

1. PLANTS, MEDICINAL

2. IMMUNISASI

3. NEWCASTLE DISEASE

KK  
TKD 21/01  
Rah  
P

**Tesis**  
**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK AIR**  
***PHYLLANTHUS NIRURI L***  
**SEBAGAI IMUNOSTIMULATOR PADA AYAM**  
**YANG DIVAKSIN ND (NEWCASTLE DISEASE)**

**PENELITIAN EKSPERIMENTAL**



MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

Oleh :

**JOLA RAHMAHANI**  
**NIM. 099712491 M**

**PROGRAM PASCA SARJANA**  
**UNIVERSITAS AIRLANGGA**  
**SURABAYA**  
**2000**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK AIR *PHYLLANTHUS NIRURI L*  
SEBAGAI IMUNOSTIMULATOR PADA AYAM  
YANG DIVAKSIN ND (NEWCASTLE DISEASE)**

**PENELITIAN EKSPERIMENTAL**

**TESIS**

**Untuk Memperoleh Gelar Magister  
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar  
Pada Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga**



**Oleh :**

**JOLA RAHMAHANI  
NIM. 099712491 M**

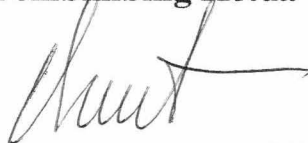
**PROGRAM PASCA SARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2000**

## Lembar Pengesahan

**Tesis Ini Telah Disetujui  
Pada Tanggal, 6 November 2000**

**Oleh :**

**Pembimbing Ketua**



**Prof. I.G.B. AMITABA, drh.**  
**NIP : 130078266**

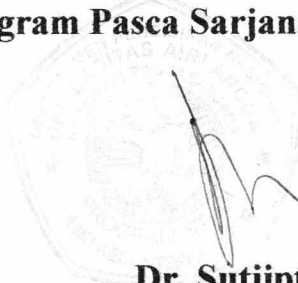

**Pembimbing**



**RAHAJU ERNAWATI, drh. MSc.**  
**NIP : 130531805**

**Mengetahui**

**Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar  
Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga.**



**Dr. Sutjipto MS. PhD.**  
**NIP : 130687606**

## UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama – tama saya panjatkan puji syukur kehadirat Allah Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala Rahmat – Nya sehingga tesis ini dapat saya selesaikan.

Saya ucapkann terima kasih sebesar – besarnya kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan dan Kebudayaan yang telah memberikan bantuan finansil sehingga dapat meringankan beban saya dalam tugas belajar Pasca Sarjana Universitas Airlangga, dengan menyelesaikan tesis ini.

Dengan selesainya tesis ini perkenankanlah saya mengucapkan terima kasih sebesar – besarnya kepada:

Prof. I.G.B. Amitaba, drh selaku pembimbing ketua saya, yang telah mendorong dan mendidik dengan penuh disiplin dalam pelaksanaan penelitian maupun penulisan tesis.

Selanjutnya terima kasih tak terhingga dan penghargaan yang setinggi – tingginya saya ucapkan kepada. Rahayu Ernawati, drh. MSc. Selaku Kepala Laboratorium Virologi dan Imunologi Veteriner dan pembimbing saya, beliau dengan penuh kesabaran memberikan bimbingan pengarahan serta dorongan dan memberikan kesempatan pada saya untuk menggunakan fasilitas sehingga penelitian penulisan ini dapat terselesaikan.

Kepada Dr. Suhartono Taat Putra, dr, MS, selaku penguji saya dalam Usulan Penelitian Tesis, yang telah bekerja keras mendorong dan mendidik



dengan penuh disiplin dalam penulisan tesis ini, saya ucapkan banyak terima kasih.

Rektor Universitas Airlangga Prof, Dr. H. Soedarto, DTM dan H, PhD. Atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan program magister.

Direktur Program Pasca Sarjana Prof. Dr. H. Muhammad Amin, dr. atas kesempatan untuk menjadi mahasiswa Program Magister pada Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga.

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Dr. Ismudijono, drh. MS. Atas kesempatan yang diberikan pada saya untuk mengikuti pendidikan program magister

Rasa terima kasih dan penghargaan yang setinggi – tingginya saya ucapkan kepada rekan – rekan staf pengajar Virologi dan Imunologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Ibu Wahyu Tjahyaningsih, Ir,MSi Ibu Nanik Sianita drh, SU, Bapak Adi Priyo Raharjo, drh. Bapak Suwarno, drh, MSi, Bapak Dr. Fedik. A.Rantam, drh. dan rekan sejawat staf pengajar Patologi FKH, Unair. Ibu Hani Phumeriastuti, drh. MSi, Bapak Imam Mustofa drh, MSi, staf Pengajar Kebidanan Veteriner, Bapak Didik Handijatno drh, MSi, staf pengajar Bakteriologi, Bapak drh. Kusnoto, staf pengajar parasitologi yang telah memberikan dorongan dan semangat membantu menyelesaikan tesis ini. Saya ucapkan terima kasih yang tak terhingga.

Terima kasih dan penghargaan yang setinggi–tingginya saya sampaikan kepada Bapak Farid SH. Selaku ketua Alumni Harian Universitas Airlangga dan

selaku ketua Perunggasan Jawa Timur serta Bapak Agung Nugroho, drh. Selaku Manajer PT. SIERAD GRAINS dan Bapak Nardi dari PT. SIERAD GRAINS yang telah banyak membantu terlaksananya penelitian saya.

Pada kesempatan yang baik ini perkenankan pula berterima kasih kepada Direktur Pusat Veterinaria Farma yang telah memberikan ijin dan menyediakan fasilitas sehingga penelitian ini dapat terwujud.

Bapak Irtisam, drh selaku Kepala Bidang Peningkatan Mutu dan Penyeimbangan Produksi, Ibu Hanifah, drh. Staf Bidang Peningkatan Mutu dan Pengembangan Produksi yang banyak membantu dan memberi kesempatan kepada saya untuk menggunakan fasilitas Laboratorium.

Kepada Bapak Kardono dikandang ayam Pusvetma yang telah banyak membantu dalam pemeliharaan ayam, sehingga penelitian saya berjalan lancar.

Kepada Ibu Rakhmawati, dra. dan Ibu Idha Kusumawati, MS. dra. Staf Pengajar Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberi semangat dan dorongan selama saya mengikuti Program Magister.

Para Dosen yang banyak memberikan bekal Ilmu Pengetahuan dalam perjalanan saya menempuh pendidikan di Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga.

Semua pihak yang tidak dapat saya sebut namanya satu persatu, atas semua bantuan yang diberikan.

Selanjutnya, kepada rekan – rekan seangkatan saya dalam menempuh Pendidikan Program Magister Lucy Dyah Hendrawati dra., I.G.A. Manik Widhyastini dra., Normala Hindun dra., Lilik, drh., Safitri, drg., Mkes, yang telah

memberi semangat dan dorongan sampai selesai penulisan tesis ini. Saya ucapkan banyak terima kasih.

Akhirnya, terima kasih pula saya ucapkan kepada suami saya, Arman Junaedi, drh. Serta anak – anakku; Riski Arya Pradikta, Riski Bayu Raharja, Riski Cahya Ramadhana, Riski Demah Sasmita dan Ibu Elok Sumilir atas Dorongan dan pengertian mereka selama saya mengikuti pendidikan Program Magister.

Semoga Allah SWT. Membalas budi baik, berbagai pihak yang telah memberikan bantuan kepada saya dalam menyelesaikan tugas tesis ini.

Surabaya, Oktober 2000.

Penulis

## RINGKASAN

Pada umumnya wabah Newcastle Disease terjadi pada peternakan ayam, jika ayamnya mempunyai derajat kekebalan atau titer HI (Haemagglutination Inhibition) kurang dari 5 ( $\log_2$ ).

Untuk mengatasi hal ini perlu kiranya memberikan bahan yang bersifat sebagai bahan imunostimulan, sehingga dapat meningkatkan pembentukan antibodi.

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh tanaman *Phyllanthus niruri* L. Terhadap respons imun humoral pada ayam yang divaksin Newcastle Disease.

Penelitian menggunakan rancangan Arah Lengkap (RAL). *Pre-post control group design*.

Jumlah sampel yang digunakan 130 ekor ayam pedaging DOC umur 1–4 hari, dibagi secara random menjadi 5 kelompok, terdiri dari 13 perlakuan; masing-masing perlakuan 10 ekor ayam.

Kelompok I terdiri dari 1 perlakuan ( $P_1$ ) yaitu :

Kontrol Newcastle Disease dosis tunggal (1ml), Kelompok II ( $P_2$ ,  $P_3$ ,  $P_4$ ) yaitu: kontrol *Phyllanthus niruri* L dengan dosis masing-masing perlakuan 2 ml; 2,5 ml; 3 ml.

Kelompok III terdiri dari 3 perlakuan ( $P_2$ ,  $P_3$ ,  $P_4$ ), yaitu selama 7 hari sebelum vaksinasi Newcastle Disease diberi ekstrak air *Phyllanthus niruri* L dengan dosis masing-masing 2 ml; 2,5ml; 3ml;

Kelompok IV terdiri dari 3 perlakuan ( $P_8, P_9, P_{10}$ ), yaitu vaksinasi Newcastle Disease, satu hari kemudian setelah vaksinasi diberi ekstrak air *Phyllanthus niruri* L selama 7 hari dengan dosis masing-masing 2ml; 2,5ml; 3ml

Kelompok V terdiri dari ( $P_{11}, P_{12}, P_{13}$ ) yaitu diberi ekstrak air *Phyllanthus niruri* L selama 7 hari diberikan dengan dosis masing-masing 2 ml; 2,5 ml; 3ml, pada hari ke 4 diberi vaksin aktif Newcastle Disease.

Perlakuan pada hewan coba dilakukan setelah tercapai titer maternal antibodi = 0, pemeriksaan titer HI setelah perlakuan dilakukan 4 x (kali) secara berkala setiap minggu.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pemberian ekstrak air *Phyllanthus niruri* L dapat meningkatkan titer antibodi HI secara nyata yaitu mulai minggu ke 2 pada semua perlakuan (kelompok III, IV, V) dan peningkatan tajam terjadi pada minggu ke 3 baik pada kelompok maupun kelompok perlakuan. Khususnya pada perlakuan ( $P_9$ ) berbeda nyata ( $p < 0,05$ ), dengan perlakuan yang lain. Begitu pula untuk  $P_5, P_6, P_7$  terjadi peningkatan titer HI yang berbeda nyata dengan kontrol ( $P_1$ ), pada minggu ke 3. Pada umumnya semua perlakuan mulai terjadi penurunan titer antibodi HI, pada minggu 4; kecuali titer antibodi HI paling tinggi dicapai oleh  $P_6$  kelompok III berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) dengan kontrol.

#### **Kesimpulan dari Penelitian Ini;**

Tanaman *Phyllanthus niruri* L dapat meningkatkan anti bodi Newcastle Disease. Dosis pemberian air *Phyllanthus niruri* L berpengaruh terhadap timbulnya respon imun dan titer HI paling tinggi pada minggu ke 3 dicapai pada pemberian ekstrak air *Phyllanthus niruri* L dengan dosis 2,5ml ( $P_9$ ).

## ABSTRACT

This research are going to know *Phyllanthus niruri* L plant effect to humoral immune responsse in Newcastle Disease vaccinated chicken.

The research used completed random design (CRD), pre-post control group design. Sample collected 130 D.O.C. broiler chicken aged 1 – 4 days old, divided in randomly to groups, consist of; 13 treatment ; eact treatment about 10 chicken.

Group I consist of 1 treatment (P<sub>1</sub>), i.e : Newcastle Disease control singular doses (1 ml).

Group II consist of 3 treatment (P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub>, P<sub>4</sub>), i.e : *Phyllanthus niruri* L with each doses about 2 ml; 2,5 ml; 3 ml. Group III consist of 3 treatment (P<sub>5</sub>,P<sub>6</sub>,P<sub>7</sub>), for 7 days.

Before Newcastle Disease vaccinated was add with liquid extract of *Phyllanthus niruri* L each doses of treatment 2 ml; 2,5 ml; 3ml. GroupIV Consist of 3 treatmen (P<sub>8</sub>, P<sub>9</sub>, P<sub>10</sub>) i.e Newcastle Disease vaccinated, then one day after all vaccinated would add with liquid extract of *Phyllanthus niruri* L for 7 days with each doses 2 ml; 2,5 ml; 3 ml.

Group V consist of 3 treatment (P<sub>11</sub>, P<sub>12</sub>, P<sub>13</sub>) i.e add liquid extract of *Phyllanthus niruri* L for 7 day that was given with each doses 2ml; 2,5 ml; 3ml; then on day of fourth add with Newcastle Disease active vaccine.

Treatment intrial animal performed after maternal antibody titer was achieved = 0. HI examination titer after treatment was done in 4 times periodically in each week.

The obtained results showed that liquid extract administration of *Phyllanthus niruri* L could increased HI antibody titer significantly i.e. started in second week in all treatment (group III, IV, V) and Sharp increasing was occurred inthird week both of control group and treatment group. Especially in treatment (P<sub>9</sub>) was significant difference ( $p < 0,05$ ) With other treatment. Just at the moment for P<sub>5</sub>, P<sub>6</sub>, P<sub>7</sub> were occurred HI titer increasing that suignificantly difference ( $p < 0,05$ ), with control (P<sub>1</sub>) in third week. In Commonly, all treatment started to happened HI antibody titer decreasingin fourth week, except for the highest HI antibody titer was achieved by P<sub>6</sub> of group III that significantly difference ( $p < 0,05$ ) with Newcastle Disease control.

The conclusion of this research; *Phyllanthus niruri* L plant could increased Newcastle Disease antibody in active Newcastle Disease vaccinated chicken. Liquid extract doses administration of *Phyllanthus niruri* L affected to immune responsse appearance and the highest HI titer in third week was achieved in liquid extract administration of *Phyllanthus niruri* L with doses in 2,5 ml (P<sub>9</sub>)

Key words : *Phyllanthus niruri* L

Humoral immune responsse

Newcastle Disease vaccinated chicken.

## DAFTAR ISI

	<b>HAL</b>
Daftar Isi.....	i
Daftar Tabel.....	iii
Daftar Gambar.....	iv
Daftar Lampiran.....	v
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan.....	5
1.3.1. Tujuan Umum.....	5
1.3.2. Tujuan Khusus.....	5
1.4. Manfaat.....	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1. Sistem Imunitas.....	7
2.2. Sistem Imunitas Ayam.....	9
2.3. Newcastle Disease.....	11
2.4. Tanaman Phyllanthus Niruri Lsebagai Imunostimulator....	17
BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	20
3.1. Kerangka Konseptual.....	20
3.2. Hipotesis Penelitian.....	21
BAB 4. METODE PENELITIAN.....	22

4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian.....	22
4.2. Populasi dan Besar Sampel.....	22
4.3. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	22
4.4. Variabel Penelitian.....	23
4.5. Bahan dan Alat Penelitian.....	23
4.6. Prosedur Pelaksanaan Penelitian.....	24
4.6.1. Pemeriksaan Haemagglutination Inhibition.....	25
4.7. Analisis Dan Penghitungan Data.....	27
BAB 5. HASIL DAN ANALISA DATA.....	29
5.1. Hasil Penelitian.....	29
5.2. Analisa Data.....	34
BAB 6. PEMBAHASAN.....	35
BAB 7. KESIMPULAN.....	41
Kesimpulan .....	41
Saran.....	41
DAFTAR PUSTAKA.....	42



## DAFTAR TABEL

	<b>Hal</b>
Tabel 5.1 Titer Antibodi HI Virus Newcastle Disease Pada Minggu 1.....	29
Tabel 5.2 Titer Antibodi HI Virus Newcastle Disease Pada Minggu 2.....	31
Tabel 5.3 Titer Antibodi HI Virus Newcastle Disease Pada Minggu 3.....	32
Tabel 5.4 Titer Antibodi HI Virus Newcastle Disease Pada Minggu 4.....	33

## DAFTAR GAMBAR

	<b>Hal</b>
Gambar .1 Bagan Kerangka Konseptual.....	20
Gambar. 2 Tanaman <i>Phyllanthus Niruri</i> L (meniran) .....	28
Gambar. 3 Diagram balok.....	30-33
Gambar. 4 Grafik Titer Antibodi Newcastle Disease Ayam yang Diberi – Ekstrak Air <i>Phyllanthus Niruri</i> L.....	34

## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Hal</b>
Lampiran. 1 Data Lengkap Titer Anti Bodi Ayam Akibat Vaksinasi Newcastle Disease Dan Pemberian <i>Phyllanthus Niruri</i> L Selama - Penelitian Di Surabaya Perlakuan 1-13.....	46-52
Lampiran. 2 Uji Statistik Anova.....	53-56

## BAB 1

### PENDAHULUAN



#### 1.1 Latar Belakang

Penyakit pada ternak dapat bersifat infeksius dan non infeksius. Penyakit infeksius dapat disebabkan oleh berbagai jenis bakteri misalnya Fowl Cholera (Pasteurellosis), Salmonelosis (Pullorum), dan jamur misalnya aspergillosis, parasit serta virus.

Salah satu penyakit infeksius yang sering menimbulkan kerugian cukup besar adalah penyakit karena virus.

Penyakit virus yang sering menyerang ternak ayam pada umumnya tidak hanya satu macam virus saja. Tergantung kondisi ayam tersebut. Selama kondisi ternak menurun maka virus lain cenderung menyertai.

Penyakit tetelo (Newcastle Disease = ND) merupakan salah satu penyakit yang sering terjadi pada peternakan ayam dan menimbulkan kerugian cukup besar yaitu 50% - 100 % menimbulkan kematian (Hanson, 1987).

Faktor yang mendukung terjangkitnya penyakit Newcastle Disease sangat kompleks, diantaranya adalah penyakit yang bersifat imunosupresif seperti Gumboro, Marek's. Kejadian di Indonesia bersifat endemik dan tidak ada salah satu daerah pun di Indonesia yang bebas dari Newcastle Disease (Ronohardjo, 1987).

Salah satu upaya untuk mencegah kematian akibat Newcastle Disease adalah dengan vaksinasi serta mengadakan pemeriksaan hasil vaksinasi secara teratur karena sampai sekarang penyakit yang disebabkan oleh virus belum dapat disembuhkan dengan pemberian anti biotika.

Keberhasilan vaksinasi sangat tergantung dari kesiapan sel imunokompeten dalam menanggapi imunogen untuk menghasilkan antibodi yang maksimal. Tingginya titer antibodi sangat diperlukan untuk mencegah terjadinya suatu penyakit.

Pada umumnya wabah Newcastle Disease terjadi pada peternakan yang ayamnya mempunyai derajat kekebalan atau titer HI kurang dari 5 (log 2) tetapi biasanya aman bila titer HI lebih dari 7 (log 2) (Ronohardjo., 1980). Allan et al (1978) menyatakan standart titer terendah yang masih dapat menahan tantangan virus Newcastle Disease adalah 5 (log 2). Hasil penelitian (Ronohardjo., 1980), menyebutkan pada umumnya titer antibodi ayam mencapai maksimal dalam waktu 14 – 25 hari setelah vaksinasi, setelah itu titer antibodi akan semakin menurun.

Ada beberapa faktor yang harus diperhatikan untuk mencapai keberhasilan vaksinasi adalah :

1. Dari ayamnya sendiri harus sehat dan bebas dari infeksi lain, tidak ada maternal antibodi.
2. Waktu dan cara vaksinasi.

Pola dasar vaksinasi ayam biasanya dilakukan pada umur 1-4 hari, umur 21 hari dan umur di atas 2 bulan, dengan

menggunakan vaksin aktif galur Hichner B1; La Sota dan Komarov. Pemberian vaksin yang berulang-ulang tidak menguntungkan karena dapat mengakibatkan tekanan (*stress*) pada ayam (Ernawati; 1997).

Menurut MC Cance Shelby, 1995; Covelli 1994, dalam tesis Arimbi, 2000, menyebutkan bahwa sel yang mengalami *stress* akan mengakibatkan penyimpangan respon imun akibat pengaruh hormon yang dihasilkan karena akan merusak sel imuno kompeten atau menghambat produksi mediator kimia seperti interleukin yang diperlukan dalam membentuk antibodi.

Aplikasi vaksin di lapangan dapat dilakukan melalui tetes mata (Infra Okuler), tetes hidung (Infra Nasal), air minum (Drinking Water), semprotan dan melalui suntikkan (Allan, 1978) setiap teknik aplikasi tersebut mempunyai kekurangan dan kelebihan.

3. Mutu dan potensi vaksin itu sendiri dan cara penyimpanan vaksin.

Untuk mengatasi hal tersebut di pandang perlu untuk memberikan bahan yang bersifat sebagai imunostimulator, sehingga dapat meningkatkan pembentukan antibodi.

Salah satu bahan yang dapat digunakan sebagai imunostimulator adalah tanaman Meniran (*Phyllanthus niruri* L). Tanaman ini banyak di

Indonesia pada ketinggian 1 m sampai 100 m diatas permukaan laut dan tumbuh liar di tanah yang basah. Telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional sebagai diuretika, untuk sakit ginjal dan sakit kuning (Wijayakusuma, 1992). Tanaman *Phyllanthus niruri* L mengandung lignans, flavonoids, tri terpenoid, tannin, dan alkaloids. (Qian – Cutrone, 1996).

Dalam penelitian Ma'at, 1996 bahwa pemberian peroral ekstrak air *Phyllanthus niruri* L pada mencit dapat meningkatkan aktifitas proliferasi limfosit B dengan mekanisme di perkirakan merangsang sintesis Immunoglobulin M dan Immunoglobulin D pada fase pre B cell dari siklus pertumbuhan limfosit B, sehingga lebih banyak limfosit B *mature* beredar dalam sirkulasi dan jaringan limfoid. Sedangkan peningkatan aktivitas proliferasi limfosit T oleh pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri* L, akan memberikan dampak pada respon imun selanjutnya tergantung pada fungsi efektor mana yang paling dominan.

Berdasar uraian diatas diharapkan pemberian ekstrak air *Phyllanthus niruri* L akan dapat bertindak sebagai imunostimulator sehingga dapat meningkatkan titer antibodi.

## **1.2 RUMUSAN MASALAH**

1.2.1. Apakah tanaman *Phyllanthus niruri* L meningkatkan titer antibodi Newcastle Disease pada ayam yang di vaksin aktif Newcastle Disease.

- 1.2.2. Apakah waktu pemberian ekstrak air *Phyllanthus niruri* L berpengaruh terhadap timbulnya respons imun pada kelompok ayam yang di vaksin Newcastle Disease.
- 1.2.3. Apakah dosis pemberian ekstrak air *Phyllanthus niruri* L berpengaruh pada timbulnya respons imun pada kelompok ayam yang di vaksin Newcastle Disease.

### 1.3 TUJUAN

#### 1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh waktu tanaman *Phyllanthus niruri* L terhadap respons imun humoral pada ayam yang di vaksin Newcastle Disease.

#### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan ada pengaruh waktu pemberian ekstrak air *Phyllanthus niruri* L terhadap titer antibodi sebelum, sesudah dan bersamaan vaksinasi Newcastle Disease.
2. Membuktikan dosis *Phyllanthus niruri* L sebagai imunostimulan meningkatkan titer antibodi.

### 1.4 MANFAAT

- 1 Mendapatkan bukti bahwa *Phyllanthus niruri* L sebagai imuno stimulan dapat menimbulkan kenaikan titer antibodi pada ayam yang di vaksin Newcastle Disease, sehingga diharapkan dapat mengatasi kendala



vaksinasi Newcastle Disease, dan sebagai masukan dalam program vaksinasi Newcastle Disease.

- 2 Diharapkan dapat mengatasi kendala penyakit pada peternakan ayam terutama wabah Newcastle Disease.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Sistem Imunitas

Pada prinsipnya sistem pertahanan tubuh hewan dapat digolongkan menjadi dua golongan, yaitu, sistem pertahanan yang bersifat non spesifik dan sistem pertahanan yang bersifat spesifik. Sistem pertahanan non spesifik melindungi hewan terhadap infeksi yang bersifat umum, sedangkan sistem pertahanan yang bersifat spesifik melindungi hewan terhadap infeksi yang bersifat khusus terhadap antigen yang sebelumnya sudah pernah kontak. Dalam mekanisme kerjanya, pertahanan non spesifik bekerja lebih dahulu, dan apabila sistem pertahanan non spesifik gagal melakukan fungsinya maka akan dilanjutkan dengan sistem pertahanan yang bersifat spesifik (Bellanti, 1985; Roitt, 1990)

Komponen yang berperan dalam sistem kekebalan non spesifik adalah komponen fisik atau mekanik, komponen humoral dan komponen seluler. Komponen fisik meliputi : kulit dan selaput lendir. Komponen humoral meliputi : asam lambung, lisosim, laktoferin, asam neuraminik, asam lemak volatil, interferon dan komplemen sedangkan komponen seluler meliputi : sel-sel fagosit dan *natural killer (NK) cell*. Komponen yang berperan dalam sistem kekebalan spesifik adalah komponen humoral dan komponen seluler. Komponen humoral diperankan oleh antibodi, sedangkan komponen seluler diperankan oleh sel T sitotoksik (Grange, 1982 ; Roitt, 1993).

Sistem imun non spesifik, umumnya efektif terhadap semua mikroorganisme, sel yang berperan terutama fagosit, sel NK, dan beberapa molekul yang penting seperti lisosim, komplemen dan interferon. Sistem imun spesifik, terutama untuk mikroorganisme yang pernah merangsang, sel, yang sangat berperan adalah sel B yang berperan dalam respons imun humoral, dan sel T untuk respons imun seluler (Godman, 1991; Baratawidjaja, 1996). Respons imun spesifik dimulai dengan aktivitas *antigen presenting cell* (APC), yang diikuti oleh tahap pengenalan.

APC adalah sel yang dapat melakukan fagositosis, menghancurkan dan mempresentasikan epitop bersama molekul MHC (*Major Histo Compatibility Complex*) kelas II yang lain akan dikenali oleh limfosit T *helper* melalui reseptor yang berada di permukaan sel (T – cell Reseptor = TCR) yang membentuk kompleks dengan CD3. Ikatan antara kompleks TCR; CD3 dari limfosit T *helper* untuk mensekresi berbagai limfokin. Jenis limfokin yang disekresi tergantung pada subset limfosit T *helper* (TH1) akan mensekresi IL2, IFN – gama, THF alfa, IL – 12. Sedangkan subset limfosit T *helper* 2 (TH2) akan mensekresi IL 4, IL 5, IL 6, IL 10 (Roitt, 1993; Abbas, 1994). Sel B yang kontak dengan epitop akan mengalami aktifitas, berproliferasi dan berdeferensiasi menjadi dua populasi. Populasi yang berukuran sama dengan sel B aslinya akan berfungsi sebagai sel memori sedang populasi yang mempunyai kemampuan untuk memproduksi antibodi disebut sel plasma (plasmosit) (Bellanti, 1985 ; Goodman, 1991). Selanjutnya dikatakan, imunitas humoral terhadap antigen tergantung interaksi sel T dan

sel B, dimana makrofag diperlukan sebagai sel ketiga, dalam fungsinya diperlukan mediator seperti monokin, limfokin, interferon dan prostaglandin.

Disamping proses tersebut diatas faktor lain yang mempengaruhi mekanisme respon imun adalah faktor genetik, umur individu, lingkungan, anatomis, fisiologis, jenis dan dosis antigen (Bellanti 1985; Roitt, 1990). Faktor genetik dalam imunologi sering dikaitkan dengan MHC, karena MHC sangat menentukan kesanggupan individu memberi respon imun dan kesanggupan menampilkan antigen histo kompatibilitas pada permukaan sel. Faktor umur dikaitkan dengan status hipofungsi respons imun pada umur yang sangat muda dan yang sangat tua.

## 2.2 Sistem Imunitas Ayam

Sistem imunitas ayam dapat dibagi menjadi tiga yaitu : sistem imunitas tubuh lokal, selular dan imunitas humoral.

1. Sistem imunitas lokal : terdapat dalam cairan atau sekresi mukus yang disalurkan melewati lapisan epitelia (mukosa) pada saluran pernapasan, saluran pencernaan dan saluran reproduksi.
2. Sistem imunitas seluler dilakukan oleh sel-T yang bereaksi secara spesifik terhadap antigen.
3. Sistem imunitas humoral dilakukan oleh sel-B, sel ini berdiferensiasi menjadi sel plasma yang merupakan penghasil antibodi (Anonimus, 1988).

Sistem imun pada ayam mengalami perkembangan sejak periode embrio yang berasal dari kantong kuning telur dan hati sebagai sumber

limfosit pada masa embrional. Setelah menetas, fungsi ini diganti oleh sumsum tulang. Organ limfoid lain yang dapat berinteraksi dengan antigen adalah : limpa, saeca tonsil, sumsum tulang dan kelenjar harder pada mata (Tizard, 1987).

Antibodi diturunkan oleh induk ayam ke kuning telur pada saat telur berada dalam ovarium. Anak ayam memperoleh kekebalan pasif (antibodi maternal) dari serum induknya di turunkan pada lima hari sebelum terjadi ovulasi melalui pembuluh darah induk yang menembus epitel folikel ovum. Ovum yang telah di ovulasikan, diselubungi oleh albumen yang banyak mengandung imunoglobulin M dan A. (Gordon dan Jordan, 1982). Selama perkembangan, imunoglobulin G dalam kuning telur diserap oleh embrio, sedangkan imunoglobulin M dan A dalam albumin dapat ditemukan dalam cairan amnion yang kemudian diserap oleh embrio, sehingga setelah imunitas anak ayam memiliki imunoglobulin G dalam serum dan imunoglobulin M dan A didalam saluran pencernaan (Tizard, 1987). Kekebalan pada ayam terhadap Newcastle Disease dapat bersifat pasif dan aktif. Kekebalan pasif diperankan oleh antibodi dari induk (antibodi maternal), antibodi maternal ini selain menghambat pembentukan imunoglobulin pada hewan bau lahir juga mencegah terjadinya imunoglobulin pada vaksinasi. Antibodi maternal ini dapat bertahan beberapa hari bergantung pada tinggi rendahnya antibodi induknya (Tizzard, 1987). Sedangkan kekebalan aktif diperoleh akibat infeksi Newcastle Disease alami dan hasil dari vaksinasi (Fenner, 1993; Darmawan, 1995).

Menurut Tizard, 1988 adanya antibodi maternal pada anak ayam secara efektif mencegah keberhasilan vaksinasi sampai antibodi habis sekitar 10 sampai 20 hari setelah menetas.

Menurut Gordon dan Jordan (1982), pada umumnya titer antibodi tertinggi dicapai pada minggu kedua atau ketiga setelah vaksinasi. Sedangkan penelitian lain menyebutkan titer tertinggi antibodi dalam darah ditemukan pada minggu kedua dan titer antibodi tertinggi dalam kuning telur di temukan pada minggu keempat.

### **2.3 Newcastle Disease**

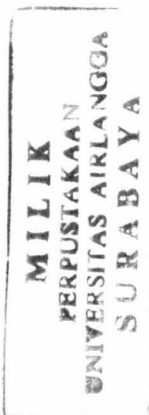
Di Indonesia, penyakit ini pertama kali ditemukan oleh Kraneveled tahun 1926 di Bogor (Resang, 1984) sampai sekarang belum satu daerah pun bebas penyakit ini.

Newcastle Disease disebabkan, oleh virus dari familia paramyzovirus, berbentuk shperik pleomorpik (Alexander, 1991). Penyakit ini sangat menular dan mempunyai angka kematian yang sangat tinggi menyerang jenis semua ayam, kalkun, burung dan manusia ditandai dengan konjungtivitis yang berlangsung satu hari dan limfadenitis, tetapi segera terjadi penyembuhan (Hanson, 1987).

Pada umumnya virus masuk tubuh melalui saluran pernafasan, konjungtiva dan jarang melalui saluran pencernaan.(Buxton dan Fraser, 1977).

Penularan dari satu peternakan ayam ke peternakan ayam lainnya dapat terjadi melalui pengangkutan, pekerja kandang, debu, angin, serangga, dan makanan yang tercemar (Ronohardjo, 1980; Spradbrow, 1987)

Faktor yang mempengaruhi kehebatan penyakit ini adalah strain virus, jalan masuk ke dalam tubuh (Alexander, 1991). Segera setelah virus masuk tubuh, akan segera menempel pada permukaan sel epitel dan mengalami aplikasi dalam waktu 24 jam (Buxton dan Fraser, 1987, Fenner, 1993). Pembentukan virus baru selanjutnya akan menyebabkan viremia. Virus Newcastle Diseases tersusun atas envelop, capsid dan genom. Envelop lapisan paling luar dari virus yang terdiri dari protein hemaglutinin neuraminidase, yang mempunyai reseptor dengan sel darah merah, sehingga menyebabkan aglutinasi (Spradbrow, 1987). Hemaglutinasi, merupakan aktivitas biologik virus Newcastle Disease yang penting bagi tubuh penderita. Proses hemaglutinasi meliputi dua tahapan yaitu : pertama virus menempel pada reseptor permukaan sel dan merusak substansi permukaan sel tersebut oleh enzim neuramidase. Kedua, pelepasan virus dari permukaan sel (Hanson, 1987 dan Alexander, 1991). Virus Newcastle Disease mampu mengaglutinasi sel darah merah ayam, reptil, ampibia, bangsa burung dan manusia dengan golongan darah O (Buxton dan Fraser, 1977; Alexander, 1991). Angka kematian pada kelompok ayam yang peka dapat mencapai 100% (Ronoharjo, 1978; Spradbrow, 1987). Masa inkubasi penyakit ini berkisar antara 2 sampai 10 hari dan kematian terjadi 3 sampai 10 hari pasca infeksi (Hanson, 1980; Russel dan Edington, 1985).



Gejala klinis Newcastle Disease ada beberapa bentuk, dapat berupa penyakit ringan dengan gejala pernafasan sementara atau fatal disertai gejala pernafasan yang parah. Dalam beberapa kasus penyakit yang parah ditandai dengan gejala syaraf, paralisis otak dan mati.

Gejala klinis yang dapat diamati adalah depresi, anorexia, ingin minum, ngorok, leleran hidung dari serose sampai purulen, gejala syaraf yang ditandai dengan kelemahan anggota gerak, tortikolis, tremonopistotomus dan selanjutnya terjadi kelumpuhan. Ayam mengalami diare putih kehijauan dan dehidrasi. Dalam keadaan ini biasanya segera terjadi kematian (Allan, 1978, Ronoharjo, 1987).

Tindakan vaksinasi pada ayam merupakan cara yang efektif untuk mencegah Newcastle Disease. Ada 2 jenis vaksin Newcastle Disease aktif yang galur lentogenik, seperti Hitchner B1, F, La sota, V4 : galur mesogenik seperti Roakin, Komarov, Mukteswar.

Antibodi yang terbentuk pada vaksinasi melalui tetes mata cukup memberikan kekebalan secara umum maupun lokal (Allan, 1976) galur lasota merupakan vaksin lentogenik yang paling efektif, tetapi kurang baik bila digunakan untuk vaksinasi pertama. Untuk imunisasi pertama lebih baik digunakan galur B1 atau F (Gordon dan Jordan, 1982).

Menurut Allan dan Gough, 1974; Beard dan Biangh, 1975, secara umum uji serologis yang lazim digunakan untuk mendeteksi Newcastle Disease. dan menentukan derajat kekebalan kelompok ayam dalam suatu peternakan adalah uji hemaglutinasi dan hambatan hemaglutinasi



(*Haemoglutination / Haemoglutination Inhibition (HA/HI) Test*) secara beta prosedur yaitu prosedur virus konstan dengan berbagai konsentrasi serum Uji ini disukai karena sederhana, ekonomis, material dan peralatannya sedikit, metode mikro dapat digunakan untuk mengerjakan sample dalam jumlah banyak (Wijaya. 1988)

Identifikasi virus Newcastle Disease dapat dilakukan dengan uji hemaglutinasi, karena virus Newcastle Disease dapat mengaglutinasi sel darah merah unggas. Hemaglutinasi terjadi akibat aktivitas dari proteinnya virus Newcastle Disease, yang terdiri dari glikoprotein dan matriks protein dengan reseptor sel darah merah unggas. Titer HA virus dinyatakan sebagai kebalikan dari pengenceran tertinggi virus yang masih mampu menimbulkan reaksi aglutinasi secara sempurna (Allan, 1978 ; Hitchner , 1980).

Peranan uji HI sebagai salah satu uji serologis cukup penting, karena cukup sederhana, murah dan efisien. Virus Newcastle Disease pada *envelopnya* mengandung glikoprotein yang dapat mengaglutinasi sel darah merah. Antibodi protektif terhadap virus Newcastle Disease ditujukan kepada glikoprotein hemaglutinin ini, sehingga uji hambatan hemaglutinasi (HI) dapat digunakan untuk menentukan antibodi protektif terhadap virus Newcastle Disease. Hasil uji HI ini mempunyai korelasi positif dengan hasil uji tantangan mempergunakan virus *Newcastle Disease* yang ganas (Allan, 1978 ; Ronohardjo, 1978; Russel dan Edington, 1985).

Titer HI dinyatakan sebagai kebalikan pengenceran seru tertinggi yang dapat menghambat hemaglutinasi 100 % pada pengenceran serum

kelipatan dua titer HI pada umumnya dinyatakan sebagai logaritma berbaris dua dan pada uji HI yang diulang beberapa kali, untuk mendapatkan suatu nilai yang mendekati ketepatan, digunakan rata-rata titer geometrik atau Geometrik Mean Titer (GMT) yaitu rata – rata logaritma beberapa ulangan yang ada (Allan dkk, 1978).

Banyak cara dilakukan untuk pemeriksaan / penilaian sistem imuno humoral antara lain dengan Radio Imuno Assay (RIA), *Enziyme Linhed Imuno Sorbent Assay* (ELISA), Fluorescence Imuno Assay (FIA) hemagglutination Inhibition (HI). Menurut Fenner dkk. (1993), produksi antibodi berlangsung sangat cepat, anti bodi penghambat hemaglutinasi, dapat diamati 4 – 6 hari pasca vaksinasi dan antibodi ini merupakan ukuran dari kekebalan

Menurut Brugh et al, 1978, faktor yang mempengaruhi uji HI adalah konsentrasi antigen, konsentrasi eritrosit dan terutama waktu serta suhu inkubasi serum antigen, (Wijaya, 1988).

Bila ada antigen masuk ke dalam tubuh, maka dapat menimbulkan dua jenis reaksi imunologik, yitu berupa : sintesis dan pelepasan antibodi bebas ke dalam darah dan cairan tubuh lainnya (antibodi humoral) dan pembentukan limfosit yang peka dengan molekul-molekul yang menyerupai antibodi pada permukaannya (Roitt, 1985 ; Bellanti ; Tizard, 1987).

Mekanisme reaksi tersebut dapat dijelaskan bahwa apabila ada antigen yang masuk ke dalam tubuh, maka antigen tersebut akan ditangkap oleh makrofag karena sel-sel ini memiliki reseptor. Sel-sel makrofag

kemudian memberi isyarat pada sel limfosit-B yang dihasilkan oleh *bursa fabricius*. Selanjutnya sel B berubah menjadi sel blast kemudian menjadi sel blast kecil dan akan berubah menjadi plasma blast yang memproduksi antibodi humoral. Selain itu sel blast kecil juga ada yang tetap tinggal pada sel B dan bertindak sebagai sel yang mempunyai ingatan (*memori cell*). Apabila ada gen yang sama masuk kembali maka sel blast kecil ini akan langsung berubah menjadi sel plasma blast yang akan memproduksi antibodi. Selain merangsang sel B, sel-sel makrofag juga memberi isyarat pada sel T yang dihasilkan timus, sel T ini tidak mengeluarkan antibodi seperti halnya sel B, akan tetapi sel T ini membantu agar rangsangan antigenik sel B lebih efektif, sel T yang dirangsang oleh makrofag tadi akan berubah menjadi sel blast lalu menjadi kecil yang menghasilkan sel ingatan dan juga mengeluarkan zat-zat limfokinin yang bertugas mengaktifasi makrofag untuk dapat menghancurkan antigen, serta membentuk limfosit yang berperan dalam penolakan jaringan (Roitt., 1985).

Dalam system respons imun dikenal istilah yang disebut dengan respons imun primer dan respons imun sekunder. Respon imun primer, adalah suatu peristiwa dimana sel limfosit kontak pertama dengan antigen, sehingga antigen dapat menginduksi sel limfosit untuk memperbanyak diri dan membentuk populasi yang lebih besar. Peristiwa perbanyakan dari sel limfosit disebut dengan *clonal expansion*. Pada peristiwa ini dihasilkan dua tipe sel yaitu sel efektor yang berperan dalam reaksi kekebalan dan sel memori yang menyimpan ingatan (Tizard, 1987).

Respons imun sekunder adalah peristiwa dimana sel-sel limfosit kontak ke dua kali dengan antigen yang sama setelah respon imun primer. Dalam peristiwa ini akan terlihat sel memori beregenerasi lebih cepat dan menghasilkan populasi limfosit besar serta memberikann respon imun yang lebih cepat dan lebih sempurna. Peristiwa ini digunakan sebagai prinsip dasar dalam menyusun program vaksinasi (Bellanti, 1985 ; Roitt, 1993).

#### 2.4 Tanaman *Phyllanthus niruri* L sebagai Imuno Stimulator.

Tanaman *Phyllanthus niruri* L mempunyai sinonim = P alatus BL = P Cantonensis Hornem = P Urinaria Linn, termasuk dalam familia : Euphorbiaceae. Nama daerahnya disebut sebagai meniran (Jawa) meniran merah, memeniran (Sunda) merupakan tanaman liar pada tempat lembab, dipinggir jalan, di rumput-rumputan. Tumbuh ditanah / tempat pada ketinggian 1m sampai 100m diatas permukaan laut (Wijayakusuma H, 1992, Ma'at. 1996).

Isi simplisia dari *Phyllanthus niruri* L antara lain berupa : flavonoid, lignans triterpenoids, tannins dan alkaloids, (Qian-Cutrone, 1995) Terinci lagi telah mengandung Quercetin, quercitrin, isoquercitrin, astragalin, rutin, kaemferol -4- rhamnopyroside, eridictyol -7- rhamnopyroside, tisetin -4-oglucoside , 5, 6, 7, 4 - tetra hydroxy - 8 (methyl but - 2 - enyl) flavanone - 5 - 0 - rutinoside (nirurin), phyllantin, hypohyllantin lup - 20 (29) - en - 3 - ol, norsecurinine, niranthin, nirtetralin, phyltetralin, dan lintetralin (Rakhmawati, 1994). Ekstrak *Phyllanthus niruri* L menghambat DNA polimerase dari virus

hepatitis B pada manusia karena menghalangi transkripsi virus HIV tipe I (Qian-Cultrome. 1995).

Dalam penelitiannya Rakhmawati menyebutkan bahwa pemberian infus herba meniran (*Phyllanthus niruri* L) per-oral pada tikus putih jantan tidak menyebabkan perbedaan yang bermakna terhadap kadar urea dan kreatinin serum darah dibanding terhadap kontrol dan penggunaan herba *Phyllanthus niruri* L tidak menyebabkan keracunan.

Sebagai tanaman tradisional berkhasiat diuretika, penurun panas (Wijaya Kusuma, 1996). Dan menurut Blumberg, 1990 dalam disertasi Ma'at, 1996, menyebutkan bahwa ekstrak tanaman *Phyllanthus niruri* L dapat menurunkan titer virus Hepatitis B pada binatang itik yang terinfeksi.

Dalam penelitian Ma'at, 1996 terbukti bahwa tanaman *Phyllanthus niruri* L dengan pemberian peroral dapat meningkatkan pembentukan antibodi kelas Ig M dan Ig G dapat dikatakan sebagai potensiasi dari pengaruh pemberian ekstrak terhadap peningkatan proliferasi limfosit B, peningkatan fungsi fagositosis monosit/makrofag, peningkatan fungsi limfosit T helper dalam mensekresi IL – 4. Dengan meningkatnya produksi antibodi primer (Ig M) dan antibodi sekunder (Ig G) berarti pemberian ekstrak air *Phyllanthus niruri* L dapat mempengaruhi berbagai macam aktivitas sel imuno kompeten, karena antibodi dapat: mengaktivasi system komplemen yang menghasilkan lisis dari mikroorganisme, mengikat dan menetralkan toksin bacterial, mengikat virus untuk menghalangi berikatan dengan sel inang. Berarti

pemberian per – oral ekstrak air *Phyllanthus niruri* L meningkatkan respon imun humoral dari sistem imun natural (Ma'at, 1996).

Menurut Wagner, 1991 dalam disertasi Maat 1996 menyebutkan bahwa bahan yang berasal dari tumbuhan terutama yang mengandung senyawa fenolik dan terfenoid dapat mengaktivasi sistem komplemen, sedangkan senyawa polisakarida justru menghambat aktivasi dari sistem komplemen. Tanaman *Phyllanthus niruri* L memiliki ke 3 macam senyawa tsb. Menurut Polya, 1995 dalam disertasi Ma'at 1996 menyebutkan bahwa genus *Phyllanthus* menghasilkan tanin yang mengandung 5 macam substansifenolik. Kemampuan mengaktivasi system komplemen dari ekstrak *Phyllanthus niruri* L diperkirakan karena kandungan senyawa fenolik dan terfenoid lebih besar jumlahnya dibanding dengan senyawa polisakarida.

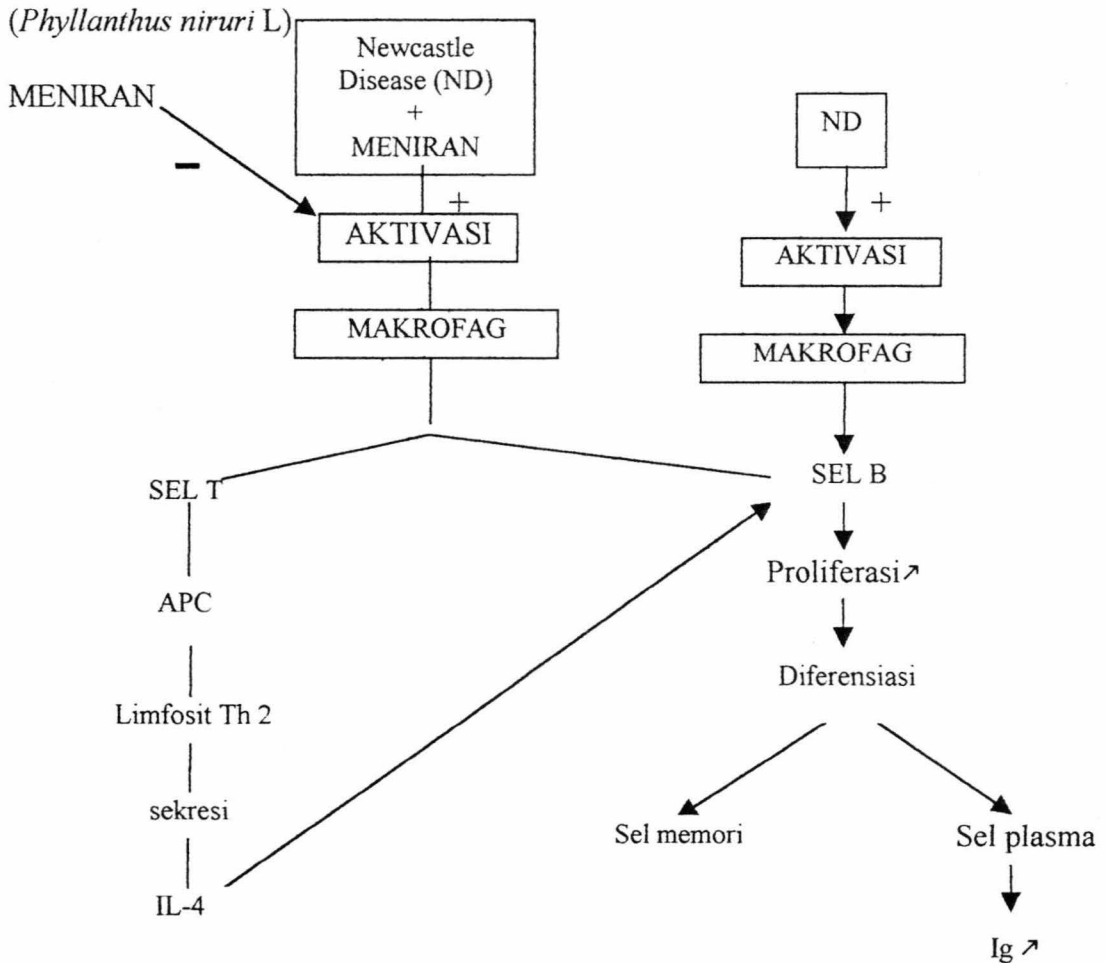
Menurut Pignol, 1988 dalam penelitian Kusumawati Idha 1997. dengan percobaan invitro menunjukkan bahwa flavonoid dapat mempengaruhi makrofag dan menghambat pembentukan oksigen radical sehingga menurunkan sitotoksisitas sel.

Diperkirakan ekstrak *Phyllanthus niruri* L berikatan dengan molekul galaktosa dari reseptor oligosakarida di permukaan sel makrofag sehingga mampu mengaktivasi sel makrofag tersebut.

Adapun aspek klinis imuno stimulasi ekstrak *Phyllanthus niruri* L lebih banyak ditujukan pada peningkatan respon imun non spesifik dan lebih banyak berperan sebagai adjuvant.

### BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

#### 3.1 Kerangka konseptual penelitian



KETERANGAN BAB 3 :

A P C : Antigen Presenting cell

IL - 4 : Interleukin 4

### 3.2 HIPOTESIS PENELITIAN

1. Tanaman *Phyllanthus niruri* L meningkatkan titer antibodi Newcastle Disease pada ayam yang divaksin aktif Newcastle Disease.
2. Waktu pemberian ekstrak air *Phyllanthus niruri* L berpengaruh terhadap timbulnya respon imun pada kelompok ayam yang di vaksin Newcastle Disease.
3. Dosis pemberian ekstrak air *Phyllanthus niruri* L berpengaruh terhadap timbulnya respons imun pada kelompok ayam yang di vaksin Newcastle Disease.



## **BAB 4**

### **METODA PENELITIAN**

#### **4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian jenis eksperimental sesungguhnya, dengan menggunakan uji serologi HI (*Haemagglutination Inhibition test*). Rancangan penelitian yang digunakan adalah R. A. L (Rancangan Acak Lengkap), *pre-post controle group design*. (Sudjana, 1989).

#### **4.2 Populasi dan Besar Sample**

Populasi dari penelitian adalah ayam pedaging umur 1-4 hari (D.O.C) dari P.T Sierad Grains dengan jumlah sample 130 ekor ayam D.O.C.

#### **4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Pusat Veterinaria Farma Surabaya (Pusvetma) dan di laboratorium Virologi dan Imunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya, dengan skedul sebagai berikut :

- 1 Akhir Juli 2000 – Pertengahan September 2000 dilakukan penelitian perlakuan hewan coba di kandang Pusvetma Surabaya.
- 2 Akhir September 2000-Awal Oktober 2000 pemeriksaan HI test =Uji serologis.
- 3 Oktober 2000, analisa data dan pembuatan laporan.

#### 4.4 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

1. Variabel bebas, adalah vaksinasi Newcastle Disease dari strain lentogenik (La sota) buatan Medion, dibeikan dengan cara suntikan pada otot (i.m) sebanyak satu dosis (1 ml). Vaksinasi diberikan setelah titer maternal antibodi nol.
2. Variabel terikat / tergantung adalah : titer antibodi Newcastle Disease yang diukur dengan uji Haemagglutination Inhibition (HI) pada 1, 2, 3, 4, minggu setelah perlakuan.
3. Variabel tidak terkendali pemberian *Phyllanthus Niruri* L.
4. Variabel kendali adalah : umur, jenis D.O.C kandang, pakan ayam.

#### 4.5 Bahan dan Alat Penelitian

Pada penelitian ini digunakan ayam pedaging D.O.C umur 1 hari dari vaksin Newcastle Disease aktif galur La Sota. Bahan kimia pemeriksaan titer antibodi pada serum dengan uji hambatan hemaglutinasi seperti PZ/PBS, antigen dan eritrosit ayam. Alat-alat yang digunakan adalah kandang ayam dengan tempat makan minum, alat untuk pemeriksaan uji HI berupa mikroplate, diluter, pipet, dropper, spuit disposable untuk mengambil darah dan botol kecil untuk tempat serum darah tersebut.

Pembuatan ekstrak air *Phyllanthus niruri* L adalah sebagai berikut : seluruh bagian tanaman kecuali akar, dikeringkan diangin-anginkan dan di tumbuk dengan cara tradisional, diayak halus disimpan pada suhu kamar

dengan penambahan Silica gel sebagai pengering kemudian dilakukan penimbangan, 100 g serbuk *Phyllanthus niruri* L ditambahkan 1000 ml air suling, dipanaskan diatas pemanas selama 15 menit terhitung suhu mencapai 90 °C dan diaduk sewaktu panas diserukai melalui kain kasa.

#### 4.6 Prosedur Pelaksanaan Penelitian

Pada penelitian ini digunakan 130 ekor ayam dibagi secara random menjadi : 5 kelompok, terdiri dari : 13 perlakuan. Masing-masing perlakuan 10 ekor ayam.

Kelompok I terdiri dari 1 perlakuan (P<sub>1</sub>) yaitu : Kontrol Newcastle Disease dosis tunggal (1ml)

Kelompok II terdiri dari 3 perlakuan (P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub>, P<sub>4</sub>) yaitu : Kontrol *Phyllanthus niruri* L dengan dosis tunggal 2 ml; 2,5 ml; 3 ml. per-oral dengan menggunakan spuit berkanul tumpul

Kelompok III terdiri dari 3 perlakuan (P<sub>5</sub>, P<sub>6</sub>, P<sub>7</sub>) yaitu : Selama 7 hari sebelum vaksinasi Newcastle Disease diberi ekstrak air *Phyllanthus niruri* L dengan dosis masing-masing perlakuan 2 ml; 2,5 ml; 3 ml per-oral dengan menggunakan spuit berkanul tumpul.

Kelompok IV terdiri dari 3 perlakuan (P<sub>8</sub>, P<sub>9</sub>, P<sub>10</sub>) yaitu : vaksinasi Newcastle Disease, satu hari kemudian setelah vaksinasi diberi ekstrak air *Phyllanthus niruri* L selama 7 hari dengan dosis masing-masing : 2 ml; 2,5 ml; 3 ml per-oral dengan menggunakan spuit berkanul tumpul

Kelompok V terdiri dari 3 perlakuan ( $P_{11}$ ,  $P_{12}$ ,  $P_{13}$ ) yaitu : ekstrak air *Phyllanthus niruri* L selama 7 hari diberikan dengan dosis masing-masing : 2 ml; 2,5 ml; 3 ml per oral dengan menggunakan spuit berkanul tumpul, pada hari ke 4 diberi vaksin aktif Newcastle Disease.

#### **Jadwal Pelaksanaan Penelitian**

1. Seluruh hewan coba di kondisikan dengan lingkungannya, makanannya juga diamati kondisi kesehatannya dan diukur titer maternal antibodi setiap minggu hingga diperoleh titer HI = 0.
2. Perlakuan pada hewan coba dilakukan setelah tercapai titer maternal antibodi = 0.
3. Pemeriksaan titer HI setelah perlakuan dilakukan 4 kali pemeriksaan secara berkala setiap minggu.

#### **4.6.1 Pemeriksaan Haemagglutination Inhibition**

Prosedur cara pemeriksaan titer HI dengan menggunakan prosedur beta menurut hasil lokakarya Kesehatan Hewan II tahun 1978 yang resmi digunakan di Indonesia, (Fenner dkk, 1993), sebagai berikut :

1. Lubang 1-12 dari mikroplate diisi dengan PBS ph 7.2 sebanyak 0,025 ml dengan mikrodroper 0,025 ml.
2. Lubang 1 diisi dengan 0,025 ml serum ayam percobaan yang diuji dengan mikrodiluer 0,025 ml.
3. Mikrodiluter dipindahkan pada lubang ke 2 demikian seterusnya sampai lubang ke 10 dengan demikian terjadi seri pengenceran

- kelipatan 2. Lubang ke 11 digunakan sebagai kontrol antigen, lubang 12 digunakan sebagai kontrol sel darah merah.
4. Pada lubang 1-11 ditambahkan 0,025 ml antigen Newcastle Disease 4 HA unit dengan mikrodrome 0,025 ml.
  5. Larutan dikocok dengan mikrosaker selama 30 detik, kemudian diinkubasi pada suhu kamar (25 C) selama 15 menit.
  6. Tambahkan 0,05 ml sel darah merah ayam 0,5% pada semua lubang kemudian dikocok dengan mikrosaker selama 30 detik, selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 30 detik baru dibaca, pengenceran serum tertinggi yang masih dapat mengadakan hambatan hemaglutinasi sel darah merah ayam secara sempurna, merupakan titer HI

#### **Penentuan Antigen 4 HA Unit.**

Untuk menentukan antigen 4 HA unit dilakukan titrasi antigen lebih dahulu dengan cara uji HA mikro teknik sebagai berikut.

1. lubang 1 – 12 dari mikro plate pada baris I dan II diisi dengan PBS PH. 7.2 sebanyak 0,025 ml dengan mikro dropper 0,025 ml (titrasi duplikat).
2. Isi Lubang 1 baris I dan II dengan Antigen 0,025 ml dan alat yang digunakan adalah pipet dropper 0,025 ml.
3. Dengan memakai diluter, campurkan Antigen dan PBS pada lubang 1 dengan cara memutar – mutar, kemudian pindahkan ke lubang berikutnya. Demikian seterusnya sampai dengan lubang 11 dan 12 digunakan sebagai kontrol eritosit (tanpa antigen).

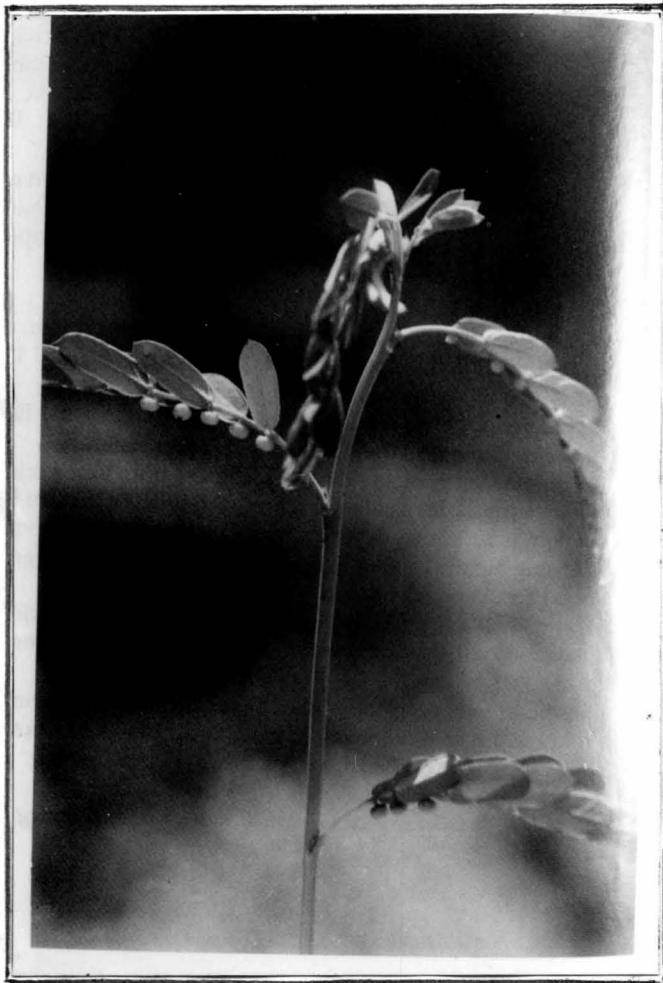
4. Isi semua lubang dengan 0,05 ml eritosit ayam 0,5 %.
5. Di Inkubasi pada suhu kamar selama 30 menit kemudian dibaca titernya.

HA sempurna 100% adalah Aglutinasi terlihat jelas berupa lapisan eritosit secara merata (di fuse) pada dasar sumuran dan penjernihan dari cairan bagian atas tanpa terjadinya pengendapan eritosit terbentuk titik di tengah sumuran.

Setelah ketemu titer antigen, dilanjutkan retitrasi antigen dengan cara yang sama yaitu Uji HA mikro teknik.

#### **4.7 Analisis dan Penghitungan Data**

Data penelitian yaitu nilai rata-rata titer HI test. Interpretasi titer HI adalah pengenceran serum tertinggi yang masih dapat menghambat hemaglutinasi sel darah merah unggas secara maximal (100%) (Fenner dkk, 1993).



**Tanaman *Phyllanthus Niruri* L  
(Meniran)**

## BAB 5

### HASIL DAN ANALISA

#### 5.1 Hasil Penelitian

Pengukuran titer antibodi maternal virus Newcastle Disease dilakukan setiap minggu sampai diperoleh titer  $\log_2 = 0$  dan untuk itu diperoleh saat ayam berumur 35 hari. Perlakuan pada penelitian ini diberikan pada ayam umur 35 hari setelah semua ayam titer antibodi maternal  $\log_2 = 0$ . Hasil yang diperoleh setelah perlakuan sebagai berikut :

Tabel 5.1 Titer antibodi HI virus Newcastle Disease pada minggu 1

Kelompok	Perlakuan	Dosis	X $\pm$ SD
I	P1	1 ml	0,1 <sup>bc</sup> $\pm$ 0,32
II	P2	2 ml	0 <sup>c</sup>
	P3	2,5 ml	0 <sup>c</sup>
	P4	3 ml	0 <sup>c</sup>
	P5	2 ml	0 <sup>c</sup>
III	P6	2,5 ml	0 <sup>c</sup>
	P7	3 ml	0,5 <sup>b</sup> $\pm$ 0,85
	P8	2 ml	0,4 <sup>b</sup> $\pm$ 0,7
IV	P9	2,5 ml	0,6 <sup>a</sup> $\pm$ 0,52
	P10	3 ml	0,3 <sup>b</sup> $\pm$ 0,48
	P11	2 ml	0 <sup>c</sup>
V	P12	2,5 ml	0,4 <sup>b</sup> $\pm$ 0,52
	P13	3 ml	0,1 <sup>b</sup> $\pm$ 0,32

a, b, c : superscrip yang berbeda pada kolom sama menunjukkan perbedaan nyata ( $p < 0,05$ ).

Keterangan :

Kelompok I : Kontrol Newcastle Disease



- II : Kontrol *Phyllanthus niruri* L
- III : 7 hari *Phyllanthus niruri* L : vaksin Newcastle Disease aktif
- IV : Vaksin Newcastle Disease aktif : *Phyllanthus niruri* L 7 hari
- V : *Phyllanthus niruri* L 7 hari + vaksin Newcastle Disease aktif

Rerata titer HI tertinggi dari hasil perhitungan statistik dengan analisis varian kelompok IV perlakuan ( $P_9$ ) berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) dengan perlakuan yang lain. Semua perlakuan dengan perhitungan statistik masih menunjukkan titer HI yang sama kecuali  $P_9$  pada kelompok IV. Untuk lebih jelasnya gambaran respons imun pada berbagai perlakuan dapat dilihat pada gambar 5.1

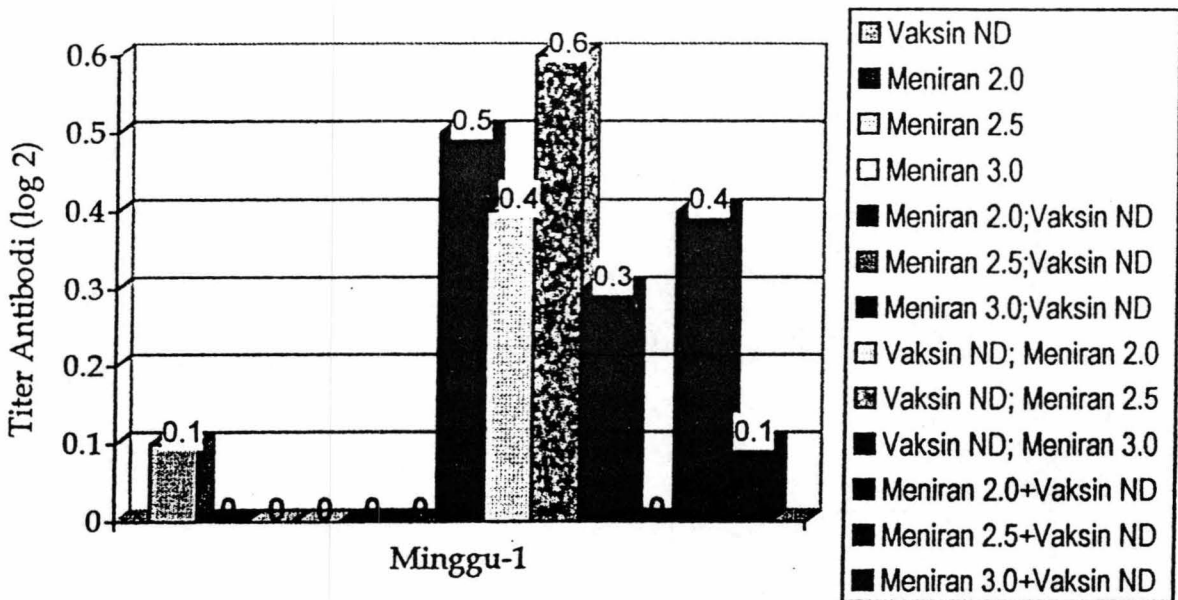


Diagram balok respons imun pada minggu 1 setelah perlakuan.

Tabel 5.2 Titer antibodi HI virus Newcastle Disease pada minggu 2

Kelompok	Perlakuan	Dosis	X ± SD
I	P1	1 ml	1,4 <sup>bc</sup> ± 1,17
	P2	2 ml	0 <sup>d</sup>
	P3	2,5 ml	0 <sup>d</sup>
	P4	3 ml	0 <sup>d</sup>
II	P5	2 ml	2,6 <sup>a</sup> ± 0,97
	P6	2,5 ml	1,0 <sup>bc</sup> ± 0,94
	P7	3 ml	0,8 <sup>c</sup> ± 0,92
III	P8	2 ml	1,0 <sup>bc</sup> ± 0,67
	P9	2,5 ml	1,6 <sup>b</sup> ± 0,7
	P10	3 ml	0,7 <sup>b</sup> ± 0,48
IV	P11	2 ml	0,9 <sup>c</sup> ± 0,88
	P12	2,5 ml	1,6 <sup>b</sup> ± 0,97
	P13	3 ml	1,7 <sup>b</sup> ± 1,06

a, b, c dan d : subskrip berbeda pada klien pada kolom sama menunjukkan perbedaan nyata (p < 0,05).

Rerata titer HI hasil perhitungan statistik tertinggi adalah kelompok III pada perlakuan P<sub>5</sub> berbeda nyata (p < 0,05) dengan perlakuan yang lain, sedangkan kelompok III, IV, V secara statistik, masih menunjukkan titer HI yang sama dengan titer HI kontrol Newcastle Disease (Kelompok I). Gambaran respon imun pada minggu 2 dapat dilihat pada gambar 5.2.

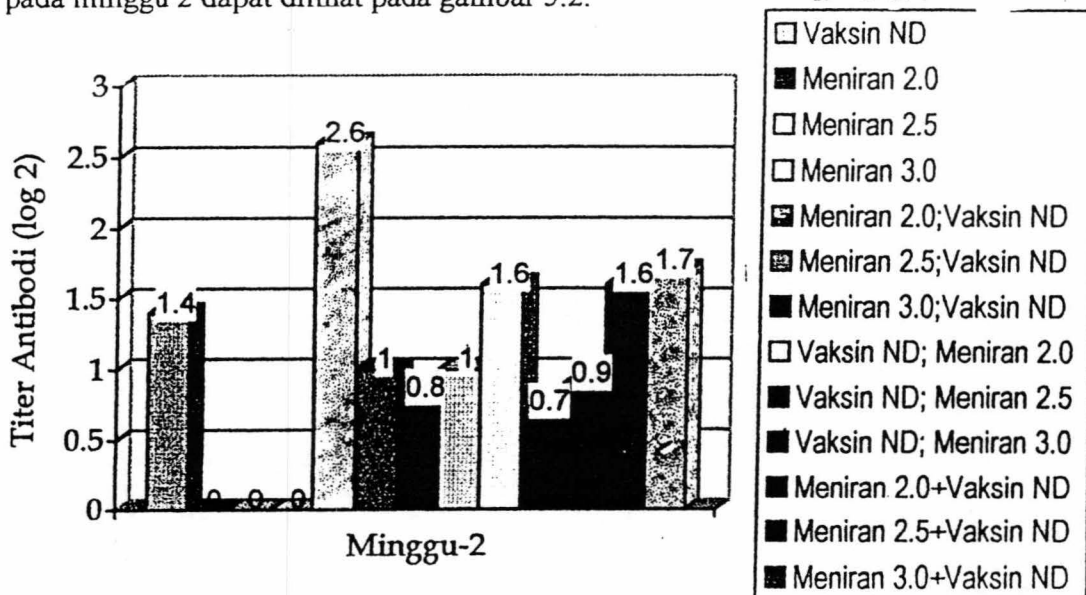


Diagram balok respons imun pada minggu 2 setelah perlakuan

Tabel 5.3 Tite antibodi HI virus Newcastle Disease pada minggu 3

Kelompok	Perlakuan	Dosis	X ± SD
I	P1	1 ml	1,5 <sup>e</sup> ± 1,51
	P2	2 ml	0 <sup>f</sup>
	P3	2,5 ml	0 <sup>f</sup>
	P4	3 ml	0 <sup>f</sup>
II	P5	2 ml	3,2 <sup>bc</sup> ± 1,03
	P6	2,5 ml	3,9 <sup>b</sup> ± 1,45
	P7	3 ml	3,9 <sup>b</sup> ± 1,37
III	P8	2 ml	1,0 <sup>bc</sup> ± 0,42
	P9	2,5 ml	1,6 <sup>b</sup> ± 0,77
	P10	3 ml	3,3 <sup>bc</sup> ± 1,16
IV	P11	2 ml	3,6 <sup>c</sup> ± 1,43
	P12	2,5 ml	1,4 <sup>cd</sup> ± 0,7
	P13	3 ml	2,5 <sup>de</sup> ± 2,01

a, b, c, d, e, dan f superskrip yang berbedaa pada kolom sama menunjukkan perbedaan nyat ( $p < 0,05$ ).

Rerata titer HI paling tinggi dari perhitungan statistik dicapai pada kelompok IV (P<sub>9</sub>)berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) denagn kelompok yang lain. Pada kelompok III tampak titer HI tinggi berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) dengan kelompok I (kontrol Newcastle Disease).Gambaran respons imun pada minggu 3 dapat dilihat gambar 5.3.

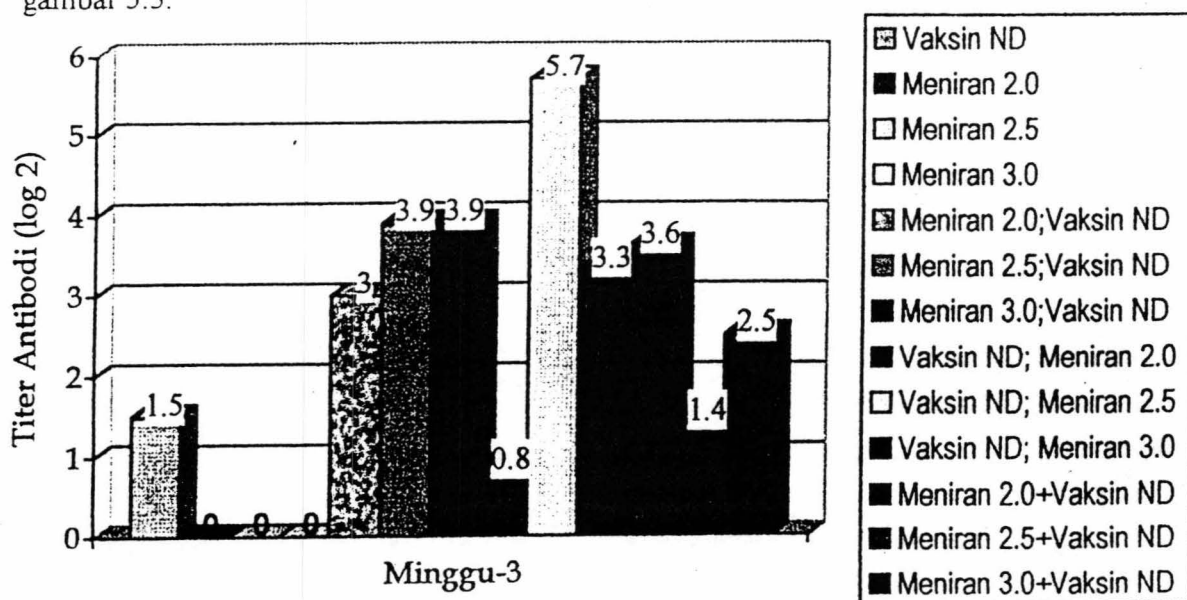


Diagram balok respons imun pada minggu 3 setelah perlakuan

Tabel 5.4 Titer anti bodi HI virus Newcastle Disease pada minggu 4

Kelompok	Perlakuan	Dosis	$\bar{x} \pm SD$
I	P1	1 ml	1,4 <sup>dc</sup> ± 0,97
	II	P2	2 ml
II	P3	2,5 ml	0 <sup>f</sup>
	P4	3 ml	0 <sup>f</sup>
	III	P5	2 ml
III	P6	2,5 ml	3,1 <sup>a</sup> ± 0,74
	P7	3 ml	3,3 <sup>ab</sup> ± 0,25
	IV	P8	2 ml
IV	P9	2,5 ml	2 <sup>cd</sup> ± 1,05
	P10	3 ml	2 <sup>bcd</sup> ± 0,82
	V	P11	2 ml
V	P12	2,5 ml	2,3 <sup>abc</sup> ± 1,16
	P13	3 ml	2,3 <sup>abc</sup> ± 0,95

a, b, c, d e, dan f superskrip yang berbeda pada kolom sama menunjukkan perbedaan nyata(p < 0,05).

Rerata titer HI tertinggi berdasar perhitungan statistik adalah didapat pada kelompok III (P6) berbeda nyata (p < 0,05) dengan kelompok yang lain. Kondisi demikian terjadi pula pada kelompok V (P11, P12, P13) berbeda nyata (p< 0,05) dengan kelompok I dari perhitungan statistik.

Gambar respon imun jelas dapat dilihat pada gambar 5.4

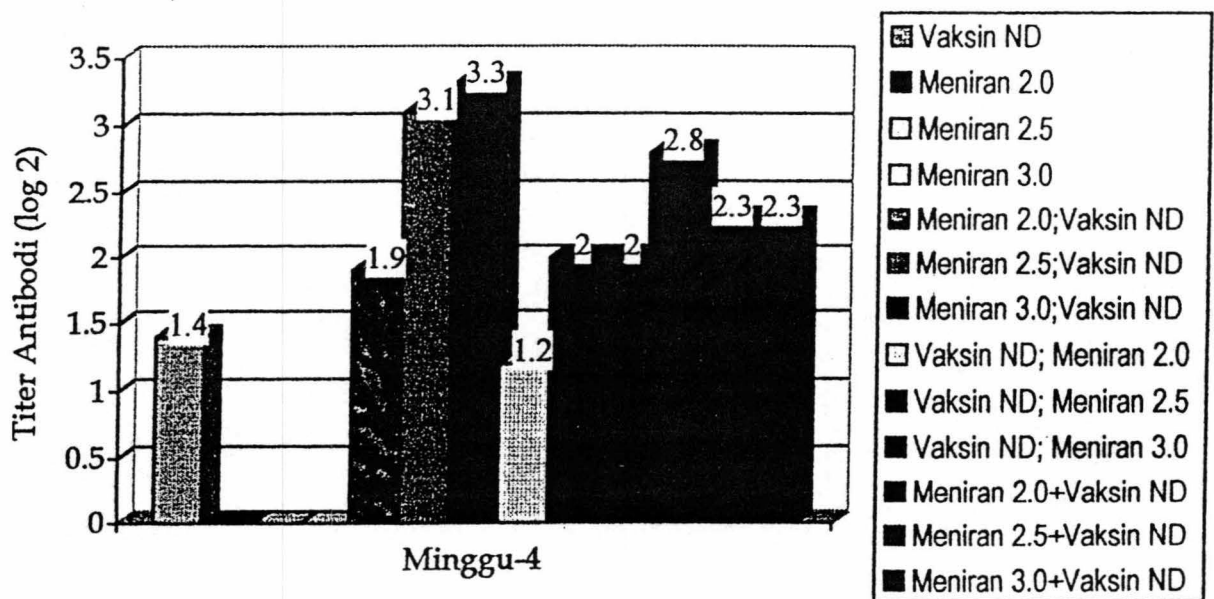
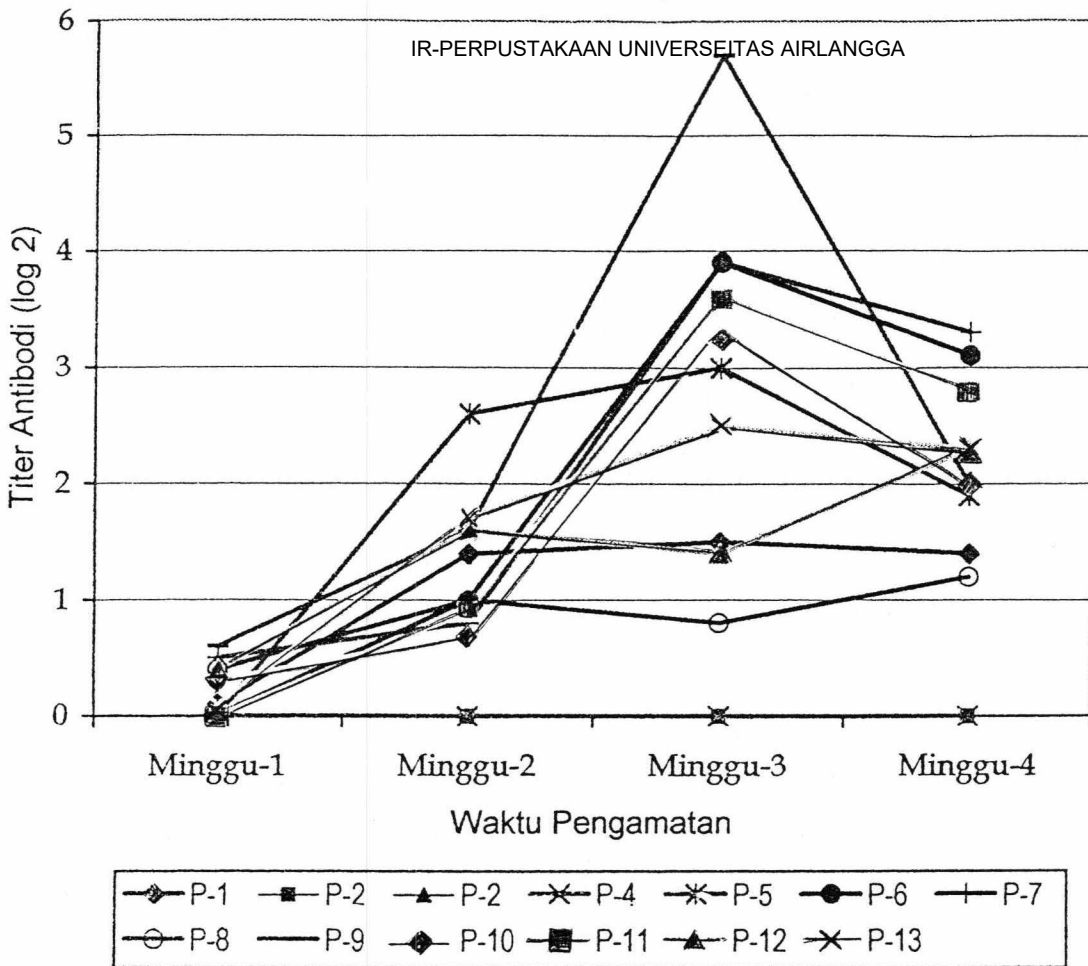


Diagram balok respons imun pada minggu 4 setelah perlakuan .



Grafik titer antibodi Newcastle Disease ayam yang diberi ekstrak air meniran (*Phyllanthus niruri* L) sebelum, sesudah dan bersamaan vaksin Newcastle Disease aktif pada minggu 1, 2, 3, dan 4.

### 5.3 Analisa Data

Respons imun ayam yang diberi ekstrak air *Phyllanthus niruri* L yang dianalisis dengan ANOVA (Analisis Varian), data diatas ditransformasikan dahulu ke  $\sqrt{X+0,5}$  (Hanafiah 1991).

Untuk menguji hipotesis, data diuji dengan cara analisis Statistik, ANOVA (Analisis Varians) satu arah, kemudian dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan's (5%) Sudjana, 1989) semua analisis dikerjakan dengan Program Statistik Komputer SPSS rel 10.0 for Window.

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Imunitas humoral adalah antibodi pada cairan tubuh yang di sekresi oleh limfosit B. Fungsi fisiologis antibodi antara lain : menetralkan dan eliminasi antigen yang masuk tubuh. Respon imun humoral, dimulai dari pengolahan dan presentasi antigen oleh APC baik oleh makrofag ataupun sel B. Kelebihan sel B adalah dapat menangkap antigen melalui Immunoglobulin (Ig) tanpa harus di proses lebih dulu oleh APC. Gambaran pokok dari respon imun humoral adalah produksi dari hela-hela antibodi yang diawali dari interaksi antara antigen dengan molekul Ig M dan Ig G yang diekspresikan di permukaan sel B, spesifik bagi masing-masing antigen tersebut. Rangsangan selanjutnya akan menyebabkan sel B tersebut berdeferensiasi menjadi sel plasma atau sel-sel yang mensekresi antibodi ke dalam sirkulasi, disamping itu juga membentuk sel B memori. (Tizart 1988; Goodman, 1991; Abbas, 1994).

Interaksi antigen yang dipresentasikan oleh APC dengan sel T helper (Th) yang merupakan tahap awal dari terjadinya respon imun seluler. Sel T yang diaktivasi tersebut akan mengeluarkan IL-2 yang diperlukan untuk proliferasi sel T sendiri, tetapi sel T juga memproduksi berbagai limfokin seperti *B-cell stimulatory faktor* (IL-4), *B-cell growth factor* (IL-6), *B-celldifferentiation factor* (B COF), serta interferon gamma, karena itu sel T tersebut dikenal dengan sel T inducer.

Keberhasilan vaksinasi tergantung dari respons imun tubuh dalam menanggapi vaksin tersebut.

Beberapa faktor yang mempengaruhi mekanisme respons imun tubuh adalah faktor genetik, umur individu, lingkungan, anatomis, fisiologis, jenis dan dosis antigen (Bellanti 1985 ; Roitt, 1990). Faktor genetik dalam imunologi sering dikaitkan dengan Major Histocompatibility Complex (MHC), karena MHC sangat menentukan kesanggupan individu memberi respons imun dan kesanggupan menampilkan antigen *histokompatibilitas* pada permukaan sel (Bellanti, 1985; Roitt, 1990).

Pada penelitian ini ingin diketahui apakah dengan pemberian ekstrak air *Phyllanthus Niruri* L per-oral dapat meningkatkan titer antibodi ayam yang divaksin Newcastle Disease.

Hasil respons imun dilihat dengan uji serologis HI, secara umum rerata titer HI ayam kontrol Newcastle Disease terlihat hasil yang baik yaitu terjadi peningkatan titer antibodi dan dicapai puncaknya pada minggu ke 3. Kondisi ini sesuai dengan penelitian Ronohardjo, 1980 bahwa kenaikan titer antibodi dicapai pada minggu ke 2 dan ke 3 pasca vaksinasi Newcastle Disease.

Sedangkan pada kelompok II (P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub>, P<sub>4</sub>) ini merupakan kelompok kontrol ayam di beri ekstrak air *Phyllanthus Niruri* L tanpa vaksinasi Newcastle Disease. Hasil titer HI mulai minggu 1, 2, 3, 4 semua titer HI adalah  $\log_2 = 0$ , hal ini terjadi dikarenakan tidak ada antigen yang masuk pada ayam tersebut sehingga tidak ada gertakan ke sel B untuk menghasilkan antibodi (Grafik 5.5).

Titer antibodi pada kelompok III baru tampak setelah minggu ke 2 (tabel 5.2) hal ini memang belum ada respons imun dari tubuh pada minggu ke 1 karena belum ada antigen yang masuk. Setelah minggu ke 2 nampak adanya titer HI (P5) secara statistik berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) dengan semua perlakuan.

Peningkatan tajam titer antibodi terjadi pada minggu ke 3 baik pada kontrol Newcastle Disease maupun perlakuan dengan pemberian ekstrak air *Phyllanthus Niruri* L khususnya pada kelompok perlakuan (P9). Perhitungan analisis varian P9 berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) dengan perlakuan yang lain.

Hal ini berarti ekstrak air *Phyllanthus Niruri* L mampu meningkatkan respons imun humoral ayam yang divaksin Newcastle Disease aktif. Ekstrak air *Phyllanthus Niruri* L mengandung senyawa yang kompleks, seperti Lectin yang berasal dari tanaman, dapat merangsang sel imuno kompeten dengan cara melakukan ikatan dengan molekul gula di permukaan sel imuno kompeten tersebut sehingga diperkirakan bahwa ekstrak air *Phyllanthus Niruri* L berikatan dengan molekul galaktosa dari reseptor oligosakarida dipermukaan sel makrofag sehingga mampu mengaktivasi sel makrofag tersebut (Ma'at, 1996).

Begitu pula kelompok III (P<sub>5</sub>, P<sub>6</sub>, P<sub>7</sub>) minggu ketiga menghasilkan titer antibodi yang berbeda nyata dengan kontrol P<sub>1</sub> ( $P < 0,05$ ).

Ekstrak air *Phyllanthus Niruri* L dapat pula meningkatkan proliferasi limfosit B. Gordon, 1994 berpendapat mekanisme ekstrak air *Phyllanthus Niruri* L dapat meningkatkan aktifitas proliferasi limfosit B kemungkinan melalui molekul CD 23 yang dikenal dengan nama *the C-type lectin Phyllanthus niruri* L berikatan dengan reseptor tersebut, dan seterusnya akan mengaktivasi limfosit B. Molekul





adhesi lain di permukaan sel B yang juga sebagai lektin adalah CD 22 yang dapat berikatan dengan oligosakarida sehingga kemungkinan ekstrak air *Phyllanthus Niruri* L berikatan dengan molekul CD 22 untuk mengaktifasi sel B. (Law, 1994), sedangkan menurut Ma'at, 1996 dalam disertainya diperkirakan bahwa ekstrak *Phyllanthus Niruri* L dapat merangsang sintesis IgM dan IgD pada sel B *Fase Mature* sehingga lebih banyak molekul IgD dan IgM dipresentasikan dipermukaan limfosit B yang apabila berikatan dengan antigen tertentu akan memperbesar terjadinya reaksi silang (*Cross Linking*), yang berarti pula meningkatkan signal intra seluler gamma mengaktifasi limfosit B.

Dikatakan pula pada penelitian Urbanial 1986: Klein, 1990 dalam desertasi Ma'at, 1996 bahwa berbagai komponen *Phyllanthus Niruri* L yang berbeda akan merangsang limfosit T melalui reseptor yang berbeda, sehingga terjadi berbagai macam proses aktifasi yang berbeda, seperti : aktifasi gen-gen proliferasi, hambatan opoptosis dan aktivasi gen-gen sekresi limfokin.

Terhadap limfosit B, IL-4 menstimulasi pertumbuhan limfosit B yaitu merangsang populasi limfosit B dalam fase  $G_0$  atau *resting* untuk memasuki fase  $G_1$  dan meningkatkan ekspresi molekul MHC kelas II, berarti terjadi pula peningkatan pembentukan kompleks MHC kelas II; peptida dan peningkatan ikatan dengan kompleks TCR;  $CD_3$  dari limfosit T helper, merangsang sintesis antibodi sehingga terjadi peningkatan produksi antibodi kelas IgM dan Ig G.

Pemberian ekstrak air *Phyllanthus Niruri* L dengan dosis 2,5 ml menunjukkan titer antibodi yang paling tinggi, hal ini terbukti bahwa pada kelompok III ( $P_6$ ) minggu ke 4 dan kelompok IV ( $P_9$ ) minggu ke 3 berbeda nyata

( $p < 0,05$ ) dengan semua perlakuan dan juga terhadap kontrol Newcastle Disease. (tabel 5.3 dan tabel 5.4).

Didalam respon antibodi primer (limfosit B dalam fase istirahat/resting) fase awal stimulasi diperlukan antigen yang merangsang sel makrofag untuk meningkatkan fungsi sebagai sel penyaji (APC). APC akan memfagositosis antigen, menyajikan bersama molekul MHC kepada limfosit T helper, menyebabkan, limfosit T helper teraktivasi sehingga dapat merangsang limfosit B guna proliferasi dan diferensiasi menjadi sel plasma (memproduksi antibodi) dan sebagian lagi menjadi sel memori, menurut Pleisman 1994 dalam penelitian Ma'at 1996.

Sedangkan didalam respon antibodi sekunder klon limfosit B memori bersifat antigen spesifik yang sudah mampu sepenuhnya berfungsi sebagai sel APC.

Bila dilihat pada tabel 5.3 dengan uji analisis Varian  $P_7$ ,  $P_{10}$  dengan dosis 3 ml ekstrak air *Phyllanthus niruri* L menunjukkan rerata titer HI lebih rendah dibanding  $P_9$ .

Hal ini sesuai dengan teori toleransi imunologik bahwa dosis tinggi meningkatkan respons imun secara sebanding, tetapi dosis tertentu akan terjadi depresan (penurunan respon imun) (Bellanti, 1985 ; Subowo,1993).

Secara umum dosis 2 ml pada semua perlakuan dibanding kontrol Newcastle Disease dengan uji statistik menunjukkan rerata titer HI tidak beda nyata ( $p > 0,05$ ) berarti dosis 2 ml belum mampu mengaktivasi sel imuno kompeten untuk memproduksi antibodi.

Terjadi penurunan titer antibodi pada minggu ke 4 baik kontrol Newcastle Disease maupun perlakuan ekstrak air *Phyllanthus Niruri* L ini disebabkan karena setelah antibodi terbentuk akan terjadi netralisasi, antibodi yang mengalami katabolisme lebih banyak dari pada yang diproduksi karena antigen sudah mulai habis (Subowo, 1993).

Peningkatan titer antibodi karena pemberian ekstrak air *Phyllanthus Niruri* L merupakan aktivitas imuno stimulasi dari bahan tersebut yang ditandai dengan kemampuan dari ekstrak *Phyllanthus Niruri* L meningkatkan c-GMP didalam sel yang berperan dalam kekebalan (Tizard, 1988) Rerata titer HI tertinggi secara statistik dari penelitian ini dicapai oleh P<sub>9</sub> dan pada perlakuan yang sama secara imunologik dicapai paling tinggi pada minggu ke 3.

## BAB 7

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### Kesimpulan

1. Tanaman *Phyllanthus niruri* L, meningkatkan antibodi Newcastle Disease pada ayam yang di vaksin aktif Newcastle Disease, rerata titer HI perlakuan lebih tinggi dari pada titer HI kontrol Newcastle Disease pada minggu ke; 2,3,4
2. Waktu pemberian ekstrak air *Phyllanthus niruri* L (Meniran) berpengaruh terhadap timbulnya respon imun ayam yang divaksin Newcastle Disease, tampak dengan tingginya Rerata titer HI pada minggu ke 3, pada perlakuan (P<sub>9</sub>)
3. Dosis pemberian ekstrak air *Phyllanthus niruri* L (Meniran) berpengaruh terhadap respons imun pada kelompok ayam yang divaksin Newcastle Disease, dengan Rerata titer HI paling tinggi pada minggu ke 3 (P<sub>9</sub>) dimana ayam setelah divaksin aktif Newcastle Disease sehari kemudian diberi ekstrak air *Phyllanthus niruri* L 2,5 ml.

#### Saran

1. Perlu dilakukan boster vaksinasi pada minggu ke 4 dengan pemberian ekstrak air *Phyllanthus niruri* L setelah vaksinasi Newcastle Disease.
2. Penelitian tentang pembuatan ekstrak meniran dengan cara lain terhadap daya imunostimulan pada ayam yang di vaksin Newcastle Disease.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbas. AK. Lichtman AH, Pober JS., 1994 Cellular and Molecular. Immunology. 2<sup>nd</sup>ed. Philadelphia, WB. Saunders Company.
- Alexander., 1991. Newcastle Disease and Other Paramyxo Virus Infections Disease Of Poultry, Iowa States University Press. Ames. Iowa, USA. 496-51.
- Allan, WH., JE. Lan Caster And B Toth. 1978. Newcastle Disease Vaccines Their Production and Use. FAO Rome Pp 1 – 19, 50 – 79.
- Anonimous 1988. Aspek-Aspek Imunologi Dari Penyakit Ayam Yang Sering Ditemukan Pada Peternakan, Pada Ayam Ras Di Indonesia. Tehnical Service Departement Eurindo Combined. Jakarta.
- Arimbi 2000. Respons Imun Pada Ayam Petelur Setelah Vaksinasi Newcastle Disease Pada Keadaan Stress Karena Pengaruh Bising. Universitas Airlangga Surabaya.
- Baratawidjaya KG, 1996. Imunologi Dasar. Edisi Ke Tiga. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia Jakarta.
- Bellanti, JA, 1985. Imunologi III Terjemahan Whab AS. Gajah Mada Universitas Press.
- Buxton Dan Fraser, 1977. Animal Mikrobiology Vol. 2 Black Well Scientific Publication Oxford London Edenburg Melbourne Pp. 522 – 527
- Qian Cutrone, J. 1995, Nirurisode, a New HIV REV / RRE Binding Inhibitor From *Phhyllanthus Niruri* L. Jurnal Nat. Prod. 59. 196 – 199.

- Darmawan, 1995. Pengaruh Jenis Vaksin, Cara Aplikasi Jenis Dan Ayam Terhadap Tanggap Kebal Vaksinasi Newcastle Diseases Program Pasca Sarjana Unair.
- Ernawati R. 1997. Efektifitas Vaksin Newcastle Disease In Aktif Buatan Lokal Dalam Emulsi Ganda Untuk Pencegahan Penyakit Pada Ayam. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga.
- Fenner F.J., Gibb E.I.P., Murphy F.A., Roff R., Studert M.J., White D.O. 1993. Veterinary Virologi, Academic Press, Inc. Penerjemah Putra H. Dan Suaryana. IKIP Semarang Press.
- Goodman JW. 1991. The Immune Respon. In Basic Human Immunology, First Edition. Edited By; Stites D.P And Terr A. Preutice – Hall International Inc. Pp. 34 – 43.
- Gordon, R.F. And F.T.W. Jordan. 1982. Newcastle Disease. Poltry Disease 2 Th. Ed The English Language Book Society And Bailiere Tindale.
- Gordon J., 1994. B – Cell Signaling Via The C – Type Lectin CD 23 And CD 72 Immunology. To Day Vol 15 No 9. : 411 – 417.
- Grange, J. M, 1982. Lymphocyte and The Immune Reponse An Introduction to Immunity and Infection. Airlangga Universitas Press. Pp 7 – 17.
- Hanson. 1987. Newcastle Disease. In Disease Of Ponetry Sixth Edition. Edited By; Hofstad M.S.Calnek B.W., Helmbold C.F., Reid W.M, And Yoder, Jr H.W. Oxford And I B H Publishing G O. New Delhi Bombay Calcuta.
- Hanafiah KA. 1991 Rancangan Percobaan Teori Dan Apllikasi. Rajawali Press Jakarta

- Kusumawati, I. 1997. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun *Graptophyllum Pictum* (L). Griff. Terhadap Fungsi Fagositosis Serta Pembentukan Immunoglobulin M Dan TNF.  $\alpha$  Pada Mencit. Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Ma'at, S. 1996. *Phyllanthus Niruri* L Sebagai Immunostimulater Pada Mencit. Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Powel P.C. 1987. Macrophase And Other Non Lymphoid Cells Immunology To Immunity. In Avian Immunology, Basic And Practice. Editor Bay Toivanen A. And Toivanen P. CRC Press Inc. Boca Raton, Florida.
- Rakhmawati, Dyatmiko, W., Retnowati, E., 1994. Kreatinim dan Urea Pengaruh Infus Herba Meniran (*Phyllanthus Niruri* L) Pada Serum Darah Terhadap Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Simposium Penelitian Bahan Obat Alami VIII, Muhtamar Perhippa, VI, Bogor 24 – 25 Nop.
- Ronohardjo, P ; SPJ. Simandjuntak Dan B.P. A Radjaguguk. 1978. Pengujian Vaksin Newcastle Disease Yang Beredar Di Pasaran. Bull. LPPH Bogor 15 : 18 – 21.
- Ronohardjo, P., 1980. Beberapa Masalah Yang Mennyangkut Pengendalian Penyakit Tetelo (Newcastle Disease) Di Indonesia, Dalam Risalah (Proceedings) Seminar Penyakit Reproduksi Dan Unggas Di Tugu, Bogor, 13 – 15 Maret.
- Ronohardjo,P., 1987. Terobosan Baru Bio Teknologi Pertenakan : Vaksin Newcastle Disease Baru Berhasil Ditemukan, Majalah Komunikasi Informasi Profesi Dan Koperasi 25 : 13 – 14

- Roitt, I.M., 1990. Pokok-Pokok Kekebalan, Cetakan ke dua PT. Gramedia Pustaka Utama, Hal. 23 – 24.
- Russel, P.H. and Edington., 1985. Veterinary Viruses The Burlington Press, Cambridge, Pp. 151 – 160.
- Sudjana., 1989. Metode Penelitian Edisi Ke 5 Penerbit Tarsito Bandung.
- Subowo, 1993. Imunobiolog. Cetakan Ke Sepuluh Penerbit Angkasa, Bandung. Hal. 35 –205.
- Spradbrow P.P. 1987. Newcastle Disease And Over View. In Newcastle Disease In Poentry A New Food Pellet Vaccine. ACIAR Canberra. 12-18.
- Scoll PR Geha Rs. 1994. MHS Class II Signalling In B-Cell Activation Immunology To Day.. Vol. No 9. 1994; 418 – 422
- Tizard, I. R. 1987 Pengantar Immunologi Viteriner Edisi Ke 2 Penerbit Airlangga Universitas Press.
- Tizard, I.R. 1988. Pengantar Imunologi Viteriner. Airlangga University Press, Surabaya, 7 – 111.
- Wijayakusuma, H. 1992. Tanaman Berkasiat Obat Di Indonesia. Penerbit Pustaka Kartini.
- Wijaya, NS, 1988 Levamisol Dan Khlorotetrasiklin Terhadap Titer HI Pada Anak Ayam Yang Divaksin Newcastle Disease. Program Pasca Sarjana Universitas Gajah Mada Yogyakarta.



Lampiran 1. Data Lengkap Titer Antibodi Ayam Akibat Vaksinasi ND dan Pemberian Meniran Selama Penelitian di Surabaya

Perlakuan 1 (Kontrol ND)

n	Minggu-1		Minggu-2		Minggu-3		Minggu-4	
	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans
1	0	.707	1	1.225	2	1.581	1	1.225
2	0	.707	2	1.581	0	.707	2	1.581
3	0	.707	1	1.225	5	2.345	2	1.581
4	0	.707	1	1.225	1	1.225	3	1.871
5	0	.707	1	1.225	2	1.581	2	1.581
6	0	.707	4	2.121	1	1.225	1	1.225
7	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
8	1	1.225	0	.707	0	.707	0	.707
9	0	.707	2	1.581	2	1.581	1	1.225
10	0	.707	2	1.581	2	1.581	2	1.581
Sum	1	7.588	14	13.178	15	13.240	14	13.284
Mean	.10	.75880	1.40	1.31780	1.50	1.32400	1.40	1.32840
SD	.32	.16381	1.17	.42604	1.51	.52369	.97	.38787

Perlakuan 2 (Meniran 2,0 ml)

n	Minggu-1		Minggu-2		Minggu-3		Minggu-4	
	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans
1	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
2	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
3	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
4	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
5	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
6	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
7	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
8	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
9	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
10	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
Sum	0	7.070	0	7.070	0	7.070	0	7.070
Mean	.00	.70700	.00	.70700	.00	.70700	.00	.70700
SD	.00	.00000	.00	.00000	.00	.00000	.00	.00000

## Perlakuan 3 (Meniran 2,5 ml)

n	Minggu-1		Minggu-2		Minggu-3		Minggu-4	
	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans
	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
Sum	0	7.070	0	7.070	0	7.070	0	7.070
Mean	.00	.70700	.00	.70700	.00	.70700	.00	.70700
SD	.00	.00000	.00	.00000	.00	.00000	.00	.00000

## Perlakuan 4 (Meniran 3.0 ml)

n	Minggu-1		Minggu-2		Minggu-3		Minggu-4	
	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans
1	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
2	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
3	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
4	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
5	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
6	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
7	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
8	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
9	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
10	0	.707	0	.707	0	.707	0	.707
Sum	0	7.070	0	7.070	0	7.070	0	7.070
Mean	.00	.70700	.00	.70700	.00	.70700	.00	.70700
SD	.00	.00000	.00	.00000	.00	.00000	.00	.00000

## Perlakuan 5 (Meniran 2,0; kemudian Vaksin ND)

n	Minggu-1		Minggu-2		Minggu-3		Minggu-4	
	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans
1	0	.707	3	1.871	4	2.121	2	1.581
2	0	.707	3	1.871	4	2.121	2	1.581
3	0	.707	2	1.581	2	1.581	1	1.225
4	0	.707	2	1.581	3	1.871	1	1.225
5	0	.707	3	1.871	5	2.345	2	1.581
6	0	.707	4	2.121	2	1.581	3	1.871
7	0	.707	4	2.121	4	2.121	4	2.121
8	0	.707	1	1.225	2	1.581	2	1.581
9	0	.707	2	1.581	3	1.871	1	1.225
10	0	.707	2	1.581	3	1.871	1	1.225
Sum	0	7.070	26	17.404	32	19.064	19	15.216
Mean	.00	.70700	2.60	1.74040	3.20	1.90640	1.90	1.52160
SD	.00	.00000	.97	.28051	1.03	.26914	.99	.30684

## Perlakuan 6 (Meniran 2,5; kemudian Vaksin ND)

n	Minggu-1		Minggu-2		Minggu-3		Minggu-4	
	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans
1	0	.707	1	1.225	2	1.581	4	2.121
2	0	.707	1	1.225	3	1.871	3	1.871
3	0	.707	1	1.225	5	2.345	3	1.871
4	0	.707	3	1.871	5	2.345	3	1.871
5	0	.707	0	.707	6	2.549	2	1.581
6	0	.707	1	1.225	3	1.871	4	2.121
7	0	.707	2	1.581	6	2.549	4	2.121
8	0	.707	0	.707	3	1.871	3	1.871
9	0	.707	0	.707	3	1.871	3	1.871
10	0	.707	1	1.225	3	1.871	2	1.581
Sum	0	7.070	10	11.698	39	20.724	31	18.880
Mean	.00	.70700	1.00	1.16980	3.90	2.07240	3.10	1.88800
SD	.00	.00000	.94	.38276	1.45	.34111	.74	.19799

Perlakuan 7 (Meniran 3,0; kemudian Vaksin ND)

n	Minggu-1		Minggu-2		Minggu-3		Minggu-4	
	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans
1	0	.707	0	.707	5	2.345	4	2.121
2	1	1.225	1	1.225	2	1.581	3	.871
3	2	1.581	0	.707	4	2.121	5	2.345
4	0	.707	2	1.581	5	2.345	4	2.121
5	2	1.581	0	.707	2	1.581	4	2.121
6	0	.707	0	.707	5	2.345	3	1.871
7	0	.707	1	1.225	4	2.121	3	1.871
8	0	.707	2	1.581	6	2.549	2	1.581
9	0	.707	0	.707	3	1.871	2	1.581
10	0	.707	2	1.581	3	1.871	3	1.871
Sum	5	9.336	8	10.728	39	20.730	33	18.354
Mean	.50	.93360	.80	1.07280	3.90	2.07300	3.30	1.83540
SD	.85	.37751	.92	.40691	1.37	.33646	.95	.41736

Perlakuan 8 (Vaksin ND, kemudian Meniran 2,0)

n	Minggu-1		Minggu-2		Minggu-3		Minggu-4	
	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans
1	0	.707	1	1.225	1	1.225	2	1.581
2	2	1.581	1	1.225	1	1.225	1	1.225
3	0	.707	2	1.581	1	1.225	0	.707
4	1	1.225	0	.707	1	1.225	2	1.581
5	0	.707	1	1.225	1	1.225	2	1.581
6	0	.707	2	1.581	1	1.225	1	1.225
7	1	1.225	0	.707	0	.707	1	1.225
8	0	.707	1	1.225	0	.707	2	1.581
9	0	.707	1	1.225	1	1.225	1	1.225
10	0	.707	1	1.225	1	1.225	0	.707
Sum	4	8.980	10	11.926	8	11.214	12	12.638
Mean	.40	.89800	1.00	1.19260	.80	1.12140	1.20	1.26380
SD	.70	.32244	.67	.29132	.42	.21841	.79	.33806

## Perlakuan 9 (Vaksin ND, kemudian Meniran 2,5)

n	Minggu-1		Minggu-2		Minggu-3		Minggu-4	
	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans
1	1	1.225	2	1.581	6	2.549	1	1.225
2	0	.707	1	1.225	6	2.549	3	1.871
3	1	1.225	2	1.581	5	2.345	4	2.121
4	1	1.225	1	1.225	8	2.915	2	1.581
5	0	.707	3	1.871	7	2.739	1	1.225
6	0	.707	2	1.581	7	2.739	1	1.225
7	1	1.225	1	1.225	7	2.739	2	1.581
8	0	.707	1	1.225	5	2.345	3	1.871
9	1	1.225	2	1.581	4	2.121	2	1.581
10	1	1.225	1	1.225	2	1.581	1	1.225
Sum	6	10.178	16	14.320	57	24.622	20	15.506
Mean	.60	1.01780	1.60	1.43200	5.70	2.46220	2.00	1.55060
SD	.52	.26749	.70	.23470	1.77	.39021	1.05	.32617

## Perlakuan 10 (Vaksin ND, kemudian Meniran 3,0)

n	Minggu-1		Minggu-2		Minggu-3		Minggu-4	
	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans
1	0	.707	1	1.225	4	2.121	2	1.581
2	0	.707	1	1.225	4	1.121	2	1.581
3	0	.707	1	1.225	5	2.345	1	1.225
4	1	1.225	1	1.225	2	1.581	1	1.225
5	0	.707	1	1.225	4	2.121	3	1.871
6	1	1.225	1	1.225	2	1.581	2	1.581
7	0	.707	0	.707	2	1.581	1	1.225
8	0	.707	0	.707	4	2.121	2	1.581
9	0	.707	0	.707	4	2.121	3	1.871
10	1	1.225	1	1.225	2	1.581	3	1.871
Sum	3	8.624	7	10.696	33	18.274	20	15.612
Mean	.30	.86240	.70	1.06960	3.30	1.82740	2.00	1.56120
SD	.48	.25022	.48	.25022	1.16	.38795	.82	.26428

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

## Perlakuan 11 (Meniran 2,0 dan Vaksin ND)

n	Minggu-1		Minggu-2		Minggu-3		Minggu-4	
	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans
1	0	.707	0	.707	4	2.121	3	1.871
2	0	.707	0	.707	2	1.581	5	2.345
3	0	.707	1	1.225	3	1.871	3	1.871
4	0	.707	2	1.581	4	2.121	2	1.581
5	0	.707	2	1.581	5	2.345	4	2.121
6	0	.707	0	.707	5	2.345	2	1.581
7	0	.707	0	.707	2	1.581	2	1.581
8	0	.707	1	1.225	2	1.581	2	1.581
9	0	.707	1	1.225	6	2.549	2	1.581
10	0	.707	2	1.581	3	1.871	3	1.871
Sum	0	7.070	9	11.246	36	19.966	28	17.984
Mean	.00	.70700	.90	1.12460	3.60	1.99660	2.80	1.79840
SD	.00	.000000	.88	.38769	1.43	.35412	1.03	.26977

## Perlakuan 12 (Meniran 2,5 dan Vaksin ND)

n	Minggu-1		Minggu-2		Minggu-3		Minggu-4	
	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans
1	1	1.225	1	1.225	2	1.581	4	2.121
2	0	.707	3	1.871	3	1.871	1	1.225
3	0	.707	2	1.581	1	1.225	1	1.225
4	1	1.225	1	1.225	1	1.225	2	1.581
5	0	.707	2	1.581	1	1.225	4	2.121
6	0	.707	1	1.225	1	1.225	3	1.871
7	0	.707	1	1.225	1	1.225	2	1.581
8	1	1.225	0	.707	2	1.581	1	1.225
9	1	1.225	2	1.581	1	1.225	2	1.581
10	0	.707	3	1.871	1	1.225	3	1.871
Sum	4	9.142	16	14.092	14	13.608	23	16.402
Mean	.40	.91420	1.60	1.40920	1.40	1.36080	2.30	1.64020
SD	.52	.26749	.97	.35651	.70	.23247	1.16	.34906

## Perlakuan 13 (Meniran 3,0 dan Vaksin ND)

n	Minggu-1		Minggu-2		Minggu-3		Minggu-4	
	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans	Sbl Trans	Stl Trans
1	0	.707	1	1.225	4	2.121	2	1.581
2	0	.707	3	1.871	7	2.739	3	1.871
3	0	.707	1	1.225	3	1.871	2	1.581
4	0	.707	2	1.581	3	1.871	1	1.225
5	0	.707	4	2.121	2	1.581	2	1.581
6	0	.707	1	1.225	1	1.225	3	1.871
7	0	.707	1	1.225	1	1.225	4	2.121
8	0	.707	2	1.581	0	.707	3	1.871
9	1	1.225	1	1.225	1	1.225	1	1.225
10	0	.707	1	1.225	3	1.871	2	1.581
Sum	1	7.588	17	14.504	25	16.436	23	16.508
Mean	.10	.75880	1.70	1.45040	2.50	1.64360	2.30	1.65080
SD	.32	.16381	1.06	.32754	2.01	.57636	.95	.28842

Oneway, Analyzed by SPSS rel 10.0 for Windows

**ANOVA**

Minggu-1 Setelah Transformasi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.471	12	.123	3.150	.001
Within Groups	4.553	117	3.891E-02		
Total	6.024	129			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

**Minggu-1 Setelah Transformasi**

Duncan<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
P-2	10	.70700		
P-3	10	.70700		
P-4	10	.70700		
P-5	10	.70700		
P-6	10	.70700		
P-11	10	.70700		
P-1	10	.75880	.75880	
P-13	10	.75880	.75880	
P-10	10	.86240	.86240	.86240
P8	10	.89800	.89800	.89800
P-12	10	.91420	.91420	.91420
P-7	10		.93360	.93360
P-9	10			1.01780
Sig.		.051	.085	.120

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10,000.



Oneway. Analyzed by SPSS rel 10,0 for Windows

**ANOVA**

Minggu-2 Setelah Transformasi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12.160	12	1.013	11.344	.000
Within Groups	10.451	117	8.933E-02		
Total	22.611	129			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

**Minggu-2 Setelah Transformasi**

Duncan<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
P-2	10	.70700				
P-3	10	.70700				
P-4	10	.70700				
P-10	10		1.06960			
P-7	10		1.07280			
P-11	10		1.12460	1.12460		
P-6	10		1.16980	1.16980	1.16980	
P8	10		1.19260	1.19260	1.19260	
P-1	10		1.31780	1.31780	1.31780	
P-12	10			1.40920	1.40920	
P-9	10				1.43200	
P-13	10				1.45040	
P-5	10					1.74040
Sig.		1.000	.108	.059	.067	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

Oneway, Analyzed by SPSS rel 10.0 for Windows

ANOVA

Minggu-3 Setelah Transformasi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	41.888	12	3.491	31.549	.000
Within Groups	12.945	117	.111		
Total	54.833	129			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Minggu-3 Setelah Transformasi

Duncan<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05					
		1	2	3	4	5	6
P-2	10	.70700					
P-3	10	.70700					
P-4	10	.70700					
P8	10		1.12140				
P-1	10		1.32400				
P-12	10		1.36080	1.36080			
P-13	10			1.64360	1.64360		
P-10	10				1.82740	1.82740	
P-5	10				1.90640	1.90640	
P-11	10					1.99660	
P-6	10					2.07240	
P-7	10					2.07300	
P-9	10						2.46220
Sig.		1.000	.132	.060	.097	.146	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

Oneway, Analyzed by SPSS rel 10.0 for Windows

ANOVA

Minggu-4 Setelah Transformasi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22.348	12	1.862	23.590	.000
Within Groups	9.237	117	7.895E-02		
Total	31.585	129			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Minggu-4 Setelah Transformasi

Duncan<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05					
		1	2	3	4	5	6
P-2	10	.70700					
P-3	10	.70700					
P-4	10	.70700					
P8	10		1.26380				
P-1	10		1.32840	1.32840			
P-5	10		1.52160	1.52160	1.52160		
P-9	10			1.55060	1.55060		
P-10	10			1.56120	1.56120	1.56120	
P-12	10				1.64020	1.64020	1.64020
P-13	10				1.65080	1.65080	1.65080
P-11	10				1.79840	1.79840	1.79840
P-7	10					1.83540	1.83540
P-6	10						1.88800
Sig.		1.000	.054	.093	.055	.052	.081

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000