

**SKRIPSI**

**STABILITAS TITER ANTIBODI ND (*Newcastle Disease*)  
PADA SAMPEL SERUM YANG DISIMPAN  
DALAM TERMOS ES**



Oleh :

**ELY KURNIA HARIADI**  
**BOJONEGORO - JAWA TIMUR**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2000**

# SKRIPSI

## **STABILITAS TITER ANTIBODI ND (*Newcastle Disease*) PADA SAMPEL SERUM YANG DISIMPAN DALAM TERMOS ES**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh  
Gelar Sarjana Kedokteran Hewan  
pada  
Fakultas Kedokteran Hewan - Universitas Airlangga

Oleh :

**ELY KURNIA HARIADI**  
**BOJONEGORO - JAWA TIMUR**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2000**

**STABILITAS TITER ANTIBODI ND (*Newcastle Disease*)  
PADA SAMPEL SERUM YANG DISIMPAN  
DALAM TERMOS ES**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh :

**ELY KURNIA HARIADI**  
**NIM 069612320**

Menyetujui

Komisi Pembimbing



---

( DR. M. Zainal A., MS., Drh.)

Pembimbing Pertama



---

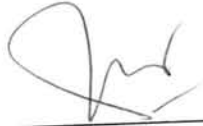
( Nanik Sianita W., SU., Drh.)

Pembimbing Kedua

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh – sungguh, kami berpendapat tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai sekripsi untuk memperoleh gelar **SARJANA KEDOKTERAN HEWAN.**

Menyetujui

Panitia Penguji,



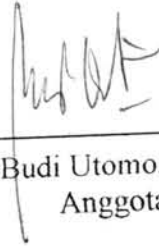
Iwan Willyanto, MSc., PhD., Drh.  
Ketua



Wahyu Tjahjaningsih, MSi., Ir.  
Sekretaris



DR. M. Zainal A., MS., Drh.  
Anggota



R. Budi Utomo, Drh.  
Anggota



Nanik Sianita W., SU., Drh.  
Anggota

Surabaya, 9 januari 2001

Fakultas Kedokteran Hewan



DR. Ismudiono, MS., Drh  
Nip. 130 687 297

**STABILITAS TITER ANTIBODI ND (*Newcastle Disease*)  
PADA SAMPEL SERUM YANG DISIMPAN  
DALAM TERMOS ES**

Ely Kurnia Hariadi

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh lama penyimpanan dan interval waktu penggantian es terhadap stabilitas titer antibodi ND (*Newcastle Disease*) pada sampel serum yang disimpan dalam termos es.

Dalam penelitian ini digunakan 50 DOC (*Day Old Chicken*) pedaging galur *Arbor Acres* produksi Charoen Phokphand Jaya Farm yang diberi program vaksinasi standar. Setelah umur 35 hari dilakukan pengambilan terhadap serum, serum - serum tersebut disimpan dalam *microtube*. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak kelompok pola Petak Terbagi (*Split Plot Design*).

Perlakuan yang dilakukan terhadap serum tersebut adalah serum yang diambil diuji dengan HI untuk mengetahui titer antibodi ND. Setelah mengetahui titer antibodi ND, serum dikelompokkan berdasarkan titer yang diperoleh. Kelompok 1 titer antibodi ND ( $\log_2$ ) 5, kelompok 2 titer antibodi ND ( $\log_2$ ) 4, kelompok 3 titer antibodi ND ( $\log_2$ ) 3, kelompok 4 titer antibodi ND ( $\log_2$ ) 2. Masing - masing anggota kelompok diambil secara acak untuk ditempatkan dalam Termos es i1 (interval waktu penggantian es tiap 6 jam), termos i2 (interval waktu penggantian es tiap 8 jam), dan termos i3 (interval waktu penggantian es tiap 10 jam). Pengukuran titer antibodi ND dilakukan tiap hari selama 4 hari.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa termos es dapat dipakai sebagai tempat menyimpan sampel serum selama satu hari. Ini diketahui dari stabilitas titer antibodi ND pada sampel serum yang disimpan dalam termos es pada lama penyimpanan 0 hari dengan 1 hari tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ), sedangkan lama penyimpanan 2 hari atau lebih berbeda sangat nyata ( $p > 0,01$ ) dan interval waktu penggantian es tiap 6 jam, 8 jam, dan 10 jam tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ).

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirrabil'alamin, segala puji dan rasa syukur kehadiran Allah SWT atas karunia dan hidayah-Nya sehingga selesailah penyusunan makalah skripsi ini.

Adapun tujuan dari penyusunan makalah skripsi ini adalah guna memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Kedokteran Hewan pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Serum merupakan bahan penting dalam uji serologis apalagi digunakan dalam mengetahui tingkat kekebalan penyakit dalam suatu peternakan oleh karena itu perlu suatu tempat penyimpanan yang praktis dalam transportasi. Serangkaian percobaan untuk mengetahui stabilitas titer antibodi HI dalam termos es telah dilakukan dan hasilnya dituangkan dalam tulisan ini.

Dalam penyusunan makalah ini, banyak pihak yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung.

Rasa hormat, terimakasih dan penghargaan yang setinggi – tingginya bagi Bapak DR. M. Zaenal A., MS., Drh. selaku dosen pembimbing pertama dan Ibu Nanik Sianita W., SU., Drh. selaku pembimbing kedua yang selalu memberikan bimbingan dan nasehat yang sangat berguna.

Ungkapan terima kasih penulis sampaikan kepada Bapak Iwan Willyanto, MSc., PhD., Drh., Ibu Wahyu Tjahjaningsih, MSi., Ir., dan Bapak Budi Utomo, Drh., selaku penguji dalam seminar maupun skripsi.

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Bapak Dekan dan para Pembantu Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga beserta staf pengajar atas didikan dan kesempatan yang telah diberikan.

Penulis menyampaikan pula rasa terima kasih kepada Bapak Imam, MS., Drh, Bapak Sucipto, dan Bapak Herry atas bantuan dan sumbangan pemikirannya dalam penulisan skripsi ini.

Kepada Bapak dan Ibu tercinta, Mas Yoyok, Mbak Santi, Mbak Ila, Mas Fauzan, Adik Niswa serta Adik Nunik Setiani tersayang atas cinta kasih dan dukungannya, penulis persembahkan skripsi ini.

Akhirnya teruntuk semua pihak yang tidak sempat penulis sebutkan satu persatu, terucapkan beribu terima kasih atas ketulusannya dalam membantu penyusunan skripsi ini.

Semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya bagi mereka semua, dan disertai harapan semoga hasil – hasil yang dituangkan dalam skripsi ini bermanfaat bagi ilmu pengetahuan dan masyarakat.

Surabaya, Januari 2001

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR .....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
Latar Belakang Penelitian.....	1
Perumusan Masalah.....	4
Landasan Teori.....	4
Tujuan Penelitian.....	5
Manfaat Penelitian.....	5
Hipotesis Penelitian.....	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
Tinjauan Umum <i>Newcastle Disease</i> .....	6
Vaksinasi dan Kekebalan <i>Newcastle Disease</i> .....	7
Serum .....	8
Uji Hambatan Hemaglutinasi.....	10
Termos Alat Penyimpan Sampel.....	11
BAB III. MATERI DAN METODE PENELITIAN.....	13
Tempat dan Waktu Penelitian.....	13
Bahan dan Materi Penelitian.....	13
Metode Penelitian.....	14



Rancangan Penelitian.....	18
Peubah yang Diamati.....	19
Analisis Penelitian.....	19
BAB IV. HASIL PENELITIAN.....	20
Lama Penyimpanan.....	20
Inteval Waktu Penggantian Es.....	21
BAB V. PEMBAHASAN.....	23
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	26
RINGKASAN.....	27
DAFTAR PUSTAKA.....	29
LAMPIRAN.....	32

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rata – rata titer antibodi ND (log 2) hasil pengaruh lama penyimpanan...	20
2. Rata – rata titer antibodi ND (log 2) hasil pengaruh interval waktu penggantian es .....	22

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tempat Es.(termos es dengan isolator panas ) dan tempat es tanpa isolator panas .....	12
2. Diagram rata – rata titer antibodi ND pada berbagai lama penyimpanan.....	21
3. Diagram rata – rata titer antibodi ND pada berbagai pengaruh interval waktu penggantian es.....	22

**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran	Halaman
1. Pembuatan Darah Merah Ayam 0,5%.....	33
2. Hasil pengamatan titer antibodi ND (log <sub>2</sub> ) yang di simpan dalam Termos Es.....	34
3. Analisis data.....	35
4. Uji Beda Nyata Jujur.....	38
5. Hasil Pengamatan Suhu pada Termos es dalam ( ° C).....	41
6. Foto – foto Penelitian.....	42

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **Latar Belakang Penelitian**

Dewasa ini perkembangan bidang peternakan khususnya peternakan ayam banyak mengalami hambatan, salah satu hambatan tersebut adalah adanya penyakit menular (Sudardjat, 1991). Penyakit menular sangat mempengaruhi faktor produksi, biaya, serta tenaga. Salah satu penyakit itu adalah *Newcastle Disease* (ND) (Akoso, 1993).

*Newcastle Disease* di Indonesia dilaporkan pertama kali oleh Kraneveld pada bulan Maret tahun 1926. Satu tahun berikutnya tepatnya 1927 Doely melaporkan adanya penyakit ini di Inggris. Nama *Newcastle Disease*, berasal dari suatu daerah di Inggris "*Newcastle upon Tyne*" yang terjangkit penyakit serupa (Gillespie dan Timoney, 1981; Ressang, 1984).

Penyakit ini lebih sering disebut ND atau lazimnya penyakit tetelo. Sejak dikenal pertama kali di Indonesia sampai saat ini, ND belum dapat dihilangkan. Penyakit tetelo merupakan penyakit menular yang bersifat akut, menyerang hampir semua jenis unggas terutama ayam dan menimbulkan gangguan pernafasan, pencernaan dan syaraf (Gillespie dan Timoney, 1981). *Newcastle Disease* dapat menyebabkan mortalitas sampai 100% pada ayam-ayam yang peka dan mempunyai titer antibodi ND rendah (Darminto dan Ronohardjo, 1996).

Seperti penyakit viral lainnya, ND tidak ada obatnya. Meskipun virus ND dapat dinetralkan oleh serum kebal anti ND, namun penggunaan serum kebal

dalam terapi ND sangat tidak praktis, mahal, dan belum tentu efektif. Salah satu usaha pencegahan dan pengendalian yang cukup efisien adalah melalui vaksinasi disamping itu juga perlu sanitasi dan kebersihan kandang yang cukup baik (Akoso, 1993).

Mengingat tingginya resiko serangan ND dan ganasnya virus ND lapangan di Indonesia memerlukan program vaksinasi yang intensif (Ratnasari, 1987). Hasil percobaan di laboratorium dan di lapangan menunjukkan bahwa dua kali vaksinasi yang dilakukan pada umur 4 hari dan kemudian diulangi pada umur 14-21 hari sudah cukup memuaskan dalam memberikan perlindungan dari ND. Ayam memungkinkan terkena ND bila mempunyai titer antibodi ND yang rendah kurang dari lima (uji HI (log<sub>2</sub>)), dengan demikian perlu dilakukan pemantauan status kekebalan pada suatu peternakan ayam (Akoso, 1993; Darminto dan Ronohardjo, 1996).

Cara yang paling efisien dalam memantau status kekebalan ayam terhadap ND adalah dengan uji serologis yakni dengan mengukur kandungan zat kebal (antibodi) terhadap ND pada serum darah ayam. Untuk itu perlu sampel serum dikirim ke laboratorium dalam keadaan dingin (Akoso, 1993; Anonimus, 1998; Anonimus, 1999).

Uji hambatan hemaglutinasi (*Hemagglutination Inhibition, HI*) digunakan untuk mengetahui keberhasilan suatu vaksinasi pada peternakan, karena murah, sederhana, dan hasilnya dapat dipercaya (Darminto dan Ronohardjo, 1996). Sering kali peternak dalam mengirimkan sampel untuk pemeriksaan serologis tidak memperhitungkan cara penyimpanan dan jangka waktu pengiriman,

sementara itu titer dalam serum belum tentu stabil. Dengan demikian dapat memberikan informasi yang salah dalam menilai status kekebalan dari suatu peternakan ayam (Tizard, 1987).

Letak peternakan ayam biasanya sangat jauh dari laboratorium untuk tempat pengujian HI sehingga diperlukan suatu tempat penyimpanan yang mampu mempertahankan suhu penyimpanan yang praktis tanpa memakai listrik. Salah satunya bisa memakai termos es guna mempertahankan suhu (Akoso, 1993; Anonimus, 1998).

Banyak orang belum tahu sampai berapa hari termos itu bisa mempertahankan titer antibodi serta interval waktu penggantian es yang efektif sehingga termos tersebut mampu menjaga suhu dingin dan dapat digunakan sebagai alat penyimpanan, karena jika pengujian tetap dilakukan maka informasi yang diberikan berupa titer antibodi tidak menggambarkan pada hari pengambilan sampel (Akoso, 1993).

Berdasarkan uraian di atas hendak diteliti pengaruh lama penyimpanan dan interval waktu penggantian es terhadap stabilitas titer antibodi ND pada sampel serum yang disimpan dalam termos es. Serum yang digunakan adalah dari ayam yang divaksinasi ND dengan lama penyimpanan 1 hari, 2 hari, 3 hari, dan 4 hari serta interval penggantian es tiap 6 jam, 8 jam, dan 10 jam.

### **Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang permasalahan yang ada, maka timbul suatu permasalahan. Bagaimana pengaruh lama penyimpanan dan interval waktu penggantian es terhadap stabilitas titer antibodi ND pada sampel serum yang disimpan dalam termos es ?.

Masalah tersebut di atas memang jarang mendapat perhatian namun sangat berpengaruh sekali pada hasil pengujian dari sampel serum tersebut.

### **Landasan Teori**

Antibodi disebut dengan imunoglobulin merupakan suatu protein terdiri dari rangkaian asam – asam amino yang mudah dipengaruhi lingkungan (Moelock, 1985).

Pada umumnya protein lebih stabil pada suhu dingin dan labil terhadap suhu panas. Pada suhu diatas 70° C sebagian besar protien praktis inaktif (karena denaturasi berlangsung dengan cepat). Oleh sebab itu serum perlu disimpan pada suhu dingin (Martini, 1985)

Termos es merupakan tempat yang praktis untuk penyimpanan sampel, karena memiliki dua lapis dinding dan di tengah terdapat isolator panas sehingga mampu mempertahankan suhu bagian dalam. Perlakuan dengan memperpendek interval waktu penggantian es yang telah mencair dengan es yang baru akan semakin menjaga suhu tetap dingin (Hadiat, 1997).



### **Tujuan Penelitian**

Berdasarkan landasan teori yang ada maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama penyimpanan dan interval waktu penggantian es terhadap stabilitas titer antibodi ND pada sampel serum yang disimpan dalam termos es. Pada akhirnya dapat memberikan informasi sampai berapa lama serum yang di simpan dalam termos es dapat diuji HI dengan hasilnya masih tetap menggambarkan titer yang sesuai dengan waktu pengambilan sampel serum.

### **Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat luas khususnya peternak mengenai pengaruh lama penyimpanan dan interval waktu penggantian es terhadap stabilitas titer antibodi ND pada sampel serum yang disimpan dalam termos es sehingga dapat diperoleh serum dengan titer antibodi masih baik untuk pelaksanaan uji HI.

### **Hipotesis Penelitian**

Berdasarkan latar belakang dan rumusan diatas, maka dalam penelitian ini, mengajukan hipotesis yaitu terdapat pengaruh lama penyimpanan 1 hari, 2 hari, 3 hari, 4 hari serta interval waktu penggantian es tiap 6 jam, 8 jam, 10 jam terhadap stabilitas titer antibodi ND pada sampel serum yang disimpan dalam termos es.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### **Tinjauan umum *Newcastle Disease***

*Newcastle Disease* di Indonesia lebih dikenal sebagai penyakit tetelo. Penyakit tetelo disebabkan oleh virus ND yang termasuk paramyxovirus (Ressang 1984; Copland, 1987). Pada permukaan virion terdapat hemagglutinin dan neuraminidase, adanya hemagglutinin menyebabkan virus ND dapat mengaglutinasi eritrosit (Sianita 1988; Fenner, *et al.*, 1995) Sifat ini dipakai sebagai dasar uji hemagglutinasasi (HA). Antibodi terhadap virus ND dapat menghambat reaksi hemagglutinasasi. Penghambatan ini terjadi karena hemagglutinin berikatan dengan antibodi sehingga tidak dapat berikatan dengan eritrosit. Sifat ini dipakai sebagai dasar uji hambatan hemagglutinasasi (*Hemagglutination Inhibition*, HI). Uji HI dipakai untuk mengidentifikasi virus ND karena hanya antibodi spesifik yang dapat berikatan dengan antigen spesifik. Disamping itu uji HI dapat digunakan untuk mengukur titer antibodi dalam serum (Ressang, 1984 ; Akoso, 1993).

Masa inkubasi ND bervariasi dari 2 sampai 15 hari atau lebih dengan rata-rata 5 – 6 hari (Akoso, 1993; Copland, 1987). Morbiditas ND tinggi, dapat mencapai 100% terutama pada ayam muda dan mortalitasnya bervariasi tergantung pada galur virus ND penyebab sakit (Copland, 1987). Virus ND galur velogenik menyebabkan mortalitas tinggi dan dapat mencapai 100% pada ayam yang tidak kebal (Ressang, 1984 ; Darminto dan Ronohardjo, 1996).

## **Vaksinasi dan kekebalan *Newcastle Disease***

Vaksinasi merupakan salah-satu usaha dalam pencegahan *Newcastle Disease* disamping sanitasi serta kebersihan kandang. Pelaksanaan vaksinasi merupakan keharusan bagi peternakan ayam (Darminto dan Ronohardjo, 1996). Setelah vaksinasi pertama, perlu dilanjutkan dengan vaksinasi ulang sebagai *booster*, yaitu vaksinasi tambahan untuk memperkuat antibodi (Sudardjat, 1991).

Tindakan vaksinasi pada ayam adalah yang paling efektif untuk mencegah *Newcastle Disease* serta pemberiannya sangat tergantung pada waktu pelaksanaan dan jenis vaksin yang diberikan (Sudardjat, 1991). Ada dua jenis vaksin ND yaitu vaksin ND aktif dan vaksin ND inaktif. Vaksin ND aktif antara lain galur lentogenik seperti Hitchner B1, F, La Sota, V4, ; galur mesogenik seperti Roakin, Komarov, Mukteswar (Ernawati, dan Soelistyanto, 1987). Galur La Sota merupakan vaksin lentogenik, tetapi kurang baik untuk vaksinasi pertama karena tingkat keganasannya lebih tinggi dari galur lentogenik lainnya (Ratnasari, 1987; Akoso, 1993). Untuk vaksinasi pertama lebih baik menggunakan galur B1 atau F (Darminto dan Ronohardjo, 1992).

Kekebalan yang dihasilkan oleh vaksinasi dapat terjadi seawal mungkin yakni dua hari setelah vaksinasi, meskipun pada saat itu titer antibodi masih sangat rendah atau bahkan belum terdeteksi oleh uji HI, oleh karena yang berperan disini adalah kekebalan seluler (Outteridge, 1985). Setelah antibodi terbentuk maka peranan kekebalan seluler dalam menentukan imunitas terhadap ND digantikan oleh antibodi (Tizard, 1987). Antibodi ini terbentuk dalam waktu 6 – 10 hari setelah vaksinasi. Oleh karena itu dalam mengukur titer antibodi,

pengambilan serum 14 hari setelah vaksinasi dimana kandungan antibodi mencapai optimum, dengan demikian dapat digunakan untuk memantau (monitoring) status kekebalan suatu peternakan ayam terhadap ND. Seharusnya monitoring merupakan bagian tidak terpisahkan dalam program pengendalian ND (Akoso, 1993; Price, 1994; Darminto dan Ronohardjo, 1996; Anonimus, 1999).

Untuk mengevaluasi kekebalan suatu peternakan ayam terhadap ND prosedurnya agak berbeda dengan mengevaluasi individu ayam. Peternakan yang dievaluasi adalah banyak ayam, maka diperlukan sampel (contoh) serum dari sebagian ayam untuk diperiksa. Sampel yang diperiksa tersebut cukup representatif dalam mewakili seluruh peternakan ayam. Untuk evaluasi kekebalan terhadap ND diperlukan sampel serum dari ayam yang telah divaksinasi. Hasil akhir dari pemeriksaan di laboratorium sangat dipengaruhi oleh cara penanganan dan pengiriman contoh atau sampel yang dilakukan oleh dokter hewan, paramedis, petugas lapangan maupun peternak. Contoh yang dikirim secara cepat dan benar terbuka kemungkinan akan dapat dicapai hasil pemeriksaan laboratorium yang 100% akurat, apabila sampel yang dikirimkan kurang atau tidak tepat, maka keakuratan pemeriksaan laboratorium menurun bahkan dapat menjadi 0% (Akoso, 1993 ; Darminto dan Ronohardjo, 1996 ; Anonimus 1999).

## **Serum**

Serum merupakan cairan yang terdapat di dalam tubuh seperti dalam darah yang menjadi kental (Purbianto, A. 1989). Pengambilan serum dari darah tanpa antikoagulan sehingga darah membeku dan serum terpisah (Anonimus, 1999).

Susunan serum terdiri dari bahan biomolekul yang sangat kompleks dengan ukuran yang berbeda-beda besar maupun kecil dengan fisiologis yang berbeda pula. Serum juga mengandung beberapa protein binding yang membawa molekul esensial, misalnya albumin, globulin, vitamin, lipid (asam lemak kolesterol, hormon) dan pada akhirnya serum ditemukan beberapa macam element (Cu, Zn, Co, Mn, Mo, Va, Se) (Outteridge, 1985; Rantam dan Ernawati, 1989).

Setelah Pasteur menemukan bahwa kekebalan terhadap bibit penyakit menular dapat ditimbulkan dengan jalan vaksinasi, maka segera diketahui bahwa zat yang menyebabkan kekebalan dapat ditemukan dalam serum darah. Faktor yang terdapat dalam serum yang memberikan efek kekebalan disebut antibodi (Moelock, 1995)

Antibodi adalah molekul protein yang dihasilkan oleh sel plasma sebagai akibat interaksi dengan antigen. Molekul antibodi seperti protein lainnya secara fisikokimiawi dapat stabil dalam suhu dingin dan labil pada suhu panas. Pada suhu diatas  $70^{\circ}\text{C}$  sebagian besar protein praktis inaktif karena denaturasi berlangsung dengan cepat ( Martini. 1985).

Karena molekul antibodi adalah globulin, maka umumnya dikenal sebagai imunoglobulin (yang dapat disingkat Ig). Istilah imunoglobulin dipakai untuk menggambarkan protein yang mempunyai aktivitas antibodi (Bellanti, 1985).

Dalam serum dikenal lima macam kelas imunoglobulin yang berbeda, masing – masing peran biologi spesifik yang berbeda. Kelas – kelas ini ditandai dengan huruf G, A, M, D, dan E dibelakang singkatan Ig (menunjukkan fungsi imunoglobulin) (Bellanti, 1985).

Imunoglobulin G adalah kelas imunoglobulin yang terdapat dalam konsentrasi tertinggi dalam serum oleh karena itu memainkan peran utama dalam mekanisme pertahanan yang diperantarai oleh antibodi. Berat molekul IgG adalah 180.000 dalton. Kelas imunoglobulin berikutnya adalah IgM. Imunoglobulin M merupakan imunoglobulin yang terdapat dalam konsentrasi nomor dua tertinggi dalam serum dari kebanyakan hewan IgM mempunyai berat molekul 900.000 dalton. Imunoglobulin A dalam serum hewan hanya berupa komponen minor. Selanjutnya imunoglobulin E terdapat dalam serum hewan pada konsentrasi rendah dengan berat molekul 196.000 dalton. Terakhir adalah imunoglobulin D, imunoglobulin yang terdapat pada permukaan limfosit (Tizard. 1987).

### **Uji Hambatan Hemaglutinasi**

Pemeriksaan laboratorium *Newcastle Disease* yang sederhana adalah uji HA dan HI plate (Rapid HA and HI Test), uji HA adalah hemaglutinasi pada objek glass yaitu menambahkan eritrosit dan suspensi virus sama banyak. Uji ini berkembang yang dikenal dengan HA test makroteknik yaitu mereaksikan antigen dan eritrosit di dalam tabung dan disempurnakan menjadi uji HA mikroteknik. Sedang uji HI adalah adanya hambatan hemaglutinasi karena antigen telah terikat oleh antibodi dan uji HI ini juga berkembang menjadi uji HI makroteknik dan mikroteknik (Soetardjo 1981; Ernawati dkk, 1996).

Uji hambatan hemaglutinasi dilakukan dalam dua cara yang umum. Yang pertama (disebut prosedur  $\beta$ ), virus yang ditambahkan ke masing - masing tabung berjumlah konstan sedangkan serum yang diuji diencerkan secara seri.

Virus perlu dititrasi lebih dahulu untuk menentukan aktifitas hemaglutinasi dan sudah biasa menggunakan empat atau delapan kali dosis minimal, yaitu empat atau delapan unit hemaglutinasi didalam sebuah pengujian. Cara lain yang digunakan untuk mengukur tingkat antibodi dengan hambatan hemaglutinasi adalah menambahkan antiserum jumlah standar ke masing – masing tabung sedangkan suspensi virus yang diketahui aktivitas hemaglutinasi dibuat pengenceran seri (Prosedur  $\alpha$ ) (Coles, 1986 ; Tizard 1987).

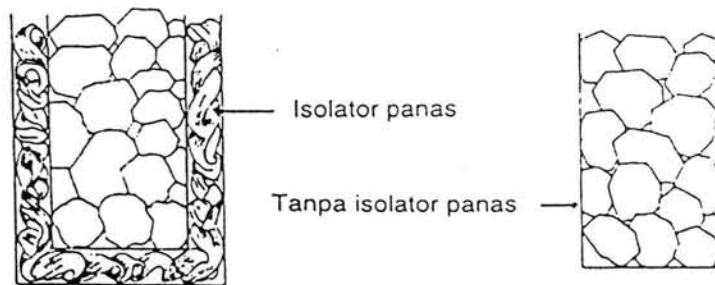
### **Termos Alat Penyimpan Sampel**

Perkembangan teknologi mendorong manusia untuk membuat alat penyimpanan sampel yang suhunya dapat dikontrol. *Freezer* merupakan tempat penyimpanan yang suhu dapat dikontrol, tetapi untuk transportasi masyarakat umumnya belum atau jarang menggunakan mobil *freezer* disamping mahal juga kurang efisien dan tidak praktis. Dalam pelaksanaan di lapangan sering menggunakan termos es sebagai alat penyimpanan yang mampu mempertahankan suhu dan menjaga tanggal kadaluwarsa dari suatu sampel (Anonimus, 1998).

Struktur termos yang memakai dinding sebagai isolator panas (tidak menghantarkan panas) cukup bisa mempertahankan suhu dalam termos sehingga pemberian es akan semakin menurunkan suhu (Gambar 1.). Disamping itu dinding termos dibuat dua lapis yang mampu mencegah terjadinya pengaruh panas dari luar (Hadiat, 1997).

Volume termos es yang digunakan sebagai alat penyimpan memang beragam dari volume kecil 1,5 liter, sedang 3,5 liter hingga volume besar 5,5 liter.

Volume besar diimbangi dengan jumlah es yang ditampung cukup banyak sedangkan volume kecil es yang ditampung sedikit. Volume pada termos berbanding lurus dengan jumlah es yang ditampungnya (Hadiat. 1997).



Gambar 1. Tempat es (temos es dengan isolator panas) dan tempat es tanpa isolator panas (Hadiat 1997)

Sekarang ini jenis, ukuran, dan volume termos yang memang bermacam – macam sehingga menampung es juga berbeda - beda. Namun semua itu telah diperhitungkan oleh pembuat termos dengan perbandingan volume kecil dan jumlah es yang sedikit mampu mempertahankan suhu demikian juga termos besar dengan volume yang besar maka perlu es yang banyak untuk mempertahankan suhu (Hadiat. 1997).

Menurut Hadiat (1997) es batu dibedakan dua jenis yaitu es yang telah masak dengan ciri – ciri bentuk padatan yang keras dengan warna putih jernih dan tembus pandang selanjutnya es yang belum masak yang mempunyai ciri bentuk padat agak rapuh dan warna putih suram.



### BAB III

## MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan dikandang buatan Kelurahan Keputih Kecamatan Sukolilo dan di Laboratorium Virologi dan Immunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Waktu penelitian mulai tanggal 20 Mei 2000 sampai 28 Juli 2000.

#### Bahan dan Materi Penelitian

##### □ Hewan Percobaan

Dalam penelitian ini menggunakan hewan percobaan 50 ekor DOC (*Day Old Chicken*) pedaging galur *Arbor acres* produksi Charoen Pokphand Jaya Farm.

##### □ Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain vaksin ND aktif galur Hitchner B1, vaksin ND aktif galur La Sota, larutan NaCl Fisiologik, antikoagulan *Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid* (EDTA), aquadest, eritrosit ayam 0,5%, dan antigen ND produksi PUSVETMA Surabaya.

##### □ Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan adalah mikroplat bentuk V, mikropipet dropper 0,025 ml dan 0,05 ml, mikrodiluter 0,025 ml, tabung sentrifus dengan sumbat dari karet, rak tabung, kapas, spuit (*disposable syringe*) 5 ml, 10 ml, gelas ukur, erlenmeyer, pipet ukur, pipet pasteur, api bunsen dan *microtube*.

#### □ Materi penelitian

Materi penelitian ini menggunakan sampel serum yang diperoleh dari ayam yang telah divaksinasi ND.

### **Metode Penelitian**

#### □ Persiapan Penelitian

Sebelum penelitian dimulai semua kandang difumigasi dengan larutan formalin 40 % dan KMnO<sub>4</sub>.

#### □ Perlakuan pada hewan percobaan

Sebanyak 50 ekor ayam jenis pedaging umur sehari dipelihara sampai umur 3 hari dilakukan vaksinasi dengan ND aktif galur Hitchner B1 tetes mata, pada umur 21 hari dilakukan vaksinasi ulang dengan vaksin aktif galur La sota suntikan intra muskular. Selanjutnya ditunggu sampai 14 hari sehingga diperoleh titer antibodi yang cukup tinggi (Sudardjat, 1991).

#### □ Pengambilan sampel serum

Ayam umur 35 hari tersebut masing-masing diambil darahnya dari vena *brachialis* dengan jalan diiris, diambil darahnya sebanyak 5 ml lalu diletakkan pada tabung sentrifus. Untuk mendapatkan serum tabung sentrifus diletakkan miring dan dibiarkan pada suhu kamar, kemudian serum dipisahkan dari gumpal darah dan disimpan dalam *microtube*. Serum yang telah diperoleh ini telah siap digunakan sebagai uji HI (Smith dan Mangkoewidjojo 1988; Akoso 1998).

□ Perlakuan Sampel Serum

Tahap berikutnya adalah mengukur titer antibodi ND dengan HI pada masing-masing serum, serum tersebut dikelompokan berdasarkan titer antibodi ND yang sama pada uji HI. Kelompok tersebut adalah :

Kelompok 1 : Titer antibodi ND ( $\log_2$ ) 5

Kelompok 2 : Titer antibodi ND ( $\log_2$ ) 4

Kelompok 3 : Titer antibodi ND ( $\log_2$ ) 3

Kelompok 4 : Titer antibodi ND ( $\log_2$ ) 2

Masing – masing kelompok diambil secara acak sebanyak perlakuan lama penyimpanan yaitu empat sampel serum untuk disimpan pada tiga termos es (Faktor (I) Interval waktu penggantian es), yang terdiri dari :

Termos i1 : Interval waktu penggantian es tiap 6 jam

Termos i2 : Interval waktu penggantian es tiap 8 jam

Termos i3 : Interval waktu penggantian es tiap 10 jam

Sedangkan pengamatan yang dilakukan untuk setiap satu sampel serum adalah lama waktu penyimpanan dalam termos es (Faktor (P) Penyimpanan) yang terdiri dari :

p0 : Perlakuan lama penyimpanan 0 hari (sebelum disimpan)

p1 : Perlakuan lama penyimpanan 1 hari

p2 : Perlakuan lama penyimpanan 2 hari

p3 : Perlakuan lama penyimpanan 3 hari

p4 : Perlakuan lama penyimpanan 4 hari

Pemeriksaan titer antibodi HI dilakukan pada tiap perlakuan. Menurut Ernawati, dkk (1996) pelaksanaan uji hambatan hemaglutinasi (*HI Test*) dibagi dalam tiga tahap, yaitu :

1. Uji Hemaglutinasi

Uji hemaglutinasi dilakukan untuk mengukur titer antigen. Cara kerjanya sebagai berikut :

Lubang 1 sampai lubang 12 diisi NaCl fisiologik sebanyak 0,025 ml dengan menggunakan pipet dropper. Pada lubang 1 ditambahkan antigen yang akan diuji sebanyak 0,025 ml. Kemudian pada lubang 1 dimasukkan mikrodiluter, dilakukan pencampuran dengan cara diputar – putar lalu dilakukan pengenceran secara seri dengan cara memindahkan mikrodiluter 0,025 ml dari lubang 1 ke lubang 2 dilakukan pencampuran dan dipindah lagi ke lubang 3 dan seterusnya sampai lubang 11. Lubang 12 tidak diisi antigen karena digunakan sebagai kontrol sel darah merah. Kemudian pada setiap lubang ditambahkan 0,05 ml darah merah ayam 0,5 % dan mikroplat digoyang – goyang secara perlahan – lahan. Selanjutnya dibiarkan pada suhu kamar selama 30 menit atau sampai kontrol darah merah dapat dibaca.

Berdasarkan titer antigen yang didapat, selanjutnya dilakukan pengenceran hingga 4 HA Unit, lalu dilakukan retitrasi untuk mengetahui apakah antigen yang digunakan sudah tepat 4 HA Unit.

## 2. Uji Retitrasi

Uji Retitrasi dilakukan untuk mengetahui apakah antigen yang digunakan sudah tepat 4 HA Unit. Cara kerjanya sebagai berikut :

Lubang 1 sampai 5 diisi NaCl fisiologik sebanyak 0,025 ml dengan menggunakan pipat dropper. Kemudian ditambahkan antigen 4 HA Unit pada lubang 1 sebanyak 0,025 ml dan dimasukkan mikrodiluter. Dilakukan pencampuran dengan cara diputar – putar lalu dilakukan pengenceran secara seri. Kemudian pada setiap lubang ditambahkan 0,05 ml darah merah ayam 0,5 % dan mikroplat digoyang – goyang perlahan – lahan. Didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit atau sampai kontrol sel darah merah dapat dibaca. Jika antigen yang dibuat tepat 4 HA Unit, maka hemaglutinasi akan terjadi sampai lubang nomor 2.

## 3. Uji Hambatan Hemaglutinasi

Uji ini digunakan yang paling terakhir untuk mengetahui adanya titer antibodi ND dan langkahnya sebagai berikut :

Lubang 1 sampai lubang 12 diisi NaCl fisiologik sebanyak 0,025 ml dengan menggunakan pipet dropper. Pada lubang 1 ditambahkan serum yang akan diuji sebanyak 0,025 ml. Selanjutnya pada lubang 1 dimasukkan mikrodiluter, dilakukan pencampuran dengan cara diputar – putar kemudian dilakukan pengenceran secara seri dengan cara memindahkan mikrodiluter 0,025 ml dari lubang 1 ke lubang 2 lalu dilakukan pencampuran dan dipindahkan lagi ke lubang 3 dan seterusnya sampai lubang 10. Pada lubang 11 tidak diisi serum karena digunakan sebagai kontrol sel darah merah, sedangkan lubang 12 diisi

serum 0,025 ml sebagai kontrol serum. Selanjutnya pada lubang 1 sampai 10 ditambahkan antigen 4 HA Unit sebanyak 0,025 ml, lalu dibiarkan pada suhu kamar selama 15 menit. Pada masing – masing lubang 1 sampai 12 ditambahkan darah merah ayam 0,5 % sebanyak 0,05ml. Lalu mikroplat digoyang secara perlahan dan dibiarkan pada suhu kamar selama 30 menit atau sampai kontrol sel darah merah dapat dibaca (Ernawati, dkk., 1996 ; Anonimus 1999).

#### □ Perlakuan Pada Tempat penyimpanan

Tempat penyimpanan adalah tiga termos es volume 3,5 liter produksi Maspion Group dengan dua dinding lapisan luar dan dalam serta isolator panas berupa gabus. Ketiga termos es masing – masing termos i1, i2, dan i3 diberi bongkahan es sampai penuh (3 kilogram). Es yang digunakan diperoleh dari penjual es batu keliling dengan ciri warna es putih agak keruh dan bentuk padatnya keras. Termos i1 interval penggantian jumlah es yang mencair dengan es yang masih padat tiap 6 jam, termos i2 interval tiap 8 jam, termos i3 interval tiap 10 jam. Pengamatan suhu dilakukan tiap – tiap tiga jam selama lebih kurang 5 menit sehingga pada satu hari terdapat delapan kali pengamatan hasilnya dicari rata – rata suhu termos yang terjadi tiap harinya. Suhu tersebut ditabulasikan untuk identifikasi suhu termos es sebagai data penunjang pada penelitian ini.

#### **Rancangan Penelitian**

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok pola Petak Terbagi (*Spilt Plot design*) (Kusriningrum 1989). Dengan dua faktor, Faktor I sebagai petak utama (interval waktu

penggantian es) dan Faktor P sebagai anak petak (lama penyimpanan) serta interaksi dua faktor (Ronald, 1988; Gaspersz, 1991).

### **Peubah yang diamati**

Peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah :

Pemeriksaan terhadap titer antibodi ND dengan menggunakan uji hambatan hemaglutinasi (*Hemagglutination Inhibition Test*) , Pemeriksaan titer antibodi ND dilakukan tiap hari selama 4 hari pada sampel serum yang disimpan dalam tiga termos es dengan interval waktu penggantian es yang berlainan.

### **Analisis Penelitian**

Analisis data dilakukan secara statistik sesuai dengan rancangan acak kelompok pola petak terbagi. Dari hasil titer antibodi dari kelompok perlakuan tersebut dikumpulkan dan ditabulasikan, kemudian dianalisa dengan uji F dan dilanjutkan uji Beda Nyata Jujur (BNJ 5%) (Kusriningrum, 1989 ; Ronald, 1988; Gaspersz, 1991).

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN

#### Lama Penyimpanan

Hasil keseluruhan titer antibodi ND dari serum yang di simpan dalam termos es dapat dilihat dalam lampiran 2 sampai lampiran 4. Rata – rata titer antibodi ND dari masing masing perlakuan lama penyimpanan dapat dilihat dalam tabel 1 dibawah ini.

Tabel 1. Rata – rata titer antibodi ND (log<sub>2</sub>) hasil pengaruh lama penyimpanan

Perlakuan (lama penyimpanan)	Rata – rata titer antibodi ND (log <sub>2</sub> )
p0 (lama penyimpanan 0 hari)	3,50 ± 0,000 (a)
p1 (lama penyimpanan 1 hari)	3,00 ± 0,250 (ab)
p2 (lama penyimpanan 2 hari)	2,92 ± 0,381 (b)
p3 (lama penyimpanan 3 hari)	2,92 ± 0,577 (b)
p4 (lama penyimpanan 4 hari)	2,75 ± 0,661 (b)

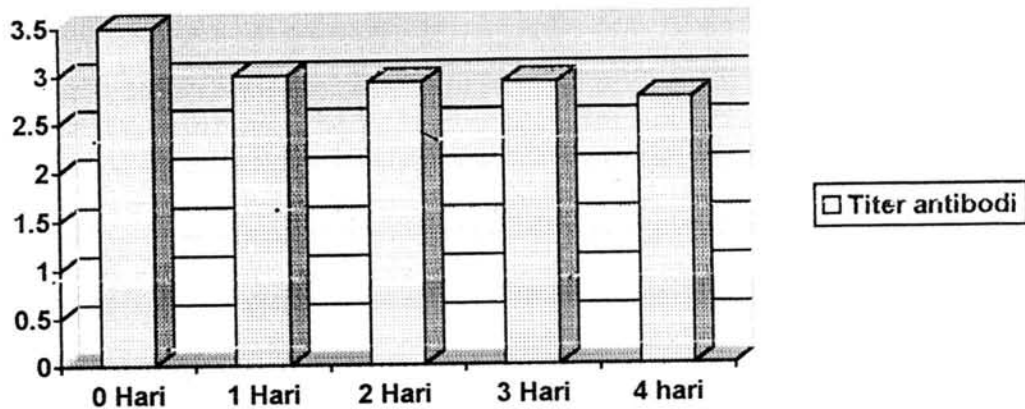
Keterangan :

Superskrip yang berbeda pada baris yang berbeda menunjukkan antara perlakuan berbeda sangat nyata ( $p < 0,05$ )

Pada pengamatan lama penyimpanan, rata – rata titer antibodi yang diperoleh pada perlakuan lama penyimpanan 0 hari dengan lama penyimpanan 1 hari tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ), tetapi lama penyimpanan 0 hari dengan lama penyimpanan 2 hari, 3 hari, dan 4 hari perbedaannya sangat nyata ( $p < 0,05$ ).



Kondisi dari kestabilan rata – rata titer antibodi ND yang diperoleh karena pengaruh lama penyimpanan dapat dilihat pada diagram di bawah ini :



Gambar 2. Diagram rata – rata titer antibodi ND pada berbagai lama penyimpanan

Diagram di atas menunjukkan bahwa rata – rata titer antibodi tertinggi diperoleh pada lama penyimpanan 0 hari, walaupun demikian dalam analisis statistik tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ) dengan lama penyimpanan 1 hari

#### **Interval Waktu Penggantian Es.**

Hasil titer antibodi ND pengaruh interval waktu penggantian es dapat dilihat dalam lampiran 2 sampai lampiran 4. Rata – rata titer antibodi ND ( $\log_2$ ) dari masing – masing interval waktu penggantian es dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

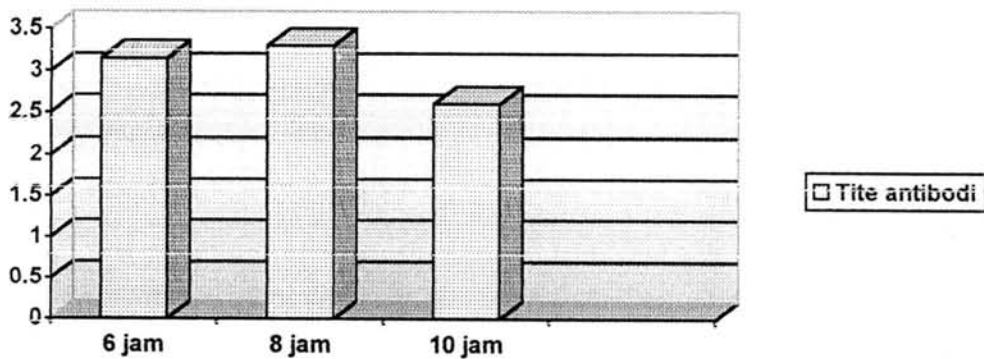
Tabel 4. Rata – rata titer antibodi ND ( $\log_2$ ) hasil pengaruh interval waktu penggantian es

Perlakuan (interval penggantian es)	Rata – rata titer antibodi ND ( $\log_2$ )
i1 (interval penggantian es tiap 6 jam)	3,15 $\pm$ 0,223 (a)
i2 (interval penggantian es tiap 8 jam)	3,30 $\pm$ 0,111 (a)
i3 (interval penggantian es tiap 10 jam)	2,60 $\pm$ 0,575 (a)

Keterangan :

Superskrip yang sama pada baris yang berbeda menunjukkan antara perlakuan tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ )

Hasil rata – rata titer antibodi ND pengaruh interval waktu penggantian es tiap 6 jam, 8 jam, dan 10 jam antara perlakuan tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ).



Gambar 3. Diagram rata – rata titer antibodi ND pada berbagai interval waktu penggantian es

Dari diagram rata – rata titer antibodi tertinggi dicapai pada interval waktu penggantian es tiap 8 jam dan tidak berbeda nyata dengan ( $p > 0,05$ ) dengan lainnya.

## BAB V

### PEMBAHASAN

Penyimpanan sampel serum dipengaruhi oleh lama penyimpanan dan suhu penyimpanan (Akoso, 1993). Penelitian ini menggunakan termos es sebagai tempat menyimpan serum. Suhu dalam termos dipengaruhi oleh interval waktu penggantian es. Semakin pendek interval waktu penggantian es semakin dingin suhu termos es (Hadiat, 1997).

Data suhu (lampiran 5) merupakan data penunjang dalam penelitian, data ini dapat digunakan untuk mengidentifikasi suhu yang dipergunakan selama penelitian.

Serum merupakan cairan yang didalamnya terdapat imunoglobulin, imunoglobulin ini merupakan protein yang mempunyai aktifitas pertahanan tubuh (Bellanti, 1985; Tizard, 1987). Protein stabil dalam suhu dingin dan labil pada suhu panas. Pada suhu di atas 70° C praktis protein tersebut mengalami denaturasi, sedangkan di bawah 4° C serum tersebut akan tahan hanya beberapa minggu (Martini, 1985; Anonimus 1999).

Kondisi dari kestabilan rata – rata titer antibodi ND yang diperoleh karena pengaruh lama penyimpanan menunjukkan bahwa titer antibodi tertinggi pada lama penyimpanan 0 hari (serum belum disimpan dalam termos es) dan lama penyimpanan 1 hari. Rata – rata dari titer anti bodi pada lama penyimpanan 0 hari dengan 1 hari menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ). Ini dimungkinkan terjadi karena penyimpanan dalam termos es menggunakan suhu dingin, yaitu

suhu di atas  $0^{\circ}\text{C}$  dimana serum yang disimpan dalam waktu 24 jam pada suhu dingin protein belum mengalami perubahan (Akoso, 1993).

Perbedaan rata – rata titer antibodi akan muncul setelah lama penyimpanan 2 hari. Perbedaan ini karena suhu yang digunakan pada termos es tidak konstan (lampiran 5). Menurut Akoso (1993) serum yang disimpan untuk keperluan transportasi diusahakan suhu dibawah  $4^{\circ}\text{C}$  sedangkan suhu diatasnya bisa menyebabkan gangguan kestabilan protein. Disamping itu termos es kondisinya tidak stabil, dimana suhu di dalam termos juga dipengaruhi oleh suhu luar.

Penurunan titer antibodi pada lama penyimpanan jelas terjadi akibat pengaruh suhu yang tidak konstan. Naik turunnya suhu bisa menyebabkan denaturasi protein sehingga mengakibatkan penurunan titer antibodi yang terdapat pada sampel serum yang disimpan dalam termos es.

Termos sebagai tempat penyimpan sampel serum, dalam termos suhunya sulit dikontrol sedangkan yang bisa dikontrol adalah interval waktu penggantian es. Kondisi inilah yang membuat termos es memiliki suhu yang naik turun (lampiran 5), karena sewaktu termos baru mengalami penggantian es maka suhu akan rendah dan apabila beberapa saat tidak diganti suhu akan naik. Sebenarnya naiknya suhu dalam termos es berjalan lambat, ini akibat dari isolator suhu yang ada dalam termos. Isolator ini berperan sebagai penghambat pengaruh suhu luar, tetapi lama - kelamaan suhu luar akan mempengaruhi suhu dalam termos sehingga kenaikan suhu tersebut tetap terjadi (Hadiat, 1997).

Suhu dalam termos es tidak lepas dari pengaruh pemberian es sehingga jika pemberian es dilakukan dalam interval yang singkat maka suhu yang didapat

akan rendah. Ini terlihat pada lampiran 5 dimana interval waktu penggantian es tiap 6 jam dan 8 jam suhu rata – rata akan lebih rendah atau dingin dibandingkan dengan suhu rata – rata pada interval waktu penggantian es tiap 10 jam.

Pengaruh interval waktu penggantian es terhadap rata – rata titer antibodi ND, memperlihatkan bahwa rata – rata titer antibodi tertinggi dicapai pada interval waktu penggantian es tiap 8 jam. Berdasarkan analisis statistik bahwa antara interval penggantian 6 jam, 8 jam, dan 10 jam tidak berbeda nyata ( $p>0,05$ ).

Menurut Halliwell dan Gorman (1989) serum dan protien serum bisa disimpan dalam 1-5 ° C sehingga jelas adanya titer antibodi yang cukup rendah dari interval waktu penggantian es tiap 10 jam. Ini karena lama dan frekuensi penggantian sebesar 10 jam yang mengakibatkan suhu di atas 5° C (data penunjang lampiran 5). Suhu yang terlalu tinggi ini yang mengakibatkan sampel serum dalam interval waktu penggantian es tiap 10 jam cenderung mengalami penurunan dibandingkan dengan sampel serum yang disimpan pada interval waktu 6 jam dan 8 jam walaupun secara statistik diketahui berbeda tidak nyata.

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah :

1. Tidak terdapat pengaruh terhadap stabilitas titer antibodi ND pada sampel serum yang disimpan dalam termos es selama 1 hari dengan lama interval waktu penggantian es tiap 6 jam, 8 jam, 10 jam.
2. Terdapat pengaruh terhadap stabilitas titer antibodi ND pada sampel serum yang disimpan dalam termos es dengan lama penyimpanan lebih dari 1 hari.

Berdasarkan penelitian ini, saran yang diajukan adalah :

1. Perlu penelitian lagi mengenai pengaruh lama penyimpanan terhadap stabilitas titer antibodi serum yang disimpan dalam *styro foam* sebagai alternatif alat penyimpan sampel selain termos es.
2. Dalam pelaksanaan uji serologi di lapangan, bila menggunakan termos es sebagai alat penyimpan sampel serum sebaiknya dalam waktu yang singkat tidak lebih dari 1 hari dan penggantian es perlu dikontrol

## RINGKASAN

ELY KURNIA HARIADI Stabilitas Titer Antibodi ND (*Newcastle Disease*) pada Sampel Serum Yang Disimpan Dalam Termos Es. Bimbingan DR. M. Zainal A., M.S., Drh. dan Nanik Sianita W., S.U., Drh.

ND (*Newcastle Disease*) sudah dikenal banyak orang tentang keganasan dan cepatnya menular. Vaksinasi terhadap ND merupakan keharusan bagi suatu peternakan ayam. Vaksinasi perlu diikuti adanya pemantauan terhadap status kekebalan suatu peternakkan. Pemantauan ini digunakan untuk mengevaluasi keberhasilan dari vaksinasi serta mengetahui tingkat kekebalan ternak ayam.

Untuk memantau status kekebalan tersebut peternak mengirim sampel serum ke laboratorium guna pelaksanaan uji serologis. Sampel serum tersebut harus tetap dalam kondisi yang segar dan tersimpan dalam suhu dingin ( $1-5^{\circ}\text{C}$ ) maka peternak menggunakan termos es sebagai alat penyimpan sementara.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama penyimpanan dan interval waktu penggantian es terhadap stabilitas titer antibodi ND pada sampel serum yang disimpan dalam termos es sehingga peternak tidak ragu – ragu lagi menggunakan termos es sebagai alat penyimpan serum.

Penelitian ini menggunakan 50 ekor anak ayam diperlakukan sama dan diberi vaksinasi ND standar. Selanjutnya pada umur 35 hari ayam tersebut diambil serumnya untuk menentukan titer antibodi ND, setelah diketahui titer antibodi ND serum dikelompokkan menjadi empat, masing – masing dengan titer antibodi ND ( $\log_2$ ) 5, 4, 3, dan 2. Setiap anggota kelompok diambil secara acak

untuk ditempatkan dalam termos es i1, i2, dan i3, termos – termos ini berbeda dalam interval waktu penggantian es dari mulai 6 jam, 8 jam, dan 10 jam. Dari tiap – tiap termos tersebut ada sampel yang dipersiapkan untuk uji HI pada lama penyimpanan 1 hari, 2 hari, 3 hari, dan 4 hari. Desain percobaan yang digunakan adalah rancangan petak terbagi (*Split Plot Design*) yang terbagi dalam faktor I (Interval) dan lama penyimpanan sebagai faktor P (Perlakuan lama penyimpanan). Data penelitian dianalisis secara statistik dan dilanjutkan dengan menggunakan uji Beda Nyata Jujur.

Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat pengaruh terhadap stabilitas titer antibodi ND pada sampel serum yang disimpan dalam termos es selama 1 hari dengan lama interval waktu penggantian es tiap 6 jam, 8 jam, dan 10 jam.

Berdasarkan hasil penelitian ini disarankan dapat melakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh penggunaan *styro foam* sebagai alternatif alat penyimpan sampel serum dan peternak dapat menggunakan termos es sebagai alat penyimpan sampel serum dalam waktu singkat (tidak lebih dari 1 hari).



**DAFTAR PUSTAKA**

- Akoso, B. T. 1993. Manual Kesehatan Unggas Panduan bagi Petugas Teknis, Penyuluh dan Peternak. Kanisius. Yogyakarta.
- Anonimus. 1991. Kamus Besar Bahasa Indonesia. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Penerbit Balai Pustaka. Jakarta.
- Anonimus. 1998. Petunjuk Praktis Penggunaan Vaksin ND. Medion Bandung.
- Anonimus. 1999. Vademecum Pusat Veterinaria Farma. Distributor KP – RI Aneka Usaha Surabaya.
- Bellanti, J. A. 1985. Immunology III. Georgetown University School of Medicine. Washington, D. C.
- Coles, Embert H. 1986. Veterinary Clinical Pathology. Departement of Laboratory Medicine Kansas State University. Mahattan. Kansas. Page 302 – 368.
- Copland, J. W. 1987. Newcastle Disease in Poultry: A New Food Pellet Vaccine. Australian Centre for International Agricultural Research. Camberra.
- Darminto dan Ronohardjo, P. 1992. Suatu Alternatif dalam Vaksinasi Penyakit Tetelo. Prosiding Seminar Agroindustri Peternakan di Pedesaan. Balai Penelitian Ternak. Ciawi. Bogor. Hal. 329 – 399.
- Darminto dan Ronohardjo, P. 1996. Newcastle Disease pada Unggas di Indonesia: Situasi Terakhir dan Relevansinya Terhadap Pengendalian Penyakit. Prosiding Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner. Balai Penelitian dan Pengembangan Peternakan. Cisarua. Bogor. Hal. 65 – 89.
- Ducan, J. Kobert. 1987. Veterinary Laboratory Medecine. Departement of Veterinary Pathology College of Veterinary Medicine University of Georgia. Athens. Geogia. Iowa State University Press. Ames. Iowa. Page 175 – 178.
- Ernawati, R dan Soelistyanto, 1989. Ilmu Penyakit Viral Labolatorium Virologi dan Imunologi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Ernawati, R.; Prijo, A.; Sianita, N.; Rahmahani, J.; Rantam, F.; Tjahjaningsih, W.; Suwarno. 1996. Petunjuk Praktikum Penyakit Viral. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas airlangga. Surabaya.

- Fenner, F. J.; Poul, E. J.; Murphy, A. F.; Rott, R.; Studert, m. j.; White, D. O. 1995. *Virologi Veteriner*. Ikip Semarang Press. Semarang.
- Gaspersz, V. 1991. *Metode Perancangan Percobaan*. Armico. Bandung
- Gillespie, J.H. and J. F. Timoney. 1981. *Hagan and Brunner's Infectious Diseases of Domestik Animals*. Comstok Publishing Associates adivision of Cornell University Press. Ithaca London.
- Hadiat. 1997. *Alam Sekitar Kita*. Edisi ke 3. Cetakan ke 4. Pusat Perbukuan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Jakarta.
- Halliwell, Richard E. 1989. *Veterinary Clinical Immunology*. W. B. Scounders Company. Harcout Brace Java Hovich. Inc. Philadelphia.
- Kusriningrum, 1989. *Rancangan Acak Kelompok, Rancangan Bujur Sangkar Latin, Pola Faktorial, Pola Petak Terbagi*. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Martini, T. 1985 *Enzim Dalam Ilmu Biokimia*. Fakultas Kedokteran. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Moeloek, D. 1995. *Mekanisme Pertahanan Tubuh*. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Outteridge, P. M. 1985. *Veterinary Immunology*. United States. Edition Published. Academic Press. Inc. Orlando. Florida.
- Price, S.A. 1994. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses – proses Penyakit*. Edisi Ke 4. Buku Kedokteran. EGC. Jakarta.
- Purbianto, A. 1989. *Sistem Koloid Edisi Ke 3*. P.T. Intan Pariwara. Surakarta.
- Rantam dan Ernawati, R. 1989. *Pengaruh Beberapa Serum Terhadap Pertumbuhan Sel Monolayer*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Ratnasari, R. 1987. *Pengaruh Pemberian Adjuvan Sebelum Vaksinasi ND Aktif Terhadap Titer H.I Pada Anak Ayam*. Thesis. Fakultas Pasca Sarjana. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Ressang, A. A. 1984. *Patologi Khusus Veteriner*. Edisi ke – 2. N. V. Percetakan Bali.
- Ronald E. Walpole 1988. *Pengantar Statistik*. Edisi Ke –3 Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

- Schalm, O.W. ; Jain, N.C. and Carroll, E. 1975. *Veterinary Hematology* 3<sup>rd</sup> Edition. Lea & Febiger Philadelphia.
- Sianita, N. 1988. Pengaruh Levamisol dan Klortetrasiklin Terhadap Titer HI Pada Anak Ayam Yang Divaksin ND. Thesis. Fakultas Pasca Sarjana. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Smith, J. B dan Mangkoewidjojo, S. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Soetardjo, S. D. 1981. *Penggunaan Azas Imunologi Dalam Diagnosa dan Analisa Kimia*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Veteriner. Institut Pertanian. Bogor
- Sudardjat, S. 1991. *Epidemiologi Penyakit Hewan, jilid I*. Direktorat Bina Kesehatan Hewan. Direktorat Jendral Peternakan. Departemen Pertanian. Jakarta.
- Tizard. 1987. *Pengantar Imunologi Veteriner*. Airlangga University Press. Surabaya.

**L A M P I R A N**

### Lampiran : 1 Pembuatan Darah Merah Ayam 0,5%

Darah ayam diambil sebanyak 5 ml melalui vena sayap (*vena brachialis*). Darah yang didapat dimasukkan ke dalam tabung sentrifus yang sebelumnya sudah diisi antikoagulan dan digoyang – goyang perlahan agar darah dapat bercampur dengan antikoagulan sehingga darah tidak menggumpal. Kemudian darah disentrifuse dengan kecepatan 1000 rpm selama lebih kurang 10 menit. Bagian supernatannya dibuang dan sel darah yang didapat dilakukan pencucian dengan cara menambahkan larutan NaCl fisiologis sebanyak supernatan yang dibuang, kemudian disentrifuse lagi dengan kecepatan 1000 rpm selama 10 menit. Pencucian dilakukan sebanyak tiga kali dengan cara yang sama seperti diatas atau setelah supernatannya terlihat jernih. Setelah pencucian terakhir, sel darah merah yang didapat dihisap sebanyak 0,5 ml dengan menggunakan pipet kaca, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambah dengan larutan NaCl fisiologis sampai volume 100 ml kemudian digoyang – goyang perlahan biar tercampur homogen.

Lampiran 2 : Hasil pengamatan titer antibodi ND (log 2) yang di simpan dalam termos es

Interval (I)	Kelompok	Lama Penyimpanan (P)					Total
		p0	p1	p2	p3	p4	
i1 Interval Penggantian Es tiap 6 jam	1	5	5	4	4	4	22
	2	4	3	3	4	3	17
	3	3	2	3	3	3	14
	4	2	2	2	2	2	10
Subtotal		14	12	12	13	12	63
Rata - rata		3,5	3,0	3,0	3,25	3,0	
i2 Interval Penggantian Es tiap 8 Jam	1	5	5	5	5	5	25
	2	4	4	4	4	3	19
	3	3	3	3	2	3	14
	4	2	1	1	2	2	8
Subtotal		14	13	13	13	13	66
Rata - rata		3,5	3,25	3,25	3,25	3,25	
i3 Interval Penggantian Es tiap 10Jam	1	5	4	3	3	3	18
	2	4	3	3	3	2	15
	3	3	2	2	2	1	10
	4	2	2	2	1	2	9
Subtotal		14	11	10	9	8	52
Rata - rata		3,5	2,75	2,5	2,25	2	
Total Lama Penyimpanan		42	36	35	35	33	181
Rata - rata		3,5	3	2,92	2,82	2,75	

Kelompok	1	2	3	4
Total	65	51	38	27

## Lampiran 3 : Analisis data

Berdasarkan hasil percobaan diatas, dapat merancang analisis data sebagai berikut:

## 1. Model

Model untuk percobaan di atas adalah :

$$Y_{ijk} = \mu + K_k + I_i + \delta_{ik} + P_j + (IP)_{ij} + \epsilon_{jk}$$

dengan  $i = 1, \dots, 3$

$$j = 1, \dots, 4$$

$$k = 1, \dots, 4$$

di mana

$Y_{ijk}$  = titer antibodi dari kelompok ke- $k$  yang berada pada termos ke- $i$  dengan lama penyimpanan hari ke- $j$

$\mu$  = rata - rata hasil titer antibodi sesungguhnya

$K_k$  = pengaruh dari kelompok ke- $k$

$I_i$  = pengaruh interval waktu penggantian es ke- $i$

$\delta_{ik}$  = pengaruh sisa (galat) dari kelompok ke- $k$  yang berada pada interval waktu penggantian es ke- $i$

$P_j$  = pengaruh dari lama penyimpanan hari ke- $j$

$(IP)_{ij}$  = pengaruh interaksi dari interval waktu penggantian es ke- $i$  dan lama penyimpanan hari ke- $j$

$\epsilon_{jk}$  = Pengaruh sisa (galat) dari kelompok ke- $k$  yang berada pada interval waktu penggantian es ke- $i$  dan lama penyimpanan hari ke- $j$

## Lampiran 3 : Lanjutan analisis data

**2. Analisis Ragam**

Prosedur analisis ragam dapat mengikuti langkah – langkah berikut:

- Menghitung Faktor Koreksi dan Jumlah Kuadrat Total

$$\begin{aligned} \text{FK (Faktor Koreksi)} &= \frac{181^2}{4 \times 5 \times 3} \\ &= 546,017 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JKT (Jumlah Kuadrat Total)} &= (5^2 + 3^2 + \dots + 2^2) - \text{FK} \\ &= 76,983 \end{aligned}$$

- Mengerjakan Analisis Petak Utama

$$\begin{aligned} \text{JKK (JK Kelompok)} &= \frac{65^2 + 51^2 + 38^2 + 27^2}{3 \times 5} - \text{FK} \\ &= 53,916 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JKI (JK Interval)} &= \frac{63^2 + 66^2 + 52^2}{4 \times 4} - \text{FK} \\ &= 5,433 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JKTI (JK Total I.)} &= \frac{22^2 + 17^2 + \dots + 9^2}{5} - \text{FK} \\ &= 62,983 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JKSI (JK Sisa I.)} &= \text{JKTa} - \text{JKK} - \text{JKa} \\ &= 62,983 - 53,916 - 5,433 \\ &= 3,634 \end{aligned}$$

- Mengerjakan Analisis Anak Petak

$$\begin{aligned} \text{JKP (JK Lama Penyimpanan)} &= \frac{42^2 + 36^2 + \dots + 33^2}{4 \times 3} - \text{FK} \\ &= 3,899 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JKIP (JK Interaksi IxP)} &= \frac{14^2 + 14^2 + \dots + 8^2}{4} - \text{FK} - \text{JKa} - \text{JKb} \\ &= 2,401 \end{aligned}$$



## Lampiran 3 : Lanjutan analisis data

$$\begin{aligned}
 \text{JKSP (JK sisa P)} &= \text{JKT} - \text{JKTI} - \text{JKP} - \text{JKIP} \\
 &= 76,983 - 62,983 - 3,899 - 2,401 \\
 &= 7,7
 \end{aligned}$$

□ Selanjutnya Disusun Tabel Sidik Ragam

SK (Sumber Keragaman)	db	JK	KT	F hitung	F tabel	
					0,05	0,01
Analisis Petak Utama						
Kelompok	3	53,916	17,972	tn		
Interval (Faktor I)	2	5,433	2,716	4,489	5,14	10,92
Sisa (I)	6	3,634	0,605			
Total (I)	11	62,983				
Analisis Anak Petak				**		
Lama Penyimpanan (P)	4	3,899	0,975	4,576 tn	2,63	3,89
Interaksi (IxP)	8	2,401	0,3	1,408	2,21	3,04
Sisa (P)	36	7,7	0,213			
Total (P)	59	76,983				

\* = nyata    \*\* = sangat nyata    tn = tidak nyata

Keterangan :

1. Pada tabel analisis ragam terlihat bahwa F hitung bagi Interval (Faktor I) tidak berbeda nyata, Lama Penyimpanan (Faktor P) berbeda sangat nyata, dan untuk interaksinya (IxP) tidak berbeda nyata.
2. Karena F hitung untuk interaksi (IxP) tidak berbeda nyata maka yang perlu diperhatikan adalah lama penyimpanan (Faktor P) dan interval penggantian es (Faktor I) karena memberikan pengaruh sendiri – sendiri tanpa adanya interaksi keduanya.
3. F hitung bagi interval (Faktor I) tidak berbeda nyata dan lama penyimpanan (Faktor P) berbeda sangat nyata. Analisis dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur BNJ 5% dan BNJ 1% (materi dan metode halaman 20).

## Lampiran 4 : Uji Beda Nyata Jujur

- Rata – rata untuk masing – masing Lama Penyimpanan dan Interval waktu penggantian es

Inteval (I)	Lama Penyimpanan (P)					Total	Rata – rata
	p0	p1	p2	p3	p4		
i1	3,50	3,00	3,00	3,25	3,00	15,75	3,15
i2	3,50	3,25	3,25	3,25	3,25	16,50	3,30
i3	3,50	2,75	2,50	2,25	2,00	13,00	2,60
Total	10,5	9	8,75	8,75	8,25	45,25	
Rata-rata	3,5	3	2,92	2,92	2,75		

- Uji BNJ untuk Lama Penyimpanan

$$\text{BNJ (5%/1\%)} = Q(5%/1\%) (t, d.b. sisa) \times \sqrt{\frac{KTS}{n}}$$

$$\text{BNJ 5\%} = 4,064 \times \sqrt{\frac{0,213}{4 \times 3}}$$

$$= 0,541$$

$$\text{BNJ 1\%} = 4,978 \times \sqrt{\frac{0,213}{4 \times 3}}$$

$$= 0,663$$

- Uji BNJ untuk Interval waktu penggantian es

$$\text{BNJ (5%/1\%)} = Q(5%/1\%) (t, d.b. sisa) \times \sqrt{\frac{KTS}{n}}$$

$$\text{BNJ 5\%} = 4,43 \times \sqrt{\frac{0,605}{4 \times 5}}$$

$$= 0,77$$

$$\text{BNJ 1\%} = 6,33 \times \sqrt{\frac{0,605}{4 \times 5}}$$

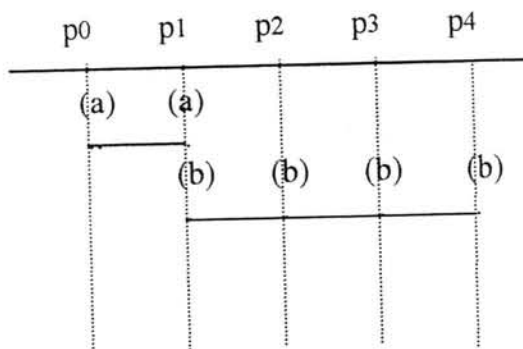
$$= 1,1$$

## Lampiran 4 : Lanjutan Uji Beda Nyata Jujur

□ Uji BNJ untuk pengaruh Lama Penyimpanan

Lama Penyimpanan	Rata-rata	Beda				BNJ	
		(x - p4)	(x - p3)	(x - p2)	(x - p1)	0,05	0,01
p0 (a)	3,50	0,75*	0,58*	0,58*	0,50	0,541	0,663
p1 (ab)	3,00	0,25	0,08	0,08			
p2 (b)	2,92	0,17	0,00				
p3 (b)	2,92	0,17					
p4 (b)	2,75						

Notasi



Kesimpulan :

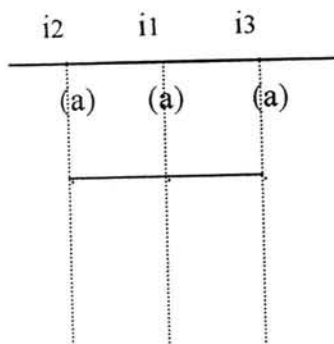
Hasil perbedaan rata-rata titer antibodi pengaruh dari lama penyimpanan menunjukkan p0 dengan p1 tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ), sedangkan p0 dengan p2, p3, dan p4 perbedaannya sangat neat ( $p < 0,05$ ).

## Lampiran 4 : Lanjutan Uji Beda Nyata Jujur

- Uji BNJ untuk pengaruh Interval waktu penggantian es

Interval waktu (I)	Rata-rata	Beda		BNJ	
		$(x - i_3)$	$(x - i_1)$	0,05	0,01
$i_2$ (a)	3,30	0,70	0,15	0,77	1,1
$i_1$ (a)	3,15	0,55			
$i_3$ (a)	2,60				

Notasi



Kesimpulan :

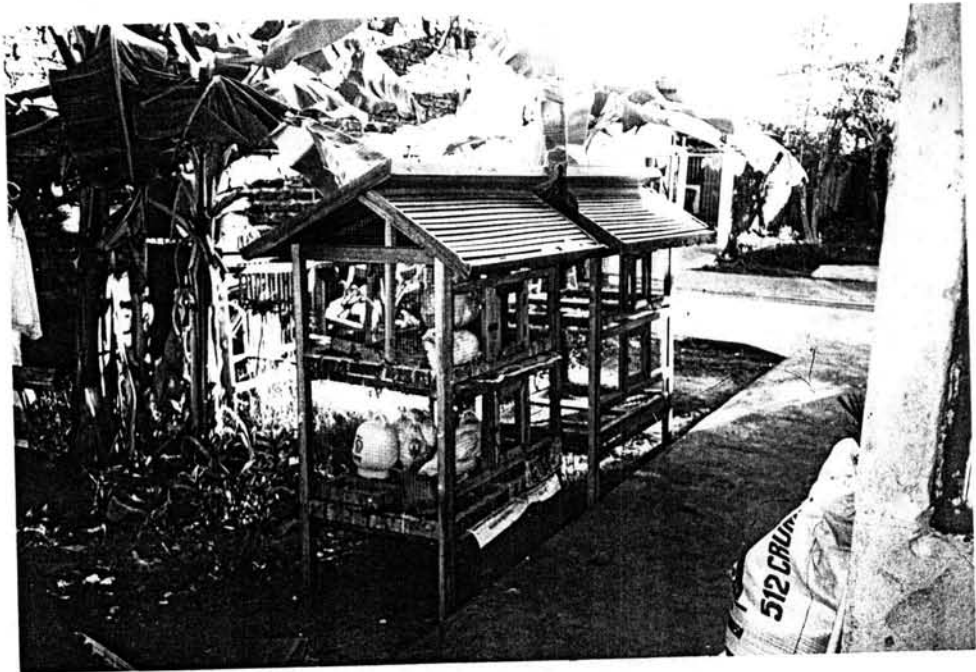
Hasil perbedaan rata – rata titer antibodi pengaruh dari Interval waktu penggantian es, meskipun interval penggantian 8 jam mempunyai titer tertinggi namun menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ).

Lampiran 5 : Hasil Pengamatan Suhu Pada Termos es dalam ( ° C).

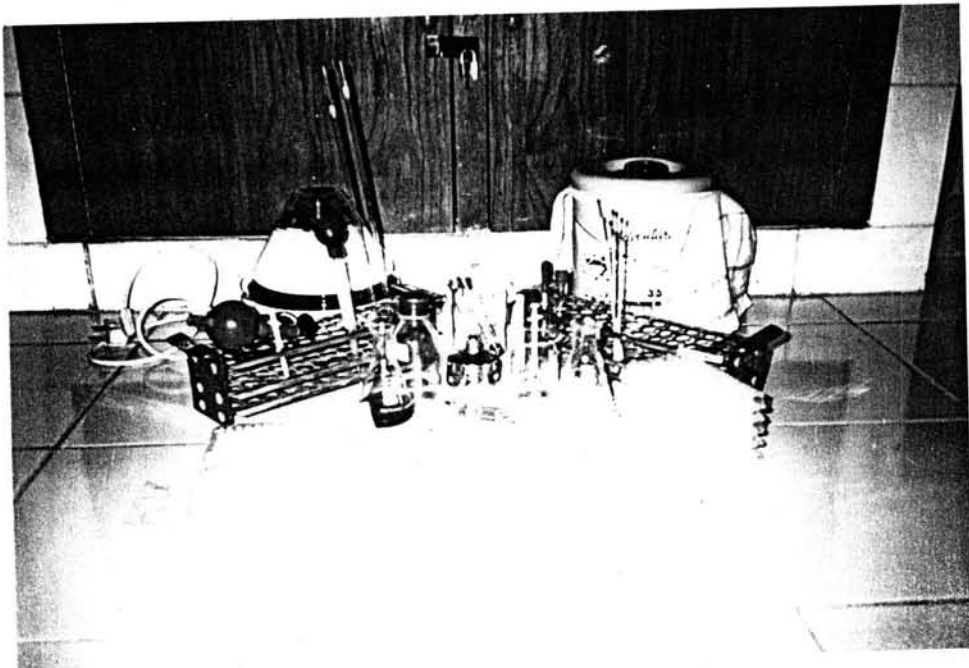
□ Pengamatan suhu ini hanya sebagai data penunjang dalam penelitian

Termos	Hari Ke	Pengamatan ± 5 menit Pada Tiap - tiap 3 jam								Total	Rata - rata	± SD
		Pukul ± 19.00	± 22.00	± 01.00	± 04.00	± 07.00	± 10.00	± 13.00	± 16.00			
i1 Interval 6 Jam	1	4	2	4	2	4	2	6	4	28	3,5	1,414
	2	6	2	4	2	3	2	4	3	28	3,5	1,388
	3	5	4	2	3	4	3	2	4	27	3,3	1,060
	4	5	6	3	3	4	3	4	4	32	4,0	1,069
i2 Interval 8 Jam	1	3	4	3	4	5	4	5	6	34	4,2	1,035
	2	6	4	4	4	6	6	4	6	32	4,0	1,069
	3	4	4	5	4	6	4	4	6	37	4,6	1,504
	4	6	4	4	4	6	6	4	4	38	4,7	1,035
i3 Interval 10 Jam	1	4	6	6	5	6	6	6	6	43	5,4	0,726
	2	8	8	6	4	6	8	6	6	52	6,5	1,414
	3	4	8	8	6	4	6	8	4	48	6,0	1,851
	4	8	6	6	8	4	6	8	6	52	6,5	1,414

Lampiran 6 : Foto – Foto Penelitian



Kandang percobaan untuk penelitian

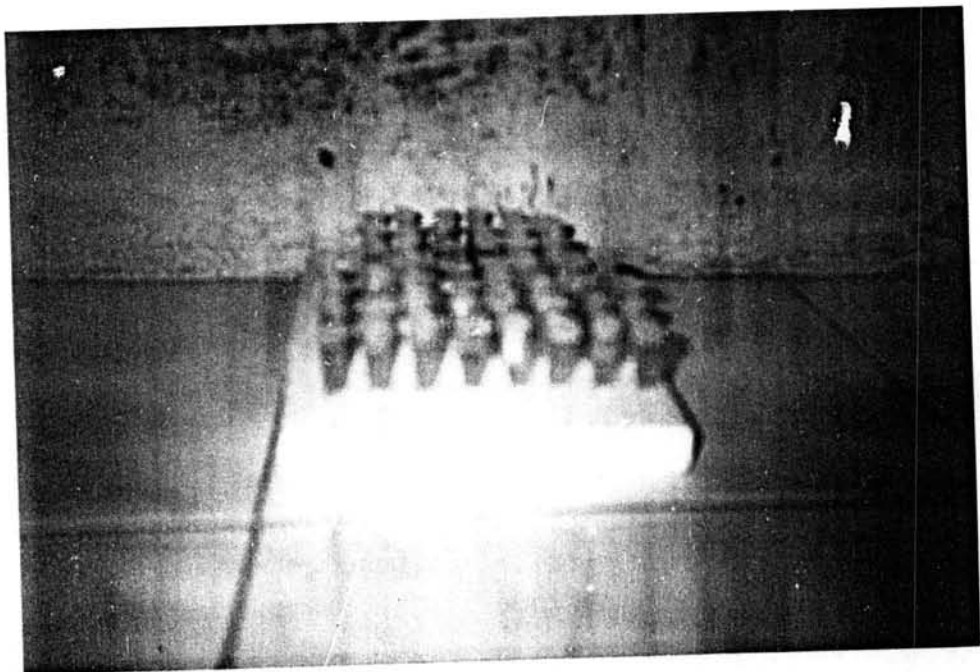


Peralatan yang digunakan

Lampiran 6 : Lanjutan



Memisahkan darah dengan serum



Sampel serum disimpan dalam microtube

Lampiran 6 : Lanjutan



Termos yang digunakan dalam penelitian