

SKRIPSI :

ENDAH WAHJUNI

**EFEKTIVITAS PENGGUNAAN NaCl FISILOGIS
0,9%; AQUADEST DAN AIR KELAPA SEBAGAI
PELARUT VAKSIN ND STRAIN KOMAROV**



**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
1987**

EFEKTIVITAS PENGGUNAAN NaCl FISILOGIS 0,9%;
AQUADEST DAN AIR KELAPA SEBAGAI PELARUT
VAKSIN ND STRAIN KOMAROV

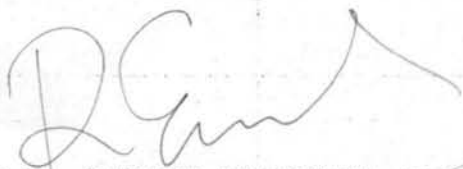
SKRIPSI

DISERAHKAN KEPADA FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS
AIRLANGGA UNTUK MEMENUHI SEBAGIAN SYARAT GUNA
MEMPEROLEH GELAR DOKTER HEWAN

OLEH

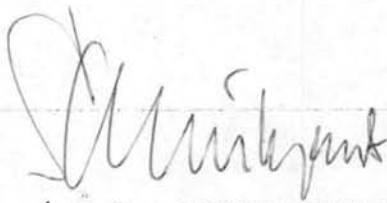
ENDAH WAHJUNI

SURABAYA - JAWA TIMUR



(Drh. RAHAYU ERNAWATI, M.Sc)

PEMBIMBING UTAMA



(Drh. SOELISTIYANTO)

PEMBIMBING KEDUA



(Dr. SARMANU)

PEMBIMBING KETIGA

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

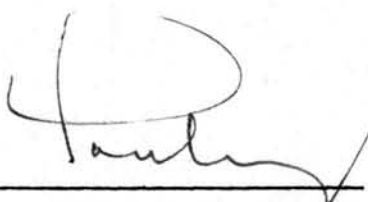
UNIVERSITAS AIRLANGGA

SURABAYA

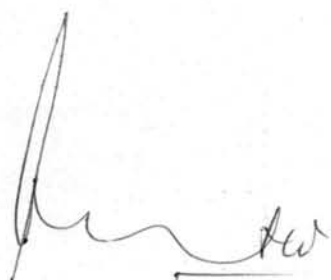
1987

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik scope maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar DOKTER HEWAN.


Panitia penguji




Ketua



Sekretaris



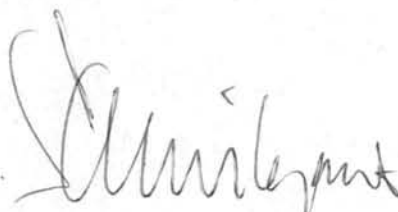
Anggauta




Anggauta



Anggauta



Anggauta



Anggauta

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah swt. yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada drh. Rahayu Ernawati, M.Sc (Kepala Laboratorium Virologi dan Immunologi FKH Unair) dan drh. Soelistiyanto (Staf Laboratorium Virologi dan Immunologi FKH Unair) serta kepada Dr. Sarmanu (Staf Laboratorium Anatomi FKH Unair) masing-masing sebagai dosen pembimbing pertama, kedua dan ketiga, yang telah dengan tulus ikhlas meluangkan waktunya dalam memberi pengarahan dan membimbing penulis sejak penelitian berlangsung hingga penulisan ini selesai.

Terima kasih pula penulis ucapkan kepada drh. Pratisto (Kepala Laboratorium Hewan Percobaan FKH Unair) serta semua pihak atas bantuan fasilitas dan materi selama penelitian berlangsung.

Penulis menyadari, skripsi ini masih terdapat kekurangannya, untuk itu saran dan kritik sangat penulis harapkan untuk perbaikan skripsi ini.

Akhir kata, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi all mamater.

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR LAMPIRAN	v
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1. Penyebab penyakit	5
II.2. Klasifikasi virus	7
II.3. Bentuk penyakit yang ditimbulkan	7
II.4. Cara penularan	9
II.5. Vaksin Newcastle Disease	10
II.6. Pelarut vaksin ND	12
II.6.1. NaCl fisiologis 0,9%	12
II.6.2. Aquadest	13
II.6.3. Air kelapa	14
BAB III MATERI DAN METODA PENELITIAN	19
III.1. Materi penelitian	19
III.1.1. Bahan-bahan	19
III.1.2. Alat-alat	19
III.1.3. Hewan percobaan	19
III.2. Metoda penelitian	19

III.2.1. Penyediaan vaksin	19
III.2.2. Penyediaan bahan pelarut	19
III.2.3. Penentuan egg infective dose 50	20
III.2.4. Perlakuan terhadap hewan per- cobaan	22
III.2.5. Pembuatan darah merah ayam 0,5%	22
III.2.6. Antigen 4 HA unit/ 0,025 ml ...	23
III.2.7. Cara pengambilan serum	24
III.2.8. Uji hambatan haemaglutinasi ...	24
III.2.9. Perhitungan titer antibodi	25
III.3. Analisa statistik	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	27
BAB V KESIMPULAN	35
BAB VI RINGKASAN	36
DAFTAR PUSTAKA	38

DAFTAR TABEL

Nomer	Halaman
1. Perbandingan komposisi air kelapa dan cairan lain yang telah diketahui	17
2. Perbandingan komposisi air kelapa dengan cairan rehidrasi lain serta cairan tinja penderita cholera ..	18
3. Uji isi virus dari vaksin ND strain Komarov dengan pelarut berbeda	28
4. Titer HI rata-rata sebelum vaksinasi	30
5. Titer HI rata-rata hasil vaksinasi	31
6. Titer HI rata-rata kumulatif hasil vaksinasi	33

DAFTAR GAMBAR

Nomer	Halaman
1. Grafik titer HI rata-rata sebelum vaksinasi dan sesudah vaksinasi ND strain Komarov dengan pelarut berbeda	32

DAFTAR LAMPIRAN

No. tabel	Halaman
1. Uji isi virus (virus content) dari vaksin ND strain Komarov dengan pelarut NaCl fis. 0,9%	43
2. Uji isi virus (virus content) dari vaksin ND strain Komarov dengan pelarut aquadest	44
3. Uji isi virus (virus content) dari vaksin ND strain Komarov dengan pelarut air kelapa	45
4. Titer antibodi pada ayam umur 4 minggu	46
5. Titer antibodi pada ayam umur 5 minggu	47
6. Titer antibodi pada ayam umur 6 minggu	48
7. Titer antibodi 1 minggu setelah vaksinasi	49
8. Titer antibodi 2 minggu setelah vaksinasi	50
9. Titer antibodi 3 minggu setelah vaksinasi	51
10. Titer antibodi 4 minggu setelah vaksinasi	52
11. Titer antibodi 5 minggu setelah vaksinasi	53
12. Titer antibodi 6 minggu setelah vaksinasi	54
13. Analisa data : Pengaruh pelarut vaksin ND strain Komarov terhadap titer HI rata-rata (GMT)	55

BAB I

PENDAHULUAN

Pembangunan bidang peternakan di Indonesia bertujuan antara lain untuk meningkatkan populasi dan produksi ternak guna mencukupi kebutuhan protein hewani dalam negeri, ekspor dan mengurangi impor. Hal ini jelas menyangkut potensi hewan yang ada di Indonesia. Oleh karenanya kelestarian hewan harus dijaga dari serangan penyakit.

Ternak ayam merupakan salah satu sumber protein hewani utama di Indonesia, disamping harganya relatif lebih murah juga paling mudah tersedia karena dipelihara oleh hampir setiap petani baik sebagai usaha sampingan dari pertanian ataupun sebagai tabungan. Daging dan telur ayam merupakan konsumsi utama di pedesaan dan di kota.

Salah satu penghambat produksi peternakan ayam ialah adanya berbagai macam penyakit menular yang setiap tahunnya menelan korban kematian dan menimbulkan kerugian yang cukup besar. Diantara penyakit-penyakit ayam tersebut Newcastle Disease merupakan penyakit terpenting hingga saat ini (Ressang, 1984).

Newcastle Disease (ND) pertama kali dilaporkan oleh Kraneveld di Bogor pada tahun 1926, dan Doyle tahun 1927 juga melaporkan penyakit dengan tanda-tanda yang sama di Newcastle On Tyne di dekat Inggris. Selanjutnya penyakit ini dilaporkan telah tersebar luas ke seluruh dunia.

Newcastle Disease merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh virus, bersifat akut, menyerang ayam serta jenis unggas lainnya. Gejala klinis yang ditimbulkan tergantung pada tingkat keganasan virus yang menularinya yaitu tanpa gejala yang nyata, gejala pernafasan ringan, gangguan pernafasan disertai gangguan syaraf, atau kombinasi gangguan respirasi, syaraf dan pencernaan (Bruner and Gillepsie, 1973; Allan et al, 1978; Anonimous, 1981).

Penyakit ini juga disebut dengan nama : avian pneumoencephalitis, pseudo fowl pest, pseudo vogel pest, ranikhet disease, atypische geflügel pest, avian disease (Bruner and Gillepsie, 1973; Gordon and Jordan, 1982). Nama Newcastle Disease telah diterima di dunia, sedang di Indonesia dikenal dengan nama penyakit tetelo (Ressang, 1984).

Sampai saat ini belum ada obat yang efektif terhadap ND, maka usaha pengendaliannya dititik beratkan pada sanitasi yang ketat disertai tindakan vaksinasi secara teratur (Sugi^{man}, 1977; Allan et al, 1978).

Berbagai faktor yang cenderung mempengaruhi hasil vaksinasi khususnya di lapangan adalah : cara pemeliharaan ayam, penanganan dan transportasi vaksin khususnya jenis vaksin ND aktif, juga komposisi pelarut yang digunakan ikut berperan dalam menunjang respon kekebalan. Sebab pelarut vaksin yang kurang memenuhi persyaratan dapat mempengaruhi stabilitas vaksin maupun kesehatan hewan yang divaksin.

Gough dan Allan (1973) serta Villegas dan Kleven (1976) telah melakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh pelarut vaksin terhadap respon kekebalan setelah vaksinasi ND yang diberikan secara aerosol. Telah ditemukan bahwa jika digunakan aquadest dan susu skim 2% sebagai pelarut vaksin, maka respon kekebalan yang dihasilkan lebih tinggi dari pada air ledeng, gelatin 0,2% ataupun gliserin 20% (Yadin, 1981).

Di laboratorium sampai saat ini yang sering digunakan sebagai pelarut vaksin ND adalah Phosphate Buffered Saline (PBS), dan bila di lapangan digunakan NaCl fisiologis 0,9% (Anonimus, 1982).

Banyak manfaat yang diperoleh dari air kelapa, diantaranya digunakan sebagai cairan infus intravena ataupun secara per-oral untuk menggantikan cairan yang hilang pada kasus dehidrasi. Hal ini biasa dilakukan di daerah-daerah terpencil dimana cairan rehidrasi lain tidak tersedia atau sulit diperoleh (Ranti et al, 1965; Hinderaker, 1966; Rajasuriya, 1966; Martindale, 1982).

Pada kondisi lapangan, berbagai macam pelarut vaksin seperti tersebut diatas terkadang tidak tersedia. Bertitik tolak pada permasalahan diatas, penulis berkeinginan untuk mencoba mengetahui efektivitas pelarut vaksin ND yang biasa digunakan yaitu NaCl fisiologis 0,9% dibandingkan dengan aquadest dan air kelapa dalam menimbulkan kekebalan pada tubuh ayam

Dari pemikiran tersebut, dapat dibuat asumsi sebagai berikut : terdapat perbedaan antara NaCl fisiologis 0,9%; aquadest dan air kelapa sebagai pelarut vaksin ND strain Komarov terhadap kekebalan yang ditimbulkan pada tubuh ayam.

Tulisan dengan judul " Efektifitas penggunaan NaCl fisiologis 0,9%; aquadest dan air kelapa sebagai pelarut vaksin ND strain Komarov " ini disusun berdasarkan penelitian yang dilaksanakan pada bulan Juni sampai September 1985 di Laboratorium Mikrobiologi FKH Unair.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Penyebab penyakit

Newcastle Disease merupakan penyakit yang disebabkan oleh virus, menyerang bangsa unggas dan dapat menyebabkan kematian 100% pada ayam yang peka. Virus ND termasuk genus paramyxovirus dari famili paramyxoviridae, oleh Gordon dan Jordan (1982) diklasifikasikan sebagai avian paramyxovirus type I (PMV-1). Virus ini mempunyai asam inti ribo berantai tunggal (single stranded RNA). Bentuk dan ukuran virus bervariasi, di bawah mikroskop elektron dapat terlihat bentuk bulat memanjang dan ukurannya mencapai 180 milli mikron, sering pula dijumpai bentuk panjang berfilamen (Merchant and Packer, 1971). Virus mempunyai amplop dan komponen dalam terdiri dari nucleocapsid berbentuk spiral yang simetris berukuran 17 milli mikron (Allan et al, 1978).

Virus ND mempunyai sifat lebih tahan terhadap pemanasan dari pada virus lainnya. Virus menjadi inaktif pada suhu 56°C selama 30 menit dan segera rusak pada suhu 100°C selama 1 menit. Virus ini juga peka terhadap sinar ultra violet, sinar X dan proses oxydasi (Bruner and Gillepsie, 1973).

Bahan-bahan yang bersifat virusidal seperti formalin, betapropiolakton, ethanol 70% dan 90%, larutan phenol 3%, larutan kresol 3% dan lysol dalam konsentrasi tertentu dapat merusak

infektivitas virus ND (Merchant and Packer, 1971; Bruner and Gillepsie, 1973).

Semua strain virus ND dapat tumbuh pada cairan allantois telur ayam bertunas (TAB) umur 9 - 11 hari. Dalam cairan allantois tersebut virus ND dapat tahan sampai 1 tahun bila disimpan pada suhu 5°C , pada suhu -70°C dapat tahan lebih lama lagi. Dalam faeces dengan suhu 40°F dapat tahan sampai $5\frac{1}{2}$ bulan, sedang pada bangkai ayam bila disimpan pada suhu -40°F tahan sampai 300 hari. Pada suhu kamar, virus tetap hidup sampai 30 hari dan bila disimpan pada suhu beku tahan lebih dari 1 tahun (Merchant and Packer, 1971).

Disamping itu virus ND juga dapat tumbuh pada sistim biakan sel. Biakan sel yang umumnya baik untuk tumbuhnya virus ND adalah biakan sel fibroblast dan sel ginjal embrio ayam serta baby hamster kidney (BHK).

Virus ND mempunyai kemampuan mengaglutinasi sel darah merah unggas, semua jenis amphibi dan reptil, juga sel darah merah manusia, cavia dan tikus (Merchant and Packer, 1971).

Menurut Moses, Brandly dan Jones yang dikutip oleh Merchant and Packer (1971), virus ND dapat bertahan dalam suasana pH dengan batasan yang relatif sangat lebar.

Anonimous (1981) menyebutkan bahwa virus ND dapat tahan terhadap perubahan pH 2 sampai 10.

II.2. Klasifikasi virus

II.2. Klasifikasi virus

Berdasarkan tingkat keganasannya, virus ND dibagi menjadi 3 strain yaitu : lentogenik, mesogenik dan velogenik. Strain lentogenik merupakan strain yang tidak ganas dan digunakan untuk pembuatan vaksin sebagai vaksinasi awal (strain F, Hitchner, La Sota). Strain mesogenik tingkat keganasannya di atas strain lentogenik, juga digunakan untuk pembuatan vaksin sebagai vaksinasi ulang (booster) terdiri dari strain Mukteswar, Komarov, Roakin. Sedangkan strain velogenik merupakan strain yang paling ganas, dan digunakan sebagai virus untuk ujiantang (challenge test) guna mengetahui potensi vaksin. Strain velogenik terdiri dari 2 sub type yaitu type Asia dan type Amerika (Bruner and Gillespie, 1973; Allan et al, 1978). Di Indonesia strain velogenik type Asia yang sering menimbulkan wabah (Anonymous, 1981; Ressang, 1984).

Untuk menentukan ketiga strain virus ND dapat diketahui berdasarkan Mean Death Time (MDT) pada telur ayam bertunas, Intracerebral Pathogenecity Index (ICPI) pada anak ayam umur sehari, dan Intravenous Pathogenecity Index (IVPI) pada ayam umur 6 minggu serta pembentukan plaque pada biakan sel fibroblast ayam (Allan et al, 1978).

II.3. Bentuk penyakit yang ditimbulkan

Secara klinis dan perubahan patologi anatomi, ND dapat dibedakan menjadi 4 bentuk (Hanson, 1972) :

1. Bentuk penyakit dari Doyle

Pertama kali dilaporkan oleh Doyle pada tahun 1927, merupakan penyakit yang bersifat akut dan fatal terhadap ayam semua umur. Perubahan patologik yang tampak menonjol adalah adanya lesi berdarah pada saluran pencernaan. Bentuk penyakit ini disebabkan oleh virus ND strain velogenik type Asia dan lebih dikenal sebagai VVND (Viscerotropik Velogenik Newcastle Disease).

2. Bentuk penyakit dari Beach

Dilaporkan oleh Beach pada tahun 1942 dan tahun 1946, bentuk penyakit ini juga bersifat akut dan fatal terhadap ayam semua umur. Bentuk penyakit ini ditandai dengan adanya lesi pada saluran pernafasan dan sistim syaraf, sehingga penyakitnya disebut pneumoencephalitis. Bentuk penyakit ini disebabkan oleh virus ND neurotropik velogenik.

3. Bentuk penyakit dari Beaudette

Dilaporkan oleh Beaudette dan Beach pada tahun 1946, ditandai dengan adanya gangguan pernafasan yang bersifat akut dan kadang-kadang menyerang sistim syaraf. Bentuk penyakit ini mengakibatkan kematian pada ayam umur muda, disebabkan virus ND strain mesogenik dan biasa digunakan untuk pembuatan vaksin.

4. Bentuk penyakit dari Hitchner

Dilaporkan oleh Hitchner pada tahun 1948 dan 1950. Sebagai infeksi ringan pada saluran pernafasan, disebabkan virus ND strain lentogenik dan digunakan untuk pembuatan vaksin.

II.4. Cara penularan

Masa inkubasi berkisar antara 2 sampai 18 hari tergantung pada keganasan virus, jalan masuknya virus, banyaknya virus yang menginfeksi dan kekebalan yang ada pada ayam yang bersangkutan. Pada infeksi secara alami, masa inkubasi virus ND berkisar antara 4 - 5 hari (Gordon and Jordan, 1982).

Penularan penyakit dapat terjadi secara langsung maupun tidak langsung. Penularan secara langsung terjadi bila terdapat kontak langsung (persentuhan) dengan hewan sakit, sekresi, ekskresi dari hewan sakit serta bangkai hewan penderita. Sedang penularan secara tidak langsung terjadi bila virus mencemari jejabah dan perlengkapan kandang lainnya, makanan yang terkontaminasi faeces atau kotoran ayam penderita, pakaian petugas kandang, transportasi dsb.

Induk ayam penderita ND selama periode awal dapat menularkan virus ke telur yang dihasilkan, sehingga biasanya virus akan membunuh embrio dan telur jarang menetas. Apabila telur tersebut secara tidak sengaja pecah dalam mesin penetas atau bila kerabang telur telah terkontaminasi virus, maka penyebaran penyakit dapat terjadi (Merchant and Packer, 1971; Allan et al, 1978).

Jalan penularan penyakit melalui saluran pencernaan dan saluran pernafasan. Ayam tertular virus ND akan mulai mengeluarkan virus melalui alat pernafasan 1 sampai 2 hari setelah infeksi (Anonymous, 1981).

Pada manusia, virus ND menyebabkan peradangan pada konjunktiva dan merupakan penyakit jabatan yang terbatas pada pekerja laboratorium serta pekerja peternakan unggas yang sakit (Jawetz, 1984).

Kejadian ND selain tergantung pada kepekaan ayam dan kesempatan penyebaran virus, juga dipengaruhi oleh faktor musim. Di Indonesia, para peternak umumnya beranggapan bahwa wabah ND terjadi pada permulaan musim penghujan atau pada musim pancaroba (Ressang, 1984). Dari data yang telah dianalisa oleh LPPH Bogor selama 8 tahun (tahun 1972 - 1979) menunjukkan bahwa kejadian ND di Indonesia paling jarang terjadi pada bulan Mei dan Juni atau di musim kemarau. Setelah itu kejadian ND terus meningkat sampai bulan Desember dimana hujan mulai banyak, kemudian menurun sampai bulan Mei dan Juni (Ronohardjo, 1980).

II.5. Vaksin Newcastle Disease

Dikenal 2 jenis vaksin ND, yaitu vaksin inaktif dan vaksin aktif.

Vaksin inaktif mengandung virus ND yang telah dimatikan dengan bahan-bahan kimia seperti betapropiolakton, formalin, kristal violet dan sebagainya.

Vaksin aktif mengandung virus yang masih hidup akan tetapi sifatnya tidak ganas lagi bagi ayam yang divaksinasi. Virus demikian disebut virus yang telah di attenuasikan.

Berdasarkan strain virus yang digunakan sebagai vaksin,

maka vaksin aktif dibagi menjadi 2 macam yaitu : vaksin Lentogenik dan vaksin Mesogenik. Vaksin Lentogenik mengandung virus ND hidup yang virulensinya rendah sekali, sehingga tidak menimbulkan gejala penyakit pada ayam yang ditularinya. Contoh vaksin Lentogenik adalah vaksin ND strain F, Hitchner atau B₁ dan La Sota. Vaksin Mesogenik mengandung virus ND hidup yang virulensinya agak lebih tinggi dari pada virus Lentogenik. Jenis vaksin ini masih dapat menimbulkan gejala ND pada ayam yang kurang sehat. Akan tetapi kekebalan yang diperoleh setelah vaksinasi dengan vaksin Lentogenik. Contoh vaksin Mesogenik adalah : vaksin ND strain Mukteswar, Komarov dan Roakin.

Aplikasi vaksinasi dapat dibagi atas :

1. Anak ayam dibawah umur 4 minggu, divaksin dengan vaksin Lentogenik dengan jalan meneteskan pada mata atau hidung.
2. Ayam berumur 4 - 12 minggu dipergunakan vaksin Mesogenik sebanyak $\frac{1}{2}$ dosis dengan jalan menyuntikkan pada otot dada.
3. Vaksinasi pada ayam umur 12 minggu keatas dipergunakan vaksin Mesogenik sebanyak 1 dosis dan disuntikkan pada otot dada.

Jadwal vaksinasi dilakukan dua kali setahun, satu atau dua bulan sebelum musim wabah.

Mengingat penggunaan vaksin inaktif menimbulkan kekebalan yang cepat menurun dan menghilang pada tubuh ayam yang di

vaksin, juga penggunaan vaksin aktif dapat menimbulkan reaksi post vaksinasi. Maka dewasa ini telah dikembangkan penggunaan vaksin inaktif dalam adjuvan minyak (VIDAM).

VIDAM pada umumnya dapat bertahan lebih lama dalam tubuh, karena adanya minyak yang sukar diserap oleh tubuh sehingga virus vaksin yang terkandung didalamnya juga akan lama bertahan dalam tubuh ayam dan akan selalu menggergatak pembentukan zat kebal (Allan et al, 1978). VIDAM terbagi dalam dua bentuk yaitu : bentuk emulsi tunggal dan bentuk emulsi ganda.

Bentuk emulsi tunggal tersusun atas minyak dalam air atau air dalam minyak. Sedang bentuk emulsi ganda tersusun atas air dalam minyak dalam air. Jenis minyak yang digunakan adalah minyak mineral, misalnya : parafin cair, lanolin, Arla-cel A, Arlaacel 80, Tween 80 dsb (Sjamsudin, 1977).

II.6. Pelarut vaksin ND

II.6.1. NaCl fisiologis 0,9%

Cairan tubuh, termasuk plasma darah dan cairan mata manusia mempunyai tekanan osmotik yang sama dengan larutan NaCl fisiologis 0,9%. Maka larutan tersebut dikatakan isotonis dengan cairan fisiologis (Dwight, 1979; Martindale, 1982).

Dalam larutan NaCl fisiologis 0,9% mengandung arsen : 3 bagian per juta (bpj), ferrum : 2 bpj, logam berat : 5 bpj, kalsium dan magnesium : 0,05% serta bebas dari barium, yodida, bromida dan sulfat (Anonimous, 1979).

Allan et al (1978) mengatakan bahwa pelarut vaksin ND yang paling murah dan mudah dibuat adalah larutan NaCl fisiologis 0,85% dan pH dibuat antara 7,2 - 7,4 dengan membubuhkan phosphat buffer.

Pada kenyataannya, kegiatan vaksinasi ND yang dilaksanakan di lapangan menggunakan NaCl fisiologis 0,9% sebagai pelarutnya dan disediakan oleh Dinas Peternakan setempat (Anonimous, 1982).

II.6.2. Aquadest

Aquadest dibuat dengan cara menyuling air yang dapat diminum dan bebas dari amonium, ferrum, kalsium, klorida, nitrat, sulfat, karbondioksida dan zat teroksidasi (Anonimous, 1979).

Gough dan Allan (1973) telah mencoba mengetahui pengaruh pelarut vaksin dan membandingkan kekebalan yang dihasilkan. Pelarut yang digunakan adalah : aquadest, air ledeng dan gelatin 0,2% sebagai pelarut vaksin ND strain B₁ diberikan secara aerosol. Ternyata vaksinasi dengan pelarut aquadest menghasilkan titer HI lebih tinggi dibanding pelarut air ledeng dan gelatin 0,2%.

Villegas dan Kleven (1975) mempelajari ukuran partikel, respon kekebalan dan resistensi pada uji tantangan yang dihasilkan pada vaksinasi ND strain B₁ secara aerosol. Pelarut yang digunakan adalah : aquadest, susu skim 2% dan gliserin 20%. Dari ketiga macam pelarut tersebut, partikel

terbesar ditemukan dengan ukuran 0,5 - 3 mili mikron dan jumlah total partikel pada gliserin 20% lebih tinggi dari susu skim 2% dan aquadest. Sedang respon kekebalan dan resistensi pada uji tantangan, lebih tinggi aquadest dan susu skim 2% dari pada gliserin 20%.

Yadin (1981) juga telah mempelajari pengaruh pelarut vaksin dan berbagai konsentrasi virus pada respon kekebalan hasil vaksinasi yang diberikan secara aerosol terhadap ND strain La Sota. Pelarut yang digunakan adalah : NaCl fisiologis 0,9%, air ledeng, aquadest dan casitone 2%.

Ternyata pada konsentrasi virus rendah, pelarut casitone 2% menghasilkan titer HI lebih tinggi dari pada pelarut lainnya. Meskipun demikian, jika virus diberikan pada konsentrasi $7,4 \pm 0,4 \log_{10} \text{EID}_{50}/\text{ml}$ dosis lapangan yang dianjurkan maka keempat pelarut tersebut menghasilkan respon HI yang sama.

II.6.3. Air kelapa

Pohon kelapa dapat tumbuh disetiap tempat di Indonesia dan air kelapa khususnya air kelapa muda telah sangat dikenal orang terutama untuk menghilangkan rasa haus. Disamping itu masih banyak kegunaan lain dari air kelapa diantaranya : sebagai obat penawar racun yang sifatnya ringan (Nurasid et al, 1978), juga sebagai pengganti cairan rehidrasi.

Di daerah terpencil, air kelapa biasa digunakan sebagai cairan infus intravena ataupun secara per-oral untuk menggantikan cairan yang hilang pada kasus dehidrasi. Hal ini dilaku

kan bilamana cairan rehidrasi lainnya tidak tersedia atau sulit diperoleh (Ranti et al, 1965; Hinderaher, 1966; Rajasuriya, 1966; Nurendah et al, 1980; Martindale, 1982). Menurut Ranti et al (1965); Woodproof (1970) dan Koiman (1974) yang dikutip oleh Nurendah et al (1980), pada pemakaian ini air kelapa harus memenuhi beberapa persyaratan sebagai berikut : steril, bebas pirogen, isotonis dengan darah, tidak toksik dan pH sesuai dengan pH cairan tubuh. Hal ini telah dibuktikannya pada kelinci dengan menggunakan air kelapa hijau muda. Kesterilan air kelapa dapat dijamin bila pengambilan air kelapa dilakukan dengan cara menusuk tempurung kelapa dengan jarum injeksi kemudian menyedotnya. Sebagaimana diketahui, syarat-syarat larutan parenteral antara lain adalah tidak toksik dan bebas pirogen. Pemeriksaan toksisitas diperlukan untuk mengetahui apakah bahan yang digunakan mengandung racun atau tidak. Dalam air kelapa diperkirakan adanya racun berasal dari zat-zat yang terkandung dalam kelapa itu sendiri, bila memang ada racun. Sedangkan pengaruh keracunan dari luar dianggap tidak ada selama kelapa masih dalam keadaan utuh dan baik. Pemeriksaan pirogen pada air kelapa perlu diadakan, karena air kelapa mengandung sejumlah kecil protein ($\pm 0,18$) yang akan menjadi protein asing bagi tubuh yang bisa merupakan zat pirogen. Adanya pirogen dalam suatu larutan infus akan menyebabkan demam. Ternyata setelah diperiksa, kenaikan suhu badan kelinci tidak lebih dari $1,15^{\circ}\text{C}$. Karena rendahnya kenaikan suhu

tersebut, maka air kelapa boleh dikatakan bebas pirogen. Hal ini sesuai dengan batasan yang telah ditetapkan oleh Farmakope Eropa. Tonisitas air kelapa diperiksa dengan adanya hemolisis pada darah kelinci bila dicampurkan dengan air kelapa. Ternyata air kelapa tidak menyebabkan lisis pada darah kelinci juga dinyatakan isotonis dengan darah manusia (Ranti et al, 1965). Menurut syarat-syarat sediaan parenteral, pH sediaan harus diatur sesuai dengan pH darah yaitu 7,3 - 7,5. Tetapi dalam darah terdapat suatu buffer system yang akan mengatur pH, sehingga bila kedalam darah diberikan cairan lain yang berbeda pH nya yaitu sedikit lebih rendah atau lebih tinggi, maka buffer system itu akan mengaturnya sehingga tidak akan mengganggu keseimbangan elektrolit tubuh.

Air kelapa mengandung beberapa elektrolit, karbohidrat, sedikit logam dan protein (Eiseman, 1961 yang dikutip oleh Nurendah et al, 1980) yaitu : Na^+ : 5 mEq/l; K^+ : 49 mEq/l ; Cl^- : 63 mEq/l; glucosa : 2,1%; protein : 0,18% dan pH : 5,6 (5-5,8).

Anonimous (1977) menyatakan bahwa disamping kandungan seperti diatas, air kelapa juga mengandung beberapa macam vitamin dan asam amino yaitu : as. ascorbat : 2,2 - 3,7 mg/100ml; as. nicotimic : 0,64 ug/ml; as. pentotenat : 0,52 ug/ml; as. riboflavin : 0,01 ug/ml; as. foleat : 0,03 ug/ml; as. glutamat : 14,5%; arginin : 12,75%; leocine : 4,18%; proline : 4,21%; as. aspartat : 3,60%; tyrosin : 2,83%; histidin : 2,05%

alanin : 2,41%; phenil alanin : 1,23%; serine : 0,91%; cystin : 1,17%.

Dalam banyak hal, komposisi air kelapa hampir sama dengan cairan intra seluler. Sebagai perbandingan, komposisi air kelapa dan cairan lain yang telah diketahui dapat dilihat pada tabel 1. Disamping itu juga dapat dibandingkan dengan cairan rehidrasi lain serta cairan tinja penderita cholera (tabel 2).

Tabel 1 : Perbandingan komposisi air kelapa dan cairan lain yang telah diketahui *)

	Na	K	Ca	Mg	Cl	HCO ₃	PO ₄	Glu	Prot	Org.ac
	(mEq/L)									
Coconut water (Eiseman)	5	49	12	17	63		8	2,1%	0,18%	
Darrow's sol.	123	35			105	Lactate	53			
Laborit's sub stitution fluid		40	18	21	79					
Intracellulair fluid	14	157		26		10	110	SO ₄ 1	74	
Extracellulair	140	5	5	3	105	27	2	SO ₄ 1	2	6

*) Sumber : *Pediatrica Indonesiana*. 5 : 782 - 792.

Tabel 2 : Perbandingan komposisi air kelapa dengan cairan rehidrasi lain serta cairan tinja penderita cholera*)

	Na^+	K^+	Cl^-	HCO_3^-	Glukosa	Protein
	(mEq/L)					
Air kelapa	5	49	63	-	2,1%	0,18%
Sol.ringer(USP)	147,5	4	156	-	-	-
COS (WHO)	85	15	70	30	2,2%	-
Oralit	90	20	80	30	2,5%	-
"Cholera stool"	135	15	105	45	-	-

*) Sumber : Risalah Simposium Penelitian Tumbuhan Obat II.
hal 42 - 45.

Buah kelapa terdiri dari bagian - bagian : sabut, tempurung, daging kelapa dan air kelapa. Tiap sebuah kelapa muda mengandung air kelapa sebanyak 500 - 600 ml, volume ini makin berkurang jika buah kelapa makin tua.

BAB III

MATERI DAN METODA PENELITIAN

III.1. Materi penelitian

III.1.1. Bahan - bahan

Vaksin ND strain Komarov, larutan NaCl fisiologis 0,9%, aquadest, air kelapa hijau muda (*Cocos nucifera*), antigen ND, darah merah ayam (DMA) 0,5%, antikoagulan EDTA, serum, ayam percobaan, kertas pH, alkohol 70% dan kapas.

III.1.2. Alat - alat

Mikroplate bentuk V, pipet droper 0,025 ml dan 0,050 ml, mikro diluter 0,025 ml, pipet kaca 0,5 ml dan 10 ml, spuit 1 ml dan 10 ml, erlemeyer, obyek glas, tabung reaksi dan rak, water bath, inkubator, lemari es, peneropong telur, sentrifuge, ruang kaca steril, parafin cair, nyala api bunsen.

III.1.3. Hewan percobaan

Anak ayam umur 1 hari (DOC) jenis pedaging CP 707 dan telur ayam bertunas umur 9 - 11 hari.

III.2. Metoda penelitian

III.2.1. Penyediaan vaksin

Sebanyak 6 ampul vaksin ND strain Komarov produksi Pusat Veterinaria Farma, dengan nomer tanding 7985 K dan masa kada-

luarsa Maret 1986. Sebelum saat pemakaian, vaksin disimpan pada suhu beku.

III.2.2. Penyediaan bahan pelarut

NaCl fisiologis 0,9% dibuat dengan cara sebagai berikut: 9 gram NaCl kristal dilarutkan dalam 1000 ml aquadest. Sterilisasi dilakukan dalam autoclave dengan suhu 121°C dan tekanan 15 lb selama 20 menit, kemudian didinginkan pada suhu kamar.

Aquadest didapatkan dari apotik dalam bentuk kemasan berisi 500 ml dan sterilisasi dilakukan dengan cara mendidihkan. Sedang kesterilan air kelapa dapat dijamin selama pengambilan dilakukan langsung dengan jarum injeksi menembus tempurungnya yang masih lunak tanpa memecah kelapa.

Sebelum saat pemakaian, ketiga bahan pelarut tersebut dilakukan test terhadap kadar asam basanya dengan kertas pH.

III.2.3. Penentuan egg infective dose 50 (EID₅₀)

Penentuan EID₅₀ dilakukan dengan cara sebagai berikut : 9 buah tabung reaksi steril masing-masing diisi pelarut vaksin NaCl fisiologis 0,9% sebanyak 4,5 ml. Rekonstitusi vaksin dengan NaCl fisiologis 0,9%. Kemudian dibuat penipisan vaksin secara desimal, dengan cara : pada tabung pertama diisi 0,5ml suspensi vaksin kemudian dikocok. Dari tabung pertama diambil 0,5 ml untuk dimasukkan kedalam tabung kedua dan seterusnya sampai pada tabung kesembilan, sehingga didapatkan peni-

pisan 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , , 10^{-9} . Setiap pengenceran dimulai dari 10^{-8} sampai 10^{-4} masing-masing diambil 0,5 ml, dan disuntikkan pada 5 butir TAB di cairan allantoisnya dengan dosis 0,1 ml. Sebelum penyuntikan kulit telur didesinfeksi dengan alkohol 70%. Pada jarak 3 - 5 mm dari batas ruang hawa yang berjauhan letak dengan embrio, suspensi vaksin disuntikkan secara tegak lurus poros telur sehingga tepat pada cairan allantoisnya. Bekas lubang jarum ditutup parafin cair, kemudian telur dieramkan dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 5 x 24 jam. Penebaran telur dilakukan setiap pagi dan sore hari dengan tujuan untuk melihat hidup matinya embrio. Embrio yang mati sebelum 24 jam dibuang, sedang embrio yang mati sesudah 24 jam dimasukkan ke dalam lemari es. Setelah masa pengeraman selesai, embrio yang masih hidup dan yang mati disimpan dalam lemari es untuk diperiksa keesokan harinya. Setiap telur diperiksa cairan allantoisnya dengan haemaglutinasi (HA) plate yaitu untuk mengetahui ada tidaknya pertumbuhan virus. HA plate dilakukan dengan cara meneteskan 1 - 2 tetes cairan allantois diatas obyek gelas ditambah DMA 5% sama banyak, kemudian digoyang secara perlahan sambil diperhatikan adanya aglutinasi. EID_{50} ditentukan dengan rumus Reed & Muench.

Hal yang sama juga dilakukan pada pelarut aquadest dan air kelapa.

III.2.4. Perlakuan terhadap hewan percobaan

III.2.4. Perlakuan terhadap hewan percobaan

Pada penelitian ini digunakan 60 ekor anak ayam umur se hari. Setelah ayam berumur 4 minggu, secara acak dibagi menjadi tiga masing-masing terdiri dari 20 ekor dan ditempatkan pada kandang yang terpisah (kandang A, B dan C) serta diberi nomer pada sayapnya.

Sebagai kontrol serum sebelum vaksinasi, pada umur 4, 5 dan 6 minggu masing-masing ayam diambil serumnya guna mengetahui adanya antibodi maternal.

Vaksinasi dilakukan pada ayam umur 6 minggu. Dengan dosis 1 ml vaksin disuntikkan secara intra muskulair pada otot dada, dengan perlakuan sebagai berikut :

Perlakuan A : 20 ekor ayam divaksinasi ND strain Komarov dengan pelarut NaCl fisiologis 0,9%.

Perlakuan B : s.d.a. dengan pelarut aquadest.

Perlakuan C : s.d.a. dengan pelarut air kelapa.

Pengambilan serum hasil vaksinasi dilakukan seminggu sekali sebanyak 6 kali dimulai dari 1 minggu setelah vaksinasi, hingga ayam berumur 12 minggu.

III.2.5. Pembuatan darah merah ayam (DMA) 0,5%

DMA 0,5% didapatkan dengan cara mencampurkan darah ayam donor yang diambil melalui vena axillaris dengan larutan anti koagulan EDTA (Ethylen Dinatrium Tetra Acetat) perbandingan 3 : 1 dalam tabung reaksi. Kemudian disentrifuge dengan kecepatan 2000 rpm selama 15 menit. Supernatan dibuang, se-

lanjutnya dilakukan pencucian dengan NaCl fisiologis 0,9% sebanyak 3 kali dengan cara yang sama. Setelah pencucian terakhir, maka darah merah ayam tersebut diambil sebanyak 0,5 ml dengan menggunakan pipet kaca, kemudian dimasukkan dalam erlemeyer yang berisi NaCl fisiologis 0,9% sebanyak 99,5 ml.

III.2.6. Antigen 4 HA unit / 0,025 ml

Antigen ND untuk uji HI didapatkan dalam bentuk kemasan berisi 20 ml, produksi Pusat Veterinaria Farma.

Prosedur kerja titrasi antigen adalah sebagai berikut : masing-masing lubang mikroplate diisi NaCl fisiologis 0,9% sebanyak 0,025 ml dengan menggunakan pipet droper, kemudian lubang pertama diisi 0,025 antigen yang akan diuji. Selanjutnya dengan menggunakan mikrodiluter dibuat pengenceran secara seri kelipatan dua dengan cara mencampurkan isi lubang pertama ke lubang kedua dan seterusnya sampai lubang kesebelas.

Dengan demikian antigen diencerkan menjadi 1 : 2 sampai 1 : 2048, sedang lubang keduabelas tidak diisi antigen digunakan sebagai kontrol sel darah merah. kemudian pada semua lubang masing-masing diisi DMA 0,5% sebanyak 0,050 ml dan mikroplate digoyang-goyangkan secara perlahan. Selanjutnya dibiarkan pada suhu kamar selama kira-kira 30 menit atau sampai kontrol sel darah merah dapat dibaca. Segera dicatat pada lubang keberapa dengan pengenceran antigen tertinggi yang masih dapat mengadakan aglutinasi secara sempurna.

III.2.7. Cara pengambilan serum

Melalui vena axillaris darah diambil secara aseptis sebanyak 1 ml dengan menggunakan spuit, kemudian darah segera dipindahkan pada tabung reaksi, sumbat dengan kapas dan diletakkan pada posisi miring. Dalam waktu tertentu terjadi pemisahan hampir sempurna antara serum dengan bekuan darah. Serum yang tidak terpisah, dipusingkan pada sentrifuge kecepatan 2000 rpm selama 10 menit. Serum yang telah terpisah segera dipindahkan pada tabung yang baru dan diinaktifkan pada water bath dengan suhu 56°C selama 30 menit. Setelah itu didinginkan pada suhu kamar, selanjutnya disimpan pada suhu 4°C sampai saat digunakan.

III.2.8. Uji hambatan haemaglutinasi (HI test)

Teknik pelaksanaan HI test terhadap ND di Indonesia dipergunakan mikrotiter dengan Beta prosedur menurut Cooke engineering Company. Hal ini sudah merupakan standarisasi yang telah ditetapkan pada Hasil Lokakarya Laboratorium Kesehatan Hewan II di Lawang - Malang tahun 1978.

Pada uji ini digunakan antigen 4 HA unit dengan volume 0,025 ml yang telah ditetapkan pada uji HA. Caranya sebagai berikut : keduabelas lubang mikroplate masing-masing diisi NaCl fisiologis 0,9% sebanyak 0,025 ml dengan menggunakan mikrodroper. Pada lubang pertama diisi serum yang akan diuji sebanyak 0,025 ml, kemudian NaCl fisiologis 0,9% dan serum dicampur dengan menggunakan mikrodiluter 0,025 ml dan dipin

dahkan pada lubang berikutnya sampai lubang kesepuluh.

Kemudian lubang keduabelas diisi serum 0,025 ml sebagai kontrol serum. Lubang pertama sampai kesepuluh ditambahkan antigen 4 HA unit sebanyak 0,025 ml, selanjutnya mikroplate dibiarkan pada suhu kamar selama 15 menit. Setelah itu semua lubang diisi DMA 0,5% sebanyak 0,05 ml. Mikroplate digoyang-goyangkan secara perlahan, lalu dibiarkan pada suhu kamar sampai kontrol sel darah merah dapat dibaca (lebih kurang 30 menit) pada lubang kesebelas.

III.2.9. Perhitungan titer antibodi

Titer antibodi rata-rata (Geometric Mean Titer) dari tiap perlakuan adalah jumlah titer antibodi pada masing - masing perlakuan dibagi dengan jumlah ayam pada perlakuan tersebut.

III.3. Analisa statistik

Data yang diperoleh diolah secara statistik menggunakan rancangan acak kelompok (RAK). Waktu pengambilan serum berperan sebagai kelompok, sedang jenis pelarut vaksin sebagai perlakuan. Dengan hipotesis sebagai berikut :

H_0 : Tidak terdapat perbedaan antara NaCl fisiologis 0,9% ; aquadest dan air kelapa sebagai pelarut vaksin ND strain Komarov dalam menimbulkan kekebalan pada tubuh ayam.

H_1 : Terdapat perbedaan antara NaCl fisiologis 0,9%; aquadest dan air kelapa sebagai pelarut vaksin ND strain Komarov

dalam menimbulkan kekebalan pada tubuh ayam.

H_0 diterima bila F hitung lebih kecil dari pada $F(0,05)$.

H_1 diterima bila F hitung lebih besar dari pada $F(0,05)$ atau dengan $F(0,01)$.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Untuk menjamin mutu vaksin ND agar aman dipakai, maka perlu diadakan beberapa uji vaksin terlebih dahulu sebelum dipasarkan pada konsumen. Uji vaksin ND meliputi : uji terhadap keamanan, sterilitas dan potensinya.

Menurut Hardjosworo dan Wibowomukti (1979), vaksin ND disebut potent apabila setelah dikenakan pada tubuh individu baik pada selaput lendir ataupun pada jaringan tubuh melalui suntikan, akan menimbulkan kekebalan atau merangsang pembentukan zat kebal protektif yang mempunyai titer tinggi dalam jangka waktu yang cukup lama dalam tubuh individu tersebut. Potensi suatu vaksin tergantung pada beberapa faktor diantaranya : strain virus, jumlah virus dan suhu serta kondisi penyimpanan vaksin, juga jenis vaksin aktif atau inaktif.

Allan et al (1978) mengatakan bahwa uji potensi vaksin ND yang harus dilakukan melalui uji isi virus (virus content), derajat kekebalan dan daya tahan sesudah vaksinasi terhadap virus ND yang virulen.

Dalam penelitian ini, dilakukan 2 uji vaksin yaitu uji isi virus dan derajat kekebalan yang ditimbulkan akibat vaksinasi ND strain Komarov dengan menggunakan 3 macam pelarut berbeda yaitu : NaCl fisiologis 0,9%; aquadest dan air kelapa.

Vaksin yang digunakan dalam satu nomer tanding yang sama, dengan demikian diharapkan tidak terjadi variasi potensi diantara vaksin tersebut.

Sebelum digunakan, NaCl fisiologis 0,9%; aquadest dan air kelapa terlebih dahulu diukur kadar pH nya. Untuk pelarut NaCl fisiologis 0,9%, sebelum disterilisasi pH dibuat sekitar 7,2 - 7,4 dengan cara menambahkan beberapa tetes NaOH 1%. Sedang hasil pengukuran pH aquadest : 6 - 6,3 dan pH air kelapa : 5,4 - 5,7.

Hasil penelitian terhadap uji isi virus dari vaksin ND strain Komarov dengan tiga macam pelarut, masing - masing : NaCl fisiologis 0,9% (perlakuan A), aquadest (perlakuan B), dan air kelapa (perlakuan C) dapat dilihat pada tabel 3 dan tabel lampiran 1, 2 dan 3.

Tabel 3 : Uji isi virus dari vaksin ND strain Komarov dengan pelarut berbeda

perlakuan	EID ₅₀ /ml
A	10 ^{6,68}
B	10 ^{6,37}
C	10 ⁶

Pada vaksin ND strain mesogenik, satu dosis pengebalan minimal yang diperlukan untuk merangsang pembentukan zat kebal

yang cukup dalam tubuh individu adalah 10^5 EID₅₀/dosis (Anonymous, 1985). Dengan demikian dapat diartikan bahwa vaksin yang digunakan dalam penelitian ini dengan menggunakan pelarut berbeda masih berada diatas nilai standar minimal yang telah ditetapkan.

Dalam tubuh anak ayam, antibodi didapatkan melalui 2 cara yaitu secara pasif dan secara aktif. Secara pasif terjadi akibat pemindahan serum ayam kebal kepada ayam lain atau karena transfer dari induk pada waktu pembentukan kuning telur. Sedang secara aktif didapatkan dari hasil vaksinasi atau akibat infeksi alam yang sub klinis.

Adanya antibodi maternal didalam tubuh anak ayam yang baru menetas, dapat mempengaruhi terjadinya kekebalan secara aktif pada infeksi virus ND berikutnya yang berasal dari alam dari hasil vaksinasi (Ronohardjo, 1974).

Antibodi maternal yang ada pada tubuh anak ayam hanya bersifat sementara, tergantung pada beberapa hal diantaranya adalah asal induk ayam, virus ND yang menjadikan induk ayam kebal dan waktu antara akhir vaksinasi dengan telur keluar dar induknya.

Pada penelitian ini, pemeriksaan antibodi maternal dilakukan tiga kali yaitu pada anak ayam umur 4 minggu, 5 minggu dan 6 minggu. Hasil pemeriksaannya dapat dilihat pada tabel 4, tabel lampiran 4, 5 dan 6 serta pada grafik 1.

Tabel 4 : Titer HI rata-rata sebelum vaksinasi (\log_2)

umur ayam (minggu)	k a n d a n g		
	A	B	C
4	2,4	1,8	1,75
5	0,45	0,15	0,3
6	0	0	0

Tingkat antibodi maternal umumnya menurun dengan kecepatan konstan dan mempunyai waktu paruh kira - kira $4\frac{1}{2}$ hari (Allan et al, 1978), sedangkan pada penelitian ini penurunan titer HI rata-rata (GMT) dengan interval waktu satu minggu mengalami penurunan sebesar $\log_2 1,95$ (kandang A), $\log_2 1,65$ (kandang B) dan $\log_2 1,45$ (kandang C). Seminggu kemudian sudah tidak didapatkan antibodi maternal pada tubuh ayam atau GMT = 0. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan Ronohardjo (1973) tentang antibodi maternal terhadap virus ND akan menghilang setelah anak ayam berumur 4 - 6 minggu.

Menurut Chu dan Rizk (1972) yang dikutip oleh Ronohardjo (1974) mengatakan bahwa satu kali vaksinasi dengan virus ND strain mesogenik pada ayam yang sudah berumur 6 minggu akan menghasilkan kekebalan yang kuat dan merata serta terhindar dari reaksi ikutan atau reaksi post vaksinasi yang merugikan. Oleh karena itu, pada penelitian ini vaksinasi dilakukan pada ayam umur 6 minggu.

Sebanyak 60 ekor ayam dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan yaitu : perlakuan A terdiri dari 20 ekor ayam divaksinasi ND strain Komarov dengan pelarut NaCl fisiologis 0,9%; perlakuan B : dengan pelarut aquadest dan perlakuan C : dengan pelarut air kelapa. Pemeriksaan titer antibodi hasil vaksinasi dilakukan sebanyak 6 kali dengan interval waktu seminggu sekali hingga ayam berumur 12 minggu. Hasilnya dapat dilihat pada tabel 5, tabel lampiran 7, 8, 9, 10, 11 dan 12 serta pada grafik 1.

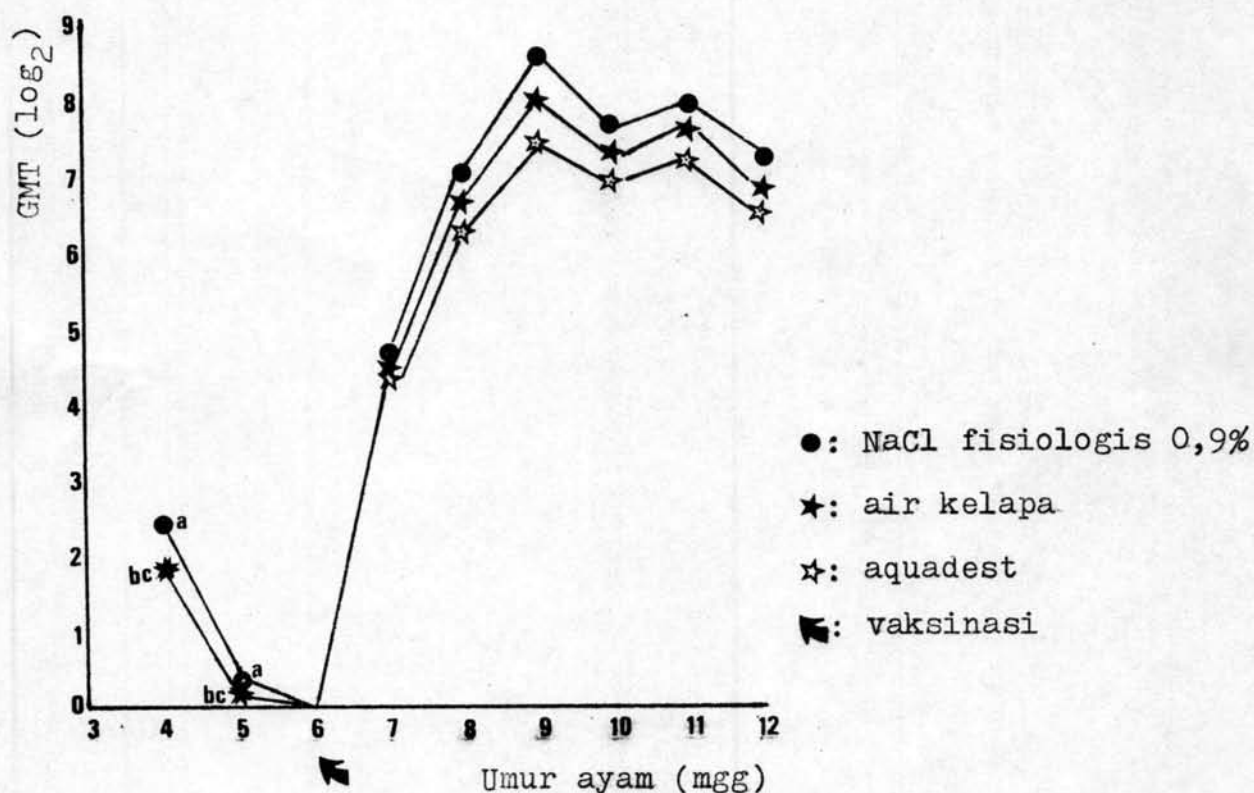
Tabel 5 : Titer HI rata - rata hasil vaksinasi (\log_2)

minggu setelah vaksinasi	p e r l a k u a n		
	A	B	C
1	4,65	4,55	4,6
2	7	6,25	6,65
3	8,5	7,4	7,95
4	7,65	6,9	7,3
5	7,92	7,2	7,65
6	7,2	6,5	6,8

Pada umumnya zat kebal dalam tubuh ayam akan maksimal dalam waktu 14 - 21 hari setelah vaksinasi. sesudah itu, zat kebal akan semakin menurun titernya (Ronohardjo, 1983). Dalam penelitian ini, titer HI rata-rata (GMT) tertinggi terdapat pada 3 minggu setelah vaksinasi yaitu sebesar \log_2 8,5

(perlakuan A), $\log_2 7,4$ (perlakuan B) dan $\log_2 7,95$ (perlakuan C). Sedang titer HI rata-rata terendah pada 1 minggu setelah vaksinasi yaitu sebesar $\log_2 4,65$ (perlakuan A), $\log_2 4,55$ (perlakuan B) dan $\log_2 4,6$ (perlakuan C).

Grarik 1 : Titer HI rata-rata sebelum vaksinasi dan sesudah vaksinasi ND strain Komarov dengan pelarut berbeda



Menurut Ronohardjo (1980), kelompok ayam dengan derajat kekebalan kurang dari $\log_2 5$ sering terserang wabah ND dan apabila titernya lebih dari $\log_2 7$ akan terhindar dari serangan wabah ND. Sedangkan selama penelitian berlangsung, derajat kekebalan yang ditimbulkan masih berada dalam batasan aman terhadap serangan wabah ND.

Titer HI rata-rata hasil vaksinasi secara kumulatif dapat dilihat pada tabel 6. Dari hasil uji F, ternyata antara ketiga perlakuan menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap titer HI rata-rata pada tubuh ayam (tabel lampiran 14). Sedangkan dari hasil uji Beda Nyata Jujur menunjukkan bahwa perlakuan B berbeda sangat nyata dengan perlakuan C, perlakuan B berbeda sangat nyata dengan perlakuan A ($P < 0,01$) dan perlakuan C berbeda nyata dengan perlakuan A ($P < 0,05$).

Tabel 6 : Titer HI rata-rata kumulatif hasil vaksinasi (\log_2)

kelompok	p e r l a k u a n		
	A	B	C
1	4,65	4,55	4,6
2	7	6,25	6,65
3	8,5	7,4	7,95
4	7,65	6,9	7,3
5	7,92	7,2	7,65
6	7,2	6,5	6,8
rata-rata	7,15 ^{a*}	6,46 ^b	6,82 ^c

*huruf yang berbeda pada baris yang sama berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) dan untuk a dengan c berbeda nyata ($P < 0,05$).

Dengan demikian, urutan efektivitas penggunaan ketiga macam

bahan pelarut tersebut dalam menimbulkan kekebalan pada tubuh ayam adalah : pertama NaCl fisiologis 0,9%; kedua air kelapa dan ketiga aquadest.

Pada dasarnya, penggunaan vaksin ND aktif harus mengandung virus yang masih hidup agar dapat memberikan kekebalan yang baik. Vaksin ND aktif yang mengandung virus mesogenik mempunyai titer virus minimal 10^5 EID₅₀/dosis.

Pada penelitian ini, rendahnya titer HI rata-rata pada penggunaan aquadest dan air kelapa bila dibandingkan dengan NaCl fisiologis 0,9% disebabkan oleh adanya faktor tonisitas dan mineral yang terkandung didalamnya. NaCl fisiologis 0,9% merupakan larutan yang bersifat isotonis, maka dalam penggunaannya sebagai pelarut vaksin ND struktur antigen dari virus tidak mengalami perubahan, oleh karenanya dapat memberikan kekebalan yang baik. Sedangkan aquadest bersifat hipotonis, bila virus berada terlalu lama didalamnya maka struktur antigen dari virus akan mengalami kerusakan, dengan sendirinya akan memberikan kekebalan yang kurang baik. Pada air kelapa meskipun bersifat isotonis, masih menimbulkan kekebalan yang lebih rendah bila dibandingkan dengan NaCl fisiologis 0,9%. Adanya mineral dalam air kelapa bersifat toksik bagi virus dan merupakan penyebab penurunan konsentrasi virus. Hal ini sesuai dengan pendapat Gramazine (1964) yang dikutip oleh Allan et al (1978) bahwa sejumlah kecil Cl, Fe, Zn dan Co dalam pelarut vaksin dapat menyebabkan turunya konsentrasi virus yang digunakan.

BAB V

KESIMPULAN

Setelah dilakukan penelitian mengenai pengaruh pelarut vaksin ND strain Komarov melalui uji isi virus dan derajat kekebalan yang ditimbulkan pada tubuh ayam, maka dapat disimpulkan :

1. Melalui uji isi virus terhadap vaksin yang digunakan dengan pelarut berbeda yaitu NaCl fisiologis 0,9%; aquadest dan air kelapa, didapatkan hasil yang masih berada diatas nilai standar minimal yang telah ditetapkan.
2. Melalui uji terhadap derajat kekebalan yang ditimbulkan dan setelah data yang diperoleh diolah secara statistik, maka penggunaan pelarut NaCl fisiologis 0,9% merupakan yang terbaik bila dibandingkan dengan pelarut aquadest dan air kelapa. Namun demikian, dalam keadaan mendesak aquadest dan air kelapa masih dapat digunakan sebagai pelarut vaksin ND strain Komarov mengingat derajat kekebalan yang ditimbulkan masih berada pada batasan aman terhadap serangan wabah ND dan tidak adanya kematian ayam percobaan.

RINGKASAN

Hingga saat ini, ND merupakan penyakit unggas terpenting di Indonesia. Usaha pengendaliannya hanya dititik beratkan pada sanitasi yang ketat disertai tindakan vaksinasi secara teratur. Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi hasil vaksinasi adalah pelarut vaksin khususnya pelarut vaksin ND jenis aktif.

Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh penggunaan NaCl fisiologis 0,9%; aquadest dan air kelapa hijau muda (*Cocos nucifera*) sebagai pelarut vaksin ND strain Komarov terhadap kekebalan yang ditimbulkan pada tubuh ayam.

Melalui uji isi virus (virus content), didapatkan hasil: perlakuan A (NaCl fisiologis 0,9%) $10^{6,68}$ EID₅₀/ml; perlakuan B (aquadest) $10^{6,37}$ EID₅₀/ml dan perlakuan C (air kelapa) 10^6 EID₅₀/ml.

Untuk mengetahui derajat kekebalan yang ditimbulkan pada tubuh ayam akibat perlakuan, diadakan pemeriksaan terhadap serum kebal menggunakan HI test mikrotiter Beta prosedur. Dalam penelitian ini, titer HI rata-rata (GMT) tertinggi terdapat pada 3 minggu setelah vaksinasi yaitu sebesar $\log_2 8,5$ (perlakuan A), $\log_2 7,4$ (perlakuan B) dan $\log_2 7,95$ (perlakuan C). Sedang titer HI rata-rata terendah pada 1 minggu setelah vaksinasi yaitu sebesar $\log_2 4,65$ (perlakuan A), $\log_2 4,55$ (perlakuan B) dan $\log_2 4,6$ (perlakuan C).

Data kumulatif yang diperoleh diolah secara statistik melalui uji F dan diteruskan dengan uji beda nyata jujur (BNJ), ternyata terdapat perbedaan sangat nyata antara perlakuan B dengan perlakuan C dan antara perlakuan B dengan perlakuan A ($P < 0,01$). Sedangkan perlakuan C berbeda nyata dengan perlakuan A ($P < 0,05$).

Dari hasil penelitian ini, penggunaan NaCl fisiologis 0,9% merupakan yang terbaik bila dibandingkan dengan aquadest dan air kelapa. Namun demikian, dalam keadaan mendesak aquadest dan air kelapa masih dapat digunakan sebagai pelarut vaksin ND strain Komarov mengingat virus contentnya masih berada di atas nilai standar minimal yang telah ditetapkan dan derajat kekebalan yang ditimbulkan masih pada batasan aman terhadap serangan wabah ND serta tidak terdapat kematian ayam percobaan.

DAFTAR PUSTAKA

- Allan, W.H, J.H. Lancaster and B. Toth. 1978. Newcastle Disease Vaccines Their Production and Use. Food and Agriculture Organization of the United Nation. Rome. Italy.
- Anonimous. 1977. The Philippine Journal of Coconut Studies. Vol. II, No. 2, Juni 1977. pp. 39.
- Anonimous. 1978. Standart HI test Terhadap ND. Hasil Lokakarya Laboratorium Kesehatan Hewan II. Di Lawang Malang. 27 - 30 Juni 1978. hal. 28 - 34.
- Anonimous. 1979. Farmakope Indonesia. edisi ketiga. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hal. 96, 404.
- Anonimous. 1981. Penyakit Tetelo. Pedoman Pengendalian Penyakit Hewan menular. Jilid I cetakan kedua. Direktorat kesehatan Hewan. Direktorat Jendral Peternakan. Jakarta. hal. 5 - 13.
- Anonimous. 1982. Pola Operasional Pengendalian ND dan SE. Direktorat Kesehatan Hewan. Direktorat Jendral Peternakan. Jakarta. hal. 15.
- Anonimous. 1985. Peraturan Perundangan Kesehatan Hewan. Edisi II. No. 1/I/1984-1985. Direktorat Kesehatan Hewan. Direktorat Jendral Peternakan. Jakarta. hal 85.
- Bruner, D.W. and J.H. Gillespie. 1973. Newcastle Disease. Hagan's Infectious Disease of Domestic Animals. 6th ed Comstock Publishing Associates, Cornell University Press Ithaca. New York. pp. 947 - 952.

- Dwight, L. Deaddroff. 1975. Isotonic Solutions. Remington's Publishing Company, Caston Pennsylvania. pp. 1405 - 1407.
- Gordon, R.F. and F.T.W. Jordan. 1982. Newcastle Disease. Poultry Diseases. 2th ed. The English Language Book Society and Bailliere Tindale. London. pp. 98 - 112.
- Gough, R.E. and W.H. Allan. 1973. Aerosol Vaccination Against Newcastle Disease. The Influence of Vaccine diluent. Vet. Rec. 93 : 458 - 461.
- Hanson, R.P. 1972. Newcastle Disease In: Disease of Poultry. M.S. Hofstad. Ed. The Iowa State University Press Ames. pp. 619 - 645.
- Hardjosworo, S. dan P.S. Wibowomukti. 1979. Vaksin Tetelo : Problem dan Pengujian. Kertas Kerja Pada Lokakarya Pengamanan mutu vaksin ND. Jakarta 28/2 - 2/3 - 1979.
- Hinderaker, S. 1966. Coconut Milk Infusion. The Lancet. London. Saturday, 2 July 1966. No 7453. pp. 557.
- Jawetz, E., J.L., Melnick and E.A. Adelberg. 1984. Konjunktivitis Penyakit Tetelo. Review of Medical Microbiology 14th ed. Lange Publication San Fransisco. USA. pp.664
- Martindale. 1982. Coconut Water. The Extra Pharmacopoeia. 28th ed. pp. 1697.
- Merchant, I.A. and Packer. 1971. Newcastle Disease Virus. Veterinary Bacteriology and Virology. 8th ed. Iowa State Univ. Press Ames. USA. pp. 670 - 674.

- Nurasid, H., T. Ontoseno and S. Purwodibroto. 1979. The Use of Young Coconut Water in Pediatric Cholera. *Pediatrica Indonesiana*. 19 : 219 - 225.
- Nurendah, P., B. Dzulkarnain, B. Wahjudi, S. Bakar. 1980. Pengaruh Air Kelapa Hijau Muda Terhadap Kelinci. Risalah Simposium Penelitian Tumbuhan Obat II. Puslit Farmasi, Badan Litbang Kes. Jakarta. hal. 42 - 45.
- Rajasuriya, K. 1966. Coconut Milk Infusion. *The Lancet*. London. Saturday, 2 July 1966. No. 7453. pp. 166 - 167
- Ranti, I.S.F., Kwee Tien Boh, Thio In Liang and Tan Eng Hoey 1965. Coconut Water for Intravenous Fluid Therapy. *Journal of The Indonesian Pediatric Society*. *Pediatrica Indonesiana*. 5 : 782 - 792.
- Ressang, A.A. 1984. Newcastle Disease. *Patologi Khusus Veteriner*. edisi kedua. N.V. Percetakan Bali. hal. 567 - 574.
- Ronohardjo, P. 1972. Tentang Kekebalan Bawaan Terhadap Penyakit Newcastle Disease. *Bulletin LPPH* vol. 3 semester I - II. No. 3 - 4. hal 31 - 39.
- Ronohardjo, P. 1974. Pengaruh Infeksi Virus Newcastle Suku Lapangan yang Virulen Pada Anak-anak Ayam yang Mempunyai Kekebalan Bawaan. *Bulletin LPPH*. No. 6 dan 7 hal. 48 - 62.
- Ronohardjo, P., S.P.J. Simandjuntak dan Makdum Abubakar. 1974

Pengaruh Infeksi Virus Newcastle Disease yang Virulen Pada Titer HI dan Berat Bursa Fabricii Post Infeksi. Bulletin LPPH. No. 6 dan 7. hal. 63 - 72.

Ronohardjo, P. 1980. Beberapa Masalah yang Menyangkut Pengendalian Penyakit Tetelo (ND) di Indonesia. Seminar Penyakit Reproduksi dan Unggas di Tugu, Bogor.

Ronohardjo, P. 1983. Evaluasi Vaksin dan Vaksinasi Newcastle Disease di Indonesia. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. BPPH. Rapat Kerja Direktorat Jendral Peternakan. 24 - 29 Januari 1983 di Jakarta.

Sjamsudin, A. 1977. Tentang Vaksin Adjuvan. Lembaga Penelitian Penyakit Hewan. Bulletin no. 14. hal 56 - 63.

Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1980. Principles and Procedure of Statistics. A Biometrical Approach. 2 nd ed. Mc. Graw Hill Kogakusha, Ltd.

Sudjana. 1980. Disain dan Analisis Eksperimen. Penerbit Tar-sito Bandung.

Sugiman. 1977. Pengujian " Hemagglutination Inhibition " Untuk Penyakit Tetelo Pada Ayam. Seminar Pertama Tentang Ilmu dan Industri Perunggasan. 30 - 31 Mei 1977 di Cisarua Bogor.

Villegas, P. and S.H. Kleven. 1975. Aerosol Vaccination Against Newcastle Disease II. Effect of Vaccine Diluents. Avian Diseases. Vol. 20 no. 2. pp. 260-267.

Yadin, H. 1981. Aerosol Vaccination Against Newcastle Disease : Factors Affecting the Serological Response In Chickens. Avian Pathology. 10 : 329 - 341.

L A M P I R A N

Tabel lampiran 1. Uji isi virus (virus content) dari vaksin ND strain Komarov dengan pelarut NaCl fisiologis 0,9%

Pengenceran	Hasil individu		Hasil kumulatif		Prosentase
	HA ⁺	HA ⁻	HA ⁺	HA ⁻	
10 ⁻⁴	5	0	21	0	100
10 ⁻⁵	5	0	16	0	100
10 ⁻⁶	5	0	11	0	100
10 ⁻⁷	4	1	6	1	85,71
10 ⁻⁸	2	3	2	4	33,33

$$PD = \frac{\% HA^+ \text{ diatas } 50\% - 50\%}{\% HA^+ \text{ diatas } 50\% - \% HA^+ \text{ dibawah } 50\%}$$

$$= \frac{85,71 - 50}{85,71 - 33,33} = 0,68$$

$$EP_{50\%} = 10^{-7} - 0,68 = 10^{-7,68}$$

$$ID_{50\%} = 10^{-7,68} \times 10^{-1} = 10^{-8,68}$$

$$\text{Isi virus per ampul} = \frac{1}{10^{-8,68}} = 10^{8,68} ID_{50}$$

$$\text{Jadi isi virus per dosis} = 10^{6,68} ID_{50}$$

Tabel lampiran 2. Uji isi virus (virus content) dari vaksin ND strain Komarov dengan pelarut aquadest

Pengenceran	Hasil individu		Hasil kumulatif		Prosentase
	HA ⁺	HA ⁻	HA ⁺	HA ⁻	
10 ⁻⁴	3	1	15	1	93,75
10 ⁻⁵	2	1	12	2	85,71
10 ⁻⁶	4	1	10	3	76,92
10 ⁻⁷	3	1	6	4	60
10 ⁻⁸	3	2	3	6	33,33

$$PD = \frac{\% HA^+ \text{ diatas } 50\% - 50\%}{\% HA^+ \text{ diatas } 50\% - \% HA^+ \text{ diatas } 50\%}$$

$$= \frac{60 - 50}{60 - 33,33} = 0,37$$

$$EP_{50\%} = 10^{-7} - 0,37 = 10^{-7,37}$$

$$ID_{50\%} = 10^{-7,37} \times 10^{-1} = 10^{-8,37}$$

$$\text{Isi virus per ampul} = \frac{1}{10^{-8,37}} = 10^{8,37} ID_{50}$$

$$\text{Jadi isi virus per dosis} = 10^{6,37} ID_{50}$$

Tabel lampiran 3. Uji isi virus (virus content) dari vaksin ND strain Komarov dengan pelarut air kelapa

Pengenceran	Hasil individu		Hasil kumulatif		Prosentase
	HA ⁺	HA ⁻	HA ⁺	HA ⁻	
10 ⁻⁴	5	0	16	0	100
10 ⁻⁵	3	0	11	0	100
10 ⁻⁶	5	0	8	0	100
10 ⁻⁷	2	3	3	3	50
10 ⁻⁸	1	4	1	7	12,5

$$ID_{50\%} = 10^{-7} \times 10^{-1} = 10^{-8}$$

$$\text{Isi virus per ampul} = \frac{1}{10^{-8}} \times 10^8 ID_{50}$$

$$\text{Jadi isi viru per dosis} = 10^6 ID_{50}$$

Tabel lampiran 4. Titer antibodi pada ayam umur
4 minggu

kandang	titer HI (log 2)	frekuensi	G M T (log 2)
A	0	5	2,4
	3	13	
	4	1	
	5	1	
B	0	8	1,8
	3	12	
C	0	9	1,75
	3	9	
	4	2	

Tabel lampiran 5. Titer antibodi pada ayam umur 5 minggu

kandang	titer HI (log 2)	frekuensi	G: M T (log 2)
A	0	17	0,45
	3	3	
B	0	19	0,15
	3	1	
C	0	18	0,3
	3	2	

Tabel lampiran 6. Titer antibodi pada ayam umur 6 minggu

kandang	titer HI (log 2)	frekuensi	G M T (log 2)
A	0	20	0
B	0	20	0
C	0	20	0

Tabel lampiran 7. Titer antibodi 1 minggu setelah
vaksinasi

perlakuan	titer HI (log 2)	frekuensi	G M T (log 2)
A (pelarut NaCl fis. 0,9%)	4	12	4,65
	5	4	
	6	3	
	7	1	
B (pelarut aqua- dest)	4	13	4,55
	5	4	
	6	2	
	7	1	
C (pelarut air kelapa)	4	11	4,6
	5	6	
	6	3	

Tabel lampiran 8. Titer antibodi 2 minggu setelah
vaksinasi

perlakuan	titer HI (log 2)	frekuensi	G M T (log 2)
A (pelarut NaCl fis. 0,9%)	5	2	7
	6	7	
	7	4	
	8	4	
	9	2	
	10	1	
B (pelarut aqua- dest)	5	3	6,25
	6	11	
	7	4	
	8	2	
C (pelarut air kelapa)	5	2	6,65
	6	9	
	7	5	
	8	3	
	10	1	

Tabel lampiran 9. Titer antibodi 3 minggu setelah
vaksinasi

perlakuan	titer HI (log 2)	frekuensi	G M T (log 2)
A (pelarut NaCl fis. 0,9%)	7	3	8,5
	8	8	
	9	6	
	10	2	
	11	1	
B (pelarut aqua- dest)	6	7	7,4
	7	4	
	8	4	
	9	4	
	10	1	
C (pelarut air kelapa)	6	4	7,95
	7	3	
	8	6	
	9	5	
	10	1	
	11	1	

Tabel lampiran 10. Titer antibodi 4 minggu setelah
vaksinasi

perlakuan	titer HI (log 2)	frekuensi	G M T (log 2)
A (pelarut NaCl fis. 0,9%)	6	4	7,65
	7	7	
	8	3	
	9	4	
	10	2	
B (pelarut aqua- dest)	6	9	6,9
	7	6	
	8	3	
	9	2	
C (pelarut air kelapa)	6	8	7,3
	7	7	
	9	2	
	10	2	
	11	1	

Tabel lampiran 11. Titer antibodi 5 minggu setelah
vaksinasi

perlakuan	titer HI (log 2)	frekuensi	G M T (log 2)
A (pelarut NaCl fis. 0,9%)	6	2	7,92
	7	5	
	8	7	
	9	4	
	10	2	
B (pelarut aqua- dest)	6	8	7,2
	7	5	
	8	4	
	9	1	
	10	2	
C (pelarut air kelapa)	6	7	7,65
	7	3	
	8	3	
	9	4	
	10	3	

Tabel lampiran 12. Titer antibodi 6 minggu setelah
vaksinasi

perlakuan	titer HI (log 2)	frekuensi	G M T (log 2)
A (pelarut NaCl fis. 0,9%)	6	6	7,2
	7	7	
	8	2	
	9	3	
	10	2	
B (pelarut aqua- dest)	6	12	6,5
	7	6	
	8	2	
C (pelarut air kelapa)	6	8	6,8
	7	8	
	8	4	

Tabel lampiran 13.

Analisa data : Pengaruh pelarut vaksin ND strain Komarov terhadap titer HI rata-rata (GMT)

perlakuan kelompok	j e n i s p e l a r u t			total
	NaCl fis. 0,9% (A)	aquadest (B)	air kelapa (C)	
1	4,65	4,55	4,6	13,8
2	7	6,25	6,65	19,9
3	8,5	7,4	7,95	23,85
4	7,65	6,9	7,3	21,85
5	7,92	7,2	7,65	22,77
6	7,2	6,5	6,8	20,5
total	42,92	38,8	40,95	122,67
rata-rata	7,15	6,46	6,82	

$$\text{faktor koreksi (FK)} = \frac{(42,92 + 38,8 + 40,95)^2}{3 \times 6}$$

$$= 835,9960$$

$$\text{JKT} = (4,65)^2 + (7)^2 + (8,5)^2 + \dots + (6,8)^2 - \text{FK}$$

$$= 858,8239 - 835,9960$$

$$= 22,8279$$

$$\text{JKK} = \frac{(13,8)^2 + (19,9)^2 + (23,85)^2 + (21,85)^2 + (22,77)^2 + (20,5)^2}{3} - \text{FK}$$

$$= 857,1393 - 835,9960$$

$$= 21,1433$$

$$JKP = \frac{(42,92)^2 + (38,8)^2 + (40,95)^2}{6} - FK$$

$$= 837,4115 - 835,9960$$

$$= 1,4155$$

$$JKS = JKT - JKT - JKK$$

$$= 22,8279 - 21,1433 - 1,4155$$

$$= 0,2691$$

Daftar sidik ragam

sumber keragaman	db	JK	KT	F_{hit}	$F_{0,05}$	$F_{0,01}$
perlakuan	2	1,4155	0,7077	26,31*	4,10	7,56
kelompok	5	21,1433	4,2287			
sisas	10	0,2691	0,0269			
total	17	22,8279				

*berbeda sangat nyata ($P < 0,01$)

Kesimpulan : Karena $F_{hit} > F_{tab}$ maka H_0 ditolak dan H_1 diterima. Berarti terdapat perbedaan sangat nyata antara ketiga jenis perlakuan terhadap kekebalan pada tubuh ayam.

Untuk menguji efek perlakuan tiap pasangan perlakuan, dilakukan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ).

$$BNJ 5\% = q_{0,05}(3, 10) \times \sqrt{\frac{0,0272}{6}}$$

$$= 3,88 \times 0,0671$$

$$= 0,2603$$

$$\text{BNJ } 1\% = q \ 0,01 \ (3, \ 10) \times \frac{0,0272}{6}$$

$$\equiv 5,27 \times 0,0671$$

$$= 0,3536$$

Matriks selisih nilai rata-rata perlakuan :

perlakuan	rata-rata	B	C	A	BNJ	
		6,46	6,82	7,15	0,05	0,01
B	6,46	0	0,36**	0,69**	0,2603	0,3536
C	6,82		0	0,33*		
A	7,15			0		

** berbeda sangat nyata ($P < 0,01$)

* berbeda nyata ($P < 0,05$)

Kesimpulan :

1. Perlakuan B berbeda sangat nyata dengan perlakuan C ($P < 0,01$)
2. Perlakuan B berbeda sangat nyata dengan perlakuan A ($P < 0,01$)
3. Perlakuan C berbeda nyata dengan perlakuan A ($P < 0,05$).

