

DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA

PAMERAN

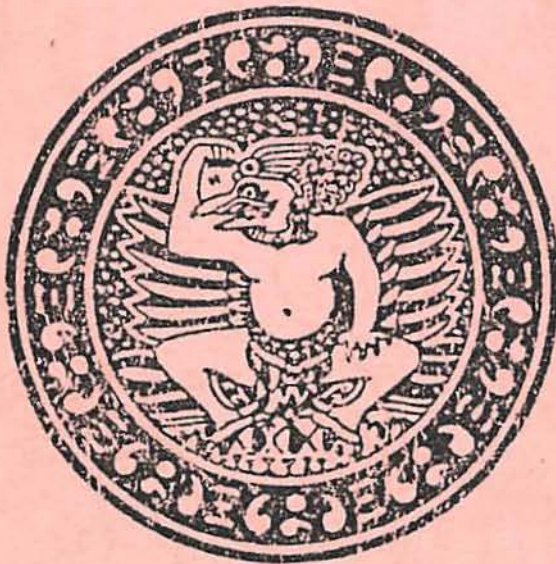
01 NOV 1997

PEMBUATAN ANTIGEN EGG DROP SYNDROME '76 (EDS '76)
UNTUK KEPERLUAN DIAGNOSIS DENGAN
UJI HAMBATAN HEMAGLUTINASI

SELESAI

Ketua Peneliti :

Nanik Sianita Widjaja, S.U., Drh.



LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Oleh : DURK DPP Unair 1994/1995

SK.Rektor Nomor : 4815/PT03.H/N/1994

Nomor Urut : 16

-VIROLOGY

IR - UNIVERSITAS AIRLANGGA

DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA

579.2

Rem

1

BUATAN ANTIGEN EGG DROP SYNDROME '76 (EDS '76)
UNTUK KEPERLUAN DIAGNOSIS DENGAN
UJI HAMBATAN HEMAGLUTINASI

PAMERAN

01 NOV 1997

Ketua Peneliti :

Nanik Sianita Widjaja, S.U., Drh.

00 193 1995 3141



MILIK
PERPUSTAKAAN
"UNIVERSITAS AIRLANGGA"
SURABAYA

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Oleh : DURK DPP Unair 1994/1995

SK.Rektor Nomor : 4815/PT03.H/N/1994

Nomor Urut : 16



LEMBAGA PENELITIAN

Jl.Darmawangsa Dalam 2 Telp. (031) 42322 Surabaya 60286

IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

- a. Judul Penelitian : Pembuatan Antigen EGG Drop Syndrome '76 (EDS'76) Untuk Keperluan Diagnosis Dengan Uji Hambatan Hemaglutinasi
 - b. Macam Penelitian : Fundamental, Terapan, Pengembangan
 Institusional
 - c. Kategori Penelitian : I II III IV
2. Kepala Proyek Penelitian
 - a. Nama Lengkap Dengan Gelar : drh. Nanik Sianita Widjaja, SU
 - b. Jenis Kelamin : W a n i t a
 - c. Pangkat/Golongan dan NIP : Penata/IIIc/131 123 697
 - d. Jabatan Sekarang : Staf Pengajar
 - e. Fakultas/Fuslit/Jurusan : Kedokteran Hewan/Ilmu Peny. Hewan dan Kemavet
 - f. Univ./Inst./Akademi : Universitas Airlangga
 - g. Bidang Ilmu Yang Diteliti : Virologi dan Imunologi
 3. Jumlah Tim Peneliti : 5 (lima) orang
 4. Lokasi Penelitian : Lab. Penyakit Hewan Kesmavet FKH Unair
 5. Kerjasama dengan Instansi Lain
 - a. Nama Instansi : -
 - b. Alamat : -
 6. Jangka Waktu Penelitian : 6 (enam) bulan
 7. Biaya Yang Diperlukan : Rp 2.000.000,00
 8. Seminar Hasil Penilaian
 - a. Dilaksanakan Tanggal : 16 Februari 1995
 - b. Hasil Penilaian : Baik Sekali Baik
 Sedang Kurang

Surabaya, 27 Februari 1995



Mengetahui/ Mengesahkan :
a. Kepala Lembaga Penelitian,

Prof. Dr. Noor Cholies Zaini
NIP. 130 355 372

RINGKASAN PENELITIAN

Judul Penelitian : Pembuatan Antigen Egg Drop Syndrome '76 (EDS '76) untuk Keperluan Diagnosis dengan Uji Hambatan Hemaglutinasi.

Ketua Peneliti : Nanik Sianita Widjaja

Anggota Peneliti : Rahayu Ernawati

Wahju Tjahjaningsih

Jola Rahmahani

Suwarno

Fakultas : Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
Surabaya.

Sumber Biaya : SPP/DPP Universitas Airlangga

SK. Rektor Nomor : 4815/PT.03.H/N/1994

Tanggal : 27 Juni 1994.

Penurunan produksi telur merupakan salah satu kendala yang sering dihadapi oleh peternak ayam pembibit maupun petelur. Diantara sekian banyak faktor yang dapat menyebabkan penurunan produksi telur adalah penyakit *Egg Drop Syndrome '76* (EDS '76). Uji hambatan hemaglutinasi (*Hemagglutination Inhibition*, HI) merupakan salah satu cara pemeriksaan serologis yang sering dilakukan, karena mudah, praktis serta mempunyai nilai keakuratan yang tinggi. Hanya saja yang menjadi kendala, antigen EDS '76 untuk uji HI tidak mudah diperoleh di pasaran. Penggunaan antigen EDS '76 untuk uji HI dalam bentuk inaktif tentunya lebih baik, karena lebih aman dan stabil. Permasalahannya sekarang adalah : (1) Apakah virus EDS '76 yang telah di-inaktivasi dengan pemanasan dan formalin dapat digunakan sebagai antigen untuk uji HI ? (2) Apakah titer HA dari antigen EDS '76 yang diinaktivasi tetap stabil setelah penyimpanan pada suhu 4°C ?

Penelitian ini bertujuan untuk menjawab permasalahan di atas dan dari hasil penelitian ini diharapkan memperoleh antigen EDS '76 untuk uji HI yang inaktif dengan titer HA yang stabil.

Penelitian ini dilakukan dalam tiga tahap yaitu tahap pembuatan antigen, tahap pengujian antigen dan tahap pengujian stabilitas antigen pada suhu 4°C. Pada tahap pembuatan antigen dilakukan pembiakan seed virus EDS '76

pada 60 butir telur itik berembrio umur 10 hari. Cairan alantois dari telur itik berembrio yang menunjukkan reaksi hemaglutinasi (HA) positif dan reaksi hambatan hemaglutinasi (HI) positif dikumpulkan dan selanjutnya dibagi menjadi 6 perlakuan untuk diproses sebagai berikut: cairan alantois tanpa diinaktivasi, diinaktivasi dengan pemanasan 65°C selama satu jam, dengan formalin 0,1 % pada suhu 37°C selama 16 jam, dengan formalin 0,5 % pada suhu 37°C selama tiga jam serta kombinasi antara pemanasan dengan formalin. Tahap pengujian antigen meliputi uji sterilitas, uji inaktivitas serta kemampuan antigen dalam mengaglutinasikan eritrosit. Untuk menguji stabilitas antigen pada suhu 4°C dilakukan pengukuran titer HA dari antigen sebelum disimpan dan setelah disimpan. Pengukuran dilakukan tiap dua minggu sampai selama 12 minggu.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan, bahwa : virus EDS'76 yang diinaktivasi dengan formalin 0,1 % pada suhu 37°C selama 16 jam dapat digunakan sebagai antigen untuk uji HI. Inaktivasi dengan formalin 0,5 % pada suhu 37°C selama tiga jam, baik tanpa pemanasan maupun dengan pemanasan tidak dapat digunakan pada pembuatan antigen EDS'76. Titer HA dari antigen EDS'76 yang diinaktivasi tetap stabil setelah penyimpanan pada suhu 4°C selama enam minggu.

Atas dasar hasil penelitian ini disarankan penelitian lebih lanjut tentang konsentrasi, suhu dan lama inkubasi formalin untuk inaktivasi virus EDS'76, sehingga dapat diperoleh antigen EDS'76 inaktif dengan titer HA yang sama dengan antigen EDS'76 aktif serta stabilitas titer HA yang lebih lama.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan Ke Hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat-Nya, sehingga penelitian ini dapat selesai dengan baik. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh antigen *Egg Drop Syndrome '76* (EDS '76) inaktif untuk uji hambatan hemaglutinasi (*Hemagglutination Inhibition*, HI) dengan titer HA yang tetap stabil setelah disimpan pada suhu 4°C untuk jangka waktu tertentu.

Penelitian ini dapat berjalan dengan baik atas kerjasama dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Rektor Universitas Airlangga, Ketua Lembaga Penelitian Universitas Airlangga, Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga serta semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah ikut membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

Demi kesempurnaan penulisan laporan ini, penulis mengharapkan kritik dan saran yang dapat melengkapi dan menyempurnakan isi tulisan ini.

Mudah-mudahan hasil penelitian ini ada manfaatnya.

Surabaya, Desember 1994

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	v
PENDAHULUAN	
Latar Belakang Masalah	1
Tujuan dan Manfaat Penelitian	2
Rumusan Masalah	3
Hipotesis Penelitian	3
TINJAUAN PUSTAKA	
Egg Drop Syndrome	4
Etiologi	5
Diagnosa	5
Inaktivasi Virus	6
METODE PENELITIAN	
Lokasi dan Waktu Penelitian	8
Teknik Penelitian	8
Tahap pembuatan antigen	8
Tahap pegujian antigen	9
Tahap pengujian stabilitas antigen pada suhu 4°C	10
Rancangan Penelitian dan Analisis Data	10
HASIL DAN PEMBAHASAN	12
KESIMPULAN DAN SARAN	19
Kesimpulan	19
Saran	19
DAFTAR PUSTAKA	20

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
1.	Purata Titer HA (log 2) Antigen EDS'76 Sebelum dan Sesudah Disimpan	14
2.	Hasil Analisis Varian terhadap Titer HA dari Antigen EDS'76	15
3.	Perbedaan Purata Titer HA dari Keenam Kelompok Perlakuan	16

PENDAHULUAN

Latar Belakang Penelitian

Penurunan produksi telur merupakan salah satu kendala yang sering dihadapi oleh peternak ayam, baik peternak ayam pembibit maupun petelur. Penurunan produksi telur ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya adalah penyakit. Dari sekian banyak penyakit, salah satu penyakit yang berpengaruh langsung terhadap jumlah produksi telur adalah *Egg Drop Syndrome '76* (EDS'76). Menurut Van Eck *et al.* (1976), penyakit ini ditandai dengan adanya penurunan produksi telur, kerabang telur menjadi lunak, tidak ada pigmentasi pada kerabang ataupun telur tidak berkerabang.

Melalui pemeriksaan serologik, dengan jalan memeriksa serum-serum ayam, maka adanya infeksi EDS'76 dapat diketahui. Uji hambatan hemaglutinasi (*hemagglutination inhibition*, HI) merupakan salah satu cara pemeriksaan serologik yang sering dilakukan, karena selain mudah dan praktis juga mempunyai nilai keakuratan yang tinggi (Mc. Ferran, 1981). Hanya saja yang menjadi kendala, antigen EDS'76 untuk uji HI tidak mudah diperoleh dipasaran.

Penggunaan antigen EDS'76 untuk uji HI dalam bentuk inaktif tentunya lebih baik, karena lebih aman (dalam hal

kemungkinan penyebaran penyakitnya) serta lebih stabil. Antigen EDS'76 inaktif untuk uji HI telah digunakan oleh Fry-Smith dan Gilchrist (1981) untuk mengetahui adanya antibodi dalam serum kelompok ayam pembibit dan petelur di New South Wales yang mengalami penurunan produksi telur. Demikian juga Kong Y. Sing (1982) menggunakan virus EDS'76 yang diinaktivasi dengan formalin sebagai antigen untuk uji HI dalam pengujian kasus EDS'76 di lapangan. Menurut Mc. Ferran (1980), dalam pembuatan antigen EDS'76 inaktif untuk uji HI, biakan virus EDS'76 pada telur itik berembrio dipanaskan dulu pada 65° C selama 1 jam sebelum diberi formalin.

Sehubungan dengan hal tersebut di atas, maka dalam penelitian ini digunakan pemanasan dan formalin untuk inaktivasi virus dalam pembuatan antigen EDS'76 untuk uji HI.

Tujuan dan Manfaat Penelitian

Penelitian ini bertujuan membuat antigen EDS'76 untuk uji HI yang inaktif dengan cara pemanasan dan pemberian formalin. Disamping itu juga untuk mengetahui stabilitas titer HA dari antigen tersebut setelah disimpan pada suhu 4°C.

Dari hasil penelitian ini diharapkan memperoleh antigen EDS'76 untuk uji HI yang inaktif dengan titer HA yang stabil.

Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka yang menjadi permasalahan adalah:

1. Apakah virus EDS'76 yang telah diinaktivasi dengan pemanasan dan formalin dapat digunakan sebagai antigen untuk uji HI
2. Apakah titer HA dari antigen EDS'76 yang diinaktivasi tetap stabil setelah penyimpanan pada suhu 4°C ?

Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diajukan adalah sebagai berikut:

1. Virus EDS,76 yang telah diinaktivasi dengan pemanasan dan formalin dapat digunakan sebagai antigen untuk uji HI.
2. Titer HA dari antigen EDS'76 yang diinaktivasi tetap stabil setelah penyimpanan pada suhu 4°C.

TINJAUAN PUSTAKA**Egg Drop Syndrome '76**

Sejak pertama kali dilaporkan oleh Van Eck *et al.* (1976), EDS '76 merupakan penyebab utama penurunan produksi telur di berbagai negara di dunia. Kejadian penyakit EDS '76 di Indonesia pertama kali dilaporkan oleh Rumawas pada tahun 1982 dan sekarang sudah sering ditemukan, baik pada peternakan ayam pembibit maupun peternakan ayam petelur.

Gejala klinik yang terlihat tergantung dari status antibodi kelompok ayam. Bila kelompok ayam terinfeksi secara vertikal atau lateral tidak menunjukkan reaktor serologik atau hanya rendah, gejala yang pertama nampak adalah warna telur menjadi pucat, kemudian diikuti dengan kerabang menjadi tipis dan lunak. Bila ayam yang terinfeksi sudah mencapai puncak produksi dapat menyebabkan penurunan produksi sangat cepat. Wabah biasanya berlangsung selama 4-10 minggu, penurunan telur dapat mencapai 40 %. Bila ayam telah mempunyai antibodi perolehan sebelum terinfeksi virus, gejala klinik yang terlihat berbeda. Dalam hal ini produksi telur sulit diramalkan dan permulaan masa bertelur terlambat (Mc Ferran, 1981).

Etiologi

Penyakit EDS'76 disebabkan oleh Avian adenovirus yang dapat mengaglutinasikan darah ayam, itik dan kalkun. Virus EDS'76 berukuran 70-90 nm. Virion terdiri dari asam nukleat DNA beruntai ganda dengan kapsid berbentuk *icosahedral simetri*. Berat molekul partikel virus 20-30 x 10⁶ Dalton (Davies *et al.*, 1980; Gillespie *et al.*, 1981).

Virus EDS'76 tahan terhadap khloroform dan variasi pH antara 3 sampai 10. Virus menjadi inaktif pada pemanasan 60°C selama 30 menit tetapi tahan pada pemanasan 56°C selama 3 jam. Hemaglutinasi virus sangat stabil, dapat tahan lama pada suhu 4°C, tetapi akan rusak pada pemanasan 70°C selama 30 menit (MC Ferran, 1981).

Virus EDS'76 dapat ditumbuhkan pada perbenihan sel fibroblast, hati dan ginjal itik. Virus juga dapat dibiakkan pada telur itik berembrio dan telur angsa berembrio, tetapi tidak pada telur ayam berembrio (Mc Ferran, 1981).

Diagnosa

Diagnosa EDS'76 dapat dipastikan atas dasar isolasi dan identifikasi agen penyebabnya serta uji serologis. Uji hambatan hemaglutinasi (*hemagglutination inhibition*, HI) merupakan salah satu uji serologik yang mudah, praktis dan dapat dipercaya untuk mendeteksi adanya infeksi EDS'76. Untuk uji HI digunakan antigen 4 HA unit dengan

pengenceran serum dimulai dari 1:4, sedangkan konsentrasi darah merah ayam 0,8 % (Mc Ferran, 1980). Menurut Fry Smith and Gilchrist (1981), ayam dengan titer HI \leq 8 dinyatakan negatif.

Pada percobaan infeksi dengan virus EDS'76 menunjukkan bahwa antibodi dapat dideteksi dengan *Fluorescent Antibody Technic* (FAT) tidak langsung dan uji HI dalam waktu 5-6 hari, sedangkan dengan uji serum netralisasi dan double imunodifusi terdeteksi dalam waktu 6-9 hari setelah infeksi. Antibodi mencapai puncaknya dalam waktu 4-5 minggu. Beberapa ayam masih dapat mengekskresi virus EDS'76, meskipun mempunyai titer antibodi HI tinggi (Cook and Darbyshire, 1981).

Inaktivasi virus

Pada pembuatan vaksin inaktif, inaktivasi dapat dilakukan dengan cara: (1) fisik, misalnya dengan pemanasan, penyinaran ultra violet; (2) kimiawi, yaitu dengan penambahan bahan kimia fenol, khloroform, betapropiolakton, formalin dan sebagainya (Buxton and Fraser, 1977). Menurut Mc Ferran (1980), dalam pembuatan antigen EDS'76 inaktif untuk uji HI, biakan virus EDS'76 pada telur itik berembrio dipanaskan dulu pada 65°C selama satu jam sebelum diberi formalin.

Formalin banyak digunakan dalam pembuatan vaksin inaktif karena menginaktifkan virion tanpa mempengaruhi sifat antigeniknya. Kenyataan bahwa formalin bersifat virusidal pada virus yang tidak peka terhadap pH menunjukkan bahwa reaksinya dengan grup nonionik (gugus amino atau ribose dari asam nukleat) dan kecil kemungkinannya untuk bereaksi dengan gugus amino ionik dari protein (Luria and Darnell, 1975).

METODE PENELITIAN**Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Virologi dan Imunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, berlangsung mulai bulan Juli sampai Desember 1994.

Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam tiga tahap, yaitu:

Tahap pembuatan antigen

Seed virus EDS'76 ditumbuhkan pada 60 butir telur itik berembrio umur 10 hari melalui cairan alantois dengan dosis 0,2 ml. Setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama lima hari, cairan alantois dari tiap-tiap telur itik berembrio tersebut diuji dengan *Rapid Hemagglutination Test* (HA) dilanjutkan dengan *Rapid Hemagglutination Inhibition Test* (HI) menggunakan antiserum EDS'76 standard. Cairan alantois yang menunjukkan reaksi positif dikumpulkan, kemudian dipusingkan dengan kecepatan 3.000 rpm selama 10 menit (Mc Ferran, 1980). Selanjutnya cairan alantois dibagi menjadi enam perlakuan dan diproses dengan pemanasan dan formalin (Allan *et al.*, 1973; Mc. Ferran, 1980; Smith and Lauffer, 1963) seperti berikut:

P₀ = cairan alantois tanpa diinaktivasi.

P₁ = cairan alantois diinaktivasi dengan pemanasan 65°C selama satu jam.

P₂ = cairan alantois diinaktivasi dengan formalin 0,1 % pada suhu 37°C selama 16 jam.

P₃ = cairan alantois diinaktivasi dengan pemanasan 65°C selama satu jam kemudian formalin 0,1 % pada 37°C selama 16 jam.

P₄ = cairan alantois diinaktivasi dengan formalin 0,5 % pada suhu 37°C selama tiga jam.

P₅ = cairan alantois diinaktivasi dengan pemanasan 65°C selama satu jam kemudian formalin 0,5 % pada suhu 37°C selama tiga jam.

Tiap perlakuan terdiri dari enam ulangan. Untuk selanjutnya cairan alantois yang telah diproses disebut antigen EDS'76.

Tahap pengujian antigen

Untuk menguji sterilitas dari antigen dilakukan pembiakan pada *Nutrient Agar*. Antigen dinyatakan steril bila tidak terlihat adanya pertumbuhan kuman pada *Nutrient Agar*.

Untuk menguji inaktivitas dari antigen dilakukan pembiakan kembali antigen yang telah diinaktivasi pada telur itik berembrio. Antigen dinyatakan inaktif bila tidak terjadi pertumbuhan virus pada telur itik berembrio tersebut.

Untuk menguji kemampuan antigen dalam mengaglutinasi eritrosit dilakukan uji dengan Rapid HA Test menggunakan eritrosit ayam 10 % dilanjutkan dengan Rapid HI Test menggunakan antiserum EDS'76 standard.

Untuk mengukur titer HA dari antigen dilakukan uji HA mikroteknik menurut metode Mc Ferran, 1980.

Tahap pengujian stabilitas antigen pada suhu 4°C

Dalam tahap ini antigen EDS'76 yang telah dikemas dalam botol-botol kecil disimpan pada suhu 4°C dan selanjutnya dilakukan pengukuran titer HA setiap dua minggu. Penyimpanan dilakukan sampai selama 12 minggu. Setiap kali pengukuran diambil satu botol dari masing-masing ulangan perlakuan.

Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Untuk mengetahui pengaruh inaktivasi dengan formalin dan pemanasan terhadap titer HA dari antigen EDS'76 digunakan rancangan acak kelompok (RAK) dengan pola *split-*

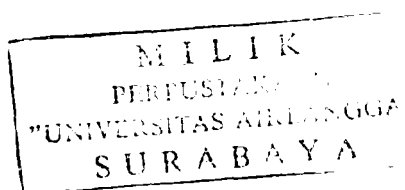
plot. Data yang diperoleh diolah menggunakan metode analisis varian dan dilanjutkan dengan Duncan's Multiple Range Test (Steel and Torrie, 1981).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pembiakan seed virus EDS'76 pada 60 butir telur itik berembrio, semuanya menunjukkan reaksi HA positif dan pengujian HI menggunakan antiserum EDS'76 standard juga menunjukkan reaksi positif. Hal ini membuktikan bahwa cairan alantois dari semua telur itik berembrio yang diinokulasi dengan virus EDS'76 tersebut mengandung virus EDS'76 .

Pengujian sterilitas terhadap setiap perlakuan menunjukkan tidak adanya pertumbuhan kuman pada *Nutrient Agar*. Hal ini menunjukkan bahwa cairan alantois pada setiap perlakuan tidak mengandung kuman.

Pengujian inaktivitas terhadap setiap perlakuan, dengan cara membiakkan kembali cairan alantois yang telah diproses pada 10 butir telur itik berembrio untuk masing-masing perlakuan, menunjukkan bahwa antigen yang telah diinaktivasi (P_1 , P_2 , P_3 , P_4 dan P_5) tidak dapat berkembang biak, sedangkan antigen yang tidak diinaktivasi (P_0) dapat berkembang biak. Hal ini menunjukkan bahwa pemanasan 65°C selama satu jam (P_1), penggunaan formalin 0,1 % pada suhu 37°C selama 16 jam (P_2) dan formalin 0,5 % pada suhu 37°C selama tiga jam (P_4) dapat menginaktivasi virus



EDS'76. Sesuai dengan sifat virus EDS'76, maka pemanasan 65°C selama satu jam dapat menginaktifkan virus EDS'76. Tetapi bila diamati terlihat bahwa antigen yang diinaktivasi dengan pemanasan 65°C selama satu jam, baik kombinasi dengan formalin (P₃ dan P₅) maupun pemanasan saja (P₁) menjadi lebih keruh dibandingkan dengan antigen yang diinaktivasi tanpa pemanasan (P₂ dan P₄). Hal ini kemungkinan karena adanya kerusakan protein dalam cairan alantois, tetapi tidak sampai merusak hemaglutinin virus mengingat antigen masih mampu mengaglutinasikan eritrosit. Hasil penelitian ini sesuai dengan pendapat Mc Ferran (1981) bahwa hemaglutinin akan rusak pada pemanasan 70°C selama 30 menit.

Hasil pengujian terhadap kemampuan antigen untuk mengaglutinasikan eritrosit dengan Rapid HA Test menunjukkan bahwa semua perlakuan baik antigen yang telah diinaktivasi maupun tidak diinaktivasi mampu mengaglutinasikan eritrosit ayam. Demikian juga hasil Rapid HI Test menunjukkan bahwa antigen dari semua perlakuan mampu dihambat oleh antiserum EDS'76 standard.

Hasil pengukuran titer HA (log 2) terhadap antigen EDS'76 dengan uji HA mikroteknik menurut metode Mc Ferran (1980) dapat dilihat pada Tabel 1, 2 dan 3.



Tabel 1. Purata Titer HA (log 2) Antigen EDS '76 Sebelum dan Sesudah Disimpan

Minggu	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅
0	5,00±0,00	4,17±0,69	4,83±0,37	4,00±0,58	4,83±0,37	4,00±0,90
II	5,00±0,00	4,00±0,58	4,83±0,37	4,00±0,58	4,00±0,58	3,00±0,58
IV	5,00±0,00	4,00±0,58	4,83±0,37	3,87±0,68	3,67±0,47	2,83±0,37
VI	4,83±0,37	3,83±0,37	4,67±0,47	3,67±0,47	1,33±0,47	1,17±0,37
VIII	4,67±0,47	3,67±0,47	3,67±0,47	3,17±0,37	0	0
X	4,33±0,47	2,67±0,47	3,17±0,37	3,00±0,58	0	0
XII	3,67±0,47	2,33±0,47	3,00±0,58	2,17±0,37	0	0

Keterangan :

Minggu 0 = Sebelum disimpan.

P₀ = cairan alantois tanpa diinaktivasi.

P₁ = cairan alantois diinaktivasi dengan pemanasan 65°C selama satu jam.

P₂ = cairan alantois diinaktivasi dengan formalin 0,1 % pada suhu 37°C selama 16 jam.

P₃ = cairan alantois diinaktivasi dengan pemanasan 65°C selama satu jam kemudian formalin 0,1 % pada 37°C selama 16 jam.

P₄ = cairan alantois diinaktivasi dengan formalin 0,5 % pada suhu 37°C selama tiga jam.

P₅ = cairan alantois diinaktivasi dengan pemanasan 65°C selama satu jam kemudian formalin 0,5 % pada suhu 37°C selama tiga jam.

Pada Tabel 1 tampak bahwa sebelum mengalami penyimpanan antigen EDS '76 yang diproses dengan inaktivasi pemanasan dan formalin (P₃ dan P₅) mempunyai titer HA lebih rendah, sedangkan antigen yang diinaktivasi dengan formalin saja (P₂ dan P₄) maupun pemanasan saja (P₁) masih lebih tinggi. Hal ini kemungkinan karena lebih banyak hemagglutinin yang rusak akibat pengaruh formalin dan pemanasan, sehingga mengakibatkan titer HA lebih rendah. Pada Tabel 1 juga terlihat bahwa antigen EDS yang diinaktivasi dengan formalin 0,5 % baik tanpa pemanasan maupun dengan pemanasan (P₄ dan P₅) menunjukkan titer HA : 0 setelah disimpan lebih dari 6 minggu.

Tabel 2. Hasil Analisis Varian terhadap Titer HA dari Antigen EDS '76

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung
Lama penyimpanan	6	36,6289	6,1048	4,2751 *
Formalin (A)	2	45,6624	22,8312	15,9882 **
Sisa	12	17,1362	1,4288	-
Total (1)	20	99,4275		
Pemanasan (B)	1	6,9703	6,9703	124,1866 **
Interaksi (AxB)	2	0,9526	0,4763	8,4860 **
Sisa	18	1,0103	0,0561	-
Total (2)	41	108,3607		



0010
11

Dari hasil analisis varian (Tabel 2), didapatkan bahwa lama penyimpanan berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap titer HA, sedangkan inaktivasi dengan formalin maupun pemanasan berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap titer HA. Dari tabel ini juga terlihat adanya interaksi antara formalin dan pemanasan maupun terhadap lama penyimpanan.

Tabel 3. Perbedaan Purata Titer HA dari Keenam Kelompok Perlakuan

A. Interaksi formalin (A, %) x Pemanasan (B, °C)	Jumlah Pengamatan	Jumlah (log 2)	Purata
1. A ₀ , B ₀ (P ₀)	7	32,5	4,643 ^a
2. A _{0,1} , B ₀ (P ₂)	7	30,33	4,3329 ^b
3. A ₀ , B ₆₅ (P ₁)	7	24,67	3,5243 ^c
4. A _{0,1} , B ₆₅ (P ₃)	7	23,88	3,4114 ^c
5. A _{0,5} , B ₀ (P ₄)	7	13,83	1,9757 ^d
6. A _{0,5} , B ₆₅ (P ₅)	7	11,00	1,5714 ^e
B. Lama Penyimpanan			
1. 0	6	26,83	4,4700 ^a
2. II	6	24,83	4,1380 ^{ab}
3. IV	6	24,20	4,0330 ^{ab}
4. VI	6	19,50	3,2500 ^{abc}
5. VIII	6	16,01	2,6680 ^{bc}
6. X	6	13,67	2,2780 ^c
7. XII	6	11,17	1,8620 ^c

