

1. VETERINARY MEDICINE
2. VACCINES

IR - Perpustakaan Universitas Airlangga

KK I

KK
636 089 537 2
Pen

Departemen Pendidikan Dan Kebudayaan
Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi
Universitas Airlangga

**PENGARUH LAMA PENYIMPANAN VAKSIN
NEWCASTLE DISEASE DALAM BATANG PISANG
TERHADAP UJI KANDUNGAN VIRUS**

Ketua Peneliti :

drh. Suwarno

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

MILIK
PERPUSTAKAAN
"UNIVERSITAS AIRLANGGA"
SURABAYA



SELESAI

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Oleh : DIP/OPF Unair 1992/1993

SK. Rektor Nomor : 5186/PT.03.H/N/1992

Nomor Urut : 122

DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA

LEMBAGA PENELITIAN

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

IDENTITAS DAN PENGESAHAN

LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

1. a. Judul Penelitian : "Pengaruh Lama Penyimpanan Vaksin Newcastle Disease Dalam Batang Pisang Terhadap Uji Kandungan Virus"
- b. Macam Penelitian : () Fundamental, () Terapan, (v) Pengembangan
2. Kepala Proyek Penelitian :
 - a. Nama Lengkap Dengan Gelar : Drh. Suwarno
 - b. Jenis Kelamin : laki-laki
 - c. Pangkat/Golongan dan NIP : Penata Muda/III-A/131 836 994
 - d. Jabatan Sekarang : Staf Pengajar
 - e. Fakultas / Jurusan : Kedokteran Hewan/Ilmu Penyakit Hewan&Kes.Masy.Ve
 - f. Univ./Inst./Akademi : Universitas Airlangga
 - g. Bidang Ilmu Yang Diteliti :
3. Jumlah Tim Peneliti : 5 orang
4. Lokasi Penelitian : Fakultas Kedokteran Hewan Unair
5. Bila penelitian ini merupakan peningkatan kerjasama kelembagaan, sebutkan :
 - a. Nama Instansi : -
 - b. Alamat : -
6. Jangka Waktu Penelitian : 5 Bulan
7. Biaya Yang Diperlukan : Rp 1.500.000.-
8. Hasil Penilaian : () Baik Sekali, () Baik, (v) Sedang,
() Kurang

Mengetahui / Mengesahkan :

n.n. Rektor

Ketua Lembaga Penelitian,



Prof. Dr. dr. Soedijono

NIP 130261504

PENGARUH LAMA PENYIMPANAN VAKSIN NEWCASTLE DISEASE
DALAM BATANG PISANG TERHADAP UJI KANDUNGAN VIRUS

Tim Peneliti :

Drh. Suwarno

Ir. Wahyu Tjahjaningsih

Drh. Nanik Sianita, SU.

Drh. Rahaju Ernawati, MSc.

Drh. Jola Rahmahani

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
Jl. Darmawangsa Dalam 2 Telp. (031) 42322
S U R A B A Y A

KATA PENGANTAR

Syukur alhamdulillah Penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT. atas segala rahmad dan hidayahNya, sehingga penelitian ini dapat selesai dengan baik.

Dalam penelitian ini sedikit dibahas mengenai vaksin ND (Newcastle Disease) yang disimpan pada batang pisang dalam upaya mencari cara penyimpanan vaksin yang lebih murah dan sederhana, terutama bagi masyarakat pedesaan yang jauh dari sarana transportasi dan perlistrikan. Meskipun sebenarnya vaksin ND hanya layak disimpan pada suhu di bawah 0° C, tetapi setidaknya-tidaknya penyimpanan dalam batang pisang masih dapat dilakukan dalam waktu yang tidak terlalu lama. Oleh karena itu, semoga penelitian ini dapat bermanfaat, khususnya bagi peternak yang berada di daerah-daerah terpencil.

Pada kesempatan ini Penulis sampaikan ucapan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu, sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan lancar dan tepat waktu.

Akhirnya kritik dan saran Penulis harapkan demi kesempurnaan dari tulisan ini.

Surabaya, Januari 1993

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	ii
DAFTAR LAMPIRAN	iii
PENDAHULUAN	1
Latar Belakang Penelitian	1
Perumusan Masalah	2
Tujuan Penelitian	3
Manfaat Penelitian	3
TINJAUAN PUSTAKA	4
Virus Newcastle Disease	4
Vaksin Newcastle Disease	8
METODE PENELITIAN	9
Waktu Dan Tempat Penelitian	9
Prosedur Penelitian	9
Jenis Penelitian	10
HASIL DAN PEMBAHASAN	11
KESIMPULAN DAN SARAN	14
Kesimpulan	14
Saran	14
DAFTAR PUSTAKA	15
LAMPIRAN	16

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Uji Kandungan Virus Vaksin ND Hitchner B ₁ Dalam Satuan EID ₅₀	17
2. Hasil Uji Kandungan Virus Vaksin ND LaSota Dalam Satuan EID ₅₀	18
3. Hasil Uji Kandungan Virus Vaksin ND Komarov Dalam Satuan EID ₅₀	19

PENDAHULUAN

Latar Belakang PenelitianVaksinasi Penyakit Tetelo (Newcastle Disease, ND)

terhadap ternak ayam sudah merupakan kegiatan rutin yang harus dilakukan secara teratur, mengingat wabah ND dapat muncul sepanjang tahun. Sampai saat inipun belum ada cara yang lebih efektif untuk menanggulangi wabah selain dengan vaksinasi.

Vaksinasi ND hanya akan berhasil dengan baik apabila dilakukan dengan teknik yang benar dan teratur sesuai anjuran pabrik pembuat vaksin. Namun ada kalanya keberhasilan vaksinasi tidak hanya ditentukan oleh kualitas vaksin, tetapi juga oleh faktor lain, seperti transportasi, cara dan lama penyimpanan, aplikasi vaksin dan respon ayam yang divaksin itu sendiri.

Seringkali vaksin yang dipakai sudah tidak memenuhi persyaratan lagi, baik mengenai jumlah kandungan virus maupun daya antigenitasnya, sehingga vaksin tidak mampu menggerak sistem kekebalan. Dari faktor tadi, tampaknya cara dan lama penyimpanan vaksin memegang peran penting di dalam menentukan keberhasilan program vaksinasi. Oleh karena itu, bagi daerah terpencil yang jauh dari sarana transportasi dan perlistrikan, masalah vaksinasi merupakan kendala yang perlu dicarikan jalan keluarnya mengingat masih banyaknya peternak yang belum memiliki tempat penyimpan vaksin (kulkas).

Menanggapi hal ini, maka diperlukan suatu alternatif lain untuk dapat menghilangkan kendala yang ada. Pohon pisang yang

banyak tumbuh di daerah pedesaan, tampaknya merupakan suatu alternatif yang dapat diajukan dalam hal penyimpanan vaksin secara sederhana. Hal ini mengingat pohon pisang mempunyai suhu dan kelembaban yang cukup stabil, terutama pada bagian batangnya, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai tempat penyimpan vaksin.

Perumusan Masalah

Cara dan lama penyimpanan vaksin aktif akan sangat berpengaruh terhadap reaktivitas virus. Dalam hal ini cara penyimpanan yang salah maupun terlalu lama penyimpanan, menyebabkan jumlah kandungan virus menurun sehingga daya antigenitas untuk menimbulkan kekebalan juga berkurang. Seperti diketahui untuk vaksin ND strain lentogenik setiap dosisnya sekurang-kurangnya harus mengandung $10^{6,5} - 7$ EID₅₀, sedangkan untuk strain mesogenik adalah 10^5 ELD₅₀ (Buxton dan Fraser, 1977 ; Allan *et al.*, 1978). Bila persyaratan tadi tidak terpenuhi, secara otomatis vaksinasi yang dilakukan tidak akan berhasil.

Keberhasilan vaksinasi ND dapat dilihat berdasar hasil pemeriksaan antiserum dengan uji hambatan hemaglutinasi (HI). Sekelompok ayam dapat terhindar dari serangan virus ND apabila memiliki titer HI sekurang-kurangnya 2^5 . Hal ini antara lain hanya dapat dicapai jika vaksin yang digunakan memiliki persyaratan tadi.

Mengingat batang pohon pisang memiliki suhu relatif tinggi dibanding suhu kulkas dan lebih rendah daripada suhu

kamar, maka memungkinkan untuk dapat dimanfaatkan sebagai tempat penyimpan vaksin. Untuk membuktikan, bahwa batang pisang dapat dimanfaatkan sebagai tempat penyimpan vaksin, maka terdapat 2 hal permasalahan yang perlu diangkat dalam penelitian ini, yaitu :

1. Dapatkah pohon pisang digunakan sebagai tempat penyimpan vaksin ?
2. Sampai seberapa lamakah penyimpanan vaksin dalam batang pisang masih mampu memenuhi persyaratan yang ditetapkan ?

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui baik / tidaknya penggunaan pohon pisang sebagai tempat penyimpan vaksin dan untuk mengetahui sampai seberapa lama vaksin ND mampu bertahan seperti persyaratan yang ditetapkan.

Manfaat Penelitian

Para petani peternak yang berada di pedesaan, khususnya bagi daerah-daerah terpencil yang belum terjangkau sarana perlistrikan dan transportasi, untuk dapatnya memanfaatkan hasil penelitian ini.

TINJAUAN PUSTAKA

Virus Newcastle Disease1. Ukuran, Bentuk Dan Susunan Virus

Virus ND mempunyai ukuran 100 - 600 nm tetapi yang sering terlihat adalah 150 - 200 nm. Virus berbentuk sferik , memanjang ataupun pleomorfik dengan berat molekul partikel $6 - 7 \times 10^8$ dalton. Komposisi virus terdiri asam inti ribo (RNA) 0,91 %, protein 73 %, lipid 20 % dan karbohidrat 6,1 % (Sardjono, 1993).

Pada bagian dalam virus diketahui sebagai nukleoprotein (NP), di mana protein NP dengan RNA membentuk nukleokapsid yang bersimetri helikal atau spiral yang berputar ke kiri. Nukleokapsid selain tersusun dari 15.000 nukleotida, juga diperkirakan tersusun dari 2.200 - 2.600 subunit protein NP. Pada nukleokapsid berasosiasi phosphoprotein virus (P) dan protein virus yang besar (L) (Sardjono, 1993).

Pada bagian amplop terdiri 2 lapis lipid yang berasal dari membran sel, terdapat tonjolan (spike) dengan panjang 8 nm dan jarak antar tonjolan 10 nm. Tonjolan ini merupakan glikoprotein HN (hemaglutinin dan neuramidase), berguna untuk merangsang hospes menghasilkan antibodi haemagglutination inhibition, dan F (fusi), berfungsi untuk memfusikan amplop virus dan membran sel. Di bagian dalam amplop terdapat protein M, yang diduga berfungsi untuk memperkuat amplop virus. Protein M ini di bagian dalam lagi dapat berasosiasi dengan NP virus (Sardjono, 1993).

2. Resistensi Virus

Stabilitas virus ND dapat diukur berdasar kesanggupan virus untuk menginfeksi hospes, mengaglutinasikan sel darah merah dan merangsang respon imun. Stabilitas ini dapat dirusak oleh perlakuan fisik maupun kimiawi, seperti panas, cahaya, sinar ultraviolet, sinar-x, proses oksidasi, perubahan pH dan bahan-bahan kimia. Tingkat reaktivitas virus juga bervariasi di antara strain, tergantung pada lama waktu perlakuan, jumlah virus yang terlindung, keadaan media alami dan interaksi di antara variable perlakuan (Beard dan Hanson, 1984).

3. Resistensi Secara Fisik

Virus ND sangat peka terhadap panas. Virus segera rusak pada suhu 100°C selama 1 menit, 55°C selama 45 menit, oleh sinar matahari selama 30 menit, 4°C selama beberapa hari, -20°C dalam beberapa minggu dan pada -70°C tahan dari beberapa bulan sampai tahun (Brunner dan Gillespie, 1973 ; Buxton dan Fraser, 1977).

Menurut Beard dan Hanson (1984), suhu 56°C dalam waktu 5 - 6 jam dapat merusak daya infektivitas, hemaglutinasi dan imunogenitas. Stabilitas virus juga banyak ditentukan oleh konsentrasi ion hidrogen tetapi relatif stabil pada kisaran pH 2 - 10.

4. Resistensi Secara Kimiawi

Pengaruh bahan-bahan kimia, seperti natrium karbonat dan natrium hidroksida sangat bervariasi, tetapi deterjen dapat menginaktifkan semua strain virus. Lisol, fenol dan kresol

pada konsentrasi 2 - 3 % dapat menginaktifkan virus secara langsung, tetapi tidak terhadap virus yang berada dalam jaringan, hasil sekresi tubuh, feses atau materi organik lainnya (Buxton dan Fraser, 1977). Formalin, betapropiolakton dan fenol pada konsentrasi tertentu dapat digunakan untuk menginaktifkan virus tanpa merusak daya imunogenitas virus (Beard dan Hanson, 1984).

5. Hemaglutinasi Dan Hemolisis

Virus ND dapat mengaglutinasikan sel darah merah dari semua golongan reptilia, amfibi dan unggas sampai pada derajat tertentu, tetapi sel darah merah dari beberapa mamalia tidak diaglutinasikan. Sel darah merah manusia, tikus dan marmot dapat diaglutinasikan oleh semua strain, tetapi sel darah merah sapi, kambing, domba, babi dan kuda hanya dapat diaglutinasi oleh beberapa strain. Kepekaan sel darah merah yang diaglutinasikan ini sangat bergantung pada konsentrasi ion garam dan pH larutan pengencer. Beberapa strain masih mampu mengaglutinasikan sel darah merah, meskipun virus telah dipanasi pada 56° C selama 180 - 240 menit (Beard dan Hanson, 1984 ; Santhia, 1984). Proses hemaglutinasi paling bagus terjadi pada suhu 4° C karena pada temperatur tinggi cepat terjadi elusi (Buxton dan Fraser, 1977).

Selain dapat mengaglutinasi, virus ND juga dapat menghemolisis sel darah merah. Aktivitas menghemolisis sel darah merah dari virus ND ini dapat dipertinggi bila virus dicair-bekukan (freezing dan thawing), dialisis, vibrasi sonik

dan osmotic shock. Reaksi ini juga dipengaruhi oleh pH, suhu dan konsentrasi garam (Beard dan Hanson, 1984 ; Santhia, 1984).

6. Media Tumbuh Virus

Selain menginfeksi host aslinya (unggas), secara buatan virus ND dapat juga menyebabkan kelainan pada hewan percobaan, seperti mencit, tikus dan kelinci. Kelainan tersebut disebabkan adanya toksin yang dihasilkan oleh virus ND (Beard dan Hanson, 1984).

Virus ND dapat ditumbuhkan pada telur ayam bertunas (TAB) umur 10 - 12 hari, dengan inokulasi melalui cairan alantois, selaput korioalantois, kantong kuning telur ataupun secara intravena. Penentuan terhadap virulensi virus didasarkan atas lama waktu yang dibutuhkan untuk membunuh embrio. Strain lentogenik dapat mematikan embrio dalam waktu lebih dari 100 jam, sedangkan strain velogenik dan mesogenik kurang dari 70 jam (Anonimus, 1971 ; Allan et al., 1978).

Pada biakan jaringan, virus tumbuh baik pada sel selapis (monolayer) dari fibroblas dan ginjal embrio ayam serta ginjal anak hamster (BHK); maupun pada sel penerus (continuous cell line) dari ginjal kelinci, babi, anak sapi dan kera serta jaringan ayam dan sel HeLa. Pada biakan sel fibroblas embrio ayam, strain velogenik dan mesogenik menghasilkan efek sitopatik (CPE) dan membentuk plaque, sedangkan strain lentogenik hanya mampu memproduksi CPE tetapi gagal membentuk plaque (Anonimus, 1971 ; Buxton dan Fraser, 1977 ; Beard dan Hanson, 1984).

METODE PENELITIAN

Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Lab. Virologi dan Imunologi, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Penelitian berlangsung selama 3 bulan, mulai September hingga Desember 1992.

Prosedur Penelitian

Dalam penelitian ini digunakan vaksin ND dari 3 strain, yakni Hitchner B₁ dan LaSota (lentogenik) serta Komarov (mesogenik), masing-masing strain sebanyak 15 vial semuanya dalam bentuk vaksin aktif. Vaksin diambil langsung dari pabrik pembuat atau distributor dalam nomor bath yang sama dari suatu seri pembuatan. Vaksin ini kemudian disimpan pada bagian batang dari pohon pisang dengan membagi secara acak ke-45 vial vaksin dari 3 strain ke dalam 3 pohon. Penyimpanan dilakukan dengan cara membuat "jendela-jendela" kecil pada batang pisang. Banyak jendela adalah 5 buah per pohon, disesuaikan dengan lama penyimpanan, yakni 0, 2, 4, 6 dan 8 minggu. Jendela kemudian ditutup kembali dengan bekas irisan batang, selanjutnya setiap pohon diselubungi dengan plastik dan dikkat rapat. Setiap kali pemeriksaan, ke-3 strain vaksin diambil dari 1 jendela per pohon, sehingga didapatkan 9 vial vaksin.

Pemeriksaan terhadap kandungan virus vaksin dilakukan dengan cara titrasi pada telur ayam berembrio (TAB). Setiap vial vaksin dititrasi pada 25 butir TAB yang dibagi menjadi

Pada tabel tersebut terlihat, titer vaksin ND sebelum penelitian (penyimpanan 0 minggu) berkisar antara $10^{6,67}$ - $10^{6,83}$ EID₅₀ per dosis untuk strain Hitchner B₁ (lentogenik), $10^{7,00}$ - $10^{7,17}$ EID₅₀ per dosis untuk strain LaSota (lentogenik) dan $10^{4,83}$ - $10^{5,00}$ ELD₅₀ per dosis untuk strain Komarov (mesogenik). Ini berarti, keseluruhan vaksin ND yang diuji sebelum penyimpanan dimulai, semuanya masih memenuhi persyaratan yang ditetapkan, yaitu $10^{6,5}$ - 10^7 EID₅₀ untuk strain lentogenik dan 10^5 ELD₅₀ per dosis untuk strain mesogenik.

Setelah masa penyimpanan 0, 2, 4, 6 dan 8 minggu, semua titer vaksin menjadi turun masing-masing dari $10^{6,73}$ menjadi $10^{6,50}$, $10^{6,11}$, $10^{5,47}$ dan $10^{4,71}$ EID₅₀ per dosis untuk strain Hitchner B₁ dengan derajat penurunan $10^{0,40}$ EID₅₀ per dosis setiap kali pemeriksaan. Strain LaSota mengalami penurunan dari $10^{7,11}$ menjadi $10^{6,87}$, $10^{6,71}$, $10^{6,34}$ dan $10^{5,89}$ EID₅₀ per dosis dengan derajat penurunan sekitar $10^{0,24}$ EID₅₀ setiap 2 minggu sekali. Demikian pula strain Komarov turun dari $10^{4,94}$ menjadi $10^{4,44}$, $10^{3,91}$, $10^{3,61}$ dan $10^{2,87}$ ELD₅₀ per dosis dengan derajat penurunan $10^{0,41}$ ELD₅₀ setiap 2 minggu sekali. Dari data tersebut dapat disimpulkan, bahwa vaksin ND strain Hitchner B₁ masih bisa bertahan dalam batang pisang selama 2 minggu penyimpanan; strain LaSota bertahan selama 4 minggu penyimpanan; sedang strain Komarov relatif tidak dapat disimpan dalam batang pisang.

Penurunan terhadap titer virus vaksin terjadi karena pengaruh suhu dan kelembaban, sehingga reaktivitas virus pada pembiakan dalam TAB juga berkurang. Hal ini terlihat dari tingginya rataan derajat penurunan titer virus, di mana hanya dalam waktu 0 - 4 minggu penyimpanan vaksin sudah tidak memenuhi persyaratan. Selama 4 minggu penelitian telah terjadi penurunan titer sebesar $10^{0,40} - 10^{0,62}$ EID₅₀ per dosis vaksin untuk strain Hitchner B₁ dan LaSota, serta $10^{1,03}$ ELD₅₀ untuk strain Komarov. Hasil ini sesuai dengan pernyataan dari Allan et al. (1978), bahwa pada suhu penyimpanan 4° C selama setahun dapat menurunkan titer virus vaksin ND sebesar $10^{0,5}$ EID₅₀, sedangkan pada suhu 37° C dapat meningkatkan penurunan sebesar $10^{1,0}$ EID₅₀ hanya dalam beberapa hari.

Menurut Brunner dan Gillespie (1973), virus ND mampu bertahan selama 30 - 120 hari pada suhu 25° C, tetapi pada suhu 37° C hanya tahan selama 6 - 15 hari. Penelitian serupa juga dilaporkan oleh Tanwani et al. (1981), bahwa kestabilan virus ND strain CDF-66 pada 25° C berlangsung selama 5 minggu dan pada 37° C berlangsung selama 20 hari. Strain virus ND mempunyai kestabilan yang berbeda dan di antara ke-3 strain yang paling stabil adalah strain LaSota (Sardjono, 1993).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil uji kandungan virus terhadap vaksin ND selama penelitian, maka dapat disimpulkan :

1. Pohon pisang dapat dimanfaatkan sebagai sarana tempat penyimpanan vaksin ND secara sederhana dalam waktu yang relatif singkat.
2. Lama penyimpanan vaksin ND dalam batang pisang tergantung dari strain yang digunakan, yaitu 2 minggu untuk strain Hitchner B₁ , 4 minggu untuk strain LaSota dan 0 minggu untuk strain Komarov.

Saran

Atas dasar hasil penelitian ini dapat disarankan, bahwa untuk lebih memastikan hasil yang diperoleh perlu diadakan penelitian lebih lanjut dengan menguji vaksin yang telah disimpan dalam batang pisang untuk diuji-cobakan pada ayam.

DAFTAR PUSTAKA

- Allan, W.H., J.E. Lancaster and B. Toth. 1978. Newcastle Disease Vaccines. Their production and use. FAO Misc. Publ. Roma.
- Anonimus. 1971. Methods for examining poultry biologics and for identifying and quantifying avian pathogens. National Academy of Sciences, Washington, D.C.
- Beard, C.W. and R.P. Hanson. 1984. Newcastle Disease. In : Diseases of Poultry. 8th ed. Iowa States University Press, Ames, Iowa, USA. 452 - 470.
- Brunner, D.W. and J.H. Gillespie. 1973. Newcastle Disease. Hagan's Infectious Diseases of Domestic Animals. 6th ed. Comstock Publishing Associates, Cornell University Press, Ithaca, New York. 1063 - 1071.
- Buxton, A. and G. Fraser. 1977. Animal Microbiology. Vol. 2. Rickettsias and Viruses. Blackwell Scientific Publ. Ltd. 522 - 527
- Santhia, K.A.P. 1984. Penyakit Viral Pada Unggas. Balai Penyidikan Penyakit Hewan Wilayah VI, Denpasar, Bali. 32 - 43.
- Sardjono, B. 1993. Virus Patogen Hewan. Kursus Singkat Virologi, PAU-Bioteknologi- UGM, Yogyakarta. 4 Januari - 3 Februari.
- Tanwani, S.K., S.P. Sinnha and B.S. Malik. 1981. Further studies an Ranikhet Disease virus strain CDF 66. II. Viability at various temperature and excretion of virus from inoculated birds. Ind. J. of Animal Health. 20 : 119 - 122.

L A M P I R A N

Lampiran 1. Hasil Uji Kandungan Virus Vaksin ND Hitchner B₁
 Dalam Satuan EID₅₀

Lama penyimpanan (minggu)	Ulangan	Pengenceran					Titer per dosis (log 10)	Rataan
		10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹		
0	1	5/5*	5/5	3/5	2/5	1/5	6,67	6,73
	2	5/5	4/5	4/5	2/5	1/5	6,69	
	3	5/5	5/5	3/5	2/5	2/5	6,83	
2	1	5/5	4/5	3/5	2/5	1/5	6,50	6,50
	2	5/5	4/5	4/5	2/5	0/5	6,54	
	3	5/5	5/5	3/5	1/5	1/5	6,46	
4	1	4/5	4/5	3/5	2/5	0/5	6,17	6,11
	2	5/5	4/5	2/5	2/5	0/5	6,00	
	3	5/5	4/5	3/5	1/5	0/5	6,16	
6	1	4/5	3/5	2/5	1/5	0/5	5,50	5,47
	2	4/5	4/5	2/5	0/5	0/5	5,54	
	3	3/5	3/5	3/5	0/5	0/5	5,38	
8	1	4/5	2/5	0/5	0/5	0/5	4,68	4,71
	2	3/5	2/5	0/5	0/5	0/5	4,78	
	3	4/5	2/5	0/5	0/5	0/5	4,68	

* Jumlah uji HA positif / Jumlah TAB yang diinokulasi virus

Lampiran 2. Hasil Uji Kandungan Virus Vaksin ND LaSota Dalam Satuan EID₅₀

Lama Penyimpanan (minggu)	Ulangan	Pengenceran					Titer per dosis (log 10)	Rataan
		10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹		
0	1	5/5*	5/5	4/5	3/5	1/5	7,16	7,11
	2	5/5	5/5	3/5	3/5	2/5	7,17	
	3	5/5	4/5	3/5	3/5	3/5	7,00	
2	1	5/5	4/5	4/5	3/5	1/5	7,00	6,87
	2	5/5	4/5	4/5	2/5	2/5	6,84	
	3	5/5	4/5	3/5	3/5	1/5	6,78	
4	1	5/5	4/5	3/5	3/5	1/5	6,78	6,71
	2	5/5	4/5	4/5	3/5	0/5	6,80	
	3	5/5	4/5	4/5	2/5	0/5	6,54	
6	1	5/5	4/5	3/5	2/5	0/5	6,33	6,34
	2	5/5	4/5	4/5	1/5	0/5	6,38	
	3	5/5	4/5	3/5	1/5	1/5	6,31	
8	1	4/5	4/5	3/5	1/5	0/5	6,00	5,89
	2	5/5	4/5	2/5	2/5	0/5	6,00	
	3	5/5	3/5	2/5	1/5	0/5	5,67	

* Jumlah uji HA positif / Jumlah TAB yang diinokulasi virus

Lampiran 3. Hasil Uji Kandungan Virus Vaksin ND Komarov Dalam Satuan ELD₅₀

Lama penyimpanan (minggu)	Ulangan	Penggenceran					Titer per dosis (log 10)	Rataan
		10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶		
0	1	5/5*	5/5	5/5	4/5	3/5	5,50	4,94
	2	5/5	5/5	5/5	5/5	2/5	4,83	
	3	5/5	5/5	5/5	4/5	3/5	5,00	
2	1	5/5	5/5	5/5	3/5	1/5	4,32	4,44
	2	5/5	5/5	4/5	4/5	1/5	4,37	
	3	5/5	4/5	4/5	4/5	3/5	4,62	
4	1	5/5	5/5	4/5	2/5	1/5	3,74	3,91
	2	5/5	5/5	4/5	3/5	0/5	4,00	
	3	5/5	4/5	4/5	3/5	1/5	4,00	
6	1	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5	3,63	3,61
	2	5/5	5/5	3/5	3/5	0/5	3,50	
	3	5/5	4/5	4/5	2/5	1/5	3,69	
8	1	4/5	4/5	3/5	0/5	0/5	2,80	2,87
	2	5/5	3/5	2/5	2/5	0/5	2,83	
	3	5/5	4/5	2/5	2/5	0/5	3,00	

* Jumlah TAB yang mati / Jumlah TAB yang diinokulasi virus