

**PAMERAN**

**SELESAI**



LAPORAN PENELITIAN  
ILMU PENGETAHUAN DASAR  
TAHUN ANGGARAN 1999/2000

## **REKAYASA VAKSIN INAKTIF EGG DROP SYNDROME 1976 (EDS'76) JENIS POLIVALEN**

MILIK  
PEPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

**Peneliti :**

**HANA ELIYANI  
HERAWATI SETYANINGSIH**

### **LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Dibiayai oleh : Proyek Pengkajian dan Penelitian Ilmu Pengetahuan Dasar  
DIP Nomor : 015 /XXIII/4/--/1999 Tanggal 1 April 1999  
Kontrak Nomor : 019/P2IPD/DPPM/VI/19991999  
Ditbinlitabmas, Ditjen Dikti, Depdikbud  
Nomor Urut : 1

**PUSAT PENELITIAN PENGEMBANGAN GIZI  
LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Januari, 2000

3000 14500 3141

IR - Pepustakaan Universitas Airlangga





LAPORAN PENELITIAN  
ILMU PENGETAHUAN DASAR  
TAHUN ANGGARAN 1999/2000

KKC

KK

636-089 6925

Eli

r-1

## REKAYASA VAKSIN INAKTIF EGG DROP SYNDROME 1976 (EDS'76) JENIS POLIVALEN



Peneliti :

HANA ELIYANI  
HERAWATI SETYANINGSIH

### LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh : Proyek Pengkajian dan Penelitian Ilmu Pengetahuan Dasar  
DIP Nomor : 015 /XXIII/4/--/1999 Tanggal 1 April 1999  
Kontrak Nomor : 019/P2IPD/DPPM/VI/19991999  
Ditbinlitabmas, Ditjen Dikti, Depdikbud  
Nomor Urut : 1

3000 145 003141

PUSAT PENELITIAN PENGEMBANGAN GIZI  
LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Januari, 2000





# UNIVERSITAS AIRLANGGA LEMBAGA PENELITIAN

- |                                      |                                       |                                                  |
|--------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------------------|
| 1. Puslit Pembangunan Regional       | 5. Puslit Pengembangan Gizi (5995720) | 9. Puslit Kependudukan dan Pembangunan (5995719) |
| 2. Puslit Obat Tradisional           | 6. Puslit/Studi Wanita (5995722)      | 10. Puslit / Kesehatan Reproduksi                |
| 3. Puslit Pengembangan Hukum         | 7. Puslit Olahraga                    |                                                  |
| 4. Puslit Lingkungan Hidup (5995718) | 8. Puslit Bioenergi                   |                                                  |

Kampus C, Jl. Mulyorejo Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247 Fax. (031) 5995246, Surabaya 60115

## IDENTITAS DAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

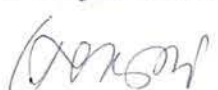
1. a. Judul Penelitian : Rekayasa Vaksin Inaktif Egg Drop Syndrome 1976 (EDS'76) Jenis Polivalen  
b. Macam Penelitian : (V) Fundamental ( ) Terapan ( ) Pengembangan  
c. Kategori Penelitian : I / II / III
2. Kepala Proyek Penelitian  
a. Nama Lengkap Dengan Gelar : Drh. Hana Eliyani, M.Kes.  
b. Jenis Kelamin : Perempuan  
c. Pangkat/Golongan dan NIP : Penata Tk I / IIIId / 131 475 862  
d. Jabatan Sekarang : Lektor Madya  
e. Fakultas/Jurusan : Kedokteran Hewan/Klinik Veteriner  
f. Univ/Inst/Akademi : Universitas Airlangga  
g. Bidang Ilmu Yang Diteliti : Ilmu Pertanian
3. Jumlah Tim Peneliti : 2 orang
4. Lokasi Penelitian : Pusvetma, Surabaya
5. Kerjasama dengan Instansi lain  
a. Nama Instansi : -  
b. Alamat : -
6. Jangka Waktu Penelitian : 5 bulan
7. Biaya Yang Diperlukan : Rp. 13.000.000,00;
8. Seminar Hasil Penelitian  
a. Dilaksanakan Tanggal : 5 Januari 2000  
b. Hasil Penilaian : ( ) Amat baik ( V ) Baik  
( ) Sedang ( ) Kurang

SELESAI

Mengetahui  
Kapuslit Pengembangan Gizi

Dr. H. Boerhan Hidayat, dr.  
NIP. 130 350 723

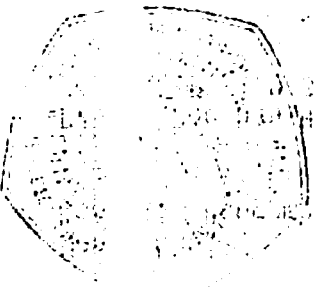
Surabaya, 17 Januari 2000  
Kepala Proyek Penelitian

  
Drh. Hana Eliyani, M.Kes.  
NIP. 131 475 862

Mengetahui  
Ketua Lembaga Penelitian

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

Handwritten notes and stamps at the top of the page, including a circular stamp on the left.



Handwritten text on the right side of the page, possibly a title or subtitle.

- A list of items or sections, possibly a table of contents, with handwritten entries and some printed text.

Handwritten text block, possibly a summary or introduction, located below the list.

Handwritten title or section header in the middle of the page.

Handwritten text at the bottom of the page, possibly a footer or additional notes.



Large, bold, stylized text at the bottom center, likely the title of the research report.

## RINGKASAN

REKAYASA VAKSIN INAKTIF EGG DROP SYNDROME 1976(EDS'76) JENIS POLIVALEN (Hana Eliyani dan Herawati Setyaningsih, 2000 : 37 halaman).

Egg Drop Syndrome 1976 (EDS'76) adalah salah satu penyakit virus yang menyerang saluran reproduksi yang mengakibatkan turunnya produksi dan kualitas telur. Pengobatan yang dilakukan terhadap EDS'76 selama ini hanya untuk mencegah timbulnya penyakit sekunder. Pemberantasan yang terbaik untuk EDS'76 adalah program vaksinasi. Vaksin EDS'76 yang sering digunakan di lapangan adalah jenis monovalen yang hanya mampu mencegah terhadap serangan EDS'76 saja. Peternak menginginkan jenis vaksin EDS'76 yang selain mampu mencegah serangan EDS'76 juga mampu mencegah serangan ND, IB dan IBD.

Penelitian yang dilaksanakan ini bertujuan mempelajari tentang rekayasa vaksin EDS'76 polivalen dan kekebalan yang ditimbulkan oleh jenis vaksin ini dibanding dengan vaksin EDS'76 monovalen dan kontrol.

Rancangan penelitian yang digunakan untuk rekayasa vaksin inaktif EDS'76 jenis polivalen adalah rancangan eksploratif. Untuk mengukur perbedaan tanggap kebal yang dihasilkan oleh vaksin inaktif EDS'76 polivalen dengan monovalen dan kontrol digunakan rancangan acak lengkap. Ayam petelur yang digunakan untuk hewan uji berumur 4-5 bulan. Analisis data yang digunakan adalah analisis varian dan LSD. Hasil analisis varian dan LSD bermakna bila diperoleh harga  $p < 0,05$ .

Vaksin inaktif EDS'76 polivalen yang dibuat mampu menghasilkan titer antibodi EDS'76 yang tidak berbeda secara bermakna ( $p > 0,05$ ) dengan titer antibodi dari vaksin inaktif EDS'76 monovalen. Masing-masing titer antibodi EDS'76 yang dihasilkan oleh vaksin inaktif EDS'76 polivalen dan monovalen adalah 2,99 dan 3,11. Vaksin inaktif EDS'76 polivalen juga memberikan tanggap kebal terhadap serangan ND, IB dan IBD. Masing-masing titer antibodi yang dihasilkan untuk ND, IB dan IBD adalah 3,14, 1,34 dan 1,32.

Saran yang perlu disampaikan untuk mencegah serangan EDS'76 pada ayam hendaknya digunakan vaksin inaktif EDS'76 polivalen. Vaksin inaktif EDS'76 polivalen selain mampu mencegah terhadap serangan EDS'76 itu sendiri juga mampu mencegah terhadap serangan ND, IB dan IBD. Demikian pula akan menghemat biaya, tenaga, waktu dan ayamnya tidak mengalami stress berkali-kali.

( L.P. Pusat Penelitian Pengembangan Gizi Universitas Airlangga,  
Kontrak Nomor : 019/P2IPD/DPPM/VI/1999, 1 Juni 1999 )

## SUMMARY

ENGINEERING OF INACTIVE OF POLYVALEN VACCINE FOR EGG DROP SYNDROME 1976 (Hana Eliyani dan Herawati Setyaningsih : 37 pages).

Egg drop syndrome 1976 (EDS'76) was one of viral diseases attacking reproductive tract, which causes the drop of production and egg quality. Treatments against EDS'76 have been for prevention only. The best way for eradication EDS'76 is vaccination program. Most frequent vaccine used in the field is monovalen type which is able to prevent against secondary infections only. Farmers need kind of EDS'76 vaccine which is not only to prevent EDS'76 it self, but to prevent against ND, IB and IBD as well.

The objective of this research was to study engineering of inactive polyvalen of EDS'76 vaccine and it's immune response and comparing this response with monovalen EDS'76 and the control group.

Research design applied in this study was explorative using layer chicken of 4-5 months old. Completely randomize design was used to measure immune response of polyvalen and monovalen vaccine and the control. Data were analysis by analysis of variance and least significant difference. Results was statistically significant if  $p < 0.05$ .

Inactive polyvalen EDS'76 vaccine was able to produce antibody titer which was not significantly different to inactive monovalen EDS'76 vaccine ( $p > 0.05$ ). Each titer of those vaccine was 2.99 and 3.11 respectively. Inactive polyvalen EDS'76 vaccine was also produced immune responses against ND, IB and IBD. Each titer for ND, IB and IBD was 3.14, 1.34 and 1.32 respectively.

Suggestion for preventing EDS'76 on layer chicken is using inactive polyvalen EDS'76 vaccine. This vaccine is not only capable of preventing against EDS'76, but also against ND, IB and IBD. Beside, low cost, efficient of time and human power and layer are free from stress.

( Rest.Inst. Center for Research on Nutrition Development Unair, Agreement Number : 019/P2IPD/DPPM/VI/1999, June 1, 1999 )

## KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji syukur alhamdulillah ke hadirat Allah Swt., akhirnya selesailah laporan hasil penelitian dengan judul Rekayasa Vaksin Inaktif Egg Drop Syndrome 1976 (EDS'76) Jenis Polivalen. Penelitian ini pelaksanaannya dibiayai dari sumber dana DP3M Depdikbud tahun anggaran 1999/2000.

Dengan selesainya penyusunan laporan penelitian ini, peneliti ingin menyampaikan terima kasih yang sebanyaknya kepada.

1. Prof. dr. H. Soedarto, DTMH., Ph.D. selaku Rektor Universitas Airlangga yang telah menyetujui penelitian ini dilaksanakan.
2. Prof. Dr. H. Noor Cholies Zaini selaku Ketua Lembaga Penelitian Universitas Airlangga yang telah berhasil mencarikan dana, sehingga penelitian ini dapat terlaksana.
3. Semua pihak yang namanya tidak sempat penulis cantumkan satu per satu yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

Untuk kesempurnaan penulisan buku laporan ini, peneliti mengharapkan saran dari para pembaca dan harapan peneliti semoga buku laporan ini dapat bermanfaat bagi dunia peternakan.

Surabaya, 05 Januari 2000

Peneliti



**DAFTAR ISI**

	<b>Halaman</b>
<b>LEMBAR IDENTITAS PENGESAHAN</b> .....	<b>i</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>iii</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>iv</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>v</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>viii</b>
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang Permasalahan .....	<b>1</b>
1.2. Rumusan Masalah .....	<b>3</b>
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
2.1. Virus Egg Drop Syndrome 1976 (EDS'76) ....	<b>4</b>
2.2. Media Pertumbuhan Virus .....	<b>6</b>
2.3. Serologi .....	<b>9</b>
2.4. Tanggap Kebal Terhadap Vaksin EDS'76 ....	<b>13</b>
<b>III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN</b> .....	<b>16</b>
<b>IV. METODE PENELITIAN</b> .....	<b>17</b>
4.1. Tempat Dan Waktu Penelitian .....	<b>17</b>
4.2. Identifikasi Dan Definisi Operasional Va - riabel .....	<b>17</b>
4.3. Jenis dan Rancangan Penelitian .....	<b>17</b>

	4.4. Bahan Penelitian .....	18
	4.5. Alat Penelitian .....	18
	4.6. Prosedur Penelitian .....	18
	4.7. Analisis Data .....	21
<b>BAB</b>	<b>V. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>22</b>
	5.1. Uji Inaktivasi Virus .....	22
	5.2. Uji Keamanan Vaksin .....	22
	5.3. Pengujian Tanggap Kebal .....	22
<b>BAB</b>	<b>VI. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>27</b>
	6.1. Kesimpulan .....	27
	6.2. Saran .....	27
	<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>28</b>
	<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>30</b>

**DAFTAR TABEL**

<b>Nomor</b>	<b>J u d u l</b>	<b>Halaman</b>
1.	Rataan Titer Antibodi EDS'76 Antar Jenis Vaksin EDS'76 Monovalen, Polivalen dan Kontrol.....	23
2.	Rataan Titer Antibodi ND Antar Jenis Vaksin EDS'76 Monovalen, Polivalen dan Kontrol.....	23
3.	Rataan Titer Antibodi IB Antar Jenis Vaksin EDS' Monovalen, Polivalen dan Kontrol.....	23
4.	Rataan Titer Antibodi IBD Antar Jenis Vaksin EDS' Monovalen, Polivalen dan Kontrol.....	23

**DAFTAR LAMPIRAN**

Nomor	J u d u l	Halaman
1.	Titer Antibodi EDS'76 Ayam Kelompok Kontrol dan Per- lakuan Serta Uji Statistiknya.....	30
2.	Titer Antibodi ND Ayam Kelompok Kontrol dan Per- lakuan Serta Uji Statistiknya.....	32
3.	Titer Antibodi IB Ayam Kelompok Kontrol dan Per- lakuan Serta Uji Statistiknya.....	34
4.	Titer Antibodi IBD Ayam Kelompok Kontrol dan Per- lakuan Serta Uji Statistiknya.....	36

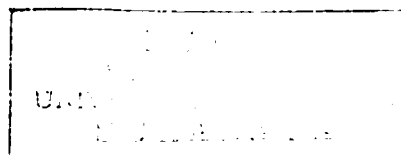
## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1. Latar Belakang Permasalahan

Berdasar hasil rumusan verifikasi dan validasi data yang dikeluarkan oleh Direktorat Jenderal Peternakan (1997), perkembangan populasi ternak termasuk ternak ayam ras petelur meningkat dari tahun ke tahun. Populasi ayam ras petelur tahun 1990 sampai dengan tahun 1994 berturut-turut mengalami kenaikan dari 43.184.983 ekor, 46.885.063 ekor, 54.146.409 ekor, 54736.115 ekor dan 54.949.625 ekor. Populasi ayam ras petelur tahun 1996 sampai dengan 1997 menunjukkan kenaikan dari 755.956.000 ekor menjadi 816.784.000 ekor atau sekitar 8%. Peningkatan populasi ayam ras petelur ini diperkirakan akan terus meningkat di tahun-tahun mendatang. Hal tersebut dapat dimengerti karena disamping mempunyai arti penting sebagai sumber protein hewani ayam ras petelur juga merupakan komoditas ternak komersial yang potensial di berbagai negara (Ronohardjo dan Darminto, 1998).

Sumber protein yang dapat dimanfaatkan dari ternak ayam adalah daging dan telur. *Egg Drop Syndrome* 1976 (EDS'76) adalah salah satu penyakit saluran reproduksi yang dapat menurunkan kualitas maupun kuantitas produksi telur, sehingga dapat mengakibatkan tidak tercapainya puncak produksi. Hal ini dapat





merugikan para peternak dan lebih luas lagi dapat mengganggu konsumsi telur di masyarakat.

Gejala klinis yang mencolok dari penyakit EDS'76, telur yang diproduksi menjadi lunak dan mudah retak dengan kualitas albumin yang jelek.

Penyakit EDS'76 dilaporkan pertama kali oleh Van Eck et al. pada tahun 1976 yang dikutip oleh McFerran (1997). Sejak itu penyakit menyebar di seluruh negara termasuk Indonesia (Yamaguchi et al., 1980).

Menurut Widjaja dkk. (1995) kerugian ekonomi yang ditimbulkan EDS'76 adalah penurunan produksi telur antara 5-50%. Penurunan kualitas telur yaitu kerabang telur menjadi lunak dan tidak terdapat pigmentasi pada kerabang bahkan telur tanpa kerabang.

Di Indonesia penyakit EDS'76 telah dikenal beberapa tahun lalu di daerah peternakan Parung, Bekasi, Cilengka, Jawa Barat (Rumawas, 1982). Di daerah Sumatera Utara yaitu Deli, Serdang, Langkat (Susanto dkk., 1984), Di Bali di desa Babahan dan Jatiluwih, Kecamatan Penebel, Kabupaten Tabanan.

Pengobatan EDS'76 dengan antibiotik diketahui hanya dapat mencegah timbulnya penyakit sekunder. Beberapa obat lain yang pernah dicoba seperti pemberian vitamin, kalsium, dan protein hanya bersifat simptomatis dan tidak ada hasilnya. Menurut Holmes et al. (1989), pemberantasan penyakit EDS'76 yang terbaik adalah dengan program vaksinasi.

Vaksin EDS'76 yang sering digunakan di lapangan sampai sekarang adalah vaksin inaktif jenis monovalen yang hanya mampu mencegah terhadap serangan EDS'76 saja. Pada hal harapan masyarakat sekali vaksinasi selain dapat mencegah serangan EDS'76 sendiri juga mampu mencegah serangan New Castle Disease (ND), Infectious Bronchitis (IB) dan Infectious Bursal Disease (IBD). Dengan demikian ayam tidak mengalami stres berkali-kali dan akan menghemat biaya, tenaga dan waktu.

Berpangkal pada pemikiran tersebut, perlu dilakukan penelitian tentang rekayasa vaksin inaktif EDS'76 jenis polivalen.

## 1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan tersebut rumusan masalah yang diajukan adalah sebagai berikut.

1. Apakah tanggap kebal yang dihasilkan dari vaksinasi EDS'76 inaktif jenis polivalen berbeda dengan jenis monovalen?

**BAB II****TINJAUAN KEPUSTAKAAN****2.1. Virus Egg Drop Syndrome 1976 (EDS'76)**

EDS'76 termasuk famili Adenoviridae, genus Aviadenovirus tidak mempunyai spesifik antigen dan speciesnya adalah *Duct adenovirus*. Isolasi dari adenovirus dan partikel yang menyerupai adenovirus pada vertebrata lain telah dilaporkan, tetapi belum dibuat klasifikasi secara formal. Serotipe dari adenovirus ditentukan dengan uji serum netralisasi (SN) pada biakan jaringan dengan menggunakan antisera hewan. Dalam uji tersebut, serotipe satu dengan serotipe adenovirus yang lain tidak diperbolehkan adanya reaksi silang (ratio titer homolog atau heterolognya tidak boleh lebih dari 16 dalam dua arah). Bila terdapat titer antara 8 - 16 dalam dua arah, serotipe dapat ditentukan bila tidak terjadi reaksi silang menurut uji hambatan hemaglutinasi (*Haemagglutination Inhibition* = HI test), atau harus ada perbedaan yang jelas pada sifat biofisik dan biokimia DNA dari masing-masing adenovirus. Variasi galur dalam serotipe ditentukan dengan analisis restriksi DNA. Secara morfologi, replikasi dan susunan kimia, EDS'76 digolongkan sebagai adenovirus tetapi tidak mempunyai kelompok antigen dari *Avian adenovirus*. Selain itu juga menunjukkan tidak ada reaksi silang antara EDS'76 dengan 11 prototipe *Avian adenovirus* dan dua prototipe adenovirus kalkun dengan menggunakan uji SN dan uji HI (McFerran, 1997).

Virus EDS'76 menurut susunan kimianya terdiri dari DNA dan mempunyai 13 struktur polipeptida. Paling sedikit tujuh dari polipeptida ini ada kaitannya dengan polipeptida dari Avian adenovirus tipe 1 (McFerran, 1997).

EDS'76 berukuran antara 76 - 80 nm dengan variasi lima nm. Virion ini tidak berkapsul, berbentuk ikosahedral dengan permukaan segitiga dan pada sudutnya terdapat enam kapsomere dengan satu fiber ukuran 25 nm yang diprojeksikan dari tipe vertex atau ujung (McFerran, 1997).

Virus bereplikasi pada nukleus, sama seperti pada sub kelompok I Avian adenovirus, dan pada adenovirus manusia tipe V. Inklusi intranukleus dapat dilihat dengan pewarnaan Hematoxilin dan Eosin dalam biakan jaringan yang terinfeksi dan dalam sel epitel uterus, isthmus dan vagina pada ayam percobaan yang diinfeksi. Pada potongan tipis partikel virus kelihatan jelas dalam nukleus seperti adenovirus (McFeran, 1997).

Virus EDS'76 diketahui mempunyai daya tahan terhadap kloroform, eter, pH 3 - 10, tetap hidup pada pemanasan 56°C selama tiga jam dan tetap stabil pada monovalen kation tetapi tidak pada divalen. Hemaglutinin sangat stabil namun rusak pada suhu 70°C selama 30 menit dan tetap aktif dalam waktu lama suhu 4°C (McFerran, 1997).

Swain et al. (1992) meneliti isolat EDS'76 yang diisolasi dari kumpulan ayam petelur yang mengalami penurunan produksi, ternyata tahan terhadap pemanasan 56°C, eter, kloroform, pH 3 dan tripsin, tetapi tidak tahan dengan formalin 3%.

Menurut Zsak et al. (1992) inaktivasi virus EDS'76 tidak stabil dengan adanya 1 M MgCl<sub>2</sub>. Dalam percobaan ini digunakan formalin 0,2% untuk inaktivasi EDS'76 galur B8/78.

Kumar et al. (1991), menemukan isolat EDS'76 (EDSV IV KI/AD-86, EDSV01/AD-86 dan EDSV-20/AD-86) yang diisolasi dari feces sekawanan burung yang sedang bertelur, ternyata tetap menunjukkan aktivitas hemaglutinasi setelah diberi perlakuan dengan 10% kloroform, dan tidak kehilangan infektifitasnya. Virus dapat melalui membran filter dengan ukuran 100 nm atau lebih dan tetap stabil pada pH 3 dan temperatur 56°C selama 30 menit.

Rozhdestvenskii (1984), dalam penelitiannya mendapatkan virus yang dipropagasi dari embrio bebek diinaktifkan pada temperatur 60 - 70°C dalam waktu 10 - 40 menit, dengan penambahan formalin 0,05 - 1% selama 24 - 48 jam dan ethyleneimine 0,01 - 0,013% selama 3 jam dan ethyleneimine 0,2% selama 3 jam merupakan metode paling baik untuk mempertahankan aktivitas HA yang stabil.

Lu et al. (1985), dalam percobaannya mendapatkan bahwa antigen hemaglutinasi yang dipersiapkan dari embrio bebek dan diinaktifkan dengan formalin 0,2%, tetap mempunyai titer yang stabil, paling tidak untuk jangka waktu satu tahun pada temperatur penyimpanan 4°C.

## 2.2. Media Pertumbuhan Virus

Pengembangan virus EDS'76 dengan menggunakan berbagai media telah banyak diteliti untuk tujuan diagnosis, uji serologis maupun produksi vaksin. Menurut McFerran (1997), indikator yang



paling sensitif untuk mendeteksi virus yaitu telur bebek bertunas TBB atau telur angsa bertunas (TAB) dari kelompok bebas EDS'76 dan biakan sel dari bebek atau angsa. Apabila tidak tersedia sel dari media tersebut, dapat digunakan *Chicken Embryo Lever* (CEL). CEL ini ternyata lebih sensitif dari *Chicken Kidney Cell* (CKC). *Chicken Embryo Fibroblast* (CEF) tidak sensitif dan TAB tidak sesuai untuk pertumbuhan virus. Keuntungan penggunaan biakan sel embryo bebek atau angsa disamping lebih sensitif, beberapa virus tidak dapat tumbuh dalam media ini.

McFerran (1997) mengemukakan bahwa EDS'76 paling baik tumbuh pada ginjal itik, hati embrio itik, sel fibroblas itik, sel hati ayam. Pertumbuhannya kurang baik pada sel ginjal ayam, sedikit tumbuh pada kalkun dan tidak ada perkembangan pada sel mamalia.

Zsak et al. (1991) mengemukakan bahwa EDS'76 tumbuh dengan titer tinggi pada biakan sel angsa. Menurut McFerran (1997), EDS'76 galur JPA 1 tumbuh subur dan mencapai puncak pertumbuhan bila ditanam pada CEL dari pada bila ditanam pada CKC yang dibuktikan terhadap infektifitas dan produksi hemaglutininnya. Virus intraseluler dan ekstraseluler mulai meningkat secara logaritmik antara 16 - 18 jam setelah infeksi dan berturut-turut mencapai titer  $10^{9,2}$  dan  $10^{8,5}$  PFU/ml pada 48 jam setelah infeksi. Hemaglutinin intraseluler mulai muncul setelah 18 jam dan mencapai puncak (10.240 HA) pada 48 jam, sedang ekstraseluler hemaglutinin mulai muncul 72 jam setelah infeksi. Intensitas fluoresensi antigen intranukleus mulai kelihatan dari 16 jam setelah infeksi. Peneliti lain menyebutkan bahwa pertumbuhan

virus sangat tinggi pada telur bebek bertunas dan telur angsa bertunas dengan titer 1/16.000 sampai 1/32.000 dan tidak ada pertumbuhan pada telur ayam bertunas ( McFerran, 1997).

Tsai et al. (1983), melaporkan bahwa EDS'76 galur TN bila ditanam pada *Duct Embryo Lever* (DEL) dan diinkubasikan pada temperatur 37°C, menunjukkan titer HI 64,128 dan dua kali lebih tinggi dari pada bila ditanam pada *Duct Embryo Fibroblast* (DEF), *Goose Embryo Fibroblast* (GEF), *Duct Kidney Cell* (DKC). Virus dalam nukleus DEL terlihat pertama kali dengan FAT pada 19 jam setelah infeksi. Kultur virus pada DEF yang dieramkan pada temperatur 40°C menghasilkan puncak pertumbuhan lebih dini, tetapi titer virus kurang persisten dibanding pada virus yang dieramkan pada temperatur 37°C.

Kumar et al. (1985) mendapatkan bahwa isolasi EDS'76 dari sampel feces dapat diadaptasikan dengan mudah pada DEF. Aktivitas HA dideteksi pertama kali pada hari ke enam setelah infeksi dan mencapai puncak pada hari ke 11 setelah infeksi.

Swain et al. (1993) membuktikan bahwa EDS'76 paling baik tumbuh pada CEL primer, kurang baik pada DEL, DEF dan CEK. Sitopatogenik efek dari CEL ditandai dengan adanya sel besar dan refraktil dan terlepas dari permukaan gelas. Inklusi bodi intranukleus eosinofil dideteksi antara 24 - 48 jam setelah infeksi. Tidak ada multiplikasi pada *Quail Embryo Fibroblast* (QEF) primer, CEF atau sel mamalia seperti *African Green Monkey Kidney* (Vero), *Baby Hamster Kidney* (BHK) dan *Mardin Green Bovine Kidney* (MDBK). Pertumbuhan virus maksimal dicapai pada

embrio bebek dengan titer HI paling tinggi pada alantoisnya, diikuti oleh membran chorio allantois, kulit, dan organ dalam. Pada embrio burung puyuh tidak menunjukkan adanya perkembangan virus.

### 2.3. Serologi

Uji Hambatan Hemaglutinasi (HI) adalah satu-satunya pilihan untuk mempelajari virus ini. Antigen dapat disiapkan dari TBB atau biakan sel. Titer HA yang tinggi diperoleh bila menggunakan TBB, namun bisa lebih tinggi bila diinokulasikan pada *chicken embryo liver*. Uji HI yang tepat yaitu dengan menggunakan antigen empat HA unit. Pengenceran mulai 1 : 4 dengan 0.5% sel darah merah ayam. Virus akan mengaglutinasi sel darah merah ayam, angsa, dan bebek tetapi tidak pada mamalia. Bila hemaglutinin non spesifik terdapat dalam serum, dapat dihilangkan dengan 10% sel darah merah yang homolog. Untuk uji Serum Netralisasi (SN) digunakan *Tissue Culture Infection Dose 50* (TCID) 50 selama satu jam pada temperatur 37°C dan biakan jaringan ayam atau bebek sebagai indikator yang sensitif dan spesifik. Pada biakan jaringan ayam sering membantu dalam pembacaan bila dilakukan uji hemaglutinasi dari supernatannya dari pada melihat sitopatologik efeknya. Uji SN hanya diperlukan untuk menguatkan hasil uji HI yang meragukan atau menyimpang dari biasa seperti pada program eradikasi atau deteksi antibodi HI pada spesies baru. Uji *Indirect Fluorescent Antibodi* (IFA) setidaknya sama sensitifnya

dengan Uji HI. Uji *Double Immunodiffusion* (DID) juga telah digunakan tetapi kemungkinan kurang sensitif dibanding uji HI (McFerran, 1997).

Banyak kelompok burung yang tidak menunjukkan antibodi selama masa pertumbuhan dan hanya jelas kelihatan langsung mengikuti perubahan telur. Oleh karena itu uji negatif serologis tidak memberikan jaminan bahwa burung bebas infeksi. Namun bila ditemukan adanya penurunan produksi dari sebagian besar kawanan burung, hampir semua burung menunjukkan adanya titer antibodi dalam tubuhnya. Penyebabnya kemungkinan adalah virus tersebut menunggu saat yang tepat untuk merefleksikan kemampuannya menyebar secara lateral. Dalam keadaan ini harus hati-hati memilih sampel, karena ada kemungkinan kesalahan hasil negatif akan ditemukan. Dalam suatu percobaan, antibodi dapat dideteksi dengan uji IFA dan HI dalam selang waktu 5 - 6 hari setelah infeksi. Pada uji SN dan DID antibodi terlihat setelah selang waktu 6 - 9 hari. Antibodi mencapai puncaknya kurang lebih 4 - 5 minggu. Uji imunopresipitasi (DID) jarang digunakan dibanding dengan yang lain. Didapatkan data bahwa burung masih mengeluarkan virus dalam keadaan antibodi tinggi pada uji HI, tetapi sebaliknya ada beberapa yang walaupun terdeteksi mengeluarkan virus, gagal mengembangkan antibodi (McFerran, 1997).

Antibodi diturunkan melalui kantung kuning telur yang pada saat itu induknya mempunyai titer antibodi tinggi terhadap uji HI (GMT 8 - 9 log 2). Antibodi ini mempunyai *half life* 3 hari. Produksi antibodi secara aktif tidak distimulasi sampai ayam

berumur antara 4 - 5 minggu sedangkan maternal antibodi hampir tidak terdeteksi. Tidak diketahui apakah ayam tersebut tidak mempunyai respon terhadap infeksi atau ayam menjadi karier (McFerran, 1997).

Untuk menentukan adanya virus EDS'76, tidak cukup hanya dengan melihat kematian embrio dan adanya sitopatogenik efek, tetapi harus memeriksa alantois dan supernatan dari biakan sel dengan eritrosit 0.8% untuk mengetahui adanya hemaglutinin. Alternatif lain yaitu uji imunofluoresensi dengan menggunakan antiserum terhadap EDS'76 yang dilabel. Uji ini dapat digunakan untuk mendeteksi pertumbuhan virus dalam sel. Konjugat antiserum yang digunakan tersebut di atas tidak sesuai bila dipakai untuk mendeteksi adenovirus konvensional. Bila TBB digunakan untuk propagasi virus, minimal diperlukan dua kali pasase dan apabila digunakan sel ayam sekitar 2 - 5 pasase. Namun demikian, pasase yang berkali-kali akan menyebabkan pertumbuhan virus menjadi jelek, yaitu pada waktu isolasi virus yang pertama pada sel ayam. Hal ini antara lain disebabkan pengeluaran virus dari ayam tidak tentu atau sering kandungan titer virus yang dikeluarkan rendah (McFerran, 1997).

Asi et al. (1989), mendapatkan bahwa 390 ayam dalam kelompok A yang mempunyai titer tinggi terhadap ND (8.6 - 15,0) log<sub>2</sub>, EDS'76 (10.0 - 12,3) log<sub>2</sub> dan IB (8,2 - 9,6) log<sub>2</sub>, mempunyai total protein serum, albumin dan globulin berturut-turut, 5,18 + 0,7, 3,92 + 0,41, dan 1,26 + 22 g/dl. Kejadian ini pada 151 ayam kelompok B mempunyai titer lebih rendah yaitu ND (4,8 - 7.10) log

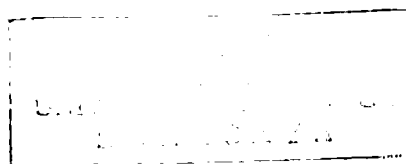


2, EDS (3,5 - 4,8) log 2, IB (2,7 - 4,7) log 2 dan kandungan protein masing-masing  $4,9 + 0,66$ ,  $3,88 + 0,41$  dan  $1,10 + 0,22$  g/dl.

Shakya et al. (1991), mengemukakan bahwa adanya reaksi silang pada uji HI dari tiga strain EDS'76 yaitu galur 127 (reference strain), galur JBP (pune str) galur SPC (bungalore) menyebabkan ke tiga strain tersebut sulit dibedakan. Hubungan antigen juga diperlihatkan dalam *Agar Gel Presipitation* (AGP) dan *Immunolectrophoreses*. Adanya garis presipitasi yang spesifik dari salah satu strain dan tidak berhubungan dengan strain yang lainnya, mengindikasikan bahwa mereka tidak homolog.

Xu et al. (1992), dalam mendeteksi antibodi EDS'76 mendapatkan bahwa titer antibodi pada uji HI dan uji AGP mempunyai korelasi yaitu titer HI 1 : 1024 sampai 1 : 2048 setara dengan titer AGP 1 : 32 sampai 1 : 64 dan titer HI 1 : 64 setara dengan titer AGP 1 : 2 sampai 1 : 4.

Singh et al. (1995), melaporkan adanya sero prevalensi EDS'76 yang dilakukan pada ayam petelur di Binhar, India. Dua ratus sembilan puluh enam serum sampel dari 17 kelompok ayam yang diuji dengan HA cepat, 50 serum (16,78%) menunjukkan positif adanya antibodi EDS'76 yang terjadi pada semua kelompok dengan distribusi titer antibodi HA 10 - 34,78%. Prevalensi HI paling tinggi terdapat pada kelompok umur 13 - 16 minggu dan paling rendah pada kelompok umur 25 - 28 minggu. Titer HI bervariasi 1 : 4 sampai 1 : 64.



#### 2.4. Tanggap Kebal Terhadap Vaksin EDS'76

Vaksin *oil adjuvant inaktif* telah banyak ditemukan yaitu pada burung umur 14 - 16 minggu. Pada burung yang baru menerima vaksinasi pertama kali akan mencapai titer HI log 8 - 9, sedangkan pada kelompok yang telah terkena infeksi sebelumnya dapat mencapai titer log 12 - 14 (McFerran, 1997). Namun demikian, menurut pengalaman di lapangan, diperkirakan bahwa titer vaksin tidak selalu tinggi atau seragam. Vaksin akan memberikan daya tahan yang baik terhadap penyakit secara klinis dan menurunkan jumlah virus yang diekskresikan.

Lu et al. (1985), melaporkan bahwa ayam petelur dan bebek yang diberi vaksin EDS'76 *oil adjuvant* dengan inaktifan formalin 0,2% mempunyai daya tahan yang lebih baik dibandingkan dengan vaksin yang menggunakan ALOH sebagai adjuvan.

Ramires et al. (1997), membuktikan bahwa vaksin EDS'76 strain HPI dalam bentuk emulsi tunggal dan multi emulsi, menunjukkan respon serologi sama dengan vaksin emulsi komersial, sedangkan vaksin yang menggunakan aluminium adsorpsi menimbulkan antibodi yang lebih rendah secara menyolok.

Rhee et al. (1997), melakukan vaksinasi pada ayam umur enam minggu dengan vaksin *oil adjuvant* kombinasi ND, EDS'76, IBD inaktif yang sebelumnya telah divaksin dengan vaksin aktif dari tiga macam virus tersebut dan diaplikasikan dengan berbagai macam dosis. Ayam yang divaksin dengan 0,5 ml mempunyai tingkat antibodi yang memuaskan terhadap virus ND, EDS'76 dan IBD

dibandingkan dengan ayam kontrol. Namun ditemukan adanya perdarahan dan pengumpulan seperti nanah pada sisi sekitar tempat suntikan, bahkan ditemukan juga pada ayam yang disuntik dengan dosis terendah 0,25 ml. Data juga menunjukkan bahwa kekebalan yang ditimbulkan pada ayam komersial adalah enam bulan.

Kozlina et al. (1990), membandingkan vaksin ganda (polyvirol 3) ND, EDS'76 dan IB dengan vaksin tunggalnya. Percobaan dibagi dalam empat kelompok yaitu kelompok yang mendapatkan vaksin ganda, vaksin ND, vaksin EDS, dan vaksin IB. Tiap kelompok terdiri dari 20 ekor ayam petelur umur 18 minggu yang telah mendapatkan vaksinasi aktif (ND, EDS, IB). Hasil percobaan menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan titer antibodi yang berarti dari tiap kelompok. Dalam waktu lebih dari 30 minggu dan semua ayam yang mendapatkan vaksinasi ND baik tunggal maupun ganda tetap hidup setelah ditantang dengan virus ND ganas.

Standarisasi uji HI telah dilakukan terhadap vaksin EDS'76 dan penentuan daya tahan antibodi pada ayam petelur. Dalam percobaan ini, ayam petelur umur 18 minggu disuntik dengan vaksin ND inaktif dan EDS'76 intra muskuler, dan sebagai kontrol ayam disuntik dengan vaksin ND saja. Untuk mengetahui titer antibodi digunakan uji HI dengan antigen EDS'76 galur BC14. Ayam dibagi dalam tujuh kelompok masing-masing 25 ekor dan kontrol lima ekor. Kemudian ditantang dengan EDS'76 galur BC14 pada minggu ke 20, 27, 34, 41, 48, 55, dan 62. Hasil yang didapat yaitu bahwa ayam yang divaksin dan mempunyai titer 0,5 log 2 ternyata memproduksi telur dengan kulit tipis atau tanpa kulit, namun kualitas telur

kembali normal setelah 18 sampai 20 hari pasca tantang. Ayam yang mempunyai titer  $6 \log 2$  lebih resisten terhadap tantangan (Asi dan Lyisan, 1990).

### **BAB III**

#### **3.1. Tujuan Penelitian**

Penelitian yang dilaksanakan ini bertujuan mempelajari tentang rekayasa vaksin inaktif EDS'76 jenis polivalen terhadap tanggap kebal yang dihasilkan dibanding dengan vaksin inaktif EDS'76 jenis monovalen.

#### **3.2. Manfaat Penelitian**

Manfaat hasil penelitian yang diharapkan dengan ditemukannya vaksin inaktif EDS'76 jenis polivalen selain mampu mencegah serangan EDS'76 sendiri juga mampu mencegah serangan penyakit ND, IB dan IBD. Manfaat lain diharapkan bisa menghemat biaya, tenaga dan waktu vaksinasi. Demikian pula ayam tidak mengalami stres berkali-kali, produksinya telurnya tetap tinggi, sehingga pendapatan peternak meningkat.



## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian dikerjakan di Pusat Veterinaria Farma, Surabaya. Penelitian dikerjakan selama lima bulan mulai tanggal 22 Juli 1999 sampai dengan 22 Desember 1999.

#### **4.2. Identifikasi dan Definisi Operasional Variabel**

Dalam penelitian ini yang berperan sebagai variabel bebas adalah jenis vaksin EDS'76 monovalen dan polivalen. Variabel tidak bebasnya adalah tanggap kebal terhadap virus. Variabel kendalinya adalah kepadatan kandang, umur, pakan dan jenis ayam.

#### **4.3. Jenis dan Rancangan Penelitian**

Rancangan percobaan untuk pembuatan vaksin inaktif EDS'76 jenis polivalen adalah rancangan eksploratif. Untuk pengukuran tanggap kebal yang dihasilkan dari vaksinasi EDS'76 inaktif jenis polivalen, rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap. Percobaan yang dilakukan mempergunakan hewan uji berupa ayam ras petelur berumur 4-5 bulan. Perlakuan yang diberikan berupa vaksinasi EDS'76 inaktif jenis polivalen. Sebagai pembanding adalah vaksinasi inaktif

EDS'76 jenis monovalen dan kontrol hanya disuntik pelarut vaksin. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 10 kali.

#### 4.4. Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan terdiri atas virus EDS'76 dari BPMSOH Serpong, virus ND, IBD dan IB dari Pusvetma Surabaya. Vaksin inaktif EDS'76 jenis monovalen produksi Pusvetma Surabaya. Telur bebek bertunas (TBB). Serum standar EDS'76 ND, IBD dan IB dari BPMSOH Serpong. Ayam ras petelur umur 4-5 bulan.

Bahan kimia terdiri atas media Eagle, media MEM, serum sapi, emulgator montanide 70, formalin, beta propriolactone, darah merah ayam, tripsin, PBS dan NaCl fisiologis.

#### 4.5. Alat Penelitian

Peralatan laboratorium yang dipergunakan terdiri atas botol Roux, cawan petri, tabung reaksi, mikro plate, spuit disposable, pipet, botol labu, botol Erlenmeyer, emulsifier, centrifuge dingin, inkubator, ruang dingin (4-8°C), inverted microscope, magnetic stirer, magnetic bar dan filter holder. Kandang ayam baterai berukuran 40 x 36 x 57 cm untuk satu ekor ayam.

#### 4.6. Prosedur Penelitian

##### 4.6.1. Pembuatan Vaksin Inaktif EDS'76 Jenis Polivalen

Virus EDS'76 yang diperoleh dari BPMSOH Serpong dibiakkan dalam ruang chorio alantois TBB. Setelah dipanen virus

tersebut ditambahkan kanamycin sulfat dengan dosis 200 ug/ml. Virus ND, IB dan IBD diperoleh dari Bidang Produksi Vaksin dan Bidang Pengujian Mutu Vaksin, Pusvetma Surabaya. Virus EDS'76 dinaktifkan dengan bromo ethylenamine hydrobromide 0,2% selama 24 jam pada temperatur 37°C. Untuk virus ND, IB dan IBD dinaktifkan dengan beta propriolactone 0,4% selama dua hari pada temperatur 2 -8°C. Selanjutnya dilakukan uji inaktivasi. Uji inaktivasi virus EDS'76 dilakukan dengan metode British Pharmacopoeia Veterinary 1985. Uji inaktivasi virus ND, IB dan IBD dipergunakan metode Palya (1991). Emulgator montanide 70 diputar dalam emulsifier, tambahkan sedikit demi sedikit campuran suspensi virus inaktif EDS'76, ND, IB, IBD dengan perbandingan 3 bagian campuran virus dan 7 bagian emulgator.

#### 4.6.2. Pengujian Mutu Vaksin Inaktif EDS'76 Jenis Polivalen

Uji sterilitas dilakukan dengan menanam vaksin inaktif EDS'76 jenis polivalen pada media serum dextrose agar, saboroux agar dan thyoglycolate agar. Hasil uji dinyatakan baik, bila tidak ada pertumbuhan mikroorganisme.

Uji keamanan vaksin dilakukan dengan menyuntikkan vaksin inaktif EDS'76 jenis polivalen pada 20 ekor ayam petelur umur 21 hari. Pengamatan dilakukan selama 28 hari. Vaksin dinyatakan memenuhi syarat bila tidak menyebabkan gejala abnormal terhadap penyakit EDS'76, ND, IB dan IBD.

#### 4.6.3. Vaksinasi EDS'76 Inaktif Jenis Polivalen Dan Monovalen

Sepuluh ekor ayam petelur umur 4-5 bulan disuntik dengan vaksin inaktif EDS'76 jenis polivalen, 10 ekor disuntik jenis monovalen dan 10 ekor lagi sebagai kontrol hanya disuntik pelarut vaksin. Penyuntikan dilakukan secara intra muskuler. Pengamatan dilakukan selama 28 hari. Serum ayam yang divaksinasi dan ayam kelompok kontrol diambil untuk diperiksa titer antibodinya.

#### 4.6.4. Pengukuran Tanggap Kebal Vaksinasi EDS'76 Inaktif Jenis Polivalen Dan Monovalen

Tanggap kebal untuk EDS'76 dilakukan dengan menguji serum dengan metode Haemagglutination Inhibition (HI). Vaksin dinyatakan baik, apabila titer HI ayam yang divaksin tidak kurang dari 1 : 128 dan untuk kontrol tidak boleh lebih atau sama dengan 1 : 4 British Pharmacopeiae 1985.

Tanggap kebal untuk ND dilakukan dengan memberikan virus ganas dengan dosis  $10^4$  ELD<sub>50</sub> pada ayam yang divaksinasi EDS'76 inaktif jenis polivalen. vaksin dinyatakan baik bila minimal 80% dari ayam yang divaksinasi tetap hidup dan semua ayam kontrol mati.

Tanggap kebal untuk IBD dilakukan dengan menguji serum ayam perlakuan dan kontrol dengan uji Elisa. Vaksin dinyatakan baik, apabila titer antibodi serum perlakuan paling sedikit  $10^3$ , sedang serum kontrol adalah negatif atau uji Elisa > dari kontrol.

Tanggap kebal untuk IB dilakukan dengan metode HI. Vaksin dinyatakan baik bila titer HI yang diperoleh tidak kurang dari 1 : 64. atau uji Elisa > dari kontrol.

Di samping pengujian tersebut vaksin dinyatakan baik, apabila kualitas telur yang diproduksi oleh ayam perlakuan tidak boleh menunjukkan gejala abnormal.

#### 4.7. Analisis Data

Data yang telah diperoleh disajikan secara deskriptif misalnya dalam bentuk tabel, gambar dan persentase. Data titer antibodi sebelum diuji ditransformasi terlebih dahulu ke dalam akar ( $\sqrt{Y + 0,5}$ ). Untuk menguji perbedaan tanggap kebal, digunakan analisis varian. Bila hasil analisis varian bermakna untuk mengetahui perbedaan lebih lanjut digunakan uji beda nyata terkecil. Hasil uji bermakna bila diperoleh harga  $p < 0,05$  (Steel dan Torrie, 1984).

## **BAB V**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **5.1. Uji Inaktivasi Virus**

Pengujian inaktivasi virus EDS'76 dan ND menunjukkan hasil yang baik yaitu tidak terjadi aglutinasi pada pencampuran virus dengan eritrosit 5% pada uji HA cepat. Demikian pula halnya dengan hasil pengujian inaktivasi virus IB dan IBD memberikan hasil yang baik dapat dilihat dari tidak adanya perubahan patologi dan kematian embrio.

#### **5.2. Uji Keamanan Vaksin**

Uji keamanan baik pada vaksin EDS'76 monovalen maupun polivalen menunjukkan hasil yang baik artinya vaksin tersebut aman untuk digunakan. Hal ini bisa dilihat dengan tidak adanya reaksi lokal pada tempat suntikan dan tidak terlihat adanya gejala penyakit ND, IBD dan IB.

#### **5.3. Pengujian Tanggap Kebal**

Titer antibodi serum ayam yang divaksinasi dengan vaksin EDS'76 monovalen, polivalen dan kontrol tertera pada Tabel 1-4.

**Tabel 1. Rataan Titer Antibodi EDS'76 Antar Jenis Vaksin EDS'76 Monovalen, Polivalen dan Kontrol**

Jenis Vaksin	Rataan Titer Antibodi	Simpangan Baku
EDS'76 Monovalen	3,11a	0,22
EDS'76 Polivalen	2,99a	0,29
Kontrol	1,73b	1,15

Rataan pada kolom sama yang diikuti superskrip berbeda, berbeda nyata ( $p < 0,05$ )

**Tabel 2. Rataan Titer Antibodi ND Antar Jenis Vaksin EDS'76 Monovalen, Polivalen dan Kontrol**

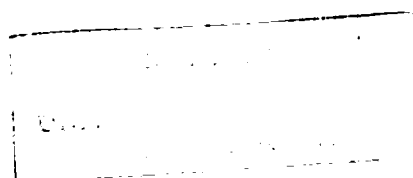
Jenis Vaksin	Rataan Titer Antibodi	Simpangan Baku
EDS'76 Monovalen	2,80a	0,23
EDS'76 Polivalen	3,14b	0,14
Kontrol	2,46c	0,29

Rataan pada kolom sama yang diikuti superskrip berbeda, berbeda nyata ( $p < 0,05$ )

**Tabel 3. Rataan Titer Antibodi IB Antar Jenis Vaksin EDS'76 Monovalen, Polivalen dan Kontrol**

Jenis Vaksin	Rataan Titer Antibodi	Simpangan Baku
EDS'76 Monovalen	1,08a	0,21
EDS'76 Polivalen	1,34b	0,40
Kontrol	0,92a	0,03

Rataan pada kolom sama yang diikuti superskrip berbeda, berbeda nyata ( $p < 0,05$ )



**Tabel 4. Rataan Titer Antibodi IBD Antar Jenis Vaksin EDS'76 Monovalen, Polivalen dan Kontrol**

Jenis Vaksin	Rataan Titer Antibodi	Simpangan Baku
EDS'76 Monovalen	1,09a	0,39
EDS'76 Polivalen	1,32b	0,35
Kontrol	0,97a	0,01

Rataan pada kolom sama yang diikuti superskrip berbeda, berbeda nyata ( $p < 0,05$ )

Tabel 1 memperlihatkan bahwa titer antibodi EDS'76 ayam yang divaksinasi dengan vaksin EDS'76 monovalen dan polivalen menampakkan perbedaan yang bermakna dan masing-masing titernya lebih tinggi dibanding dengan kontrol ( $p < 0,05$ ). Titer antibodi EDS'76 tersebut telah memenuhi persyaratan ketentuan yang dikeluarkan oleh BPMSOH dan Veterinary Bristish Farmacopoeia.

Pada Tabel 2 tampak bahwa titer antibodi ND ayam yang divaksinasi dengan vaksin EDS'76 polivalen lebih tinggi dibanding dengan ayam yang divaksinasi dengan vaksin EDS'76 monovalen dan kontrol ( $p < 0,05$ ). Titer antibodi ND juga terdapat pada ayam yang divaksinasi dengan EDS'76 monovalen dan kontrol, karena ayam kedua kelompok ini sebelumnya telah mendapat vaksinasi ND. Titer ND yang ditimbulkan oleh akibat vaksinasi dengan vaksin EDS'76 polivalen lebih besar dari 2,55. Dalam tubuh ayam bila terkandung titer antibodi ND lebih besar dari 2,55 akan mampu menahan



terhadap serangan ND ganas.

Tabel 3, memperlihatkan bahwa titer antibodi IB ayam yang divaksinasi dengan vaksin EDS'76 polivalen lebih tinggi dibanding dengan ayam yang divaksinasi dengan vaksin EDS'76 monovalen dan kontrol ( $p < 0,05$ ). Titer antibodi IB antara ayam kelompok kontrol dengan ayam yang divaksinasi dengan vaksin EDS'76 monovalen menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ).

Tabel 4 menampakkan hasil seperti halnya titer IB pada Tabel 3. Titer IBD ayam yang divaksinasi dengan vaksin EDS'76 polivalen lebih besar dibanding dengan yang divaksinasi dengan vaksin EDS'76 monovalen dan kontrol ( $p < 0,05$ ). Seperti halnya titer IB, titer IBD antara yang divaksinasi dengan vaksin EDS'76 monovalen tidak berbeda nyata dengan titer IBD kontrol ( $p > 0,05$ ).

Berdasarkan hasil pengukuran titer antibodi dalam penelitian ini, secara umum jenis vaksin EDS'76 polivalen akan memberikan perlindungan selain terhadap EDS'76 itu sendiri juga terhadap ND, IB dan IBD. Khusus perlindungan terhadap serangan EDS'76 sendiri antara jenis vaksin EDS'76 polivalen tidak berbeda dengan jenis EDS'76 monovalen, karena titer antibodi EDS'76 keduanya tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ). Jenis vaksin EDS'76 polivalen selain memberikan perlindungan terhadap serangan penyakit yang lebih lengkap, juga lebih menghemat biaya, tenaga dan waktu. Selain itu dengan digunakannya vaksin EDS'76 polivalen ayam tidak akan mengalami stress yang berkali-kali.

Peneliti terdahulu Kozlina et al. (1990), melakukan penelitian tentang pembuatan vaksin EDS'76 polivalen yang terdiri atas EDS'76, ND dan IB hasilnya juga tidak berbeda dengan vaksin EDS'76 monovalen seperti halnya dengan hasil penelitian ini. Hasil uji tantang dengan virus ND ganas, ternyata ayam tersebut masih tetap hidup dan tidak menderita sakit.

Hasil pengamatan tambahan pada penelitian ini tentang bentuk fisik telur, semuanya tidak menunjukkan kelainan seperti kerabang, telur lunak, kekurangan pigmen dan sebagainya. Hasil ini sebagai petunjuk bahwa semua ayam yang digunakan untuk penelitian ini tidak mengidap penyakit EDS'76.

## **BAB VI**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **6.1. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, kesimpulan yang diambil adalah sebagai berikut.

1. Rekayasa vaksin EDS'76 polivalen menghasilkan titer antibodi EDS'76 yang tidak berbeda dengan vaksin EDS'76 monovalen. Vaksin EDS'76 jenis polivalen yang dibuat juga memberikan kekebalan terhadap serangan ND, IB dan IBD.

#### **6.2. Saran**

Berdasarkan kesimpulan yang diperoleh, saran yang perlu disampaikan adalah sebagai berikut.

1. Untuk pencegahan terhadap serangan EDS'76, hendaknya digunakan vaksin EDS'76 jenis polivalen. Vaksin EDS'76 jenis polivalen akan memberikan kekebalan yang lebih lengkap selain terhadap EDS'76 itu sendiri juga terhadap ND, IB dan IBD. Selain itu dengan digunakannya vaksin EDS'76 polivalen akan menghemat biaya, tenaga dan waktu vaksinasi. Demikian pula ayam tidak akan menderita stress berkali-kali, produksi telurnya tetap tinggi dan pendapatan peternak akan meningkat.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Asi, T., Y. Asi., M. Sina and S.K. Tekeli., (1989). Relationship Between Vaccine Immunity and Serum Protein in Hens in Istanbul Region. Veteriner Fakultesi Dergisi Istanbul. 15 : 1 - 6.
- Asi, Y. and S. Lyisan, (1990). Standardization of the HI Test for the Egg Drop Syndrome and Determination of Protective Anti Body Levels in Hens with an EDS 76 Vaccine. Doga, Turk Veterinerlik Ve Hayvanc Dergisi. 14 : 96-111.
- Ditjen Peternakan, (1977). Hasil Rumusan Verifikasi dan Validasi Data Peternakan, Jakarta.
- Holmes, H.C., K.J. Webb and P.G. Box, (1989). Vaccine for Control of Egg Drop Syndrom'76. Vet. Rec. 124 : 309-320.
- Kozlina, B., N.Knezevic., J. Nikolovski and V. Matovic, (1990). Immunoprophylaxis of Poultry With Inactivated Vaccine. I Paralel Study of Immunogenicity of Polyvirol-3 and Appropriate inactivated monovalent Vaccine. Acta Vet. Beograd, 40 : 129-135.
- Lu, Y.S., D.F., Lin, H.J. Tsai, Y.L. Lee, S.Y. Chiu, Y.H. Lieu and S.T. Huang, (1985). Development and Field Application of Diagnostic Antigen and an inactivated Vaccine Against Egg Drop Syndrome 1976. Taiwan J. Vet. Med. and Anim Hus., 45 : 67-72.
- McFerran, J.B., (1997). Egg Drop Syndrome. Poult Disease, 20 : 516-523.
- Ramirez, M.M., M.B. Lucio and H.J.L. Pablos, (1997). Serological Response to Egg Drop Syndrome Virus, Adsorbed on Aluminium Hydroxide, or as Single Emulsion or Double Emulsion Vaccine. Vet., 18 : 291-305.
- Rhee, Y.O., J.H. Kim and S. Namgoong, (1997). Immunogenecity of ND, EDS, IBD Combine oil Adjuvanted Vaccine. Res. Rep. Rural Develop. Administ., 29 : 209-212.
- Ronohardjo, P. dan Darminto, (1988). Balitvet News Letter. Balai Penelitian Veteriner, Bogor, 2 : 1.
- Rozhdestvenskii, I.K., (1984). Inactivating the Adenovirus of the Egg Drop Syndrome (Strain EDS'76). Vet. Moscow, 4 : 61-62.
- Rumawas, W. (1982). Egg Drop Syndrome 1976. Poult. Indonesia 34 : 14.

DAFTAR PUSTAKA

Asi, T. Y., Sai, M. Sina and E.K. Tekelli. (1992). Relationship between Vaccine Immunity and Serum Protein in Hens in (Tanjung) Region. *Indonesian Veterinary Journal*. 15 : 1-6.

Asi, Y. and S. Lyman. (1990). Standardization of the HI Test for Egg Drop Syndrome and Determination of Protective Antibody Levels in Hens with an EDS 76 Vaccine. *Indonesian Veterinary Journal*. 14 : 96-111.

Dit. n. Bedarmahsa. (1977). Hasil Rumusan Vertikal dan Validasi. *Indonesian Veterinary Journal*.

Hadi, A. H., K. E. Weber and P. G. Box. (1986). Vaccine for Control of Egg Drop Syndrome. *Vet. Rec.* 119 : 309-320.

Kolman, S., N. Knezevic, J. Nikolovski and V. Masovic. (1990). Immunopathology of Poultry with Inactivated Vaccine. I. Preliminary Study of Immunogenicity of Polyvalent and Agglutinated Inactivated Monovalent Vaccine. *Acta Vet. Beograd.* 40 : 129-132.

Lin, S. D., H. H. Hsu, Y. L. Lee, S. Y. Chen, Y. H. Lin and S. L. Huang. (1985). Development and Field Application of Diagnostic Antigen and an Inactivated Vaccine Against Egg Drop Syndrome 1976. *Chinese J. Vet. Med. and Anim. Hus.* 10 : 67-72.

Mohr, G. A. (1987). Egg Drop Syndrome. *Poult. Diseases*, 33 : 1-23.

Ram, S., M. W. H. Liao and H. L. L. Liao. (1987). Serological Studies on Egg Drop Syndrome Virus, Affected on Aluminium Hydroxide, on an Single Emulsion or Double Emulsion Vaccine. *Vet. Rec.* 121 : 321-322.

Ree, Y. O., J. H. Kim and S. Hwang. (1987). Immunogenicity of EDS 76 Vaccine of 1 Adjuvanted Vaccine. *Vet. Rec.* 121 : 207-212.

Rom, S. P. dan S. Hwang. (1988). *Indonesian Veterinary Journal*. 11 : 1-11.

Rom, S. P. (1984). Inactivating the Nucleocapsid of the Egg Drop Syndrome (EDS76). *Vet. Moscow*, 4 : 61-62.

Rom, S. P. (1982). Egg Drop Syndrome 1976. *Poult. Indonesia*, 24 : 1-11.

- Shakya, S. and R.G. Dhawedkar, (1991). Antigenic Relationship Among Egg Drop Syndrome 1976 Virus Strain. *Indian Vet. J.*, 68 : 510-513.
- Singh, J.K., K.C.P. Singh, C.B. Prasad, B.K. Singh and S.S. Singh, (1994). Significance of Haemagglutination Inhibition (HI) Titres in Egg Drop Syndrome 1976 in Poultry Flocks. *Indian J., Vet. Res.*, 3 : 1-4.
- Singh, J.K., K.C.P. Singh, C.B. Prasad and C. Prasad, (1995). Occurrence of Haemagglutination Inhibition Antibodies Against Egg Drop Syndrome 1976 Virus in Broilers. *Trop. Anim. Health and Prod.*, 27 : 167-170.
- Susanto E., T.A. Peranginangin, S.H. Diah, Suhirjan dan R. Mudigdo, (1984). Pengamatan Penyakit EDS'76 pada Ayam Petelur. Laporan Tahunan Hasil Penyidikan Penyakit Hewan di Indonesia Periode 1982 - 1988. Keswan. Jakarta.
- Steel, R.G.D. and Torrie, (1984). Principle and Procedures of Statistics : A Biometrical Approach. 2nd. Ed. McGraw Hill International Book Co., Singapore.
- Swain P., J.M. Kataria, K.C. Verma and S. Kumar, (1993). Characterization of Field Isolate of Egg Drop Syndrome '76 (EDS'76) Virus. *Indian J. Vir.*, 8 : 8-14.
- Tsai, H.J., D.F. Lin, Y.S. Lu, S.Y. Chiu, S.T. Huang, Y.L. Lee and C. Lee, (1983). Effect of Different Cell Culture and Incubation Temperature on the Propagation of Egg Drop Syndrome 1976 Virus. *J. Chin. Soc. Vet.*, 9 : 133-136.
- Widjaja, N.S., R. Ernawati, W. Tjahjaningsih, J. Rahmahani dan Suwarno, (1995). Pembuatan Antigen Egg Drop Syndrome'76 (EDS'76) Untuk Keperluan Diagnosis dengan Uji Hambatan Hemaglutinasi. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga, Surabaya.
- Xu, C.F., (1992). Comparison of the AGP and HI Titres for EDS (Egg Drop Syndrome) '76 of Chickens. *Chin. J. Vet. Med.*, 18 : 24-27.
- Yamaguchi, S., H. Imada, T. Taniguchi and M. Kawakami, (1980). Pathogenicity and Distribution of Egg Drop Syndrome 1976 Virus (JPA-I). *Av. Dis.*, 25 : 643-649.
- Zsak, L., A. Szekely and J. Kisary, (1992). Experimental Infection of Young and Laying Geese with Egg Drop Syndrome 1976 Adenovirus Strain B8/78, *Av. Pat.*, 11 : 535-562.

**Lampiran 1. Titer Antibodi EDS'76 Ayam Kelompok Kontrol dan Perlakuan Serta Uji Statistiknya**

File name: EDS

	I V	D V
1	1	3.082
2	1	3.082
3	1	2.55
4	1	3.082
5	1	3.082
6	1	3.391
7	1	3.24
8	1	3.24
9	1	3.082
10	1	3.24
11	2	2.915
12	2	2.915
13	2	2.55
14	2	2.55
15	2	3.082
16	2	3.536
17	2	2.915
18	2	3.082
19	2	3.082
20	2	3.24
21	3	3.24
22	3	3.24
23	3	2.121
24	3	2.121
25	3	3.082
26	3	0.707
27	3	0.707
28	3	0.707
29	3	0.707
30	3	0.707

Lanjutan Lampiran 1.

Single Factor Randomized Design Data file: EDS

Records read: 30  
 Missing data: 0  
 Deletable records: 30

Analysis of Variance

Source	SS	df	MS	F	p
Factor	11.5656	2	5.7828	11.861	.0004
Error	13.1634	27	0.4875		
Total	24.7290	29			

	1	2	3
Mean	10	10	10
SD	3.107	2.987	1.734
SE	0.223	0.296	1.151

Test

SD (.05) = 0.641 \* LSD (.01) = 0.865  
 3 2 1

\*\* \*\*



**Lampiran 2. Titer Antibodi ND Ayam Kelompok Kontrol dan Perlakuan Serta Uji Statistiknya**

File name: ND

	I V	D V
1	1	3.082
2	1	2.915
3	1	2.345
4	1	2.915
5	1	3.082
6	1	2.55
7	1	2.915
8	1	2.739
9	1	2.739
10	1	2.739
11	2	3.24
12	2	2.915
13	2	2.915
14	2	3.24
15	2	3.24
16	2	3.082
17	2	3.082
18	2	3.24
19	2	3.24
20	2	3.24
21	3	2.739
22	3	2.739
23	3	2.121
24	3	2.121
25	3	2.915
26	3	2.121
27	3	2.345
28	3	2.345
29	3	2.55
30	3	2.55

Lanjutan Lampiran 2.

Single Factor Randomized Design      Data file: ND

Records read:            30  
 Missing data:           0  
 Deletable records:     30

Analysis of Variance

Source	SS	df	MS	F	P
Error	2.3723	2	1.1861	22.924	.0000
Total	3.7693	29	0.0517		

	1	2	3
Mean	2.802	3.143	2.455
Std. Dev.	0.231	0.137	0.289

D Test

LSD (.05) = 0.209 \* LSD (.01) = 0.282

3 1 2

\*\* \*\*  
 \*\*

### Lampiran 3. Titer Antibodi IB Ayam Kelompok Kontrol dan Perlakuan Serta Uji Statistiknya

File name: IB

	I V	D V
1	1	0.923
2	1	1.391
3	1	0.992
4	1	1.233
5	1	0.865
6	1	1.256
7	1	0.685
8	1	1.051
9	1	1.206
10	1	1.175
11	2	1.328
12	2	0.796
13	2	1.861
14	2	1.539
15	2	0.608
16	2	1.775
17	2	1.111
18	2	1.356
19	2	1.478
20	2	1.504
21	3	0.901
22	3	0.936
23	3	0.881
24	3	0.951
25	3	0.874
26	3	0.936
27	3	0.901
28	3	0.907
29	3	0.943
30	3	0.951

Lanjutan Lampiran 3.

Single Factor Randomized Design Data file: IB

Records read: 30  
 Missing data: 0  
 Deletable records: 30

Analysis of Variance

Source	SS	df	MS	F	p
Error	0.8876	2	0.4438	6.479	.0053
Total	2.7371	29	0.0685		

	1	2	3
Mean	1.078	1.336	0.918
SD	0.214	0.399	0.029

LSD Test

LSD (.05) = 0.240 \* LSD (.01) = 0.324

3 1 2

\*\*  
 \*

**Lampiran 4. Titer Antibodi IBD Ayam Kelompok Kontrol dan Perlakuan Serta Uji Statistiknya**

File name: IBD

	I V	D V
1	1	1.398
2	1	1.53
3	1	1.61
4	1	0.24
5	1	1.074
6	1	1.078
7	1	0.923
8	1	0.813
9	1	1.174
10	1	1.031
11	2	1.223
12	2	1.023
13	2	1.816
14	2	1.472
15	2	1.304
16	2	1.517
17	2	0.632
18	2	1.053
19	2	1.671
20	2	1.503
21	3	0.98
22	3	0.963
23	3	0.948
24	3	0.963
25	3	0.97
26	3	0.978
27	3	0.978
28	3	0.994
29	3	0.986
30	3	0.963

Lanjutan Lampiran 4.

Single Factor Randomized Design Data file: IBD

BD  
 records read: 30  
 missing data: 0  
 readable records: 30

Analysis of Variance

Source	SS	df	MS	F	p
7	0.6332	2	0.3166	3.411	.0467
Error	2.5056	27	0.0928		
Total	3.1387	29			

	1	2	3
7	10	10	10
Mean	1.087	1.321	0.972
sd.	0.394	0.351	0.013

D Test

LSD (.05) = 0.280 \* LSD (.01) = 0.378

3 1 2

- \*  
 -

1-1 SEP 2003

PAMERAN

Jan (Jan 1976) 4.

Data file: 180

records: 30  
files: 0  
records: 30

Analysis: 4 Variance

Source	SS	df	MS	F	P
Between	3.5056	27	0.1298	3.411	.0007
Within	0.6332	2	0.3166		
Total	3.1387	29			

Source	SS	df	MS	F	P
Between	1.007	10	0.1007	1.521	0.234
Within	0.972	10	0.0972		
Total	1.979	20			

