

Pengaruh Ekstrak Benalu Teh (*Scurrula oortiana*) sebagai Imuno-Modulator pada Infeksi Marek's Disease Virus Onkogenik

(The effect of Tea Mistletoe (*Scurrula oortiana*) Stem Extract as Immuno-Modulator on Oncogenic Marek's Disease Virus Infection)

Mohamad Samsi^{1*}, Marthen Benedictus Melkianus Malole², Wasmen Manalu² dan Ekowati Handharjani²

¹ Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto

² Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor

ABSTRACT: Marek's disease virus (MDV) is one of oncogenic herpesvirus. It causes immunosupresion and cancer in chicken. Several plants produce bioactive compounds which are very useful for treatment of many disease, especially hiperproliveration and virus infection. This study was aimed to find out mechanism of immuno-modulatory capacity in layer commercial chicken administered orally with extract of tea parasite (*Scurrula oortiana*) in dose of 10 mg/kg BW through drinking water, then the chicken were infected by intraperitoneal oncogenic MDV in dose of $1,0 \times 10^3$ TCID₅₀. The study used 60 layer commercial day old chicks (DOC) divided into four group treatments. The treatments were group A (administered *S. oortiana* extract and without MDV infection), B (neither *S. oortiana* nor MDV infection), C (administered *S. oortiana* extract and with MDV infection), and D (without administered *S. oortiana* extract, but with MDV infection). Results showed that MDV oncogenic caused immunosupresion at a day post infection (p.i) and recovery to be normal based on relative weight of bursa Fabricius and thymus at 40 days p.i. The extract of *S. oortiana* had a capability as an immunomodulator indicated by the increase of relative weight of bursa Fabricius and thymus at day 20 days p.i.

Key Words: Marek's disease virus (MDV), *Scurrula oortiana*, immuno-modulator

Pendahuluan

Marek's disease (MD) disebabkan oleh virus DNA termasuk pada group virusherpes- α penyebab kanker pada ayam. Virus tumbuh dan berkembang pada epitelium folikel bulu kemudian menyebar ke udara selanjutnya menular melalui ketombe dan debu (Silva *et al.*, 2004). Target pertama diantaranya adalah derivat bursa Fabricius (limfosit B), namun sejumlah derivat timus (limfosit T) juga mengalami infeksi. Selama 3 sampai 6 atau 7 hari pascainfeksi (p.i.) terjadi infeksi sitolisis, pembesaran limpa, disertai nekrosis dan atrofi bursa Fabricius dan timus (Calnek *et al.*, 1998). Marek's disease virus (MDV) isolat Australia MPV 57 menimbulkan immunosupresi pada ayam pedaging bersamaan dengan turunnya bobot relatif bursa Fabricius dan timus, dan peningkatan kepekaan pada infeksi *Escherichia coli* (Islam *et al.*, 2002).

Diet antioksidan eksogen mencegah kerusakan seluler (sitolisis) melalui reaksi yang dilakukan oleh radikal bebas. Ayam yang diberi pakan diet semisintetik rendah antioksidan menunjukkan penurunan stabilitas eritrosit terhadap H₂O₂ tetapi terjadi peningkatan pada aktivitas katalase pada hepar, karbonil pada protein otot tak larut (Young *et al.*, 2002). Antioksidan yang berasal dari tanaman telah lama dikenal potensinya dan telah lama diketahui untuk menstabilkan senyawa radikal yang dapat diukur aktivitas antioksidan tersebut (Kim *et al.*, 2002).

Benalu teh secara tradisional digunakan untuk penyembuhan berbagai penyakit diare, kanker, dan amandel. Beberapa publikasi hasil penelitian telah melaporkan efek benalu teh diantaranya sebagai perbaikan sistem imun (Winarno *et al.*, 2003), dan hambatan pertumbuhan sel tumor (Nugroho *et al.*, 2000). Tanaman benalu teh (di benua Eropa disebut *Viscum album* L.) yang dalam percobaan bersifat imunostimulator melalui pengaktifan sel granulosit dan makrofag yang memberi sifat anti tumor (Achi 2005). Daun dan batang benalu teh mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, trepenoid, glikosida, triterpen, saponin, dan tanin (Nugroho *et al.*, 2000 dan Tambunan *et al.*, 2003).

* Penulis Korespondensi. e-mail: Zamsyvet@yahoo.com

Senyawa polifenolat alam, termasuk flavonoid yang disintesis oleh tanaman, mampu memperbaiki kesehatan. Kuersetin dan kuersetin glikosida yang tersebar pada flavonoid banyak ditemukan pada buah dan sayur. Senyawa ini secara luas berperan pada perbaikan kesehatan sehingga menjadi penting dan menarik (Boyer *et al.*, 2005, Lila *et al.*, 2005). Ikatan dengan protein menghasilkan pelapisan substansi yang merupakan kapasitas antioksidan flavonoid. Pada kejadian ini penambahan aktivitas intrinsik dari senyawa, metabolisme, ikatan terhadap protein juga menentukan untuk mempengaruhi efek pemberian flavonoid secara *invivo* (Arts, 2002).

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan mekanisme imunomodulator dari benalu teh, menggunakan parameter bobot relatif organ limfoid yaitu bursa Fabricius, timus, dan limpa dari ayam ras petelur yang diinfeksi MDV onkogenik. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang potensi benalu teh strain *Scurrula oortiana* mencegah immunosupresi pada ayam yang diinfeksi MDV onkogenik.

Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan di kandang percobaan unggas Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor (IPB). Pengamatan efek patologi anatomi dilaksanakan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran IPB. Ayam percobaan adalah ayam ras petelur strain Isa Brown yang diperoleh dari peternakan pembibitan "Manggis Farm" desa Tenjoayu Sukabumi, Jawa Barat.

Benalu teh spesies *Scurrula oortiana* diperoleh dari Perkebunan Teh PTP Rancabuli, Cibuni, Bandung dan ekstraksi dilakukan di Laboratorium Bahan Makanan Ternak, Universitas Diponegoro, Telukawur Jepara Jawa Tengah, ekstraksi dengan metode *reflux* menggunakan air sebagai pelarut (Murtini, 2006). Virus Marek onkogenik serotipe 1 yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Balai Besar Pengawasan Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BPM SOH) Direktorat Jenderal Peternakan, Departemen Pertanian, Gunung Sindur Bogor.

Ayam percobaan secara acak ditempatkan dalam kandang, adaptasi ayam percobaan tidak dilakukan karena menggunakan ayam umur satu hari (*day old chicken* – DOC). Kandang percobaan yang digunakan adalah sistem *group cages* berukuran 60 x 45 x 30 cm, masing-masing unit terdiri atas 3 ekor sehingga jumlah kandang seluruhnya 20 unit. Pada penelitian ini digunakan 60 ekor ayam dibagi ke

dalam empat kelompok perlakuan yaitu : perlakuan A. diberi ekstrak *S. oortiana* tanpa infeksi MDV, B tanpa pemberian ekstrak *S. oortiana* dan tanpa infeksi MDV, C diberi ekstrak *S. oortiana* dan diinfeksi MDV, dan D tanpa diberi ekstrak *S. oortiana*, diinfeksi MDV. Ekstrak benalu teh diberikan secara oral (dicekok) sejak ayam berumur 15 hari sampai akhir percobaan, dengan dosis 10 mg/kg bobot badan yang dilarutkan dalam air minum. Ayam diinfeksi dengan virus Marek pada umur 20 hari secara intraperitoneal (Cho *et al.*, 1999) dengan dosis 1.000 TCID₅₀ (*total count infectious dosis 50*).

Untuk menentukan bobot relatif bursa *Fabricius*, timus, dan limpa dilakukan penimbangan bobot badan ayam. Kemudian dilakukan bedah bangkai dan penimbangan bobot organ bursa *Fabricius*, timus, dan limpa, kemudian hasil penimbangan bobot organ tersebut dibagi dengan hasil penimbangan bobot badan masing-masing ayam, sehingga didapatkan bobot relatif bursa *Fabricius*, timus, dan limpa.

Penelitian dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data dianalisis dengan Analisis Variansi dan uji lanjut Kontras Ortogonal (Steel dan Torrie, 1991) menggunakan program SPSS versi 10 (SPSS, 1999).

Hasil dan Pembahasan

Pengaruh Ekstrak Benalu pada Bobot Relatif Organ Limfoid 20 Hari Pasca Infeksi

Kinerja sistem imun juga dapat diukur dari bobot relatif organ limfoid. Bursa *Fabricius* berperan pada pematangan limfosit B dan timus berperan pada pematangan limfosit T, yang merupakan organ limfoid primer. Infeksi MDV pada ayam diawali dengan periode infeksi sitolisis produktif, MDV menginfeksi limfosit B pada bursa *Fabricius* maupun limfosit T pada timus, terjadi replikasi DNA, sintesis protein, dan perbanyakan partikel virus. Pada puncak infeksi terjadi sitolisis dan kematian sel, atropi pada bursa *Fabricius* dan timus sehingga terjadi immunosupresi, turunya bobot relatif organ limfoid bursa *Fabricius*, dan timus yang dapat dijadikan sebagai indikator immunosupresi sebagai akibat dari infeksi MDV.

Periode infeksi MDV meliputi 3 bentuk, yaitu infeksi akut (produktif) yang menimbulkan lisis sel, dilanjutkan infeksi laten yang bersifat nonproduktif, dan infeksi transforming. Pada infeksi produktif

terjadi replikasi DNA virus, sintesis protein, dan menghasilkan partikel virus. Virus menginfeksi dan merusak limfosit B maupun limfosit T. Selama infeksi terjadi sitolisis pada puncak replikasi virus sehingga menyebabkan immunosupresi, dan meningkat kepekaan terhadap infeksi, bersamaan dengan turunnya bobot relatif bursa Fabricius dan timus (Calnek *et al.*, 1998, Payne dan Venugopal, 2000, Islam *et al.*, 2002). Replikasi virus herpes pada bursa Fabricius dan timus menimbulkan transien immunosupresi, perubahan sitolitik akut pada organ ini ditandai dengan atrofi. Infeksi eksperimental terjadi lesi bursa Fabricius mengalami degenerasi folikuler, nekrosis limfoid sehingga mengalami atrofi, dan pembentukan kista. Timus mengalami atrofi, limfosit hilang baik pada korteks maupun medula. Benda inklusi intranuklear dapat muncul pada sel yang mengalami degenerasi (Fadly, 2000). Rataan bobot relatif organ bursa Fabricius 20 hari p.i pada berbagai kelompok perlakuan benalu teh dan infeksi MDV disajikan pada Tabel 1.

Hasil analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$) diantara fraksi kelompok perlakuan pada hari ke 20 p.i. Kelompok perlakuan dengan pemberian benalu teh tanpa infeksi MDV (A) memiliki nilai tertinggi sebesar 0,0037 berbeda dengan kelompok dengan pemberian benalu dan infeksi MDV (C) memiliki nilai 0,0022, dan juga berbeda dengan perlakuan yang tanpa diberi benalu teh dan diinfeksi MDV (D), yaitu 0,0021. Tingginya ratio bobot bursa Fabricius pada perlakuan A disebabkan oleh pengaruh immunomodulator dari ekstrak benalu teh spesies *S. oortiana* 10 mg/kg bobot badan. Rendahnya bobot relatif bursa Fabricius pada kelompok perlakuan C dan D disebabkan oleh infeksi produktif yang menimbulkan sitolisis MDV pada 20 p.i. Pada Gambar 1 disajikan rata-rata bobot relatif bursa *Fabricius* pada 20 hari dan 40 hari pascainfeksi.

Terjadinya immunomodulasi pemberian ekstrak benalu teh spesies *S. oortiana* pada kelompok ayam tanpa infeksi MDV perlakuan A ditandai dengan perbaikan performan bursa Fabricius berdasarkan bobot relatif organ tersebut, dan kecenderungan terjadinya immunosupresi pada kelompok ayam yang diinfeksi MDV baik yang diberi ekstrak *S. oortiana* maupun tanpa diberi ekstrak *S. oortiana*.

Kelompok perlakuan B, yaitu tanpa diberi benalu dan tanpa infeksi MDV adalah 0,031 tidak berbeda dengan semua kelompok perlakuan. Hal ini menunjukkan belum ada pengaruh immunosupresi pada ayam yang diinfeksi MDV pada 20 hari p.i, baik yang diberi benalu teh maupun tanpa diberi benalu teh.

Hasil analisis statistik bobot relatif timus menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$) di antara kelompok perlakuan pada hari ke 20 p.i. Kelompok perlakuan yang diberi benalu teh tanpa infeksi MDV (A) memiliki nilai tertinggi sebesar 0,0054 tidak berbeda dengan kelompok yang diberi perlakuan tanpa diberi benalu dan tanpa infeksi MDV (B) sebesar 0,0053. Kelompok A dan B berbeda dengan perlakuan D yaitu tanpa diberi benalu teh diinfeksi MDV (0,0019). Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan infeksi MDV menimbulkan immunosupresi dilihat dari turunnya bobot relatif timus.

Imunodifisiensi mungkin disebabkan oleh cacat pada pendewasaan limfosit atau aktifasinya atau gangguan pada mekanisme efektor imunitas alami maupun imunitas perolehan. Proses pendewasaan limfosit dari sel stem ke komponen sel fungsional limfosit dewasa termasuk proliferasi, ekspresi reseptor antigen, seleksi sel sehingga memiliki spesifitas, dan perubahan pada ekspresi sejumlah gen (Abbas *et al.*, 2000).

Tabel 1 Rataan bobot relatif bursa fabricius, timus, dan limpa 20 hari p.i.

Peubah	Perlakuan			
	A	B	C	D
Bursa Fabricius	0,0037 ^a ± 0,0003	0,0031 ^{ab} ± 0,0002	0,0022 ^b ± 0,0008	0,0021 ^b ± 0,0009
Timus	0,0054 ^a ± 0,0007	0,0053 ^a ± 0,0003	0,0033 ^{ab} ± 0,0025	0,0019 ^b ± 0,0003
Limpa	0,0039 ^a ± 0,0007	0,0034 ^a ± 0,0004	0,0042 ^a ± 0,0011	0,0029 ^a ± 0,0010

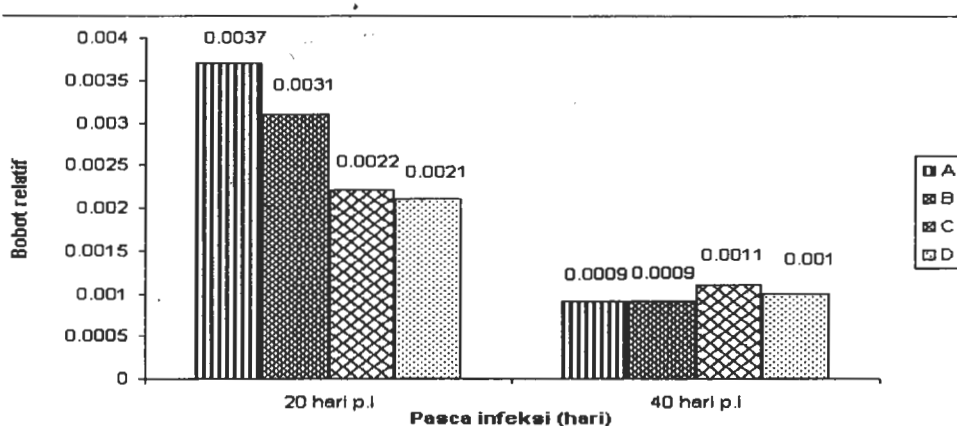
^{a,b} Superskrip dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan ada perbedaan pada $P < 0,05$

A = diberi ekstrak *S. oortiana* tanpa diinfeksi MDV

B = tanpa diberi ekstrak *S. oortiana* tanpa diinfeksi MDV

C = diberi ekstrak *S. oortiana* dan diinfeksi MDV

D = tanpa diberi ekstrak *S. oortiana* diinfeksi MDV



A = diberi ekstrak *S. oortiana* tanpa diinfeksi MDV
 B = tanpa diberi ekstrak *S. oortiana* tanpa diinfeksi MDV
 C = diberi ekstrak *S. oortiana* dan diinfeksi MDV
 D = tanpa diberi ekstrak *S. oortiana* diinfeksi MDV

Gambar 1. Bobot relatif bursa fabricius pada 20 hari dan 40 hari pascainfeksi

Kriteria dari immunosupresif meliputi: (1) kejadian awal infeksi sitolisis, (2) atrofi bursa fabricius dan timus yang diukur dari proporsi bobot organ limfoid terhadap bobot tubuh pada 8-14 pascainfeksi (p.i), dan (3) perubahan histopatologi yaitu nekrosis dan atrofi organ limfoid. Disimpulkan bahwa tingkat immunosupresi adalah berhubungan dengan virulensi dan ukuran organ yang mengalami perubahan atrofi bursa Fabricius dan timus dapat digunakan sebagai pengukuran patotipe pada isolat baru MDV (Calneck *et al.*, 1998).

Kelompok dengan pemberian benalu teh spesies *S. oortiana* dan diinfeksi MDV (C) memiliki nilai 0,0033 tidak berbeda dengan semua kelompok perlakuan baik A, B, maupun D. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak benalu teh mampu menghambat proses terjadinya sitolisis pada timus akibat infeksi sitolitik MDV. Perlakuan C tidak terpengaruh adanya immunosupresi yang disebabkan oleh MDV diimbangi oleh pengaruh immunomodulasi oleh ekstrak benalu teh spesies *S. oortiana*.

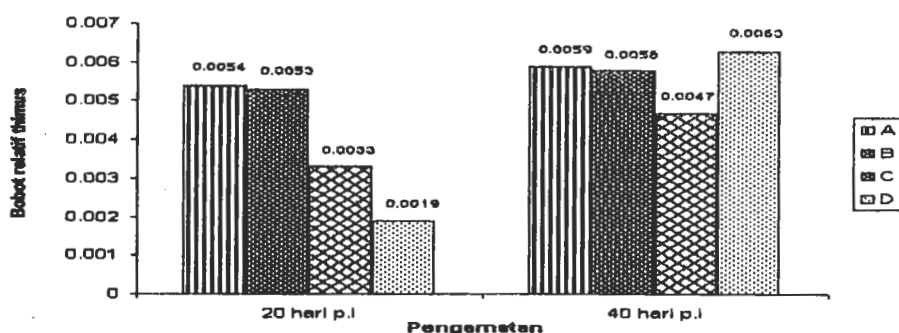
Karena itu efek protektif dari antioksidan pada pencegahan kerusakan membran sel dan reseptor terhadap peroksidasi lipid dapat memberikan keuntungan pada perbaikan kinerja sistem imun. Pada Gambar 2 disajikan rata-rata bobot relatif timus pada 20 hari dan 40 hari pascainfeksi.

Adanya immunomodulator berdasarkan bobot relatif bursa Fabricius pada pemberian ekstrak benalu teh tanpa infeksi MDV dan immunomodulator berdasarkan bobot relatif timus pada kombinasi pemberian benalu teh dan disertai infeksi MDV

Maka ekstrak benalu teh spesies *S. oortiana* mampu memperbaiki performan sistem imun organ limfoid primer baik pada bursa Fabricius maupun timus pada 20 hari p.i.

Kemampuan benalu teh menghambat kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas berkaitan dengan aktivitas bahan aktif pada benalu teh sebagai antioksidan. Daun dan batang tanaman ini mengandung alkaloid, flavonoid, glikosida, triterpen, saponin, dan tanin yang berperan sebagai antioksidan (Windardi dan Rahajoe, 1998; Achi, 2005). Ekstrak benalu teh spesies *Scurrula atropurpurea* mengandung 16 bahan bioaktif yang terdiri dari enam senyawa asam lemak, dua santin, dua glikosida flavonol, satu glikosida monoterpen, satu glikosida lignan, dan empat flavon (Ohashi *et al.*, 2003). Uji aktivitas antioksidan menggunakan radikal bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), dilakukan pada ekstrak daun benalu teh *S. oortiana*. Semakin rendah nilai IC_{50} semakin tinggi potensi antioksidannya. Nilai IC_{50} ekstrak n-heksan adalah 697,68 ug/ml, ekstrak etilasetat adalah 617,03 ug/ml, ekstrak metanol 93,59 ug/ml, dan ekstrak air adalah 121,17 ug/ml (Simanjuntak, *dkk.*, 2004).

Hasil pengukuran bobot relatif limpa pada 20 p.i. tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan diantara keempat kelompok perlakuan (Tabel 1). Kondisi tersebut menjelaskan tidak ada pengaruh perlakuan yang diberikan terhadap bobot relatif organ atau tidak terjadi immunomodulasi terhadap limpa.



A = diberi ekstrak *S. oortiana* tanpa diinfeksi MDV
 B = tanpa diberi ekstrak *S. oortiana* tanpa diinfeksi MDV
 C = diberi ekstrak *S. oortiana* dan diinfeksi MDV
 D = tanpa diberi ekstrak *S. oortiana* diinfeksi MDV

Gambar 2. Rataan bobot relatif timus pada 20 hari dan 40 hari pascainfeksi

Tabel 2. Rataan bobot relatif bursa fabricius, timus, dan limpa 40 hari p.i.

Organ	Perlakuan			
	A	B	C	D
Bursa Fabricius	0,0009 ^a ± 0,0003	0,0009 ^a ± 0,0001	0,0011 ^a ± 0,0002	0,0010 ^a ± 0,0002
Timus	0,0059 ^a ± 0,0016	0,0058 ^a ± 0,0027	0,0047 ^a ± 0,0001	0,0063 ^a ± 0,0008
Limpa	0,0031 ^a ± 0,0005	0,0029 ^a ± 0,0004	0,0027 ^a ± 0,0009	0,0028 ^a ± 0,0013

^a Superskrip dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0.05$).

A = diberi ekstrak *S. oortiana* tanpa diinfeksi MDV
 B = tanpa diberi ekstrak *S. oortiana* tanpa diinfeksi MDV
 C = diberi ekstrak *S. oortiana* dan diinfeksi MDV
 D = tanpa diberi ekstrak *S. oortiana* diinfeksi MDV

Pengaruh Ekstrak Benalu pada Bobot Relatif Organ Limfoid 40 Hari Pasca Infeksi

Pada akhir masa perlakuan yaitu pada 40 p.i. bobot relatif organ bursa fabricius, timus, maupun limpa (Tabel 2) tidak berbeda di antara keempat kelompok perlakuan. Hal ini dimungkinkan sudah berakhirnya masa immunosupresi sebagai tahapan awal infeksi MDV yang bersifat transien (sementara) immunosupresi, yaitu bersifat sementara. Islam *et al.* (2002) dan Fadly (2000) menyatakan bahwa ayam komersial mengandung antibodi maternal MDV dan kejadian immunosupresi sebagai akibat infeksi MDV tergantung pada variabel yang diukur, efek supresi pada sistem imun dapat terjadi dari awal infeksi yaitu hari ketiga sampai dengan 35 pascainfeksi.

Ekstrak benalu teh spesies *S. oortiana* berkhasiat sebagai immunomodulator karena mampu meningkatkan rataan bobot relatif bursa Fabricius dan bobot relatif timus. Hasil tersebut tercermin dari meningkatnya rataan bobot relatif bursa Fabricius pada kelompok ayam yang diberi ekstrak *S. oortiana* dibanding

kelompok yang diberi ekstrak dikombinasi dengan infeksi MDV maupun kelompok ayam yang hanya diinfeksi MDV 20 hari p.i.. Bobot relatif timus pada kelompok ayam yang diberi ekstrak *S. oortiana* dan diinfeksi MDV tidak mengalami penurunan pada 20 hari pascainfeksi, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak *S. oortiana* mampu menghambat immunosupresi akibat infeksi MDV.

Kesimpulan

Uji tantang MDV onkogenik dengan dosis $1,0 \times 10^3$ TCID₅₀ pada ayam ras petelur betina menimbulkan immunosupresi pada 20 hari p.i. berdasarkan ukuran bobot relatif bursa fabricius dan bobot relatif timus. Terjadi pemulihan menjadi normal pada 40 hari p.i. berdasarkan ukuran bobot relatif bursa Fabricius dan timus. Pemberian ekstrak benalu teh spesies *S. oortiana* dosis 10 mg/kg bb pada ayam ras petelur betina berpotensi sebagai immunomodulator ditandai dengan peningkatan bobot relatif bursa fabricius dan bobot relatif timus pada 20 hari p.i.

Daftar Pustaka

- Abbas, A.K., A.H. Lichtman and J.S. Pober, 2000. *Cellular and Molecular Immunologi*. 4th Edition. W.B. Saunders Company. Harcourt Health Science Company.
- Achi, A.A., 2005. Mistletoe and clinical use. *United State Pharmacology* 30101: 12-18.
- Arts M.J., 2002. Interaction between flavonoids and proteins: Effect on the total antioxidant capacity. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 50:1184-1187.
- Boyer, J. D., Brown and R.H. Liu, 2005. Invitro digestion and lactase treatment Influence uptake of quercetin and quercetin glukosida by the caco-2 cell monolayer. *Nutrition Journal* 10: 1186-1191.
- Calnek, B.W., R.W. Harris, C. Bucaglia, K.A. Schat and B. Lucio, 1998. Relationship between the immunosuppressive potential and the pathotype of marek's disease virus isolates. *Avian Disease* 42: 124-132.
- Cho, KO, K. Ohashi and M. Onuma, 1999. Electron microscopical and immunohistochemical localization of Marek's disease (MD) herpesvirus particles in MD Skin Lymphomas. *Veterinary Pathology* 36: 314-320.
- Fadly, A.M., 2000. *Neoplastic disease*. Poultry Disease. CRC Press Boca Raton, New York.
- Islam, A.M., C.W. Wong, S.W. Walken-Brown, I.G. Colditz, K.E. Arzey and P.J. Groves, 2002. Immunosuppressive effects of marek's disease virus (MDV) and herpesvirus of turkey (HVT) in broiler chickens and protective effect of HVT vaccination challenge. *Avian Pathology* 31: 449-461.
- Kim, D.O., K.W. Lee, H.J. Lee and C.Y. Lee, 2002. Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of Phenolic Phytochemicals. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 50: 3713-3715.
- Lila, M.A., G.Y. Gad, J. Yong and M.W. Connie, 2005. Sorting out bioactivity in flavonoid mixtures. Symposium : Relative Bioactivity of Functional Foods and Related Dietary Supplements. *Journal of Nutrition* 135: 1231-1235.
- Murtini, S., 2006. Kajian ekstrak benalu the (*Scurrula oortiana*) sebagai antivirus terhadap virus Marek pada telur ayam berembrio. [Disertasi]. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Nugroho, Y.A., B. Nuratmi dan Suhardi, 2000. Daya Hambat Benalu teh (*Scurrulla atropurpurea*) terhadap Proliferasi Sel Tumor Kelenjar Susu Mencit (*Mus musculus* L) C3H. *Cermin Dunia Kesehatan* 127: 15-17.
- Ohashi, K., M. Mukai, P. Simanjuntak and P. H. Shibuya, 2003. Cancer cell invasion inhibitory effects of chemical constituents in the parasitic plant *Scurrulla atropurpurea* (Lorantaceae). *Chemical Pharmacology Bulletin* 51(3): 343-345.
- Payne, L.N., and K. Venugopal, 2000. Neoplastic disease: Marek's disease, avian leucosis and reticuloendotheliosis. *International Epizootiology* 19(2): 544-554.
- Silva, R.F., S. Reddy and B. Lupiani, 2004. Expansion of a unique region in the marek's disease virus genome occurs concomitantly with attenuation but is not sufficient to cause attenuation. *Journal of Virology* 78(2): 733-740.
- Simanjuntak, P., T. Parwati, L.E. Lenny, S. Tamat dan R. Murwani, 2004. Isolasi dan identifikasi senyawa antioksidan dari ekstrak benalu teh, *Scurrulla oortiana* (Korth) danser (Lorantaceae). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* 2(1): 6-9.
- SPSS Inc., 1999. *SPSS for Windows: Base Systems Users's Guide Release 10.0*. Michigan Avenue, Chicago.
- Steel, R.G.D., dan J.H. Torrie, 1991. *Prinsip dan Prosedur Statistika, Suatu Pendekatan Biometrik*. B. Sumantri (penerjemah). Terjemahan dari: *Principles and Procedures of Statistics, A Biometrical Approach*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Tambunan, R., M. Bustanussalam, P. Simanjuntak dan R. Murwani, 2003. Isolasi dan identifikasi kafein dalam ekstrak air daun benalu teh, *Scurrulla junghuni*, Lorantaceae. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* 1(2): 16-18.
- Winarno, H., K. Ohashi, M. Mukai, P. Simanjuntak dan H. Shibuya, 2003. Uji Bioaktivitas terhadap Invasi Sel Kanker dari Beberapa Senyawaan Flavonoid, Santin, Terpen, dan Ligan yang Diisolasi dari Benalu teh (*Scurrulla atropurpurea*) Lorantaceae. *Prosiding Seminar dan Pameran Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXIV*. Pusat Studi Biofarmaka LP-IPB Darmaga, Bogor 19 - 20 September 2003. Hlm.141-149.
- Windardi, F.I., dan J.S. Rahajoe, 1988. Keanekaragaman Benalu Teh di Pulau Jawa. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia* 4: 25-29.
- Young, J.F., C.L. Steffensen, J.H. Neilsen, S.K. Jensen and J. Stagsted, 2002. Chicken model for studying dietary antioxidant reveal that apple (Cox's orange)/Broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) stabilizes erythrocytes and reduces oxidation of insoluble muscle proteins and lipids in cooked liver. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 50: 5058-5062.