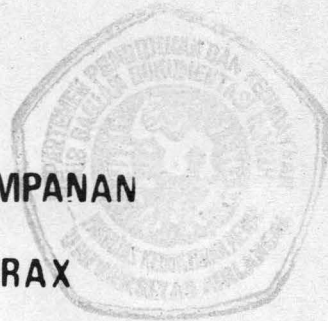


**SKRIPSI**

IR PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA



**PENGARUH TEMPERATUR DAN LAMA PENYIMPANAN  
TERHADAP JUMLAH SPORA VAKSIN ANTHRAX  
STRAIN 34 F2 WEYBRIDGE**



Oleh

**RENY KOESWIDIARTI**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA**

**1990**


PENGARUH TEMPERATUR DAN LAMA PENYIMPANAN  
TERHADAP JUMLAH SPORA VAKSIN ANTHRAX  
STRAIN 34 F<sub>2</sub> WEYBRIDGE

SKRIPSI

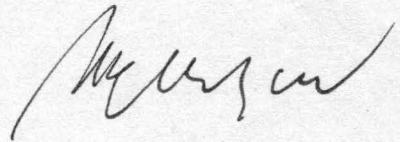
DISERAHKAN KEPADA FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA UNTUK MEMENUHI  
SEBAGIAN SYARAT GUNA MEMPEROLEH  
GELAR DOKTER HEWAN

OLEH :

RENY KOESWIDIARTI  
SURABAYA - JAWA TIMUR



( DRH. RAHAYU ERNAWATI, M.Sc. )  
PEMBIMBING I



( DRH. MULJAWAN SAPARDI )  
PEMBIMBING II



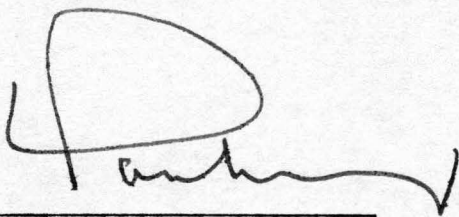
( Dr. SARMANU, M.S. )  
PEMBIMBING III

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

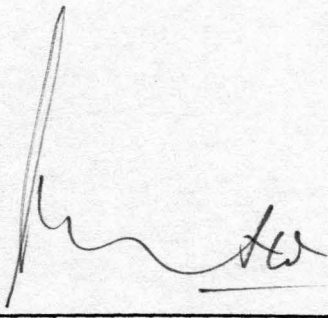
1987

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

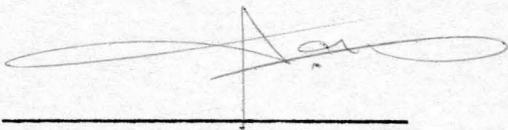
Panitia Penguji :



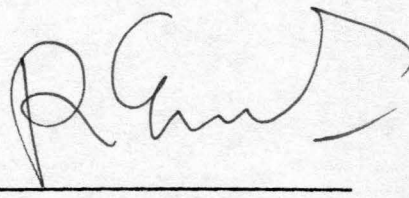
Ketua



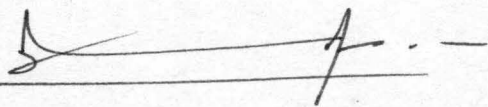
Sekretaris



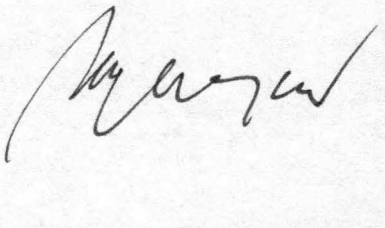
Anggota



Anggota



Anggota



Anggota

S K R I P S I

PENGARUH TEMPERATUR DAN LAMA PENYIMPANAN  
TERHADAP JUMLAH SPORA VAKSIN ANTHRAX

STRAIN 34 F2 WEYBRIDGE

Oleh :

RENY KOESWIDIARTI

( 067910387 )

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

UNIVERSITAS AIRLANGGA

S U R A B A Y A

1987

## KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi. Skripsi ini dibuat sebagai salah satu tugas kurikuler guna memenuhi persyaratan untuk mendapatkan gelar Dokter Hewan pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada sivitas akademika Airlangga pada umumnya, Fakultas Kedokteran Hewan pada khususnya. Penulis dapat mengenyam pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Bersama ini pula penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada :

- Bapak drh. Ahmad Mahjudin, sebagai Kepala Pusat Veterinaria Farma Surabaya, yang telah memberikan bantuan fasilitas laboratorium hingga selesainya penelitian.
- Bapak drh. Muljawan Sapardi, sebagai Kepala Bidang Produksi Aneka Vaksin dan Antiserum Pusat Veterinaria Farma Surabaya.
- Ibu drh. Rahayu Ernawati, MSc, sebagai Kepala Laboratorium Virologi dan Immunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.
- Ibu drh. Herawati Setianingsih, sebagai Kepala Sub Bidang Vaksin Zoonosis Pusat Veterinaria Farma Surabaya yang banyak memberikan bimbingan teknis dan pengarahan langsung dalam pelaksanaan penelitian.
- Bapak Dr. Sarmanu MS, sebagai dosen Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya yang telah banyak membantu dalam penerapan statistik.

- Staf dan Karyawan Laboratorium Vaksin Zoonosis Pusat Veterinaria Farma Surabaya yang banyak membantu kelancaran kerja selama penelitian berlangsung.
- Semua pihak yang telah membantu penulis hingga selesainya skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna, maka kritik dan saran akan penulis perhatikan sebagai bekal dalam penyusunan nantinya.

Surabaya, Juli 1987

Penulis

## DAFTAR ISI

Halaman

|  |     |
|--|-----|
| KATA PENGANTAR .....                       | i   |
| DAFTAR ISI .....                           | iii |
| DAFTAR TABEL .....                         | iv  |
| DAFTAR GAMBAR .....                        | v   |
| DAFTAR LAMPIRAN .....                      | vi  |
| BAB I : PENDAHULUAN .....                  | 1   |
| BAB II : TINJAUAN PUSTAKA .....            | 3   |
| 2.1. Kuman <i>Bacillus anthracis</i> ..... | 3   |
| 2.1.1. Sejarah Penyakit .....              | 3   |
| 2.1.2. Morfologi .....                     | 5   |
| 2.1.3. Sifat Biakan .....                  | 5   |
| 2.1.4. Sifat Biokimia .....                | 6   |
| 2.1.5. Resistensi .....                    | 7   |
| 2.1.6. Struktur Antigenik dan Toksin ..... | 8   |
| 2.2. Vaksin Anthrax .....                  | 8   |
| BAB III : BAHAN DAN CARA KERJA .....       | 10  |
| 3.1. Bahan Penelitian .....                | 10  |
| 3.1.1. Vaksin Anthrax .....                | 10  |
| 3.1.2. Media .....                         | 10  |
| 3.1.3. Alat-alat .....                     | 11  |
| 3.2. Cara Kerja .....                      | 11  |
| 3.3. Analisa Data .....                    | 13  |
| 3.4. Hipotesa .....                        | 13  |
| BAB IV : HASIL DAN PEMBAHASAN .....        | 14  |
| BAB V : KESIMPULAN DAN SARAN .....         | 18  |
| BAB VI : RINGKASAN .....                   | 19  |
| DAFTAR PUSTAKA .....                       | 21  |

DAFTAR TABEL

Halaman

|   |    |
|---|----|
| TABEL 1. Rata-rata Jumlah Spora Perbotol Vaksin<br>Tiap-tiap Bulan Sampai Periode Penyimpanan<br>Selama Tiga Bulan ( $10^7$ ) ..... | 14 |
|---|----|



DAFTAR GAMBAR

|  |    |
|--|----|
| GRAFIK 1. Rata-rata Jumlah Spora Vaksin Anthrax<br>Pada Bulan Pertama Sampai Bulan Ke Tiga<br>Penyimpanan ( $10^7$ ) ..... | 16 |
|--|----|

## DAFTAR LAMPIRAN

|   | Halaman |
|---|---------|
| Lampiran 1. Rata-rata Jumlah Spora Vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge Selama Tiga Bulan Penyimpanan ( $10^7$ ) .....           | 24      |
| 2. Sidik Ragam Dari Rata-rata Jumlah Spora Vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge Selama Tiga Bulan Penyimpanan .....              | 25      |
| 3. Perbedaan Rata-rata Jumlah Spora Vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge Selama Tiga Bulan Penyimpanan Berdasarkan BNT 1 % ..... | 26      |
| 4. Data Jumlah Spora Vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge Selama Satu Bulan Penyimpanan ( $10^7$ ) .....                         | 27      |
| 5. Sidik Ragam Jumlah Spora Vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge Selama Satu Bulan Penyimpanan Berdasarkan BNT 1 % .....         | 28      |
| 6. Perbedaan Rata-rata Jumlah Spora Vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge Selama Satu Bulan Penyimpanan Berdasarkan BNT 1 % ..... | 29      |
| 7. Data Jumlah Spora Vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge Selama Dua Bulan Penyimpanan ( $10^7$ ) .....                          | 30      |
| 8. Sidik Ragam Jumlah Spora Vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge Selama Satu Bulan Penyimpanan .....                             | 31      |
| 9. Perbedaan Rata-rata Jumlah Spora Vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge Selama Dua Bulan Penyimpanan Berdasarkan BNT 1 % .....  | 32      |

|     |  |    |
|-----|--|----|
| 10. | Data Jumlah Spora Vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge Selama Tiga Bulan Penyimpanan ( $10^7$ ) .....                         | 33 |
| 11. | Sidik Ragam Jumlah Spora Vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge Selama Tiga Bulan Penyimpanan .....                             | 34 |
| 12. | Perbedaan Rata-rata Jumlah Spora Vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge Selama Tiga Bulan Penyimpanan Berdasarkan BNT 1 % ..... | 35 |

## BAB I

## PENDAHULUAN

Sebagaimana diketahui bahwa makin tinggi tingkat hidup dan pendapatan suatu bangsa, makin meningkat pula kebutuhan pangan yang bernilai gizi tinggi. Ditinjau dari masalah gizi, biasanya tidak dapat dipisahkan dengan penyediaan protein. Berdasarkan sumbernya, protein dapat digolongkan sebagai protein nabati dan protein hewani yang antara lain berasal dari ikan, telur, susu dan daging.

Untuk mengatasi makin meningkatnya kebutuhan akan protein hewani, pemerintah pada saat ini berusaha meningkatkan populasi ternak, dengan jalan perbaikan makanan ternak, mengadakan kawin suntik (IB), mendatangkan bibit unggul dari luar negeri serta meningkatkan program pengamanan ternak dari serangan penyakit.

Penyakit yang dapat menyerang ternak antara lain berupa penyakit bakterial, penyakit jamur, penyakit parasiter maupun penyakit viral yang dapat menyebar luas.

Salah satu penyakit bakterial yang dapat menular dari hewan ke hewan atau hewan kepada manusia (Zoonosis) yaitu penyakit anthrax.

Kejadian penyakit anthrax di Indonesia dilaporkan pertama kali pada tahun 1884 di Teluk Betung. Selanjutnya sejak tahun enam puluhan di Bandung, Subang dan Purwakarta terjadi kasus anthrax pada hewan yang disertai dengan penularannya pada manusia (Ressang, 1984).

Dipedalaman Irian Jaya sejak tahun 1956 tiap tahun terjadi banyak kematian pada babi dan juga manusia yang makan daging babi berasal dari babi yang sakit atau mati akibat terserang penyakit anthrax. Kejadian tersebut ternyata terjadi setiap tahun, bahkan dalam tahun 1983 meminta korban jiwa 45 orang dan sampai bulan Mei 1984 wabah penyakit anthrax pada babi masih berkelanjutan (Tono, 1985).

Disamping menyebabkan kematian pada manusia dan dapat mengakibatkan kerugian ekonomis yang cukup besar pada ternak yang disebabkan oleh penyakit anthrax, maka cara-cara pengendalian terhadap penyakit anthrax perlu mendapat perhatian. Salah satu cara pengendalian terhadap penyakit anthrax, dengan jalan mengadakan vaksinasi.

Dalam usaha pengendalian penyakit anthrax di Indonesia, Pusat Veterinaria Farma Surabaya memproduksi vaksin anthrax (spore vaccine) dibuat dari strain *Bacillus anthracis* yang tidak berkapsul dan tidak ganas sebagai Strain 34 F2 (Sterne).

Untuk memperoleh vaksin yang mempunyai kualitas tinggi haruslah ditentukan kemampuan vaksin yang menimbulkan antibodi. Pada vaksin anthrax salah satu faktor yang menentukan kualitas vaksin adalah jumlah spora yang terkandung dalam vaksin tersebut, menurut ketentuan British Veteriner Codex setiap 1 ml mengandung tidak kurang dari 10 juta spora kuman *Bacillus anthracis*. Adapun penurunan jumlah spora dalam vaksin anthrax dapat dipengaruhi oleh temperatur dan lama penyimpanan, setelah vaksin diproduksi.

Sehubungan dengan hal tersebut, maka penulis ingin mengetahui lebih jauh tentang pengaruh temperatur dan lama penyimpanan terhadap jumlah spora vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge produksi Pusat Veterinaria Farma Surabaya.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Zoonosis Pusat Veterinaria Farma Surabaya, dimulai bulan April 1986 sampai dengan bulan Agustus 1986. Sampel berupa vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge didapatkan dari laboratorium Zoonosis Pusat Veterinaria Farma Surabaya.

Dari penelitian ini diharapkan dapat diketahui sedikit gambaran sejauh mana temperatur dan lama penyimpanan mempengaruhi kualitas vaksin anthrax, sebelum vaksin tersebut digunakan.

## BAB II

## TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kuman *Bacillus anthracis*

## 2.1.1. Sejarah penyakit

Anthrax adalah penyakit bakterial menular yang disebabkan oleh kuman *Bacillus anthracis*. Penyakit ini biasanya bersifat akut atau perakut dan menyerang hampir semua hewan, terutama hewan pemamah biak, kuda dan babi (Hungerford, 1974; Joklik *et al*, 1980). Kuman *Bacillus anthracis* termasuk phylum Taloophyta, class Schizomycetes, ordo Eubacteriales, family Bacillaceae dan genus Bacillus (Smith dan Conant, 1960; Cruickshank, 1975). Nama lain anthrax adalah cumberland disease, splenic fever, milzbrand, charbon, radang limpa atau radang kura (Dunne, 1964; Bruner dan Gillespie, 1973; Hungerford, 1974; Ressay, 1984).

Davaine dan Rayer (1950) yang dikutip oleh Merchant dan Packer (1971) pertama kali menemukan pada darah domba, kemudian Braurell (1857 - 1858) melaporkan bahwa anthrax dapat ditularkan dari manusia kepada domba. Fuchs (1859) melihat *Bacillus anthracis* seperti vibrions dalam darah hewan. Davaine (1863 - 1868) melihat bentuk kuman filiform yang diberi nama bacteriodes yang berasal dari darah hewan yang mati karena anthrax dan bila disuntikan pada kelinci mengakibatkan kematian. Robert Koch (1876) yang dikutip oleh (Jensen, 1974) pertama kali mengisolasi kuman anthrax dari darah hewan yang mati karena anthrax. Chaveau dan Tossaint (1880) dapatengebalkan hewan terhadap anthrax, dan Pasteur (1881) menyempurnakan pengebalan hewan terhadap anthrax di Pouilly-le Fort.

Penyakit anthrax tersebar luas di negara-negara antara lain; India, China, Perancis, Siberia, Rusia, Afrika Utara, Mexico dan sebagian Amerika Selatan yang merupakan problem utama pada peternakan yang besar (Merchant dan Packer, 1971).

Di Inggris penyakit anthrax pertama kali terjadi pada tahun 1910 dan letupan tertinggi terjadi tahun 1956 yaitu 1.330 ternak yang terserang dan menyebabkan kematian 1.245, di Amerika Serikat pada tahun 1945 - 1950 terjadi letupan penyakit anthrax sebesar 658 kasus dengan kejadian tertinggi pada babi dan di Portugal terjadi letupan pada tahun 1951 (Wilson dan Miles, 1966).

Di Indonesia anthrax telah ada sejak tahun 1884 di daerah Teluk Betung yang dimuat pada "Javasche Courant" dan pada tahun 1885 "Kolonial Verslag" meriwayatkan anthrax di daerah Buleleng (Bali), Rawas (Palembang) dan Lampung.

Setelah tahun 1900 di Indonesia terjadi kasus berturut-turut di Jambi dan Palembang tahun 1900; Padang, Bengkulu dan Palembang tahun 1910; Padang, Bengkulu dan Palembang 1914; Bukittinggi, Padang, Palembang dan Jambi tahun 1930; Sibolga, Palembang dan Medan tahun 1933 dan 1956; Flores tahun 1934, 1938, 1953, 1957; Pulau Roti tahun 1922, 1952, dan 1953 (Ressang, 1984).

Kejadian penyakit anthrax masih berlanjut hingga kini, yang timbul adakalanya menjadi wabah atau timbul secara sporadik terutama di daerah Jawa Barat, NTT, NTB, Sulawesi Selatan dan Sumatera. Pada tahun 1983 di daerah Bekasi terjangkit penyakit anthrax atau yang disebut pesdar oleh masyarakat setempat, karena mengkonsumsi daging dari hewan yang berpenyakit anthrax. Dan pada tahun 1984 di kabupaten Paniai Irian Jaya terjadi wabah, jumlah populasi babi yang terserang 1.869 dengan angka kematian 110 ekor (5,8 %) (Anonimus, 1985).

### 2.1.2. Morfologi dan Sifat Pewarnaan

*Bacillus anthracis* berbentuk batang dengan ukuran panjang 3-8 mikron dan lebar 1-1,5 mikron. Dalam biakan berbentuk rantai panjang dan dalam jaringan tubuh biasanya tunggal atau membentuk rantai pendek dua sampai tiga kuman (Cruickshank, 1975; Freeman, 1985).

Kuman *Bacillus anthracis* tidak berflagela, non motil, bersifat Gram positif dan membentuk kapsul di dalam jaringan tubuh induk semang serta membentuk spora bila berada di luar tubuh atau berhubungan dengan udara bebas karena oksigen yang cukup. Spora terletak ditengah atau sentral, tidak menonjol dan dapat diwarnai dengan metode Schaeffer - Fulton (Smith dan Conant, 1960; Cruickshank, 1975; Cottral, 1978; Joklik *et al*, 1980).

Kuman anthrax mudah diwarnai dengan pewarna zat-zat warna biasa seperti pewarnaan methylen-blue dan pewarnaan Gram (Cottral, 1975; Freeman, 1985).

### 2.1.3. Sifat Biakan

*Bacillus anthracis* untuk pertumbuhannya, memerlukan temperatur 12° C - 45° C pada media sederhana dan temperatur optimum untuk pertumbuhannya pada 37° C dengan pH 7,0 - 7,4 bersifat aerob atau fakultatif anaerob. Untuk merangsang pertumbuhannya dapat ditambahkan ke dalam media thiamin, glukosa, asam amino dan mineral (Smith dan Conant, 1960; Wright *et al*, 1962; Cruickshank, 1975; Freeman, 1985).



Pada media padat agar darah tampak koloni suram dan tepinya tidak teratur seperti kabut atau keputih-putihan dan membentuk caput medusa. Koloni *Bacillus anthracis* yang diinkubasikan dalam 10 % CO<sub>2</sub> dengan 0,7 % bikarbonat tampak diselubungi oleh kapsul yang halus, sedang koloni strain *Bacillus anthracis* yang ganas diselubungi oleh kapsul yang kasar (Merchant dan Packer, 1971; Joklik *et al*, 1980).

Dalam media cair, kuman anthrax mula-mula tumbuh seperti jonjot-jonjot dan setelah 24 jam tenggelam ke dasar tabung, sedang dipermukaan media terlihat seperti cincin berwarna keputih-putihan. Pada media padat kentang koloni tumbuh subur, berwarna kekuning-kuningan dan membentuk granula. Dalam media gelatin di daerah tusukan terlihat kuman yang tersusun secara radier, dan di daerah tusukan pada permukaan media tumbuh koloni berbentuk akar pohon. Dalam media susu tidak terjadi pembentukan asam, tetapi akan terbentuk dadih yang lunak dan cepat dicerna oleh enzim yang menyerupai rennet (Medway *et al*, 1969; Merchant dan Packer, 1971; Brunner dan Gillespie, 1973; Jawetz *et al*, 1980).

#### 2.1.4. Sifat Biokimiawi

Pada uji gula-gula kuman *Bacillus anthracis* membentuk asam tanpa gas dari glukosa, sukrosa, maltosa, fruktosa, trehalosa, dan dextrin. Beberapa strain membentuk asam dari gliserol dan salisin, tetapi tidak memfermentasikan laktosa, arabinosa, galaktosa, ramnosa, mannosa, raffinosa, inulin, mannitol, dulsitol, sorbitol, inositol dan adonitol. Tidak menghasilkan H<sub>2</sub>S dan indol, mereduksi nitrat menjadi nitrit, dan membentuk NH<sub>3</sub>, Voges Proskauer bervariasi (Soltys, 1963; Cruickshank *et al*, 1975; Cottral, 1978).

Strain yang virulent mereduksi methylen blue dan melisiskan sel-sel darah merah domba. Pada litmus milk terjadi koagulasi yang tidak berwarna dan membentuk pepton secara lambat (Duguid *et al*, 1980; Joklik *et al*, 1980)

#### 2.1.5. Resistensi

*Bacillus anthracis* yang dipupuk pada media akan kehilangan kapsul, membentuk koloni mula-mula kasar, kemudian berubah menjadi halus dan sifatnya yang virulent menjadi avirulent.

Bentuk vegetatif *Bacillus anthracis* mudah rusak pada temperatur 54<sup>o</sup> C selama 30 menit, tetapi spora *Bacillus anthracis* mempunyai ketahanan cukup tinggi terhadap beberapa perlakuan fisik, seperti dengan uap basah yang temperaturnya 90<sup>o</sup> C selama 30 menit atau pemanasan 100<sup>o</sup> C selama 10 menit spora anthrax masih tetap hidup (Soltys, 1963; Jawetz *et al*, 1980; Joklik *et al*, 1980). Dengan uap basah yang temperaturnya 100<sup>o</sup> C selama 20 menit dan dengan pemanasan 120<sup>o</sup> C selama 10 menit spora anthrax akan mati. Dengan bahan kimia, formalin 10 % temperatur 40<sup>o</sup> C selama 15 menit, hidrogen peroksida 3 % selama 1 jam dan potassium permanganat 4 % selama 15 menit, spora anthrax akan rusak (Merchant dan Packer, 1971; Siegmund, 1979; Freeman, 1985).

Menurut Sudana dkk (1983) spora *Bacillus anthracis* tahan terhadap alkohol 96 %, metanol absolut, NaCl 5 % dan kreolin. Tetapi dengan kloroheksidin glukonat 5 %, kombinasi antara triklorokarbonilid, triklorohidroksi difenil dan politilesoglikol atau asepto 5 % selama 30 menit, ternyata spora anthrax akan rusak.

### 2.1.6. Struktur Antigenik dan Toksin

Struktur antigenik *Bacillus anthracis* terdiri dari somatik antigen dan kapsular antigen. Somatik antigen merupakan komponen dinding sel kuman, terdiri dari polisakarida yang mengandung N-asetil glukosamin, D-galaktosa dan asam asetat. Kapsular antigen sebagai pelindung kuman terhadap fagositosis, terdiri dari polipeptida yang mengandung D-asam glutamat. Sedangkan toksin *Bacillus anthracis* terdiri dari protein yang bersifat termolabil dan terdapat tiga faktor, yaitu (1) disebut faktor oedema, (2) faktor protektip antigen dan (3) faktor letal. Ke tiga faktor tersebut bila berdiri sendiri-sendiri tidak bersifat virulent. Tetapi bila ke tiga faktor bergabung akan bersifat virulent (Jensen dan Mackey, 1971; Dunne, 1975; Joklik *et al*, 1980).

## 2.2. Vaksin Anthrax

Anthrax adalah salah satu penyakit bakterial yang pertama diketahui kekebalannya bisa ditimbulkan oleh kuman *Bacillus anthracis* yang telah dilemahkan. Orang pertama yang mampu membuktikan kekebalan penyakit anthrax adalah Louis Pasteur, setelah Louis Pasteur berhasil membuat vaksin (dikutip oleh Soltys, 1963).

Chauveau dan Toussaint (1880) yang dikutip oleh Wilson dan Miles (1966), membuktikan bahwa domba lebih tahan terhadap penyakit anthrax setelah disuntik dengan darah yang dipanaskan selama 10 menit pada temperatur 55<sup>o</sup> C dari darah hewan yang mati karena anthrax.

Pada tahun 1881, Louis Pasteur berhasil membuat vaksin yang terdiri dari dua tipe. Tipe pertama vaksin Louis Pasteur dibuat dari *Bacillus anthracis* yang dipupuk pada temperatur

42° C selama 15 - 20 hari. Tipe ke dua dibuat dari *Bacillus anthracis* yang dipupuk pada temperatur 42° C selama 12 hari. Mazzuchi pada tahun 1931 membuat vaksin yang dikenal sebagai vaksin Carbozoo. Vaksin ini dibuat berdasarkan metode Louis Pasteur tipe II dan ditambah dengan saponin (Smith dan Conant, 1960; Merchant dan Packer, 1971; Bruner dan Gillespie, 1973).

Di Afrika Selatan pada tahun 1946 telah menggunakan vaksin anthrax buatan Sterne sejumlah lebih dari 30 juta dosis vaksin anthrax, dan menunjukkan keberhasilannya. Vaksin Sterne (1937), dibuat dari strain *Bacillus anthracis* yang tidak ganas dan tidak membentuk kapsul, dikenal sebagai strain 34 F2. Sifat-sifat utama kuman Anthrax Strain 34 F2 yaitu stabil, tidak membuat kapsul baik secara invivo maupun invitro.

Mula-mula *Bacillus anthracis* dipupuk pada media perbenihan Casein hydrolysat agar yang mengandung extract yeast selama 48 jam, kemudian dibilas dengan NaCl fisiologis selanjutnya diencerkan dengan gliserin untuk membuat suspensi. Suspensi kemudian ditambah saponin sehingga konsentrasi akhir vaksin menjadi 0,25 %. Setiap 1 ml vaksin mengandung tidak kurang dari 10 juta spora, dapat memberikan kekebalan aktif selama 1 tahun terhadap penyakit anthrax pada sapi, kerbau, kuda, domba, babi, kambing. Dosis yang dipakai untuk sapi, kerbau, kuda sebanyak 1 ml dan untuk kambing, domba, babi sebanyak 0,5 ml dengan suntikan sub-kutan (Bruner dan Gillespie, 1973).

Dalam usaha pengendalian penyakit anthrax di Indonesia, Pusat Veterinaria Farma Surabaya hingga kini memproduksi vaksin anthrax (Spore vaccin) dibuat berdasarkan metode Sterne. Dengan menggunakan vaksin anthrax produksi Pusat Veterinaria Farma Surabaya, Indonesia mampu mengendalikan penyakit anthrax terutama di daerah wabah, seperti Irian Jaya, NTB, NTT, Flores yang hingga tahun 1984 masih terjangkit wabah anthrax (Anonimous, 1985).

## BAB III

## BAHAN DAN CARA KERJA

## 3.1. Bahan Penelitian

## 3.1.1. Vaksin Anthrax

Untuk mengetahui pengaruh temperatur dan lama penyimpanan terhadap jumlah spora vaksin anthrax digunakan vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge tanding 33/1986 dengan jumlah spora  $1,5 \times 10^7$ /ml produksi PUSVETMA Surabaya.

Vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge sebanyak 30 botol disimpan selama 3 bulan dalam berbagai temperatur :

- a. 10 botol disimpan dalam Refrigerator.
- b. 10 botol disimpan ruang ber AC.
- c. 10 botol disimpan dalam temperatur kamar.

## 3.1.2. Media

Media yang digunakan untuk menghitung jumlah spora anthrax adalah media plate serum agar, yang terdiri dari :

|                    |            |
|--------------------|------------|
| - Lab lemco powder | 10,0 gram  |
| - Pepton           | 10,0 gram  |
| - Sodium chloride  | 5,0 gram   |
| - Agar             | 15,0 gram  |
| - Air suling       | ad 1 liter |
| - Serum kuda       | 5 %        |

### 3.1.3. Alat-alat yang digunakan

- Pipet otomatis eppendorf 0,02 ml beserta tip kuning
- Pipet 1 ml, 5 ml, 10 ml dan pipet aid
- Vial 20 ml, gelas piala
- Spuit kaca 1 ml
- Petridish
- Pengaduk
- Botol Roux
- Erlenmeyer 500 ml, 2000 ml
- Gelas ukur 100 ml, 2000 ml
- Timbangan OHAUS dan BERKEL
- Magnetic Bar, Magnetic Stirrer
- Alat pemusing
- Filter Seitz
- Compressor
- Unit steril Laminar Flow Cabinet
- Aluminium foil
- Inkubator 37<sup>o</sup> C
- Autoclave

### 3.2. Cara Kerja

Dalam penelitian ini digunakan 30 sampel vaksin anthrax dan disimpan dalam berbagai temperatur yang berbeda, yaitu masing-masing 10 sampel disimpan dalam Refrigerator (sebagai kontrol), 10 sampel dalam ruang ber AC dan 10 sampel dalam temperatur kamar.

Setelah vaksin mengalami penyimpanan selama 1 bulan dilakukan penghitungan jumlah spora, dan selanjutnya penghitungan jumlah spora dilakukan setiap bulan hingga sampel mengalami penyimpanan selama tiga bulan.

Sebelum dilakukan penghitungan jumlah spora, yang perlu dipersiapkan adalah : serum kuda steril, media plate serum agar dan larutan NaCl fisiologis 0,9 % yang digunakan sebagai larutan pengencer.

- Pengambilan darah kuda dilakukan pada daerah permukaan vena jugularis dengan menggunakan spuit kaca steril, kemudian ditampung pada botol Roux steril dan dibiarkan selama 24 jam agar terbentuk serum. Setelah terbentuk serum, serum dipindahkan pada tabung pemusing dan dimasukkan pada alat pemusing dengan kecepatan 1500 rpm selama 15 menit, kemudian serum disaring dengan menggunakan filter seitz.

- Pembuatan media plate serum agar.

Blood agar base ditimbang seberat 40 gram, kemudian dilarutkan dengan air suling ad 1 liter dan dipanaskan. Setelah media menjadi kental, pH media diukur dengan menggunakan kertas pH. Apabila pH media belum mencapai pH 7,4 . Media tersebut dituang dalam kolf yang telah dilengkapi dengan magnetic bar, disterilkan dalam autoclave 121<sup>o</sup> C selama 15 menit. Selanjutnya media dibiarkan dingin sehingga mencapai temperatur  $\pm$  56<sup>o</sup> C, serum kuda 5 % dituang ke dalam media dan diputar di atas magnetic stirrer agar menjadi homogen.

Media secepatnya dibagikan pada petridish sebanyak 30 ml dan diinkubasikan selama 24 jam untuk menguji sterilitasnya.

- Pembuatan NaCl fisiologis

NaCl ditimbang seberat 9 gram dilarutkan dalam air suling ad 1 liter, diaduk hingga homogen, kemudian disterilkan dalam autoclave 121<sup>o</sup> C selama 15 menit. Selanjutnya NaCl fisiologis dengan menggunakan pipet aid 10 ml dimasukkan kedalam vial yang telah dilengkapi gelas parel masing-masing 9 ml.

Adapun metode yang digunakan untuk menghitung jumlah spora adalah metode Miles dan Misra ( dikutip oleh Alton *et al*, 1975).

Cara :

Vaksin diambil sebanyak 1 ml dengan spluit kaca steril 1 ml dan dimasukkan dalam vial yang berisi 9 ml NaCl fisiologis yang bertanda pengenceran  $10^{-1}$ , kemudian dengan menggunakan pipet aid 1 ml dilakukan pengenceran seri  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ . Dari pengenceran  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  ditanam pada petridish dengan menggunakan pipet eppendorf sebanyak 0,02 ml dan diratakan dengan pengaduk bengkok steril, selanjutnya diinkubasikan dalam inkubator  $37^{\circ}$  C selama 24 jam. Setelah diinkubasikan selama 24 jam pertumbuhan koloni kuman pada media plate serum agar dihitung.

### 3.3. Analisa Data

Rancangan dalam penelitian ini digunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK). Data yang diperoleh ditabulasi kemudian diuji dengan uji F, bila signifikan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

### 3.4. Hipotesa

Dalam penelitian ini dibuat hipotesa sebagai berikut :

- Hipotesa nihil ( $H_0$ ), tidak ada pengaruh pada penyimpanan dalam temperatur refrigerator, AC, dan kamar terhadap penurunan jumlah spora vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge.
- Hipotesa alternatif ( $H_1$ ), terdapat pengaruh pada penyimpanan dalam temperatur refrigerator, AC, dan kamar terhadap penurunan jumlah spora vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge.

Kriteria Uji:

- Bila  $F$  hitung  $< F$  tabel . . . . .  $H_0$  diterima  
 $H_1$  ditolak
- Bila  $F$  hitung  $> F$  tabel . . . . .  $H_0$  ditolak  
 $H_1$  diterima



## BAB IV

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian terhadap tiga puluh (30) sampel vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge produksi Pusat Veterinaria Farma Surabaya dengan tiga perlakuan yaitu, perlakuan penyimpanan refrigerator, dalam ruang ber AC, dan dalam temperatur kamar terhadap penurunan jumlah spora dari vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge, dapat dilihat pada tabel 1 dan tabel lampiran 4, 7, dan 10.

Tabel 1. Rata-rata jumlah spora per botol vaksin tiap-tiap bulan sampai periode penyimpanan selama tiga bulan ( $10^7$ ).

| LAMA PENYIMPANAN<br>( BULAN ) | PERLAKUAN         |                   |                   |
|-------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|                               | REFRIGERATOR      | AC                | KAMAR             |
| I                             | 1,5 <sup>a*</sup> | 1,41 <sup>a</sup> | 1,11 <sup>b</sup> |
| II                            | 1,49 <sup>a</sup> | 1,37 <sup>a</sup> | 0,89 <sup>b</sup> |
| III                           | 1,48 <sup>a</sup> | 1,22 <sup>b</sup> | 0,66 <sup>c</sup> |
| Rata-rata                     | 1,49 <sup>a</sup> | 1,33 <sup>a</sup> | 0,89 <sup>b</sup> |

\* Huruf yang berbeda pada baris yang sama, berbeda sangat nyata ( $P < 0,01$ ).

Rata-rata jumlah spora pada setiap perlakuan mengalami penurunan dari bulan pertama sampai bulan ke tiga penyimpanan, terutama penyimpanan dalam ruang ber AC dan penyimpanan dalam temperatur kamar (lihat tabel 1 dan grafik).

Hal ini sesuai dengan ketentuan dari British Veteriner Codex, bahwa temperatur  $2^{\circ}\text{C} - 8^{\circ}\text{C}$  dan tidak boleh disimpan dalam

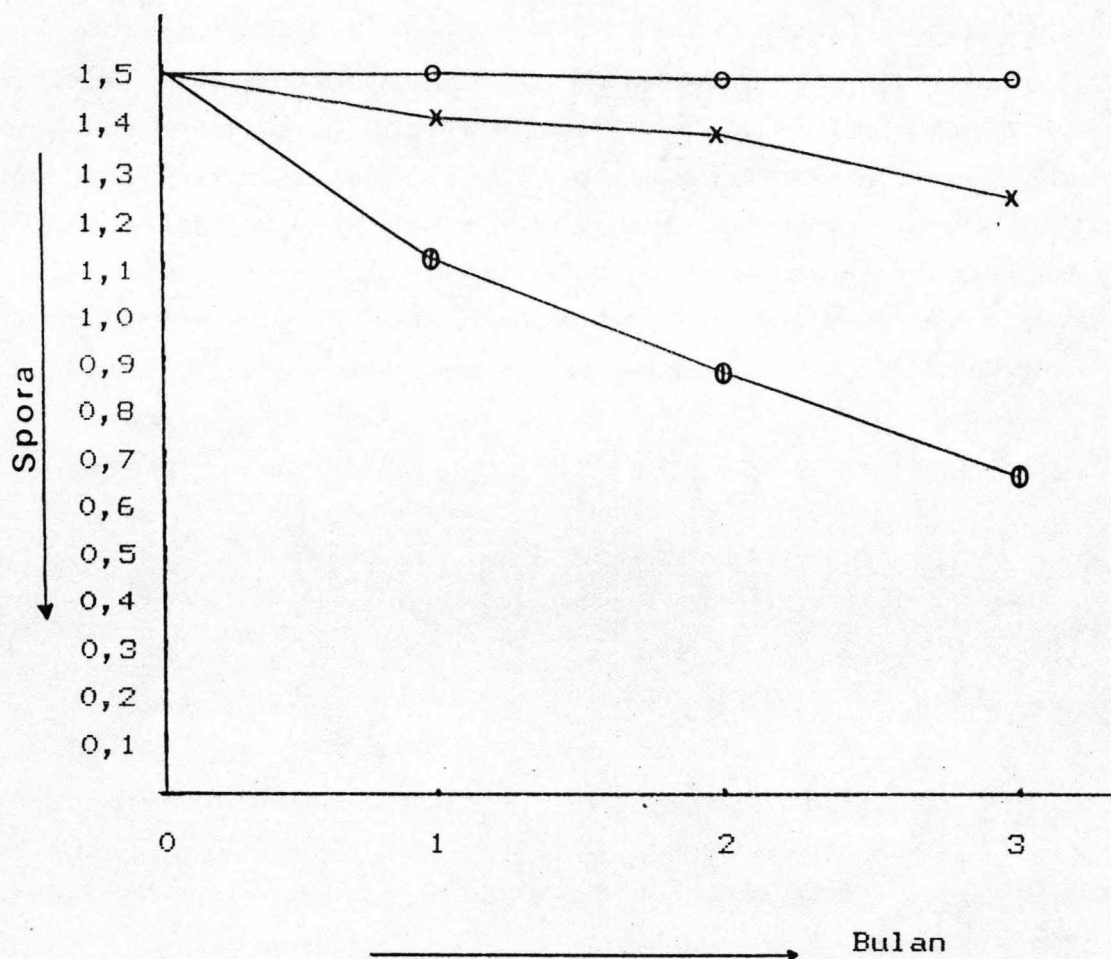
Freezer (Anonymous, 1970). Karena pada temperatur  $0^{\circ}\text{C} - 10^{\circ}\text{C}$  kegiatan metabolisme kuman dihambat, sedangkan pada temperatur  $10^{\circ}\text{C} - 37^{\circ}\text{C}$  kegiatan metabolisme kuman mengalami optimal (Wilson dan Mizer, 1974; Salle, 1984). Begitu pula pada bentuk spora, dimana bentuk spora merupakan bentuk pertahanan kuman dari keadaan yang kurang sesuai, tetapi masih melakukan kegiatan metabolisme yang disebut basal metabolisme (Davis *et al*, 1970).

Dari hasil penelitian ini penyimpanan dalam refrigerator, spora melakukan kegiatan metabolisme serendah-rendahnya sehingga spora dapat hidup lebih lama. Sedangkan pada penyimpanan dalam ruang ber AC dan dalam temperatur kamar, kegiatan metabolisme spora akan meningkat karena cadangan makanan terbatas sehingga spora akan lebih cepat mati.

Penyimpanan dalam Freezer, spora tidak melakukan kegiatan metabolisme, tetapi cairan dalam spora akan bertambah besar, sehingga menimbulkan kerusakan dinding sel yang dapat mengakibatkan kematian spora (Wilson dan Mizer, 1974; Salle, 1984).

Setelah diuji secara statistik, maka dari hasil sidik ragam rata-rata penyimpanan selama tiga bulan menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap penurunan jumlah spora (tabel lampiran 2). Hasil BNT 1 % menunjukkan penyimpanan terbaik adalah penyimpanan dalam refrigerator, kemudian penyimpanan dalam ruang ber AC meskipun antara penyimpanan dalam refrigerator dan penyimpanan dalam ruang ber AC tidak berbeda nyata (tabel lampiran 3). Hal ini karena temperatur dalam ruang ber AC tidak berbeda jauh dengan temperatur refrigerator. Dalam penelitian ini temperatur refrigerator  $2^{\circ}\text{C} - 6^{\circ}\text{C}$ , temperatur ruang ber AC  $12^{\circ}\text{C} - 19^{\circ}\text{C}$  dan temperatur kamar  $29^{\circ}\text{C} - 31^{\circ}\text{C}$ .

Grafik : Rata-rata jumlah spora vaksin anthrax pada bulan pertama sampai bulan ke tiga penyimpanan ( $10^7$ ).



Keterangan :

- o - Refrigerator
- x - Ruang AC
- o - Suhu Kamar

Penyimpanan bulan pertama dapat dilihat pada tabel lampiran 4, dari hasil sidik ragam ternyata antara ke tiga perlakuan menunjukkan perbedaan sangat nyata (tabel lampiran 5). Hasil BNT 1 % menunjukkan, bahwa penyimpanan yang terbaik dalam refrigerator, kemudian penyimpanan dalam ruang ber AC.

Meskipun antara penyimpanan dalam refrigerator dan penyimpanan dalam ruang ber AC tidak berbeda nyata (tabel lampiran 6). Hal ini juga sama pada penyimpanan bulan ke dua (tabel lampiran 7, 8, dan 9). Sedangkan penyimpanan pada bulan ke tiga dapat dilihat pada tabel lampiran 10, dari hasil sidik ragam antara ke tiga perlakuan menunjukkan perbedaan sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap penurunan jumlah spora (tabel lampiran 11). Hasil BNT 1 % (tabel lampiran 12) menunjukkan penyimpanan yang terbaik dalam refrigerator, kemudian penyimpanan dalam ruang ber AC dan yang terburuk adalah penyimpanan dalam temperatur kamar. Penyimpanan pada bulan ke tiga antara penyimpanan dalam refrigerator dan penyimpanan dalam ruang ber AC berbeda nyata.

## BAB V

## KESIMPULAN DAN SARAN

Setelah dilakukan penelitian mengenai pengaruh temperatur dan lama penyimpanan terhadap jumlah spora vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge produksi Pusat Veterinaria Farma Surabaya, maka dari hasil penghitungan data dapat disimpulkan sebagai berikut :

- Bahwa ternyata temperatur dan lama penyimpanan berpengaruh sangat nyata terhadap penurunan jumlah spora vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge, terutama penyimpanan dalam temperatur kamar yang pada bulan pertama sudah menunjukkan penurunan yang sangat nyata. Sedangkan penyimpanan dalam ruang ber AC menunjukkan pengaruh yang sangat nyata, setelah mengalami penyimpanan selama tiga bulan.
- Penyimpanan vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge dalam refrigerator selama tiga bulan, tidak menunjukkan pengaruh terhadap penurunan jumlah spora vaksin anthrax.

Dari hasil penelitian ini disampaikan beberapa saran :

- Penelitian ini perlu dilakukan lebih lama lagi untuk mengetahui sampai berapa bulan penyimpanan, sehingga vaksin sudah tidak mengandung spora lagi.
- Untuk lebih mengetahui sampai dimana tingkat kemampuan vaksin tersebut menimbulkan kekebalan, setelah vaksin mengalami penyimpanan selama tiga bulan dalam ruang ber AC dan dalam temperatur kamar, maka perlu dilakukan uji potensi.
- Perlu diperhatikan penyimpanan vaksin anthrax di lapangan terutama di Dinas Peternakan Kecamatan agar vaksin tersebut disimpan pada temperatur  $2^{\circ}\text{C} - 8^{\circ}\text{C}$  atau disimpan dalam refrigerator.

## BAB VI

### RINGKASAN

Di beberapa daerah di Indonesia masih berjangkit penyakit anthrax, maka cara-cara pengendalian penyakit anthrax perlu mendapat perhatian. Salah satu cara pengendalian penyakit anthrax adalah dengan vaksinasi.

Untuk memenuhi kebutuhan vaksin anthrax di Indonesia, Pusat Veterinaria Farma Surabaya memproduksi vaksin anthrax (spore vaccine) dibuat dari strain *Bacillus anthracis* yang tidak berkapsul dan tidak ganas, dikenal sebagai strain 34 F2.

Kualitas vaksin tergantung dari kemampuan vaksin untuk menimbulkan antibodi. Salah satu faktor yang mempengaruhi dari kualitas vaksin adalah temperatur penyimpanan setelah vaksin diproduksi.

Dalam penelitian ini dilakukan penyimpanan vaksin anthrax dalam berbagai temperatur penyimpanan. Adapun sampel yang digunakan sebanyak 30 sampel vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge produksi PUSVETMA SURABAYA. Dari 30 sampel tersebut dibagi menjadi tiga, yaitu 10 sampel disimpan dalam refrigerator, 10 sampel disimpan dalam ruang ber AC, dan 10 sampel disimpan dalam temperatur kamar. Semua sampel disimpan selama tiga bulan dan setiap bulan dilakukan penghitungan jumlah spora. Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dan dihitung dengan uji F menurut prosedur Sudjana (1985).

Hasil keseluruhan dari penelitian ini menunjukkan perbedaan yang sangat nyata terhadap penurunan jumlah spora vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge ( $P < 0,01$ ), dimana penyimpanan dalam refrigerator dan ruang ber AC pada bulan pertama dan ke dua tidak menunjukkan pengaruh terhadap penurunan jumlah spora vaksin anthrax. Sedangkan penyimpanan dalam temperatur kamar pada bulan pertama sudah menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap penurunan jumlah spora vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge.

Penyimpanan dalam ruang ber AC, pada bulan ketiga menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap penurunan jumlah spora vaksin anthrax, sedangkan penyimpanan dalam refrigerator hingga bulan ke tiga tidak menunjukkan pengaruh terhadap penurunan jumlah spora vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alton, G.G., L.M. Jones and D.E. Pietz. 1975. *Laboratory Tehniques In Brucellosis*. 2<sup>nd</sup> Ed. Publisher Under The Auspices of FAO and WHO. Geneva. 59 - 62.
- Anonimous, 1970. *British Veterinary Codex 1965*. The Pharmaceuticsl Press. London. 75 - 91.
- Anonimous, 1985. *Journal Pelayanan Kesehatan Hewan*. Edisi : 02 V/85. Direktorat Kesehatan Hewan, Dirtektorat Jenderal Peternakan. Departemen Pertanian. 55 - 57.
- Bruner, D.W. and J.W. Gillespie. 193. *Hagan's Infectious Disease of Domestic Animals*. 6<sup>th</sup> Ed. The Comstock Publishing Associates, Cornell University Press. Ithaca and London. 437 - 444.
- Cruickshank, R., J.P. Duguid, B.P. Marmion and R.H.A. Swain. 1975. *Medical Microbiology*. 12<sup>th</sup> Ed. The Language Book Society and Churchill Livingstone. London. 449 - 452.
- Davis, B.D., R. Dulbecco, H.N. Eisen, H.S. Ginsberg and W.B. Wood. 1970. *Microbiology*. 6<sup>th</sup> Ed. Hoeber Medical Devision, Harper and Row Publisher. New York. 152 - 155.
- Duguid, J.P., B.P. Marmion and R.H.A. Swain. 1980. MAckie and Mc. Cartney. *Medical Microbiology*. 13<sup>th</sup> Ed. The English Language Book Society and Bailliere Tindall. Vol. 1 : 345 - 646.
- Dunne, H.W. 1964. *Disease of Swine*. 1<sup>st</sup> Ed. The Iowa State University Press. Iowa. 364 - 371.



- Dunne, H.W. 1975. *Disease of Swine*. 4<sup>th</sup> Ed. The Iowa State University Press. Iowa. 516 - 523.
- Freeman, B.A. 1985. *Burrows Textbook of Microbiology*. 22<sup>nd</sup> Ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia. 546 - 570.
- Hungerford, T.C. 1974. *Disease of Livestock*. 8<sup>th</sup> Ed. Angus and Robertson (PTY) Ltd. Sydney. 82 - 684.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A. 1980. *Review of Medical Microbiology*. 14<sup>th</sup> Ed. Lange Medical Publications Maruzen Asia (PTY) Ltd. 208 - 209.
- Jensen, R., Mackey, D.R. 1971. *Disease of Feedlot Cattle*. 2<sup>nd</sup> Ed. Lea and Febiger. Philadelphia. 128 - 134.
- Jensen, R. 1971. *Disease of Sheep*. 1<sup>nd</sup> Ed. Lea and Febiger. Philadelphia. 355 - 360.
- Joklik, W.K., Willet, H.P., Bernard, D.A. 1980. *Zinsser Microbiology*. 17<sup>th</sup> Ed. Appleton Century Crofts. New York. 97 - 105, 804 - 810.
- Medway, W., Prier and J.S. Wilkinson. 1969. *A Text Book of Veterinary Clinical Pathology*. 1<sup>st</sup> Ed. The William and Wilkin Company. Baltimore. 370 - 373.
- Merchant, I.A., R.A. Packer. 1971. *Veterinary Bacteriology and Virology*. 7<sup>th</sup> Ed. The Iowa State University press. USA. 386 - 397.
- Ressang, A.A. 1984. *Patology Khusus Veteriner*. Edisi Ke dua. N.V. Percetakan Bali. 367 - 372.
- Salle, A.J. 1984. *Fundamental Principles of Bacteriology*. 7<sup>th</sup> Ed. Tata Mc Graw - Hill Publishing Company Ltd. New Delhi. 293 - 303, 890 - 893.

- Siegmund, O.H. 1979. *The Merck Veterinary Manual*. 5<sup>th</sup> Ed. Merck and Co. Rahway N.J. USA. 393 - 396.
- Smith and Conant. 1960. *Zinsser Microbiology*. 12<sup>nd</sup> Ed. Appleton Century Croft. New York. 470 - 477.
- Soltys, M.A. 1963. *Bacteria and Fungi to Man and Animals*. 1<sup>st</sup> Ed. Bailliere Tindal and Cox. London. 265 - 274.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1980. *Principles and Procedure of Statistic. A Biometrical Approach*. 2<sup>nd</sup> Ed. Mc. Graw Hill Kogakusha, Ltd.
- Sudjana, 1982. *Disain and Analisis Eksperimen*. Penerbit Tarsito Bandung. 18 - 73.
- Sudana, I Gde., A.R. Bale., N. Hartaningsih dan I Nyoman Suendra. 1983. *Studi Laboratorik Penyakit Radang Limpa (Anthrax)*. IV. Daya Tahan Spora Anthrax Terhadap Beberapa Bahan Kimia. Balai Penyidikan Penyakit Hewan Wilayah IV Denpasar.
- Tono, P.G. 1985. *Daya Tahan Spora Anthrax Terhadap Beberapa Bahan Kimia*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Wilson, G.S. and A.A. Miles. 1964. *Principles of Bacteriology and Immunity*. 5<sup>th</sup> Ed. II. Edward Arnold Publisher Ltd. London. 2079 - 2094.
- Wilson, M.E. and H.E. Mizer. 1974. *Microbiology In Patient Care*. 2<sup>nd</sup> Ed. Macmillan Publishing Co, Inc. New York. 193-203.
- Wright, G.G., M. Puziss and W.B. Nelly. 1962. *Studies on Immunity in Anthrax*. IX. Effect of Variation in Cultural Conditions on Elaboration of Protective Antigen by Strain of *Bacillus anthracis*. J. Bact. 83. 515 - 522.

Tabel Lampiran 1. Rata-rata jumlah spora vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge selama tiga bulan penyimpanan ( $10^7$ ).

| Lama Penyimpanan<br>(Bulan) | Perlakuan    |      |       | Total |
|-----------------------------|--------------|------|-------|-------|
|                             | Refrigerator | AC   | Kamar |       |
| I                           | 1,5          | 1,41 | 1,11  | 4,02  |
| II                          | 1,49         | 1,37 | 0,89  | 3,75  |
| III                         | 1,48         | 1,22 | 0,66  | 3,36  |
| X                           | 4,47         | 4,0  | 2,66  | 11,13 |
| X                           | 1,49         | 1,33 | 0,89  |       |
| N                           | 3            | 3    | 3     | 9     |

Tabel Lampiran 2. Sidik ragam dari rata-rata jumlah spora vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge selama tiga bulan penyimpanan.

| Sumber Variasi   | db | Jumlah Kwadrat (JK) | Kwadrat Tengah (KT) | F Hitung | F Tabel |      |
|------------------|----|---------------------|---------------------|----------|---------|------|
|                  |    |                     |                     |          | 0,05    | 0,01 |
| Perlakuan (suhu) | 2  | 0,592               | 0,296               | 26,9     | 6,94    | 18,0 |
| Kelompok (Bulan) | 2  | 0,078               | 0,039               | 3,5      | 6,94    | 18,0 |
| Sisa             | 4  | 0,044               | 0,011               |          |         |      |
| Total            | 8  | 0,714               |                     |          |         |      |

$$JKK = \frac{(4,02)^2 + (3,75)^2 + (3,36)^2}{3} - \frac{(11,13)^2}{9}$$

$$= 0,078$$

$$JKP = \frac{(4,47)^2 + (4,0)^2 + (2,66)^2}{3} - \frac{(11,13)^2}{9}$$

$$= 0,592$$

$$JKT = (1,5)^2 + (1,49)^2 + \dots + (0,66)^2 - \frac{(11,13)^2}{9} = 0,714$$

$$JKS = 0,714 - 0,078 - 0,592 = 0,044$$

$$KTK = \frac{0,078}{2} = 0,039$$

$$KTP = \frac{0,592}{2} = 0,296$$

$$KTS = \frac{0,044}{4} = 0,011$$

Tabel Lampiran 3. Perbedaan rata-rata jumlah spora vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge berdasarkan BNT 1 %.

| Perlakuan     | Rata-rata Jumlah Spora | Beda               |       | BNT  |      |
|---------------|------------------------|--------------------|-------|------|------|
|               |                        | X - K              | X - A | 5 %  | 1 %  |
| Refri gerator | 1,49 <sup>a</sup>      | 0,60 <sup>**</sup> | 0,16  | 0,24 | 0,39 |
| AC            | 1,33 <sup>a</sup>      | 0,44 <sup>**</sup> |       |      |      |
| Kamar         | 0,89 <sup>a</sup>      |                    |       |      |      |

Keterangan : Huruf yang berbeda dalam satu lajur berbeda sangat nyata (P < 0,01) berdasarkan BNT 1 %.

$$\text{BNT } 5 \% = 2,776 \times \frac{\sqrt{2 \times 0,011}}{3} = 2,776 \times 0,086 = 0,24$$

$$\text{BNT } 1 \% = 4,604 \times \frac{\sqrt{2 \times 0,011}}{3} = 4,604 \times 0,086 = 0,39$$

Tabel Lampiran 4. Data jumlah spora vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge selama satu bulan penyimpanan ( $10^7$ ).

| Ulangan | Perlakuan    |        |        | Total  |
|---------|--------------|--------|--------|--------|
|         | Refrigerator | AC     | Kamar  |        |
| 1.      | 1,355        | 1,425  | 1,245  |        |
| 2.      | 1,455        | 1,460  | 1,395  |        |
| 3.      | 1,385        | 1,410  | 1,035  |        |
| 4.      | 1,635        | 1,330  | 1,220  |        |
| 5.      | 1,470        | 1,400  | 1,320  |        |
| 6.      | 1,370        | 1,430  | 0,985  |        |
| 7.      | 1,645        | 1,305  | 1,210  |        |
| 8.      | 1,565        | 1,500  | 1,105  |        |
| 9.      | 1,450        | 1,385  | 0,845  |        |
| 10.     | 1,660        | 1,485  | 0,785  |        |
| X       | 14,990       | 14,130 | 11,145 | 40,265 |
| X       | 1,499        | 1,413  | 1,115  |        |
| SD      | 0,112        | 0,060  | 0,186  |        |

Tabel Lampiran 5. Sidik ragam jumlah spora vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge selama satu bulan penyimpanan.

| Sumber Variasi | db | Jumlah Kwadrat (JK) | Kwadrat Tengah (KT) | F <sup>*</sup> Hitung | F Tabel |      |
|----------------|----|---------------------|---------------------|-----------------------|---------|------|
|                |    |                     |                     |                       | 0,05    | 0,01 |
| Perlakuan      | 2  | 0,817               | 0,41                | 21,58**               | 3,35    | 5,49 |
| Sisa           | 27 | 0,523               | 0,019               |                       |         |      |
| Total          | 29 | 1,34                |                     |                       |         |      |

$$JKP = \frac{(14,99)^2 + (14,13)^2 + (11,145)^2}{10} - \frac{(40,265)^2}{30}$$

$$= 0,817$$

$$JKT = (1,355)^2 + (1,455)^2 + \dots + \frac{(0,785)^2}{30} - \frac{(40,265)^2}{30}$$

$$= 1,34$$

$$JKS = 1,34 - 0,817 = 0,523$$

$$KTP = \frac{0,817}{2} = 0,41$$

$$KTS = \frac{0,523}{27} = 0,019$$

$$F \text{ hitung} = \frac{0,41}{0,019} = 21,58$$

Tabel Lampiran 6. Perbedaan rata-rata jumlah spora vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge selama satu bulan penyimpanan berdasarkan BNT 1 %.

| Perlakuan    | Rata-rata Jumlah Spora | Beda                |                     | BNT  |      |
|--------------|------------------------|---------------------|---------------------|------|------|
|              |                        | X - K               | X - A               | 5 %  | 1 %  |
| Refrigerator | 1,499 <sup>a</sup>     | 0,384 <sup>**</sup> | 0,086 <sup>**</sup> | 0,13 | 0,17 |
| AC           | 1,413 <sup>a</sup>     | 0,298 <sup>**</sup> |                     |      |      |
| Kamar        | 1,115 <sup>b</sup>     |                     |                     |      |      |

Keterangan : Huruf yang berbeda dalam satu lajur berbeda sangat nyata ( $P < 0,01$ ) berdasarkan BNT 1 %.

$$\text{BNT } 5 \% = 2,052 \times \frac{\sqrt{2 \times 0,019}}{10} = 2,052 \times 0,062 = 0,13$$

$$\text{BNT } 1 \% = 2,771 \times \frac{\sqrt{2 \times 0,019}}{10} = 2,771 \times 0,062 = 0,17$$



Tabel Lampiran 7. Data jumlah spora vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge selama dua bulan penyimpanan ( $10^7$ ).

| Ulangan | Perlakuan    |        |       | Total |
|---------|--------------|--------|-------|-------|
|         | Refrigerator | AC     | Kamar |       |
| 1.      | 1,500        | 1,305  | 1,325 |       |
| 2.      | 1,685        | 1,415  | 1,000 |       |
| 3.      | 1,395        | 1,340  | 1,045 |       |
| 4.      | 1,560        | 1,405  | 1,110 |       |
| 5.      | 1,420        | 1,465  | 1,760 |       |
| 6.      | 1,405        | 1,245  | 0,835 |       |
| 7.      | 1,415        | 1,450  | 1,050 |       |
| 8.      | 1,485        | 1,340  | 0,885 |       |
| 9.      | 1,565        | 1,400  | 1,105 |       |
| 10.     | 1,450        | 1,320  | 0,830 |       |
| X       | 14,880       | 13,685 | 8,945 | 37,51 |
| X       | 1,488        | 1,368  | 0,895 |       |
| SD      | 0,088        | 0,066  | 0,220 |       |

Tabel Lampiran 8. Sidik ragam jumlah spora vaksin Anthrax Strain 34 F2 Wyebriidge selama dua bulan penyimpanan.

| Sumber Variasi | db | Jumlah Kwadrat (JK) | Kwadrat Tengah (KT) | F Hitung | F Tabel |      |
|----------------|----|---------------------|---------------------|----------|---------|------|
|                |    |                     |                     |          | 0,05    | 0,01 |
| Perlakuan      | 2  | 1,97                | 0,985               | 42,83**  | 3,35    | 5,49 |
| Sisa           | 27 | 0,62                | 0,023               |          |         |      |
| Total          | 29 | 2,59                |                     |          |         |      |

$$JKP = \frac{(14,88)^2 + (13,685)^2 + (8,945)^2}{10} - \frac{(37,51)^2}{30}$$

$$= 1,97$$

$$JKT = (1,5)^2 + (1,685)^2 + \dots + (0,83)^2 - \frac{(37,51)^2}{30}$$

$$= 2,59$$

$$JKS = 2,59 - 1,97 = 0,62$$

$$KTP = \frac{1,97}{2} = 0,985$$

$$KTS = \frac{0,62}{27} = 0,023$$

$$F \text{ hitung} = \frac{0,985}{0,023} = 42,83$$

Tabel Lampiran 9. Perbedaan rata-rata jumlah spora vaksin Anthrax Strain 23 F2 Weybridge selama dua bulan penyimpanan berdasarkan BNT 1 %.

| Perlakuan    | Rata-rata Jumlah Spora | Beda                |                    | BNT  |      |
|--------------|------------------------|---------------------|--------------------|------|------|
|              |                        | X - K               | X - A              | 5 %  | 1 %  |
| Refrigerator | 1,488 <sup>a</sup>     | 0,593 <sup>**</sup> | 0,12 <sup>**</sup> | 0,14 | 0,19 |
| AC           | 1,368 <sup>a</sup>     | 0,473 <sup>**</sup> |                    |      |      |
| Kamar        | 0,895 <sup>b</sup>     |                     |                    |      |      |

Keterangan : Huruf yang berbeda dalam satu lajur berbeda sangat nyata ( $P < 0,01$ ) berdasarkan BNT 1 %.

$$\text{BNT } 5 \% = 2,052 \times \frac{\sqrt{2 \times 0,023}}{10} = 2,052 \times 0,068 = 0,14$$

$$\text{BNT } 1 \% = 2,771 \times \frac{\sqrt{2 \times 0,023}}{10} = 2,771 \times 0,068 = 0,19$$

Tabel Lampiran 10. Data jumlah spora vaksin Anthrax Strain 34 F2 Weybridge selama tiga bulan penyimpanan ( $10^7$ ).

| Ulangan | Perlakuan    |        |       | Total  |
|---------|--------------|--------|-------|--------|
|         | Refrigerator | AC     | Kamar |        |
| 1.      | 1,425        | 1,345  | 0,585 |        |
| 2.      | 1,460        | 1,395  | 0,750 |        |
| 3.      | 1,530        | 1,035  | 0,755 |        |
| 4.      | 1,445        | 1,190  | 0,690 |        |
| 5.      | 1,400        | 1,320  | 0,695 |        |
| 6.      | 1,430        | 0,985  | 0,630 |        |
| 7.      | 1,475        | 1,210  | 0,570 |        |
| 8.      | 1,500        | 1,105  | 0,630 |        |
| 9.      | 1,640        | 1,245  | 0,670 |        |
| 10.     | 1,485        | 1,380  | 0,655 |        |
| X       | 14,790       | 12,210 | 6,630 | 33,630 |
| X       | 1,479        | 1,221  | 0,663 |        |
| SD      | 0,065        | 0,136  | 0,059 |        |

Tabel Lampiran 11. Sidik ragam jumlah spora vaksin Anthrax Strain 34 F2 Wyebridge selama tiga bulan penyimpanan.

| Sumber Variasi | db | Jumlah Kwadrat (JK) | Kwadrat Tengah (KT) | F Hitung | F Tabel |      |
|----------------|----|---------------------|---------------------|----------|---------|------|
|                |    |                     |                     |          | 0,05    | 0,01 |
| Perlakuan      | 2  | 3,49                | 1,745               | 181,77** | 3,35    | 5,49 |
| Sisa           | 27 | 0,26                | 0,0096              |          |         |      |
| Total          | 29 | 3,75                |                     |          |         |      |

$$JKP = \frac{(14,79)^2 + (12,21)^2 + (6,63)^2}{10} - \frac{(33,63)^2}{30}$$

$$= 3,49$$

$$JKT = (1,425)^2 + (1,46)^2 + \dots + (0,665)^2 - \frac{(33,63)^2}{30}$$

$$= 3,75$$

$$JKS = 3,75 - 3,49 = 0,26$$

$$KTP = \frac{3,49}{2} = 1,745$$

$$KTS = \frac{0,26}{27} = 0,0096$$

$$F \text{ hitung} = \frac{1,745}{0,009} = 181,77$$

Tabel Lampiran 12. Perbedaan rata-rata jumlah spora vaksin Anthrax Strain 23 F2 Weybridge selama tiga bulan penyimpanan berdasarkan BNT 1 %.

| Perlakuan        | Rata-rata<br>Jumlah<br>Spora | Beda                |                     | BNT  |      |
|------------------|------------------------------|---------------------|---------------------|------|------|
|                  |                              | X - K               | X - A               | 5 %  | 1 %  |
| Refrige<br>rator | 1,479 <sup>a</sup>           | 0,816 <sup>**</sup> | 0,258 <sup>**</sup> | 0,09 | 0,12 |
| AC               | 1,221 <sup>a</sup>           | 0,558 <sup>**</sup> |                     |      |      |
| Kamar            | 0,663 <sup>b</sup>           |                     |                     |      |      |

Keterangan : Huruf yang berbeda dalam satu lajur berbeda sangat nyata ( $P < 0,01$ ) berdasarkan BNT 1 %.

$$\text{BNT } 5 \% = 2,052 \times \frac{\sqrt{2 \times 0,0096}}{10} = 2,052 \times 0,044 = 0,09$$

$$\text{BNT } 1 \% = 2,771 \times \frac{\sqrt{2 \times 0,0096}}{10} = 2,771 \times 0,0096 = 0,12$$