

Penelitian

Infiltrasi Limfosit dan Makrofag di Lamina Propria dari Ileum Ayam Pedaging dengan Penambahan *Aloe Vera* pada Pakan

(*Infiltration of Lymphocyte and Macrophage in the Lamina Propria of Broiler Ileum in Addition of Aloe vera as Feed Supplement*)

Herlina Pratiwi^{1*}, Tri Nurhajati²

¹Laboratorium Anatomi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya,
Jl. Mayjen Haryono No.169 Malang 65145

²Departemen Pakan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

*Penulis untuk korespondensi: herlinapратиwi.drh@gmail.com

Diterima 29 September 2016, Disetujui 6 Desember 2016

ABSTRAK

Aloe vera adalah salah satu fitofarmaka yang dapat digunakan sebagai imunomodulator. Khasiat lidah buaya sebagai obat herbal telah diketahui sejak 1500 sebelum masehi. Pengaruh pemberian lidah buaya pada pakan ayam pedaging terhadap infiltrasi makrofag dan limfosit pada lamina propria ileum diamati melalui pemeriksaan preparat histologi ileum. Hewan coba yang digunakan adalah 32 ekor ayam pedaging yang dibagi dalam 8 kelompok perlakuan yang terdiri dari 2 group kontrol, 3 kelompok perlakuan kering dengan dosis 0,5%, 1% dan 1,5%; serta 3 kelompok perlakuan basah dengan dosis 0,5%, 1% dan 1,5%. Data yang diperoleh diuji dengan Anova pola faktorial dilanjutkan dengan uji Duncan. Pada penelitian ini tidak didapatkan interaksi antara bentuk (kering dan basah) *Aloe vera* namun memberikan pengaruh terhadap jumlah limfosit lamina propria ileum pada perbedaan pemberian dosis. Penambahan *Aloe vera* tidak mengakibatkan peningkatan jumlah makrofag lamina propria namun diduga berperan dalam aktivasi kerja dari makrofag. Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa *Aloe vera* dalam bentuk kering dan basah dengan menggunakan tiga tingkatan dosis pada ayam pedaging dapat meningkatkan infiltrasi limfosit di lamina propria dari ileum tanpa mempengaruhi jumlah infiltrasi makrofag.

Kata kunci: *Aloe vera*, ayam pedaging, imunomodulator, makrofag, limfosit

ABSTRACT

Aloe vera, is one of fitofarmaka that has an effect as an immunomodulator. It has been known since 1500 BC. The influence of *aloe vera* in feed of broilers to the infiltration of macrophage and lymphocyte in the lamina propria of ileum was detected using histopathological examination. Sample used in this study were 32 broilers divided into 8 groups of treatment which are two groups of control and each three groups of treated with dried and wet *aloe vera* in the content of 0.5%, 1%, and 1.5%. The data was analysed using Anova factorial and then continued with Duncan method. In this study, there are no interactions between forms (dry and wet) *Aloe vera*, but affected the ileal lamina propria lymphocyte count in different doses. The addition of *Aloe vera* does not lead to an increase in the number of lamina propria macrophages but it suggested had a role in activation of macrophages. The result showed a significant result of lymphocyte infiltration in lamina propria of ileum, although it was not significant in macrophage infiltration.

Keywords: *Aloe vera*, immunomodulator, macrophage, lymphocyte, broiler

PENDAHULUAN

Berbagai kendala dalam sektor peternakan diantaranya penurunan jumlah ternak unggas karena serangan penyakit (Kurnianingtyas *et al.*, 2013). Sistem imun yang berfungsi dengan baik sangat memengaruhi kesehatan dan hal tersebut akan memengaruhi produksi dari hewan (Kogut & Kaiser, 2009). Sistem imun spesifik diantaranya terdiri dari sel-sel darah putih, yaitu makrofag, neutrofil dan limfosit. Makrofag adalah sel darah putih yang berukuran besar, yang mencerna mikroba, antigen dan zat-zat lainnya. Limfosit merupakan sel utama pada sistem getah bening, memiliki ukuran yang relatif lebih kecil daripada makrofag dan neutrofil. Neutrofil memiliki umur tidak lebih dari 7-10 hari, tetapi limfosit bisa hidup selama bertahun-tahun bahkan sampai berpuluh-puluh tahun (Widyanto, 2008).

Hingga saat ini penyakit infeksius masih memberikan pengaruh yang nyata pada perekonomian (menurunkan produksi, penambahan biaya pengobatan dan vaksin) dan ketersediaan makanan yang berasal dari bahan hewani (Kogut & Klasing, 2009). Penambahan pakan yang dapat meningkatkan sistem imun sudah digunakan secara luas untuk meningkatkan status kesehatan hewan (Redmond *et al.*, 2010). Salah satu sumber hayati Indonesia yang telah lama dipelajari kegunaannya dan melimpah ketersediaannya adalah *Aloe vera*.

Aloe vera telah digunakan berabad-abad untuk kesehatan, kecantikan, pengobatan dan perawatan kulit. *Aloe vera* mengandung 75 zat aktif diantaranya: vitamin, enzyme, mineral, gula, lignin, saponin, asam salisilat dan asam amino. Beberapa penelitian yang telah dilakukan pada *Aloe vera* untuk melihat fungsi antiulser, antidiabetik, antihiperkolestermik, efek antioksidatif, antibakterial, aktivitas antiviral, aktivitas antifungal, antiacne, stimulan cardiac, nutraceutical, pelembab, imunomodulator, pelindung kulit dari sinar UV-A dan UV-B dan untuk penyembuhan luka (Bhuvana *et al.*, 2014).

Potensi *Aloe vera* sebagai fitofarmaka perlu dipelajari lebih lanjut terhadap sistem imun ayam pedaging, yaitu terhadap adanya interaksi antara bentuk dan dosis pada pemberian lidah buaya dalam bentuk kering dan basah dengan dosis tertentu terhadap jumlah makrofag dalam lamina propria ileum; serta adanya interaksi antara bentuk dan dosis pada pemberian lidah buaya dalam bentuk kering dan basah dengan dosis tertentu terhadap jumlah limfosit dalam lamina propria ileum. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat mengeta-

hui pengaruh pemberian pakan dengan tambahan *Aloe vera* dalam bentuk kering dan basah terhadap peningkatan sistem imun tubuh ayam pedaging.

BAHAN DAN METODE

Hewan coba yang digunakan adalah ayam pedaging strain Hubbard, jenis kelamin jantan, berat badan rata-rata 800-900 gram dengan umur dua minggu sejumlah 32 ekor. Hewan percobaan yang digunakan dibagi secara acak menjadi 8 perlakuan, masing-masing perlakuan terdiri dari empat ulangan. Bahan yang digunakan berupa pakan ayam broiler jenis 511B produksi PT. Charoen Pokphand, formalin 10%, alkohol 70%, 80%, 90%, dan 96%; xylol, parafin cair, putih telur dalam *glycerin*, bahan cat, dan *canada balsem*. Alat-alat yang digunakan meliputi kandang baterai, tempat makan dan minum individu, pisau, blender Maspion® serta oven pakan, gunting bedah, pinset, pot salep, mikroskop binokuler Olympus®, counter, minyak emersi, *object glass*, dan *cover glass*.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pola faktorial, yang terdiri dari delapan macam perlakuan, dan masing-masing perlakuan empat ulangan. Perlakuan yang diberikan berupa pakan yang ditambah dengan *Aloe vera* dalam keadaan segar dan kering, dengan empat dosis yang berbeda (empat kelompok dengan penambahan *Aloe vera* dalam bentuk kering pada pakan dan empat kelompok dengan penambahan *Aloe vera* dalam bentuk basah pada pakan). Penambahan *Aloe vera* kering dalam pakan, menggunakan dosis 0,5% (AK 0,5); 1% (AK 1); 1,5% (AK 1,5); dan 0% (AK 0) dari total pakan yang diberikan. Pemberian *Aloe vera* dalam bentuk segar ke dalam pakan menggunakan dosis yang sama dengan keadaan kering dengan menggunakan perhitungan bahwa kadar air lidah buaya sekitar 95%, sehingga berat keringnya adalah 5% dari keadaan segar (yang dihitung 0% (AB 0), 0,5% (AB 0,5), 1% (AB 1) dan 1,5% (AB 1,5) adalah berat keringnya).

Pembuatan sediaan *Aloe vera* dengan cara mengambil dagingnya kemudian menghancurkannya dengan blender dan kemudian dicampur dalam pakan. Pada bentuk pencampuran kering, pakan yang telah dicampur *Aloe vera* yang telah dihancurkan di oven (suhu 37 °C) hingga pakan kering kembali.

Tahap perlakuan merupakan uji pakan yang telah ditambahkan *Aloe vera* baik dalam keadaan kering maupun basah terhadap hewan coba yang

sebelumnya telah dilakukan adaptasi pakan perlakuan. Perlakuan penelitian dilaksanakan selama empat minggu, satu minggu masa adaptasi dan tiga minggu selanjutnya adalah perlakuan pakan. Pengambilan sampel ileum dilakukan pada akhir perlakuan, dengan melakukan eutanasi terlebih dahulu kemudian diambil ususnya. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan terhadap makrofag dan limfosit di dalam lamina propia ileum secara histologis dengan pewarnaan HE perbesaran 10x okuler dan 100x obyektif. Setiap preparat diamati perubahannya melalui sepuluh lapangan pandang yang berbeda. Penghitungan jumlah makrofag dan limfosit lamina propria ileum pada tiap preparat diubah dalam bentuk persentase dengan nilai pembagi adalah jumlah sel lain yang ada di lapangan pandang. Analisis data yang digunakan menggunakan *Analysis of Variant* (ANOVA) pola faktorial dilanjutkan dengan uji Duncan pada tingkat kepercayaan 5% (Kusriningrum, 2008).

HASIL

Hasil uji ANOVA, didapatkan perbedaan nyata ($p < 0,05$) di antara perlakuan (bentuk x dosis) kemudian dilanjutkan uji Jarak Duncan dengan tingkat kepercayaan 5%. Pengujian perbandingan berganda dengan metode Duncan, didapatkan bahwa AK 0 berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan AK 0,5, AB 0,5 dan AB 1,5 namun tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan AB 0, AK 1, AK 1,5 dan AK 1. Perlakuan AK 0,5 berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan AK 0 dan AB 0 namun tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan AK 0,5, AK 1, AK 1,5, AB 0,5, AB 1, dan AB 1,5. Perlakuan kelompok AK 1, AK 1,5 dan AB 1 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) AK 0, AK 0,5, AB 0, AB 0,5 dan AB 1,5. Perlakuan AK 1,5 merupakan perlakuan dengan jumlah persentase rata-rata limfosit tertinggi yang tidak berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan AK 0,5, AK 1, AK 1,5, AB 0,5, dan AB 1 (Tabel 1).

Hasil pengamatan secara mikroskopis melalui sepuluh lapangan pandang yang berbeda terhadap makrofag dari tiap preparat histologi lamina propia dari ileum ayam pedaging yang ditambahkan *Aloe vera* pada pakan dengan dosis 0%; 0,5%; 1% dan 1,5% dalam bentuk kering dan basah, tidak ada interaksi yang diberikan oleh perlakuan (bentuk x dosis), sehingga didapatkan bahwa perlakuan penambahan *Aloe vera* pada pakan menunjukkan perbedaan yang tidak nyata atau tidak signifikan terhadap jumlah makrofag antar kelompok perlakuan.

PEMBAHASAN

Pemberian obat yang memiliki target pada sistem imun mukosa saluran pencernaan pada umumnya diberikan secara per oral. Sistem imunitas mukosa saluran cerna bersifat mandiri, terlepas dari sistem imunitas sentral, dan memiliki jalan masuk primer melalui sel-sel yang tidak menghasilkan lendir dan terdapat dalam ileum (Hargono, 1996). *Aloe vera* pada penelitian ini diberikan secara per oral dimaksudkan untuk meningkatkan sistem imunitas ileum ayam pedaging.

Pemberian *Aloe vera* dalam dua bentuk, yaitu bentuk basah dan kering, diketahui tidak memberikan beda yang nyata, hal ini disebabkan oleh karena zat aktif yang terkandung dalam lidah buaya yang dapat meningkatkan jumlah limfosit adalah dari rantai karbohidrat, seperti yang telah dikemukakan Talmadge et al. (2004) bahwa kompleks karbohidrat yang berasal dari *Aloe vera* menunjukkan aktivitas diantaranya dapat menstimulus sistem imun. Karbohidrat adalah senyawa yang kurang peka terhadap pengeringan atau pemanasan, kandungannya tidak akan rusak ketika *Aloe vera* diolah dalam bentuk kering, sehingga kandungan karbohidrat *Aloe vera* dalam penambahan dengan bentuk basah tidak jauh berbeda dengan penambahan dalam bentuk kering. Kandungan aktif karbohi-

Tabel 1 Jumlah persentase limfosit di lamina propria dari ileum ayam pedaging

Kondisi Dosis	Lidah buaya segar, dikeringkan (%)	Lidah buaya segar, tanpa dikeringkan (%)
Dosis 0%	1,69 ± 0,07 ^a	1,73 ± 0,12 ^a
Dosis 0,5%	2,12 ^b ± 0,10 ^b	2,09 ± 0,19 ^b
Dosis 1%	2,01 ± 0,14 ^{ab}	1,98 ± 0,34 ^{ab}
Dosis 1,5%	1,93 ± 0,26 ^{ab}	2,14 ± 0,30 ^b

Huruf superskrip pada taraf 5% ($p < 0,05$) yang berbeda menunjukkan beda nyata pada uji Jarak Duncan.

Tabel 2 Jumlah makrofag di lamina propria dari ileum ayam pedaging

Kondisi Dosis	Lidah buaya segar, dikeringkan (%)	Lidah buaya segar, tanpa dikeringkan (%)
Dosis 0%	0,60 ± 0,40	0,85 ± 0,10
Dosis 0,5%	0,58 ± 0,39	0,89 ± 0,08
Dosis 1%	0,99 ± 0,28	0,86 ± 0,07
Dosis 1,5%	0,84 ± 0,54	0,78 ± 0,03

drat pada Aloe vera diantaranya adalah Pure mannan, acetylated mannan, acetylated glucomannan, glucogalactomannan, galactan, galactogalacturan, arabinogalactan, galactoglucoarabinomannan, pectic substance, xylan, dan cellulose (Hamman, 2008), dengan kandungan paling tinggi adalah acemannan, beberapa penelitian menunjukkan efek immunomodulator dari acemannan (Darabighane *et al.*, 2012).

Pemberian pakan tanpa penambahan Aloe vera (dosis 0%) memiliki hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan yang ditambahkan Aloe vera dalam pakan dosis 0,5%, dosis 1% dan dosis 1,5% (Gambar 1). Hal ini dikarenakan dalam Aloe vera terdapat komponen penting yang berfungsi sebagai imunomodulator dan memiliki kemampuan untuk meningkatkan respon imun diantaranya meningkatkan jumlah sel limfosit. Reynolds & Dweck (1999) menyebut acemannan yang merupakan bagian dari kompleks karbohidrat memiliki efek pada sistem imun dengan menstimulasi respon antigenik pada limfosit maupun jenis leukosit yang lain. Acemannan dapat mengaktivasi pelepasan sitokin seperti IL-1, IL-6, IL-12 dan TNF- α (Tumour Necrosis Factor) dari makrofag (Wombel & Helderma, 1988; Ramamoorthy *et al.*, 1996; Zhang & Tizard, 1996) yang dapat menstimulus pertumbuhan limfosit B dan meningkatkan jumlah limfosit T. Acemannan meningkatkan aktivitas makrofag dilakukan melalui reseptor manosa yang terdapat di permukaan selnya, sedangkan terhadap sel dendritik melalui peningkatan ekspresi molekul MHC kelas II. Respon ini memacu transkripsi ke dua gen APC tersebut untuk memproduksi IL-12, yang akhirnya memacu diferensiasi sel ThCD4+ menjadi sel efektor Th1 dan memproduksi IFN- γ . Efek biologis IFN terhadap imunitas humoral dilakukan secara tidak langsung terhadap sel T atau secara langsung terhadap sel B dengan cara meregulasi secara langsung fungsi sel B, diantaranya: proliferasi dan perkembangan sel B, sekresi imunoglobulin (Ig) dan switching rantai berat imunoglobulin (Wiedosari, 2007).

Ditemukannya sejumlah sel limfosit pada lamina

propria ileum saat dilakukan pengamatan secara mikroskopis, dikarenakan adanya migrasi sel limfosit ke lamina propria ileum. Sel-sel limfosit selalu bermigrasi di dalam tubuh, dari jaringan limfoid sekunder menuju ke organ limfoid lain dan kemudian akan kembali ke jaringan limfoid sekunder asal (Baratawidjaja, 2006). Migrasi terarah yang dilakukan oleh sel limfosit ini disebut dengan mekanisme *homing* (Baratawidjaja, 2006; Abbas & Andrew, 2003). Adanya mekanisme *homing* inilah yang turut mempengaruhi jumlah limfosit dalam lamina propria ileum.

Pemberian Aloe vera dalam bentuk kering dan basah dengan dosis tertentu menunjukkan tidak terdapat interaksi antara bentuk dan dosis terhadap jumlah limfosit dalam lamina propria ileum. Perlakuan bentuk tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata, namun terdapat perbedaan yang nyata pada perlakuan dosis lidah buaya yang ditambahkan pada pakan ayam pedaging terhadap jumlah limfosit lamina propria ileum ayam pedaging.

Penambahan Aloe vera pada pakan secara perhitungan statistik tidak memberikan perubahan yang signifikan ($p > 0,05$) terhadap jumlah makrofag lamina propria ileum dikarenakan diperlukan jumlah zat aktif yang cukup tinggi dari Aloe vera untuk dapat mengaktivasi makrofag. Pada sebuah penelitian yang dilakukan tentang fungsi imunomodulator Aloe vera menunjukkan bahwa konsentrasi yang relatif tinggi dari acemannan dibutuhkan untuk menerima mode aktivasi makrofag yang diberikan dalam bentuk jus kasar Aloe vera (Pugh *et al.*, 2001).

Meskipun acemannan memiliki efek pada aktivasi makrofag namun tidak meningkatkan jumlah makrofag, karena mekanisme dari aktivasi makrofag melalui perangsangan NO (*nitric oxide*) sintetase yang secara umum diekspresikan setelah terinduksi transkrip dan dimediasi oleh beberapa zat sitotoksin dari makrofag yang teraktivasi. Acemannan yang menghasilkan interferon gamma, meningkatkan sintesis dari NO pada sel RAW 264. Proses peningkatan terjadi karena terjadinya peningkatan

dari mRNA untuk merangsang pembentukan dari NO sintetase makrofag (Rammamoorthy, 1996).

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa pemberian *Aloe vera* dalam bentuk kering dan basah dengan menggunakan tiga tingkatan dosis pada ayam pedaging dapat meningkatkan infiltrasi limfosit lamina propria tanpa mempengaruhi jumlah infiltrasi makrofag.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini sebagian di danai oleh dana Penelitian Hibah Bersaing Universitas Airlangga.

“Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak yang terkait dalam penelitian ini”

DAFTAR PUSTAKA

- Abas AK, Andrew HL. 2003. Cellular and Molecular Immunology. 5th Edition. Elsevier Science. Philadelphia.
- Baratawidjaja KG. 2006. Immunologi Dasar. Edisi ke-7. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Bhuvana KB, Hema NG, Rajesh TP. 2014. Review Article Review On Aloe Vera. *Journal Ijar* 2(3): 677-691.
- Darabighane B, Zarei A, Shahneh AZ. 2012. The effects of different levels of Aloe vera gel on ileum microflora population and immune response in broilers: a comparison to antibiotic effects, *Journal of Applied Animal Research*, 40: 1, 31-36.
- Hamman JH. 2008. Composition and Applications of Aloe vera Leaf Gel. *Molecules* 13(8): 1599-1616.
- Hargono, D. 1996. Sekelumit Mengenal Obat Nabati dan Sistem Imunitas. Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan. Jakarta. ISSN: 0125-913X108
- Kogut MH, He H, Kaiser P. 2005. Lipopolysaccharide binding protein/CD14/TLR4-dependent recognition of Salmonella LPS induces the functional activation of chicken heterophils and up-regulation of pro-inflammatory cytokine and chemokine gene expression in these cells. *Animal Biotechnology* 16: 165-181.
- Kurnianingtyas E, Djati MS, Rifa'i M. 2013. Aktivitas Imunomodulator *Polyscias obtusa* Terhadap Sistem Imunitas Pada Bone Marrow Broiler Setelah Pemberian *Salmonella typhimurium*. *Journal of Experimental Life Science* Vol. 3(1): 25-30.
- Kusriningrum. 2008. Perancangan Percobaan. Airlangga University Press. Surabaya
- Pugh N, Ross SA, El Sohly MA, Pasco DS. 2001. Characterisation of aloeride, a new high-molecular-weight polysaccharide from *Aloe vera* with potent immunostimulatory activity. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 49(2): 1030-1034.
- Ramamoorthy L, Kemp MC, Tizard IR. 1996. Acemannan, a beta-(1,4)-acetylated mannan, induces nitric oxide production in macrophage cell line RAW 264.7. *Molecular Pharmacology* 50(4): 878-884.
- Redmond SB, Tell RM, Coble D, Mueller C, Palić D, Andreasen CB, Lamont SJ. 2010. Differential splenic cytokine responses to dietary immune modulation by diverse chicken lines. *Poultry Science* 89: 1635-1641.
- Reynolds T, Dweck AC. 1999. Aloe vera leaf gel: a review update. *Journal of Ethnopharmacol* 68,3-37.
- Talmadge J, Chavez J, Jacobs L, Munger C, Chinnah T, Chow JT, Williamson D, Yates K. 2004. Fractionation of Aloe vera L. inner gel, purification and molecular profiling of activity. *International Immunopharmacol* 4, 1757-1773.
- Widyanto, I. 2008. Sistem Imun. <http://imuno.com/index.php/n=sehat>
- Wiedosari E. 2007. Peranan Imunomodulator Alami (*Aloe Vera*) Dalam Sistem Imunitas Seluler Dan Humoral. *Wartazoa* 17(4): 165-171.
- Wombel D, Helderman JH. 1988. Enhancement of alloresponsiveness of human lymphocytes by acemannan (Carrisyn™). *International Journal of Immunopharmacology* 10(8): 967974.
- Zhang L, Tizard IR. 1996. Activation of a mouse macrophage cell line by acemannan: the major-carbohydrate fraction from Aloe vera gel. *Immunopharmacology* 35(2): 119-128.