

TESIS

**PENGARUH JENIS VAKSIN, JENIS MEDIA PROPAGASI VIRUS
DAN CARA APLIKASI TERHADAP TANGGAP KEBAL
VAKSINASI EGG DROP SYNDROME 1976 (EDS '76) INAKTIF**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK



HERAWATI SETYANINGSIH

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1999**

**PENGARUH JENIS VAKSIN, JENIS MEDIA PROPAGASI VIRUS
DAN CARA APLIKASI TERHADAP TANGGAP KEBAL
VAKSINASI EGG DROP SYNDROME 1976 (EDS '76) INAKTIF**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK

TESIS

Untuk memperoleh gelar Magister
dalam Program Studi Kedokteran Dasar
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Oleh

**HERAWATI SETYANINGSIH
NIM. 09962228 M**

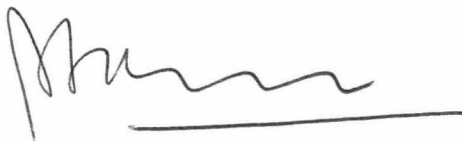
**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1999**

Lembar Pengesahan

TESIS INI TELAH DISETUJUI

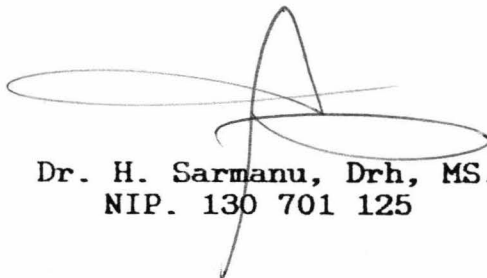
TANGGAL 8 September 1999

Oleh
Pembimbing Ketua



**Prof. Atasiati Idajadi S, dr, DSMK.
NIP. 130 128 215**

Pembimbing



**Dr. H. Sarmanu, Drh, MS.
NIP. 130 701 125**

Mengetahui

**Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Program Pascasarjana Universitas Airlangga**



**Dr. Soetjipto, MS, PhD.
NIP. 130 350 713**

Telah diuji pada
Tanggal 13 Agustus 1999

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof. I.G.B. Amitaba, Drh.

Anggota : 1. Prof Atasiati Idajadi S, dr, DSMK.
2. Syamsul Bahri Siregar, MSc Drh.
3. Dr. H. Sarmanu, Drh, MS.
4. Garry Cories De Vries, MS, MSc, Drh.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur kehadiran ILLAHI ROBBI atas segala rahmat, karunia dan perkenanNya sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

Perkanankan pula saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

Mantan Rektor Universitas Airlangga, Prof. H. Bambang Rahino Setokoesoemo, dr serta Rektor Universitas Airlangga Prof. H. Soedarto, dr, DTMH & H, PhD yang menjabat saat ini atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan program Magister

Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga yang dijabat oleh Prof. Dr. Soedijono, dr. atas kesempatan untuk menjadi mahasiswa Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga

Pembimbing utama Prof. Atasiati Idayati S, dr, SpMK dan pembimbing Dr. H. Sarmanu, Drh, MS yang telah memberikan dorongan, bimbingan serta saran dalam menyelesaikan tesis sebagai persyaratan menyelesaikan pendidikan Pascasarjana

Mantan Kepala Pusat Veterinaria Farma Dr. Thomas Adat Peranginangin Drh, MS, mantan Kepala Pusat Veterinaria Farma Dr. Budi Tri Akoso, MSc, Drh serta Kepala Pusat Veterinaria Farma Drh. Syamsul Bahri Siregar MSc yang menjabat saat ini, atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Pascasarjana

Staf Pusat Veterinaria Farma terutama yang bekerja dibidang laboratorium Penyakit Mulut dan Kuku serta semua pihak yang telah

membantu saya baik berupa moril, materiil maupun tenaga dalam penyelesaian tesis ini

Semoga Tuhan Yang Maha Esa membalas amal dan budi baik kepada semua pihak yang telah membantu mewujudkan harapan saya dalam menyelesaikan pendidikan Pascasarjana.

RINGKASAN

Penelitian ini mempelajari pengaruh jenis vaksin EDS'76 inaktif tunggal dan ganda (mengandung antigen EDS'76, ND, IBD dan IB); pengaruh jenis media propagasi virus (alantois dan tissue culture) dan cara aplikasi (intra muskuler dan sub kutan) terhadap tanggap kebal pasca vaksinasi.

Hewan percobaan yang digunakan adalah ayam petelur jenis Lohmann Brown dari Jerman Barat, umur 15 minggu yang sebelum perlakuan sudah divaksinasi dengan vaksin ND, IBD dan IB. Masing-masing vaksin perlakuan (4) , vaksin pembanding (3), dan kontrol (1) menggunakan lima ekor ayam sehingga keseluruhannya 80 ekor Ayam. observasi dilakukan selama 28 hari pasca vaksinasi dan diukur titer antibodi nya dengan uji HI untuk antigen EDS'76 dan antigen ND, sedangkan untuk antigen IBD dan IB menggunakan metoda ELISA.

Metoda penelitian dilakukan dengan percobaan sungguhan (*true experiment*). Untuk mengetahui pengaruh variabel bebas (Vaksin EDS'76 inaktif) terhadap variabel tergantung (titer antibodi dalam serum ayam), digunakan disain faktorial. Data yang dianalisis diperoleh dari pengukuran titer antibodi.

Teknik analisis yang digunakan untuk menguji hipotesis adalah Analisis Variansi. Apabila ada perbedaan yang signifikan dari beberapa faktor, dilanjutkan dengan uji t. Hasil uji statistika bermakna apabila diperoleh harga $p \leq 0,05$.

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa jenis vaksin (tunggal atau ganda); Jenis media propagasi virus (alantois atau tissue culture); cara aplikasi (intra muskuler atau sub kutan) tidak

menunjukkan perbedaan terhadap pembentukan antibodi pasca vaksinasi, sehingga hasil tersebut menerima hipotesis bahwa tidak ada pengaruh jenis vaksin tunggal dan ganda terhadap pembentukan antibodi pasca vaksinasi ($p < 0,05$) dan menolak hipotesis bahwa ada pengaruh antara media propagasi virus alantois dan biakan tissue culture, juga antara aplikasi intra muskuler dan sub kutan ($p > 0,05$). Disamping itu terbukti bahwa tidak ada interaksi antar kombinasi variabel diatas ($p > 0,05$), juga tidak ditemui perubahan telur yang abnormal secara fisik.

ABSTRACT

Key Words : EDS'76 vaccine
Vaccination
Immune response

The objective of this research is to study the influence of single (EDS'76) and combined (EDS'76, ND, IB and IB) oil adjuvant inactivated vaccines ; the influence of virus propagation medium (alantoic fluid and tissue culture); the influence of vaccine application (intramuscularly and subcutaneously) against the immune response development post vaccination.

Layer chickens of 15 weeks of age were used in this experiment and had been vaccinated with ND, IB and IB vaccines. Chickens were divided into eight groups. Four groups of tested vaccines, three groups of commercial vaccines and one group of control vaccine. Each group contains of five chickens and the total were 80 chickens. After 28 days post vaccination, the collected blood serum of all groups were tested for antibody titer by HI method (EDS'76 and ND) and ELISA (IB and IB).

Research methode was true experiment. Information regarding the influence of independent variabels (inactivated EDS'76 oil adjuvant vaccine) on dependent variabel (antibody titer in blood serum) were collected using factorial design. Data for analysis were the titer of antibody.

Technical analysis to conform the hypothesis was analysis of variance. As there were significant defferences in some factors, the analysis to be continued to t test. The statistical result is significant if $p < 0,05$.

The result showed that there was no significant deference of the antibody titer between the types of single vaccine and combined vaccine; between the types of virus propagation allantoic fluid and tissue culture and between the vaccine aplication intramuscularly and subcutaneously. Besides, there was no inter-action within variabel combination and there was no abnormal egg physically.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	ii
DAFTAR GAMBAR	iii
DAFTAR LAMPIRAN	iv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Masalah	1
1.2. Rumusan Masalah	5
1.3. Tujuan Penelitian	6
1.4. Manfaat Hasil Penelitian	7
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1. Virus <i>Egg Drop Syndrome</i> 1976 (EDS'76)	8
2.2. Media Pertumbuhan Virus	11
2.3. Serologi	14
2.4. Tanggap Kebal Terhadap Vaksin EDS'76	18
BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	21
3.1. Kerangka Konseptual	21
3.2. Hipotesis Penelitian	22
BAB 4. METODE PENELITIAN	24
4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian	24
4.2. Variabel Penelitian	25
4.3. Bahan Penelitian	26

4.4. Alat Penelitian	28
4.5. Lokasi dan Waktu Penelitian	28
4.6. Prosedur Penelitian	28
4.6.1 Pembuatan Vaksin EDS'76	28
4.6.2 Pengujian Vaksin	35
4.7. Analisis Data	37
BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN .	38
BAB 6. PEMBAHASAN	65
BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN	73
7.1 Kesimpulan	73
7.2 Saran	74
DAFTAR PUSTAKA	75

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1a. Bagan rancangan penelitian	24
Tabel 1. Hasil uji inaktivasi virus EDS'76 dan virus ND dengan uji HA cepat pada cairan alantois TBB atau TAB	38
Tabel 2. Hasil uji inaktivasi virus IBD dan virus IB dengan melihat perubahan patologis/ kematian embrio dan pembentukan CPE	39
Tabel 3. Hasil uji sterilitas vaksin dengan menggunakan media serum dextrose agar, <i>saburox dextrose agar</i> , dan <i>thyoglycolate agar</i>	39
Tabel 4. Uji keamanan vaksin EDS'76 pada ayam umur 21 - 35 hari	40
Tabel 5. Uji tanggap kebal vaksin EDS'76 ganda yang mengandung antigen ND dengan uji tantang setelah 28 hari vaksinasi (virus tantang 10^4 CLD50)	41
Tabel 6. Rata-rata titer antibodi EDS'76 (\log_2 setelah ditransformasi dengan $\sqrt{Y + 0,5}$) antar jenis vaksin EDS'76 tunggal dan ganda pasca vaksinasi	42
Tabel 7. Rata-rata titer antibodi EDS'76 (\log_2 setelah ditransformasi dengan $\sqrt{Y + 0,5}$) antar jenis media propagasi alantois dan <i>tissue culture</i> pasca vaksinasi	43
Tabel 8. Rata-rata titer antibodi EDS'76 (\log_2 setelah ditransformasi dengan $\sqrt{Y + 0,5}$) antar aplikasi vaksin intra muskuler dan sub kutan pasca vaksinasi	43
Tabel 9. Rata-rata titer antibodi EDS'76 kombinasi (\log_2 setelah ditransformasi dengan $\sqrt{Y + 0,5}$) antar jenis vaksin, jenis media propagasi dan aplikasi vaksin pasca vaksinasi	44

Tabel 10.	Rata-rata titer antibodi ND (\log_2 setelah ditransformasi dengan $\sqrt{Y + 0,5}$) antar jenis vaksin EDS'76 tunggal dan ganda serta rata-rata titer antibodi ND antar jenis media propagasi alantois dan tissue culture pra vaksinasi	46
Tabel 11.	Rata-rata titer antibodi ND (\log_2 setelah ditransformasi dengan $\sqrt{Y + 0,5}$) antar aplikasi vaksin intra muskuler dan sub kutan pra vaksinasi	46
Tabel 12.	Rata-rata titer antibodi ND kombinasi (\log_2 setelah ditransformasi dengan $\sqrt{Y + 0,5}$) antar jenis vaksin, jenis media propagasi dan aplikasi vaksin pra vaksinasi	47
Tabel 13.	Rata-rata titer antibodi ND (\log_2 setelah ditransformasi dengan $\sqrt{Y + 0,5}$) antar jenis vaksin EDS'76 tunggal dan ganda pasca vaksinasi	48
Tabel 14.	Rata-rata titer antibodi ND (\log_2 setelah ditransformasi dengan $\sqrt{Y + 0,5}$) antar jenis media propagasi alantois dan tissue culture pasca vaksinasi	49
Tabel 15.	Rata-rata titer antibodi ND (\log_2 setelah ditransformasi dengan $\sqrt{Y + 0,5}$) antar aplikasi vaksin intra muskuler dan sub kutan pasca vaksinasi	49
Tabel 16.	Rata-rata titer antibodi ND kombinasi (\log_2 setelah ditransformasi dengan $\sqrt{Y + 0,5}$) antar jenis vaksin, jenis media propagasi dan aplikasi vaksin pasca vaksinasi	50
Tabel 17.	Rata-rata titer antibodi IBD antar jenis vaksin EDS'76 tunggal dan ganda pra vaksinasi	52
Tabel 18.	Rata-rata titer antibodi IBD antar jenis media propagasi alantois dan tissue culture pra vaksinasi	53
Tabel 19.	Rata-rata titer antibodi IBD antar aplikasi vaksin intra muskuler dan sub kutan pra vaksinasi	53

Tabel 20.	Rata-rata titer antibodi IBD kombinasi antar jenis vaksin, jenis media propagasi dan aplikasi vaksin pra vaksinasi	54
Tabel 21.	Rata-rata titer antibodi IBD antar jenis vaksin EDS'76 tunggal dan ganda pasca vaksinasi	55
Tabel 22.	Rata-rata titer antibodi IBD antar jenis media propagasi alantois dan <i>tissue culture</i> pasca vaksinasi	55
Tabel 23.	Rata-rata titer antibodi IBD antar aplikasi vaksin intra muskuler dan sub kutan pasca vaksinasi	56
Tabel 24.	Rata-rata titer antibodi IBD kombinasi antar jenis vaksin, jenis media propagasi dan aplikasi vaksin pasca vaksinasi	56
Tabel 25.	Rata-rata titer antibodi IB antar jenis vaksin EDS'76 tunggal dan ganda pra vaksinasi	58
Tabel 26.	Rata-rata titer antibodi IB antar jenis media propagasi alantois dan <i>tissue culture</i> pra vaksinasi	59
Tabel 27.	Rata-rata titer antibodi IB antar aplikasi vaksin intra muskuler dan sub kutan pra vaksinasi	59
Tabel 28.	Rata-rata titer antibodi IB kombinasi antar jenis vaksin, jenis media propagasi dan aplikasi vaksin pra vaksinasi	60
Tabel 29.	Rata-rata titer antibodi IB antar jenis vaksin EDS'76 tunggal dan ganda pasca vaksinasi	61
Tabel 30.	Rata-rata titer antibodi IB antar jenis media propagasi alantois dan <i>tissue culture</i> pasca vaksinasi	62
Tabel 31.	Rata-rata titer antibodi IB antar aplikasi vaksin intra muskuler dan sub kutan pasca vaksinasi	62
Tabel 32.	Rata-rata titer antibodi IB kombinasi antar jenis vaksin, jenis media propagasi dan aplikasi vaksin pasca vaksinasi	63

DAFTAR GAMBAR

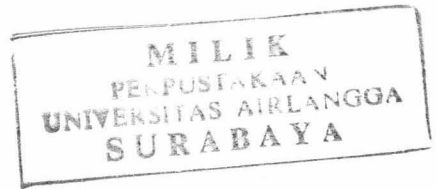
	Halaman
Gambar 1. Bentuk Skematis I kosahedral Adenovirus (Lodish et al., 1995)	9
Gambar 2. Adenovirus Dengan Serabut (Fiber) Pada Tiap Vertex (Lodish et al., 1995. Gambar Dari Valentine Dan Robley).	9
Gambar 3. Kerangka Konseptual Penelitian	22

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Rata-Rata Titer Antibodi HI (Log 2 Setelah Ditransformasi Dengan $\sqrt{Y + 0,5}$) Terhadap Antigen EDS'76 Antar Jenis Vaksin, Jenis Media Propagasi Virus Dan Aplikasi Vaksin Dari Kelompok Ayam Perlakuan, Kelompok Ayam Pembandingan Dan Kelompok Ayam Kontrol Pasca Vaksinasi Serta Uji Statistiknya	80
Lampiran 2. Rata-Rata Titer Antibodi HI (Log 2 Setelah Ditransformasi Dengan $\sqrt{Y + 0,5}$) Terhadap Antigen ND Antar Jenis Vaksin, Jenis Media Propagasi Virus Dan Aplikasi Vaksin Dari kelompok Ayam Perlakuan, Kelompok Ayam Pembandingan Dan Kelompok Ayam Kontrol Pra Vaksinasi Serta Uji Statistiknya	83
Lampiran 3. Rata-Rata Titer Antibodi HI (Log 2 Setelah Ditransformasi Dengan $\sqrt{Y + 0,5}$) Terhadap Antigen ND Antar Jenis Vaksin, Jenis Media Propagasi Virus Dan Aplikasi Vaksin Dari kelompok Ayam Perlakuan, Kelompok Ayam Pembandingan Dan Kelompok Ayam Kontrol Pasca vaksinasi Serta Uji Statistiknya	85
Lampiran 4. Rata-Rata Titer Antibodi (ELISA) Terhadap Antigen IBD Antar Jenis Vaksin, Jenis Media Propagasi Virus Dan Aplikasi Vaksin Dari kelompok Ayam Perlakuan, Kelompok Ayam Pembandingan Dan Kelompok Ayam Kontrol Pra Vaksinasi Serta Uji Statistiknya	88
Lampiran 5. Rata-Rata Titer Antibodi (ELISA) Terhadap Antigen IBD Antar Jenis Vaksin, Jenis Media Propagasi Virus Dan Aplikasi Vaksin Dari kelompok Ayam Perlakuan, Kelompok Ayam Pembandingan Dan Kelompok Ayam Kontrol Pasca vaksinasi Serta Uji Statistiknya	91

- Lampiran 6. Rata-Rata Titer Antibodi (ELISA) Terhadap Antigen IB Antar Jenis Vaksin, Jenis Media Propagasi Virus Dan Aplikasi Vaksin Dari kelompok Ayam Perlakuan, Kelompok Ayam Perbandingan Dan Kelompok Ayam Kontrol Pra Vaksinasi Serta Uji Statistiknya 94
- Lampiran 7. Rata-Rata Titer Antibodi (ELISA) Terhadap Antigen IB Antar Jenis Vaksin, Jenis Media Propagasi Virus Dan Aplikasi Vaksin Dari kelompok Ayam Perlakuan, Kelompok Ayam Perbandingan Dan Kelompok Ayam Kontrol Pasca vaksinasi Serta Uji Statistiknya 97

BAB 1
PENDAHULUAN



1.1. Latar Belakang Masalah

Berdasar data statistik peternakan tahun 1995 dan hasil rumusan verifikasi dan validitasi data bulan September 1997 yang dikeluarkan oleh Direktorat Jenderal Peternakan, menunjukkan perkembangan populasi ternak termasuk ternak ayam ras petelur meningkat dari tahun ke tahun. Data populasi ayam ras petelur tahun 1990 sampai dengan tahun 1994 berturut-turut mengalami kenaikan dari 43.184.983 ekor, 46.885.063 ekor, 54.146.409 ekor, 54736.115 ekor dan 54.949.625 ekor, sedangkan data populasi dari tahun 1996 sampai dengan tahun 1997 menunjukkan kenaikan dari 755.956 000 ekor menjadi 816.784.000 ekor atau sekitar 8%. Peningkatan populasi ini diperkirakan akan terus meningkat ditahun-tahun mendatang. Hal tersebut dapat dimengerti karena di samping mempunyai arti penting sebagai sumber protein hewani juga merupakan komoditas ternak komersial yang potensial di berbagai negara (Ronohardjo dan Darminto, 1988).

Sumber protein yang dapat dimanfaatkan dari ternak ayam adalah daging dan telur. *Egg Drop Syndrome* 1976 (EDS'76) merupakan salah satu penyakit saluran reproduksi yang dapat menurunkan kualitas maupun kuantitas produksi telur, sehingga dapat mengakibatkan tidak tercapainya puncak produksi (produksi telur tidak maksimal). Hal tersebut dapat merugikan para peternak dan lebih luas lagi dapat mengganggu konsumsi telur di masyarakat.

Gejala klinis atau lesi yang mencolok dari penyakit ini tidak terlihat pada ayam rentan yang diinfeksi dengan isolat virus

EDS'76 melalui mulut (peroral), tetapi menyebabkan kerusakan pada *uterus* sehingga telur yang diproduksi menjadi lunak dan mudah retak dengan kualitas albumin yang jelek. Di samping itu ditemukan virus yang spesifik pada uji imunofluoresensi dalam limpa, *uterus*, *vagina*, dari ayam yang terinfeksi. Virus diekskresikan melalui *cloaca* dan menghasilkan titer hambatan hemaglutinasi (*Haemagglutination Inhibition* = HI) pada 9 - 10 hari setelah terinfeksi (Swain et al., 1995).

Van Eck et al. (1984) melakukan percobaan terhadap EDS'76 galur BC14 yang diinokulasikan pada 80 konjungtiva ayam betina. Dari percobaan tersebut diperoleh hasil bahwa pada ayam perlakuan tidak terjadi perubahan pH mukosa *oviduct*, tetapi ada kenaikan unsur Na, penurunan unsur K, Ca, Mg, dan penurunan konsentrasi *glucosa* dalam cairan *oviduct* dibandingkan ayam yang tidak diinfeksi. Gejala klinis yang terlihat pada ayam perlakuan yaitu telur yang dihasilkan berkulit lunak atau telur tanpa kulit. Dengan demikian disimpulkan bahwa yang bertanggung jawab atas perubahan telur yang abnormal bertempat di sel epitel *superficial oviduct* dan kemungkinan didahului oleh perubahan sodium yang abnormal.

Penyakit ini dilaporkan pertama kali oleh Van Eck et al. (1976) yang dikutip oleh McFerran (1997) di Holland, dan sejak itu penyakit menyebar di seluruh negara termasuk Indonesia (Santhia dan Dibia, 1990).

Menurut Kuniyasu (1992) yang dikutip oleh Widjaja dkk (1995) kerugian ekonomi yang ditimbulkan penyakit EDS'76 tercatat adanya

penurunan produksi telur antara 5 - 50 %, disertai penurunan kualitas telur yaitu kerabang telur menjadi lunak, tidak ada pigmentasi pada kerabang atau tanpa kerabang. Di Indonesia sendiri penyakit ini telah di kenal beberapa tahun lalu di daerah peternakan Parung, Bekasi, Cilangka, Jawa Barat (Rumawas, 1982); di daerah Sumatra Utara yaitu Deli, Serdang, Langkat (Susanto dkk., 1984), dan di Bali menurut penyidikan yang telah dilakukan yaitu di desa Babahan dan Jatiluwih, kecamatan Penebel, Kabupaten Tabanan yang bersifat mewabah dengan tingkat kejadian berturut-turut 51,87% dari populasi 153.660 ekor ayam dan 34,40% dari populasi 21.800 ekor ayam (Santhia dan Dibia, 1990).

Pengobatan penyakit dengan antibiotik diketahui hanya mencegah timbulnya penyakit sekunder dan beberapa obat lain yang pernah dicoba seperti pemberian vitamin, kalsium, dan protein hanya bersifat simptomatis dan tidak ada hasilnya. Satu-satunya cara untuk menanggulangi penyakit ini yaitu dengan jalan vaksinasi. Pada saat ini telah beredar vaksin EDS'76 yang berasal dari dalam dan luar negeri bahkan telah dibuat vaksin ganda dari kombinasi 3 macam bibit virus, *New Castle Disease* (ND), EDS'76 dan *Infectious Bursal Disease* (IBD) yang sebelumnya telah divaksin dengan vaksin ND dan IBD aktif (Rhee *et al.*, 1987). Dalam percobaan ini digunakan ayam umur 6 minggu dan menunjukkan imunitas selama 6 bulan dengan adanya efek samping perdarahan dan akumulasi nanah di sekitar tempat suntikan. Holmes *et al.*, (1989), berhasil melakukan percobaan vaksinasi ayam betina umur 18 minggu dengan vak-

sin ganda (EDS, *Infectious Bronchitis* = IB, dan ND) intra muskuler dan memperlihatkan tidak adanya penurunan yang berarti pada titer antibodi dengan uji HI selama 44 minggu. Pada pasca tantangan, produksi telur menurun dari 90% lebih menjadi 60% pada ayam-ayam yang tidak divaksinasi disertai penurunan kualitas telur, sedangkan ayam-ayam yang divaksin berjalan normal dengan kualitas telur yang baik. Dari kedua percobaan tersebut perlu dikaji lebih lanjut kesenjangan-kesenjangan yang mungkin terjadi.

Dalam memproduksi vaksin, produsen dituntut antara lain mencari media propagasi virus yang sesuai untuk mendapatkan titer virus yang diharapkan; memilih cara aplikasi yang sesuai untuk mendapatkan daya kebal yang memadai; mencari kemudahan teknis pelaksanaan produksi dan mencari kemudahan operasional vaksinasi dilapangan dengan kualitas vaksin yang terjamin dan harga yang bersaing.

Penelitian ini mencoba membandingkan pengaruh tanggap kebal vaksinasi dengan vaksin EDS'76 tunggal dan EDS'76 ganda (kombinasi empat macam virus: EDS'76, ND, IBD), dan IB) yang diaplikasikan melalui suntikan di bawah kulit (subkutan = s.c) dan suntikan ke dalam otot (intra muskuler = i.m) serta menggunakan biakan Telur Bebek Bertunas (TBB) umur 10 hari dan biakan sel (Tissue Culture = TC) sebagai media propagasi virus.

Vaksin yang akan diteliti berupa vaksin *oil adjuvant* inaktif (adjuvan berasal dari Perancis dengan nama komersial adjuvan Montanide Isa 70) yang diaplikasikan melalui suntikan. Pada ke-

nyataannya ada yang mengaplikasikan vaksin ini secara intramuskuler dan sub kutan di lapangan. Oleh sebab itu penulis ingin membandingkan apakah ada perbedaan yang signifikan dari kedua aplikasi tersebut.

Untuk melakukan vaksinasi dari beberapa macam penyakit akan memerlukan waktu, tenaga, biaya yang tidak sedikit karena harus berulang-ulang melakukan vaksinasi. Dengan tersedianya vaksin ganda, diharapkan akan mengurangi biaya, menghemat waktu dan tenaga yang berdampak ekonomis bagi peternak maupun produsen vaksin.

Vaksinasi ditujukan terutama untuk ternak ayam petelur karena tujuan pokok yaitu meneliti pengaruh tanggap kebal terhadap vaksinasi EDS'76 dengan harapan dapat menangkal penyakit EDS'76 yang berdampak negatif pada produksi telur ayam.

Dalam penelitian ini, walaupun virus lain (ND, IB, IBD) yang digunakan untuk pembuatan vaksin ganda sudah pernah diteliti dan diproduksi sebelumnya dalam bentuk tunggal, perlu diteliti pengaruhnya apabila dikombinasikan dengan virus EDS'76.

Metode pengujian vaksin yang akan digunakan berdasar pada metode pengujian standar nasional dan internasional.

1.2. Rumusan Masalah

Dari uraian tersebut di atas, beberapa masalah dapat dirumuskan sebagai berikut .

1. Apakah jenis vaksin berpengaruh terhadap tanggap kebal vaksinasi EDS'76 inaktif ?

2. Apakah jenis media propagasi virus berpengaruh terhadap tanggap kebal vaksinasi EDS'76 inaktif ?
3. Apakah cara aplikasi berpengaruh terhadap tanggap kebal vaksinasi EDS'76 inaktif ?
4. Apakah jenis vaksin, jenis media propagasi virus dan cara aplikasi mempunyai pengaruh interaksi terhadap tanggap kebal vaksinasi EDS'76 inaktif ?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini ialah mengembangkan produk vaksin EDS'76 yang telah ada menjadi vaksin ganda (4 jenis virus). dengan media propagasi dan cara aplikasi yang tepat sehingga diharapkan dapat memberikan kemudahan teknis pelaksanaan produksi, operasional vaksinasi di lapangan tanpa mengurangi kualitas vaksin.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui perbedaan tanggap kebal pasca vaksinasi EDS'76 tunggal dan ganda.
2. Untuk mengetahui perbedaan tanggap kebal pasca vaksinasi EDS'76 dengan menggunakan cairan alantois dan biakan sel sebagai media propagasi virus.
3. Untuk mengetahui perbedaan tanggap kebal pasca vaksinasi EDS'76 melalui suntikan di bawah kulit dan melalui sunti-

kan ke dalam otot.

4. Untuk mengetahui pengaruh interaksi antara jenis vaksin, jenis media propagasi virus dan cara aplikasi terhadap tanggap kebal vaksinasi EDS'76.

1.4. Manfaat Hasil Penelitian

Manfaat yang dapat diambil dari penelitian ini antara lain memberikan informasi tentang hasil kajian vaksin EDS'76 bagi produsen obat hewan dan kesehatan hewan sehingga dapat memberikan pelayanan kesehatan secara optimal.

BAB 2

TINJAUAN KEPUSTAKAAN

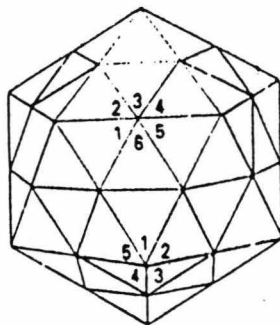
2.1. Virus *Egg Drop Syndrome 1976* (EDS'76)

EDS'76 termasuk famili *Adenoviridae*, genus *Aviadenovirus* yang tidak mempunyai spesifik antigen, spesies *Duct Adenovirus*. Isolasi dari *adenovirus* dan partikel yang menyerupai *adenovirus* pada vertebrata lain telah dilaporkan, tetapi belum dibuat klasifikasi secara formal. Serotipe dari *adenovirus* ditentukan dengan uji serum netralisasi (SN) pada biakan jaringan dengan menggunakan antisera hewan. Dalam uji tersebut, serotipe satu dengan serotipe *adenovirus* yang lain tidak diperbolehkan adanya reaksi silang (ratio titer homolog atau heterolognya tidak boleh lebih dari 16 dalam dua arah). Bila terdapat titer antara 8 - 16 dalam dua arah, serotipe dapat ditentukan bila tidak terjadi reaksi silang menurut uji hambatan hemaglutinasi (*Haemagglutination Inhibition* = HI test), atau harus ada perbedaan yang jelas pada sifat biophysik/biokimia DNA dari masing-masing *adenovirus* (Wigand et al., 1982). Variasi galur dalam serotipe ditentukan dengan analisa restriksi DNA (Wadell, 1984). Secara morfologi, replikasi dan susunan kimia, EDS'76 digolongkan sebagai *adenovirus* tetapi tidak mempunyai kelompok antigen dari *avian adenovirus* (McFerran et al., 1978^a yang dikutip oleh McFerran (1997)). Adair et al. (1979) yang dikutip oleh McFerran (1997) juga menunjukkan tidak adanya reaksi silang antara EDS'76 dengan 11 prototipe *avian adenovirus* dan dua prototipe *adenovirus* kalkun dengan menggunakan uji SN dan uji HI. Menurut Darbyshire et al. (1981^a) yang dikutip oleh McFerran (1997) hanya dikenal satu serotipe.

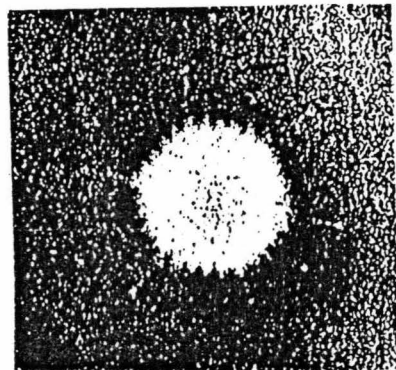
adenovirus yaitu EDS'76.

Virus EDS'76 menurut susunan kimianya terdiri dari DNA dan mempunyai 13 struktur polipeptida. Paling sedikit tujuh dari polipeptida ini ada kaitannya dengan polipeptida dari *avian adenovirus* tipe 1 (Phelps) (Tood and McNulty, 1978; Adair et al., 1979^b; Yamaguchi et al., 1981^a yang dikutip oleh McFerran, 1997)

Ukuran EDS'76 berkisar antara 76 nm (McFerran et al., 1978^b) sampai dengan 80 nm dengan variasi lima nm (Kraf et al., 1979) yang dikutip oleh McFerran (1997). Virion ini tidak berkapsul, berbentuk ikosahedral (gambar 1) dengan permukaan segitiga dan pada sudutnya terdapat enam kapsomere dengan satu *fiber* ukuran 25 nm yang diprojektikan dari tiap *vertex* atau ujung (gambar 2).



Gambar 1. Bentuk Skematis Icosahedral *Adenovirus* (Lodish et al., 1995.)



Gambar 2. *Adenovirus* Dengan Serabut (*Fiber*) Pada Tiap *Vertex* (Lodish et al., 1995. Gambar Dari Valentine dan Robley)

Virus bereplikasi pada nukleus, sama seperti pada sub kelompok I *avian adenovirus*, dan pada *adenovirus* manusia tipe V (Boyer et al., 1959; Adair, 1978; Adair et al., 1979^b yang dikutip oleh McFerran, 1997). Inklusi intranukleus dapat dilihat dengan pewarnaan *Hematoxilin* dan *Eosin* dalam biakan jaringan yang terinfeksi (Adair et al., 1979 yang dikutip oleh McFerran, 1997) dan dalam sel epitel *uterus*, *isthmus* dan *vagina* pada ayam percobaan yang terinfeksi (Taniguchi et al., 1981). Pada potongan tipis partikel virus kelihatan jelas dalam nukleus seperti *adenovirus* yang lain (Adair et al., 1979^b yang dikutip oleh McFerran, 1997)

Virus EDS⁷⁶ diketahui mempunyai daya tahan terhadap kloroform, eter; pH 3 - 10; tetap hidup pada pemanasan 56⁰C selama tiga jam; inaktif pada pemanasan 60⁰C selama tiga jam dan tetap stabil pada monovalen kation tetapi tidak pada divalen (Adair et al., 1979^b; Meulemans et al., 1979; Yamaguchi et al., 1981^a yang dikutip oleh McFerran, 1997). *Hemagglutinin* sangat stabil namun rusak pada suhu 70⁰C selama 30 menit dan tetap aktif dalam waktu lama pada suhu 4⁰C (McFerran, 1997). Swain et al., (1992) meneliti isolat EDS⁷⁶ yang diisolasi dari kumpulan ayam petelur yang mengalami penurunan produksi, ternyata tahan terhadap pemanasan 56⁰C, Eter, Kloroform, pH 3 dan tripsin, tetapi tidak tahan dengan formalin 3%. Inaktivasinya tidak stabil dengan adanya 1 M MgCl₂. Zsak et al., (1982), dalam percobaannya menggunakan formalin 0,2 % untuk inaktivasi EDS⁷⁶ galur B8/78. Ram Kumar et al., (1991), menemukan isolat EDS⁷⁶ (EDSV IV KI/AD-86, EDSV-01/AD-86 dan EDSV-20/AD-86) yang diisolasi dari feces sekawanan

burung yang sedang bertelur, ternyata tetap menunjukkan aktifitas hemaglutinasi (HA) setelah diberi perlakuan dengan 10% kloroform, dan tidak kehilangan infektifitasnya. Virus dapat melalui membran filter dengan ukuran 100 nm atau lebih dan tetap stabil pada pH asam (3) dan temperatur 56°C selama 30 menit. Rozhdestvenskii, (1984), dalam penelitiannya mendapatkan bahwa virus yang dipropagasi dari embrio bebek dinaktifkan pada temperatur $60 - 70^{\circ}\text{C}$ dalam waktu 10-40 menit, dengan penambahan formalin 0,05 - 1 % selama 24 - 48 jam dan *ethyleneimine* 0,01 - 0,013% selama 3 - 72 jam pada 37°C . Penggunaan *ethyleneimine* 0,2 % selama 3 jam merupakan metoda paling baik untuk mempertahankan aktifitas HA yang stabil. LU, et al., (1985), dalam percobaannya mendapatkan bahwa antigen hemaglutinasi yang dipersiapkan dari embrio bebek dan dinaktifkan dengan formalin 0,2 %, tetap mempunyai titer yang stabil, paling tidak untuk jangka waktu satu tahun pada temperatur penyimpanan 4°C .

2.2. Media Pertumbuhan Virus

Pengembangan virus EDS'76 dengan menggunakan berbagai media telah banyak diteliti untuk tujuan diagnosa, uji serologis maupun produksi vaksin. Menurut Adair et al. 1979^{a)} yang dikutip oleh McFerran (1997), indikator yang paling sensitif untuk mendeteksi virus yaitu TBB atau Telur angsa bertunas (TGB) dari kelompok bebas EDS'76 dan biakan sel dari bebek atau angsa. Apabila tidak tersedia sel dari media tersebut, dapat digunakan *Chicken Embryo Lever* (CEL). CEL ini ternyata lebih sensitif dari *Chicken Kidney*

Cell (CKC), sedangkan *Chicken Embryo Fibroblast* (CEF) tidak sensitif dan TAB tidak sesuai untuk pertumbuhan virus. Keuntungan penggunaan biakan sel embrio bebek atau angsa dan TBB atau TGB yaitu di samping lebih sensitif, beberapa virus tidak dapat tumbuh dalam media ini. Selanjutnya Adair et al. (1979^b) yang dikutip oleh McFerran (1997) mengemukakan bahwa EDS'76 paling baik tumbuh pada ginjal itik, hati embrio itik, sel fibroblas itik, sel hati ayam; kurang baik pada sel ginjal ayam; sedikit tumbuh pada kalkun dan tidak ada perkembangan pada sel mamalia. Zsak et al. (1981) mengemukakan bahwa EDS'76 tumbuh dengan titer tinggi pada biakan sel angsa. Menurut Yamaguchi et al. (1981^a) yang dikutip oleh McFerran (1997), EDS'76 galur JPA 1 tumbuh subur dan mencapai puncak pertumbuhan bila ditanam pada CEL dari pada bila ditanam pada CKC yang dibuktikan terhadap infektifitas dan produksi hemaglutininnya. Virus intraseluler dan ekstraseluler mulai meningkat secara logaritmis antara 16 - 18 jam setelah infeksi dan berturut-turut mencapai titer $10^{9,2}$ dan $10^{8,5}$ PFU/ml pada 48 jam setelah infeksi. Hemaglutinin intraseluler mulai muncul setelah 18 jam dan mencapai puncak (10.240 HA) pada 48 jam, sedang ekstraseluler hemaglutinin mulai muncul pada 72 jam setelah infeksi. Intensitas fluoresensi antigen intranukleus mulai kelihatan dari 16 jam setelah infeksi. Peneliti lain menyebutkan bahwa pertumbuhan virus sangat tinggi pada telur bebek bertunas dan telur angsa bertunas dengan titer 1/16.000 sampai 1/32.000 dan tidak ada pertumbuhan pada telur ayam bertunas (Adair et al., 1979^b) dan Zsak et al., 1992 yang dikutip oleh McFerran,

1997). Tsai et al. (1983), melaporkan bahwa EDS'76 galur TN bila ditanam pada *Duct Embryo Lever* (DEL) dan diinkubasikan pada temperatur 37⁰C, menunjukkan titer HI 64, 128 dan dua kali lebih tinggi dari pada bila ditanam pada *Duct Embryo Fibroblast* (DEF), *Goose Embryo Fibroblast* (GEF), *Duct Kidney Cell* (DKC). Virus dalam nukleus DEL terlihat pertama kali dengan FAT pada 19 jam setelah infeksi. Kultur virus pada DEF yang dieramkan pada temperatur 40⁰C menghasilkan puncak pertumbuhan lebih dini, tetapi titer virus kurang persisten dibanding pada virus yang dieramkan pada temperatur 37⁰C. Kumar et al., (1985) mendapatkan bahwa isolasi EDS'76 dari sampel feces dapat diadaptasikan dengan mudah pada DEF, sedang aktifitas HA dideteksi pertama kali pada hari ke enam setelah infeksi dan mencapai puncak pada hari ke 11 setelah infeksi. Swain et al., (1993) membuktikan bahwa EDS'76 paling baik tumbuh pada CEL primer, kurang baik pada DEL, DEF dan CEK. Sitopatogenik efek dari CEL ditandai dengan adanya sel besar dan refraktil dan terlepas dari permukaan gelas. Inklusi bodi intranukleus eosinofil dideteksi antara 24 - 48 jam setelah infeksi. Tidak ada multiplikasi pada *Quail Embryo Fibroblast* (QEF) primer, CEF atau sel mamalia seperti *African Green Monkey Kidney* (Vero), *Baby Hamster Kidney* (BHK) dan *Mardin Darby Bovine Kidney* (MDBK). Pertumbuhan virus maksimal dicapai pada embrio bebek dengan titer HI paling tinggi pada alantoisnya, diikuti oleh membran *chorio allantois*, kulit, dan organ dalam. Pada embrio burung puyuh tidak menunjukkan adanya perkembangan virus.

2.3. Serologi

Uji Hambatan Hemaglutinasi (HI) adalah satu-satunya pilihan untuk mempelajari virus ini. Antigen dapat disiapkan dari TBB atau biakan sel. Titer HA yang tinggi diperoleh bila menggunakan TBB, namun bisa lebih tinggi (ratusan) bila diinokulasikan pada chicken embryo liver. Uji HI yang tepat yaitu dengan menggunakan antigen empat HA unit. Pengenceran mulai 1 : 4 dengan 0.5 % sel darah merah ayam. Virus akan mengaglutinasi sel darah merah ayam, angsa, dan bebek tetapi tidak pada mamalia. Bila hemaglutinin non spesifik terdapat dalam serum, dapat dihilangkan dengan 10 % sel darah merah yang homolog. Untuk uji Serum Netralisasi (SN) digunakan *Tissue Culture Infection Dose 50* (TCID)₅₀ selama satu jam pada temperatur 37⁰C dan biakan jaringan ayam atau bebek sebagai indikator yang sensitif dan spesifik. Pada biakan jaringan Ayam sering membantu dalam pembacaan bila dilakukan uji hemaglutinasi dari supernatannya dari pada melihat sitopatologik efeknya. Uji SN hanya diperlukan untuk menguatkan hasil uji HI yang meragukan atau menyimpang dari biasa seperti pada program eradikasi atau deteksi antibodi HI pada spesies baru. Uji *Indirect Fluorescent Antibodi* (IFA) setidaknya sama sensitifnya dengan Uji HI. Uji *Double Immunodifussion* (DID) juga telah digunakan tetapi kemungkinan kurang sensitif dibanding uji HI (Darbyshire dan Peter, 1980 yang dikutip oleh McFerran, 1997). Banyak kelompok burung yang tidak menunjukkan antibodi selama masa pertumbuhan dan hanya jelas kelihatan langsung mengikuti perubahan telur. Oleh karena itu uji negatif serologis tidak memberikan jaminan bahwa burung

bebas infeksi. Namun bila ditemukan adanya penurunan produksi dari sebagian besar kawanan burung, hampir semua burung menunjukkan adanya titer antibodi dalam tubuhnya. Kemungkinan penyebabnya adalah virus tersebut menunggu saat yang tepat untuk merefleksikan kemampuannya menyebar secara lateral. Dalam keadaan ini harus hati-hati memilih sampel, karena ada kemungkinan kesalahan hasil negatif akan ditemukan. Dalam suatu percobaan, antibodi dapat dideteksi dengan uji IFA dan HI dalam selang waktu 5 - 6 hari setelah infeksi. Sedangkan pada uji SN dan DID, antibodi terlihat setelah selang waktu 6 - 9 hari. Antibodi mencapai puncaknya kurang lebih 4 - 5 minggu. Uji imunopresipitasi (DID) jarang digunakan dibanding dengan yang lain. Didapatkan data bahwa burung masih mengeluarkan virus dalam keadaan antibodi tinggi pada uji HI, tetapi sebaliknya ada beberapa yang walaupun terdeteksi mengeluarkan virus, gagal mengembangkan antibodi (Cook dan Darbyshire, 1981 yang dikutip McFerran, 1997). Antibodi diturunkan melalui yolk sac (kantong kuning) telur yang pada saat itu induknya mempunyai titer antibodi tinggi terhadap uji HI ($\text{GMT } 8 - 9 \log 2$). Antibodi ini mempunyai *half life* 3 hari. Produksi antibodi secara aktif tidak distimulasi sampai ayam berumur antara 4 - 5 minggu sedangkan maternal antibodi hampir tidak terdeteksi (Darbyshire dan Peter, 1980 yang dikutip oleh McFerran, 1997). Tidak diketahui apakah ayam tersebut tidak mempunyai respon terhadap infeksi atau ayam menjadi karier.

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

Asi et al. (1989), mendapatkan bahwa 390 ayam petelur dalam kelompok A yang mempunyai titer tinggi terhadap ND (8.6 - 15,0) log 2; EDS'76 (10.0 - 12., 3) log 2 dan IB (8,2 - 9,6) log 2, mempunyai total protein serum, albumin dan globulin berturut-turut, 5,18 + 0,7; 3,92 + 0,41; dan 1,26 + 22 g/ dl. Kejadian ini pada 151 ayam kelompok B mempunyai titer lebih rendah yaitu ND (4,8 - 7.10) log 2; EDS (3,5 - 4,8) log 2 ; IB (2,7 - 4,7) log 2 dan kandungan protein masing-masing 4,9 + 0,66; 3,88 + 0,41 dan 1,10 + 0,22 g /dl.

Shakya et al. (1991), mengemukakan bahwa adanya reaksi

silang pada uji HI dari tiga strain EDS'76 yaitu galur 127 (reference strain), galur JBP (Pune str) galur SPC (Bungalore) menyebabkan ke tiga strain tersebut sulit / tidak dapat dibedakan. Hubungan antigen juga diperlihatkan dalam *Agar Gel Precipitation* (AGP) dan *immunolectrophoreses*. Adanya garis presipitasi yang spesifik dari salah satu strain dan tidak berhubungan dengan strain yang lainnya, mengindikasikan bahwa mereka tidak homolog.

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

Jian Ming et al. (1993), mengemukakan bahwa metoda ELISA untuk mendeteksi EDS'76 pada ayam broiler dengan menggunakan *membran selulose nitrit* sebagai *carier solid phase*, ternyata sensitif, spesifik dan reproduktif. Hasil paling baik bila menggunakan satu unit antigen dan 1 : 1000 antibodi. Metoda ELISA ini lebih baik dari uji HI.

Singh et al. (1995), melaporkan (diperkirakan merupakan laporan yang pertama kali) adanya sero prevalensi EDS'76 yang dilakukan pada ayam petelur di Binhar, India. 296 serum sampel dari 17 kelompok ayam yang diuji dengan HA cepat, 50 serum (16,78 %) menunjukkan positif adanya antibodi EDS'76 yang terjadi pada semua kelompok dengan distribusi titer antibodi HA 10 - 34,78 %. Prevalensi HI paling tinggi terdapat pada kelompok umur 13 - 16 minggu dan paling rendah pada kelompok umur 25 - 28 minggu.

Titer HI bervariasi antara 1 : 4 sampai 1 : 64.

Tropical Animal Health and Production., (1995), dalam abstraknya menyebutkan bahwa 114 atau 32,9 % dari 347 serum sampel yang diambil dari 22 kelompok broiler di Binhar, India, positif mengandung antibodi EDS'76 dengan uji HI. Titer HI yang diperoleh antara 2 - 9 log 2 dengan *Geometric Mean Titer* (GMT) 3,9 log 2. 82,5 % serum memperlihatkan titer HI antara 22 - 25 dan rata-rata 23 dan semua kelompok ada yang mengandung antibodi, sedangkan prevalensi tiap kelompok terhadap titer antibodi HI adalah 13,3% sampai 46,6 %.

2.4. Tanggap Kebal Terhadap Vaksin EDS'76

Vaksin *oil adjuvant* inaktif telah banyak ditemukan yaitu pada burung umur 14 - 16 minggu. Pada burung yang baru menerima vaksinasi pertama kali akan mencapai titer HI log 8 - 9, sedangkan pada kelompok yang telah terkena infeksi sebelumnya dapat mencapai titer log 12 - 14 (Baxendale et al., 1981; Cook dan Darbyshire, 1981 yang dikutip oleh McFerran, 1997). Namun demikian, menurut pengalaman di lapangan, diperkirakan bahwa titer vaksin tidak selalu tinggi atau seragam. Vaksin akan memberikan daya tahan yang baik terhadap penyakit secara klinis dan menurunkan jumlah virus yang diekskresikan.

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

dengan vaksin yang menggunakan AlOH sebagai adjuvan.

Ramires et al. (1987), membuktikan bahwa vaksin EDS'76 strain HPI dalam bentuk emulsi tunggal dan multi emulsi, menunjukkan respon serologi sama dengan vaksin emulsi komersial, sedangkan vaksin yang menggunakan aluminium adsorpsi menimbulkan antibodi yang lebih rendah secara menyolok.

Rhee et al. (1987), melakukan vaksinasi pada ayam umur enam minggu dengan vaksin *oil adjuvant* kombinasi ND, EDS'76, IBD inaktif yang sebelumnya telah divaksin dengan vaksin aktif dari tiga macam virus tersebut dan diaplikasikan dengan berbagai macam dosis. Ayam yang divaksin dengan 0,5 ml mempunyai tingkat antibodi yang memuaskan terhadap virus ND, EDS'76 dan IBD dibandingkan dengan ayam kontrol. Namun ditemukan adanya perdarahan dan pengumpulan seperti nanah pada sisi sekitar tempat suntikan, bahkan ditemukan juga pada ayam yang disuntik dengan dosis terendah 0,25 ml. Data juga menunjukkan bahwa kekebalan yang ditimbulkan pada ayam komersial adalah enam bulan.

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

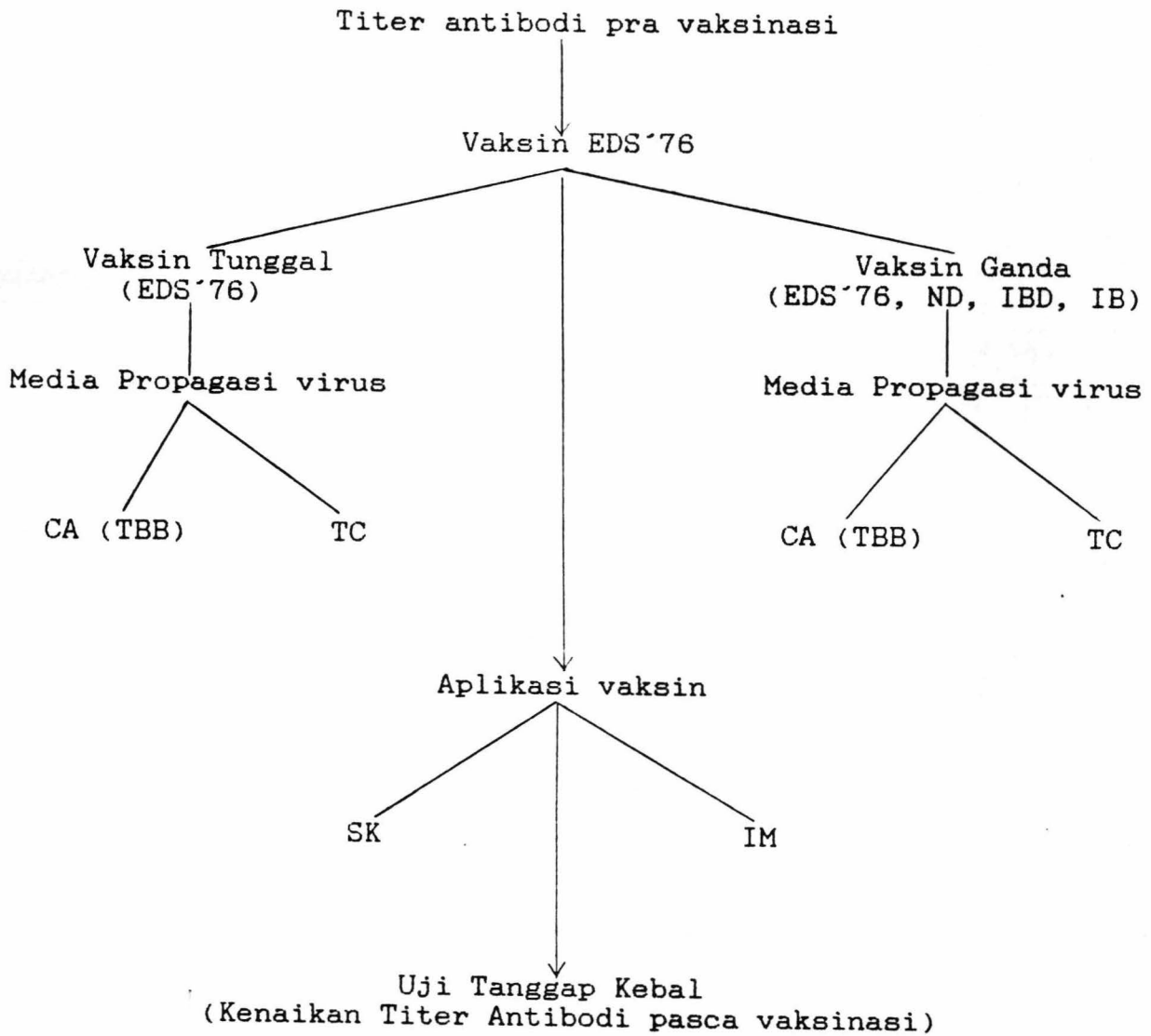
tetap hidup setelah ditantang dengan virus ND ganas.

Standarisasi uji HI telah dilakukan terhadap vaksin EDS'76 dan penentuan daya tahan antibodi pada ayam petelur. Dalam percobaan ini, ayam petelur umur 16 minggu disuntik dengan vaksin ND inaktif dan EDS'76 intra muskuler, dan sebagai kontrol ayam disuntik dengan vaksin ND saja. Untuk mengetahui titer antibodi digunakan uji HI dengan antigen EDS'76 galur BC14. Ayam dibagi dalam tujuh kelompok masing-masing 25 ekor dan kontrol lima ekor. kemudian ditantang dengan EDS'76 galur BC 14 pada minggu ke 20, 27, 34, 41, 48, 55, dan 62. Hasil yang didapat yaitu bahwa ayam yang divaksin dan mempunyai titer $0,5 \log 2$ ternyata memproduksi telur dengan kulit tipis atau tanpa kulit, namun kualitas telur kembali normal setelah 18 sampai 20 hari pasca tantang. Ayam yang mempunyai titer $6 \log 2$ lebih resisten terhadap tantangan (Asi dan Lyisan, 1990).

BAB 3**KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN****3.1. Kerangka Konseptual**

EDS'76 adalah salah satu penyakit virus unggas yang menyebabkan penurunan kualitas maupun kuantitas produksi telur sehingga dapat mengakibatkan tidak tercapainya puncak produksi. Satu-satunya cara menanggulangi penyakit ini yaitu dengan vaksinasi. Keberhasilan vaksinasi untuk merangsang tanggapan kebal yang protektif dipengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya : 1. Kompleksitas antigen. Telah diketahui bahwa antibodi yang terbentuk dalam tubuh sesuai dengan 1 macam antigen tertentu. Dengan digunakannya beberapa macam antigen secara bersamaan (campuran), ada kemungkinan terjadi interaksi yang saling menguatkan yang perlu pembuktian lebih lanjut; 2. Kualitas antigen. Antigen yang berkualitas memerlukan bahan propagasi yang sesuai untuk pertumbuhan virus. Virus EDS' 76 diketahui mudah diadaptasikan pada TBB maupun biakan yang berasal dari embrio bebek. Kualitas antigen yang terbentuk ada kemungkinan berbeda karena pada biakan sel digunakan media buatan; 3. Daya serap tubuh terhadap vaksin yang diaplikasikan. Semakin cepat vaksin diserap, vaksin akan cepat dieleminasi oleh tubuh sehingga tidak menimbulkan titer antibodi yang diharapkan. Hal ini terkait dengan cara aplikasi vaksin dan macam adjuvan yang dipakai sebagai penghambat daya serap tubuh. Aplikasi vaksin di bawah kulit dan kedalam otot kemungkinan akan menghasilkan titer antibodi yang berbeda karena vaskularisasi tempat aplikasi berbeda sehingga daya serap tubuh berbeda. Karena adjuvan yang dipakai satu macam, diharapkan tidak akan

berpengaruh dalam penelitian ini.



Gambar 3. Kerangka Konseptual Penelitian.

3.2. Hipotesis Penelitian

Dari uraian di atas dapat disusun beberapa hipotesis sebagai berikut :

1. Vaksinasi EDS'76 tunggal akan memberikan tanggap kebal

yang tidak berbeda dengan EDS'76 ganda.

2. Vaksinasi EDS'76 dengan menggunakan vaksin dari virus yang dipropagasikan melalui cairan alantois dari TBB akan memberikan tanggap kebal yang lebih baik (menimbulkan titer antibodi yang lebih tinggi) dibanding dengan propagasi virus melalui biakan sel dari embrio TBB.
3. Vaksinasi EDS'76 melalui suntikan di bawah kulit akan memberikan tanggap kebal yang lebih baik (menimbulkan titer antibodi yang lebih tinggi) dibanding melalui suntikan ke dalam otot.
4. Tanggap kebal pasca vaksinasi EDS'76 tidak dipengaruhi oleh kombinasi virus lain, tetapi dipengaruhi oleh variabel media propagasi virus dan aplikasi vaksinasi.



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Dan Rancangan Penelitian

Faktor yang diperbandingkan dalam penelitian adalah : Vaksin EDS'76 tunggal, Vaksin EDS'76 ganda dan kontrol (disuntik dengan adjuvan minyak); Media propagasi virus berupa cairan alantois dari telur bebek bertunas (TBB) umur 10 hari dan media propagasi virus dari biakan sel (TC) fibroblas embrio bebek berumur 10 hari; Aplikasi vaksin melalui suntikan dibawah kulit (sub kutan) dan melalui suntikan kedalam otot (intra muskuler). Penelitian dilakukan dengan percobaan sungguhan (*true experiment*) dengan menggunakan rancangan acak lengkap pola faktorial 4 x 2 x 2 seperti dapat dilihat pada bagan rancangan penelitian (tabel 1a). Setiap kombinasi perlakuan digunakan lima ekor ayam umur 15 minggu termasuk kontrol dan vaksin komersial sebagai pembanding sehingga seluruhnya berjumlah 80 ekor.

Tabel 1a. Bagan rancangan penelitian

Aplikasi Vaksin	Jenis Media	Jenis Vaksin				ADJ	VK1	VK2	VK3	Jumlah
		Tunggal		Ganda						
		CA	TC	CA	TC					
sub kutan		5	5	5	5	5	5	5	5	40
Intra muskuler		5	5	5	5	5	5	5	5	40
Jumlah		10	10	10	10	10	10	10	10	80

Keterangan:

CA : Cairan Alantois TC : Tissue Culture (biakan sel)
 ADJ : Adjuvan (kontrol) VK1 : Vaksin komersial EDS'76 (tunggal)

VK2 : Vaksin komersial (ganda), EDS'76, ND, IB
 VK3 : Vaksin Komersial (ganda), EDS'76, ND, IB

4.2. Variabel Penelitian

4.2.1. Klasifikasi Variabel

Variabel yang digunakan sebagai berikut :

1. Variabel bebas : jenis vaksin (EDS'76 tunggal dan EDS'76 ganda), jenis media propagasi virus (cairan alantois dan biakan sel dari TBB), aplikasi vaksin (sub kutan dan intra muskuler) dan kombinasi jenis vaksin, jenis media dan aplikasi vaksin.
2. Variabel terikat : tanggap kebal terhadap virus.
3. Variabel kendali : kepadatan kandang, umur, makanan ayam dan jenis ayam.

4.2.2. Definisi Operasional

Vaksin EDS'76 tunggal adalah vaksin *oil adjuvant* yang mengandung virus EDS'76 (virus berasal dari propagasi pada cairan alantois atau biakan sel TBB) dan adjuvan minyak Montanide Isa 70 dari Seppic.

Vaksin EDS'76 ganda adalah vaksin *oil adjuvant* yang terdiri dari campuran beberapa virus yaitu EDS'76, ND, IBD dan IB (virus berasal dari propagasi pada cairan alantois atau biakan sel) dan ditambahkan dengan adjuvan minyak Montanide Isa 70 dari Seppic.

Tanggap kebal (respon imun), secara umum adalah kemampuan tubuh untuk mengenali dan kemudian menghancurkan bahan yang dianggap asing (Tizard, 1982). Dalam penelitian ini, yang dimaksud dengan tanggap kebal adalah reaksi timbulnya resistensi hewan coba akibat pengalamannya dengan jasad penyebab

penyakit dengan menerima vaksin (Wesley and Margaret, 1984).

Tanggap kebal terhadap virus EDS'76 dan ND diukur dengan titer antibodi yang terbentuk yang dinyatakan dengan uji HI menurut modifikasi prosedur beta hasil lokakarya Keswan II (1978). Tanggap kebal terhadap virus IBD dan IB diukur dengan uji ELISA (*Enzyme Link Immunosorbant Assay*).

Titer HI adalah pengenceran serum tertinggi yang masih dapat mengadakan hambatan hemaglutinasi sel darah merah ayam secara sempurna. Titer antibodi rata-rata dinyatakan dalam GMT (*Geometric Mean Titer*) menurut Villegas et al. (1980).

Titer pada uji ELISA merupakan nilai absorpsi yang diperoleh dengan menggunakan ELISA reader.

Standar pengujian vaksin dilakukan menurut Petunjuk Teknis Pengujian Mutu Obat Hewan, Balai Pengujian Mutu Dan Sertifikasi Obat Hewan (BPMSOH) (1989), Farmakope Obat Hewan Indonesia (Biologik), Direktorat Jenderal Peternakan (1995), *British Pharmacope (Veterinary)*, London (1985), dan Palya, 1991 (*Food and Agricultural Organisation of the United Nation, Rome*).

4.3. Bahan Penelitian

4.3.1. Virus

Virus EDS'76 diperoleh dari BPMSOH, Gunung Sindur, Bogor 16340. Virus dilintaskan pada TBB umur 10 hari sebagai Master Seed Virus (MSV) pada lintasan pertama dan sebagai Working Seed Virus (WSV) pada lintasan kedua. MSV dan WSV disimpan dalam ben-

tuk kering beku dengan menambahkan 10 % *skim milk*. Virus ND, virus IBD dan virus IB diperoleh dari Bidang Produksi Vaksin dan Bidang Pengujian Mutu Vaksin Pusat Veterinaria Farma, Surabaya siap pakai. Virus yang digunakan untuk produksi mempunyai titer awal minimal 10^7 ELD50 atau 10^7 TCID50.

4.3.2. Serum Standar

Serum standar EDS'76, ND, IBD, dan IB diperoleh dari BPMSOH, Gunung Sindur, Bogor 16340.

4.3.3. Telur

TBB diperoleh dari peternakan rakyat di Mojosari.

TAB diperoleh dari Peternakan rakyat di Mojosari.

4.3.4. Hewan Percobaan

Ayam percobaan adalah jenis Lohmann Brown (Jerman Barat), berasal dari Peternakan Multi Breeder, Pasuruan, berumur 15 minggu dan belum divaksinasi dengan vaksin EDS'76, tetapi sudah divaksinasi dengan vaksin ND, IBD dan IB. Ayam sebelum digunakan diperiksa titer antibodinya terhadap virus EDS'76, ND, IBD dan IB. Khusus untuk titer antibodi EDS'76 harus 0. Ayam-ayam yang mengandung titer antibodi terhadap EDS'76 diafkir.

4.3.5. Media Dan Bahan Kimia

Media dan bahan kimia yang digunakan antara lain : media

Eagle (PUSVETMA), serum sapi (PUSVETMA), emulgator Montanide Isa 70 (SEPPIC), formalin (E. Merck), *Beta Propiolactone* (Ferrax), *Bromo Ethyleneamine Hydrobromide* (BDH), darah merah ayam (PUSVETMA), tripsin (PUSVETMA), PBS- (PUSVETMA), NaCl fisiologis (E. Merck), Polyethylene Glycol 6000 (E. Merck).

4.4. Alat

4.4.1. Alat Penelitian

Peralatan laboratorium untuk penelitian antara lain : botol *Roux*, cawan petri, tabung reaksi, *micro plate*, *disposibel spuite*, pipet, botol labu, erlenmeyer, emulsifier, sentrifus dingin, inkubator (37⁰C), ruang dingin (4 - 8⁰C), *inverted microscope*, *magnetic stirer*, *magnetic bar*, *filter holder*.

4.4.2. Kandang Hewan Percobaan

Kandang ayam dibuat dengan sistem baterai, berukuran masing-masing 40 X 36 X 57 cm untuk satu ekor ayam.

4.5. Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Pusat Veterinaria Farma, Surabaya.

4.6. Prosedur Penelitian

4.6.1. Pembuatan Vaksin EDS⁷⁶

4.6.1.1. Konsentrasi Virus EDS'76

Konsentrasi virus ini dimaksudkan untuk memisahkan virus dari cairan alantois atau media TC. Suspensi virus yang sudah diketahui titernya ditambah dengan *Poly Ethylene Glycol* (PEG) - 6000 8% dan NACL 0.85 % kemudian diputar dengan *magnetic stirrer* pada suhu ruang 4⁰C selama satu hari. Hari berikutnya suspensi virus diputar dengan sentrifus dingin (6⁰C) selama 3 jam dengan kecepatan 6000 rpm. Pelet/endapan yang terjadi dipisahkan dengan menuang supernatannya kedalam tempat lain, kemudian endapan diencerkan dengan memperhitungkan titer virus yang akan digunakan yaitu 3.75×10^7 . Untuk menguji apakah virus betul-betul sudah mengendap, dilakukan uji aglutinasi dengan sel darah merah ayam 5% pada supernatan yang sudah dipisahkan dan hasilnya harus tidak terjadi aglutinasi.

4.6.1.2. Pembuatan Biakan Sel Duct Embryo Fibroblast (DEF)

Prosedur yang digunakan berdasar metode FAO, *Animal Production and Animal Health Paper* (Palya, V, 1991) sebagai berikut :

1. Teropong sejumlah TAB atau TBB umur 10 - 11 hari untuk melihat embrio yang hidup.
2. Bersihkan kulit telur dengan desinfektan.
3. Secara steril potong ujung kulit telur melingkar di bawah rongga udara dengan gunting hingga terbuka.
4. Pindahkan embrio pada cawan petri, kemudian buang kepala, sayap, kaki, dan bagian organ dalam.
5. Cuci potongan embrio dengan PBS sekurang kurangnya tiga

kali untuk menghilangkan darahnya

6. Pindahkan embrio dalam beker dan potong-potong dengan gunting.
7. Potong-potong kembali embrio hingga hancur.
8. Tambahkan 0,25% trypsine-versene + 10 ml per embrio dan pindahkan pada botol labu yang sudah dilengkapi potongan magnet.
9. Putar selama lima menit diatas pemutar magnet.
10. Saring dengan saringan teh yang dilapisi kain kasa rangkap tiga.
11. Tambahkan serum sapi dingin sama banyak dan putar dengan sentrifuge dingin selama 10 menit dengan kecepatan 2000 rpm.
12. Buang supernatan dan tambahkan serum sapi dingin sampai isinya mencapai volume semula.
13. Homogenkan dengan pipet dan putar kembali selama 10 menit dengan kecepatan 2000 rpm.
14. Buang bagian atas supernatan, tambahkan lima ml media eagle yang mengandung serum sapi 10%, homogenkan dan hitung jumlah sel dengan menggunakan hemositometer.
15. Bagikan sel kedalam botol Roux, petri, disposabel plate tergantung penggunaannya dengan jumlah $3 - 5 \times 10^5$ per ml per cm luas permukaan.
16. Inkubasikan pada inkubator selama 18 - 24 jam pada suhu 37°C .
17. Keesokan harinya dilihat pertumbuhan selnya. Apabila pertumbuhan sel sudah penuh, sel siap ditanami virus.

4.6.1.3. Propagasi Virus EDS'76 Pada TBB

1. WSV dilarutkan dengan empat ml Na Cl fisiologis 0,85% kemudian disuntikkan kedalam ruang *chorio alantois* TBB umur 10 hari dengan dosis 0,1 ml tiap telur secara *lege-artis*.
2. TBB diinkubasikan pada suhu 37⁰C selama lima hari. TBB yang mati selama observasi diafikir.

4.6.1.4. Panen Virus

1. Telur dicuci dengan desinfektan dan dipotong melingkar dibawah rongga udara sehingga terbuka.
2. Cairan alantois dikumpulkan dan ditambahkan Kanamycin sulfat 200 ug/ ml.
3. Kandungan virus dalam cairan alantois setelah ditetrasi minimal harus mengandung virus 10⁷ ELD50 /ml.

4.6.1.5. Propagasi Virus Pada Biakan Sel DEF

1. WSV dilarutkan dengan empat ml NaCl fisiologis 0, 85%.
2. Buang media biakan sel DEF, dan cuci dengan PBS- dua kali.
3. Inokulasikan empat ml suspensi virus tiap botol Roux pada pada biakan sel.
4. Inkubasikan pada 37⁰C selama satu jam, kemudian tambahkan 100 ml media tanam setiap botol Roux.
5. Inkubasikan kembali pada suhu 37⁰C selama lima hari.

4.6.1.6. Panen Virus

1. Lepaskan biakan sel yang masih melekat pada botol Roux dengan menyemprotkan suspensi virus ke dasar botol.
2. Tuang suspensi virus pada labu dan masukkan dalam *ultra low freezer*, kemudian lakukan *thawing* paling sedikit tiga kali untuk mengeluarkan virus yang masih berada dalam sel.
3. Putar suspensi virus dalam sentrifuge dingin selama 20 menit dengan kecepatan 2000 rpm.
4. Tuang supernatannya dalam labu dan endapan dibuang.
5. Setelah ditetrasi, kandungan virus paling sedikit harus 10^7 TCID₅₀.

4.6.1.7. Inaktivasi Virus EDS⁷⁶, ND, IBD Dan IB

1. Virus EDS⁷⁶ diinaktifkan dengan *Bromo Ethylenamine Hydrobromide* 0,4 % selama 24 jam pada temperatur 37⁰C sedangkan Virus ND, IBD, dan IB diinaktifkan dengan *Beta Propiolactone* 0,3 - 0,4 % selama dua hari pada temperatur 2⁰C - 8⁰C. Selama inkubasi masing-masing virus diputar dengan menggunakan magnet pemutar.
2. Dilakukan uji inaktifasi dengan menggunakan TBB/TAB dan atau biakan sel TBB/TAB.

4.6.1.8. Uji Inaktifasi Pada Virus EDS⁷⁶ (British Pharmacopoeia - Veterinary, 1985)

1. Inokulasikan suspensi virus yang sudah diinaktif pada 10

butir TBB umur 10 hari dengan dosis 0,2 ml per telur ke-
dalam ruang *chorio alantois*.

2. Inkubasikan pada suhu 37⁰C selama tujuh hari.
3. Kumpulkan cairan alantoisnya dalam satu wadah.
4. Inokulasikan kembali pada 10 TBB umur 10 hari ke dalam ruang alantois dengan dosis 0.2 ml.
5. Inkubasikan pada suhu 37⁰C selama tujuh hari.
6. Periksa cairan alantois tiap telur dengan uji HA.
7. Semua telur harus menunjukkan uji HA negatif (tidak menunjukkan adanya hemaglutinasi).

4.6.1.9. Uji Inaktifasi Virus ND, IBD, IB (Palya, 1991)

1. Inokulasikan suspensi virus yang telah diinaktifasi (ND, IBD, IB) pada 10 butir TAB umur 9-10 hari untuk tiap jenis virus pada ruang *chorio alantois* dengan dosis 0,1 ml.
2. Inkubasikan pada suhu 37⁰C selama tujuh hari.
3. Kumpulkan cairan alantois menurut jenis virusnya dan pasasakan kembali pada 10 butir TAB umur 9-10 hari untuk tiap jenis virus dengan dosis 0,2 ml.
4. Inkubasikan pada suhu 37⁰C selama tujuh hari.
5. Untuk vaksin ND, periksa cairan alantois setiap telur dengan prosedur HA cepat. Suspensi virus dinyatakan inaktif apabila semua cairan alantois tidak terjadi hemaglutinasi
6. Untuk virus IBD, periksa perubahan patologis pada em-

brilio. Virus dinyatakan inaktif apabila tidak terjadi perubahan patologis pada embrio berupa bercak-bercak merah merah pada badan embrio. Di samping itu, tanamkan cairan alantois pada biakan sel fibroblas ayam. Tidak boleh terjadi adanya *Cito Pathogenic Effect* (CPE).

7. Untuk virus IB, periksa terhadap perubahan morfologi embrio ayam. Tidak boleh terlihat adanya kekerdilan dan gejala spesifik lainnya. Di samping itu inokulasikan cairan alantois pada biakan sel TBB. Tidak boleh terlihat adanya CPE.

4.6.1.10. Formulasi Vaksin EDS'76 Tunggal

Putar emulgator Montanide ISA 70 dalam emulsifier dan tambahkan sedikit demi sedikit suspensi virus EDS'76 dari bahan cairan alantois atau bahan media biakan virus pada biakan sel dengan perbandingan tiga bagian suspensi virus dan tujuh bagian emulgator.

4.6.1.11. Formulasi Vaksin EDS'76 Ganda

Putar emulgator Montanide ISA 70 dalam *emulsifier* dan tambahkan sedikit demi sedikit campuran suspensi virus EDS'76, ND, IBD, IB dengan perbandingan tiga bagian dari campuran virus dan tujuh bagian emulgator. Formulasi berlaku untuk virus dengan menggunakan bahan propagasi cairan alantois maupun bahan media biakan virus pada biakan jaringan.

4.7. Pengujian Vaksin

4.7.1. Uji Sterilitas

Vaksin ditanam pada media *Serum Dextrose Agar* (SDA), *Sabouroux Agar* (SBA) dan *Thyoglycolate Agar* (TA) sebanyak 0,5 ml dan diratakan pada permukaanya. Media diinkubasikan selama satu minggu pada temperatur 37°C untuk SDA, dan dua minggu untuk SBA, dan TA pada temperatur kamar. Hasil uji dinyatakan baik apabila tidak ada pertumbuhan mikro organisme.

4.6.2. Uji Keamanan

4.6.2.1. Uji Keamanan Vaksin EDS'76 Tunggal

Sepuluh ekor ayam umur 14 - 28 hari disuntik dengan vaksin EDS'76 tunggal dua kali dosis vaksinasi intramuskuler. Pengamatan dilakukan selama 14 hari. Vaksin dinyatakan memenuhi syarat apabila selama pengamatan ayam-ayam tersebut tidak memperlihatkan gejala penyakit dan tidak terjadi reaksi abnormal di sekitar tempat suntikan.

4.6.2.2. Uji keamanan Vaksin EDS'76 Ganda

Sepuluh ekor ayam umur 28 - 35 hari dan 10 ekor ayam umur 21 hari disuntik dengan vaksin EDS'76 polivalen sebanyak satu dosis per ekor secara intramuskuler. Pengamatan dilakukan selama 14 hari. Vaksin dinyatakan memenuhi syarat apabila ayam-ayam yang divaksin tidak menunjukkan gejala abnormal terhadap penyakit EDS'76, ND, IBD dan IB.

4.6.2.3. Uji Tanggap Kebal

4.6.2.3.1. Uji tanggap Kebal Vaksin EDS'76 Tunggal

Uji ini menggunakan ayam ras petelur umur 16 minggu. Lima ekor ayam disuntik dengan vaksin EDS'76 tunggal secara sub kutan, lima ekor secara intra muskuler, lima ekor disuntik dengan adjuvan sebagai kontrol dan lima ekor lainnya disuntik dengan vaksin komersial sebagai pembanding. Pengamatan dilakukan selama 28 hari. Serum ayam baik yang divaksinasi, kontrol dan pembanding diambil dan diperiksa dengan Uji HI. Vaksin dinyatakan baik apabila titer HI dari ayam yang divaksin tidak kurang dari 1 : 128, sedang serum dari ayam kontrol tidak boleh lebih atau sama dengan 1 : 4. Di samping itu, kualitas telur yang diproduksi dari ayam perlakuan, kontrol dan pembanding secara fisik tidak boleh menunjukkan gejala abnormal.

4.6.2.3.2. Uji Tanggap Kebal Vaksin EDS'76 Ganda

Uji ini menggunakan ayam ras petelur umur 16 minggu. Lima ekor ayam disuntik dengan vaksin EDS'76 ganda sub kutan, lima ekor intra muskuler, lima ekor diberi suntikan adjuvan sebagai kontrol dan lima ekor lainnya disuntik dengan vaksin komersial sebagai pembanding. Pengamatan dilakukan selama 28 hari. Serum ayam baik yang divaksin, ayam kontrol dan pembanding diambil serumnya.

Tanggap kebal untuk EDS'76 dilakukan seperti pada indeks 4.6.2.3.1.

Tanggap kebal untuk ND dilakukan dengan mengukur titer HI. Vaksin dinyatakan baik apabila diperoleh titer kurang dari 1 : 64.

Tanggap kebal untuk IBD dan IB dilakukan dengan uji ELISA. Vaksin dianggap baik apabila mempunyai nilai absorpsi lebih besar dari serum kontrol negatif.

Di samping itu, kualitas telur yang dihasilkan dari ayam perlakuan, kontrol dan pembanding tidak boleh menunjukkan gejala abnormal secara fisik.

4.7. Analisis Data

Data titer antibodi sebelum dianalisa, ditransformasikan lebih dahulu kedalam akar ($\sqrt{Y + 0,5}$) menurut Steel dan Torie (1991). Hasil transformasi kemudian dianalisa dengan *Analysis Of Variance* (ANOVA). Apabila ada perbedaan yang bermakna dari beberapa faktor, dilanjutkan dengan uji t. Hasil Uji statistika bermakna, bila diperoleh harga $P \leq 0.05$ (Sarmanu, 1992).

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISA HASIL PENELITIAN

Setelah dilakukan pengamatan, pengukuran dan perhitungan secara seksama diperoleh hasil penelitiann sebagai berikut.

5.1. Hasil Pengujian Vaksin EDS⁷⁶ Inaktif

5.1.1. Uji Inaktifasi Virus

Pengujian inaktifasi virus EDS⁷⁶ dan virus ND menunjukkan hasil baik yaitu dengan tidak terjadinya aglutinasi pada pencampuran antara virus dan eritrosit 5% (negatif) dari semua sampel cairan alantois TBB/TAB pada uji HA cepat. Untuk lebih terperinci dapat dilihat pada tabel 1. Demikian pula halnya dengan hasil pengujian inaktifasi virus IBD dan IB memberikan hasil yang baik yang dapat dilihat dari tidak adanya perubahan patologi, kematian embrio maupun pembentukan CPE seperti dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 1. Hasil Uji Inaktifasi Virus EDS⁷⁶ Dan Virus ND Dengan Uji HA Cepat Pada Cairan Alantois TBB Atau TAB

Jenis Virus	Pasase 1				Pasase 2			
	TBB	TAB	Pos	Neg	TBB	TAB	Pos	Neg
EDS ⁷⁶	10	-	-	10	10	-	-	10
ND	-	10	-	10	-	10	-	10

Pada uji HA cepat, semua sampel menunjukkan hasil negatif.

Tabel 2. Hasil Uji Inaktifasi Virus IBD Dan Virus IB Dengan Melihat Perubahan Patologis/Kematian Embrio Dan Pembentukan CPE

Jenis Virus	Pasase	TAB	Patologis		DEF TC	CEF TC	CPE	
		butir	Pos	Neg	plate	plate	Pos	Neg
IBD	1	10	-	10	-	5	-	5
IB	1	10	-	10	5	-	-	5
IBD	2	10	-	10	-	5	-	5
IB	2	10	-	10	5	-	-	5

Semua sampel pada uji inaktifasi virus IBD dan IB tidak menunjukkan adanya perubahan patologis/kematian, juga tidak timbul pembentukan CPE.

5.1.2. Uji Sterilitas

Pengujian sterilitas vaksin EDS'76 baik pada jenis vaksin tunggal maupun ganda memperlihatkan hasil yang steril yaitu tidak adanya pertumbuhan kuman pada media yang digunakan dari semua sampel selama observasi atau hasilnya negatif seperti dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Sterilitas Vaksin Dengan Menggunakan Media Serum Dextrose Agar, Saburoux Dextrose Agar Dan Thyoglycolate Cair, Masing-Masing 5 Replikasi

Jenis Vaksin	Media SDA	Media SBA	Media Thyo.
EDS'76 (TCA)	Negatif	Negatif	Negatif
EDS'76 (TTC)	Negatif	Negatif	Negatif
EDS'76 (GCA)	Negatif	Negatif	Negatif
EDS'76 (GTC)	Negatif	Negatif	Negatif

Keterangan : TCA : Tunggal Cairan Alantois
 TTC : Tunggal Tissue Culutre
 GCA : Ganda Cairan Alantois
 GTC : Ganda Tissue Culture

5.1.3. Uji Keamanan Vaksin

Pada uji keamanan, baik pada vaksin EDS⁷⁶ tunggal maupun ganda menunjukkan hasil yang baik atau vaksin aman untuk digunakan. Hal tersebut bisa terlihat dengan tidak adanya reaksi lokal pada tempat suntikan, demikian pula tidak terlihat adanya gejala penyakit ND, IBD, IB maupun penyakit lainnya atau hasilnya negatif (tabel 4). Sedangkan uji tanggap kebal dengan uji tantang pada ayam perlakuan yang mengandung antigen ND, menunjukkan hasil yang baik dengan tidak adanya kematian pada semua sampel termasuk pada ayam kontrol yang telah divaksin dengan vaksin ND. Secara rinci dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 4. Uji Keamanan Vaksin EDS⁷⁶ Pada Ayam Umur 21 - 35 hari

Jenis Vaksin	Replikasi Ayam		Reaksi Lokal	Gejala Penyakit
	21 hari	28 hari		
EDS ⁷⁶ (TCA)	10	-	Negatif	Negatif
EDS ⁷⁶ (TTC)	10	-	Negatif	Negatif
EDS ⁷⁶ (GCA)	10	10	Negatif	Negatif
EDS ⁷⁶ (GTC)	10	10	Negatif	Negatif

Ayam pelakuan pada uji keamanan semuanya tidak menunjukkan adanya reaksi abnormal pada tempat suntikan dan tidak menunjukkan gejala penyakit yang bersangkutan maupun penyakit lain.

Tabel 5. Uji Tanggap Kebal Vaksin EDS'76 Ganda Yang Mengandung Antigen ND Dengan Uji Tantang Setelah 28 Hari Vaksinasi (Virus Tantang 10^4 CLD50)

Jenis Vaksin	Replikasi Ayam	Jumlah Kematian	Jumlah Hidup
EDS'76 (GCA)	10	-	10
EDS'76 (GTC)	10	-	10
EDS'76 (Kontrol ADJ)	10	-	10
EDS'76 (VK 2)	10	-	10
EDS'76 (VK 3)	10	-	10

Ayam perlakuan, ayam kontrol dan ayam pembanding tidak menunjukkan adanya gejala penyakit/ kematian.

5.1.4. Uji Tanggap Kebal Pada Ayam Dengan Mengukur Titer Antibodi Terhadap Antigen EDS'76 Pasca Vaksinasi

Pada pengukuran titer antibodi terhadap serum ayam yang divaksinasi dengan vaksin EDS'76 tunggal maupun ganda, baik pada vaksin perlakuan maupun vaksin pembanding menunjukkan hasil yang baik yaitu diatas standar pengujian oleh BPMSOH (1991) dan British Farmacopoeia (Veterinary), 1995 yang menyatakan bahwa titer antibodi HI pada uji potensi tidak boleh kurang dari pengenceran 1/128 atau 2,74 ($\log 2$ setelah ditransformasi dengan $\sqrt{Y + 0,5}$). Hasil tersebut dapat dilihat pada tabel 6. Disamping itu tidak ada perbedaan titer antibodi yang signifikan antara jenis vaksin tunggal dan ganda (tabel 6), antara jenis media propagasi virus alantois dan TC (tabel 7), antara aplikasi vaksin IM dan SK (tabel 8) baik pada vaksin perlakuan maupun komersial serta tidak

ada interaksi antar kombinasi ketiga variabel diatas (tabel 9).

Tabel 6. Rata-Rata Titer Antibodi EDS'76 (log 2 Setelah Ditransformasi Dengan $\sqrt{Y + 0,5}$) Antar Jenis Vaksin EDS'76 Tunggal Dan Ganda Pasca Vaksinasi

Jenis Vaksin	Rata-Rata Titer Antibodi			Simpangan Baku
B1 (TCA)	3,19 ^a	-	3,19 ^a	0,11
B2 (TCC)	-	3,16 ^a	3,16 ^a	0,43
B3 (GCA)	3,14 ^a	-	3,14 ^a	0,22
B4 (GTC)	-	3,26 ^a	3,26 ^a	0,29
B5 (ADJ)	0,71 ^b	0,71 ^b	0,71 ^b	0,00
B6 (VK1)	-	2,91 ^c	2,91 ^c	0,26
B7 (VK2)	2,80 ^c	2,80 ^c	2,80 ^c	0,21
B8 (VK3)	2,76 ^c	2,76 ^c	2,76 ^c	0,46

Nilai rata-rata pada kolom sama yang diikuti superskrip berbeda, berbeda nyata ($p < 0,05$), lampiran 1

Tabel 7. Rata-Rata Titer Antibodi EDS'76 (Log 2 Setelah Ditransformasi Dengan $\sqrt{Y + 0,5}$) Antar Jenis Media Propagasi Alantois Dan Tissue Culture Pasca Vaksinasi

Jenis Media Propagasi	Rata-Rata Titer Antibodi				Simpangan Baku
B 1 (TCA)	3,19 ^a	3,19 ^a	-	-	0,11
B 2 (TTC)	3,17 ^a	-	3,17 ^a	-	0,43
B 3 (GCA)	-	-	3,14 ^a	3,14 ^a	0,22
B 4 (GTC)	-	3,26 ^a	-	3,26 ^a	0,29
B 5 (ADJ)	0,71 ^b	0,71 ^b	0,71 ^b	0,71 ^b	0,00
B 6 (VK1)	2,91 ^c	2,91 ^c	-	-	0,26
B 7 (VK2)	2,80 ^c	2,80 ^c	2,80 ^c	2,80 ^c	0,21
B 8 (VK3)	2,76 ^c	2,76 ^c	2,76 ^c	2,76 ^c	0,46

Nilai rata-rata pada kolom sama yang diikuti superskrip berbeda, berbeda nyata ($p < 0,05$), lampiran 1.

Tabel 8. Rata-Rata Titer Antibodi EDS'76 (Log 2 Setelah ditransformasi Dengan $\sqrt{Y + 0,5}$) Antar Aplikasi Vaksin Intra Muskuler Dan Sub Kutan Pasca Vaksinasi

Aplikasi Vaksin	Rata-Rata Titer Antibodi	Simpangan Baku
A 1 (IM)	2,69 ^a	0,81
A 2 (SK)	2,79 ^a	0,88

Nilai rata-rata pada kolom sama yang diikuti superskrip sama, tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), lampiran 1.

Tabel 9. Rata-Rata Titer Antibodi EDS⁷⁶ Kombinasi (Log 2 Setelah Ditransformasi Dengan $\sqrt{Y + 0,5}$) Antar Jenis Vaksin, Jenis Media Propagasi Virus Dan Aplikasi Vaksin Pasca Vaksinasi

Kombinasi Vaksin	Rata-Rata Titer Antibodi	Simpangan Baku
A1B1 (IM, TCA)	3,15 ^a	0,09
A1B2 (IM, TTC)	2,98 ^a	0,53
A1B3 (IM, GCA)	3,11 ^a	0,22
A1B4 (IM, GTC)	3,10 ^a	0,34
A1B5 (IM, ADJ)	0,71 ^a	0,00
A1B6 (IM, VK1)	2,91 ^a	0,12
A1B7 (IM, VK2)	2,77 ^a	0,23
A1B8 (IM, VK3)	2,81 ^a	0,20
A2B1 (SK, TCA)	3,24 ^a	0,11
A2B2 (SK, TTC)	3,36 ^a	0,20
A2B3 (SK, GCA)	3,17 ^a	0,23
A2B4 (SK, GTC)	3,42 ^a	0,07
A2B5 (SK, ADJ)	0,71 ^a	0,00
A2B6 (SK, VK1)	2,90 ^a	0,37
A2B7 (SK, VK2)	2,84 ^a	0,20
A2B8 (SK, VK3)	2,71 ^a	0,66

Nilai rata-rata pada kolom sama yang diikuti superskrip sama tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), lampiran 1

5.1.5. Uji Tanggap Kebal Pada Ayam Dengan Mengukur Titer Antibodi Terhadap Antigen ND Pra Vaksinasi Dan Pasca Vaksinasi

Dari pengukuran titer antibodi ND menunjukkan bahwa titer yang didapat pasca vaksinasi antara vaksin EDS tunggal dan ganda baik antar vaksin perlakuan maupun komersial berbeda nyata ($p < 0,05$) yang dapat dilihat pada tabel 13. Pada vaksin antara jenis propagasi virus CA dan TC tidak menunjukkan perbedaan titer baik pada sesama vaksin tunggal dan sesama vaksin ganda perlakuan maupun komersial ($p > 0,05$), tetapi perbedaan terlihat antara vaksin tunggal dan ganda. Adanya titer antibodi pada vaksin kontrol (ADJ) karena ayam yang digunakan telah divaksinasi dengan vaksin ND (tabel 14). Antara aplikasi vaksin intra muskuler dan sub kutan tidak terlihat adanya perbedaan titer ($p > 0,05$) pada tabel 15, disamping itu tidak menunjukkan adanya interaksi antar variabel tersebut diatas ($p > 0,05$) pada tabel 16.

Pada pengukuran titer antibodi pra vaksinasi (tabel 10, tabel 11, tabel 12 tidak dapat diperbandingkan karena tidak diketahui jenis vaksin dan media propagasi virus yang digunakan serta tidak diketahui cara aplikasinya.

Tabel 10. Rata-Rata Titer Antibodi ND (Log 2 Setelah Ditransformasi Dengan $\sqrt{Y + 0,5}$) Antar Jenis Vaksin EDS'76 Tunggal Dan Ganda Serta Rata-Rata Titer Antibodi ND Jenis Media Propagasi alantois Dan Tissue Culture Pra Vaksinasi

Jenis Vaksin /Jenis Media Propagasi	Rata-Rata Titer Antibodi	Simpangan Baku
B 1 (TCA)	2,90 ^a	0,27
B 2 (TTC)	2,90 ^a	0,32
B 3 (GCA)	2,85 ^a	0,28
B 4 (GTC)	2,87 ^a	0,26
B 5 (ADJ)	2,60 ^a	0,50
B 6 (VK1)	2,54 ^a	0,72
B 7 (VK2)	2,98 ^a	0,34
B 8 (VK3)	2,84 ^a	0,36

Nilai rata-rata pada kolom sama yang diikuti superskrip sama, tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), lampiran 2.

Tabel 11. Rata-Rata Titer Antibodi ND (Log 2 Setelah Ditransformasi Dengan $\sqrt{Y + 0,5}$) Antar Aplikasi Vaksin Intra-Muskuler Dan Sub Kutan Pra Vaksinasi

Aplikasi Vaksin	Rata-Rata Titer Antibodi	Simpangan Baku
A 1 (IM)	2,80 ^a	0,48
A 2 (SK)	2,82 ^a	0,35

Nilai rata-rata pada kolom sama yang diikuti superskrip sama, tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), lampiran 2.

Tabel 12. Rata-Rata Titer Antibodi ND Kombinasi (Log 2 Setelah Ditransformasi Dengan $\sqrt{Y + 0,5}$) Antar Jenis Vaksin, Jenis Media Propagasi Virus Dan Aplikasi Vaksin Pra Vaksinasi

Kombinasi Vaksin	Rata-Rata Titer Antibodi	Simpangan Baku
A1B1 (IM, TCA)	2,98 ^a	0,24
A1B2 (IM, TTC)	2,86 ^a	0,42
A1B3 (IM, GCA)	2,80 ^a	0,24
A1B4 (IM, GTC)	2,80 ^a	0,24
A1B5 (IM, ADJ)	2,76 ^a	0,59
A1B6 (IM, VK1)	2,28 ^a	0,95
A1B7 (IM, VK2)	3,00 ^a	0,33
A1B8 (IM, VK3)	2,94 ^a	0,31
A2B1 (SK, TCA)	2,83 ^a	0,31
A2B2 (SK, TTC)	2,94 ^a	0,23
A2B3 (SK, GCA)	2,90 ^a	0,34
A2B4 (SK, GTC)	2,94 ^a	0,28
A2B5 (SK, ADJ)	2,44 ^a	0,40
A2B6 (SK, VK1)	2,80 ^a	0,31
A2B7 (SK, VK2)	2,96 ^a	0,38
A2B8 (SK, VK3)	2,75 ^a	0,41

Nilai rata-rata pada kolom sama yang diikuti superskrip sama tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), lampiran 2.

Tabel 13. Rata-Rata Titer Antibodi ND (Log 2 Setelah ditransformasi Dengan $\sqrt{Y + 0,5}$) Antar Jenis Vaksin EDS'76 Tunggal Dan Ganda Pasca Vaksinasi

Jenis Vaksin		Rata-Rata Titer Antibodi		Simpangan Baku	
B 1 (TCA)	2,80 ^a	-	2,80 ^a	-	0,23
B 2 (TTC)	-	2,84 ^a	-	2,84 ^a	0,22
B 3 (GCA)	3,14 ^b	-	-	3,14 ^b	0,14
B 4 (GTC)	-	3,10 ^b	3,10 ^b	-	0,14
B 5 (ADJ)	2,46 ^c	2,46 ^c	2,46 ^c	2,46 ^c	0,29
B 6 (VK1)	2,57 ^c	2,57 ^c	2,57 ^c	2,57 ^c	0,47
B 7 (VK2)	3,34 ^b	3,34 ^d	3,34 ^d	3,34 ^d	0,13
B 8 (VK3)	-	3,01 ^a	-	-	0,25

Nilai rata-rata pada kolom sama yang diikuti superskrip berbeda, berbeda nyata ($p < 0,05$), lampiran 3.

Tabel 14. Rata-rata Titer Antibodi ND (Log 2 Setelah ditransformasi Dengan $\sqrt{Y + 0,5}$) Antar Jenis Media Propagasi Alantois Dan Tissue Culture Pasca Vaksinasi

Jenis Media Propagasi	Rata-Rata Titer Antibodi				Simpangan Baku
B 1 (TCA)	2,80 ^a	-	2,80 ^a	-	0,23
B 2 (TTC)	2,84 ^a	-	-	2,84 ^a	0,22
B 3 (GCA)	-	3,14 ^a	-	3,14 ^b	0,14
B 4 (GTC)	-	3,10 ^a	3,10 ^b	-	0,14
B 5 (ADJ)	2,46 ^b	2,46 ^b	2,46 ^c	2,46 ^c	0,29
B 6 (VK1)	2,57 ^b	2,57 ^b	2,57 ^c	2,57 ^c	0,47
B 7 (VK2)	3,34 ^c	3,34 ^c	3,34 ^c	-	0,13
B 8 (VK3)	3,01 ^a	3,01 ^a	-	-	0,25

Nilai rata-rata pada kolom sama yang diikuti superskrip berbeda, berbeda nyata ($p < 0,05$), lampiran 3.

Tabel 15. Rata-Rata Titer Antibodi ND (Log 2 Setelah Ditransformasi Dengan $\sqrt{Y + 0,5}$) Antar Aplikasi Vaksin Intra-Muskuler Dan Sub Kutan Pasca Vaksinasi

Aplikasi Vaksin	Rata-Rata Titer Antibodi		Simpangan Baku
A 1 (IM)	2,91 ^a		0,39
A 2 (SK)	2,90 ^a		0,36

Nilai rata-rata pada kolom sama yang diikuti superskrip sama, tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), lampiran 3

Tabel 16. Rata-Rata Titer antibodi ND Kombinasi (Log 2 Setelah Ditransformasi Dengan $\sqrt{Y + 0,5}$) Antar Jenis Vaksin, Jenis Media Propagasi Virus Dan Aplikasi Vaksin Pasca Vaksinasi

Kombinasi Vaksin	Rata-Rata Titer Antibodi	Simpangan Baku
A1B1 (IM, TCA)	2,87 ^a	0,30
A1B2 (IM, TTC)	2,88 ^a	0,14
A1B3 (IM, GCA)	3,11 ^a	0,18
A1B4 (IM, GTC)	3,11 ^a	0,18
A1B5 (IM, ADJ)	2,53 ^a	0,38
A1B6 (IM, VK1)	2,44 ^a	0,46
A1B7 (IM, VK2)	3,36 ^a	0,07
A1B8 (IM, VK3)	3,01 ^a	0,29
A2B1 (SK, TCA)	2,74 ^a	0,13
A2B2 (SK, TTC)	2,80 ^a	0,28
A2B3 (SK, GCA)	3,18 ^a	0,19
A2B4 (SK, GTC)	3,08 ^a	0,12
A2B5 (SK, ADJ)	2,38 ^a	0,18
A2B6 (SK, VK1)	2,70 ^a	0,50
A2B7 (SK, VK2)	3,33 ^a	0,17
A2B8 (SK, VK3)	3,01 ^a	0,25

Nilai rata-rata pada kolom sama yang diikuti superskrip sama tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), lampiran 3.

5.1.6. Uji Tanggap Kebal Pada Ayam Dengan Mengukur Titer Antibodi Terhadap Antigen IBD Pra Vaksinasi Dan Pasca Vaksinasi

Dari pengukuran titer antibodi IBD menunjukkan bahwa pada vaksin tunggal perlakuan terjadi penurunan titer dari 1,55 (TCA) dan 1,56 (TTC) pra vaksinasi pada tabel 17 menjadi 1,09 (TCA) dan 1,20 (TTC) pasca vaksinasi pada tabel 21, juga pada vaksin kontrol (ADJ) karena vaksin tersebut tidak mengandung antigen IBD. Sebaliknya pada vaksin ganda perlakuan terjadi peningkatan titer dari 1,16 (GCA) dan 1,15 (GTC) pra vaksinasi (tabel 17) menjadi 1,55 (GCA) dan 1,32 (GTC) pasca vaksinasi (tabel 21) karena vaksin mengandung antigen IBD. Pada vaksin komersial ganda (VK2) titer antibodi turun karena tidak ada antigen IBD, sebaliknya vaksin ganda (VK3) ada kenaikan titer karena vaksin mengandung antigen IBD. Walaupun terlihat ada kenaikan titer antibodi pada vaksin ganda yang mengandung antigen IBD, tetapi belum dapat dikatakan vaksinasi berhasil baik karena belum ada standar baku sampai sejauh mana titer antibodi ELISA dapat menahan tantangan virus ganas.

Titer yang didapat pasca vaksinasi pada tabel 21, antara vaksin tunggal dan vaksin ganda perlakuan tidak berbeda nyata walaupun ada 2 kelompok yang mempunyai kesamaan titer. Hal ini kemungkinan disebabkan adanya data yang tidak homogen. Untuk vaksin yang menggunakan jenis propagasi virus CA dan TC hasilnya tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) yang dapat dilihat pada tabel 22, demikian juga antara aplikasi vaksin intra muskuler dan sub kutan

(tabel 23) serta tidak terjadi interaksi antara variabel tersebut diatas (tabel 24).

Pengukuran titer antibodi pra vaksinasi (tabel 17, 18, 19 dan 20) tidak dapat diperbandingkan karena tidak diketahui jenis vaksin dan jenis media propagasi virus yang digunakan serta tidak diketahui cara aplikasinya.

Tabel 17. Rata-Rata Titer Antibodi IBD Antar Jenis Vaksin EDS'76 Tunggal Dan Ganda Pra Vaksinasi

Jenis Vaksin	Rata-Rata Titer Antibodi				Simpangan Baku
B 1 (TCA)	1,55 ^a	-	1,55 ^a	-	0,21
B 2 (TTC)	-	1,56 ^a	-	1,56 ^a	0,17
B 3 (GCA)	1,16 ^b	-	-	1,16 ^b	0,33
B 4 (GTC)	-	1,15 ^b	1,15 ^b	-	0,28
B 5 (ADJ)	1,05 ^b	1,05 ^b	1,05 ^b	1,05 ^b	0,07
B 6 (VK1)	0,95 ^b	-	-	-	0,20
B 7 (VK2)	1,08 ^b	1,08 ^b	1,08 ^b	1,08 ^b	0,30
B 8 (VK3)	-	1,01 ^b	1,01 ^b	1,01 ^b	0,05

Nilai rata-rata pada kolom sama yang diikuti superskrip berbeda, berbeda nyata ($p < 0,05$), lampiran 4

Tabel 18. Rata-Rata Titer Antibodi IBD Antar Jenis Media Propagasi Alantois Dan Tissue Culture Pra Vaksinasi

Jenis Media Propagasi	Rata-Rata Titer Antibodi				Simpangan Baku
B 1 (TCA)	1,55 ^a	-	1,55 ^a	-	0,21
B 2 (TTC)	1,56 ^a	-		1,56 ^a	0,17
B 3 (GCA)		1,16 ^b	-	1,16 ^b	0,33
B 4 (GTC)	-	1,15 ^b	1,15 ^b	-	0,28
B 5 (ADJ)	1,05 ^b	1,05 ^b	1,05 ^b	1,05 ^b	0,07
B 6 (VK1)	0,95 ^b	-	-	-	0,20
B 7 (VK2)	1,08 ^b	1,08 ^b	1,08 ^b	1,08 ^b	0,30
B 8 (VK3)	1,08 ^b	1,01 ^b	1,01 ^b	1,01 ^b	0,05

Nilai rata-rata pada kolom sama yang diikuti superskrip berbeda, berbeda nyata ($p < 0,05$), lampiran 4.

Tabel 19. Rata-Rata Titer Antibodi IBD Jenis Aplikasi Vaksin Intra Muskuler Dan Sub Kutan Pra Vaksinasi

Aplikasi Vaksin	Rata-Rata Titer Antibodi		Simpangan Baku
A 1 (IM)	1,19 ^a		0,33
A 2 (SK)	1,19 ^a		0,29

Nilai rata-rata pada kolom sama yang diikuti superskrip sama, tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), lampiran 4.

Tabel 20. Rata-Rata Titer Antibodi IBD Kombinasi Antar Jenis Vaksin, Jenis Media Propagasi Dan Aplikasi Vaksin Pra Vaksinasi

Kombinasi Vaksin	Rata-Rata Titer Antibodi	Simpangan Baku
A1B1 (IM, TCA)	1,57 ^a	0,23
A1B2 (IM, TTC)	1,61 ^a	0,13
A1B3 (IM, GCA)	1,18 ^a	0,38
A1B4 (IM, GTC)	1,24 ^a	0,31
A1B5 (IM, ADJ)	1,04 ^a	0,09
A1B6 (IM, VK1)	0,86 ^a	0,24
A1B7 (IM, VK2)	0,98 ^a	0,03
A1B8 (IM, VK3)	1,00 ^a	0,06
A2B1 (SK, TCA)	1,53 ^a	0,21
A2B2 (SK, TTC)	1,51 ^a	0,20
A2B3 (SK, GCA)	1,13 ^a	0,32
A2B4 (SK, GTC)	1,06 ^a	0,26
A2B5 (SK, ADJ)	1,07 ^a	0,03
A2B6 (SK, VK1)	1,05 ^a	0,07
A2B7 (SK, VK2)	1,19 ^a	0,42
A2B8 (SK, VK3)	1,02 ^a	0,24

Nilai rata-rata pada kolom sama yang diikuti superskrip sama tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), lampiran 4.

Tabel 21. Rata-Rata Titer Antibodi IBD Antar Jenis Vaksin EDS'76 Tunggal Dan Ganda Pasca Vaksinasi

Jenis Vaksin	Rata-Rata Titer Antibodi				Simpangan Baku
B 1 (TCA)	1,09 ^a	-	1,09 ^a	-	0,39
B 2 (TTC)	-	1,20 ^a	-	1,20 ^a	0,32
B 3 (GCA)	1,32 ^b	-	-	1,32 ^a	0,35
B 4 (GTC)	-	1,55 ^b	1,55 ^b	-	0,15
B 5 (ADJ)	0,97 ^a	0,97 ^c	0,97 ^a	0,97 ^b	0,01
B 6 (VK1)	1,01 ^a	-	1,01 ^a	1,01 ^b	0,05
B 7 (VK2)	0,97 ^a	0,97 ^c	0,97 ^a	0,97 ^b	0,04
B 8 (VK3)	-	-	1,12 ^a	1,12 ^b	0,30

Nilai rata-rata pada kolom sama yang diikuti superskrip berbeda, berbeda nyata ($p < 0,05$), lampiran 5.

Tabel 22. Rata-Rata Titer Antibodi IBD Antar Jenis Media Propagasi Alantois Dan Tissue Culture Pasca Vaksinasi

Jenis Media Propagasi	Rata-Rata Titer Antibodi				Simpangan Baku
B 1 (TCA)	1,09 ^a	-	1,09 ^a	-	0,39
B 2 (TTC)	1,20 ^a	-	-	1,20 ^a	0,32
B 3 (GCA)	-	1,32 ^a	-	1,32 ^b	0,35
B 4 (GTC)	-	1,55 ^b	1,55 ^b	-	0,15
B 5 (ADJ)	-	0,97 ^c	0,97 ^a	0,97 ^c	0,01
B 6 (VK1)	1,01 ^a	1,01 ^c	-	-	0,05
B 7 (VK2)	-	0,97 ^c	0,97 ^a	0,97 ^c	0,04
B 8 (VK3)	1,12 ^a	1,12 ^c	1,12 ^a	-	0,30

Nilai rata-rata pada kolom sama yang diikuti superskrip berbeda, berbeda nyata ($p < 0,05$), lampiran 5.

Tabel 23. Rata-Rata Titer Antibodi IBD Antar Aplikasi Vaksin Intra Muskuler Dan Sub Kutan Pasca Vaksinasi

Aplikasi vaksin	Rata-Rata Titer Antibodi	Simpangan Baku
A 1 (IM)	1,18 ^a	0,33
A 2 (SK)	1,13 ^a	0,27

Nilai rata-rata pada kolom sama yang diikuti superskrip sama, tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), lampiran 5.

Tabel 24. Rata-Rata Titer Antibodi IBD Kombinasi Antar Jenis Vaksin, Jenis Media Propagasi Dan Aplikasi Vaksin Pasca Vaksinasi

Kombinasi Vaksin	Rata-Rata Titer Antibodi	Simpangan Baku
A1B1 (IM, TCA)	1,17 ^a	0,56
A1B2 (IM, TTC)	1,29 ^a	0,33
A1B3 (IM, GCA)	1,37 ^a	0,30
A1B4 (IM, GTC)	1,48 ^a	0,17
A1B5 (IM, ADJ)	0,97 ^a	0,01
A1B6 (IM, VK1)	1,00 ^a	0,07
A1B7 (IM, VK2)	0,95 ^a	0,04
A1B8 (IM, VK3)	1,20 ^a	0,43
A2B1 (SK, TCA)	1,00 ^a	0,14
A2B2 (SK, TTC)	1,10 ^a	0,32
A2B3 (SK, GCA)	1,28 ^a	0,43
A2B4 (SK, GTC)	1,62 ^a	0,09
A2B5 (SK, ADJ)	1,98 ^a	0,01
A2B6 (SK, VK1)	1,03 ^a	0,03
A2B7 (SK, VK2)	0,98 ^a	0,03
A2B8 (SK, VK3)	1,04 ^a	0,04

Nilai rata-rata pada kolom sama yang diikuti superskrip sama, tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), lampiran 5.

5.1.7. Uji Tanggap Kebal Pada Ayam Dengan Mengukur Titer Antibodi Terhadap Antigen IB Pra Vaksinasi Dan Pasca Vaksinasi

Dari pengukuran titer antibodi IB menunjukkan bahwa pada vaksin tunggal perlakuan terjadi penurunan titer dari titer 1,63 (TCA) dan 1,57 (TTC) pra vaksinasi pada tabel 25 menjadi 1,08 (TCA) dan 1,16 (TTC) pasca vaksinasi pada tabel 29, demikian juga pada vaksin kontrol (ADJ), karena vaksin tersebut tidak mengandung antigen IB. Sebaliknya pada vaksin ganda perlakuan terjadi peningkatan titer dari 1,12 (GCA) dan 1,04 (GTC) pra vaksinasi (tabel 17) menjadi 1,34 (GCA) dan 1,55 (GTC) pasca vaksinasi (tabel 21) karena vaksin mengandung antigen IB. Pada vaksin komersial ganda (VK2) titer antibodi turun karena tidak ada antigen IB, sebaliknya (VK3) ada kenaikan titer karena mengandung antigen IB. Walaupun hasil penelitian menunjukkan adanya kenaikan titer antibodi pada vaksin ganda yang mengandung antigen IB, vaksinasi belum dapat dikatakan memenuhi persyaratan karena belum ada standar baku sampai sejauh mana titer antibodi ELISA dapat menahan tantangan virus ganas.

Titer yang didapat pasca vaksinasi pada tabel 29 antara vaksin tunggal dan vaksin ganda perlakuan tidak berbeda nyata walaupun ada 2 kelompok yang mempunyai kesamaan titer. Hal ini kemungkinan disebabkan adanya data yang tidak homogen. Untuk vaksin yang menggunakan jenis propagasi virus alantois dan TC

hasilnya tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) yang dapat dilihat pada tabel 30, demikian juga antara aplikasi vaksin intra muskuler dan sub kutan (tabel 31) serta tidak terjadi interaksi antara variabel tersebut diatas (tabel 32).

Titer antibodi pra vaksinasi pada tabel 25, 26, 27, 28 tidak bisa diperbandingkan karena tidak diketahui jenis vaksin dan jenis media propagasi virus yang digunakan serta tidak diketahui cara aplikasinya.

Tabel 25. Rata-Rata Titer Antibodi IB Antar Jenis Vaksin EDS'76 Tunggal Dan Ganda Pra Vaksinasi

Jenis Vaksin	Rata-Rata Titer Antibodi				Simpangan Baku
B 1 TCA)	1,63 ^a	-	1,63 ^a	-	0,13
B 2 (TTC)	-	1,57 ^a	-	1,57 ^a	0,18
B 3 (GCA)	1,12 ^b	-	-	1,12 ^b	0,27
B 4 (GTC)	-	1,04 ^b	1,04 ^b	-	0,34
B 5 (ADJ)	1,03 ^b	1,03 ^b	1,03 ^b	1,03 ^b	0,04
B 6 (VK1)	1,01 ^b	1,01 ^b	1,01 ^b	1,01 ^b	0,03
B 7 (VK2)	-	0,95 ^b	0,95 ^b	-	0,02
B 8 (VK3)	1,01 ^b	1,01 ^b	1,01 ^b	1,01 ^b	0,04

Nilai rata-rata pada kolom sama yang diikuti superskrip berbeda, berbeda nyata ($p < 0,05$), lampiran 6.

Tabel 26. Rata-Rata Titer Antibodi IB Antar Jenis Media Propagasi Alantois Dan Tissue Culture Pra Vaksinasi

Jenis Media Propagasi	Rata-Rata Titer Antibodi				Simpangan Baku
B 1 (TCA)	1,63 ^a	-	1,63 ^a	-	0,13
B 2 (TTC)	1,57 ^a	1,57 ^a	-	-	0,18
B 3 (GCA)	-	1,12 ^b	-	1,12 ^b	0,27
B 4 (GTC)	-	-	1,04 ^b	1,04 ^b	0,34
B 5 (ADJ)	1,03 ^b	1,03 ^b	1,03 ^b	1,03 ^b	0,04
B 6 (VK1)	1,01 ^b	1,01 ^b	1,01 ^b	1,01 ^b	0,03
B 7 (VK2)	0,95 ^b	-	0,95 ^b	-	0,02
B 8 (VK3)	1,01 ^b	1,01 ^b	1,01 ^b	1,01 ^b	0,04

Nilai rata-rata pada kolom sama yang diikuti superskrip berbeda, berbeda nyata ($p < 0,05$), lampiran 6

Tabel 27. Rata-Rata Titer Antibodi IB Antar Aplikasi Vaksin Intra Muskuler Dan Sub Kutan Pra Vaksinasi

Aplikasi Vaksin	Rata-Rata Titer Antibodi	Simpangan Baku
A 1 (IM)	1,20 ^a	0,33
A 2 (SK)	1,14 ^a	0,28

Nilai rata-rata pada kolom sama yang diikuti superskrip sama, tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), lampiran 6.

Tabel 28. Rata-Rata Titer Antibodi IB Kombinasi Antar Jenis Vaksin, Jenis Media Propagasi Dan Aplikasi Vaksin Pra Vaksinasi

Kombinasi Vaksin	Rata-Rata Titer Antibodi	Simpangan Baku
A1B1 (IM, TCA)	1,69 ^a	0,72
A1B2 (IM, TTC)	1,66 ^a	0,18
A1B3 (IM, GCA)	1,14 ^a	0,37
A1B4 (IM, GTC)	1,19 ^a	0,27
A1B5 (IM, ADJ)	1,03 ^a	0,06
A1B6 (IM, VK1)	0,98 ^a	0,02
A1B7 (IM, VK2)	0,95 ^a	0,02
A1B8 (IM, VK3)	1,01 ^a	0,04
A2B1 (SK, TCA)	1,56 ^a	0,14
A2B2 (SK, TTC)	1,49 ^a	0,15
A2B3 (SK, GCA)	1,10 ^a	0,17
A2B4 (SK, GTC)	0,90 ^a	0,36
A2B5 (SK, ADJ)	1,03 ^a	0,02
A2B6 (SK, VK1)	1,32 ^a	0,05
A2B7 (SK, VK2)	0,96 ^a	0,02
A2B8 (SK, VK3)	1,02 ^a	0,04

Nilai rata-rata pada kolom sama yang diikuti superskrip sama tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), lampiran 6.

Tabel 29. Rata-Rata Titer Antibodi IB Antar Jenis Vaksin EDS'76 Tunggal Dan Ganda Pasca Vaksinasi

Jenis Vaksin	Rata-Rata Titer Antibodi			Simpangan Baku	
B 1 (TCA)	1,08 ^a	-	1,08 ^a	-	0,21
B 2 (TTC)	-	1,18 ^a	-	1,18 ^a	0,25
B 3 (GCA)	1,34 ^b	-	-	1,34 ^a	0,40
B 4 (GTC)	-	1,55 ^b	1,55 ^b	-	0,18
B 5 (ADJ)	0,92 ^a	0,92 ^c	-	0,92 ^c	0,03
B 6 (VK1)	0,98 ^a	0,98 ^c	-	0,98 ^c	0,06
B 7 (VK2)	0,97 ^a	0,97 ^c	-	0,97 ^c	0,03
B 8 (VK3)	1,00 ^a	1,00 ^c	-	1,00 ^c	0,04

Nilai rata-rata pada kolom sama yang diikuti superskrip berbeda, berbeda nyata ($p < 0,05$), lampiran 7.

Tabel 30. Rata-Rata Titer Antibodi IB Antar Jenis Media Propagasi Alantois Dan Media Tissue Culture Pasca Vaksinasi

Jenis Media Propagasi	Rata-Rata Titer Antibodi		Simpangan Baku		
B 1 (TCA)	1,08 ^a	-	1,08 ^a	-	0,21
B 2 (TTC)	1,18 ^a	1,18 ^a	-	-	0,25
B 3 (GCA)	-	1,34 ^a	-	1,34 ^a	0,40
B 4 (GTC)	-	-	1,55 ^b	1,55 ^b	0,18
B 5 (ADJ)	-	0,92 ^c	0,92 ^a	0,92 ^c	0,03
B 6 (VK1)	-	0,98 ^c	-	0,98 ^c	0,06
B 7 (VK2)	-	0,97 ^c	-	0,97 ^c	0,03
B 8 (VK3)	-	1,00 ^c	-	1,00 ^c	0,04

Nilai rata-rata pada kolom sama yang diikuti superskrip berbeda, berbeda nyata ($p < 0,05$), lampiran 7.

Tabel 31. Rata-Rata Titer Antibodi IB Antar Aplikasi Vaksin Intra Muskuler Dan Sub Kutan Pasca Vaksinasi

Aplikasi Vaksin	Rata-Rata Titer Antibodi		Simpangan Baku	
A 1 (IM)	-	1,10 ^a	-	0,29
A 2 (SK)	-	1,15 ^a	-	0,27

Nilai rata-rata pada kolom sama yang diikuti superskrip sama, tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), lampiran 7.

Tabel 32. Rata-Rata Titer Antibodi IB Kombinasi Antar Jenis Vaksin, Jenis Media Propagasi Dan Aplikasi Vaksin Pasca Vaksinasi

Kombinasi Vaksin	Rata-Rata Titer Antibodi	Simpangan Baku
A1B1 (IM, TCA)	1,08 ^a	0,22
A1B2 (IM, TTC)	1,09 ^a	0,28
A1B3 (IM, GCA)	1,23 ^a	0,52
A1B4 (IM, GTC)	1,56 ^a	0,05
A1B5 (IM, ADJ)	0,91 ^a	0,03
A1B6 (IM, VK1)	0,98 ^a	0,09
A1B7 (IM, VK2)	0,96 ^a	0,02
A1B8 (IM, VK3)	1,01 ^a	0,04
A2B1 (SK, TCA)	1,08 ^a	0,23
A2B2 (SK, TTC)	1,28 ^a	0,21
A2B3 (SK, GCA)	1,45 ^a	0,24
A2B4 (SK, GTC)	1,53 ^a	0,27
A2B5 (SK, ADJ)	0,93 ^a	0,02
A2B6 (SK, VK1)	1,00 ^a	0,02
A2B7 (SK, VK2)	0,98 ^a	0,03
A2B8 (SK, VK3)	0,99 ^a	0,05

Nilai rata-rata pada kolom sama yang diikuti superskrip sama, tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), lampiran 7.

5.1.8. Hasil Pengamatan Telur

Semua telur dari ayam-ayam yang divaksinasi dengan vaksin EDS'76 baik dari ayam perlakuan, ayam kontrol, maupun ayam yang divaksin dengan vaksin pembanding tidak menunjukkan adanya kelainan fisik telur seperti pengurangan pigmen, bentuk abnormal dan kelainan pada kerabang telur (kerabang lunak) selama masa observasi. Observasi dilakukan mulai pertama kali ayam bertelur sampai ayam bertelur 10 kali. Dalam hal ini telur yang diamati sesuai dengan jumlah ayam yang digunakan yaitu 80 ekor, setiap ekor diamati sampai 10 kali bertelur sehingga jumlah keseluruhan adalah 800 butir.

BAB 6

PEMBAHASAN

Dari hasil pengujian vaksin EDS⁷⁶ inaktif, uji inaktivasi virus EDS⁷⁶ dan virus ND (tabel 1), virus IBD dan virus IB (tabel 2); uji sterilitas vaksin (tabel 3); uji keamanan (tabel 4) menunjukkan vaksin tersebut telah memenuhi persyaratan, artinya virus yang digunakan telah inaktif, tidak tercemar kuman lain (steril), dan aman tidak menimbulkan penyakit atau gejala abnormal lainnya sesuai dengan standar pengujian mutu BPMSOH (1989) serta *British Pharmacopoeia (Veterinary)*, 1985. Namun untuk menyatakan bahwa vaksin tersebut dapat memenuhi sasarnya masih harus melalui tahapan uji yang lain diantaranya uji terhadap tanggap kebal.

Uji tanggap kebal pada vaksin EDS⁷⁶ dinyatakan dengan mengukur titer antibodi. Tanggap kebal humoral akan membangkitkan produksi antibodi yang spesifik terhadap substansi asing dalam serum beberapa saat setelah berlangsungnya perubahan perubahan seluler seperti pengenalan, transformasi sel, pembelahan dan deferensiasi yang disebut periode laten atau periode induktif, karena belum dapat ditunjukkan adanya antibodi. Kemudian akan disusul periode biosintesis antibodi dalam 3 fase. fase pertama atau fase logarotimik ditandai dengan kenaikan kadar antibodi secara logaritmik dalam waktu 4 - 10 hari sampai mencapai puncaknya yang disebabkan oleh bertambahnya sel plasma sebagai hasil pembelahan berulang sel-sel B. Fase kedua atau fase datar mencerminkan saat adanya keseimbangan antara produksi antibodi yang bereaksi dengan antigen dan yang telah mengalami katabolisasi

sehingga antibodi tidak diproduksi lagi. Fase ketiga atau fase penurunan terjadi apabila antibodi yang mengalami kataboliasi dan yang bereaksi lebih banyak daripada yang diproduksi. Akibat dari peristiwa tersebut di atas, antibodi yang terukur bukanlah jumlah yang diproduksi seluruhnya melainkan jumlah antibodi yang telah bereaksi dengan antigen yang disuntikkan dan yang telah mengalami katabolisasi. Hal tersebut juga dipengaruhi faktor lain yang mempengaruhi imunogenisitas yaitu sifat substansi tersebut seperti ukuran, struktur, sifat kimiawi, jumlah juga tergantung pada inang seperti umur, konstitusi genetik, sistem imun dan lain sebagainya (Subowo, 1991). Oleh sebab itu antibodi terukur tidak selalu sama pada setiap individu yang divaksinasi.

Ayam yang divaksinasi dengan vaksin EDS'76 tunggal dan ganda perlakuan menghasilkan titer HI rata-rata (\log_2 setelah ditransformasi dengan $\sqrt{Y + 0,5}$) antara 3,08 sampai dengan 3,39 atau di atas pengenceran 1/512 - 1/2046 (lampiran 1), sedangkan ayam-ayam yang divaksinasi dengan vaksin EDS'76 komersial menghasilkan titer HI rata-rata antara 2,73 sampai dengan 2,92 atau antara pengenceran 1/128 - 1/512 dan ayam-ayam kontrol yang disuntik dengan adjuvan menghasilkan titer antibodi 0,71 (0). Hasil demikian menggambarkan bahwa vaksin EDS' 76 perlakuan dalam bentuk tunggal maupun ganda juga vaksin EDS'76 komersial tunggal maupun ganda telah memenuhi standar pengujian dari BPMSOH (1991) dan *British Farmacopoeia (Veterinary)* 1985 yang menyatakan bahwa titer antibodi (HI) pada uji potensi tidak boleh kurang dari pengenceran serum 1/128.

Uji tanggap kebal terhadap virus ND dengan uji tantang pada tabel 5 memperlihatkan tidak adanya kematian pada ayam yang divaksinasi dengan kontrol adjuvan. Hal ini kemungkinan ayam-ayam yang digunakan telah mempunyai kekebalan. Pada pengukuran titer antibodi sebelum uji tantang ayam-ayam tersebut mengandung titer antibodi HI ND rata-rata (\log_2 setelah ditransformasi dengan $\sqrt{Y + 0,5}$) 2,46 atau di atas pengenceran serum 1/32 sampai dengan 1/64 (lampiran 2), sedangkan ayam-ayam perlakuan mengandung titer HI ND rata-rata 2,85 (GCA) dan 2,87 (GTC) pada lampiran 2 dan ayam untuk vaksin pembanding mengandung titer, 2,98 dan 2,84 (lampiran 2). Menurut penelitian sementara, titer antibodi yang dapat menahan tantangan virus ganas dengan metode yang sama adalah 2,55 atau pada pengenceran serum 1/64 (hasil Lokakarya Laboratorium Kesehatan Hewan II, 1978). Walaupun titer pada ayam kontrol sedikit lebih rendah, ayam-ayam tersebut pada kenyataannya masih dapat menahan tantangan virus ND ganas. Kemungkinan virus yang bereaksi dengan antibodi yang telah ada dan yang dikatabolisasi lebih banyak atau seimbang dengan titer antibodi yang diproduksi. Peranan antigen merupakan rangsangan sekunder dan seharusnya meningkatkan produksi antibodi terhadap antigen ND. Namun pada penelitian ini tidak dilakukan pengukuran antibodi pasca tantang karena hanya ingin diketahui apakah antibodi yang terbentuk akibat vaksinasi dapat menahan virus tantang. Oleh sebab itu, untuk selanjutnya perlu dipikirkan penggunaan ayam-ayam yang betul-betul bebas dari antibodi ND sehingga dapat diketahui potensi vaksin yang sesungguhnya secara kuantitatif.

Uji tanggap kebal vaksin EDS⁷⁶ ganda yang mengandung anti-gen IBD menghasilkan peningkatan titer ELISA rata-rata pasca vaksinasi dari 1,16 (GCA) dan 1,15 (GTC) pra vaksinasi (lampiran 4) menjadi 1,32 (GCA) dan 1,55 GTC (lampiran 5) pada perlakuan sedangkan pada ayam pembanding mengalami sedikit penurunan dan peningkatan yaitu dari 1,08 (VK2) dan 1,01 (VK3), lampiran 4, menjadi 0,97 (VK2) dan 1,12 (VK3), lampiran 5. Kenaikan titer pada ayam perlakuan walaupun tidak begitu tinggi, tantangan virus merupakan booster dan merupakan imun sekunder. Apabila hewan/manusia mengalami pengenalan terhadap imunogen yang sama untuk kedua kalinya selang beberapa minggu, beberapa bulan, atau bahkan beberapa tahun kemudian setelah respon imun primer, terjadilah respon imun yang dipercepat dengan ciri-ciri lebih cepat munculnya sel-sel imunokompeten dan produksi antibodinya. Namun gejala ini tergantung pada saat pengenalan imunogen yang kedua kalinya. Apabila penyuntikan imunogen itu terlalu cepat, yaitu pada saat dalam serum masih terdapat antibodi cukup banyak, maka imunogen yang disuntikkan tersebut akan segera bereaksi dengan antibodi yang spesifik, sehingga imunogen yang baru disuntikkan tidak membangkitkan respon imun. Apalagi kalau dosis yang disuntikkan tersebut terlalu sedikit (Subowo, 1991). Hal tersebut kemungkinan yang menyebabkan ayam-ayam dalam penelitian ini tidak begitu memperlihatkan kenaikan titer antibodi yang tinggi terutama titer antibodi terhadap ND, IBD, dan IB karena ayam-ayam yang digunakan dalam penelitian ini sudah mendapatkan vaksinasi ND, IBD, serta IB dan pada kenyataannya ayam-ayam tersebut masih mengandung

antibodi. Pengukuran antibodi dengan tujuan ingin mengetahui antibodi tertentu secara kualitatif, pemeriksaan yang paling tepat didasarkan pada reaksi primer sedangkan bila keperluannya hanya kualitatif yang tidak terlalu cermat, pemeriksaan atas dasar reaksi sekunder sudah memadai (Subowo, 1991). Dalam hal ini karena ayam-ayam sudah divaksinasi sebelum perlakuan, merupakan pemeriksaan atas dasar reaksi sekunder untuk keperluan pemeriksaan secara kualitatif kecuali pada antigen EDS⁷⁶.

Penurunan pada ayam pembanding kemungkinan karena formulasi vaksin yang berbeda. Dalam keadaan demikian, faktor-faktor yang berpengaruh terhadap imunogenisitas dan faktor lain sebagai penyebab kegagalan vaksin seperti nya mempunyai andil.

Demikian halnya dengan titer antibodi yang terbentuk pada ayam yang divaksinasi dengan vaksin EDS⁷⁶ yang mengandung antigen IB hasilnya tidak jauh berbeda dengan vaksin EDS⁷⁶ yang mengandung antigen IBD. Untuk menjawab masalah tersebut perlu dilakukan uji tantang apakah vaksin tersebut mempunyai potensi untuk menahan serangan penyakit karena belum ada standar baku sejauh mana titer antibodi pada uji ELISA dapat menahan tantangan virus.

Berdasarkan hasil pengukuran titer antibodi dalam penelitian ini, secara umum dari vaksin tunggal dan vaksin ganda baik dari ayam perlakuan maupun ayam yang disuntik dengan vaksin pembanding tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, hanya ada 2 kelompok dari ayam yang divaksin dengan vaksin EDS⁷⁶ yang mengandung antigen IBD, dan IB. Hal ini kemungkinan adanya data yang

tidak homogen. Tanggap kebal merupakan proses biologis yang tidak pernah memberi perlindungan yang mutlak dan tidak pernah sama pada semua anggota dari suatu populasi yang divaksinasi karena dipengaruhi sejumlah faktor lingkungan dan keturunan. Kisaran tanggap kebal pada populasi yang besar cenderung mengikuti distribusi normal. Hal ini berarti bahwa meskipun kebanyakan hewan cenderung menanggapi antigen dengan tanggap kebal rata-rata, sebagian kecil akan mengadakan tanggap kebal yang sangat lemah dan sebagian kecil mengadakan tanggap kebal yang kuat, Tizard (1988). Alasan tersebut kemungkinan yang menyebabkan ketidak homogenan data, di samping ayam-ayam sudah divaksinasi dengan vaksin IBD dan IB. Hasil ini sama dengan percobaan yang dilakukan oleh Kozlina et al . (1990), yang membandingkan vaksin ganda (polyvirol 3 - EDS'76, ND, dan IB) dan vaksin EDS'76 tunggal bahwa tidak ada perbedaan titer antibodi yang berarti antara vaksin tunggal dan ganda, sedangkan semua ayam yang mendapatkan vaksinasi ND baik tunggal maupun ganda tetap hidup setelah ditantang dengan virus ND ganas.

Dilihat dari media pertumbuhan virus alantois dan TC, secara keseluruhan tidak ada perbedaan titer yang signifikan ($p > 0,05$) pada ayam yang divaksin dengan vaksin EDS'76 baik tunggal maupun ganda dan dari ayam perlakuan maupun ayam yang divaksin dengan vaksin komersial. Hasil ini menunjang apa yang dikemukakan Adair et al. 1979 yang dikutip McFerran (1997) bahwa media yang paling sensitif untuk mendeteksi virus EDS'76 yaitu TBB atau TGB juga dari biakan selnya seperti DEL atau DEF. Karena dalam penelitian

ini alantois dan media TC dihilangkan sehingga yang digunakan untuk membuat vaksin hanya virusnya saja dengan titer virus yang dibuat sama antara media alantois dan TC yaitu $3,75 \times 10^7$, hal ini menunjukkan bahwa walaupun media TC merupakan media buatan yang disesuaikan dengan keadaan alami, masih dapat menghasilkan antigen tanpa kehilangan imunogenisitasnya.

Pemberian vaksin sub kutan dan intra muskuler, secara keseluruhan menghasilkan titer antibodi tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) baik pada ayam perlakuan maupun ayam yang disuntik dengan vaksin komersial. Hal ini kemungkinan karena sel makrofag sebagai sel penjaji pada sel peka antigen atau limfosit B terdapat pada semua jaringan tubuh termasuk otot dan kulit sehingga kesempatan dalam pembentukan antibodi adalah sama. Ada kemungkinan tidak adanya perbedaan titer antibodi ini yang menyebabkan beberapa pabrik komersial merekomendasikan bahwa aplikasi vaksin EDS'76 dapat dilakukan secara intra muskuler pada maupun sub kutan. Hasil ini sebenarnya akan menguntungkan petugas vaksinasi karena akan lebih mudah mengaplikasikan vaksin secara intra muskuler daripada Dengan demikian dapat di mengerti bahwa pemakaian vaksin komersial EDS'76 dilapangan yang merekomendasikan aplikasi vaksin EDS'76 dengan suntikan intra muskuler dan sub kutan.

Sesuai dengan analisis statistika, tidak ada interaksi antar jenis vaksin, jenis media propagasi virus dan aplikasi vaksin terhadap pembentukan antibodi. Hal ini berarti bahwa titer antibodi dibentuk secara proporsional, antar variabel tidak saling mempengaruhi.



Dalam pembuatan vaksin, beberapa kendala ditemui diantaranya kesulitan untuk mengkonsentrasikan virus EDS'76. Ultra sentrifus dengan kecepatan 30.000 rpm selama 3 jam belum berhasil mengendapkan virus tersebut walaupun sudah dilakukan dengan cara sucrose gradient. Konsentrasi virus dengan cara lain diantaranya dengan Cesium Chloride (CsCl), Aluminium Hydroxida (AlOH), Polyethylene Glycol (PEG) dan lain-lain. Dalam penelitian ini telah dicoba mengkonsentrasikan virus dengan aluminium Hydroxida namun tidak menunjukkan hasil yang memuaskan setelah diformulasikan dengan adjuvan montanide ISA 70. Selanjutnya berhasil mengkonsentrasikan virus dengan menggunakan PEG - 6000 8% ditambah dengan NaCl 0,85 % dengan hasil seperti yang diharapkan.

Dari hasil pengamatan fisik telur semuanya tidak menunjukkan adanya kelainan seperti kerabang telur lunak, kekurangan pigmentasi dan sebagainya. Hal ini menunjukkan bahwa semua ayam yang digunakan untuk penelitian ini pada dasarnya tidak mengidap penyakit EDS'76 baik pada ayam perlakuan maupun ayam kontrol.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan. dapat diambil kesimpulan sebagai berikut.

1. Jenis vaksin EDS'76 dengan formulasi tunggal (satu macam antigen EDS'76) tidak berbeda nyata dalam pembentukan tanggap kebal terhadap antigen EDS'76 pasca vaksinasi dengan vaksin yang diformulasikan dalam bentuk vaksin ganda (*Combined Vaccine / Compound Vaccine*) empat macam antigen (EDS'76, ND, IBD,IB) pada ayam petelur umur 15 minggu.
2. Jenis media propagasi virus EDS'76 yang digunakan dalam pembuatan vaksin yaitu media propagasi virus dari alantois TBB dan media propagasi virus dari *tissue culture* tidak berbeda nyata dalam pembentukan tanggap kebal terhadap antigen EDS'76 pasca vaksinasi pada ayam petelur umur 15 minggu.
3. Tidak ada perbedaan nyata dalam pembentukan tanggap kebal terhadap antigen EDS'76 pada ayam petelur umur 15 minggu yang divaksinasi dengan vaksin EDS'76 baik secara intra muskuler maupun sub kutan.
4. Kombinasi vaksin EDS'76 antar jenis vaksin tunggal dan ganda, antar jenis media propagasi virus alantois dan *tissue culture* serta antar aplikasi vaksin intra muskuler dan sub kutan tidak menunjukkan adanya interaksi dalam pembentukan tanggap kebal terhadap antigen EDS'76 pasca vaksinasi pada ayam petelur umur 15 minggu.

7.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian dan keterbatasan peneliti serta demi sempurnanya penelitian ini, beberapa saran yang dapat dikemukakan antara lain sebagai berikut.

1. Masih diperlukan penelitian lanjutan dengan menggunakan ayam yang bebas vaksinasi ND, IBD, IB (Ayam SPF = *Specific Pathogenic Free*) untuk mengetahui tanggapan kebal yang sesungguhnya dari antigen tersebut di atas yang terkandung dalam Vaksin EDS-76 ganda.
2. Perlu dilakukan uji tantang baik pada vaksin tunggal maupun vaksin ganda untuk mengetahui apakah antibodi yang terbentuk betul-betul dapat melindungi terhadap serangan penyakit virus yang bersangkutan.
3. Mengaplikasikan vaksin secara intra muskuler karena akan memudahkan operasional vaksinasi.
4. Menggunakan vaksin ganda menjelang ayam bertelur.
5. Dalam menentukan penggunaan vaksin hendaknya lebih berhati-hati, produk dalam negeri belum tentu tidak berkualitas.

Daftar Pustaka

- Asean Cofaf Coordinating Group on Livestock, Batam, Indonesia 1993. Report of the Ad-Hoc Meeting on the Asean Standard of Vaccines, pp. 1-8.
- Asi, T. , Y. Asi. , M. Sina and SK. Tekeli, 1989. Relationship between Vaccine Immunity and Serum Protein in Hens in Istanbul Region. Veteriner Fakultesi Dergisi Istanbul. 15: 1, 1 - 6, 17 ref.
- Asi, Y and S. Lyisan, 1990. Standardization of the HI test for the Egg Drop Syndrome and Determination of Protective Antibody Levels in Hens with an EDS 76 Vaccine. Doga, Turk Veterinerlik Ve Hayvanc i.i.i.k Dergisi. 14: 1, 96-111; 33 ref.
- Baxendale, W. , D. Luttiken. , R. Hein and I. McPherson, 1980. The Result of Field Trials Conducted with An Activated Vaccine Against The Egg Drop Syndrom '76 (EDS'76). Avian Pathology, 9: 77-91
- Beard, C. W., 1980. Serological Prosedure. Isolation and Identification of Avian Pathogens. The American Association of Avian Pathologist, pp. 129-134.
- Bragg, RR. , DM. Allwright. , L. Coetzee, 1991. Isolation and Identification of Adenovirus 127, the causative agent of Egg Drop syndrome (EDS), from commercial laying hens in South Africa. Ondertepoort Journal of Veterinary Research, 58: 4, 309-310; 4 ref.
- Direktorat Bina Program. Direktorat Jenderal Peternakan, Jakarta, 1997. Hasil Rumusan Verifikasi dan Validasi Data Peternakan 1997, hal. 7-9.
- Direktorat Jenderal Peternakan, Departeman Pertanian Republik Indonesia, 1989. Petunjuk Teknis Pengujian Mutu Obat Hewan Balai Sertifikasi Obat Hewan, hal. 38-40, 45-48.
- Direktorat Jenderal Peternakan. Depertemen Pertanian Republik Indonesia, 1991. Farmakope Obat Hewan Indonesia (Biologik). hal. 59, 61-63.
- Direktorat Jenderal Peternakan, Jakarta, 1995. Buku Statistik Peternakan , Statistical Book on Livestock, hal. 86.
- Fehervari, T. , R. Glavits and F. Ratz, 1980. Studies on the Egg Drop Syndrom. Acta Veterinaria Academica Sientarum Hungaricae, Tomus 28 (4), Central Veterinary Institute, Budapest, 28 : 351-360.

- Fry Smith, D, I and P. T. Gilchrist, 1981. Avian Hemagglutinating Adenovirus Antibodies in Australian Poultry. Australian Veterinary Journal, 57: 395.
- Higashihara, M. , S. Takai. , A. Hidaka. , T. Houdatsu. , M. Hiruma. , Y. Watanabe and M. Matumoto, 1983. Isolation of the Virus of EGG Drop Syndrome. Japanese Journal of veterinary Science, 45: 5, 603-612, 8 ref.
- Holmes, HC. , KJ. Webb and PG. Box, 1989. Vaccine for Control of Egg Drop Syndrom'76. Veterinay Record, 124: 12, 309-320, 3 ref.
- Ketut Santhia dan Nyoman Dibia, 1991. Kasus Egg Drop Syndrome'76 Di Penebel Kabupaten Tabanan. Buletin Veteriner. Balai Penyidikan Penyakit Hewan wilayah VI, Denpasar, Bali, hal. 1-5.
- Kozlina, B. , N. Knezevic. , J. Nikolovski. , V. Matovic, 1990. Immunoprophylaxis of Poultry with Inactivated Vaccine. I. Paralel Study of Immunogenicity of Polyvirol-3 and Appropriate inactivated monovalent Vaccine. Acta Veterinaria Beograd, 40: 2-3, 129-135; 8 ref.
- Kumar, R. , GC. Mohanty and KC. Verma, 1993. Response of Duck Embryo Fibroblasts to EDS'76 Virus Infection. Indian Journal of Veterinary Pathology, 17: 1, 18 - 21; 8 ref.
- Lodish, H. , D. Baltimore. , A. Berk. , S. L. Zipursky. , P. Matsudaira and J. Darnell, 1995. Manipulating Cells and Viruses in Culture. Molecular Cell Biology, 6: 203-204, 210.
- Lu, Ys. , DF. Lin. , HJ. Tsai. , YL. Lee, YL. , SY. Chiu. , YH. Lieu and ST. Huang, 1985. Development and Field Application of Diagnostic Antigen and an inactivated Vaccine Against Egg Drop Syndrome 1976. Taiwan Journal of Veterinary Medicine and Animal Husbandary, 45: 67-72; 11 ref.
- Lukert, P, D. , 1980. Infectious Bronchitis. Isolation and Identification of Avian Pathogens. The American Association of Avian Pathologist, pp. 71-72.
- Mahmoud, AA and AM. Sami, 1989 The Isolation of Egg Drop Syndrome Virus from Egyption Poultry Farms. Veterinary Medical Journal Giza, 37: 2, 281-290; 18 ref.
- McFerran, J, B, 1997. Egg Drop Syndrome. Poultry Disease, pp. 516-523.
- Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, 1984. Manual of Veterinary Investigation Laboratory Techniques, vol 1, pp. 205 -207.

- Palya, V. , 1991. Manual for the production of Marek's disease and Inactivated Newcastle Disease Vaccines. Food and Agriculture Organization of the United Nation, Rome, pp. 47-63.
- Porterfield, J, S. , 1989. Adenoviridae. Andrew's Viruses of Vertebrates, 16: 249, 268-269.
- Ramirez, M, M. , M. B. Lucio. , H. JL. Pablos, 1987. Serological Response to Egg Drop Syndrome Virus, Adsorbed on Aluminium Hydroxide, or as Single Emulsion or Double emulsion Vaccine. Veterinaria, Mexico, 18: 4, 291-305; 25 ref.
- Ram Kumar, JM. , JM. Kataria and GC Mohanty, 1991. Isolation and characterisation of Haemagglutinating Viral Agent Resembling EDS'76 Virus from Poultry Flocks. Indian Journal of Virology, 7 : 1, 53-58, 18 ref.
- Recomendation of Medicine Commission, London, 1988. British Pharmacopoeia (Veterinary) 1985, pp. 121,162, 175-180.
- Rhee, YO. , JH. Kim. , S. Namgoong, 1987. Immunogenecity of ND, EDS, IBD combine oil Adjuvanted Vaccine. Research Reports of the Rural Development Administration, Livestock and Veterinary, Korea Republic, 29: 1, 209-212; 7 ref.
- Ronohardjo, P dan Daminto, 1988. Balitvet News Letter. Balai Penelitian Veteriner, Bogor, 2 : 1.
- Rozhdestvenskii, IK. , 1984. Inactiveting the Adenovirus of the Egg Drop Syndrome (strain EDS'76). Veterinariya Moscow, USSR, 4 : 61-62.
- Rumawas, W. , 1982. Egg Drop Syndrome 1976. Poultry Indonesia 34 : 14.
- Sarmanu. 1992. Statistika Parametrik : Uji t dan Anova Satu Arah. Penataran Metodologi Penelitan Statistika dan Komputer, Lemabga Penelitian Universitas Airlangga, hal. 4-20.
- Shakya, S and RG. Dhawedkar, 1991. Antigenic Relationship among Egg Drop Syndrome 1976 Virus Strain. Indian Veterinary Journal, pp. 68: 6, 510-513, 5 ref.
- Singh, Jk. , KCP. Singh. , CB. Prasad. , BK. Singh and SS. Singh, 1994. Significance of Haemagglutination Inhibition (HI)titres in Egg Drop Syndrome 1976 in poultry flocks. Indian journal of Veterinary Research, 3 : 2, 1 - 4; 6 ref.
- Singh, JK. , KCP. Singh. , CB. Prasad and C. Prasad, 1995. Sero-

- prevalence of Egg Drop Syndrome 1976 virus in layer poultry in Binhar. *Indian Veterinary Journal*, 72 :4, 324 - 327; 7 ref.
- Singh, Jk. , KCP. Singh. , CB. Prasad and C. Prasad, 1995. Occurrence of Haemagglutination Inhibition antibodies against Egg Drop Syndrome 1976 virus in broilers. *Tropical Animal Health and Production*, 27: 3, 167 - 170, 9 ref.
- Subowo, 1991, *Imunobiologi*, hal. 71 - 75, 93, 141.
- Susanto, E. , Th. A. Peranginangin. , S. Herlin Diah. , Suhirjan dan Ronny Mudigdo, 1984. Pengamatan penyakit EDS'76 pada ayam petelur . Laporan tahunan hasil penyidikan penyakit hewan di Indonesia periode 1982 - 19883. Keswan, Jakarta 117 - 123.
- Swain, P. , JM. Kataria. , KC. Verma and Satish Kumar, 1992. Characterization of Field Isolate of Egg Drop Syndrome '76 (EDS'76) Virus. *Indian Journal of Virology*, 8: 1, 8-14, 21 ref.
- Swain, P. , JM. Kataria and KC. Verma, 1993. Biological Characterisation of an India Isolate of Egg Drop Syndrome '76 Virus. *Research In Veterinary Science*, 55: 3, 396-397, 77 ref.
- Tizard, I, R. , 1988. *Pengantar Imunologi Veteriner*. Airlangga University Press. hal. 7, 251.
- Tsai, HJ. , DF. Lin. , YS. Lu. , SY. Chiu. , ST. Huang. , YL. Lee and C. Lee, 1983. Effect of Different Cell Culture and Incubation Temperature on the Propagation of Egg Drop Syndrome 1976 Virus. *Journal of the Chinese Society of Veterinary Science*, pp 9: 2, 133-136,; 20 ref.
- Van Eck, J, H, H. , 1980. Egg Transmission of Egg Drop Syndrome 1976 Virus in Fowl. *The Veterinary Quarterly*, vol 3, no. 3, pp. 176 -178.
- Villagas, P. , Graham Puchase, H, 1980. Titration of Biological Suspensions. Isolation and Identification of Avian Pathogens. *The American Association of Avian Pathologist*, pp. 124-127.
- Villarroel, GP and BL. Martinez, 1986. Emulsified Vaccine against Egg Drop Syndrome 1976. *Veterinaria , Mexico*, 17 : 2, 97-103; 20 ref.
- Volk, W, A and M. F. Wheeler, 1984. *Mikrobiologi Dasar* . Penerbit Erlangga, hal. 331.
- Widjaja, N.S. , R. Ernawati. , W. Tjahjaningsih. , J. Rahmahani dan Suwarno, 1994. Pembuatan Antigen Egg Drop Syndrome '76

(EDS'76) Untuk Keperluan Diagnosis dengan Uji Hambatan Hema glutinasi. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga, Surabaya.

- Xu, CF. , 1992. Comparison of the AGP and HI Titres for EDS (Egg Drop syndrome)'76 of Chickens. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 18: 7,24.
- Yamaguchi, S. , T. Imada. , H. Kawamura. , S. Taniguchi. , H. Saio and K. Shimamatsu, 1980. Outbreaks of Egg Drop Syndrome 1976 in Japan and its Etiological Agent. Avian Disease vol.25, no.3, pp. 628 - 641.
- Yamaguchi, S. , H. Imada. , T. Taniguchi and M. Kawakami, M, 1980. Pathogenicity and Distribution of Egg Drop Syndrome' 1976 Virus (JPA-I). Avian Disease vol. 25, no.3, pp. 643 - 649.
- Zsak, L. , A. Szekely and J. Kisary J, 1982. Experimental Infection of Young and Laying Geese with Egg Drop syndrome 1976 Adenovirus strain B8/78, Avian Pathology, 11; 535 - 562.

Lampiran 1. Rata-Rata Titer Antibodi HI (Log 2 Setelah Ditransformasi Dengan $V Y + 0,5$) Terhadap Antigen EDS'76 Antar Jenis Vaksin, Jenis Media Propagasi Virus Dan Aplikasi Vaksin Dari Kelompok Ayam Perlakuan, Kelompok Ayam Pemanding Dan Kelompok Ayam Kontrol Pasca-Vaksinasi Serta Uji Statistiknya

Cetakan Ke - 1 / 1

** TABEL DATA : 16

(saabungan)

Paket : SPS (Seri Program Statistik)
 Modul : Anava 6 (Pilihan)
 Program : Analisis Variansi 2-Jalur (Anava AB)
 Edisi : Sutrisno Hadi dan Seno Pamardiyanto
 Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia
 Versi IBM/IN, Hak Cipta (c) 1993 Dilindungi UU

Nama Lembaga : Program S3 Pasca Sarjana - UNAIR
 Alamat : Surabaya

Nama Peneliti : HERAWATI S.
 Nama Lembaga : PROGRAM PASCASARJANA UNAIR
 Tgl. Analisis : 27 - 06 - 1999
 Nama Berkas : 19

Nama Jalur Klasifikasi A : APLIKASI
 Nama Klasifikasi A 1 : IM
 Nama Klasifikasi A 2 : SC

Nama Jalur Klasifikasi B : MEDIA
 Nama Klasifikasi B 1 : TCA
 Nama Klasifikasi B 2 : TTC
 Nama Klasifikasi B 3 : GCA
 Nama Klasifikasi B 4 : GTC
 Nama Klasifikasi B 5 : ADJ
 Nama Klasifikasi B 6 : VK1
 Nama Klasifikasi B 7 : VK2
 Nama Klasifikasi B 8 : VK3

Nama Ubahan Taut X : TITER ANTIBODI EDS 76 PASCA VAKSINASI

Jalur Klasifikasi A = Rekam Nomor : 1
 Jalur Klasifikasi B = Rekam Nomor : 2

Ubahan Taut X = Rekam Nomor : 3

Cacah Kasus Semula : 80
 Cacah Data Hilang : 0
 Cacah Kasus Jalan : 80

Kasus	A	B	X	Kasus	A	B	X
1	1	1	3.082	41	2	1	3.391
2	1	1	3.082	42	2	1	3.240
3	1	1	2.550	43	2	1	3.240
4	1	1	3.082	44	2	1	3.082
5	1	1	3.082	45	2	1	3.240
6	1	2	2.121	46	2	2	3.240
7	1	2	3.082	47	2	2	3.391
8	1	2	3.082	48	2	2	3.536
9	1	2	3.082	49	2	2	3.082
10	1	2	2.915	50	2	2	3.536
11	1	3	2.915	51	2	3	3.536
12	1	3	2.915	52	2	3	2.915
13	1	3	2.550	53	2	3	3.082
14	1	3	2.550	54	2	3	3.082
15	1	3	3.082	55	2	3	3.240
16	1	4	2.915	56	2	4	3.536
17	1	4	3.082	57	2	4	3.391
18	1	4	2.550	58	2	4	3.391
19	1	4	2.915	59	2	4	3.391
20	1	4	2.550	60	2	4	3.391
21	1	5	3.240	61	2	5	0.707
22	1	5	3.240	62	2	5	0.707
23	1	5	2.121	63	2	5	0.707
24	1	5	2.121	64	2	5	0.707
25	1	5	3.082	65	2	5	0.707
26	1	6	0.707	66	2	6	2.915
27	1	6	2.345	67	2	6	2.345
28	1	6	2.739	68	2	6	2.915
29	1	6	2.343	69	2	6	3.391
30	1	6	3.240	70	2	6	2.915
31	1	7	2.739	71	2	7	2.739
32	1	7	3.240	72	2	7	3.082
33	1	7	3.240	73	2	7	2.550
34	1	7	3.240	74	2	7	2.915
35	1	7	2.550	75	2	7	2.915
36	1	8	2.550	76	2	8	3.082
37	1	8	3.240	77	2	8	2.121
38	1	8	2.739	78	2	8	3.240
39	1	8	2.915	79	2	8	3.240
40	1	8	3.240	80	2	8	1.871

Lanjutan Lampiran 1.

** TABEL STATISTIK INDUK

Sumber	n	dX	dX ²	Rerata	SB
A1	40	107.619	314.977	2.690	0.808
A2	40	111.704	341.966	2.793	0.877
B1	10	31.919	101.982	3.192	0.105
B2	10	31.679	101.997	3.168	0.427
B3	10	31.396	98.989	3.140	0.216
B4	10	32.596	106.998	3.260	0.288
B5	10	7.070	4.998	0.707	0.000
B6	10	29.047	84.982	2.905	0.260
B7	10	28.037	79.001	2.804	0.209
B8	10	27.579	77.996	2.758	0.464
A1B1	5	15.726	49.491	3.145	0.087
A1B2	5	14.894	45.495	2.979	0.531
A1B3	5	15.541	48.494	3.108	0.217
A1B4	5	15.496	48.499	3.099	0.344
A1B5	5	3.535	2.499	0.707	0.000
A1B6	5	14.566	42.493	2.913	0.121
A1B7	5	13.836	38.503	2.767	0.232
A1B8	5	14.025	39.503	2.805	0.202
A2B1	5	16.193	52.490	3.239	0.109
A2B2	5	16.785	56.502	3.357	0.197
A2B3	5	15.855	50.496	3.171	0.234
A2B4	5	17.100	58.499	3.420	0.065
A2B5	5	3.535	2.499	0.707	0.000
A2B6	5	14.481	42.490	2.896	0.371
A2B7	5	14.201	40.498	2.840	0.203
A2B8	5	13.554	38.493	2.711	0.662
Total	80	219.323	656.943	2.742	0.839

** TABEL RANGKUMAN ANALISIS VARIANSI 2-JALUR

Sumber	JK	db	RK	F	R ₀	p
Antar A	0.209	1	0.209	2.586	0.004	0.109
Antar B	49.816	7	7.117	88.221	0.895	0.000
Inter AB	0.474	7	0.068	0.840	0.009	0.560
Dalam	5.163	64	0.081	--	--	--
Total	55.661	79	--	--	--	--

Lanjutan Lampiran 1.

** UJI-t ANTAR B		(saambungan)		(saambungan)	
Sumber	X	Sumber	X	Sumber	X
B1-B2	0.189	B3-B5	19.152		
p	0.845	p	0.000		
B1-B3	0.412	B3-B6	1.849		
p	0.685	p	0.066		
B1-B4	-0.533	B3-B7	2.645		
p	0.602	p	0.010		
B1-B5	19.564	B3-B8	3.005		
p	0.000	p	0.004		
B1-B6	2.261	B4-B5	20.097		
p	0.026	p	0.000		
B1-B7	3.056	B4-B6	2.794		
p	0.004	p	0.007		
B1-B8	3.417	B4-B7	3.589		
p	0.001	p	0.001		
B2-B3	0.223	B4-B8	3.950		
p	0.819	p	0.000		
B2-B4	-0.722	B5-B6	-17.302		
p	0.520	p	0.000		
B2-B5	19.375	B5-B7	-16.507		
p	0.000	p	0.000		
B2-B6	2.072	B5-B8	-16.147		
p	0.040	p	0.000		
B2-B7	2.867	B6-B7	0.795		
p	0.006	p	0.565		
B2-B8	3.228	B6-B8	1.156		
p	0.002	p	0.251		
B3-B4	-0.945	B7-B8	0.361		
p	0.649	p	0.720		

p = dua-ekor.

(bersambung)

Lampiran 2. Rata-Rata Titer Antibodi HI (Log 2 Setelah Ditransformasi Dengan $V Y + 0,5$) Terhadap Antigen ND Antar Jenis Vaksin, Jenis Media Propagasi Virus Dan Aplikasi Vaksin Dari kelompok Ayam Perlakuan, Kelompok Ayam Pemanding Dan Kelompok Ayam Kontrol Pra Vaksinasi Serta Uji Statistiknya

Cetakan Ke - 1 / 1

TABEL DATA : 19

(sambungan)

Paket : SPS (Seri Program Statistik)
 Modul : Anava 6 (Pilihan)
 Program : Analisis Variansi 2-Jalur (Anava AB)
 Edisi : Sutrisno Hadi dan Seno Pamaardiyanto
 Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia
 Versi IBM/IN, Hak Cipta (c) 1993 Dilindungi UU

Nama Lembaga : Program S3 Pasca Sarjana - UNAIR
 Alamat : Surabaya

Nama Peneliti : HERAWATI S.
 Nama Lembaga : PROGRAM PASCASARJANA UANIR
 Tgl. Analisis : 27 - 06 - 1999
 Nama Berkas : 16

Nama Jalur Klasifikasi A : APLIKASI
 Nama Klasifikasi A 1 : IM
 Nama Klasifikasi A 2 : SC

Nama Jalur Klasifikasi B : MEDIA
 Nama Klasifikasi B 1 : TCA
 Nama Klasifikasi B 2 : TTC
 Nama Klasifikasi B 3 : GCA
 Nama Klasifikasi B 4 : GTC
 Nama Klasifikasi B 5 : ADJ
 Nama Klasifikasi B 6 : VK1
 Nama Klasifikasi B 7 : VK2
 Nama Klasifikasi B 8 : VK3

Nama Ubahan Taut X : TITER ANTIBODI ND PRA VAKSINASI

Jalur Klasifikasi A = Rekamam Nomor : 1
 Jalur Klasifikasi B = Rekamam Nomor : 2

Ubahan Taut X = Rekamam Nomor : 3

Cacah Kasus Semula : 80
 Cacah Data Hilang : 0
 Cacah Kasus Jalan : 80

Kasus	A	B	X	Kasus	A	B	X
1	1	1	3.082	41	2	1	3.082
2	1	1	3.082	42	2	1	3.082
3	1	1	3.082	43	2	1	2.345
4	1	1	3.240	44	2	1	2.915
5	1	1	3.240	45	2	1	2.739
6	1	2	3.082	46	2	2	2.915
7	1	2	3.536	47	2	2	3.082
8	1	2	3.240	48	2	2	3.082
9	1	2	2.121	49	2	2	3.082
10	1	2	2.915	50	2	2	2.550
11	1	3	3.240	51	2	3	2.915
12	1	3	3.240	52	2	3	2.915
13	1	3	2.739	53	2	3	3.240
14	1	3	3.240	54	2	3	2.345
15	1	3	3.082	55	2	3	3.082
16	1	4	3.536	56	2	4	2.739
17	1	4	3.391	57	2	4	3.082
18	1	4	2.915	58	2	4	2.550
19	1	4	2.739	59	2	4	3.082
20	1	4	2.915	60	2	4	3.240
21	1	5	0.707	61	2	5	2.550
22	1	5	0.707	62	2	5	3.082
23	1	5	0.707	63	2	5	2.121
24	1	5	0.707	64	2	5	2.121
25	1	5	0.707	65	2	5	2.345
26	1	6	2.915	66	2	6	2.739
27	1	6	2.739	67	2	6	2.345
28	1	6	3.082	68	2	6	3.082
29	1	6	2.915	69	2	6	3.082
30	1	6	2.915	70	2	6	2.739
31	1	7	2.550	71	2	7	3.240
32	1	7	3.082	72	2	7	2.550
33	1	7	2.739	73	2	7	3.240
34	1	7	2.915	74	2	7	3.240
35	1	7	2.550	75	2	7	2.550
36	1	8	2.739	76	2	8	3.240
37	1	8	2.550	77	2	8	2.345
38	1	8	2.739	78	2	8	3.082
39	1	8	3.082	79	2	8	2.345
40	1	8	2.739	80	2	8	2.739

Lanjutan Lampiran 2.

** TABEL STATISTIK INDUK

Sumber	n	dX	dX ²	Rerata	SB
A1	40	112.055	322.960	2.801	0.482
A2	40	112.841	322.974	2.821	0.345
B1	10	29.041	84.993	2.904	0.270
B2	10	28.993	84.988	2.899	0.321
B3	10	28.509	81.988	2.851	0.281
B4	10	28.705	82.998	2.871	0.258
B5	10	26.023	69.989	2.602	0.502
B6	10	25.361	68.989	2.536	0.720
B7	10	29.829	89.995	2.983	0.336
B8	10	28.435	81.994	2.844	0.356
A1B1	5	14.878	44.497	2.976	0.238
A1B2	5	14.282	41.492	2.856	0.417
A1B3	5	14.012	39.498	2.802	0.240
A1B4	5	14.012	39.498	2.802	0.240
A1B5	5	13.804	39.491	2.761	0.588
A1B6	5	11.374	29.488	2.275	0.951
A1B7	5	15.009	45.497	3.002	0.333
A1B8	5	14.684	43.497	2.937	0.305
A2B1	5	14.163	40.496	2.833	0.307
A2B2	5	14.711	43.496	2.942	0.231
A2B3	5	14.497	42.490	2.899	0.338
A2B4	5	14.693	43.500	2.939	0.284
A2B5	5	12.219	30.498	2.444	0.390
A2B6	5	13.987	39.501	2.797	0.306
A2B7	5	14.820	44.498	2.964	0.378
A2B8	5	13.751	38.496	2.750	0.412
Total	80	224.896	645.934	2.811	0.417

** TABEL RANGKUMAN ANALISIS VARIANSI 2-JALUR

Sumber	JK	db	RK	F	R ₁	p
Antar A	0.008	1	0.008	0.046	0.001	0.826
Antar B	1.713	7	0.245	1.447	0.123	0.202
Inter AB	1.156	7	0.165	0.976	0.084	0.543
Dalam	10.829	64	0.169	--	--	--
Total	13.706	79	--	--	--	--

Lampiran 3. Rata-Rata Titer Antibodi HI (Log 2 Setelah Ditransformasi Dengan $V Y + 0,5$) Terhadap Antigen ND Antar Jenis Vaksin, Jenis Media Propagasi Virus Dan Aplikasi Vaksin Dari kelompok Ayam Perlakuan, Kelompok Ayam Pemanding Dan Kelompok Ayam Kontrol Pasca Vaksinasi Serta Uji Statistiknya

Cetakan Ke - 1 / 1

TABEL DATA : 17

(sambungan)

Paket : SPS (Seri Program Statistik)
 Modul : Anava 6 (Pilihan)
 Program : Analisis Variansi 2-Jalur (Anava AB)
 Edisi : Sutrisno Hadi dan Seno Pamardiyanto
 Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia
 Versi IBM/IN, Hak Cipta (c) 1993 Dilindungi UU

Nama Lembaga : Program S3 Pasca Sarjana - UNAIR
 A l a m a t : Surabaya

Nama Peneliti : HERAWATI S.
 Nama Lembaga : PROGRAM PASCASARJANA UNAIR
 Tgl. Analisis : 17 - 06 - 1999
 Nama Berkas : 17

Nama Jalur Klasifikasi A : APLIKASI
 Nama Klasifikasi A 1 : IM
 Nama Klasifikasi A 2 : SC

Nama Jalur Klasifikasi B : MEDIA
 Nama Klasifikasi B 1 : TCA
 Nama Klasifikasi B 2 : TTC
 Nama Klasifikasi B 3 : GCA
 Nama Klasifikasi B 4 : GTC
 Nama Klasifikasi B 5 : ADJ
 Nama Klasifikasi B 6 : VK1
 Nama Klasifikasi B 7 : VK2
 Nama Klasifikasi B 8 : VK3

Nama Ubahan Taut X : TITER ANTIBODI ND PASCA VAKSINASI

Jalur Klasifikasi A = Rekaman Nomor : 1
 Jalur Klasifikasi B = Rekaman Nomor : 2

Ubahan Taut X = Rekaman Nomor : 3

Cacah Kasus Semula : 80
 Cacah Data Hilang : 0
 Cacah Kasus Jalan : 80

Kasus	A	B	X	Kasus	A	B	X
1	1	1	3.082	41	2	1	2.550
2	1	1	2.915	42	2	1	2.915
3	1	1	2.345	43	2	1	2.739
4	1	1	2.915	44	2	1	2.739
5	1	1	3.082	45	2	1	2.739
6	1	2	2.739	46	2	2	2.739
7	1	2	2.915	47	2	2	2.915
8	1	2	3.082	48	2	2	3.082
9	1	2	2.915	49	2	2	2.915
10	1	2	2.739	50	2	2	2.345
11	1	3	3.240	51	2	3	3.082
12	1	3	2.915	52	2	3	3.082
13	1	3	2.915	53	2	3	3.240
14	1	3	3.240	54	2	3	3.240
15	1	3	3.240	55	2	3	3.240
16	1	4	3.240	56	2	4	3.082
17	1	4	3.240	57	2	4	3.082
18	1	4	2.915	58	2	4	2.915
19	1	4	2.915	59	2	4	3.082
20	1	4	3.240	60	2	4	3.240
21	1	5	2.739	61	2	5	2.121
22	1	5	2.739	62	2	5	2.345
23	1	5	2.121	63	2	5	2.345
24	1	5	2.121	64	2	5	2.550
25	1	5	2.915	65	2	5	2.550
26	1	6	1.871	66	2	6	3.082
27	1	6	2.550	67	2	6	3.082
28	1	6	2.550	68	2	6	1.871
29	1	6	2.121	69	2	6	2.739
30	1	6	3.082	70	2	6	2.739
31	1	7	3.391	71	2	7	3.536
32	1	7	3.391	72	2	7	3.391
33	1	7	3.391	73	2	7	3.391
34	1	7	3.391	74	2	7	3.082
35	1	7	3.240	75	2	7	3.240
36	1	8	2.550	76	2	8	3.082
37	1	8	3.240	77	2	8	2.915
38	1	8	3.240	78	2	8	2.739
39	1	8	3.082	79	2	8	3.391
40	1	8	2.915	80	2	8	2.915

Lanjutan Lampiran 3.

** TABEL STATISTIK INDUK

Sumber	n	$\sum x$	$\sum x^2$	Rerata	SB
A1	40	116.469	344.951	2.912	0.386
A2	40	116.069	341.977	2.902	0.364
B1	10	28.021	78.997	2.802	0.231
B2	10	28.386	80.992	2.839	0.215
B3	10	31.434	98.977	3.143	0.137
B4	10	30.951	95.978	3.095	0.142
B5	10	24.546	61.000	2.455	0.289
B6	10	25.687	68.005	2.569	0.474
B7	10	33.444	111.991	3.344	0.125
B8	10	30.069	90.988	3.007	0.252
A1B1	5	14.339	41.491	2.868	0.304
A1B2	5	14.390	41.497	2.878	0.144
A1B3	5	15.550	48.487	3.110	0.178
A1B4	5	15.550	48.487	3.110	0.178
A1B5	5	12.635	32.499	2.527	0.378
A1B6	5	12.174	30.503	2.435	0.464
A1B7	5	16.804	56.493	3.361	0.068
A1B8	5	15.027	45.494	3.005	0.288
A2B1	5	13.682	37.506	2.736	0.129
A2B2	5	13.996	39.494	2.799	0.281
A2B3	5	15.884	50.490	3.177	0.087
A2B4	5	15.401	47.491	3.080	0.115
A2B5	5	11.911	28.502	2.382	0.178
A2B6	5	13.513	37.502	2.703	0.496
A2B7	5	16.640	55.497	3.328	0.173
A2B8	5	15.042	45.494	3.008	0.246
Total	80	232.538	686.929	2.907	0.373

** TABEL RANGKUMAN ANALISIS VARIANSI 2-JALUR

Sumber	JK	db	RK	F	R ₀	p
Antar A	0.002	1	0.002	0.029	0.000	0.860
Antar B	6.274	7	0.896	12.964	0.570	0.000
Inter AB	0.304	7	0.043	0.629	0.028	0.732
Dalam	4.425	64	0.069	--	--	--
Total	11.005	79	--	--	--	--

Lanjutan Lampiran 3.

** UJI-t ANTAR B		(saambungan)		(saambungan)	
Sumber	X	Sumber	X	Sumber	X
B1-B2	-0.310	B3-B5	5.858		
p	0.755	p	0.000		
B1-B3	-2.903	B3-B6	4.887		
p	0.005	p	0.000		
B1-B4	-2.492	B3-B7	-1.709		
p	0.015	p	0.088		
B1-B5	2.955	B3-B8	1.161		
p	0.005	p	0.249		
B1-B6	1.985	B4-B5	5.447		
p	0.049	p	0.000		
B1-B7	-4.612	B4-B6	4.477		
p	0.000	p	0.000		
B1-B8	-1.742	B4-B7	-2.120		
p	0.083	p	0.036		
B2-B3	-2.592	B4-B8	0.750		
p	0.011	p	0.538		
B2-B4	-2.181	B5-B6	-0.970		
p	0.031	p	0.663		
B2-B5	3.266	B5-B7	-7.567		
p	0.002	p	0.000		
B2-B6	2.295	B5-B8	-4.697		
p	0.024	p	0.000		
B2-B7	-4.301	B6-B7	-6.597		
p	0.000	p	0.000		
B2-B8	-1.431	B6-B8	-3.727		
p	0.154	p	0.001		
B3-B4	0.411	B7-B8	2.870		
p	0.686	p	0.006		

p = dua-ekor.

(bersaambung)

Lampiran 4. Rata-Rata Titer Antibodi (ELISA) Terhadap Antigen IBD Antar Jenis Vaksin, Jenis Media Propagasi Virus Dan Aplikasi Vaksin Dari kelompok Ayam Perlakuan, Kelompok Ayam Pemanding Dan Kelompok Ayam Kontrol Pra Vaksinasi Serta Uji Statistiknya

Cetakan Ke - 1 / 1

Paket : SPS (Seri Program Statistik)
 Modul : Anava 6 (Pilihan)
 Program : Analisis Variansi 2-Jalur (Anava AB)
 Edisi : Sutrisno Hadi dan Seno Pamardiyanto
 Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia
 Versi IBM/IN, Hak Cipta (c) 1993 Dilindungi UU

Nama Lembaga : Program S3 Pasca Sarjana - UNAIR
 Alamat : Surabaya

Nama Peneliti : HERAWATI S.
 Nama Lembaga : PROGRAM PASCASARJANA UNAIR
 Tgl. Analisis : 12-06-1999
 Nama Berkas : 13

Nama Jalur Klasifikasi A : APLIKASI
 Nama Klasifikasi A 1 : IM
 Nama Klasifikasi A 2 : SC

Nama Jalur Klasifikasi B : MEDIA
 Nama Klasifikasi B 1 : TCA
 Nama Klasifikasi B 2 : TTC
 Nama Klasifikasi B 3 : GCA
 Nama Klasifikasi B 4 : GTC
 Nama Klasifikasi B 5 : ADJ
 Nama Klasifikasi B 6 : VK1
 Nama Klasifikasi B 7 : VK2
 Nama Klasifikasi B 8 : VK3

Nama Ubahan Taut X : TITER ANTIBODI IBD PRE VAKSINASI

Jalur Klasifikasi A = Rekaman Nomor : 1
 Jalur Klasifikasi B = Rekaman Nomor : 2

Ubahan Taut X = Rekaman Nomor : 3

Cacah Kasus Semula : 80
 Cacah Data Hilang : 0
 Cacah Kasus Jalan : 80

** TABEL DATA : 13

(saambungan)

Kasus	A	B	X	Kasus	A	B	X
1	1	1	1.185	41	2	1	1.689
2	1	1	1.738	42	2	1	1.600
3	1	1	1.727	43	2	1	1.749
4	1	1	1.640	44	2	1	1.298
5	1	1	1.568	45	2	1	1.306
6	1	2	1.489	46	2	2	1.599
7	1	2	1.460	47	2	2	1.154
8	1	2	1.781	48	2	2	1.528
9	1	2	1.694	49	2	2	1.659
10	1	2	1.632	50	2	2	1.608
11	1	3	0.950	51	2	3	0.922
12	1	3	0.660	52	2	3	0.842
13	1	3	1.580	53	2	3	1.016
14	1	3	1.225	54	2	3	1.217
15	1	3	1.498	55	2	3	1.642
16	1	4	1.495	56	2	4	1.093
17	1	4	1.230	57	2	4	0.612
18	1	4	1.442	58	2	4	1.141
19	1	4	1.322	59	2	4	1.217
20	1	4	0.729	60	2	4	1.259
21	1	5	1.117	61	2	5	1.061
22	1	5	1.011	62	2	5	1.098
23	1	5	1.061	63	2	5	1.098
24	1	5	1.107	64	2	5	1.028
25	1	5	0.865	65	2	5	1.046
26	1	6	1.030	66	2	6	1.061
27	1	6	1.030	67	2	6	1.061
28	1	6	0.591	68	2	6	1.057
29	1	6	0.591	69	2	6	0.936
30	1	6	1.038	70	2	6	1.112
31	1	7	0.997	71	2	7	1.019
32	1	7	1.004	72	2	7	1.019
33	1	7	0.983	73	2	7	0.990
34	1	7	0.930	74	2	7	0.976
35	1	7	0.990	75	2	7	1.936
36	1	8	1.028	76	2	8	0.993
37	1	8	0.936	77	2	8	1.039
38	1	8	1.093	78	2	8	1.032
39	1	8	0.985	79	2	8	1.025
40	1	8	0.947	80	2	8	1.011

Lanjutan Lampiran 4.

** TABEL STATISTIK INDUK

Sumber	n	dX	dX}	Rerata	SB
A1	40	47.399	60.405	1.185	0.330
A2	40	47.754	60.269	1.194	0.289
B1	10	15.500	24.418	1.550	0.209
B2	10	15.604	24.615	1.560	0.172
B3	10	11.552	14.348	1.155	0.334
B4	10	11.540	14.044	1.154	0.284
B5	10	10.512	11.092	1.051	0.068
B6	10	9.507	9.379	0.951	0.195
B7	10	10.844	12.571	1.084	0.300
B8	10	10.094	10.208	1.009	0.046
A1B1	5	7.858	12.556	1.572	0.227
A1B2	5	8.056	13.054	1.611	0.136
A1B3	5	5.913	7.579	1.183	0.383
A1B4	5	6.218	8.106	1.244	0.306
A1B5	5	5.181	5.404	1.036	0.094
A1B6	5	4.280	3.898	0.856	0.242
A1B7	5	4.904	4.813	0.981	0.029
A1B8	5	4.989	4.995	0.998	0.064
A2B1	5	7.642	11.862	1.528	0.213
A2B2	5	7.548	11.561	1.510	0.204
A2B3	5	5.639	6.769	1.128	0.320
A2B4	5	5.322	5.937	1.064	0.261
A2B5	5	5.331	5.688	1.066	0.031
A2B6	5	5.227	5.481	1.045	0.065
A2B7	5	5.940	7.757	1.188	0.419
A2B8	5	5.105	5.213	1.021	0.017
Total	80	95.153	120.674	1.189	0.308

** TABEL RANGKUMAN ANALISIS VARIANSI 2-JALUR

Sumber	JK	db	RK	F	R}	p
Antar A	0.002	1	0.002	0.031	0.000	0.856
Antar B	3.896	7	0.557	10.850	0.520	0.000
Inter AB	0.317	7	0.045	0.884	0.042	0.525
Dalam	3.283	64	0.051	--	--	--
Total	7.498	79	--	--	--	--

Lanjutan Lampiran 4.

** UJI-t ANTAR B		(saambungan)		(saambungan)	
Sumber	X	Sumber	X	Sumber	X
B1-B2	-0.103	B3-B5	1.027		
p	0.915	p	0.309		
B1-B3	3.898	B3-B6	2.019		
p	0.000	p	0.045		
B1-B4	3.910	B3-B7	0.699		
p	0.000	p	0.506		
B1-B5	4.925	B3-B8	1.439		
p	0.000	p	0.151		
B1-B6	5.917	B4-B5	1.015		
p	0.000	p	0.315		
B1-B7	4.597	B4-B6	2.007		
p	0.000	p	0.046		
B1-B8	5.337	B4-B7	0.687		
p	0.000	p	0.501		
B2-B3	4.000	B4-B8	1.428		
p	0.000	p	0.155		
B2-B4	4.012	B5-B6	0.992		
p	0.000	p	0.674		
B2-B5	5.027	B5-B7	-0.328		
p	0.000	p	0.743		
B2-B6	6.019	B5-B8	0.413		
p	0.000	p	0.684		
B2-B7	4.699	B6-B7	-1.320		
p	0.000	p	0.189		
B2-B8	5.440	B6-B8	-0.580		
p	0.000	p	0.571		
B3-B4	0.012	B7-B8	0.740		
p	0.987	p	0.532		

p = dua-ekor.

(bersaambung)

Lampiran 5. Rata-Rata Titer Antibodi (ELISA) Terhadap Antigen IBD Antar Jenis Vaksin, Jenis Media Propagasi Virus Dan Aplikasi Vaksin Dari kelompok Ayam Perlakuan, Kelompok Ayam Pemanding Dan Kelompok Ayam Kontrol Pasca Vaksinasi Serta Uji Statistiknya

Cetakan Ke - 1 / 1

** TABEL DATA : 14

(sambungan)

Paket : SPS (Seri Program Statistik)	=====				=====			
Modul : Anava 6 (Pilihan)	=====				=====			
Program : Analisis Variansi 2-Jalur (Anava AB)	Kasus	A	B	X	Kasus	A	B	X
Edisi : Sutrisno Hadi dan Seno Pamardiyanto	-----				-----			
Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia	-----				-----			
Versi IBM/IN, Hak Cipta (c) 1993 Dilindungi UU	-----				-----			
Nama Lembaga : Program S3 Pasca Sarjana - UNAIR	1	1	1	1.398	41	2	1	1.078
A l a m a t : Surabaya	2	1	1	1.530	42	2	1	0.923
-----	3	1	1	1.610	43	2	1	0.813
Nama Peneliti : HERAWATI S.	4	1	1	0.240	44	2	1	1.174
Nama Lembaga : PROGRAM PASCASARJANA UANIR	5	1	1	1.074	45	2	1	1.031
Tgl. Analisis : 12-06-1999	6	1	2	1.633	46	2	2	1.517
Nama Berkas : 14	7	1	2	0.890	47	2	2	0.945
-----	8	1	2	1.548	48	2	2	1.293
Nama Jalur Klasifikasi A : APLIKASI	9	1	2	1.009	49	2	2	0.690
Nama Klasifikasi A 1 : IM	10	1	2	1.392	50	2	2	1.056
Nama Klasifikasi A 2 : SC	11	1	3	1.223	51	2	3	1.517
-----	12	1	3	1.023	52	2	3	0.632
Nama Jalur Klasifikasi B : MEDIA	13	1	3	1.816	53	2	3	1.053
Nama Klasifikasi B 1 : TCA	14	1	3	1.472	54	2	3	1.671
Nama Klasifikasi B 2 : TTC	15	1	3	1.304	55	2	3	1.503
Nama Klasifikasi B 3 : GCA	16	1	4	1.606	56	2	4	1.660
Nama Klasifikasi B 4 : GTC	17	1	4	1.226	57	2	4	1.601
Nama Klasifikasi B 5 : ADJ	18	1	4	1.388	58	2	4	1.663
Nama Klasifikasi B 6 : VK1	19	1	4	1.574	59	2	4	1.478
Nama Klasifikasi B 7 : VK2	20	1	4	1.625	60	2	4	1.688
Nama Klasifikasi B 8 : VK3	21	1	5	0.980	61	2	5	0.978
-----	22	1	5	0.963	62	2	5	0.978
Nama Ubahan Taut X : TITER ANTIBODI IBD PASCA VAKSINASI	23	1	5	0.948	63	2	5	0.994
-----	24	1	5	0.963	64	2	5	0.986
Jalur Klasifikasi A = Rekaman Nomor : 1	25	1	5	0.970	65	2	5	0.963
Jalur Klasifikasi B = Rekaman Nomor : 2	26	1	6	0.885	66	2	6	1.000
-----	27	1	6	1.040	67	2	6	1.015
Ubahan Taut X = Rekaman Nomor : 3	28	1	6	1.066	68	2	6	1.007
-----	29	1	6	1.015	69	2	6	1.047
Cacah Kasus Semula : 80	30	1	6	0.968	70	2	6	1.055
Cacah Data Hilang : 0	31	1	7	0.979	71	2	7	0.986
Cacah Kasus Jalan : 80	32	1	7	0.924	72	2	7	0.954
-----	33	1	7	0.954	73	2	7	1.020
-----	34	1	7	0.896	74	2	7	0.943
-----	35	1	7	1.006	75	2	7	0.992
-----	36	1	8	1.051	76	2	8	0.989
-----	37	1	8	0.941	77	2	8	1.073
-----	38	1	8	1.114	78	2	8	1.089
-----	39	1	8	0.929	79	2	8	1.036
-----	40	1	8	1.964	80	2	8	1.002

Lanjutan Lampiran 5.

** TABEL STATISTIK INDUK

Sumber	n	$\sum X$	$\sum X^2$	Rerata	SB
A1	40	47.137	59.855	1.178	0.332
A2	40	45.093	53.795	1.127	0.276
B1	10	10.871	13.215	1.087	0.394
B2	10	11.973	15.268	1.197	0.322
B3	10	13.214	18.568	1.321	0.351
B4	10	15.509	24.245	1.551	0.146
B5	10	9.723	9.455	0.972	0.013
B6	10	10.098	10.222	1.010	0.053
B7	10	9.654	9.333	0.965	0.038
B8	10	11.188	13.344	1.119	0.303
A1B1	5	5.852	8.098	1.170	0.559
A1B2	5	6.472	8.811	1.294	0.329
A1B3	5	6.838	9.707	1.368	0.298
A1B4	5	7.419	11.127	1.484	0.172
A1B5	5	4.824	4.655	0.965	0.012
A1B6	5	4.974	4.968	0.995	0.071
A1B7	5	4.759	4.537	0.952	0.043
A1B8	5	5.999	7.951	1.200	0.434
A2B1	5	5.019	5.116	1.004	0.140
A2B2	5	5.501	6.457	1.100	0.318
A2B3	5	6.376	8.861	1.275	0.427
A2B4	5	8.090	13.118	1.618	0.085
A2B5	5	4.899	4.801	0.980	0.011
A2B6	5	5.124	5.254	1.025	0.025
A2B7	5	4.895	4.796	0.979	0.031
A2B8	5	5.189	5.393	1.038	0.043
Total	80	92.230	113.651	1.153	0.304

** TABEL RANGKUMAN ANALISIS VARIANSI 2-JALUR

Sumber	JK	db	RK	F	R ₀	p
Antar A	0.052	1	0.052	0.797	0.007	0.621
Antar B	2.825	7	0.404	6.156	0.386	0.000
Inter AB	0.248	7	0.035	0.541	0.034	0.802
Dalam	4.196	64	0.066	--	--	--
Total	7.321	79	--	--	--	--

Lanjutan Lampiran 5.

** Uji-t ANTAR B		(saabungan)		(saabungan)	
Sumber	X	Sumber	X	Sumber	X
B1-B2	-0.962	B3-B5	3.049		
p	0.659	p	0.004		
B1-B3	-2.046	B3-B6	2.721		
p	0.042	p	0.008		
B1-B4	-4.050	B3-B7	3.109		
p	0.000	p	0.003		
B1-B5	1.003	B3-B8	1.769		
p	0.321	p	0.078		
B1-B6	0.675	B4-B5	5.053		
p	0.509	p	0.000		
B1-B7	1.063	B4-B6	4.726		
p	0.292	p	0.000		
B1-B8	-0.277	B4-B7	5.113		
p	0.779	p	0.000		
B2-B3	-1.084	B4-B8	3.774		
p	0.282	p	0.001		
B2-B4	-3.088	B5-B6	-0.327		
p	0.003	p	0.743		
B2-B5	1.965	B5-B7	0.060		
p	0.051	p	0.951		
B2-B6	1.637	B5-B8	-1.279		
p	0.103	p	0.203		
B2-B7	2.025	B6-B7	0.388		
p	0.044	p	0.701		
B2-B8	0.686	B6-B8	-0.952		
p	0.502	p	0.653		
B3-B4	-2.004	B7-B8	-1.340		
p	0.046	p	0.182		

p = dua-ekor.

(bersaabung)

Lampiran 6. Rata-Rata Titer Antibodi (ELISA) Terhadap Antigen IB Antar Jenis Vaksin, Jenis Media Propagasi Virus Dan Aplikasi Vaksin Dari kelompok Ayam Perlakuan, Kelompok Ayam Pemanding Dan Kelompok Ayam Kontrol Pra Vaksinasi Serta Uji Statistiknya

Cetakan Ke - 1 / 1

** TABEL DATA : 11

(saabungan)

Paket : SPS (Seri Program Statistik)
 Modul : Anava 6 (Pilihan)
 Program : Analisis Variansi 2-Jalur (Anava AB)
 Edisi : Sutrisno Hadi dan Seno Pamardiyanto
 Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia
 Versi IBM/IN, Hak Cipta (c) 1993 Dilindungi UU

Nama Lembaga : Program S3 Pasca Sarjana - UNAIR
 Alamat : Surabaya

Nama Peneliti : HERAWATI S.
 Nama Lembaga : PROGRAM PASCASARJANA UNAIR
 Tgl. Analisis : 12-06-1999
 Nama Berkas : 11

Nama Jalur Klasifikasi A : APLIKASI
 Nama Klasifikasi A 1 : IM
 Nama Klasifikasi A 2 : SC

Nama Jalur Klasifikasi B : MEDIA
 Nama Klasifikasi B 1 : TCA
 Nama Klasifikasi B 2 : TTC
 Nama Klasifikasi B 3 : GCA
 Nama Klasifikasi B 4 : GTC
 Nama Klasifikasi B 5 : ADJ
 Nama Klasifikasi B 6 : VK1
 Nama Klasifikasi B 7 : VK2
 Nama Klasifikasi B 8 : VK3

Nama Ubahan Taut X : TITER ANTIBODI PRE VAKSINASI

Jalur Klasifikasi A = Rekaman Nomor : 1
 Jalur Klasifikasi B = Rekaman Nomor : 2

Ubahan Taut X = Rekaman Nomor : 3

Cacah Kasus Semula : 80
 Cacah Data Hilang : 0
 Cacah Kasus Jalan : 80

=====				=====			
Kasus	A	B	X	Kasus	A	B	X
-----				-----			
1	1	1	1.618	41	2	1	1.641
2	1	1	1.800	42	2	1	1.491
3	1	1	1.690	43	2	1	1.765
4	1	1	1.621	44	2	1	1.401
5	1	1	1.734	45	2	1	1.518
=====							
6	1	2	1.742	46	2	2	1.336
7	1	2	1.369	47	2	2	1.326
8	1	2	1.631	48	2	2	1.661
9	1	2	1.822	49	2	2	1.577
10	1	2	1.719	50	2	2	1.544
11	1	3	1.026	51	2	3	1.189
12	1	3	0.778	52	2	3	1.071
13	1	3	1.767	53	2	3	0.886
14	1	3	1.095	54	2	3	1.016
15	1	3	1.022	55	2	3	1.333
16	1	4	1.225	56	2	4	1.488
17	1	4	1.165	57	2	4	0.510
18	1	4	1.311	58	2	4	0.837
19	1	4	1.477	59	2	4	0.778
20	1	4	0.748	60	2	4	0.865
21	1	5	1.064	61	2	5	1.064
22	1	5	1.055	62	2	5	1.029
23	1	5	1.055	63	2	5	1.037
24	1	5	1.037	64	2	5	1.037
25	1	5	0.928	65	2	5	0.997
26	1	6	0.973	66	2	6	1.037
27	1	6	0.988	67	2	6	1.029
28	1	6	1.003	68	2	6	1.035
29	1	6	0.980	69	2	6	1.026
30	1	6	0.959	70	2	6	1.035
31	1	7	0.973	71	2	7	0.928
32	1	7	0.943	72	2	7	0.960
33	1	7	0.922	73	2	7	0.960
34	1	7	0.935	74	2	7	0.946
35	1	7	0.960	75	2	7	0.984
36	1	8	0.937	76	2	8	0.965
37	1	8	1.037	77	2	8	1.011
38	1	8	1.044	78	2	8	1.025
39	1	8	1.008	79	2	8	1.079
40	1	8	1.004	80	2	8	1.025

Lanjutan Lampiran 6.

** TABEL STATISTIK INDUK

Sumber	n	$\sum X$	$\sum X^2$	Rerata	SB
A1	40	48.165	62.186	1.204	0.328
A2	40	45.442	54.606	1.136	0.276
B1	10	16.279	26.647	1.628	0.127
B2	10	15.727	25.016	1.573	0.177
B3	10	11.183	13.179	1.118	0.273
B4	10	10.404	11.846	1.040	0.337
B5	10	10.303	10.630	1.030	0.041
B6	10	10.065	10.138	1.007	0.030
B7	10	9.511	9.049	0.951	0.020
B8	10	10.135	10.286	1.014	0.040
A1B1	5	8.463	14.348	1.693	0.077
A1B2	5	8.283	13.844	1.657	0.175
A1B3	5	5.688	7.024	1.138	0.372
A1B4	5	5.926	7.318	1.185	0.271
A1B5	5	5.139	5.295	1.028	0.057
A1B6	5	4.903	4.809	0.981	0.016
A1B7	5	4.733	4.482	0.947	0.020
A1B8	5	5.030	5.067	1.006	0.042
A2B1	5	7.816	12.298	1.563	0.142
A2B2	5	7.444	11.173	1.489	0.150
A2B3	5	5.495	6.155	1.099	0.170
A2B4	5	4.478	4.528	0.896	0.360
A2B5	5	5.164	5.336	1.033	0.024
A2B6	5	5.162	5.329	1.032	0.005
A2B7	5	4.778	4.568	0.956	0.021
A2B8	5	5.105	5.219	1.021	0.041
Total	80	93.607	116.792	1.170	0.303

** TABEL RANGKUMAN ANALISIS VARIANSI 2-JALUR

Sumber	JK	db	RK	F	R ₀	p
Antar A	0.093	1	0.093	3.240	0.013	0.073
Antar B	5.100	7	0.729	25.466	0.702	0.000
Inter AB	0.240	7	0.034	1.201	0.033	0.315
Dalam	1.831	64	0.029	--	--	--
Total	7.264	79	--	--	--	--

Lanjutan Lampiran 6.

** UJI-t ANTAR B		(saambungan)		(saambungan)	
Suaber	X	Suaber	X	Suaber	X
B1-B2	0.730	B3-B5	1.163		
p	0.525	p	0.248		
B1-B3	6.737	B3-B6	1.478		
p	0.000	p	0.141		
B1-B4	7.767	B3-B7	2.210		
p	0.000	p	0.029		
B1-B5	7.901	B3-B8	1.386		
p	0.000	p	0.167		
B1-B6	8.215	B4-B5	0.134		
p	0.000	p	0.889		
B1-B7	8.948	B4-B6	0.448		
p	0.000	p	0.660		
B1-B8	8.123	B4-B7	1.181		
p	0.000	p	0.240		
B2-B3	6.007	B4-B8	0.356		
p	0.000	p	0.724		
B2-B4	7.037	B5-B6	0.315		
p	0.000	p	0.752		
B2-B5	7.171	B5-B7	1.047		
p	0.000	p	0.299		
B2-B6	7.485	B5-B8	0.222		
p	0.000	p	0.820		
B2-B7	8.218	B6-B7	0.732		
p	0.000	p	0.527		
B2-B8	7.393	B6-B8	-0.093		
p	0.000	p	0.924		
B3-B4	1.030	B7-B8	-0.825		
p	0.308	p	0.582		

p = dua-ekor.

(bersambung)

Lampiran 7. Rata-Rata Titer Antibodi (ELISA) Terhadap Antigen IB Antar Jenis Vaksin, Jenis Media Propagasi Virus Dan Aplikasi Vaksin Dari kelompok Ayam Perlakuan, Kelompok Ayam Pemanding Dan Kelompok Ayam Kontrol Pasca Vaksinasi Serta Uji Statistiknya

Cetakan Ke - 1 / 1

** TABEL DATA : 12

(saabungan)

Paket : SPS (Seri Program Statistik)

Modul : Anava 6 (Pilihan)

Program : Analisis Variansi 2-Jalur (Anava AB)

Edisi : Sutrisno Hadi dan Seno Pamardiyanto

Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

Versi IBM/IN, Hak Cipta (c) 1993 Dilindungi UU

Nama Lembaga : Program S3 Pasca Sarjana - UNAIR

A l a m a t : Surabaya

Nama Peneliti : HERAWATI S.

Nama Lembaga : PROGRAM PASCASARJANA UNAIR

Tgl. Analisis : 12-06-1999

Nama Berkas : 12

Nama Jalur Klasifikasi A : APLIKASI

Nama Klasifikasi A 1 : IM

Nama Klasifikasi A 2 : SC

Nama Jalur Klasifikasi B : MEDIA

Nama Klasifikasi B 1 : TCA

Nama Klasifikasi B 2 : TTC

Nama Klasifikasi B 3 : GCA

Nama Klasifikasi B 4 : GTC

Nama Klasifikasi B 5 : ADJ

Nama Klasifikasi B 6 : VK1

Nama Klasifikasi B 7 : VK2

Nama Klasifikasi B 8 : VK3

Nama Ubahan Taut X : TITER ANTIBODI PASCA VAKSINASI

Jalur Klasifikasi A = Rekaman Nomor : 1

Jalur Klasifikasi B = Rekaman Nomor : 2

Ubahan Taut X = Rekaman Nomor : 3

Cacah Kasus Semula : 80

Cacah Data Hilang : 0

Cacah Kasus Jalan : 80

Kasus	A	B	X	Kasus	A	B	X
1	1	1	0.923	41	2	1	1.256
2	1	1	1.391	42	2	1	0.685
3	1	1	0.992	43	2	1	1.051
4	1	1	1.233	44	2	1	1.206
5	1	1	0.865	45	2	1	1.175
6	1	2	1.431	46	2	2	0.921
7	1	2	1.079	47	2	2	1.251
8	1	2	1.044	48	2	2	1.346
9	1	2	1.193	49	2	2	1.435
10	1	2	0.696	50	2	2	1.432
11	1	3	1.328	51	2	3	1.775
12	1	3	0.796	52	2	3	1.111
13	1	3	1.861	53	2	3	1.356
14	1	3	1.539	54	2	3	1.478
15	1	3	0.608	55	2	3	1.504
16	1	4	1.552	56	2	4	1.559
17	1	4	1.479	57	2	4	1.701
18	1	4	1.574	58	2	4	1.730
19	1	4	1.618	59	2	4	1.603
20	1	4	1.567	60	2	4	1.071
21	1	5	0.901	61	2	5	0.936
22	1	5	0.936	62	2	5	0.901
23	1	5	0.881	63	2	5	0.907
24	1	5	0.951	64	2	5	0.943
25	1	5	0.874	65	2	5	0.951
26	1	6	1.044	66	2	6	0.995
27	1	6	1.035	67	2	6	0.988
28	1	6	0.815	68	2	6	0.995
29	1	6	0.994	69	2	6	0.973
30	1	6	0.966	70	2	6	1.027
31	1	7	0.954	71	2	7	0.968
32	1	7	0.961	72	2	7	0.983
33	1	7	0.941	73	2	7	1.021
34	1	7	0.941	74	2	7	0.983
35	1	7	0.998	75	2	7	0.947
36	1	8	1.012	76	2	8	0.908
37	1	8	0.956	77	2	8	1.022
38	1	8	1.071	78	2	8	1.025
39	1	8	1.010	79	2	8	1.022
40	1	8	0.987	80	2	8	0.981

Lanjutan Lampiran 7.

** TABEL STATISTIK INDUK

Suaber	n	dX	dX}	Rerata	SB
A1	40	43.997	51.554	1.100	0.285
A2	40	46.122	56.022	1.153	0.270
B1	10	10.777	12.026	1.078	0.214
B2	10	11.828	14.544	1.183	0.248
B3	10	13.356	19.269	1.336	0.399
B4	10	15.454	24.180	1.545	0.182
B5	10	9.181	8.437	0.918	0.029
B6	10	9.832	9.704	0.983	0.064
B7	10	9.697	9.409	0.970	0.026
B8	10	9.994	10.006	0.999	0.044
A1B1	5	5.404	6.039	1.081	0.223
A1B2	5	5.443	6.210	1.089	0.267
A1B3	5	6.132	8.599	1.226	0.519
A1B4	5	7.790	12.147	1.558	0.051
A1B5	5	4.543	4.132	0.909	0.034
A1B6	5	4.854	4.747	0.971	0.093
A1B7	5	4.795	4.601	0.959	0.023
A1B8	5	5.036	5.079	1.007	0.042
A2B1	5	5.373	5.986	1.075	0.231
A2B2	5	6.385	8.335	1.277	0.213
A2B3	5	7.224	10.670	1.445	0.241
A2B4	5	7.664	12.033	1.533	0.267
A2B5	5	4.638	4.304	0.928	0.022
A2B6	5	4.978	4.958	0.996	0.020
A2B7	5	4.902	4.809	0.980	0.027
A2B8	5	4.958	4.926	0.992	0.050
Total	80	90.119	107.576	1.126	0.277

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

** TABEL RANGKUMAN ANALISIS VARIANSI 2-JALUR

Sumber	JK	db	RK	F	R}	p
Antar A	0.056	1	0.056	1.417	0.009	0.236
Antar B	3.295	7	0.471	11.816	0.544	0.000
Inter AB	0.157	7	0.022	0.565	0.026	0.783
Dalam	2.549	64	0.040	--	--	--
Total	6.058	79	--	--	--	--

Lanjutan Lampiran 7.

** UJI-t ANTAR B		(sambungan)		(sambungan)	
Sumber	X	Sumber	X	Sumber	X
B1-B2	-1.178	B3-B5	4.678		
p	0.242	p	0.000		
B1-B3	-2.889	B3-B6	3.948		
p	0.005	p	0.000		
B1-B4	-5.240	B3-B7	4.100		
p	0.000	p	0.000		
B1-B5	1.788	B3-B8	3.767		
p	0.075	p	0.001		
B1-B6	1.059	B4-B5	7.028		
p	0.294	p	0.000		
B1-B7	1.210	B4-B6	6.299		
p	0.229	p	0.000		
B1-B8	0.877	B4-B7	6.450		
p	0.612	p	0.000		
B2-B3	-1.712	B4-B8	6.117		
p	0.088	p	0.000		
B2-B4	-4.063	B5-B6	-0.729		
p	0.000	p	0.525		
B2-B5	2.966	B5-B7	-0.578		
p	0.004	p	0.572		
B2-B6	2.236	B5-B8	-0.911		
p	0.027	p	0.631		
B2-B7	2.388	B6-B7	0.151		
p	0.019	p	0.875		
B2-B8	2.055	B6-B8	-0.182		
p	0.041	p	0.851		
B3-B4	-2.351	B7-B8	-0.333		
p	0.021	p	0.740		

p = dua-ekor.

(bersambung)