

**SKRIPSI**

**PENGARUH LAMA INAKTIVASI VIRUS ND  
DENGAN FORMALIN 0,1% TERHADAP  
TITER HA**



OLEH :

AGUS CHANDRA KINTAKA

SURABAYA - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

**SURABAYA**

**1994**

PENGARUH LAMA INAKTIVASI VIRUS ND DENGAN FORMALIN 0,1%  
TERHADAP TITER HA

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan  
pada  
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh :

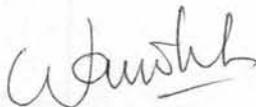
AGUS CHANDRA KINTAKA

---

068811423

Menyetujui :

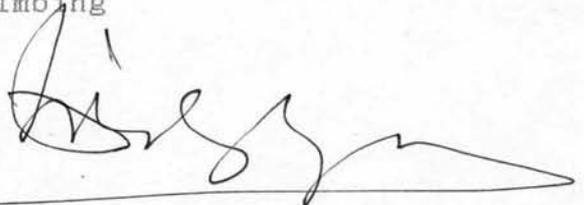
Komisi Pembimbing



Nanik Sianita W, S.U., Drh

---

Pembimbing Pertama



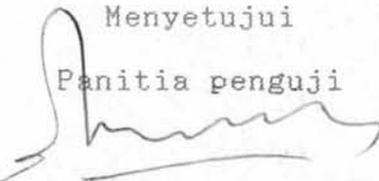
Ngk. Made Rai Widjaja, M.S., Drh.

---

Pembimbing Kedua

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

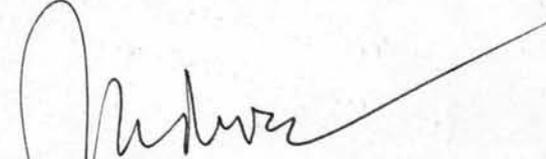
Menyetujui  
Panitia penguji

  
Garry Cores de Vries, M.Sc., Drh.

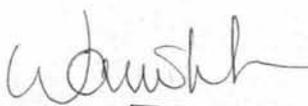
Ketua

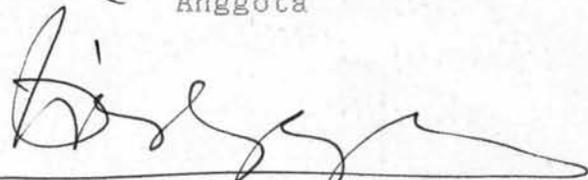
  
Rahayu Ernawati, M.Sc., Drh.

Sekretaris

  
D Ketut Meles, M.S., Drh.

Anggota

  
Nanik Sianita W, S.U., Drh.

  
Ngk. Made Rai W, M.S., Drh.

Surabaya, 9 Pebruari 1994

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan



  
Rochiman Sasmita, M.S., Drh

Nip. 130350739

PENGARUH LAMA INAKTIVASI VIRUS ND DENGAN FORMALIN 0,1%  
TERHADAP TITER HA

AGUS CHANDRA KINTAKA

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama inaktivasi virus ND dengan formalin 0,1% terhadap titer HA.

Sebanyak 40 butir Telur Ayam Bertunas (TAB) berumur 9-10 hari diinokulasi dengan suspensi virus ND pada cairan allantoisnya. Kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama lima hari untuk selanjutnya dipanen virusnya. Adapun perlakuan selanjutnya adalah dengan mencampur formalin ke dalam cairan allantois yang mengandung virus ND sampai mencapai konsentrasi akhir 0,1%. Selanjutnya dibagi menjadi lima kelompok perlakuan lama inaktivasi, masing-masing perlakuan PO (sebagai kontrol / 0 jam), P1 ( lama inaktivasi 12 jam ), P2 ( lama inaktivasi 16 jam ), P3 ( lama inaktivasi 20 jam ), P4 ( lama inaktivasi 24 jam ). Masing-masing perlakuan kecuali PO diinkubasikan pada suhu 37°C. Kemudian setelah sampai pada waktunya, masing-masing perlakuan dilakukan uji HA mikroteknik. Setelah itu untuk mengetahui apakah virus ND sudah inaktif atau belum dilakukan pembuktian dengan menginokulasikan virus yang telah diberi perlakuan ke dalam cairan allantois TAB.

Hasil analisis varian menunjukkan bahwa perlakuan lama inaktivasi berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap titer HA virus ND yang diinaktifkan dengan formalin 0,1%. Selanjutnya dengan uji BNT menunjukkan bahwa titer HA yang tertinggi pada virus yang terinaktivasi terdapat pada P2 (16 jam).

## UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan syukur Alhamdulillah kehadiran Allah SWT, atas segala rahmat dan hidayahnya yang telah diberikan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

Dengan rasa hormat, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih yang terhingga kepada Drh. Nanik Sianita W, S.U. selaku pembimbing pertama dan Drh. Ngk Made Rai Widjaja, M.S. selaku pembimbing kedua yang selalu bersedia memberikan bimbingan, saran dan nasehat yang sangat berguna dalam menyusun skripsi ini.

Demikian pula penulis menyampaikan terima kasih kepada Dekan Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga atas bantuan moral dan material serta kesempatan yang telah diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi ini.

Tak lupa penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala, Staf dan Karyawan Laboratorium Virologi dan Immunologi Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga Surabaya atas bantuan fasilitas dan tenaga, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini dengan lancar.

Kepada ibu dan ayah tercinta serta saudara-saudara-ku, rasa terima kasih yang tak terhingga penulis sampaikan atas dorongan semangat dan do'a yang tiada putusnya.

Akhirnya penulis masih menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna. Walaupun demikian, semoga hasil-hasil yang dituangkan dalam tulisan ini bermanfaat bagi mereka yang memerlukan.

Surabaya, Pebruari, 1994.

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman.
UCAPAN TERIMA KASIH .....	i
DAFTAR ISI .....	iii
DAFTAR TABEL .....	v
DAFTAR GAMBAR .....	vi
DAFTAR LAMPIRAN .....	vii
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1. Latar Belakang Penelitian .....	1
2. Perumusan Masalah .....	3
3. Tujuan Penelitian .....	3
4. Manfaat Penelitian .....	3
5. Hipotesa Penelitian .....	3
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
1. Newcastle Disease (ND) .....	4
1.1. Sejarah dan Penyebaran Penyakit ..	4
1.2. Karakteristik Virus .....	5
1.2.1. Morfologi Virus .....	5
1.2.2. Sifat dan Daya Tahan Virus ..	8
1.3. Klasifikasi Virus .....	10
1.4. Diagnosa Penyakit .....	11
1.5. Uji Hemaglutinasi (HA) .....	12
2. Tinjauan Bahan Antimikrobial .....	13
2.1. Umum .....	13
2.2. Formalin .....	16
<b>BAB III. MATERI DAN METODE</b> .....	<b>18</b>
1. Tempat dan Waktu Penelitian .....	18
2. Materi Penelitian .....	18
2.1. Bahan .....	18
2.2. Alat-alat .....	18
3. Metode Penelitian .....	19
3.1. Sampel .....	19
3.2. Peubah .....	19
3.3. Cara Kerja .....	19
3.3.1. Pemiakan Virus pada TAB .....	19

3.3.2: Pengujian Virus ND Hasil Biakan .....	20
3.3.2.1. Uji HA Plate .....	20
3.3.2.2. Uji HI Plate .....	21
3.3.3. Perlakuan Terhadap Sampel .....	21
3.3.4. Pengukuran Titer HA dari Virus ND dengan Formalin 0,1% pada Berbagai Perlakuan Lama Inaktivasi .....	22
3.3.5. Pembuktian Inaktivitas Virus ND yang Telah Diberi Perlakuan dengan Uji HA Plate .....	23
3.4. Rancangan Penelitian dan Analisis Data .....	23
<b>BAB IV. HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>25</b>
<b>BAB V. PEMBAHASAN .....</b>	<b>28</b>
<b>BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>32</b>
<b>BAB VII. RINGKASAN .....</b>	<b>33</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>35</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>38</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Titer HA ( $\log_2$ ) dari Virus ND yang dengan Formalin 0,1% pada Berbagai Perlakuan Lama Inaktivasi .....	25
2. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Titer HA Virus ND dengan Formalin 0,1% pada Berbagai Perlakuan Lama Inaktivasi .....	26

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Partikel Virus RNA (Bruner dan Gillespie, 1973) .....	7

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Titer HA ( $\log_2$ ) Virus ND dengan Formalin pada Berbagai Pelakuan Lama Inaktivasi .....	37
2. Analisis Statistik Pengaruh Lama Inaktivasi Virus ND dengan Formalin 0,1% Terhadap Titer HA	38
3. Penghitungan Uji BNT Pengaruh Lama Inaktivasi Virus ND dengan Formalin 0,1% Terhadap Titer HA	40
4. Titer HA Plate Hasil Pembuktian Virus ND dengan dengan Formalin 0,1% pada Berbagai Perlakuan Lama Inaktivasi .....	41
5. Mempersiapkan Sel Darah Merah Ayam 0,5% dan 5% ..	42

## BAB I

## PENDAHULUAN

## 1. Latar Belakang Penelitian

Penyakit pada ayam banyak yang menimbulkan kerugian. Terutama karena tingginya angka kematian yang ditimbulkannya baik pada ayam dewasa maupun pada anak ayam. Diantara penyakit-penyakit ayam tersebut antara lain *Newcastle Disease* ( ND ) yang merupakan penyakit dengan mortalitas dan morbiditas yang tinggi ( Anonimus, 1981 ).

Usaha-usaha pengendalian ND dengan vaksinasi sudah sejak lama dilakukan, akan tetapi sampai sekarang belum mencapai hasil yang maksimal ( Anonimus, 1982 ).

Diagnosis yang tepat terhadap ND sangat penting dilakukan sebagai dasar untuk menindaklanjuti penanggulangan terhadap penyakit tersebut. Saat ini diagnosis untuk ND yang sering digunakan dilaboratorium adalah uji HA dan HI. Selain mudah dan praktis uji HA dan HI juga dapat digunakan mengukur status kekebalan ayam yang telah divaksin ND ( Anonimus, 1981 ).

Salah satu komponen dasar yang digunakan untuk keperluan diagnosis ND dengan uji HA dan HI adalah antigen ND. Sebaiknya antigen ND adalah virus ND yang telah

mengalami inaktivasi. Ada berbagai cara untuk menginaktivkan virus ND yaitu melalui proses kimia atau fisik. Melalui proses kimia misalnya dapat dilakukan dengan memakai bahan formalin, betapropriolactone, etilen oksida ( Lintone *et al.* 1987 ).

Formalin merupakan salah satu bahan yang sering digunakan sebagai penginaktivasi virus. Formalin ini mampu menginaktivasi virus tanpa mempengaruhi kemampuan antigenitasnya. Formalin digunakan dalam penelitian ini karena selain mudah didapat, juga efektif dalam menginaktivasi virus ND. Disamping keuntungan-keuntungan tersebut diatas formalin dengan konsentrasi 0,1% sudah terbukti mampu menginaktivasi virus ND strain lentogenik dalam waktu 16 jam pada suhu 37°C ( Allan *et al.* 1973 ). Sedang peneliti lain menyatakan bahwa formalin dengan konsentrasi 0,1 % mampu menginaktivasi virus ND strain lentogenik dalam waktu 24 jam pada suhu 37°C ( Beard, 1980 ).

Berdasarkan latar belakang diatas maka perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh lama inaktivasi virus ND yang tepat dengan formalin 0,1 % , sebagai antigen ND untuk keperluan uji HA dan HI.

## 2. Perumusan masalah

Apakah ada pengaruh lama inaktivasi virus ND dengan formalin 0,1 % terhadap titer HA dan berapa lama inaktivasi yang baik ?

## 3. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh lama inaktivasi virus ND dengan formalin 0,1% terhadap titer HA dan mencari lama inaktivasi yang baik.

## 4. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi di dunia kedokteran hewan khususnya dalam pembuatan antigen untuk uji HA dan HI.

## 5. Hipotesa Penelitian

Ada pengaruh lama inaktivasi virus ND dengan formalin 0,1 % terhadap titer HA.

## BAB II

## TINJAUAN PUSTAKA

1. *Newcastle Disease* ( ND )

## 1.1 Sejarah dan Penyebaran Penyakit

*Newcastle Disease* ( ND ) pertama kali dikenal di tiga negara yang terpisah secara luas yaitu di Indonesia ( Kraneveld, 1926 ), Inggris ( Doyle, 1927 ) dan Korea ( Kanno, 1929 ) ( Beard dan Hanson, 1984; Clubb, 1986 ).

Doyle pada tahun 1927 berhasil mengisolasi dan mengidentifikasi virus ND dari wabah penyakit yang terjadi secara *epizootik* di pantai utara Inggris sekitar daerah Newcastle on Tyne ( Gordon dan Jordan, 1982; Copland, 1987 ).

*Newcastle Disease* pertama kali dilaporkan di Amerika oleh Beach pada tahun 1940 di California selanjutnya Beach membuktikan bahwa virus yang didapat dari wabah di California sama dengan virus yang diketemukan di Inggris. Penyakit ini telah tersebar di beberapa dunia diantaranya banyak terjangkit di Amerika, Canada, Eropa, Afrika selatan, Cina, Jepang, beberapa negara di Eropa, Philipina, Australia dan India ( Merchant dan Packer, 1971).

Penyebaran penyakit ini hampir bisa dikatakan merata di seluruh dunia sebagai penyakit *epizootik* yang sangat merugikan peternakan unggas terutama peternakan

ayam, karena tingginya angka kematian dan penurunan produksi ( Bruner dan Gillespie, 1973 )

Penyakit ini pertamakali ditemukan pada tahun 1926 dengan angka kematian yang sangat tinggi. Jalan penyakitnya akut sehingga dalam waktu singkat dapat membunuh sejumlah besar ayam. Karena penyakit ini menyerupai Pes Ayam maka disebutnya *Pseudo-Vogelpest*. ND juga dikenal dengan nama lain *Pseudo Fowlpest*, *Pseudo Vogelpest*, *Aziatische Vogelpest*, *Pneumo-encephalitis*, Pes Unggas, Penyakit Tetelo dan Sampar Ayam ( Ressang, 1984 ).

Penyakit ini digambarkan sebagai penyakit akut dan biasanya berupa penyakit syaraf dan pernafasan yang bersifat fatal ( Merchant dan Packer, 1971; Brunner dan Gillespie, 1973; Ernawati dan Soelistyanto, 1987 ).

## 1.2 Karakteristik Virus

### 1.2.1 Morfologi Virus

Virus ND adalah golongan paramyxovirus yang tersusun dari asam inti ribo ( RNA ) beruntai tunggal dengan struktur helikal dan mempunyai amplop yang terdiri dari dua lapis lipid yang berasal dari membran sel. Virus ND dapat menimbulkan hemaglutinasi bila ditambahkan pada suspensi eritrosit ayam atau eritrosit hewan lain yang dapat dihemaglutinasikan ( Beard dan Hanson, 1984; Ernawati dan Soelistyanto, 1987 ).

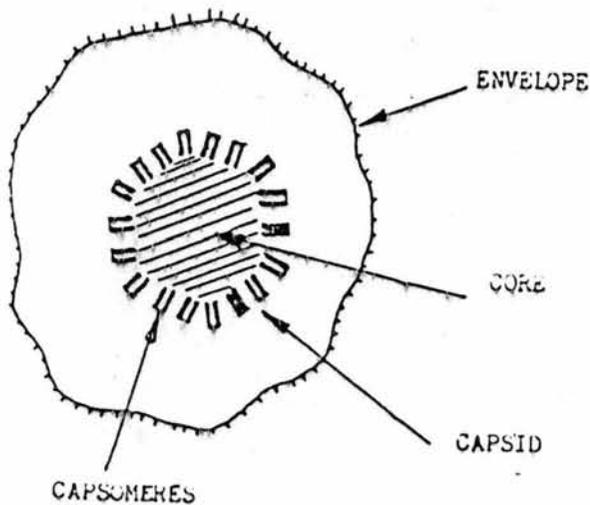
Virus ND murni terdiri dari asam ribonukleat ( RNA ) 0,75-1 %, protein 74,5 %, karbohidrat 65 % dan lemak 18%. Partikel virus yang lengkap disebut virion. Mengandung asam nukleat pada inti pusatnya yang dikelilingi oleh selubung protein ( yang melindungi struktur dalam virus dari pengaruh luar ) dalam bentuk nukleokapsid. Nukleokapsid merupakan solubel antigen atau internal antigen ( Beard dan Hanson, 1984 ).

Virion relatif besar yaitu 120-300 nm dengan bentuk yang bervariasi dari yang bulat dan oval dengan diameter 70-80 nm sampai bentuk filamen dengan panjang 124-200 nm. Pada umumnya yang diketemukan adalah bentuk bulat dan ovoidal sedangkan bentuk filamen sering diketemukan pada virus-virus yang baru terdapat di alam ( Beard dan Hanson, 1984 ).

Virus ND tersusun sangat kompleks, komponen-komponennya tersusun berlapis-lapis. Paling dalam terletak RNA berupa tali tunggal berbentuk spiral ( helik ) dengan panjang 600-800 nm dan berdiameter 8-9 nm ( Beard dan Hanson, 1984 ).

Berat molekul RNA-nya  $2 \times 10^6$ . RNA diselubungi oleh protein yang terdiri dari unit-unit kecil ( sub unit ) yang berbentuk bulat dengan diameter 3-3,5 nm yang berjejer mengikuti panjang dan RNA berbentuk spiral. RNA dan protein ini disebut nukleokapsid. Nukleokapsid

tidak berupa tali lurus yang panjang tetapi melingkar-lingkar sehingga membentuk bola dan diselubungi oleh selaput luar yang disebut amplop. Pada amplop yang banyak mengandung lemak ini terdapat paku-paku ( Projection ) dengan panjang 30-50 nm yang tersusun secara radial meliputi seluruh permukaan amplop ( Beard dan Hanson, 1984 ).



Gambar 1. Partikel Virus RNA ( Bruner dan Gillespie, 1973 ).

### 1.2.2 Sifat dan Daya Tahan Virus

Semua virus ND mempunyai kemampuan mengaglutinasi sel darah merah unggas, semua jenis amphibi, reptil juga sel darah merah manusia golongan O dan marmut, sedang sel darah merah sapi, domba dan kuda hanya dapat diaglutinasi oleh beberapa strain virus ND saja ( Merchant dan Packer, 1971 ).

Virus ND juga mempunyai kemampuan menghemaglutinasi sel darah merah ayam. Mekanisme hemaglutinasi disebabkan oleh terjadinya adsorpsi yang cukup kuat dari hemaglutinin dengan reseptor mucopolisakarida yang terdapat pada permukaan eritrosit unggas. Hemaglutinasi ini hanya bersifat sementara, artinya hemaglutinasi tersebut tidak berlangsung terus akan tetapi setelah beberapa saat akan hilang ( reversibel ). Hal ini karena virus ND mempunyai enzim neuraminidase yang akan merusak ikatan antara hemaglutinin virus dengan eritrosit ( Brunner dan Gillespie, 1973 ; Ernawati dan Soelistyanto, 1987 ).

Virus ND peka terhadap panas, pada suhu 100°C segera rusak dalam waktu satu menit. Pada suhu 55°C virus menjadi inaktif setelah 45 menit. Pada suhu 37°C virus ND tahan dua sampai tiga hari ( Hanson, 1980 ). Pada penyinaran langsung dengan sinar matahari virus menjadi inaktif dalam waktu 30 menit. Dalam cairan allantois

virus dapat tahan sampai satu tahun bila disimpan pada suhu  $5^{\circ}\text{C}$ , pada suhu  $-70^{\circ}\text{C}$  dapat tahan lebih lama lagi. Dalam feses dengan suhu  $40^{\circ}\text{F}$  dapat tahan sampai 5,5 bulan, sedang pada bangkai ayam bila disimpan pada suhu  $-40^{\circ}\text{F}$  tahan sampai 300 hari. Pada suhu kamar virus tetap hidup sampai 30 hari dan bila disimpan pada suhu beku tahan lebih dari satu tahun. Hemaglutinin virus tahan dua sampai empat hari pada suhu  $56^{\circ}\text{C}$  ( Ernawati dkk, 1989; Hanson , 1980; Merchant dan Packer, 1971 ).

Virus dapat tumbuh pada telur ayam berembrio ( TAB ) dengan umur delapan sampai 10 hari dengan cara penyuntikkan melalui cairan allantois kemudian diinkubasikan pada suhu 37 sampai  $38^{\circ}\text{C}$ . Beberapa strain dapat membunuh embrio dalam waktu 24 sampai 72 jam dengan menimbulkan lesi hemorhagis dan encephalitis ( Merchant dan packer, 1971; Ernawati dkk, 1989 ).

Semua strain virus ND dapat berkembang biak menghasilkan hemaglutinin, hemadsorpsi dan menimbulkan perubahan sitopatik pada biakan sel sekunder ataupun sel line yang berasal dari sel ginjal kelinci, babi, sapi dan kera serta berasal dari jaringan ayam juga sel hela ( Brunner dan Gillespie, 1973; Ernawati dkk, 1989 ). Pada umumnya biakan sel yang paling baik untuk tumbuhnya virus ND adalah biakkan sel fibroblast dan sel ginjal embrio ayam serta sel ginjal hamster ( BHK ) ( Ernawati dkk, 1989 ).

Bahan yang bersifat virusidal dalam konsentrasi tertentu dapat menginaktifkan atau merusak efektifitas virus ND. Seperti misalnya virus ND akan inaktif dalam formalin 0,1 % dan akan rusak dalam formalin 3 %, ethil alkohol 70-90 %, kresol 3 %, yodium tincture 1 %, NaOH 2 % selama tiga menit. Virus ND dapat dibunuh dengan larutan KMnO 1 : 5000, lisol 1:1000, karbol 1: 20 ( Merchant dan Packer, 1971; Beard dan Hanson, 1984 ). Virus ND cepat inaktif oleh alkohol, formalin 0,1 %, betapropriolactone, pelarut lemak dan lisol ( Allan *et al*, 1973 ).

Virus ND akan dirusak oleh sinar ultra violet sebagai mana miyovirus lainnya. Sinar ultraviolet selama enam jam akan menginaktifkan virus tanpa merusak hemaglutinannya. Infektifitas virus ND dapat bertahan selama beberapa jam pada pH 2 - 10 ( Beard dan Hanson, 1984 ).

### 1.3 Klasifikasi Virus

Menurut Hanson, 1980 berdasarkan virulensinya virus ND dapat dibagi menjadi empat tipe yaitu :

Velogenik Viserotropik, tipe ini ditemukan oleh Doyle pada tahun 1927. Merupakan virus ND yang paling ganas, angka kematiannya sangat tinggi ( 80-90 % ) dan menyerang alat-alat vicerai. Bentuk ini disebabkan oleh strain Velogenik tipe Asia.

Velogenik Neurotropik atau Pneumotropik, tipe ini ditemukan oleh Beach pada tahun 1942. Merupakan bentuk virus ND yang ganas, menyebabkan kematian 60-80 %. Pada tipe ini sering dijumpai pendarahan disertai kerusakan jaringan pernafasan dan sistim syaraf. Bentuk ini disebabkan oleh strain Velogenik tipe Amerika.

Mesogenik, tipe ini ditemukan oleh Beaudette dan Black pada tahun 1942. Merupakan bentuk virus ND yang kurang ganas, menyebabkan penyakit akut pada ayam-ayam muda dan kematian pada ayam-ayam muda mencapai 10 %. Strain ini juga dipakai sebagai vaksin dengan aplikasi intramuskular dan digunakan sebagai booster setelah vaksinasi dengan strain lentogenik atau pada ayam umur di atas enam minggu dengan maksud untuk menghindari stress atau reaksi post vaksinal.

Tipe Lentogenik, tipe ini ditemukan pertama kali oleh Hitchner dan Johnson pada tahun 1948. Merupakan bentuk virus ND yang lemah atau tidak ganas, infeksi pada semua umur ayam tidak memperlihatkan gejala-gejala yang nyata. Strain ini secara intensif telah digunakan sebagai bahan vaksin, terutama vaksin bagi ayam-ayam muda.

#### 1.4 Diagnosis Penyakit

Penentuan penyakit ND ini didasarkan epizootologik, tanda-tanda klinis, patologik, virologik, kelainan pasca

mati dan dikuatkan dengan hasil pemeriksaan serologik ( Ernawati dan Soelistyanto, 1987; Anonimus, 1981 ).

Uji serologik yang dapat dipakai untuk mendiagnosis penyakit ND antara lain uji pengikatan komplemen (CFT), uji netralisasi, uji immunofluorensi, teknik immunodifusi, reaksi presipitasi di dalam agar, hemaglutinasi inhibisi (HI) dan hemaglutinasi (HA) ( Ernawati dan Soelistyanto, 1987; Tizard, 1987 ).

Uji serologik didasarkan pada reaksi antara antigen dan antibodi. Cara-cara yang sering dipakai adalah uji HA dan uji HI ( Tizard, 1987 ).

Untuk keperluan uji HA tersebut bahan pemeriksaan dapat diperoleh dari usapan trachea, usapan trachea, usapan kloaka atau berupa suspensi 10% dari otak, paru-paru, trachea yang diinokulasikan ke dalam cairan allantois telur ayam berembrio umur 7-9 hari. Selanjutnya terhadap cairan dilakukan uji HA maupun uji HI ( Ernawati dan Soelistyanto, 1987 ).

### 1.5 Uji Hemaglutinasi (HA)

Virus-virus terutama golongan mikso virus mempunyai sifat dapat mengaglutinasi eritrosit ayam, marmut, manusia tipe O. Bahan dasar yang digunakan dalam uji HA adalah larutan fisiologis, suspensi eritrosit dan suspensi virus ( antigen ). Aglutinasi eritrosit terlihat jelas berupa gumpalan-gumpalan eritrosit yang terdapat

di dasar tabung. Hemaglutinasi terjadi karena virus mengandung suatu antigen protein yang dinamakan hemaglutinin. Mekanisme terbentuknya hemaglutinasi disebabkan karena terjadinya ikatan antara hemaglutinin dengan reseptor mukopolisakarida yang terdapat dipermukaan eritrosit ayam. Hemaglutinasi ini hanya bersifat sementara, artinya hemaglutinasi yang terjadi tidak berlangsung terus tetapi setelah beberapa saat akan hilang. Peristiwa tersebut disebabkan oleh karena virus juga mempunyai enzim neuraminidase yang akan merusak ikatan antara hemaglutinin virus dengan eritrosit. Eritrosit yang terlepas dari hemaglutinin virus tidak akan mengalami aglutinasi lagi untuk kedua kalinya meskipun dilakukan penambahan virus ( Bruner dan Gillespie, 1973; Hanson, 1980 ).

Kemampuan untuk mengadakan aglutinasi ini tidak hanya pada virus yang masih aktif tetapi juga pada virus yang telah inaktif asalkan struktur antigenya masih utuh ( Ernawati dan Soelistyanto, 1987 ).

## 2. Tinjauan Bahan Antimikrobia

### 2.1 Umum

Bahan antimikrobia adalah bahan yang sering digunakan untuk membunuh atau mengurangi infeksi dari mikroorganisme yang pathogen. Mekanisme kerja bahan tersebut

antara lain menghambat enzim karena denaturasi protein, bereaksi dengan asam nukleat dan merusak membran sitoplasma ( Mutschler, 1991 ). Penting sekali untuk memahami ciri-ciri pembeda masing-masing bahan tersebut, dalam hal ini mikroorganisme apa yang dapat dikendalikan serta bagaimana zat tersebut dipengaruhi oleh lingkungan. Setiap bahan antimikrobia mempunyai keterbatasan dalam keefektifannya bila digunakan dalam kondisi praktis. Keterbatasan tersebut tergantung dari jenis bahan antimikrobia, kadar bahan antimikrobia, lama kontak bahan antimikrobia dengan mikroorganisme yang diuji ( Jawetz *et al.*, 1980 ). Lagi pula tujuan yang dikehendaki dalam pengendalian mikroorganisme tidak selalu sama. Pada beberapa kasus mungkin perlu mematikan mikroorganisme, sedangkan pada kasus lain mungkin cukup mematikan sebagian besar mikroorganisme tetapi tidak semuanya. Dengan demikian pemilihan suatu bahan antimikrobia untuk penggunaan praktis tergantung dari tujuan yang diharapkan ( Pelczar dan Chan, 1988 ).

Berbagai substansi yang banyak digunakan sebagai sarana antimikrobia mempunyai cara kerja yang berbeda-beda dalam menghambat dan membunuh mikroorganisme. Beberapa diantaranya mengubah struktur membran sel, yang lain menghambat sintesis komponen-komponen selulernya yang vital atau mengubah keadaan fisik selulernya.

Pengetahuan mengenai cara kerja khusus tentang bagaimana suatu zat antimikrobia menghasilkan efek antimikrobialnya sangat berguna. Hal ini perlu untuk mempertimbangkan kemungkinan bagi penggunaan praktis bahan tersebut ( Joklik *et al.*, 1980; Pelcozar dan Chan, 1988 ).

Antara konsentrasi bahan antimikrobia dan mikroorganisme mempunyai hubungan yang erat. Semakin tinggi konsentrasi bahan antimikrobia yang digunakan semakin cepat pula waktu yang dibutuhkan untuk membunuh mikroorganisme ( Jawetz *et al.*, 1980 ).

Sedangkan hubungan antara temperatur dengan daya kerja bahan antimikrobia terhadap mikroorganisme adalah semakin besar temperatur akan semakin cepat pula bahan tersebut membunuh mikroorganisme. Hal tersebut dapat diterangkan bahwa bahan antimikrobia merusak mikroorganisme melalui reaksi-reaksi kimiawi dan laju reaksi kimiawi dapat dipercepat dengan meningkatnya temperatur ( Pelcozar dan Chan, 1988 ).

Pengaruh pH terhadap daya kerja bahan antimikrobia bervariasi. Beberapa antimikrobia lebih aktif pada pH asam dan yang lainnya aktif pada pH basa ( Jawetz *et al.*, 1980 ).

Untuk membunuh mikroorganisme dalam jumlah besar dibutuhkan waktu yang lebih lama dibandingkan membunuh mikroorganisme dalam jumlah kecil. Adanya bahan

organik dapat menurunkan efektifitas bahan antimikrobia secara nyata, dengan cara menginaktifkan bahan antimikrobia ataupun melindungi mikroorganisme dari bahan-bahan tersebut ( Rawlins, 1988 ).

Berdasarkan struktur kimianya bahan antimikrobia dapat dibagi menjadi beberapa kelompok utama antara lain ; phenol , alkohol, halogen, logam berat dan persenyawaannya, deterjen, aldehida ( formaldehida ) dan kemosterilisator gas ( Pelczar dan Chan, 1988; Martin, 1982 ).

## 2.2 Formalin

Formalin merupakan gas yang berbau merangsang, yang dalam larutan air dalam bentuk hidrat. Formalin bekerja sebagai bakterisid, virusid, adstrigen, menghambat sekresi keringat. Senyawa ini dipakai terutama untuk desinfektan ruangan. Bersifat korosif terhadap mukosa sehingga jarang dipakai sebagai antiseptika. Sifat tersebut bisa dikurangi dengan menambahkan sabun ( Mutschler, 1991)

Formalin merupakan formaldehida dalam bentuk larutan. Formalin adalah larutan yang tidak berwarna, mengandung tidak kurang dari 37 % formaldehida dengan ditambahkan metanol untuk mencegah polimerisasi. Formalin dapat bercampur dengan air atau alkohol dan berbau

menusuk spesifik untuk anggota seri aldehide alifatik rendah ( Martin, 1982 ).

Formalin dalam bentuk gas atau larutan mempunyai efek yang kuat pada segala jaringan. Formalin dapat mengiritasi membran mukosa, mengeraskan kulit. Formalin dapat membunuh bakteri atau menghambat pertumbuhannya. Formalin merupakan germisid yang sangat baik yang mungkin setara dengan phenol. Pengenceran 1 : 5000 dapat menghambat pertumbuhan setiap mikroorganisme dan dalam banyak kasus, 1 ; 20.000 dapat menahan multifikasi mikroorganisme. Pada konsentrasi 1-10 % efektif membunuh mikroorganisme dan sporanya dalam waktu 1-6 jam. Formalin bekerja dengan menghambat pembentukan protein ( Martin, 1982 ).

Formalin mempunyai beberapa efek sisitemik yang kurang menguntungkan pada konsentrasi 10 % oleh karena itu hanya digunakan sebagai desinfektan ( Osol dan Hoover, 1975 ).

Pada umumnya formalin pada konsentrasi 1-2 % sudah mampu membunuh beberapa kuman dan virus penyebab penyakit unggas seperti *Salmonella pulorum*, *Pasteurella multosida* atau virus penyebab ND dan *Infektios bronchitis* ( Jones, 1977 ). Selain itu formalin mempunyai kemampuan sebagai bahan inaktivasi virus tanpa mengubah efek antigenitasnya ( Rawlins, 1988 ).

## BAB III

### MATERI DAN METODE

#### 1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Virologi dan Immunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya, pada tanggal 1 Agustus 1993 sampai dengan tanggal 18 Agustus 1993.

#### 2. Materi Penelitian

##### 2.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan meliputi vaksin ND strain lentogenik ( La Sota ), NaCl fisiologis 0,9 %, aquadest, sel darah merah ayam 0,5 % dan 5 %, antikoagulan ethilen dinatrium tetra asetat ( EDTA ), formaldehide (PA), alkohol 70 %, telur ayam berembrio ( TAB ) umur 9-10 hari, antiserum ND, penicillin dan streptomycin.

##### 2.2 Alat-alat

Alat-alat yang digunakan adalah jarum suntik 1 cc, lampu peneropong, paku, inkubator, lemari es, mikrotiter plate V, mikrotiter loop ( diluter ), pipet dropper 0,025 ml dan 0,05 ml, pipet pasteur, pipet 1 ml, 5 ml dan 10 ml, tabung reaksi dan tutup karet, autoclave, botol 20 cc dan 100 cc, gelas beker, alat pemusing, pembakar bunsen; gelas obyek; parafin; kapas; kertas almunium.

### 3. Metode Penelitian

#### 3.1 Sampel

Dalam penelitian ini digunakan TAB yang ditanami virus ND, dan setelah dipanen cairan allantoisnya ( suspensi virus ND ) dicampur dengan formalin sampai mencapai konsentrasi 0,1 %.

#### 3.2 Peubah

Peubah bebas : lama inaktifasi virus ND yaitu 0 jam, 12 jam, 16 jam, 20 jam dan 24 jam.

Peubah tidak bebas : titer hemaglutinasi ( HA ).

Titer HA ditentukan dengan uji hemaglutinasi mikroteknik. Hasil uji dikatakan positif jika terjadi penggumpalan eritrosit ayam, sebaliknya uji hemaglutunasi mikroteknik dikatakan negatif jika tidak terjadi penggumpalan eritrosit ayam.

#### 3.3 Cara Kerja

##### 3.3.1 Pembiakkan Virus Pada TAB

Virus yang berasal dari vaksin ND strain lentogenik (La Sota) 100 dosis diencerkan dengan NaCl fisiologis 10 ml dan dibiakan pada 40 TAB.

TAB yang telah disediakan diperiksa embrionya dengan lampu teropong ( candling ) dan diberi tanda penyuntikannya. Tempat penyuntikkan dipilih sejauh mungkin dari embrio dan pembuluh darah. Daerah tempat penyuntikkan didesinfektan dulu dengan alkohol 70 %, kemudian tempat penyuntikkan dilubangi dengan jarum penusuk. Dosis inokulasi suspensi virus 0,1 cc untuk setiap telur yang disuntikkan melalui lubang yang dibuat ke dalam cairan allantois kemudian ditutup dengan parafin cair dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama lima hari dengan posisi vertikal ( ruang hawa di sebelah atas ). Selanjutnya dilakukan panen virus dengan mengambil cairan allantoisnya dari TAB tersebut. Untuk mengetahui adanya pertumbuhan virus ND dalam cairan allantois dilakukan uji hemaglutinasi plate ( HA plate ).

### 3.3.2 Pengujian Virus ND Hasil Biakan.

#### 3.3.2.1 Uji Hemaglutinasi Plate ( Uji HA Plate ).

Tujuan uji ini untuk mengetahui adanya virus ND dalam cairan allantois. Caranya adalah sebagai berikut : cairan allantois dari TAB diteteskan di atas gelas obyek ( 1-2 tetes ), kemudian ditambahkan suspensi eritrosit 5 % dengan jumlah yang sama. Selanjutnya gelas obyek digoyang-goyangkan sambil diperhatikan adanya aglutinasi. Reaksi dikatakan positif bila pada obyek glass terlihat adanya bintik-bintik halus yang homogen ( hemaglutinasi ).

Reaksi dikatakan negatif bila tidak terjadi adanya perubahan ( tidak adanya bitik-bintik halus yang homogen ).

#### 3.3.2.2 Uji Hemaglutinasi Inhibisi Plate ( Uji HI Plate ).

Tujuan dari uji ini untuk membuktikan virus ND dengan menggunakan antiserum ND. Caranya adalah sebagai berikut : cairan allantois dari TAB diteteska pada gelas obyek ( 1-2 tetes ), kemudian ditambahkan antiserum ND dan selanjutnya suspensi eritrosit ayam 5 %. Kemudian gelas obyek digoyang-goyangkan sambil diperhatikan adanya aglutinasi. Reaksi dikatakan positif bila tidak terlihat adanya butir-butir halus yang homogen ( hemaglutinasi ).

#### 3.3.3 Perlakuan Terhadap Sampel.

Cairan allantois ( suspensi virus ND ) yang berasal dari TAB selanjutnya dicampur dengan formalin sampai mencapai konsentrasi akhir 0.1 %. Kemudian dibagi menjadi lima kelompok perlakuan lama inaktivasi sebagai berikut ini :

P0 : Suspensi virus yang diinaktifkan dengan formalin 0,1% selama 0 jam.

- P1 : Suspensi virus yang dinaktifkan dengan formalin 0,1% selama 12 jam pada suhu inkubasi 37°C.
- P2 : Suspensi virus yang dinaktifkan dengan formalin 0,1% selama 16 jam pada suhu inkubasi 37°C.
- P3 : Suspensi virus yang dinaktifkan dengan formalin 0,1% selama 20 jam pada suhu inkubasi 37°C.
- P4 : Suspensi virus yang dinaktifkan dengan formalin 0,1% selama 24 jam pada suhu inkubasi 37°C.

#### 3.3.4 Pengukuran Titer HA dari Virus ND dengan Formalin 0,1% pada Berbagai Perlakuan Lama Inaktivasi.

Uji ini bertujuan untuk mengetahui titer HA dari virus ND yang telah diberi perlakuan lama inaktivasi. Adapun prosedur uji tersebut adalah sebagai berikut : lubang mikropate V diisi dengan 0,025 ml NaCl fisiologis mulai lubang no.1 sampai dengan lubang no.12. Kemudian lubang no.1 diisi dengan suspensi virus ND yang telah diberi perlakuan lama inaktivasi sebanyak 0,025 ml, dengan memakai diluter suspensi virus dan larutan NaCl fisiologis pada lubang no.1 dicampur dengan cara memutar-mutar diluter, kemudian dipindahkan ke lubang berikutnya. Demikian seterusnya sampai lubang no.11 dan lubang no.12

digunakan sebagai kontrol eritrosit ( tanpa antigen ). Kemudian lubang no.1 sampai lubang no.12 diisi dengan eritrosit ayam 0,5 % dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit atau sampai terlihat pengendapan eritrosit pada lubang kontrol.

### 3.3.5 Pembuktian Inaktivitas Virus ND yang Telah Diberi Perlakuan dengan Uji HA Plate.

Tujuan uji ini untuk membuktikan apakah virus ND pada kelima perlakuan lama inaktivasi tersebut sudah inaktif atau masih aktif. Adapun prosedur uji tersebut adalah sebagai berikut : suspensi virus ND yang telah mendapat perlakuan ditanam kembali ke dalam cairan allantois TAB dengan dosis 0,1 ml. Kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama lima hari. Selanjutnya masing-masing TAB dilakukan uji HA plate yaitu ; cairan allantois dari masing-masing TAB diteteskan di atas gelas obyek ( 1-2 tetes ), kemudian ditambahkan suspensi eritrosit 5 % dengan jumlah yang sama. Selanjutnya gelas obyek digoyang-goyangkan sambil diperhatikan adanya aglutinasi. Reaksi dikatakan positif bila dalam terlihat adanya bintik-bintik halus yang homogen ( hemaglutinasi ), reaksi dikatakan negatif bila tidak terjadi adanya perubahan ( tidak adanya bintik-bintik halus yang homogen ).

### 3.4. Rancangan Penelitian dan Analisis Data.

Pada penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan lima perlakuan dan diulang delapan kali. Kemudian untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh dari perlakuan, dilakukan pengujian statistik dengan analisis varian ( Uji F ). Kemudian dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil ( BNT ) ( Kusriningrum, 1989 ).

## BAB IV

## HASIL PENELITIAN

Setelah cairan allantois dipanen dan dilakukan uji HA plate menunjukkan adanya hemaglutinasi. Hasil uji HI plate dengan menggunakan anti serum ND menunjukkan adanya hambatan hemaglutinasi. Hal ini membuktikan bahwa di dalam cairan allantois positif mengandung virus ND.

Dari hasil penelitian pengaruh perlakuan lama inaktivasi virus ND dengan formalin 0.1% terhadap titer HA dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Titer HA ( $\log_2$ ) Virus ND dengan Formalin 0,1% pada Berbagai Perlakuan Lama Inaktivasi.

Ulangan	P0	P1	P2	P3	P4	Total
1	10	8	7	6	5	
2	9	8	7	5	4	
3	9	8	7	6	2	
4	9	7	7	5	5	
5	9	8	6	6	5	
6	10	7	6	6	5	
7	10	8	7	6	5	
8	9	8	7	6	5	
$\Sigma x$	75	62	54	46	36	273
x	9,375	7,75	6,75	5,75	4,5	

## Keterangan :

- P0 : Waktu inaktivasi 0 jam ( kontrol )
- P1 : Waktu inaktivasi 12 jam
- P2 : Waktu inaktivasi 16 jam
- P3 : Waktu inaktivasi 20 jam
- P4 : Waktu inaktivasi 24 jam

Dengan sidik ragam menunjukkan bahwa pengaruh lama inaktivasi virus ND dengan formalin 0,1% terhadap titer HA memberikan hasil yang berbeda sangat nyata ( $P < 0,01$ ).

Pengujian lebih lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) tentang pengaruh lama inaktivasi virus ND dengan formalin 0,1% terhadap titer HA pada masing-masing perlakuan memberikan hasil yang berbeda sangat nyata ( $P < 0,01$ ). Hasil pengujian ini dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Uji BNT Titer HA Virus ND dengan Formalin 0,1% pada Berbagai Perlakuan Lama Inaktivasi.

Perlakuan	Rata <sup>2</sup> titer HA perlakuan	BEDA				BNT	
						5%	1%
P0	9,375	4,875**	3,625**	2,625**	1,625**	0,0096	0,875
P1	7,75	3,25**	2**	1**			
P2	6,75	2,25**	1**				
P3	5,75	1,375**					
P4	4,5						

Keterangan :

(\*) : Berbeda nyata ( $P < 0,05$  )

(\*\*) : Berbeda sangat nyata ( $P < 0,01$  )

Setelah dilakukan uji pada cairan allantois TAB yang bertujuan untuk membuktikan apakah virus ND yang telah diberi formalin 0,1% dengan berbagai perlakuan lama inaktivasi tersebut sudah inaktif atau belum, hasilnya dapat dilihat pada lampiran 4.

## BAB V

## PEMBAHASAN

Virus yang inaktif adalah virus yang sedapat mungkin sifat antigenitasnya serupa dengan virus yang masih hidup. Karena itu cara kasar menginaktifasi virus seperti pemanasan yang menyebabkan denaturasi protein yang ekstensif menghasilkan antigen yang kurang memuaskan. Kalau akan digunakan bahan kimia, bahan tersebut harus mengakibatkan perubahan yang sangat kecil pada antigen ( Tizard, 1987 ).

Formalin merupakan suatu senyawa yang dapat merusak infektifitas virus tanpa merubah efek antigenitasnya. Sehingga telah digunakan secara luas untuk produksi virus vaksin inaktif ( Rawlins, 1988 ). Luria dan Darnell (1968), menyatakan bahwa waktu inkubasi, konsentrasi bahan antimikrobia serta kondisi-kondisi perlakuan sangat mempengaruhi hasil titer HA antigen yang dihasilkan.

Dari hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa ada perbedaan yang sangat nyata (  $P < 0,01$  ) akibat pengaruh lama inaktivasi virus ND dengan formalin 0,1% terhadap titer HA. Pengujian lebih lanjut dengan uji BNT menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan berbeda sangat nyata (  $P < 0,01$  ).

Pada perlakuan lama inaktivasi 12 jam menunjukkan bahwa titer HA virus ND menghasilkan rata-rata titer HA tertinggi yaitu 7,75 ( $\log_2$ ) tetapi setelah dilakukan pembuktian dengan penanaman suspensi virus ND hasil perlakuan ke dalam cairan allantois TAB dan selanjutnya di uji dengan HA plate masih diperoleh nilai yang positif (virus belum inaktif). Hal ini kemungkinan waktu kontak yang dibutuhkan formalin untuk menginaktivasi virus ND kurang lama atau konsentrasi formalin yang dibutuhkan kurang tinggi. Formalin yang bereaksi dengan group asam amino pada asam nukleat dan protein belum sempurna sehingga virus ND masih aktif dan masih mampu mengadakan replikasi saat dibiakkan kembali dalam cairan allantois TAB. Dalam hal ini lama inaktivasi sangatlah berpengaruh sehubungan dengan besarnya konsentrasi formalin yang digunakan. Berdasar phenomena diatas maka lama inaktivasi 12 jam yang dipakai untuk menginaktivasi virus ND kemungkinan harus diimbangi dengan konsentrasi formalin yang lebih besar lagi untuk menjadikan virus ND inaktif.

Pada perlakuan lama inaktivasi 16 jam, 20 jam, dan 24 jam, menunjukkan bahwa rata-rata titer HA virus pada perlakuan inaktivasi tersebut yaitu 6,75 ( $\log_2$ ), 5,75 ( $\log_2$ ) dan 4,5 ( $\log_2$ ) lebih rendah dari virus ND yang diinaktifasi selama 12 jam yaitu 7,75 ( $\log_2$ ). Meskipun

rata-rata titer HA yang dihasilkan lebih rendah dari lama inaktivasi 12 jam tetapi virus ND sudah dikatakan inaktif. Inaktifnya virus ND tersebut sudah dibuktikan dengan penanaman kembali pada cairan allantois TAB dan selanjutnya dilakukan uji HA plate dan hasil yang diperoleh adalah negatif. Lama inaktivasi 16 jam dalam hal ini dinyatakan sebagai lama inaktivasi yang terbaik karena titer HA-nya tertinggi dibanding dengan virus ND lainnya yang sudah dalam keadaan terinaktivasi. Hal ini dapat dikemukakan setelah virus-virus yang sudah terinaktivasi formalin 0,1% pada berbagai lama inaktivasi tersebut dilakukan pembuktian dengan penanaman suspensi virus ND ke dalam cairan allantois TAB dan hasil yang diperoleh terdapat pada lampiran 4. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Allan, Lancaster dan Toth (1973), bahwa formalin dengan konsentrasi 0,1% setelah 16 jam pada temperatur 37°C sudah mampu menginaktivasi virus ND.

Pada perlakuan lama inaktivasi 16 jam, 20 jam, dan 24 jam virus ND sudah dikatakan inaktif. Meskipun virus-virus tersebut dikatakan sudah mengalami inaktivasi namun dalam penggunaannya sebagai antigen ND untuk uji HA mikro-teknik masih mampu mengadakan reaksi hemaglutinasi dengan eritrosit ayam. Hal tersebut dikarenakan hemaglutinin yang terdapat dalam amplop virus ND sedikit mengalami kerusakan selama waktu inaktivasi, karena yang

menjadi sasaran kerja dari formalin adalah gugus asam amino pada asam nukleat dan selubung protein ( kapsid ) sehingga dengan masih adanya hemaglutinin virus yang terinaktivasi tersebut virus masih mempunyai kemampuan mengaglutinasikan eritrosit ayam. Hal ini sesuai dengan pernyataan Ernawati dan Soelistyanto (1987), bahwa dalam proses inaktifasi virus formalin bereaksi dengan gugus asam amino pada asam nukleat dan protein sehingga menyebabkan virus ND menjadi inaktif.

Menurut Linton dkk (1987), virus yang mempunyai amplop disebut dengan virus liphopilik, karena sebagian besar amploanya mengandung lipid, dimana lipid dapat dirusak oleh bahan antimikrobia yang mengandung deterjen, acid, alkali dan phenol. Sedangkan formalin tidak termasuk dalam golongan tersebut oleh karena itu hemaglutinin virus ND yang terdapat dalam amplop yang mengandung lipid masih ada.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Kesimpulan

Dari penelitian tentang pengaruh lama inaktivasi virus ND dengan formalin 0,1% terhadap titer HA dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Lama inaktivasi berpengaruh terhadap titer HA.
2. Lama inaktivasi terbaik adalah 16 jam pada suhu 37°C.

2. Saran

Dari hasil penelitian dapat disarankan hal-hal sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh lama inaktivasi virus ND yang diinaktifkan dengan beberapa konsentrasi formalin.
2. Sebaiknya perlu dilakukan penelitian tentang perbedaan lama waktu elusi virus ND yang diinaktifkan dengan formalin 0,1% pada berbagai lama inaktivasi.

## BAB VII

## RINGKASAN

Agus Chandra Kintaka. Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh lama inaktivasi virus ND dengan formalin 0,1% terhadap titer HA (Dibawah bimbingan Drh. Nanik Sianita W, S.U. sebagai pembimbing pertama dan Drh. Ngk Made Rai Widjaja, M.S. sebagai pembimbing kedua).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh lama inaktivasi virus ND dengan formalin 0,1% terhadap titer HA dan untuk mencari lama inaktivasi yang baik.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan lima perlakuan lama inaktivasi yaitu 12 jam, 16 jam, 20 jam dan 24 jam dan 0 jam sebagai kontrol. Selanjutnya dilakukan uji HA mikroteknik pada masing-masing perlakuan dengan delapan ulangan. Hasil yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam (ANOVA) yang kemudian dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Dari hasil sidik ragam diperoleh bahwa pengaruh lama inaktivasi virus ND dengan formalin 0,1% terhadap titer HA berbeda sangat nyata ( $P < 0,01$ ). Kemudian setelah dilanjutkan dengan uji BNT, diperoleh hasil bahwa titer HA masing-masing perlakuan berbeda sangat nyata ( $P < 0,01$ ).

Dari hasil penelitian tersebut terbukti bahwa lama inaktivasi terbaik adalah 16 jam, karena selama waktu tersebut dihasilkan titer HA yang paling tinggi dari virus ND yang diinaktivasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Allan, W.H., J.H. Lancaster and B. Toth. 1973. Newcastle Disease Vaccine Their Production and Use. Food and Agriculture Organization of The United Nation. Rome. Italy.
- Anonimus. 1981. Penyakit Tetelo. Pedoman Pengendalian Penyakit Hewan Menular. Jilid I Cetakan kedua. Direktorat Kesehatan Hewan. Direktorat Jendral Peternakan. Jakarta. 5-13.
- Anonimus. 1982. Pola Operasional Pengendalian Penyakit Tetelo (Newcastle Disease). Direktorat Kesehatan Hewan. Direktorat Jendral Peternakan. Departemen Pertanian. Jakarta. 1-23.
- Beard, C.W. 1980. Serologic Prosedure. Isolation and Indentification of avian Phatogen. 2th. Ed. Creative Printing Company. Inc. New York. 129-130.
- Beard, C.W. and R.P. Hanson. 1984. Newcastle Disease. Disease of Poultry. 8th. Ed Iowa State University Press. USA. 452-470.
- Bruner, D.W. and J.H. Gillespie. 1973. Newcastle Disease. Haganus Infectious Disease of Domistic Animal. 6th.Ed. Comstock Publishing associated. Cornell University Press. Ithaca. 1065-1071.
- Clubb, S.L. 1986. Velogenic Vicerotropic Newcastle Disease. Zoo and Wild Animal Medicine. 2th. Ed. school of Veterinary Medicine. University of California at Davis. 222-225.
- Copland, J.W. 1987. Newcastle Disease on Overview. Newcastle Disease in Poultry : A New Food Pellet Vaccine. Australian Centre for International Agricultural Research. Ramsay Ware Printing. Melbourne. 12-18.
- Ernawati, R. dan R. Soelityanto. 1987. Ilmu Penyakit Viral Veteriner. jilid I. Laboratorium Virologi dan Immunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.

- Ernawati, R., R. Soelistyanto, A.P. Raharjo dan N. Sianita. 1989. Ilmu Penyakit Viral Veteriner, Jilid II. Laboratorium Virologi dan Immunologi Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga. Surabaya. 73-77.
- Gordon, R.F. dan F.T.W. Jordan. 1982. Newcastle Disease. Poultry Disease 2th. Ed. The English Language Book Society and Baillier Tindale. London. 98-135.
- Hanson, R.P. 1980. Newcastle Disease. Isolation and Identification of Avian Pathologists. 2th. Ed. Creative Printing Company Inc. New York. 63-66.
- Jawetz, E., J.L. Melnick and E.A. Eldelberg. 1980. Review of Medical Microbiology. 14th. Ed. Lange Medical Publication. Los Altos. Cali.
- Joklik, L.M., H.P. Willet and D.B. Amos. 1990. Microbiology. 18th. Ed. Appleton Century Crofts. New York. 223-243.
- Jones, L.M., N.H. Booth and L.E. McDonald. 1977. Veterinary Pharmacology and Therapeutic. 4th. Ed. The Iowa State University Press. Amos. Iowa. USA. 427-453.
- Linton, A.H., W.B. Hugo and A.D. Russel. 1987. Evaluation of veterinary Desinfectans and Disinfection Processes. Blackwell Scientific Publication. Boston Palo Alto Mel-bourne. London Edinburg. 104.
- Luria, S.E. and Darnell, J.E. 1972. Effect of Physical and Chemical Agent on Virion. General Virology. 6th. Ed. Albert Einstein College of Medicine. Academic Press. New York. 149-153.
- Martin, A.R., 1982. Buku teks Wilson dan Gisvold. Farmasi dan Medisinal Organik. Edisi VIII. I. IKIP Smarang Press. Semarang. 134-135.
- Merchant, I.A. and Packer. 1971. Newcastle Virus. Veterinary Bacteriology and Virology. Ed. Iowa State University Press. Amos. USA. 674.

- Mutschler, 1991. *Dinamika Obat*. Edisi Kelima. Penerbit ITB. Bandung. 611-612.
- Osol, A. and J.E. Hoover. 1975. *Remington's Pharmaceutical Science*. 5th. Ed. Mack Publishing Company. Easton. Pennsylvania. USA. 1090-1102.
- Pelczar, M.J. and E.C.S. Chan. 1988. *Elemental of Microbiology*. International Student Edition. Mc Graw Hill Book Company. Inc. 349-371.
- Rawlins, E.A. 1988. *Desinfection Textbook of Pharmaceutics* 8th. Ed. The English Language Book Society and Balliere Tindall. London. 504.
- Ressang, A.A. 1984. *Newcastle Disease*. Patologi Khusus Veteriner. Edisi Kedua. N.V. Percetakan. Bali. 567-574.
- Tizard, I.R. 1987. *An Introduction to Veterinary Immunology*. Departemen of Veterinary and Immunology. 3th. Ed. Ontario Canada. 190-191.

**LAMPIRAN**

Lampiran 1. Hasil Titer HA ( $\log_2$ ) Virus ND dengan Formalin 0,1% pada Berbagai Perlakuan Lama Inaktivasi.

Ulangan	P0	P1	P2	P3	P4	Total
1	10	8	7	6	5	
2	9	8	7	5	4	
3	9	8	7	6	2	
4	9	7	7	5	5	
5	9	8	6	6	5	
6	10	7	6	6	5	
7	10	8	7	6	5	
8	9	8	7	6	5	
$\Sigma X$	57	62	54	46	36	273
X	9,375	7,75	6,75	5,75	4,5	

Keterangan :

P0 = 0 jam (kontrol)  
 P1 = 12 jam  
 P2 = 16 jam  
 P3 = 20 jam  
 P4 = 24 jam

Lampiran 2. Analisis Statistik Pengaruh Lama Inaktivasi Virus ND dengan Formalin 0,1% Terhadap Titer HA.

$$FK = \frac{273^2}{40} = 1863,225$$

$$\begin{aligned} JKT &= 10^2 + 9^2 + 9^2 + \dots + 5^2 + 5^2 - 1863,225 \\ &= 1989 - 1863,225 = 125,775 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKP &= \frac{75^2 + 62^2 + 54^2 + 46^2 + 36^2}{8} - 1863,225 \\ &= 1974,625 - 1863,225 = 111,4 \end{aligned}$$

$$KTP = \frac{111,4}{4} = 27,85$$

$$KTS = \frac{14,375}{35} = 0,411$$

$$F_{\text{hit}} = \frac{27,85}{0,411} = 67,762$$

## Lanjutan lampiran 2.

SK	db	JK	KT	$F_{hit}$	F tab	
					0,05	0,01
Perlakuan	4	111,4	27,85	67,762**	2,868	4,40
Sisa	35	14,375	0,411			
Total		125,775				

**Kesimpulan :**

Ternyata bahwa kelima perlakuan lama inaktivasi berpengaruh sangat nyata terhadap titer HA virus ND yang diinaktifkan dengan formalin 0,1% untuk tingkat kepercayaan 1 % ( $P < 0,01$ ) sebab  $F_{hit} > F_{tab} 0,01$ .

Lampiran 3. Penghitungan uji BNT Pengaruh Lama Inaktivasi Virus ND dengan Formalin 0,1% Terhadap Titer HA.

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5\%} &= t \text{ 5\% (db sisa)} \times \sqrt{\frac{2 \text{ KTS}}{n}} \\
 &= t \text{ 5\% (35)} \times \sqrt{\frac{2 \cdot 0,411}{8}} \\
 &= 0,030 \quad \times \quad 0,10275 = 0,0096
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 1\%} &= t \text{ 1\% (db sisa)} \times \sqrt{\frac{2 \text{ KTS}}{8}} \\
 &= t \text{ 1\% (35\%)} \times \sqrt{\frac{2 \cdot 0,411}{8}} \\
 &= 2,724 \quad \times \quad 0,10275 = 0,875
 \end{aligned}$$

## Lampiran 4.

Titer HA Plate Hasil Pembuktian Virus ND dengan Formalin 0,1% pada Berbagai Perlakuan Lama Inaktivasi.

n	P0	P1	P2	P3	P4
1	+	+	-	-	-
2	+	+	-	-	-
3	+	+	-	-	-
4	+	+	-	-	-
5	+	+	-	-	-
6	+	+	-	-	-
7	+	+	-	-	-
8	+	+	-	-	-
9	+	+	-	-	-
10	+	+	-	-	-

## Keterangan

- ( + ) = Virus ND masih aktif  
( - ) = Virus ND sudah inaktif

**Lampiran 5. Mempersiapkan Sel Darah Merah Ayam 0,5% dan 5%.**

Darah merah ayam yang berasal donor diambil melalui vena axillaris, kemudian darah tersebut dicampur dengan antikoagulan EDTA dengan perbandingan 1:3 dalam tabung reaksi. Setelah itu darah yang pekat dari donor diletakkan pada alat pemusing dan diputar dengan kecepatan 2000 rpm selama 15 menit. Supernatan dibuang, selanjutnya ditambah larutan NaCl fisiologis secukupnya ke dalam tabung reaksi tadi dan diletakkan pada alat pemusing lagi dan diputar dengan kecepatan dan waktu yang sama, setelah selesai supernatan dibuang lagi. Pencucian dengan NaCl Fisiologis sampai volume 30 ml dan dikocok secara perlahan. Sedangkan untuk membuat sel darah merah 5%, darah merah ayam pekat diambil 1,5 ml dan ditambahkan larutan NaCl fisiologis sampai mencapai volume 30 ml kemudian dikocok secara perlahan.