Buletin Veteriner, BBVet Denpasar* 13: 56-68.
- Sarosa A, Sendow I, Syafriati T. 2004. Pengamatan Status Kekebalan Terhadap Penyakit Hog Cholera Dengan Teknik Neutralization Peroxidase Linked Essay. Balai Penelitian Veteriner.
- Subowo. 1993. *Imunobiologi*. Bandung: Angkasa Bandung.
- Sufiriyanto, Indradji M. 2007. Efektivitas pemberian ekstrak temulawak (*Curcuma xanthoriza*) dan kunyit (*Curcuma domestica*) dan sebagai immunostimulator flu burung pada ayam pedaging. *J. Animal Production* 9: 178-183.
- Tanzil K. 2014. Penyakit Rabies Dan Penatalaksanaannya. *E-Journal Widya Kesehatan Dan Lingkungan* 1: 61-67.
- Utami S, Sumiarto B. 2012. Tingkat dan Faktor Risiko Kekebalan Protektif terhadap Rabies pada Anjing di Kota Makassar. *Jurnal Veteriner* 13 (1): 77-85.
- Varalakshmi CH, Ali AM, Pardhasaradhi. 2008. Immunomodulatory Effect of Curcumin: In Vivo. *Int. J.* 8: 688.
- Widdowson MA, Morales GJ, Chaves S, James M. 2002. Epidemiology of urban canine rabies, Santa Cruz, Bolivia, 1972-1997. *Emerging Infectious Disease, CDC*. 26 (5): 1-3.