

Virgin Coconut Oil Meningkatkan Aktivitas Fagositosis Makrofag Ayam Pedaging Pascavaksinasi Flu Burung

(*VIRGIN COCONUT OIL INCREASES THE PHAGOCYTOSIS ACTIVITY OF MACROPHAGE OF BROILER CHICKEN FOLLOWING AVIAN INFLUENZA VACCINATION*)

**Enny Yusuf Wachidah Yuniwarti¹, Widya Asmara²,
Wayan Tunas Artama³, Charles Ranga Tabbu⁴**

¹Lab. Fisiologi Hewan, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Matematika,
Universitas Diponegoro, Jl. Prof. Soedarto SH, Tembalang,
Semarang 50275, Telp/ Fax: 024-70799494
Email: enny_yusuf@yahoo.co.id

²Lab. Mikrobiologi, ³Lab. Biokimia, ⁴Lab. Patologi,
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada,
Jl. Fauna No.2, Karang Malang, Yogyakarta 55281

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mencari alternatif pencegahan penyakit flu burung/*avian influenza* (AI) pada ayam pedaging melalui peningkatan aktivitas fagositosis makrofag dan titer antibodi terhadap AI sehingga meningkatkan sistem kekebalan tubuh ayam. *Virgin coconut oil* (VCO) adalah *food supplement* yang terbukti aman untuk dikonsumsi oleh manusia sehingga diasumsikan aman pula bagi ayam. Asam lemak pada VCO berpotensi sebagai immunostimulan. Penelitian ini menggunakan 40 ekor ayam pedaging/*broiler* umur satu hari. Rancangan penelitian ini menggunakan pola faktorial dengan faktor pertama adalah dua level vaksin yaitu kelompok ayam yang divaksin flu burung dan kelompok ayam yang tidak divaksin flu burung. Faktor ke dua menggunakan empat taraf pemberian VCO yaitu 0, 5, 10, dan 15 mL per kg pakan. Ayam *day old chick*/DOC dikelompokkan dalam delapan kelompok dan dilakukan lima kali ulangan. Pakan dan air minum diberikan *ad libitum* selama lima minggu. Penentuan titer antibodi menggunakan metode ELISA sedangkan uji aktivitas fagositosis makrofag menggunakan kultur makrofag dari limpa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian VCO dan vaksinasi flu burung mampu meningkatkan titer antibodi dan persentase aktivitas fagositosis makrofag ayam pedaging. Titer antibodi dan persentase aktivitas fagositosis makrofag tertinggi terdapat pada pemberian VCO sebesar 10 mL/kg pakan dan divaksin flu burung.

Kata-kata kunci : ayam pedaging, *broiler*, aktivitas fagositosis makrofag, flu burung, VCO.

ABSTRACT

The research objective was to find an alternative avian influenza prevention in broilers by increasing animal's antibody titer and macrophages phagocytic activity. Virgin coconut oil (VCO) is a food supplement that is proven safe for human consumption therefore it is assumed to be safe for the animal's (chickens). Factorial design 2 vaccinated: unvaccinated) x 4 (dose of VCO: 0, 5, 10 and 15 mL/kg feed) were applied in this study. A total of 40 day old chick were allocated in the eight treatments groups. Feed and drinking water were available *ad libitum*. Antibody titers of the animals were detected using ELISA, whereas phagocytic activity of the macrophages were detected from spleen. The result showed that the highest phagocytic activity and antibody titers were seen in chickens which were given VCO at 10 mL/kg feed. It is concluded that the VCO could increased the phagocytic activity of macrophages.

Keywords : avian influenza, phagocytic activity, macrophage, broiler chicken, VCO.

PENDAHULUAN

Wabah flu burung yang disebabkan oleh virus subtipe H5N1, pertama kali terdeteksi tahun 2003 pada unggas di Korea Selatan. Di Indonesia, wabah flu burung merebak sekitar pertengahan tahun 2003 dan terus menyebar hingga ke 31 propinsi yang meliputi 295 kabupaten. Penyebaran flu burung semakin meluas wilayahnya karena tidak terkontrolnya pergerakan unggas yang terinfeksi flu burung serta produk unggas dan limbahnya. Sampai saat ini flu burung pada ayam, khususnya ayam pedaging masih endemik pada berbagai daerah di Indonesia. Dampak dari wabah flu burung tersebut menyebabkan terjadinya penurunan jumlah populasi ayam serta produk daging dan telur (Kementan, 2012). Virus flu burung mempunyai kemampuan untuk melakukan mutasi dan rearsori genetik sehingga memungkinkan virus untuk berubah sifat antigenik, patogenisitas, serta spesifitas inangnya. Variasi antigenik pada virus flu burung dapat ditemukan dengan frekuensi tinggi dan terjadi melalui dua cara yaitu *shift* dan *drift*. *Shift* antigenik dapat timbul akibat *gene reassortment* yaitu pertukaran atau pencampuran gen yang terjadi pada dua atau lebih virus influenza tipe A sehingga terjadi penyusunan kembali suatu galur virus baru yang bermanifestasi sebagai subtipe virus flu burung baru. *Drift* antigenik berlangsung lambat tapi progresif dan cenderung dapat menimbulkan penyakit yang terbatas pada suatu kawasan. Sifat virus flu burung tersebut menyebabkan vaksinasi terhadap flu burung yang diberikan pada ayam tidak selalu dapat melindungi ayam dari serangan virus flu burung (Peiris *et al.*, 2007).

Strategi penanganan flu burung yang diterapkan di Indonesia melalui sembilan langkah strategis, yaitu: peningkatan biosekuriti, vaksinasi, depopulasi, pengendalian lalu lintas keluar masuk unggas, *surveillans* dan penelusuran, pengisian kandang kembali, pemusnahan menyeluruh, peningkatan kesadaran masyarakat, monitoring dan evaluasi (Kementan, 2012). Hambatan dalam pengendalian flu burung di beberapa negara termasuk Indonesia adalah lemahnya pelayanan kesehatan hewan nasional, terbatasnya kemampuan mengontrol lalu lintas unggas, dan produk asal unggas, kesulitan dalam menerapkan biosekuriti, *stamping out*, dan vaksinasi (Bruschke, 2008). Kondisi manajemen

dan level biosekuriti yang sangat bervariasi pada berbagai peternakan ayam pedaging menyebabkan perlunya alternatif pencegahan penyakit flu burung pada ayam pedaging melalui peningkatan sistem kekebalan tubuh. Awaad *et al.*, (2010), melaporkan bahwa terjadinya gangguan pada sistem kekebalan tubuh dapat dimodifikasi dengan pemberian senyawa biologis yang mampu mengaktifkan jalur utama dalam sistem kekebalan tubuh untuk merangsang respons imun non spesifik. Aktivitas makrofag atau *antigen presenting cell* yang memroses antigen sedemikian rupa sehingga dapat menimbulkan interaksi dengan sel-sel imun spesifik. Rangsangan antigen yang sudah diproses, menyebabkan sel-sel imun berproliferasi dan berdiferensiasi, sehingga menjadi sel yang memiliki kompetensi imunogenik dan mampu bereaksi dengan antigen. Pada respons primer atau kontak pertama, antigen dapat dimusnahkan sehingga sel-sel sistem imun kemudian mengadakan involusi. Apabila antigen yang sama di kemudian hari masuk ke dalam tubuh maka klon limfosit tersebut akan berproliferasi dan menimbulkan respons sekunder spesifik yang berlangsung lebih cepat dan lebih intensif dibandingkan respons primer (Kaspers *et al.*, 2008). Antigen akan mengikat antibodi secara spesifik, ikatan antigen-antibodi akan menginaktivasi virus melalui *blocking* kemampuan virus untuk mengikat reseptor sel inang. Ikatan antibodi juga memediasi patogen untuk dihancurkan, terutama melalui sel-sel fagositik dari sistem imun innate (Albert *et al.*, 2002).

Virgin coconut oil (VCO) adalah *food supplement* yang dapat diproduksi secara *home industri* oleh petani kelapa di Indonesia dan terbukti aman untuk dikonsumsi oleh manusia sehingga diasumsikan aman pula bagi ayam. Minyak VCO mengandung asam laurat sebesar 51,23%, asam miristat 17,13%, asam palmitat 7,30%, asam kaprilat 9,18%, asam kaprat 7,07%, asam oleat 5,42%, asam stearat 2,17% dan asam kaproat 0,51%. Kandungan asam lemak pada VCO, sebesar 90% merupakan asam lemak jenuh dan hanya 10% merupakan asam lemak tak jenuh. Asam oleat merupakan asam lemak tak jenuh yang terkandung dalam VCO (Setiaji, 2009). Asam lemak jenuh pada VCO terutama asam palmitat dan asam miristat merupakan komponen fosfolipid dari sel limfosit T, sehingga penurunan jumlah limfosit T dapat diperbaiki dengan pemberian asam

palmitat maupun asam miristat (Enig, 2004). Peran limfosit penting didalam perlindungan tubuh ayam terhadap infeksi. Limfosit B berasal dari bursa fabricius yang akan membuat antibodi sedang limfosit T berasal dari thymus dan berkembang menjadi sel T. Jumlah limfosit memberi gambaran tentang derajat daya tahan tubuh. Semakin rendah jumlah limfosit maka virus semakin mudah masuk ke dalam tubuh karena daya tahan tubuh melemah (Davidson, 2008). Pemberian VCO akan meningkatkan sekresi hormon thyroid, peningkatan hormon thyroid ini akan meningkatkan proses metabolisme. Apabila metabolisme meningkat, maka fungsi sel menjadi lebih efisien dan akan membantu tubuh untuk melindungi dari keadaan sakit serta mempercepat penyembuhannya (Fife, 2009).

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan dalam dua tahap yaitu tahap pertama, pemeliharaan ayam dan perlakuan, dilakukan di Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Tahap ke dua, penentuan titer antibodi di Laboratorium Mikrobiologi, dan uji aktivitas fagositosis makrofag dilakukan di Laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran Hewan, UGM. Penelitian menggunakan 40 ekor ayam pedaging galur *Cobb* umur satu hari yang dibagi dalam delapan kelompok perlakuan, masing-masing perlakuan dilakukan lima kali ulangan. Empat kelompok perlakuan pertama adalah kelompok ayam yang tidak divaksin flu burung dan diberi VCO dengan taraf pemberian 0, 5, 10, 15 mL/ kg pakan. Empat kelompok perlakuan berikutnya adalah kelompok ayam yang divaksin flu burung dan diberi VCO dengan taraf pemberian 0, 5, 10, 15 mL/ kg pakan. Setiap taraf perlakuan VCO dicampur dengan pakan kontrol yaitu BR1-CP dan diberikan secara *ad libitum* selama lima minggu. Pada minggu ke lima dilakukan pengambilan darah dari vena brachialis untuk uji titer antibodi dan dilakukan isolasi limpa untuk uji aktivitas fagositosis makrofag.

Titer antibodi terhadap AI diukur menggunakan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Prinsip utama penggunaan teknik ELISA ini adalah penggunaan indikator enzim untuk reaksi imunologi. Antigen diikat pada *polystyrene microtiter plate* pertama. Antiserum yang berisi

anti-peptide antibodi ditambahkan pada sumuran. Antibodi kedua yang spesifik untuk antibodi pertama dilabel untuk dideteksi, ditambahkan ke dalam sumuran. Antibodi kedua berupa enzim, dan enzim ini mengkatalisis pembentukan warna substansi. Warna pada substansi kemudian diukur dan jumlah antibodi yang ada dapat dihitung (Bioon, 2010).

Penentuan aktivitas fagositosis makrofag ayam diawali dengan isolasi makrofag dari limpa (Russel, 1994), kemudian dihancurkan dengan larutan *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI). Larutan dipusing dengan kecepatan 650 rpm, pada suhu 4°C, selama 10 menit. Pelet diambil dan dipusing dengan kecepatan 650 rpm, pada suhu 4°C, selama 10 menit, kemudian pelet ditambah medium komplit yang berisi larutan RPMI, PBS, penisilin, streptomisin dan anti jamur (fungison). Suspensi kemudian dikultur selama 24 jam dalam inkubator CO₂, ditambahkan lateks, diwarnai dengan giemsa. Kemudian dihitung di bawah mikroskop jumlah makrofag yang tidak memfagosit lateks dan yang sedang memfagosit lateks. Persentase aktivitas fagositosis didapat dari jumlah makrofag yang memfagosit dibagi jumlah makrofag seluruhnya, dan dikalikan 100%.

Penelitian ini menggunakan pola faktorial dengan faktor pertama adalah vaksin yaitu vaksinasi flu burung dan tanpa vaksinasi flu burung. Faktor kedua menggunakan empat taraf pemberian VCO yaitu 0, 5, 10, dan 15 mL/kg pakan. Empat puluh ekor ayam DOC dikelompokkan dalam delapan kelompok dan dilakukan lima kali ulangan. Pakan dan air minum diberikan secara *ad libitum* selama lima minggu. Konsumsi pakan dan bobot badan diukur setiap satu minggu sekali. Vaksin flu burung yang digunakan adalah sub type H5N1 dan diberikan 0,5 mL tiap ekor ayam. Pada akhir penelitian dilakukan koleksi sampel untuk pengambilan data (Gomez dan Gomez, 1995).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Titer Antibodi

Hasil penelitian menunjukkan bahwa vaksinasi flu burung meningkatkan titer antibodi, sedangkan pemberian VCO menunjukkan perbedaan yang tidak nyata. Analisis statistika menunjukkan adanya perbedaan yang significant ($P < 0,05$) antara

ayam yang divaksin flu burung maupun yang tidak divaksin flu burung. Perlakuan dengan VCO menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P>0,05$) antara perlakuan yang diberi VCO dan yang tidak diberi VCO (Tabel 1). Efek dari vaksinasi flu burung pada ayam pedaging adalah untuk menghasilkan titer antibodi yang dapat memberikan kekebalan protektif terhadap virus flu burung (Gillim-Ross dan Subbarao, 2006), sehingga peningkatan titer antibodi pada penelitian ini nyata sebagai akibat adanya vaksinasi flu burung.

Pada perlakuan dengan VCO, titer antibodi terbanyak dihasilkan pada kelompok ayam yang diberi VCO 10 mL/kg pakan. Efek VCO terhadap titer antibodi terjadi secara tidak langsung yaitu melalui limfosit-Th. Asam lemak jenuh pada VCO terutama asam palmitat dan asam miristat merupakan komponen phospholipid dari sel-T, sehingga penurunan jumlah limfosit-T dapat diperbaiki dengan pemberian asam palmitat maupun asam miristat (Enig, 2004). Peningkatan limfosit-T yang distimulasi oleh pemberian VCO akan meningkatkan limfosit-Th yang selanjutnya akan menstimulasi sekresi

antibodi dari limfosit-B (Giogia *et al.*, 2008). Glicerolmonolaurat yang terkandung dalam VCO pada konsentrasi rendah mampu memodulasi proliferasi limfosit, sedangkan pada konsentrasi tinggi akan menghambat proliferasi limfosit dan memblokir efek proliferasi limfosit-T, tetapi tidak memengaruhi limfosit-B (Witcher *et al.*, 1996). Berdasarkan penelitian terdahulu tersebut nampak bahwa VCO memengaruhi sekresi antibodi melalui Th, sehingga pada jumlah Th yang berbeda karena pemberian VCO akan menstimulasi sekresi antibodi secara berbeda pula meskipun perbedaan tersebut tidak nyata.

Aktivitas Fagositosis Makrofag

Persentase aktivitas fagositosis makrofag ayam pedaging yang divaksin flu burung lebih tinggi dibandingkan ayam yang tidak divaksin flu burung, begitu pula pemberian VCO sebesar 10 mL/kg pakan dan 15 mL/kg pakan pada ayam yang divaksin flu burung menunjukkan persentase yang lebih tinggi dibandingkan pemberian VCO tanpa divaksin flu burung. Analisis statistika menunjukkan adanya

Tabel 1. Titer antibodi ayam yang divaksin flu burung dan tidak divaksin flu burung setelah pemberian *virgin coconut oil* (VCO)

Taraf VCO (mL/kg pakan)	Perlakuan		
	V-	V+	VCO
VCO 0	45,1564 ± 13,71	399,245 ± 16,29	444,4014
VCO 5	51,3075 ± 12,63	406,9606 ± 19,23	458,2681
VCO 10	128,3056 ± 30,88	421,1418 ± 11,01	549,4474
VCO 15	96,7587 ± 16,81	387,6444 ± 10,6	484,4031
Vaksin	321,5282 ^a	1614,9918 ^b	

Keterangan : V-: kelompok perlakuan tanpa vaksinasi flu burung, V+: kelompok perlakuan yang divaksin flu burung, superscript yang berbeda pada lajur yang sama menunjukkan adanya beda nyata ($P<0,05$)

Tabel 2. Aktivitas fagositosis makrofag ayam yang divaksin flu burung dan tidak divaksin flu burung setelah pemberian *virgin coconut oil* (VCO)

Taraf VCO(mL/kg pakan)	Perlakuan		
	V-	V+	VCO
VCO 0	10,96 ± 0,84	12,98 ± 0,25	23,94 ^a
VCO 5	12,59 ± 0,63	11,91 ± 0,43	24,50 ^a
VCO 10	18,38 ± 0,28	20,29 ± 0,40	38,67 ^c
VCO 15	16,46 ± 0,89	21,11 ± 0,21	37,57 ^b
Vaksin	58,39 ^a	66,29 ^b	

Keterangan : V-: kelompok perlakuan tanpa vaksinasi AI, V+: kelompok perlakuan yang divaksin AI, superscript yang berbeda pada lajur dan kolom yang sama menunjukkan adanya beda nyata ($P<0,05$)

perbedaan yang nyata antara aktivitas fagositosis makrofag ayam yang divaksin flu burung maupun yang tidak divaksin flu burung. Pada perlakuan dengan VCO juga terdapat perbedaan nyata antara perlakuan yang diberi VCO dan yang tidak diberi VCO, peningkatan aktivitas fagositosis makrofag terjadi pada pemberian 10 mL/kg pakan (Tabel 2).

Makrofag merupakan pertahanan pertama dalam melawan penyakit. Aktivitas fagositosis makrofag meningkat dengan pemberian vaksin flu burung dan VCO. Vaksinasi terhadap flu burung menstimulasi sel-B untuk menghasilkan antibodi sehingga meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag karena antibodi ini berperan sebagai opsonin (Abbas *et al.*, 2007).

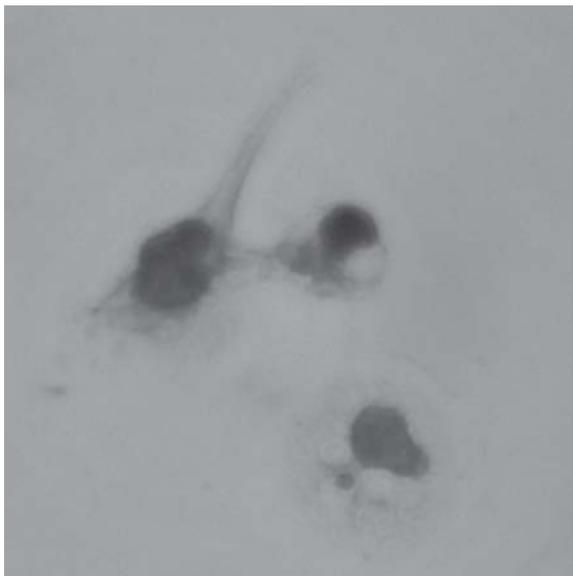
Vaksinasi mendatangkan respons antibodi humoral dan intensitas respons antibodi berbeda-beda pada tiap spesies unggas. Respons imun terhadap protein neuraminidase dapat berkontribusi untuk perlindungan, tapi kekebalan terhadap protein internal virus umumnya tidak protektif (Swayne dan Kapczynski, 2008). Respons antibodi humoral merupakan sumber utama perlindungan. Antibodi terhadap protein HA merupakan antibodi yang paling penting karena dapat menetralkan virus dan mencegah virus memulai infeksi. Netralisasi meliputi pemblokiran ikatan virus ke sel inang dan bekerja pada proses yang terlibat dalam masuknya virus ke dalam sel. Antibodi terhadap protein NA memiliki beberapa efek perlindungan karena berperan untuk memperlambat penyebaran virus (Hunt, 2009). Vaksinasi flu burung pada ayam juga terbukti meningkatkan jumlah limfosit-Th (Gioia *et al.*, 2008), dan virus flu burung juga terbukti meningkatkan aktivasi limfosit ayam (Holt, 1990). Pada *cell-mediated immune responses*, sel-T bereaksi secara langsung melawan antigen yang telah dipresentasikan ke permukaan sel. Sel-T dapat membunuh virus karena virus dipresentasikan ke permukaan sel inang sebagai viral antigen. Pada kasus yang berbeda, sel-T memproduksi signal molekuler yang mengaktifkan makrofag untuk membunuh mikroorganisme melalui proses fagositosis (Albert *et al.*, 2002). Fagositosis merupakan fase akhir pemusnahan mikroorganisme, virus yang sudah ada di dalam sel dibunuh dan dipecah oleh lisosom. Nutrisi dan sejumlah faktor lingkungan mampu memodulasi fungsi makrofag (Qureshi, 2003).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa VCO potensial sebagai *agent* antivirus dan

antibakteri (Bergsson *et al.*, 1998). Asam lemak dalam VCO juga potensial sebagai antivirus (Bartolotta *et al.*, 2001) dan sebagai *immunostimulant* (Witcher *et al.*, 1996). Asam lemak jenuh pada VCO terutama asam palmitat dan asam miristat merupakan komponen phospholipid dari sel-T, sehingga penurunan jumlah limfosit-T dapat diperbaiki dengan pemberian asam palmitat maupun asam miristat (Enig, 2004). Meningkatnya limfosit menyebabkan jumlah antigen yang dapat diproses meningkat dan titer antibodi yang dihasilkan menjadi lebih tinggi sehingga terjadi peningkatan aktivasi fagositosis makrofag (Enig, 2010).

Virgin coconut oil berperan sebagai *feed supplement* karena asam laurat di dalam tubuh diubah menjadi monolaurin atau *monoglyceride of lauric acid*. *Monoglycerid* dari asam kaproat, asam kaprilat, asam kaprat, asam laurat, dan asam miristat mampu menginaktivasi virus (Isaacs *et al.*, 1994). Monolaurin bekerja pada semua virus dan menurunkan infektivitas melalui penghancuran amplop virus (Hierholzer dan Kabara, 2007). Struktur lipid sangat menentukan kerja anti-infektif lipid, mekanisme penghancuran virus dimulai dengan merusak membran plasma lipid bilayer. Aksi antivirus dikaitkan dengan monolaurin yang mempunyai struktur seperti cairan pada amplop virus, menyebabkan rusaknya membran mikrob. Penelitian lainnya menunjukkan bahwa salah satu efek antimikrob pada bakteri karena peran monolaurin membentuk signal transduksi atau toksin (Projan *et al.*, 1994). Semua mekanisme antivirus tersebut diawali oleh terjadinya aktivasi fagositosis makrofag pada awal infeksi (Qureshi, 2003).

Manipulasi diet asam lemak juga terbukti memengaruhi sel fagositosis (Pablo dan Cienfuegos, 2000). Aktivasi makrofag dirangsang oleh sel limfosit-Th melalui pelepasan limfokin dari Th yang akan mengaktifkan makrofag. Fagositosis pada makrofag merupakan kontak partikel antigen dengan reseptor yang terjadi melalui beragam proses. Proses *signaling* ke arah polimerisasi aktin dan internalisasi partikel tergantung pada reseptor. *Annexin* merupakan reseptor dari kelompok protein yang mengikat fosfolipid pada keadaan yang tergantung adanya kalsium. Pada saat makrofag melakukan aktivitas fagositosis terhadap agen patogen, maka terjadi reaksi patogen dengan lisosom sehingga patogen dicerna oleh makrofag. Setelah proses fagositosis



Gambar 1. Makrofag memfagosit lateks

tersebut maka makrofag akan mempresentasikan protein patogen agar dikenali oleh limfosit T-helper melalui *Major Histocompatibility Complex* (MHC) kelas II. *Major Histocompatibility Complex* kelas II ini terdapat pada permukaan makrofag yang bertindak sebagai *antigen presenting cell* (Gordon, 2003). Stimulasi aktivitas fagositosis makrofag oleh pemberian VCO dan vaksinasi flu burung melalui kerjasama antara kompleks antigen-antibodi dan peningkatan jumlah limfosit-Th yang akan menghasilkan limfokin sehingga meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag. Makrofag yang aktif melakukan fagositosis nampak dikelilingi gelembung transparan, sedangkan makrofag yang tidak fagositosis tidak nampak gelembung transparan yang mengelilinginya (Gambar 1).

SIMPULAN

Pemberian VCO mampu meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag pada kelompok ayam yang divaksin flu burung maupun yang tidak divaksin flu burung. Aktivitas fagositosis makrofag tertinggi pada kelompok ayam yang divaksin flu burung dan pemberian VCO. Pemberian VCO 10 mL/kg pakan pada ayam yang divaksin flu burung juga menghasilkan titer antibodi terbanyak.

SARAN

Manfaat VCO sebagai immunostimulant dapat diteliti lebih lanjut pada penyakit ayam yang lain selain flu burung.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini terlaksana atas dukungan dana hibah doktor UGM tahun 2009.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, 2007. *Cellular and Molecular Immunology*. Philadelphia. Saunders Elsevier.
- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P, 2002. *Molecular Biology of the Cell*. www.Garlandscience.com.
- Awaad MHH, Abdel-Alim GA, Sayed KSS, Kawkab, Ahmed A, Nada AA, Metwalli ASZ, Alkhalaf AN, 2010. Immunostimulant effects of essential oils of peppermint and eucalyptus in chickens. *Pak Vet J* 30(2) : 61-66.
- Baratawidjaja KG, Rengganis I, 2010. *Imunologi Dasar*. Jakarta. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Bartolotta S, García CC, Candurra NA, Damonte EB, 2001. Effect of fatty acids on arenavirus replication: inhibition of virus production by lauric acid. *Arch Virol*. 146(4) : 777-790.
- Bergsson, G, Arnfinnsson J, Karlsson SM, Steingrímsson Ó, Thormar H, 1998. In Vitro Inactivation of *Chlamydia trachomatis* by Fatty Acids and Monoglycerides. *Antimicrob Agents Chemother* 42 : 2290-2294.
- Bioon. 2010. ELISA Procedure for Measuring Serum Antibody Titer. <http://www.bioon.com.cn/protocol/showarticle.asp?newsid=20327>
- Bruschke CJM, 2008. *Status Paling Mutakhir Penyakit Pernafasan Avian Influenza: Pendapat dari OIE* (Office Internationale de Epizootica). Invovet Indonesia.
- Davidson F, 2008. The Importance of the Avian Immune System and its Unique Feature in Avian Immunology. Academic Press is an imprint of Elsevier.
- Enig M, 2004. The Importance of Saturated Fats for Biological Functions. <http://www.westonaprice.org/abcs-of-nutrition/health-topics>.

- Enig M. 2010. Action of Fatty Acid in Virgin Coconut Oil, www.Cocofat.Com.
- Fife B, 2009. Coconut Oil and Medium-Chain Triglycerides, <http://www.coconutresearchcenter.org>
- Gillim-Ross L, Subbarao K. 2006. Emerging Respiratory Viruses: Challenges and Vaccine Strategies. *Clin Microbiol Rev* 19(4): 614.
- Gioia C, Castilletti C, Tempestilli M, Piacentini P, Bordi L, Chiappini R, Agrati C, Squarcione S, Ippolito G, Puro V, Capobianchi MR, Poccia F. 2008. Cross-subtype Immunity against Avian Influenza in Persons Recently Vaccinated for Influenza. *Emerg Infect Diseases* 14(1) : 121-128.
- Gordon S. 2003. Alternative Activation of Macrophage. *Nat Rev Immunol* 3(1): 23-35
- Gomez KA, Gomez AA. 1984. *Procedure for Agricultural Research*. John Wiley & Sons. Inc.
- Hierholzer JC, Kabara J. 2007. In Vitro Effects Of Monolaurin Compounds On Enveloped RNA And DNA Viruses. *Journal of Food Safety* 4 (1) : 1 – 12.
- Holt PS. 1990. Enhancement of Chicken Lymphocyte Activation and Lymphokine release by Avian influenza virus. *Developmental & Comparative Immunology*. 14 (4): 447-455.
- Hunt M. 2009. Virology-Chapter Thirteen: Influenza Virus (*Orthomyxovirus*), Microbiology and Immunology On-Line, University of South Carolina School of Medicine.
- Isaac CE, Kim KS, Thormar H. 1994. Inactivation of enveloped viruses in human bodily fluids by purified lipids. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 724: 457-464.
- Kaspers BS, Kothlow C, Butter, 2008. Avian Antigen Presenting Cells: in Avian Immunology. Academic Press is an imprint of Elsevier.
- Kementan, 2012. Avian Influenza di Indonesia, Unit Pengendali Avian Influenza, Kementerian Pertanian. Indonesia
- PabloMAD, Cienfuegos GÁD, 2000. Modulatory Effects of Dietary Lipids on Immune System Functions. *Immunology and Cell Biology*. 78: 31-39.
- Peiris MJS, De Jong MD, Guan Y, 2007. Avian Influenza Virus (H5N1): a Threat to Human Health. *Clin. Microbiol. Rev.* 20(2):243-267
- Projan SJ, Brown-Skrobot S, Schlievert PM., 1994. Glycerol monolaurate inhibits the production of B-lactamase, toxic shock syndrome toxin-1 and other staphylococcal exoproteins by interfering with signal transduction. *J Bacteriol.* 176:4204-4209.
- Qureshi MA, 2003. Avian Macrophage and Immune Response: An Overview, *Poultry Science* 82:691-698
- Russel DG, 1994. Method in Cell Biology, Academic Press.
- Setiaji B. 2009. Menyingkap Keajaiban Minyak Kelapa Virgin, Media Ilmu, Yogyakarta.
- Swayne DE, Kapczynski D, 2008. Strategies And Challenges For Eliciting Immunity Against Avian Influenza Virus In Birds. *Immunol Rev.* 225 : 314-31.
- Witcher KJ, Richard P, Novick, Patric M, Schievert, 1996. Modulation of Immune Cell Proliferation by Glycerol Monolaurate. *Clin. and Diag Lab Immunol* 3(1): 10-13.