

SKRIPSI : IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

87
SUSANTI PUDJIHASTUTI S.

**PRODUKSI DAN PENGUJIAN MUTU VAKSIN
NEW - CASTLE - DISEASE
" STRAIN LENTOGENIK (F) DAN
STRAIN MESOGENIK (KOMAROV) "**



**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
1980**

PRODUKSI DAN PENGUJIAN MUTU VAKSIN
NEW CASTLE-DISEASE "STRAIN LENTOGENIK (F) dan
STRAIN MESOGENIK (KOMAROV)"

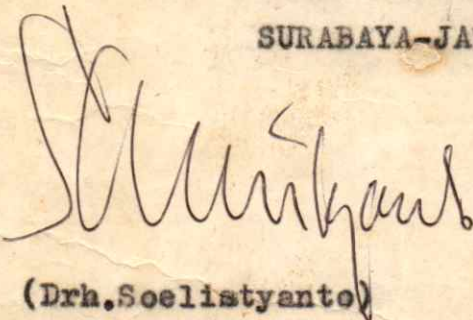
SKRIPSI

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

OLEH

SUSANTI PUDJIHASTUTI S.

SURABAYA-JAWATIMUR .



(Drh. Soelistyanto)

Pembimbing I.



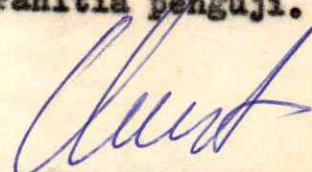
(Drh. Achmed Sadik)

Pembimbing II

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA^A
(1980)

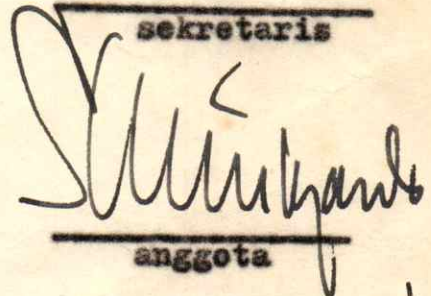
Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh
sungguh ,kami berpendapat bahwa talisan ini baik -
scope maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skri
si untuk memperoleh gelar dokter hewan .

Panitia penguji.



ketua

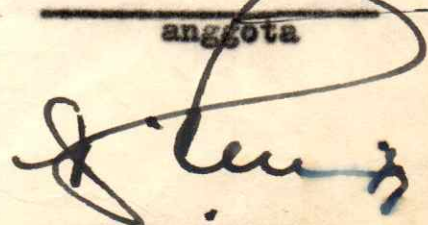
sekretaris



anggota



anggota



anggota.

DAFTAR ISI .

	Halaman.
1. Kata Pengantar	i
2. Daftar isi	ii
3. Bab I. Pendahuluan	1.
II. Tinjauan pustaka	3.
III. Vaksin Newcastle Disease	8.
IV. Produksi vaksin Newcastle Disease Strain. .	
Komarov11.
Produksi vaksin Newcastle Disease Strain	
F.123
V. Pengujian mutu vaksin Newcastle Disease. .	15
4. VI. Ringkasan	23.
5. VII. Daftar kepustakaan .	

KATA PENGANTAR .

Berkat rahmad Tuhan kami mengucapkan syukur bahwa akhirnya kami dapat menyelesaikan skripsi ini , untuk memenuhi salah satu syarat guna memperoleh gelar dokter hewan .

Ucapan terima kasih ini kami sampaikan kepada - yang terhormat bapak Drh. Soelistyanto sebagai dosen luar biasa pada bagian Ilmu Penyakit Viral , dan juga kepada bapak Drh. Achmad Sa~~di~~k , sebagai dosen luar bi~~sa~~ pada Ilmu Patologi , yang telah memberikan bimbingan dan dorongan untuk dapatnya menyelesaikan skripsi ini. Ucapan ini pula kami sampaikan kepada semua pihak yang telah membantu sejak dimulainya sampai skripsi ini selesai.

Ahkirnya , meskipun penulisan skripsi ini masih kurang memadai , kami memberanikan diri untuk mengajukan sebagai buku ujian dan sebagai suatu langkah maju un- memasuki ruang lingkup profesi kedokteran hewan secara lebih mendalam

Surabaya, Septem
ber 1980 .

Penyusun .

BAB I.

P E N D A H U L U A N .

Kita telah mengetahui bahwa salah satu penyakit unggas yang terkenal keganasannya adalah Pneumo -Encephalitis Avium atau Newcastle Disease. (N.D)

Di Indonesia penyakit ini timbul pada peralihan musin kemarau ke musim penghujan .

Nasyarakat luas menyebut Tetelo atau Sampar A -yam . Penyakit ini amat merugikan para peternak karena angka kematiannya yang tinggi ,lagi pula penular-~~an~~ serta penyebaran penyakit ini cepat

Penyakit ini merupakan masalah yang penting dalam dunia peternakan unggas . Telah banyak usaha pemerintah yang telah dan sedang dijalankan untuk mencegah dan menanggulangi penyakit tersebut, yang berupa pelaksanaan program vaksinasi secara rutin disamping penyuluhan tentang perbaikan tata laksana peternakan . Namun sampai saat ini vaksinasi tersebut hanya terbatas pada sejumlah jenis ayam saja, sehingga cukup menyukitkan pengendalian dan pemberantasan penyakit. Pada saat sekarang belum ada obat yang efektif yang dapat menyembuhkan penyakit ini .

Berbagai macam antibiotika tidak mampu membunuh virusnya, sedang dengan pengobatan dengan anti serum tak banyak faedahnya lagi pula mahal, sehingga lebih baik menggunakan cara pencegahan penyakit dari pada mengobati. Pencegahan penyakit dapat dilakukan dengan cara vaksinasi pada ayam-ayam yang sehat.

Sampai saat ini telah diketahui ada bermacam-macam vaksin Newcastle Disease baik produksi luar negeri ataupun dalam negeri yang telah beredar di Indonesia, dengan menggunakan yang berbeda-beda serta harga yang berlainan pula.

Dalam tulisan ini akan diuraikan tentang produksi vaksin dari strain Mesogenik (Komarov) dan strain Lentogenik (F). Dari tulisan ini, mudah mudahan untuk selanjutnya bermanfaat dan dapat dipakai sebagai penambah kepustakaan.

BAB II.

TINJAUAN KEPUSTAKAAN.

Newcastle (N.D), adalah penyakit virus yang menular pada unggas. Penyakit ini pertama kali di Indonesia diketemukan oleh Kraneveld pada tahun 1926. (15), kemudian Doyle pada tahun 1972, berhasil mengidentifikasi virus ini dari wabah penyakit yang terjadi dikota Newcastle (13,14,15), sedang Konno dan teman-teman menemukan penyakit ini didaerah Korea, serta Nakamura menemukan penyakit ini di Jepang tahun 1933. (13).

Dalam tahun 1940 Newcastle Disease ini telah tersebar di Filipina, Asia, Australia, dan Afrika.

Di Amerika Serikat pada tahun 1949 Beach dan Stover melaporkan adanya wabah yang sifatnya relatif ringan, menimbulkan gejala respirasi dan urat syaraf, menyerang ayam dari semua umur dengan mortalitas rata-rata 15 % lebih rendah dari pada yang ada di Inggris atau di Indonesia yang sifatnya akut. Sedang di Amerika Serikat ada juga yang dapat menimbulkan mortalitas sampai 90 %. Penyakit ini terdapat di Swedia tahun 1947, di Perancis tahun 1948 dan di Belanda 1949, setelah import fazant dari negeri Eropa lainnya.

Pada tahun 1968 di Libanon terdapat Epizootik yang berat dan sejak tahun 1970 penyakit ini terdapat di Inggris, dan seluruh Eropa Barat serta U.S.A .

I. Ukuran dan bentuk virus..

Virus Newcastle Disease merupakan paramyxovirus. Berbentuk spheris meskipun pada umumnya pleumorphic. Ukuran dan bentuk virus ini berbeda-beda. Beberapa sarjana antara lain Burnet dan Ferry tahun 1934, dengan cara menyaring virus tersebut dengan saringan Chamberland L₃ dan L₅, serta Seitz maka dapat menentukan ukuran virus diantara 80-120 milimikron. (15). Bang dan Chunha dengan elektron mikroskope dapat menemukan bentuk virus dengan ukuran 112 milimikron. (13)., sedang Dawson dan Effort di Inggris menemukan virus Newcastle dengan ukuran 140-270 milimikron, dengan rata-rata 193 milimikron (1, 16).

II. Daya tahan dan sifat virus.

Virus ini lebih tahan terhadap pemanasan dari pada virus lainnya. Pada pemanasan 56°C selama 30 menit, kekuatan strain penyakit ini dapat bertahan, bahkan sampai waktu 180 menit virus ini masih dapat hidup. Pada pemanasan 60°C selama 30 menit, virus ini dapat diinaktifkan. (13, 16).

Virus ini dapat tahan terhadap alkohol, merthiolat, lisol dan permanganat.

Beberapa zat kimia dapat pula menginaktifkan yaitu : etanol 70-96 % selama 3 menit.

penol, kresol " "

jodium tinctur 1 % " "

trietilin glikol dengan disemprot efektif untuk mematikan virus di udara. (15).

Virus N.D dalam cairan alantois telur ayam bertunas, bila disimpan pada temperatur 70°C dapat bertahan 1 lebih lama lagi. Didalam faeces pada temperatur 40°C dapat bertahan $5\frac{1}{2}$ bulan, sedang virus hidup dalam bangkai ayam bila disimpan pada temperatur 40°C tahan sampai 300 hari. Sedang pada temperatur kamar tetap hidup selama 30 hari, dan bila disimpan pada temperatur suhu beku tahan sampai 1 tahun. (15).

Sifat virus Newcastle dapat mengaglutinasi darah merah ayam yang dikenal dengan haemaglutinasi. (15) sedang dengan darah merah sapi, kambing dan domba serta kerbau aglutinasi ini tidak menentu. Untuk darah merah kelinci tidak dapat diaglutinasi oleh seluruh dari virus Newcastle Disease ini. (15).

III. Pembiakan.

Didalam cairan alantois dari telur ayam bertunas umur 10 hari virus ini dapat berkembang biak, bila dieramkan pada 35-37°C.

Dalam waktu 48-144 jam, virus yang dibiak ini dalam mematikan embrio didalamnya, dengan gambaran adanya perdarahan dibawah kulit seluruh tubuh terutama pada daerah kepala, punggung dan kaki. (14).

Jaringan-jaringan lain yang dapat dipakai untuk pembiakan adalah perbenihan jaringan asal ginjal ayam, ginjal sapi, dan kera. (13).

IV. Penularan.

Virus Newcastle dalam dapat ditularkan melalui saluran pernafasan, saluran pencernaan, melalui indung telur atau alat-alat reproduksi. (13,18).

Didalam laboratorium, penularan buatan dilakukan dengan berbagai cara suntikan intra cerebral yang dapat menimbulkan infeksi yang fatal. (13).

Dalam, virus dapat ditularkan secara langsung dari hewan yang sakit terhadap hewan yang sehat, yang serasi dan berdekatan, atau secara tak langsung melalui makanan, minuman dan alat-alat yang tercemar. (18).

Bentuk-bentuk penyakit yang ditimbulkan .

Beberapa sarjana telah melukiskan bentuk-bentuk yang ditimbulkan oleh penyakit ini ,yaitu terdiri dari 4 bentuk :

1. Bentuk penyakit dari Doyle.

Diketemukan pertama kali pada tahun 1927 sebagai infeksi akut dan fatal terhadap seluruh umur dari ayam. Kerusakan jaringan disertai dengan perdarahan pada saluran pencernaan ,sering terlihat pada bentuk ini. Penyebab bentuk ini adalah strain virus Velogenik atau Asia. (13).

2. Bentuk penyakit dari Beach.

Diketemukan pada tahun 1942 dan tahun 1946 bersifat akut infeksi dan fatal terhadap semua umur ayam. Perdarahan disertai dengan kerusakan jaringan pada saluran pernafasan dan sistem syaraf.

Kelainan pada saluran pencernaan jarang terlihat.

Pada permulaan penyakit disebut sebagai Nervus respiratoris disease atau Pneumo Encephalitis ,yang disebabkan oleh strain Velogenik. (13).

3. Bentuk penyakit Beaudette.

Diketemukan pada tahun 1946,yaitu sering terlihat kelainan pada pernafasan yang akut dan kelainan pada syaraf ,terutama menyerang pada anak ayam. Penyebab bentuk ini adalah strain Mesogenik.(13).

4. Bentuk penyakit dari Hitchner.

Diketemukan tahun 1948 dan 1950 ,yaitu sebagai bentuk penyakit yang menyerang pernafasan ,angka kematiannya rendah . Penyakit ini disebabkan oleh strain Lentogenik .

VAKSIN NEWCASTLE DISEASE.

Pada umumnya ada 2 macam vaksin Newcastle Disease .

1. Vaksin aktif.

Vaksin ini adalah strain virus yang masih hidup(aktif) tetapi sifatnya tidak ganas untuk ayam yang divaksin . Penggunaan vaksin aktif Lentogenik ini dapat untuk semua hewan yang peka terhadap Newcastle Disease dan tidak tergantung umur ayam . Kekebalan yang ditimbulkan oleh vaksin aktif Lentogenik tidak begitu lama ,tetapi lebih lama dari vaksin inaktif yaitu sekitar 3 bulan sedangkan vaksin aktif Mesogenik kekebalan yang ditimbulkan paling lama yaitu 6 bulan sampai 1 tahun, (20). Sebagai bahan perbandingan maka penggunaan vaksin aktif dan inaktif adalah vaksin aktif yang harganya lebih , murah ,dapat memberikan kekebalan yang berlangsung lama.

2. Vaksin inaktif.

Vaksin inaktif yang mengandung virus Newcastle virulen yang sudah dilemahkan dengan bahan formalin (Brandley et al ,1946,Hostad ,1953),kristal violet (Doyleand Wright ,1950, Usten et al ,1961, Jo Gripo ,1960, Keeble and Wade 1963). (11). Menurut peneliti Beach (1964) menunjukkan

bahwa vaksin inaktif dapat mengurangi mortalitas, kelumpuhan dan turunnya produksi telur yang disebabkan oleh strain virulen, tetapi tak dapat mencegah gejala respirasi. Adapun kekebalan yang diberikan amat pendek yaitu sekitar sebulan setelah vaksinasi.

VAKSINASI NEWCASTLE DISEASE .

Pada umumnya anak-anak ayam yang baru menetas berasal dari induk yang telah kebal terhadap Newcastle Disease, karena induk ayam ini telah mendapat vaksinasi, sehingga anak-anak ayam tersebut kebal pula terhadap Newcastle Disease, tetapi kekebalannya hanya berlangsung 4 minggu saja. (30).

Kekebalan anak ayam diperoleh dari kuning telur dan masuk dalam embrio, hanya sayangnya kekebalan ini tak cukup kuat untuk menghadapi wabah Newcastle Disease sehingga vaksinasi merupakan suatu keharusan. Pada umumnya untuk anak ayam yang baru menetas diberikan vaksin aktif lentogenik seperti misalnya vaksin aktif strain B₁, Lasota dan F.

Vaksin aktif ini sebenarnya tidak hanya terbatas digunakan untuk ayam yang sedang tumbuh atau ayam dewasa yang sudah bertelur. Vaksin aktif lentogenik yang telah beredar di Surabaya adalah dari jenis strain Lasota, B₁ dan F. Sedangkan strain Mesogenik adalah Komarov.

Cara-cara penggunaan vaksin lentogenik dapat melalui tetes mata, tetes hidung, tetes mulut dan spray atau minuman, sedang Mesogenok dengan suntikan intra muskuler. (20).

Hitchner dan Johnson (1948) menemukan virus Lentogenik strain B₁, sedangkan Winterfield et al (1957) menemukan strain Lasota sedang Asplin (1958), Rouseff dan Miteff (1956) menemukan strain F. (11).

Dari kedua macam vaksin aktif dan inaktif diatas sampai kini masih terdapat kebaikan serta keburukannya. Sebagai misal vaksin inaktif pemakaiannya aman, mudah penyimpanannya, hanya jangka waktu kekebalannya pendek.

Vaksin aktif Mesogenik dapat memberikan kekebalan yang kuat dan lama tetapi kadang-kadang dapat menimbulkan korban terutama bila ayam yang divaksin kurang begitu sehat atau sebelumnya belum pernah divaksin dengan vaksin Lentogenik atau vaksin inaktif. Sedang pada vaksin Lentogenik prosesnya lebih aman, tetapi tidak dapat dikatakan 100% aman karena untuk ayam yang divaksin kerang sehat atau lemah dapat pula menimbulkan korban, walaupun tak sebanyak korban yang ditimbulkan oleh vaksin Mesogenik dan lama kekebalannya lebih pendek dari pada vaksin aktif Mesogenik.

BAB IV.

PROSES PEMBUATAN VAKSIN.

L. Proses pembuatan vaksin aktif strain Komarov .

Vaksin aktif strain Komarov dapat dibuat dari cairan chori alantois dari telur ayam bertunas umur 10 hari yang telah tertular virus Komarov. (2,3).

Adapun cara pembuatannya sebagai berikut : (3,7).

1. Membuat suspensi seed virus virus Newcastle Disease , strain Komarov dalam larutan NaCl fisiologis steril yang mengandung 500 IU Sodium Penicillin G dan 1 mgrm Streptomisin tiap mililiternya, kemudian diinkubasikan dalam almari es ($2-8^{\circ}\text{C}$) selama 1 jam.
2. Suspensi virus ini kemudian disuntikkan kedalam ruang cairan alantois sebanyak 0,1 ml dari telur ayam tersebut.
3. Telur-telur yang telah disuntikkan ini dieramkan pada kamar pengeram yang bersuhu $37-38^{\circ}\text{C}$ selama 3 X 24 jam dengan 2 kali peneropongan yaitu pagi dan sore.
Untuk pembuatan strain virus F , telur-telur tersebut di eramkan selama 5 hari.
4. Untuk telur yang mati dilihat perubahannya pada embrio dan diperiksa cairan alantoisnya dengan hemaglutinasi plate test yang memakai suspensi darah merah ayam 5 % untuk mengetahui ada ,tidaknya pertumbuhan virus.

Adapun caranya sebagai berikut : (3).

-Setetes cairan alantois yang ditulari virus ditam_u bahkan kepada setetes suspensi darah merah ayam , kemudian diaduk dengan sepotong tusuk gigi sampai homogen dan dibiarkan dalam suhu kamar selama 30 menit. Hasil dari hemaglutinasi positif adalah bi_l la terdapat aglutinasi dalam waktu 30 detik.

5. Cairan alantois yang menunjukkan hemaglutinasi positi dikumpulkan dalam tempat yang steril dan disimpan da_l lam almari es .
6. Kedalam cairan alantois tersebut kemudian ditambahkan larutan triptose 10 % yang telah mengandung 500 IU So_d dium Penicillin G dan 1 mgram Streptomisin permili_l liternya lalu diinkubasikan dalam almari es selama 1 jam.
7. Cairan alantcis yang telah diinkubasikan kemudian di_i isi kedalam ampul sebanyak 0,2 ml untuk selanjutnya , dikering bekukan (freeze drier) dalam prymary Edward freeze drier selama 18 jam . Setelah semalam dalam primary Edwaed freeze drier lalu dikeringkan lagi sam_{bil} dihampa udarakan selama 2 jam dan ditutup dalam keadaan hampa udara.
8. Untuk ampul yang sudah ditutup diuji memakai vakum tes_{ter} , untuk mengetahui vakum tidaknya dan ampul yang ti_{dak} vakum diafkir.

9. Ampul-ampul yang vakum lalu disimpan dalam freeze yang bersuhu -20°C dan segera random beberapa ampul dikirim kebagian pengujian mutu.

II. Proses pembuatan vaksin aktif strain F.

Vaksin aktif strain F dapat pula dibuat dari cairan chorio alantois dari telur ayam bertunas umur 10 hari yang telah tertular virus Newcastle Disease.

Adapun cara pembuatannya sebagai berikut : (3).

1. Membuat suspensi seed virus Newcastle Disease dalam NaCl fisiologis steril yang mengandung 500 IU Sodium Penicillin G dan 1 mgm Streptomisin setiap mililiternya, kemudian diinkubasikan dalam almari es ($2-8^{\circ}\text{C}$) selama 1 jam.
2. Suspensi virus ini kemudian disuntikkan ke dalam ruang cairan alantois telur ayam bertunas sebanyak 0,1 ml.
3. Telur-telur yang telah disuntikkan ini kemudian dieramkan pada kamar pengeram yang bersuhu 37°C selama 5 x 24 jam dengan 2 kali peneropongan yaitu pagi dan sore.
4. Telur-telur yang telah mati antara 24-48 jam sesudah penyuntikkan tidak dipakai, sedangkan yang mati setelah 48 jam dimasukkan dalam almari es untuk diambil cairan alantoisnya.
5. Setelah akhir pengeraman semua telur diambil cairan alantoisnya dan diperiksa dengan hemaglutinasi plate untuk mengetahui ada, tidaknya pertumbuhan virus, dengan

suspensi darah merah ayam 5 % untuk mengetahui ada, tidak¹⁴nya pertumbuhan virus serta perubahan-perubahan pada embrionya. (3).

6. Untuk cairan alantois yang menunjukkan hemaglutinasi positif dikumpulkan dalam tempat yang steril dan disimpan dalam almari es.
7. Kedalam cairan alantois tersebut, kemudian dapat ditambahkan 5 % suspensi susu bawah (skim milk) sama banyak yang mengandung 500 IU Sodium Penicillin G dan 1 mgm Streptomisin tiap mililiternya dalam pelarut NaCl steril
8. Setelah diinkubasikan selama 1 jam dalam almari es, lalu diisikan kedalam ampul-ampul sebanyak 1 ml untuk selanjutnya dikering, bekukan dalam primary Edward freeze die selama semalam, kemudian dipindahkan ke secondary Edward freeze drier untuk dikeringkan lebih lanjut, dan dihampa udarakan selama 2 jam dan ampul tersebut segera ditutup dengan pemanasan dalam keadaan hampa udara. Ampul-ampul yang sudah ditutup ini kemudian diuji memakai tester untuk mengetahui vakum, tidaknya dan ampul-ampul yang tidak vakum segera diafkir.
9. Ampul yang vakum disimpan dalam freezer yang bersuhu -20°C dan secara random beberapa ampul dikirim ke bagian pengujian mutu.

BAB V.
PENGUJIAN MUTU VAKSIN.

Bagian mutu vaksin adalah merupakan bagian yang terpisah dari bagian yang memproduksi vaksin, hal ini disebabkan karena supaya nanti mendapat hasil yang obyektif.

Bagian pengujian mutu vaksin ini menentukan mutu vaksin berdasarkan : (3 , 4)

- a. Penentuan ELD₅₀ perdosisnya.
- b. Penentuan sterilitas vaksin.

Pada penentuan ini terbagi menjadi 3 bagian yaitu :

1. test terhadap kuman Salmonella.
 2. test terhadap kuman Mycoplasma galliseptica
 3. test terhadap kuman yang patogen lainnya.
- c. Pengujian terhadap keamanan vaksin. (safety).
 - d. Pengujian daya pengebalan vaksin. (potency).

Prinsip pengujian ini agar vaksin yang telah didistribusikan diketahui satuan virus aktif perdosisnya tanpa terkontaminasi kuman yang dapat mempengaruhi kerja vaksin, keamanan dari vaksin serta kekebalan dari vaksin terhadap ayam yang telah divaksinasi.

- a. Penentuan ELD₅₀ perdosisnya.

Kandungan virus aktif dalam vaksin perlu ditentukan berapa jumlah perampulnya atau perdosisnya. (3 , 19).

Hal tersebut dapat diketahui dengan cara melakukan titrasi vaksin pada telur ayam bertunas umur 10 hari.

Untuk telur -telur ini harus berasal dari induk ayam yang belum pernah divaksin dengan Newcastle Disease virus, sebab bila berasal dari induk yang sudah pernah divaksin, maka dalam telur ayam bertunas ini sudah terdapat maternal antibodi yang dapat menghambat pertumbuhan virus sehingga hasilnya tidak sesuai dengan kenyataan virus yang dikandungnya.

- Adapun cara-cara pengujian yang dilakukan sebagai berikut :
- tabung -tabung steril sebanyak 9 buah, yang masing-masing diisi dengan 0,5 ml NaCl fisiologis steril.
 - vaksin Newcastle No 479ZF/80, 480/F/80, dibuat suspensi dengan NaCl fisiologis dan dibuat penipisan secara desimal dengan cara pada tabung pertama diisi dengan 0,5 ml suspensi vaksin N.D lalu dikocok. Dari tabung pertama diambil 0,5 ml dan dimasukkan dalam tabung kedua dan seterusnya sampai tabung kesembilan sehingga akan didapat penipisan 10^{-1} , 10^{-2} ... 10^{-9} . Setiap penipisan disuntikkan sebanyak 0,1 ml kepada 6 butir telur ayam bertunas umur 10 hari.
- Pada penyuntikkan telur sebelumnya kulit telur dideinfektan dengan alkohol 70%, kemudian dengan jarak 0,5 ml dari batas ruang udara suspensi virus tadi dimasukkan ke arah tegak lurus vertikal sehingga tepat pada ruang alantoisnya.
- penutupan bekas lubang jarum dengan larutan parafin panas sehingga tidak terkontaminasi dengan bakteri dari luar.

- Waktu pengeraman untuk telur yang telah ditulari dengan vaksin N.D strain Komarov adalah 3 X24 jam ,sedangkan untuk vaksin N.D strain F adalah 5 X24 jam dalam kamar pengeraman yang bersuhu 35-37°C.
- Peneropongan telur sebanyak 2 kali sehari yaitu pada pagi dan sore . Untuk telur yang ditulari vaksin N.D strain F, yang mati kurang dari 48 jam setelah penyuntikkan tidak dipakai ,sedangkan untuk vaksin N.D strain Komarov yang , mati kurang dari 24 jam setelah penyuntikkan tidak dipakai
- Setelah masa pengeraman selesai telur yang mati atau yang hidup disimpan dalam almeri es untuk keesokan harinya diperiksa.
- Setiap telur dilihat perubahan pada embrio dan diperiksa pula cairan alantoisnya dengan hemaglutinasi plate untuk mengetahui ada,tidaknya pertumbuhan virus N.D. Pertumbuhan virus N.D ditandai dengan perdarahan pada kulit ,terutama punggung ,dan kepada embrio untuk memeriksa cairan alantoisnya, memakai suspensi darah merah ayam,5 % yang ditetaskan pada obyek glas dan ditambah 2 tetes cairan alantois yang telah tertular virus N.D strain F maupun Komarov. Kemudian diaduk jika dalam 10 detik terjadi aglutinasi , maka reaksi hemaglutinasi test adalah positif.

Pencatatan hasil dihitung dengan rumus Reed and Muench.

b. Penentuan sterilitas vaksin .

Pada penentuan ini terutama ditujukan untuk kuman Salmonella. Sedang perbenihan yang dipakai adalah Salmonella-

Adapun caranya sebagai berikut :

- Vaksin N.D No479/F/80,480/F/80,554/K/80,555/K/80,dibuat suspensi virus dengan NaCl ,kemudian dieramkan pada perbenihan Nutrient agar lalu dieram 37°C selama 18 jam,dan sebanyak 1 mata ose dari perbenihan ditanamkan pada perbenihan Salmonel Shigella agar dan dieram selama 3 hari.
- Pengamatan perbenihan dengan perparat ulas untuk mengetahui ada,tidaknya pertumbuhan dari kuman.
- Pertumbuhan Salmonella ditandai dengan adanya koloni putih , kekuningan ,permukaannya halus, sedang pada prepatat ulas terlihat bentuk batang dan gran negatif.

Penentuan kuman Mycoplasma.

Pada penentuan sterilitas terhadap Mycoplasma perbenihan , yang dipakai adalah P.P.L.O.(PleuroPneumoni Like Organism)

Adapun caranya sebagai berikut :

- Vaksin N.D.No 479/F/80,554/K/80,555/K/80,dibuat suspensi dengan NaCl,kemudian ditanam pada perbenihan P.P.L.O. lalu dieram 37°C selama 7 X24 jam.
- Setelah 3 hari pengeraman ,sebanyak 1/10 dari perbenihan , masing-masing ditanamkan lagi pada perbenihan P.P.L.O cair dan diambil dan dieramkan lagi pada 37°C selama 7 X 24 jam ,setelah itu sebanyak satu mata ose ditanamkan pada perbenihan P.P.L.O cair lagi dan dilihat secara makroskopis atau mikroskopis ada,tidaknya pertumbuhan dari kuman Mycoplasma

- Pertumbuhan Mycoplasma ditunjukkan dengan preparat ulas di mana terlihat bentuk batang gemuk dan bipoler, kadang-kadang berinti dan gram negatif, sedang pada perbenihan P.P.L.O cair membuat media menjadi keruh kekuningan, Pada perbenihan P.P.L.O agar koloninya halus.

5. Penentuan kuman patogen.

Pada penentuan ini perbenihan yang dipakai adalah Nutrient agar. Adapun caranya sebagai berikut : (4).

- Sebanyak 0,5 ml vaksin yang telah diencer untuk diuji terhadap Mycoplasma ditanamkan pada perbenihan Nutreint agar ataupun Thioglikolat agar dan dieramkan pada suhu 37°C selama 24 jam. Penilaian uji sterilitas ini baik bila vaksin yang ditest bebas dari kuman Salmonella, Mycoplasma dan kuman patogen lain.

C. Pengujian kesmana vaksin.

Prinsip pengujian ini untuk ayam yang telah divaksin dengan strain F ataupun strain Komarov dinyatakan aman jika selama 15 hari tidak terdapat adanya gejala N.D.

Adapun caranya sebagai berikut :

- Bahanya : ayam trah umur 5 minggu
 spuit kecil 10 cc untuk menganbil darah ayam
 vaksin N.D strain F dan strain Komarov.
 mikroplate untuk hemaglutinasi
 kurungan ayam
 antigen virus N.D virulen yang mengandung 10^4 ELD₅₀

Pengujian vaksin N.D strain Komarov.

Cara kerja : (3,4,21).

- Vaksin N.D no 554/K/80,555/K/80.
- Sebanyak 30 ekor ayam trah umur 5 minggu dibagi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol dan 10 ekor kelompok test.
- Ayam yang ditest semua divaksin dengan vaksin N.D strain Komarov dengan dosis 0,5 ml secara intra muskuler dan di letakkan pada kandang tersendiri.
- Pengamatan semua ayam testing dan kontrol selama 17 hari
- Dari 20 ekor ayam test diambil 10 ekor untuk diambil darahnya dari jantung dan dilakukan hemaglutinasi inhibisi test dengan mikrotiter.

Cara hemaglutinasi inhibisi test. (8).

Bahan : Antigen N.D 4 HAU sebanyak 0,025 ml ,dan darah merah ayam 5 %.

- Cara : - mengisi deretan lobang mikroplate dengan 0,025 ml NaCl steril 0,85 % . Pada lobang pertama diteteskan 0,0025 ml serum ayam testing ,dan diencer secara desimal seri dua pada lubang mikroplate kedua.
- setelah mengisi pada pengenceran yang terakhir sebanyak 0,025 ml dibuang.
 - mengisi 0,025 ml antigen N.D 4 HAU pada semua lubang mikroplate dan diaduk dengan Elektrical Shak dan dibiarkan pada suhu kamar selama 3 menit.
 - menambah darah merah ayam 5 % sebanyak 0,5 ml dan dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar

Pada test ini hasil hemaglutinasi inhibisi test yang tahan terhadap vaksinasi N.D virulen 10^4ELD_{50} minimal adalah 64.

d. Pengujian daya pengebalan vaksin N.D strain Komarov.

Dari ayam yang ditest dan ayam kontrol kemudian disuntik dengan virus virulen 10^4ELD_{50} . Dan diamati selama 14 hari, untuk melihat ada, tidaknya kematian ayam-ayam yang diduga N.D.

Evaluasi potensi vaksin.

Vaksin N.D strain Komarov dinyatakan poten apabila pada hari ke 17 setelah penyuntikkan sekurang-kurangnya 90 % tahan terhadap suntikkan 10^4ELD_{50} virus virulen, sedangkan ayam kontrol, sedangkan ayam kontrol mati 100 % dalam waktu 3 hari setelah disuntik dengan 10^4ELD_{50} virus N.D virulen.

Pengujian keamanan vaksin N.D strain F.

Vaksin N.D no 479/F/80, 480 $\frac{1}{2}$ F/80.

Cara pengujian : - sebanyak 30 ekor ayam trah umur 5, minggu dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol, dan kelompok testing masing-masing 20 dan 10 ekor.

- ayam yang ditest semua divaksin dengan dosis 0,5 ml dan diteteskan dalam kelopak mata.

- ayam testing ini kemudian diletakkan pada kandang tersendiri dan dilakukan pengamatan selama 21 hari. Dari 20 ekor ayam testing diambil 10 ekor untuk diambil darahnya dan dilakukan hemaglutinasi inhibisi test, dengan mikrohiter.

Pengujian vaksin N.D strain F.

Dari ayam yang ditest dan kontrol, kemudian disuntik dengan 10^4ELD_{50} virus N.D virulen. Dan diamati selama 14 hari untuk melihat ada, tidaknya kematian ayam yang diduga ND.

Perubahan patologi pada ayam yang diduga N.D adalah adanya perdarahan dibawah kulit kepala, punggung, dan adanya bintik-bintik darah pada mukosa proventrikulus dan usus bagian depan.

Evaluasi potensi vaksin.

Vaksin N.D strain F dinyatakan poten apabila pada hari ke 21 setelah disuntik dengan 10^4ELD_{50} virus virulen sekurang-kurangnya 90 % tahan terhadap suntikkan 10^4ELD_{50} virus virulen, sedangkan ayam kontrol mati dalam waktu 3 hari setelah disuntik dengan 10^4ELD_{50} virus virulen. (3).

R I N G K A S A N .

Telah diketahui bahwa salah satu penyakit unggas yang terkenal keganasannya adalah Pseudo-pestis avium atau Newcastle Disease . (N.D), sehingga untuk suksesnya suatu peternakan perlu diutamakan dahulu pencegahan dari penyakit menular ini . Penyakit ini dapat memusnahkan ternak unggas dalam waktu yang singkat . Sampai kini belum ada obat yang efektif untuk menyembuhkan penyakit ini , sehingga satu-satunya cara untuk menolong ternak unggas dari kemusnahan akibat penyakit ini dengan pemberian vaksinasi kepada ayam-ayam yang sehat .

Bermacam-macam vaksin yang digunakan untuk mencegah penyakit ini . Vaksin inaktif kekebalannya amat pendek . Vaksin yang dianggap poten adalah vaksin aktif sebab disamping kekebalannya tinggi , juga harganya lebih murah dibanding dengan vaksin inaktif .

Bahan media yang dipakai untuk produksi vaksin N.D. strain Komarov adalah triptose 5 % , sedang strain 4 adalah susu skim 10 % . Untuk uji sterilisasi dikerjakan sewaktu seed virus murni diencerkan dengan NaCl steril dan setelah dipasasekan pada telur ayam bertunas umur 10 hari .

Pengujian mutu vaksin diambil secara random dari vaksin yang telah diproduksi dan segera diuji mengenai sterilitas , safety , potency serta ELD₅₀ perdosisnya , se -

sehingga sebelum vaksin tersebut beredar dipasaran ,maka mutu vaksin tersebut dapat diandalkan .

Daftar Kepustakaan.

1. Allan, W.H.J.E. Lancaster and B. Totf. 1975. The productions and Use of Newcastle Disease vaccine. F.A.O of United Nation
2. Anonymus. Diktat Petunjuk III. Lembaga Virologi Kehewan. Surabaya. Tidak Diterbitkan.
3. Anonymus. Cara produksi dan pengujian mutu vaksin Newcastle Disease, Pusat Veterinaria Farma. Surabaya.
4. Anonymus. Pengaman mutu vaksin Newcastle Disease. Pusat Veterinaria Farma. Surabaya.
5. Anonymus. The Oxoid Manual of Culture Media Ingredients and other Laboratory Service. 3rd ed. Oxoid Limited Wade Road Basingstoke Hampshire. hal 251.
6. Anonymus. Hand book of Microbiology .Dehydrate Culture Media Culture medium Bases. Sundry Preparations for Microbiology .Merck. Darmstadt. Federal Republic of Germany. hal 266
7. Anonymus .1965. British Veterinary codex. The Pharmaceutical Press 17, Bloomsbury Square. W.C.I. hal 433-479.
8. Anonymus. 1972; Hand book of Microtiter Prosedur. Cook Engineering company. hal 160-170.
9. Anonymus. 1971. Subcommittee of avian Disease .Nations Academic of Sciences .Methods for Examining Poultry Biologics and for Identifying and Quantifying avian Pathogens.
10. Anonymus. 1971. Minimum Requirement for Biological Product for Animal Use National Veterinary Assay Laboratory , Ministry of Agriculture and Forestry .Kokubunji. Tokyo.
11. Biester. H.E. and L.H Swaete. 1973. Disease of Poultry. 6th ed Iowa United Press. Ames Iowa. hal 609-639.

12. Burnet, F.M. 1960. Principle of Animal Virology. 2 nd. ed. Academic Press. New York and London. hal 101, 115, 465.
13. Burner, D. Wade, J, A, Gillespie. 1973. Magsans Infections Disease of Domestic Animal .Cornell University Press Ithaca. New York
14. Christophor. Andrewreas. 1964. Viruses of Vertebrate. Baltimore . The Williams and Willkins company.
15. Leslie. E.E. Card, Malden , Neidheim. 1975. Poultry Productions 11 t th. ed. Lea and Fabiger. Philadelphia.
16. Merchart. I.A. and R. A Packer . 1963. Veterinary Bacteriology and Virology. 6th. ed. Iowa State University Press.
17. Morley. A.J. 1958. Poultry Husbandry. 3. th. ed. Tata Mc Graw Hill - Publishing company . LTDB Bombay . New Delhi.
18. Ressang. A.A. 1964. Pathologi khusus Veteriner. Departemen Urusan Research Nasional Republik Indonesia.
19. Soltys. M.A. 1963. Bacteria and Fungi Pathogenic To Man and Animal . Bailliare Tindall and Cox 7 and 8 Henreetta Street . London.
20. Stephen, B, Hitchner, H, C. Isolations and Indentifications of Avian Pathogens 1975. American Associations of Avian Pathologist. Departement of Veterynay Microbiology. Texas.
21. Thomas, G, G.A. 1973. Medical Microbiology. 3th. ed. Publishing in - Limited State by The Williams , Willkins company. Bailliere Tindall. London-Baltimore.