

**SKRIPSI :**

UJI MUTU VAKSIN NEWCASTLE DISEASE STRAIN MESOGENIK (KOMAROV)  
YANG BEREDAR DI BEBERAPA POULTRY SHOP  
DI WILAYAH KOTAMADYA SURABAYA  
**BAGUS UDA PALGUNADI**

SKRIPSI

DISUBMITKAN KEPADA FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS

**UJI MUTU VAKSIN NEWCASTLE DISEASE STRAIN  
MESOGENIK (KOMAROV) YANG BEREDAR DI  
BEBERAPA POULTRY SHOP DI WILAYAH  
KOTAMADYA SURABAYA**

BAGUS UDA PALGUNADI

PAMEKABAN - JAWA TIMUR



*R. Guntur*  
NAYU BRNAWATI, S. So  
PIMPINAN UTAMA  
*[Signature]*  
SOSIETYASTO  
PIMPINAN II

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
1986**

No. Tabel	halaman
12. TITER ANTIBODI SEBELUM VAKSINASI PADA ANAK AYAM UMUR 20 HARI .....	46
13. TITER ANTIBODI SATU MINGGU SETELAH VAKSINASI ...	48
14. TITER ANTIBODI DUA MINGGU SETELAH VAKSINASI ....	50
15. TITER ANTIBODI TIGA MINGGU SETELAH VAKSINASI ...	52
16. HUBUNGAN LEVEL ANTIBODI DENGAN HASIL TANTANGAN VIRUS ND VIRULEN SETELAH 21 HARI VAKSINASI .....	54
17. TITER ANTIBODI DUA MINGGU SETELAH TANTANGAN ....	56

## DAFTAR LAMPIRAN

No. Lampiran	halaman
1. GAMBARAN TITER ANTIBODI MATERNAL DAN TITER ANTIBODI SETELAH VAKSINASI DENGAN VAKSIN YANG DIAMBIL DARI POULTRY " A " .....	61
2. GAMBARAN TITER ANTIBODI MATERNAL DAN TITER ANTIBODI SETELAH VAKSINASI DENGAN VAKSIN YANG DIAMBIL DARI POULTRY " B " .....	62
3. GAMBARAN TITER ANTIBODI MATERNAL DAN TITER ANTIBODI SETELAH VAKSINASI DENGAN VAKSIN YANG DIAMBIL DARI POULTRY " C " .....	63
4. GAMBARAN TITER ANTIBODI MATERNAL DAN TITER ANTIBODI SETELAH VAKSINASI DENGAN VAKSIN YANG DIAMBIL DARI POULTRY " D " .....	64
5. GAMBARAN TITER ANTIBODI MATERNAL DAN TITER ANTIBODI SETELAH VAKSINASI DENGAN VAKSIN YANG DIAMBIL DARI POULTRY " E " .....	65
6. GAMBARAN TITER ANTIBODI MATERNAL DAN TITER ANTIBODI SETELAH VAKSINASI DENGAN VAKSIN YANG DIAMBIL DARI POULTRY " F " .....	66
7. GAMBARAN TITER ANTIBODI MATERNAL DAN TITER ANTIBODI SETELAH VAKSINASI DENGAN VAKSIN YANG DIAMBIL DARI POULTRY " G " .....	67
8. GAMBARAN TITER ANTIBODI MATERNAL DAN TITER ANTIBODI SETELAH VAKSINASI DENGAN VAKSIN YANG DIAMBIL DARI POULTRY " H " .....	68
9. GAMBARAN TITER ANTIBODI MATERNAL DAN TITER ANTIBODI SETELAH VAKSINASI DENGAN VAKSIN YANG DIAMBIL DARI POULTRY " I " .....	69
10. GAMBARAN TITER ANTIBODI MATERNAL DAN TITER ANTIBODI SETELAH VAKSINASI DENGAN VAKSIN YANG DIAMBIL DARI POULTRY " J " .....	70
11. NUTRIENT AGAR .....	71
12. SABOROD AGAR .....	72
13. PHOSPHAT BUFFER SALIN ( PBS ) .....	73

B A B I  
P E N D A H U L U A N

Ternak unggas banyak membantu manusia didalam kehidupan sehari - hari. Disamping sebagai ternak kesayangan yang terpenting adalah dapat diambil produksinya.

Hasil produk ternak unggas yang langsung dapat diambil manfaatnya bagi kehidupan manusia adalah daging dan telur, dimana didalamnya banyak mengandung protein yang berguna, terutama sebagai zat pembangun didalam tubuh, disamping juga untuk meningkatkan daya tahan tubuh terhadap infeksi, juga meningkatkan kecerdasan didalam masa pertumbuhan.

Untuk mencapai kebutuhan protein hewani pemerintah Indonesia menaruh perhatian dalam bidang peternakan. Populasi ternak dan mutu ternak ditingkatkan dengan jalan mendatangkan bibit - bibit unggul, menggalakkan usaha - usaha ternak unggas dan pengendalian penyakit.

Berkembangnya sektor peternakan pada akhir - akhir ini, khususnya peternakan ayam, baik yang dipelihara secara tradisional maupun secara moderen, tidaklah lepas dari berbagai hambatan. Sebagai salah satu faktor penghambat dalam perkembangan ternak ayam ialah penyakit ayam mular. Faktor penyakit ini cukup berpengaruh dalam hal produksi, baik dalam bentuk daging, telur maupun jumlah ayam. Penyakit ini dapat disebabkan oleh virus, bakteri, jamur,

parasit dan lain sebagainya.

Salah satu penyakit viral yang dapat menyerang ternak unggas adalah Newcastle Disease yang merupakan penyakit unggas yang sifatnya sangat menular (Petrak, 1969; Peterson, 1978 serta Siegmund, 1979 ). Diantara bangsa unggas ayam merupakan hewan yang paling peka terhadap Newcastle Disease ( Dorsey et al, 1973 ). Di Indonesia penyakit ini lebih dikenal dengan nama Tetelo atau sampar ayam ( Ressay, 1984 ).

Secara ekonomis Newcastle Disease pada ternak unggas mempunyai arti penting, karena dapat menyebabkan angka kematian yang tinggi yaitu sekitar 50 - 100 %, dimana peternak skala kecil atau besar dapat gulung tikar. Sebagai gambaran dari kerugian yang ditimbulkan oleh penyakit ini yang dihitung dalam bentuk uang sekitar Rp. 25, milyar lebih selama Pelita II ( Anonimus, 1978 ).

Sejak Newcastle Disease dikenal untuk pertama kali pada tahun 1926 oleh Kraneveld, sampai saat ini penyakit ini belum dapat dihilangkan dari Indonesia. Kejadian wabah penyakit ini berlangsung terus sepanjang tahun, hanya frekwensinya yang sedikit bervariasi. Hal ini disebabkan bukan saja ayam yang dapat terserang tetapi juga burung liar seperti kaka tua, nuri dan bayan dapat menjadi sumber dan penyebaran virus ( Ronohardjo, 1980 ).

Infeksi oleh virus Newcastle Disease pada ternak unggas memberikan suatu bentuk syndroma penyakit dengan

manifestasi pathologis yaitu perubahan-perubahan yang terutama terjadi pada saluran pencernaan khususnya pada pro-ventriculus, usus halus dan caecal toncil berupa bintik - bintik perdarahan ( Ressay, 1984 ).

Pengobatan terhadap penyakit ini, dapat dikatakan usaha yang sia - sia, sebab tidak ada antibiotika ataupun khemoterapoitika yang berdaya kerja luas sekalipun yang dapat memberikan hasil yang berarti. Hal ini mengingat sifat dan daya tahan virus Newcastle Disease yang resisten terhadap macam obat-obatan tersebut ( Sofjan, 1980 ).

Tindakan vaksinasi merupakan cara yang paling efektif untuk menanggulangi penyakit ini. Usaha - usaha dengan vaksinasi sampai sekarang belum mencapai hasil yang diharapkan, hal ini disebabkan oleh adanya beberapa hambatan seperti kurangnya penyuluhan dan kesadaran masyarakat, dana dan sarana yang terbatas, metoda operasional yang belum mantap, respon ayam, cara melakukan vaksinasi serta suhu penyimpanan vaksin sangat berpengaruh terhadap mutu vaksin. Vaksin yang tidak disimpan dalam alat pendingin mengakibatkan titer antibodi pada ayam yang divaksin sangat rendah ( Soeharsono et al, 1984 ).

Dewasa ini banyak vaksin yang beredar dipasaran dan mudah untuk memperolehnya, namun sering didengar keluhan beberapa peternak ayam tentang kejadian Newcastle Disease

dengan korban yang cukup tinggi setelah dilakukan vaksinasi ( Simandjuntak dan Ronohardjo, 1980 ).

Atas dasar permasalahan diatas, penulis mencoba untuk mengetahui dan mempelajari apakah vaksin-vaksin yang beredar dipasaran sesuai dengan standar optimal potensi.

## B A B II

## T I N J A U A N   K E P U S T A K A A N

Newcastle Disease adalah penyakit yang disebabkan oleh virus, sangat menular serta bersifat fatal, terutama menyerang unggas ( Morley, 1958; Burnet, 1960 serta Dorsey et al, 1973 ). Penyakit ini dikenal juga dengan nama Pseudoplaque of fowl, Pseudo fowl pest, Avian pneumo - encephalitis, Ranikhet Disease, Avian pest, Atypischen geflugel pest, Pseudo vogelpest, Pseudo poultry plaque serta Avian distemper ( Merchant and Packer, 1971; Hanson, 1972 ). Sedangkan di Indonesia dikenal dengan nama penyakit Tetelo atau sampar ayam ( Ressang, 1984 ).

## II.1. Sejarah dan Penyebaran penyakit

Pada tahun 1926 Kraneveld pertama kali melaporkan adanya penyakit yang menyebar cepat sekali dan menimbulkan kematian ayam-ayam di Indonesia. Penyakit ini menyebar cepat sekali ke daerah-daerah lainnya di Indonesia. Pada tahun 1927 Doyle berhasil mengisolasi dan mengidentifikasi virus ini dari wabah penyakit di dekat kota Newcastle-Inggris ( Hanson, 1972; Gordon, 1979; Ressang, 1984 ). Sedangkan Konno dan kawan-kawan menemukan penyakit ini di Korea dan Nakamura menemukan penyakit ini di Jepang pada tahun 1933 ( Dorsey et al, 1973 ). Penyebaran penyakit ini hampir merata diseluruh dunia, sebagai penyakit epizootic yang amat merugikan peternakan unggas khususnya peternakan ayam, ka-



rena kematian yang tinggi dan penurunan produksi ( Hanson, 1972; Gordon, 1979 ).

## II.2. Ukuran, Bentuk dan Struktur Virus

Virus Newcastle Disease adalah Paramyxovirus yang tersusun dari Asam Inti Ribo ( RNA ), protein serta lemak ( Burnet, 1960; Christopher, 1964; Hanson, 1972 ). Bentuk dan ukuran virus ini berbeda-beda menurut beberapa sarjana. Bernet dan Ferry ( 1934 ) dengan cara menyaring virus tersebut dengan saringan Barkefeld N dan W, saringan Seitz dan saringan Chamberland L<sub>3</sub> dan L<sub>5</sub> dapat menentukan ukuran virus sebesar 80 - 90 milli mikron ( Dorsey et al, 1973 ). Dawson dan Efford ( 1949 ) di Inggris dapat menemukan virus Newcastle Disease dengan ukuran 140 - 270 milli mikron dengan rata-rata 193 milli mikron ( Christopher, 1964 ). Sedangkan Waterson dan Cruikshank ( 1963 ) dapat mengukur virus dewasa atau virion sebesar 120 - 300 milli mikron dengan rata-rata 180 milli mikron ( Hanson, 1972 ).

## II.3. Daya tahan dan Sifat virus

Pada pemanasan 56°C selama 30 menit, virus ini dapat bertahan dan bahkan masih hidup sesudah pemanasan selama 180 menit. Pada pemanasan 60°C selama 30 menit virus ini dapat dinaktifkan. Virus ini dapat dibunuh dengan larutan KMnO<sub>4</sub> 1:5000, Lysol 1:1000 dan karbol 1:20. Dan virus akan mati selama tiga menit dalam formalin 3%, ethyl

alkohol 70% - 90%, Cresol 3%, Iodium tinctur 1%, NaOH 2 %, dan Phenol 3%. Virus dalam cairan allantois telur ayam bertunas bila disimpan pada temperatur 5°C dapat bertahan selama satu tahun, sedang pada temperatur -70°C dapat tahan sampai beberapa tahun ( Christopher, 1964, Merchant and Packer, 1971 ).

Virus Newcastle Disease mempunyai kemampuan untuk mengagglutinasikan erytrosit ayam dan juga menghasilkan toxin ( Burnet, 1960; Hanson, 1972 ). Hemagglutinasikan virus Newcastle Disease pertama kali dijelaskan oleh Burnet (1942), ia juga menemukan reaksi penghambatnya dengan antiserum yang spesifik. Placidi dan Santucci (1956) mengatakan bahwa semua strain virus ND dapat mengagglutinasikan erytrosit amphibi, reptil dan unggas, tetapi beberapa erytrosit mamalia tidak diagglutinasikan. Winslow dan kawan-kawan (1950) mengatakan bahwa erytrosit manusia, tikus dan Guinea pig diagglutinasikan oleh semua strain virus ND, sedang erytrosit sapi, kambing, domba, babi dan kuda diagglutinasikan oleh sebagian strain virus ND ( Hanson, 1972 ).

#### II.4. Pembiakan

Virus Newcastle Disease dapat dibiakkan dalam cairan allantois dari telur ayam bertunas umur 9 - 10 hari pada temperatur 37°C - 38°C ( Cunningham, 1964 ). Dalam waktu 2 - 6 hari virus yang dibiakkan ini dapat mematikan embrio ayam. Sedangkan jaringan-jaringan lain yang dapat dipakai untuk pembiakan adalah perbenihan jaringan asal ginjal a-

yam, ginjal sapi dan ginjal kera ( Ressang, 1984 ).

## II.5. Klasifikasi Strain virus

Strain virus ND berdasarkan kepada virulensinya digolongkan menjadi 3 type ( Hanson, 1972 ), yaitu :

### 1. Type lentogenik.

Type ini memiliki virulensi sangat lemah terdiri dari strain B<sub>1</sub>, F dan la Sota yang secara intensif telah digunakan sebagai vaksin dengan aplikasi secara tetes hidung atau tetes mata, melalui mulut dan aerosol.

### 2. Type mesogenik.

Type ini memiliki virulensi lebih kuat terdiri dari strain Komarov, Mukteswar, Roakin, Mass MK - 107, NY-Jones. Strain ini juga dipakai sebagai pembuatan vaksin dengan aplikasi secara intra muskulair dan digunakan sebagai booster setelah vaksinasi dengan strain lentogenik atau pada ayam umur diatas 6 minggu dengan maksud untuk menghindari stress atau efek post vaksinal.

### 3. Type Velogenik.

Type ini memiliki virulensi paling kuat terdiri dari strain Milano, Herts, MO 31747, Cal-Kio, Kan-M dan Tex-GB. Strain virus dari type ini biasanya dipakai sebagai challenge test.

## II.6. Bentuk Penyakit

Berdasarkan perubahan patologis anatomis, ND digogo-

longkan menjadi 4 bentuk ( Hanson, 1972 ), Yaitu :

1. Bentuk penyakit menurut Doyle.

Ditemukan pertama kali pada tahun 1927 sebagai infeksi akut dan fatal terhadap semua umur ayam. Pada bentuk ini sering dijumpai kerusakan jaringan disertai perdarahan pada saluran pencernaan. Bentuk penyakit ini disebabkan oleh virus ND type velogenik atau type Asia dan lebih dikenal dengan type virus ND viscerotropic velogenik ( VVND ).

2. Bentuk penyakit menurut Beach.

Ditemukan pada tahun 1942 dan tahun 1946 sebagai infeksi akut dan fatal terhadap semua umur ayam. Pada bentuk ini sering dijumpai perdarahan disertai kerusakan jaringan pada saluran pernafasan dan sistim syaraf, sedangkan kelainan pada saluran pencernaan jarang terlihat. Pada permulaan penyakitnya disebut sebagai nervous respiratory disease atau pneumoencephalitis yang disebabkan oleh type virus ND neurotropic velogenik atau type Amerika.

3. Bentuk penyakit menurut Beaudette.

Ditemukan pada tahun 1946 terutama menyerang anak ayam. Merupakan infeksi akut dari saluran pernafasan dan saraf. Bentuk ini disebabkan oleh type virus mesogenik dan dapat digunakan sebagai vaksin.

4. Bentuk penyakit menurut Hitchner.

Ditemukan pada tahun 1948 dan tahun 1950. Merupakan infeksi ringan pada saluran pernafasan. Bentuk ini disebabkan

kan oleh type virus ND lentogenik, juga digunakan sebagai vaksin.

## II.7. Penularan penyakit

Masa inkubasi penyakit ini 2 - 15 hari dengan rata-rata 5 - 6 hari. Ayam yang tertular akan mengeluarkan virus melalui alat pernafasannya 1 - 2 hari setelah infeksi. Mortalitas dan morbiditasnya tinggi, kematian oleh type velogenik Asia paling tinggi yaitu antara 80% - 100%, type velogenik Amerika 60% - 80%, type mesogenik biasanya tidak melebihi 10% dan terbatas pada ayam-ayam muda. Sedangkan type lentogenik menyebabkan infeksi yang asymptomatik dan dilaporkan banyak ditemui di alam bebas ( Hanson, 1972 ).

Penularan penyakit dalam suatu peternakan secara primer melalui udara, dimana virus keluar melalui alat pernafasan. Menurut Beard dan Easterday (1967) pelepasan virus dalam jumlah besar dari saluran pernafasan tergantung dari beberapa faktor terutama stadium infeksi melalui udara. Faktor-faktor lain seperti type virus, umur host dan sanitasi lingkungan juga berpengaruh. Disamping itu penularan dapat terjadi melalui kontak dengan hewan sakit, sekresi dan ekskresi dari hewan sakit, begitu juga dengan bangkainya. Virus yang ada dalam faeses dan urin tahan dua bulan bahkan dapat lebih lama lagi bila dalam keadaan kering. Penularan biasanya terjadi melalui saluran pencernaan ( Anonymous, 1980 ).

## II.8. Vaksin, vaksinasi dan antibodi

Salah satu syarat yang harus diindahkan peternak dalam menghindari ND ialah memilih vaksin yang akan dipakai pengebalan ayam-ayamnya. Dewasa ini telah banyak vaksin-vaksin yang beredar dipasaran, diantaranya adalah vaksin aktif yaitu dari strain virus ND F, HB<sub>1</sub>, La Sota dan Komarov serta vaksin inaktif. Pada umumnya vaksin aktif dianggap lebih antigenik dan lebih baik dari pada vaksin inaktif, karena vaksin aktif disamping dapat menimbulkan kekebalan umum juga kekebalan lokal ditempat dimana infeksi alami terjadi. Diantara beberapa persyaratan yang harus dipenuhi oleh vaksin aktif yaitu vaksin haruslah memenuhi standart optimal potensi, karena vaksin yang potensinya tinggi akan memberikan kekebalan yang baik ( Ronohardjo, 1980 ).

Tindakan vaksinasi merupakan cara yang paling efektif untuk mencegah ND ( Anonimous, 1971; Beard et al, 1975; Hutchinson, 1975 dan Anonimous, 1978 ).

Antibodi yang terbentuk akibat vaksinasi dapat melindungi ayam dari serangan ND. Tetapi titer antibodi yang diperoleh dari hasil vaksinasi tergantung pada beberapa faktor antara lain : respon ayam, cara dan jadwal vaksinasi, type virus dari vaksin yang digunakan, jenis vaksin, ada / tidaknya penyakit lain yang menghalangi pembentukan zat kebal dan potensi dari vaksin ( Ronohardjo, 1980 ). Kegagalan respon ayam terhadap vaksinasi terjadi karena adanya antibodi maternal ( Benson, 1975; Ernawati et al , 1984

dan Westbury et al, 1984 ).

Antibodi dapat terjadi secara aktif atau pasif dalam tubuh ayam. Antibodi pasif terjadi karena pemindahan serum ayam yang kebal kepada ayam lain atau dapat pula terjadi karena transfer dari induk pada waktu pertumbuhan kuning telur, yang disebut antibodi maternal. Antibodi aktif terjadi karena vaksinasi ataupun infeksi alam yang sub klinis. Antibodi aktif dapat mencapai titer yang tinggi dan bertahan lebih lama ( Tizard, 1977 ).

Antibodi maternal pada anak ayam yang baru menetas akan menurun titernya dan menjadi tidak berarti setelah umur 3 - 5 minggu ( Allan et al, 1974 dan Ronohardjo, 1977).

Antibodi maternal dalam tubuh anak-anak ayam memegang peranan penting dalam hal menentukan lamanya masa inkubasi, waktu kematian, jumlah anak-anak ayam yang sakit dan mati apabila anak-anak ayam tadi ditantang dengan virus ND isolat lapangan ( Ronohardjo, 1974 ).

Roepke (1972) mengatakan bahwa kekebalan didalam tubuh ayam yang titernya  $4,8 (\log 2)$  tidak cukup untuk menahan wabah ND yang mungkin terjadi, bahkan para peneliti di CDI Rotterdam membuktikan juga, bahwa 50% dari ayam - ayam yang titer antibodinya hanya berkisar  $5,5 (\log 2)$ , masih mati akibat virus ND virulen. Vaksinasi dianggap baik jika titer antibodi yang diperoleh sama dengan atau lebih besar dari 7 ( $\log 2$ ) ( Ronohardjo, 1977 dan Ronohardjo, 1980 ). ✓

Mutu vaksin ND hidup (aktif) ditentukan oleh kandungan virus dalam vial, level antibodi yang ditimbulkan pada kelompok ayam yang divaksin dan kemampuan untuk melindungi ayam terhadap ancaman virus ND yang virulent (Allan et al, 1978). Potensi vaksin ND mesogenik aktif masih memenuhi standart adalah diatas  $10^{5,6}$  ELD<sub>50</sub> per dosisnya (Allan et al, 1978 dan Ronohardjo, 1978). Vaksin ND mesogenik memberikan respon kekebalan yang optimum antara  $10^{6,0}$  sampai  $10^{7,0}$  ELD<sub>50</sub> per 0,1 ml (Allan et al, 1978). ✓

Antibodi yang terbentuk dapat dideteksi dengan uji hambatan Hemagglutinasasi (HI), Serum Netralisasi (SN) dan Agar Gel Presipitasi (AGP) (Khare et al, 1975).

Uji hambatan Hemagglutinasasi (HI) dipengaruhi oleh waktu, temperatur inkubasi dan konsentrasi antigen, sedangkan konsentrasi sel darah merah pengaruhnya sangat sedikit (Allan et al, 1978).

Potensi vaksin dievaluasi dengan uji tantangan (Challenge test) menggunakan virus ND virulent melalui peroral atau respirasi (Allan et al, 1974, Allan et al, 1978 dan Resewald et al, 1982).

Masalah pengendalian ND di Indonesia erat hubungannya dengan kekebalan yang diperoleh ayam melalui vaksinasi tetapi hal ini masih terdapat berbagai hambatan antara lain perlakuan vaksin yang salah, dana, sarana dan tenaga yang terbatas, metoda operasional yang belum mantap serta kurangnya kesadaran masyarakat dan pengetahuan tentang ca-



ra - cara pengendalian penyakit.

Berbagai uji mutu vaksin ND antara lain : uji kemurnian, sterilitas, penentuan ELD<sub>50</sub> perdosisnya, uji Hemag - glutinasi ( HI ) dan potensi vaksin harus selalu dilakukan untuk setiap produk vaksin yang beredar di pasaran. Hal ini untuk menanggulangi kejadian ND disaat sekarang ataupun disaat yang akan datang ( Anonimous, 1978; Ronohardjo, et al, 1978 dan Ronohardjo, 1980 ).

## B A B III

## MATERI DAN METODE PENELITIAN

## III.1. Materi Penelitian.

## III.1.1. Bahan - bahan.

Vaksin ND strain mesogenik ( KOMAROV ) buatan VET-MA, virus ND virulent, phospat buffer salin (PBS)pH 7,2, eritrosit ayam (RBC) 1%, antigen 4 HA unit / 0,025, serum darah ayam percobaan, alkohol 70%, aquades steril, Nutrient Agar, Saboroud Agar dan kapas.

## III.1.2. Alat - alat.

Peneropong telur, inkubator, lemari es, mikroplate bentuk V, pipet droper 0,025 ml dan 0,050 ml, mikrodiluter 0,025 ml, sentrifuge, tabung reaksi, rak tabung, erlemeyer, spuit 1 ml dan 5 ml dan obyek glas.

## III.1.3. Hewan percobaan.

Anak ayam umur 1 hari ( DOC ) jenis CP707, telur ayam bertunas umur 9 sampai 11 hari.

## III.2. Metode Penelitian.

## III.2.1. Vaksin.

Vaksin ND strain mesogenik ( KOMAROV ) sebanyak 40 ampul yang diperoleh dari beberapa poultry shop di KODYA Surabaya. Vaksin tersebut memiliki nomer tanding 12784 K , 12984 K, 6385 K, 1385 K, 7485 K, waktu kadaluarsa masing - masing Juli 1985, Juli 1985, Oktober 1985, November 1985 , Desember 1985. Isi dalam 1 ampul 100 dosis dan kandungan

virus  $10^{7,0}$  ELD<sub>50</sub> per 0,1 ml.

### III.2.2. Uji vaksin.

Untuk menentukan mutu vaksin yang beredar dipasaran maka perlu dilakukan pengujian berdasarkan :

1. Penentuan sterilitas vaksin.
2. Penentuan ELD<sub>50</sub> ( kandungan virus ) per dosisnya.
3. Pengujian terhadap daya pengebalan vaksin dengan HI.
4. Potensi vaksin dengan uji tantangan ( challenge test ).

Tujuan pengujian ini untuk mengetahui sampai sejauh mana vaksin dapat memberikan kekebalan yang optimal terhadap ayam - ayam yang telah divaksin.

#### III.2.2.1. Penentuan sterilitas vaksin.

1. Penentuan pertumbuhan kuman. ✓

Penentuan ini dilakukan pada media Nutrient Agar. Caranya: Vaksin ND strain mesogenik ( KOMAROV ) dibuat suspensi dengan PBS steril sebanyak 1 ml, kemudian ditanam pada media Nutrient Agar dan dieramkan dalam inkubator 37°C selama 18 - 24 jam. Pengamatan dilakukan terhadap ada tidaknya pertumbuhan koloni kuman pada perbenihan Nutrient Agar.

2. Penentuan pertumbuhan jamur.

Dilakukan pada media Saboroud Agar. Caranya : Vaksin ND strain mesogenik ( KOMAROV ) dibuat suspensi dengan PBS sebanyak 1 ml yang kemudian ditanam pada media Saboroud Agar

dan dieramkan dalam inkubator  $37^{\circ}\text{C}$  selama 5 - 6 hari. Pengamatan dilakukan terhadap ada tidaknya pertumbuhan koloni jamur pada perbenihan Saboroud Agar.

### III.2.2.2. Penentuan $\text{ELD}_{50}$ ( kandungan virus ) per dosisnya.

Kandungan virus aktif dalam vaksin perlu diketahui jumlah perampulnya atau perdosisnya. Hal tersebut dapat diketahui dengan cara melakukan titrasi vaksin pada telur ayam bertunas ( TAB ) umur 9 - 11 hari. Caranya : sediakan tabung reaksi steril sebanyak 9 buah. Masing-masing diisi dengan PBS sebanyak 9 ml. Vaksin ND direkonstitusi dengan PBS steril untuk dikembalikan pada volume semula sebelum dikeringkan. Buat penipisan secara desimal dengan cara pada tabung reaksi pertama tambahkan 1 ml suspensi vaksin ND dan dicampur hingga homogen. Dari tabung pertama diambil 1 ml dan dimasukkan dalam tabung ke 2 dan seterusnya sampai tabung ke 9, sehingga akan didapatkan penipisan  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ , dan seterusnya sampai dengan penipisan  $10^{-9}$ . Penipisan  $10^{-5}$  sampai  $10^{-9}$  disuntikkan pada telur ayam bertunas umur 9 - 10 hari dengan dosis 0,1 ml dan masing - masing penipisan sebanyak 5 butir telur kedalam ruang allantoisnya, kemudian dieramkan pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 3 X 24 jam dan diamati tiap hari. Embrio yang mati kurang dari 24 jam dibuang karena kematian embrio bukan disebabkan oleh virus ND. Setelah masa pengeraman selesai, embrio yang mati dan hidup

disimpan dalam lemari es selama beberapa jam, kemudian setiap telur diperiksa dan dilihat perubahan pada embrio yang ditandai dengan adanya perdarahan pada kulit, terutama di daerah punggung dan kepala embrio dan juga diperiksa cairan allantoisnya dengan HA plate test untuk mengetahui ada tidaknya pertumbuhan virus ND. Semua dicatat untuk kemudian dihitung dengan memakai metoda REED & MUENCH.

### III.2.2.3. Pengujian terhadap daya pengebalan vaksin dengan HI test.

#### 1. Pemeriksaan antibodi maternal.

Seratus sepuluh ekor ayam pedaging umur 1 hari dibagi menjadi 11 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor. Ayam-ayam tersebut dipelihara di Laboratorium Hewan Percobaan Fakultas Kedokteran Hewan UNAIR. Pada umur 10 hari Serum diambil untuk diperiksa titer antibodi maternalnya dengan uji HI mikrotiter cara Allan et al, 1978. Pemeriksaan dilakukan di Lab. Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan UNAIR. Kemudian pada umur 20 hari serum diambil untuk mengetahui penurunan titer antibodi maternalnya.

#### 2. Vaksinasi.

Vaksinasi dilakukan pada umur 21 hari. Dosis vaksin adalah 1 ml intra muskuler. Vaksinasi dilakukan pada kelompok satu sampai kelompok sepuluh sedangkan kelompok sebelas tanpa vaksinasi atau sebagai kontrol. Kelompok kontrol diletakkan jauh terpisah dari kelompok yang telah divaksin.

### 3. Pengukuran titer antibodi.

Antibodi yang ditimbulkan akibat vaksinasi diukur setiap minggu setelah vaksinasi selama tiga minggu. Penghitungan titer antibodi dilakukan dengan uji HI mikrotiter beta prosedur cara Allan et al., 1978 dengan menggunakan antigen homolog dengan vaksin yang digunakan untuk vaksinasi.

#### III.2.2.4. Potensi vaksin dengan uji tantangan ( challenge test ).

Uji tantangan ( challenge test ) dilakukan pada hari ke 22 setelah vaksinasi dengan menggunakan virus virulen dari strain velogenik dengan dosis 0,5 ml virus ND virulen yang mengandung  $10^{4,0}$  ELD<sub>50</sub> untuk setiap ekor ayam melalui intramuskuler. Evaluasi potensi vaksin ND strain mesogenik ( KOMAROV ) dinyatakan poten apabila pada hari ke 15 setelah tantangan sekurang - kurangnya 90% tahan terhadap virus virulent. Sedangkan ayam kontrol mati 100% dalam waktu 5 hari setelah tantangan ( Anonymous, 1979 ).

Ayam yang mati selama waktu tantangan dilakukan pemeriksaan patologi anatomis, dengan membedah bangkai kemudian memperhatikan perubahan-perubahan yang terjadi pada organ-organ tubuh. Organ-organ yang mengalami perubahan diambil untuk isolasi dan identifikasi virus.

Isolasi virus dilakukan dengan cara menggerus organ trachea, paru-paru, otak dan usus halus. Kemudian dipusingkan dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan

diambil, kemudian ditambah 500 IU penisilin G dan 500 mili gram streptomisin pada tiap 1 ml supernatan, inkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Setelah masa inkubasi, supernatan disuntikkan pada telur ayam bertunas umur 9 - 11 hari sebanyak 0,1 ml pada cairan allantoisnya. Masing-masing material disuntikkan pada 3 butir telur. Kemudian dieramkan dalam inkubator selama 3 X 24 jam. Embrio yang mati kurang dari 24 jam dibuang. Setelah masa pengeraman telur diperiksa dengan uji HA plate. Identifikasi virus dilakukan dengan uji HI mikrotiter cara Allan et al, 1978 dengan menggunakan serum yang positif mengandung antibodi virus ND.

Pemeriksaan titer antibodi setelah tantangan dilakukan pada hari ke 15 setelah tantangan dengan menggunakan uji HI mikrotiter beta prosedur cara Allan et al, 1978.

### III.2.3. Sel darah merah ( RBC ) ayam 1%.

Darah ayam donor diambil melalui vena axillaris dengan spuit steril sebanyak 2 ml. Darah ayam dimasukkan ke dalam botol steril yang berisi EDTA (Ethylene Dinatrium Tetra Asetat) secukupnya, kemudian centrifuge dengan kecepatan 2000 rpm selama 15 - 30 menit. Supernatan dibuang selanjutnya dilakukan pencucian dengan PBS sampai 3 kali dengan cara yang sama. Setelah pencucian terakhir kadar sel darah merah ditentukan dengan microhematocrit. Sel darah merah yang telah diketahui kadarnya kemudian buat kadar sel darah merah menjadi 1% dan disimpan dalam suhu 4°C sampai larutan ini dipakai.

#### III.2.4. Antigen 4 HA unit / 0,025

Antigen 4 HA unit / 0,025 dibuat dengan melakukan uji hemaglutinasi ( HA ) microtiter alpha prosedur cara Allan et al, 1978. Caranya : Tiap lubang microplate dari mulai lubang 1 sampai lubang 12 diisi dengan PBS sebanyak 0,025 ml dengan menggunakan microdroper. Kemudian lubang 1 diisi dengan 0,025 ml antigen yang akan diuji. Dengan menggunakan microdiluter dipindahkan 0,025 ml dari lubang 1 ke lubang 2 demikian seterusnya sampai lubang 11. Dari lubang 11 diambil 0,025 ml untuk dibuang. Dengan demikian antigen diencerkan sebanyak 1 : 2 sampai 1 : 2048, sedang pada lubang 12 tanpa antigen dan digunakan sebagai kontrol eritrosit. Pada semua lubang ditambahkan 0,025 ml PBS hingga volumenya menjadi 0,50 ml. Setelah itu pada semua lubang ditambahkan 0,50 ml sel darah merah ayam <sup>52</sup>1%, kemudian digoyangkan. Dibiarkan pada suhu kamar selama 30 - 60 menit sampai terjadi agglutinasi pada dasar lubang dan kemudian dilakukan pembacaan. Pengenceran tertinggi ~~deri~~ antigen yang mengakibatkan 100% agglutinasi sel darah merah ayam diambil sebagai endpoint ( titer ).

#### III.2.5. Cara pengambilan serum.

Darah diambil melalui vena axillaris dengan menggunakan spuit disposable 1 ml secara aseptis. Kemudian darah segera dipindahkan pada tabung reaksi dan diletakkan pada posisi miring. Dalam waktu tertentu terjadi pemisahan hampir sempurna antara serum dan bekuan darah. Serum yang ti-



dak keluar dipusingkan dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit. Serum yang telah terpisah segera dipindahkan pada tabung steril, kemudian serum disimpan pada suhu 4°C sampai digunakan.

### III.2.6. Uji hambatan hemagglutinasasi ( HI ) beta prosedur cara Allan et al, 1978.

<sup>1</sup>Antibodi yang homolog dengan virus ND akan menghambat kerja virus ND untuk mengagglutinasasi sel darah merah ayam. Atas dasar kerja ini uji HI dipakai untuk identifikasi virus dan mengetahui titer antibodi yang terkandung dalam serum. Adapun prosedur pengerjaan HI adalah sebagai berikut : <sup>1</sup>Duabelas lubang microplate diisi dengan 0,025 ml PBS dengan menggunakan microdroper. <sup>2</sup>Pada lubang 1 ditambahkan 0,025 ml serum yang akan diuji kemudian dicampur dengan menggunakan microdiluter. <sup>3</sup>Dari lubang 1 diambil sebanyak 0,025 ml dan dipindahkan pada lubang berikutnya sampai lubang ke 11. <sup>4</sup>Kemudian ditambahkan sebanyak 0,025 ml antigen yang mengandung 4 HA unit mulai lubang ke 1 sampai lubang ke 11, sedangkan lubang ke 12 ditambahkan 0,025 ml PBS sebagai kontrol sel. <sup>5</sup>Pencampuran dilakukan dengan menggoyangkan microplate secara hati - hati selama 10 detik dan dibiarkan pada suhu kamar selama 10 - 15 menit. <sup>6</sup>Setelah itu ditambahkan pada semua lubang dengan microdroper sel darah merah ayam 1% sebanyak 0,50 ml, kemudian digoyangkan selama 10 - 15 detik. Dibiarkan pada suhu kamar se

lama 30 - 45 menit, kemudian dilakukan pembacaan. <sup>8</sup> Penger-  
ceran serum yang tertinggi yang mampu menghambat agglutina-  
si adalah sebagai endpoint ( titer antibodi ).

### III.2.7. Perhitungan titer antibodi.

Titer antibodi rata - rata ( Geometric Mean Titer )  
dari tiap kelompok ayam adalah jumlah titer antibodi dalam  
masing-masing kelompok dibagi dengan jumlah ayam dalam ke-  
lompok tersebut.

## B A B IV

## HASIL PENELITIAN

## IV.1. Penentuan sterilitas vaksin.

Uji sterilitas dari 10 vaksin yang diuji didapatkan hasil, bahwa vaksin-vaksin tersebut memenuhi standart sterilitas vaksin. Hal ini dapat dibuktikan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni kuman ataupun koloni jamur pada media.

IV.2. Penentuan ELD<sub>50</sub> ( kandungan virus ) perdosisnya.

Dari uji ini didapatkan kandungan virus dari masing-masing vaksin yang diuji adalah : vaksin yang diambil dari Poultry A :  $10^{5,30}$  ELD<sub>50</sub>; Poultry B :  $10^{5,83}$  ELD<sub>50</sub>; Poultry C :  $10^{5,16}$  ELD<sub>50</sub>; poultry D :  $10^{5,46}$  ELD<sub>50</sub>; Poultry E :  $10^{5,66}$  ELD<sub>50</sub>; Poultry F :  $10^{5,19}$  ELD<sub>50</sub>; Poultry G :  $10^{4,83}$  ELD<sub>50</sub> ; Poultry H :  $10^{5,31}$  ELD<sub>50</sub>; Poultry I :  $10^{5,68}$  ELD<sub>50</sub>; Poultry J :  $10^{6,16}$  ELD<sub>50</sub> perdosisnya ( tabel 1,2,3,4,5,6,7,8,9 dan 10).

## IV.3. Pengujian terhadap daya pengebalan vaksin.

## 1. Pemeriksaan titer antibodi maternal.

Pemeriksaan antibodi maternal pada anak ayam umur 10 hari didapatkan hasil sebagai berikut : kelompok I  $\log_2$  3,4; kelompok II  $\log_2$  4,0; kelompok III  $\log_2$  3,2; kelompok IV  $\log_2$  3,1; kelompok V  $\log_2$  3,6 ; kelompok VI  $\log_2$  3,7 ; kelompok VII  $\log_2$  3,4; kelompok VIII  $\log_2$  3,3; kelompok IX  $\log_2$  3,5; kelompok X  $\log_2$  3,8 dan kelompok XI  $\log_2$  3,6 ( tabel 11 ). Antibodi maternal pada anak ayam umur 20 hari adalah sebagai berikut : kelompok I  $\log_2$  0,9 ; kelompok II  $\log_2$  1,6 ; kelompok III  $\log_2$  1,2 ; kelompok IV  $\log_2$  0,3 ; kelompok V

$\log_2$  1,5; kelompok VI  $\log_2$  1,0; kelompok VII  $\log_2$  0,6; kelompok VIII  $\log_2$  0,0; kelompok IX  $\log_2$  1,2; kelompok X  $\log_2$  1,3 dan kelompok XI ( kontrol )  $\log_2$  1,6 ( tabel 12 ).

## 2. Pemeriksaan titer antibodi setelah vaksinasi.

Pemeriksaan titer antibodi hasil vaksinasi dilakukan tiap minggu selama tiga minggu. Pada minggu pertama didapatkan GMT HI pada masing - masing kelompok adalah sebagai berikut : kelompok I  $\log_2$  2,5; kelompok II  $\log_2$  4,3 ; kelompok III  $\log_2$  2,8; kelompok IV  $\log_2$  2,8 ; kelompok V  $\log_2$  4,4 ; kelompok VI  $\log_2$  2,7; kelompok VII  $\log_2$  1,6; kelompok VIII  $\log_2$  3,2 ; kelompok IX  $\log_2$  3,9 ; kelompok X  $\log_2$  4,4 dan kelompok XI ( kontrol )  $\log_2$  0,9 ( tabel 13 ).

Pada minggu ke 2 didapatkan GMT HI masing- masing kelompok adalah : Kelompok I  $\log_2$  4,0; kelompok II  $\log_2$  5,0 ; kelompok III  $\log_2$  4,5; kelompok IV  $\log_2$  4,1; kelompok V  $\log_2$  5,0; kelompok VI  $\log_2$  4,2; kelompok VII  $\log_2$  3,7; kelompok VIII  $\log_2$  3,8 ; kelompok IX  $\log_2$  4,6 ; kelompok X  $\log_2$  5,1 dan kelompok XI (kontrol)  $\log_2$  0,0 ( tabel 14 ).

Pada minggu ke 3 didapatkan GMT HI masing-masing kelompok adalah : kelompok I  $\log_2$  4,8 ; kelompok II  $\log_2$  6,1; kelompok III  $\log_2$  4,8; kelompok IV  $\log_2$  5,0; kelompok V  $\log_2$  5,5; kelompok VI  $\log_2$  4,4; kelompok VII  $\log_2$  4,2; kelompok VIII  $\log_2$  4,8 ; kelompok IX  $\log_2$  5,3 ; kelompok X  $\log_2$  6,5 dan kelompok XI ( kontrol )  $\log_2$  0,0 ( tabel 15 ).

#### IV.4. Uji tantangan

Uji tantangan ( challenge test ) dilakukan pada hari ke 22 setelah vaksinasi. Jumlah ayam yang ditantang pada tiap kelompok adalah 10 ekor. Pada hari keempat setelah tantangan terlihat ayam-ayam mulai tampak sakit dan gejala klinis yang nampak adalah : lesu, tidak mau makan, keluar leleran dari hidung, ngorok, bersin dan mencret berwarna putih kehijauan. Kematian terjadi pada hari kelima setelah tantangan dengan perubahan patologi anatomi yang nampak adalah bercak - bercak perdarahan pada saluran pencernaan mulai dari proventrikulus, usus halus dan sekaton-sil. 14 hari setelah tantangan jumlah ayam yang mati pada masing-masing kelompok adalah : kelompok I 8 ekor ( 80% ), kelompok II 2 ekor ( 20% ), kelompok III 10 ekor ( 100% ), kelompok IV 7 ekor ( 70% ), kelompok V 4 ekor ( 40% ), kelompok VI 8 ekor ( 80% ), kelompok VII 10 ekor ( 100% ), kelompok VIII 8 ekor ( 80% ), kelompok IX 5 ekor ( 50% ), kelompok X tidak ada ( 0 ) dan kelompok XI ( kontrol ) 10 ekor ( 100% ) ( tabel 16 ).

Isolasi dan identifikasi dari organ - organ yang mengalami perubahan didapatkan hasil positif terhadap virus ND.

Titer antibodi setelah tantangan dilakukan pada hari ke 15 setelah tantangan. Dari hasil pemeriksaan didapatkan GMT HI pada masing-masing kelompok adalah : kelompok I  $\log_2 7,5$ ; kelompok II  $\log_2 8,75$ ; kelompok III  $\log_2 0,0$ ; ke

lompok IV  $\log_2 7,33$ ; kelompok V  $\log_2 8,33$ ; kelompok VI -  $\log_2 8,0$ ; kelompok VII tidak ada; kelompok VIII  $\log_2 8,5$ ; kelompok IX  $\log_2 8,8$ ; kelompok X  $\log_2 10,2$  dan kelompok XI ( kontrol ) tidak ada.

## B A B V

## P E M B A H A S A N

Dari hasil uji sterilitas didapatkan bahwa vaksin - vaksin yang diuji memenuhi standard sterilitas vaksin. Hal ini dapat dibuktikan dengan tidak adanya pertumbuhan kuman pada media Nutrient Agar dan pertumbuhan jamur pada media Saboroud Agar.

Salah satu syarat untuk memperoleh kekebalan yang cukup bagi ayam yang divaksin adalah potensi vaksin yang digunakan harus memenuhi standard optimal potensi vaksin ND ( Anonimeous, 1971 dan Allan et al, 1978 ). Minimum requirement untuk vaksin ND strain Komarov adalah  $10^{5,6} \text{ELD}_{50}$  perdosisnya ( Ronohardjo, 1978 dan Anonimeous, 1979 ). Dari pemeriksaan kandungan virus ( virus content ) yang penulis lakukan pada 10 vaksin, didapatkan hasil yang berbeda-beda kandungan virusnya. Dari 10 vaksin yang diuji ternyata 6 vaksin diantaranya tidak memenuhi standard potensi vaksin ND, sedangkan 4 vaksin lainnya masih memenuhi standard potensi vaksin ND ( tabel 1,2,3,4,5,6,7,8,9 dan 10 ).

Dari pemeriksaan antibodi maternal pada anak-anak ayam yang dilakukan dua kali yaitu umur 10 hari dan umur 20 hari didapatkan hasil GMT HI pada anak ayam umur 10 hari adalah  $\log_2 3$  sampai  $\log_2 4$ . Sedangkan pada anak ayam umur 20 hari adalah  $\log_2 1$  sampai  $\log_2 2$ . Disini terlihat bahwa terjadi penurunan sebanyak  $\log_2 3$  dari umur 10 hari sampai

umur 20 hari. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Jand (1983) dimana anak ayam umur 1 hari yang memiliki titer antibodi maternal  $\log_2$  9 sampai  $\log_2$  10 dalam waktu 14 hari turun menjadi  $\log_2$  5 sampai  $\log_2$  6. Ronohardjo dkk, (1972) juga mengatakan bahwa dalam jangka waktu yang sama, penurunan titer antibodi maternal jumlahnya sama.

Titer antibodi hasil vaksinasi yang dilakukan setelah 21 hari, didapatkan hasil antara  $\log_2$  4 sampai  $\log_2$  8, seperti tertera pada tabel 15. Dari data yang ada di VETMA hasil titer HI yang tahan terhadap tantangan  $10^4$  ELD<sub>50</sub> virus ND virulent minimal adalah  $\log_2$  6 ( Anonimous, 1979 ).

Uji tantangan dengan penantang  $10^4$  ELD<sub>50</sub> virus ND virulen, didapatkan kematian pada kelompok I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX dan XI ( kontrol ) ( tabel 16 ).

Hasil tantangan yang penulis lakukan ternyata titer antibodi  $\log_2$  6 yang diuji dengan microteknik beta prosedur cara Allan et al, 1978 adalah protectif, sedang hasil tantangan yang dilaporkan oleh Allan et al, 1974, ayam yang memiliki titer antibodi  $\log_2$  5 adalah protectif dan Standard Keswan, 1978 adalah  $\log_2$  6 keatas. Dari hasil penelitian yang penulis lakukan pada ayam-ayam yang memiliki titer antibodi  $\log_2$  5 terjadi kematian setelah tantangan, sedangkan ayam-ayam yang memiliki titer antibodi  $\log_2$  6 keatas tidak mati setelah tantangan. Jadi jika dibandingkan dengan yang dilaporkan oleh Allan et al, 1974, maka ada perbedaan titer antibodi yang protectif dengan hasil pene-



litian dan sesuai dengan Standard Keswan, 1978.

Antibodi yang terbentuk 14 hari setelah tantangan titer HI tampak tinggi, yaitu rata-rata dua kali lipat dari pada titer sebelum ditantang ( tabel 17 ). Keadaan ini terjadi karena virus yang dipakai untuk uji tantangan adalah virus virulen, sehingga akibat adanya respon imunogenik dari virus tersebut yang sangat tinggi maka akan membentuk antibodi yang tinggi.

## B A B VI

## K E S I M P U L A N

Dari hasil uji sterilitas, penentuan  $ELD_{50}$  ( kandungan virus) perdosisnya, penentuan terhadap daya pengebalan vaksin dan potensi vaksin dengan uji tantangan yang penulis lakukan pada vaksin-vaksin yang diambil dari 10 poultry shop di wilayah Kotamadya Surabaya, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Enam dari 10 vaksin yang diuji tidak memenuhi standar minimal potensi vaksin, sedangkan 4 diantaranya memenuhi standar minimal potensi vaksin.
2. Tidak semua vaksin yang beredar di pasaran mempunyai kandungan virus ( virus content ) yang optimum.
3. Cara penyimpanan dan penanganan yang salah pada vaksin, dapat mempengaruhi turunnya kandungan virus dalam vaksin ( virus content ).
4. Tinggi rendahnya titer antibodi yang didapat setelah vaksinasi tergantung pada kandungan virus dalam vaksin ( virus content ).
5. Kematian ayam yang terjadi, adalah akibat rendahnya titer antibodi yang ditimbulkan setelah vaksinasi, sehingga tidak dapat melindungi ayam dari serangan virus ND virulen dalam uji tantangan ( challenge test ).

## B A B VI

## R I N G K A S A N

Antibodi yang terbentuk akibat vaksinasi dapat melindungi ayam dari serangan ND. Tetapi titer antibodi yang diperoleh dari hasil vaksinasi sangat tergantung pada beberapa faktor antara lain : Respon ayam, cara dan jadwal vaksinasi, type virus dari vaksin yang digunakan, jenis vaksin, ada / tidaknya penyakit lain yang menghalangi pembentukan zat kebal dan potensi dari vaksin.

Salah satu syarat yang harus diindahkan oleh para peternak untuk memperoleh kekebalan yang cukup bagi ayam-ayamnya adalah jaminan potensi vaksin yang digunakan harus memenuhi standard optimal vaksin ND. Mutu vaksin hidup (aktif) strain Komarov ditentukan oleh kandungan virus dalam vial, level antibodi yang timbul setelah vaksinasi dan kemampuan untuk melindungi ayam dari serangan virus ND virulen.

Kandungan virus ND dalam vial diuji dengan melakukan penanaman pada telur ayam bertunas umur 9 - 10 hari. Kemudian dilakukan pemeriksaan terhadap embrio yang hidup dan mati. Penghitungan kandungan virus dilakukan dengan memakai metoda Reed and Muench. Dari 10 vaksin yang diuji ternyata hanya 4 vaksin yang memenuhi standard optimal potensi vaksin ND.

Antibodi yang ditimbulkan setelah vaksinasi diuji dengan uji HI microtiter. Pemeriksaan antibodi dilakukan

TABEL 1.

KANDUNGAN VIRUS ( VIRUS CONTENT ) DARI VAKSIN ND STRAIN  
MESOGEMIK ( KOMAROV ) YANG DIAMBIL DARI POULTRY " A "

Pengenceran	Hasil individu		Hasil kumulatif		Prosentase
	Hidup	Mati	Hidup	Mati	
$10^{-5}$	0	5	0	9	100
$10^{-6}$	2	3	2	4	66
$10^{-7}$	4	6	1	1	14,28
$10^{-8}$	5	0	11	0	0
$10^{-9}$	5	0	16	0	0

$$\begin{aligned}
 PD &= \frac{\% \text{ kematian tepat diatas } 50\% - 50\%}{\% \text{ kematian tepat diatas } 50\% - \% \text{ kematian dibawah } 50\%} \\
 &= \frac{66 - 50}{66 - 14,28} = 0,30
 \end{aligned}$$

Pengenceran 50% endpoint =  $10^{-6,30}$

Kandungan virus ND strain Komarov dalam 0,1 ml =  $10^{6,30} \text{ ELD}_{50}$

Jadi kandungan virus perdosisnya adalah  $10^{5,30} \text{ ELD}_{50}$ .

TABEL 2.

KANDUNGAN VIRUS ( VIRUS CONTENT ) DARI VAKSIN ND STRAIN  
MESOGENIK ( KOMAROV ) YANG DIAMBIL DARI POULTRY " B "

Pengenceran	Hasil individu		Hasil kumulatif		Prosentase
	Hidup	Mati	Hidup	Mati	
$10^{-5}$	0	5	0	12	100
$10^{-6}$	1	4	1	7	87,50
$10^{-7}$	3	2	4	3	42,85
$10^{-8}$	4	1	8	1	11,11
$10^{-9}$	5	0	13	0	0

$$\begin{aligned}
 PD &= \frac{\% \text{ kematian tepat diatas } 50\% - 50\%}{\% \text{ kematian tepat diatas } 50\% - \% \text{ kematian dibawah } 50\%} \\
 &= \frac{87,50 - 50}{87,50 - 42,85} = 0,83
 \end{aligned}$$

Pengenceran 50% endpoint =  $10^{-6,83}$

Kandungan virus ND strain Komarov per 0,1 ml =  $10^{6,83} \text{ ELD}_{50}$ .

Jadi kandungan virus per dosisnya adalah  $10^{5,83} \text{ ELD}_{50}$ .

TABEL 4.

KANDUNGAN VIRUS ( VIRUS CONTENT ) DARI VAKSIN ND STRAIN  
MESOGENIK ( KOMAROV ) YANG DIAMBIL DARI POULTRY " D "

Pengenceran	Hasil individu		Hasil kumulatif		Prosentase
	Hidup	Mati	Hidup	Mati	
$10^{-5}$	0	5	0	10	100
$10^{-6}$	2	3	2	5	71,4
$10^{-7}$	4	1	6	2	25
$10^{-8}$	4	1	10	1	9,09
$10^{-9}$	5	0	15	0	0

$$PD = \frac{\% \text{ kematian tepat diatas } 50\% - 50\%}{\% \text{ kematian tepat diatas } 50\% - \% \text{ kematian dibawah } 50\%}$$

$$= \frac{71,4 - 50}{71,4 - 25} = 0,46$$

$$\text{Pengenceran } 50\% \text{ endpoint} = 10^{-6,46}$$

$$\text{Kandungan virus ND strain Komarov per } 0,1 \text{ ml} = 10^{6,46} \text{ ELD}_{50}$$

$$\text{Jadi kandungan virus ND per dosisnya adalah } 10^{5,46} \text{ ELD}_{50}$$

TABEL 5.

KANDUNGAN VIRUS ( VIRUS CONTENT ) DARI VAKSIN ND STRAIN  
MESOGENIK ( KOMAROV ) YANG DIAMBIL DARI POULTRY " E "

Pengenceran	Hasil individu		Hasil kumulatif		Prosentase
	Hidup	Mati	Hidup	Mati	
$10^{-5}$	0	5	0	11	100
$10^{-6}$	2	3	2	6	75
$10^{-7}$	3	2	5	3	37,5
$10^{-8}$	4	1	9	1	10
$10^{-9}$	5	0	14	0	0

$$PD = \frac{\% \text{ kematian tepat diatas } 50\% - 50\%}{\% \text{ kematian tepat diatas } 50\% - \% \text{ kematian dibawah } 50\%}$$

$$= \frac{75 - 50}{75 - 37,5} = 0,66$$

Pengenceran 50% endpoint =  $10^{-6,66}$

Kandungan virus ND strain Komarov per 0,1 ml =  $10^{6,66} \text{ ELD}_{50}$ .

Jadi kandungan virus ND per dosisnya adalah  $10^{5,66} \text{ ELD}_{50}$ .

TABEL 6.

KANDUNGAN VIRUS ( VIRUS CONTENT ) DARI VAKSIN ND STRAIN  
MESOGENIK ( KOMAROV ) YANG DIAMBIL DARI POULTRY " F "

Pengenceran	Hasil individu		Hasil kumulatif		Prosentase
	Hidup	Mati	Hidup	Mati	
$10^{-5}$	1	4	1	9	90
$10^{-6}$	3	2	4	5	55,55
$10^{-7}$	4	1	8	3	27,27
$10^{-8}$	4	1	12	2	14,28
$10^{-9}$	4	1	16	1	6,25

$$PD = \frac{\% \text{ kematian tepat diatas } 50\% - 50\%}{\% \text{ kematian tepat diatas } 50\% - \% \text{ kematian dibawah } 50\%}$$

$$= \frac{55,55 - 50}{55,55 - 27,27} = 0,19$$

$$\text{Pengenceran } 50\% \text{ endpoint} = 10^{-6,19}$$

$$\text{Kandungan virus ND strain Komarov per } 0,1 \text{ ml} = 10^{6,19} \text{ ELD}_{50}$$

$$\text{Jadi kandungan virus ND per dosisnya adalah } 10^{5,19} \text{ ELD}_{50}$$



TABEL 7.

KANDUNGAN VIRUS ( VIRUS CONTENT ) DARI VAKSIN ND STRAIN  
MESOGENIK ( KOMAROV ) YANG DIAMBIL DARI POULTRY " G "

Pengenceran	Hasil individu		Hasil kumulatif		Prosentase
	Hidup	Mati	Hidup	Mati	
$10^{-5}$	1	4	1	7	87,5
$10^{-6}$	3	2	4	3	42,85
$10^{-7}$	4	1	8	1	11,11
$10^{-8}$	5	0	13	0	0
$10^{-9}$	5	0	18	0	0

$$PD = \frac{\% \text{ kematian tepat diatas } 50\% - 50\%}{\% \text{ kematian tepat diatas } 50\% - \% \text{ kematian dibawah } 50\%}$$

$$= \frac{87,5 - 50}{87,5 - 42,85} = 0,83$$

Pengenceran 50% endpoint =  $10^{-5,83}$

Kandungan virus ND strain Komarov per 0,1 ml =  $10^{5,83} \text{ELD}_{50}$ .

Jadi kandungan virus ND per dosisnya adalah  $10^{4,83} \text{ELD}_{50}$ .

TABEL 8.

KANDUNGAN VIRUS ( VIRUS CONTENT ) DARI VAKSIN ND STRAIN  
MESOGENIK ( KOMAROV ) YANG DIAMBIL DARI POULTRY " H "

Pengenceran	Hasil individu		Hasil kumulatif		Prosentase
	Hidup	Mati	Hidup	Mati	
$10^{-5}$	1	4	1	9	90
$10^{-6}$	2	3	3	5	62,5
$10^{-7}$	4	1	7	2	22,22
$10^{-8}$	4	1	11	1	8,33
$10^{-9}$	5	0	16	0	0

$$\begin{aligned}
 PD &= \frac{\% \text{ kematian tepat diatas } 50\% - 50\%}{\% \text{ kematian tepat diatas } 50\% - \% \text{ kematian dibawah } 50\%} \\
 &= \frac{62,5 - 50}{62,5 - 22,22} = 0,31
 \end{aligned}$$

Pengenceran 50% endpoint =  $10^{-6,31}$

Kandungan virus ND strain Komarov per 0,1 ml =  $10^{6,31} \text{ELD}_{50}$ .

Jadi kandungan virus ND perdosinya adalah  $10^{5,31} \text{ELD}_{50}$ .

TABEL 9.

KANDUNGAN VIRUS ( VIRUS CONTENT ) DARI VAKSIN ND STRAIN  
MESOGENIK ( KOMAROV ) YANG DIAMBIL DARI POULTRY " I "

Pengenceran	Hasil individu		Hasil kumulatif		Prosentase
	Hidup	Mati	Hidup	Mati	
$10^{-5}$	0	5	0	11	100
$10^{-6}$	1	4	1	6	85,71
$10^{-7}$	3	2	4	2	33,33
$10^{-8}$	5	0	9	0	0
$10^{-9}$	5	0	14	0	0

$$PD = \frac{\% \text{ kematian tepat diatas } 50\% - 50\%}{\% \text{ kematian tepat diatas } 50\% - \% \text{ kematian dibawah } 50\%}$$

$$= \frac{85,71 - 50}{85,71 - 33,33} = 0,68$$

Pengenceran 50% endpoint =  $10^{-6,68}$

Kandungan virus ND strain Komarov per 0,1 ml =  $10^{6,68} \text{ELD}_{50}$ .

Jadi kandungan virus ND per dosisnya adalah  $10^{5,68} \text{ELD}_{50}$ .

TABEL 10.

KANDUNGAN VIRUS ( VIRUS CONTENT ) DARI VAKSIN ND STRAIN  
MESOGENIK ( KOMAROV ) YANG DIAMBIL DARI POULTRY " J "

Pengenceran	Hasil individu		Hasil kumulatif		Prosentase
	Hidup	Mati	Hidup	Mati	
$10^{-5}$	0	5	0	13	100
$10^{-6}$	1	4	1	8	88,88
$10^{-7}$	2	3	3	4	57,14
$10^{-8}$	4	1	7	1	12,5
$10^{-9}$	5	0	12	0	0

$$PD = \frac{\% \text{ kematian tepat diatas } 50\% - 50\%}{\% \text{ kematian tepat diatas } 50\% - \% \text{ kematian dibawah } 50\%}$$

$$= \frac{57,14 - 50}{57,14 - 12,5} = 0,16$$

$$\text{Pengenceran } 50\% \text{ endpoint} = 10^{-7,16}$$

$$\text{Kandungan virus ND strain Komarov per } 0,1 \text{ ml} = 10^{7,16} \text{ ELD}_{50}$$

$$\text{Jadi kandungan virus ND per dosisnya adalah} = 10^{6,16} \text{ ELD}_{50}$$

TABEL 11.

TITER ANTIBODI SEBELUM VAKSINASI PADA ANAK AYAM UMUR 10 HARI

Kelompok	Titer HI $\log_2$	Frekuensi	GMT $\log_2$
I	3	6	3,4
	4	4	
II	3	2	4,0
	4	6	
	5	2	
III	3	8	3,2
	4	2	
IV	3	9	3,1
	4	1	
V	3	5	3,6
	4	4	
	5	1	
VI	3	3	3,7
	4	7	
VII	3	7	3,4
	4	2	
	5	1	
VIII	3	8	3,33
	4	1	
	5	1	
IX	3	5	3,5
	4	5	

lanjutan.

Kelompok	Titer HI $\log_2$	Frekuensi	GMT $\log_2$
X	3	3	3,8
	4	6	
	5	1	
Kontrol	3	6	3,6
	4	2	
	5	2	

TABEL 12.

## TITER ANTIBODI SEBELUM VAKSINASI PADA ANAK AYAM UMUR 20 HARI

Kelompok	Titer HI $\log_2$	Frekuensi	GMT $\log_2$
I	0	7	0,9
	3	3	
II	0	5	1,6
	3	4	
	4	1	
III	0	6	1,2
	3	4	
IV	0	9	0,3
	3	1	
V	0	5	1,5
	3	5	
VI	0	7	1,0
	3	2	
	4	1	
VII	0	8	0,6
	3	2	
VIII	0	10	0,0
IX	0	6	1,2
	3	4	

Lanjutan.

Kelompok	Titer HI $\log_2$	Frekuensi	GMT $\log_2$
X	0	6	
	3	3	1,3
	4	1	
Kontrol	0	5	
	3	4	1,6
	4	1	



TABEL 13.

## TITER ANTIBODI SATU MINGGU SETELAH VAKSINASI

Kelompok	Titer HI $\log_2$	Frekuensi	GMT $\log_2$
I	0	4	2,5 Divaksin dengan vaksin ND strain Komarov yang diambil dari Poultry A
	3	2	
	4	2	
	5	1	
	6	1	
II	3	1	4,3 Divaksin dengan vaksin ND strain Komarov yang diambil dari Poultry B
	4	6	
	5	2	
	6	1	
III	0	2	2,8 Divaksin dengan vaksin ND strain Komarov yang diambil dari Poultry C
	3	5	
	4	2	
	5	1	
IV	0	3	2,8 Divaksin dengan vaksin ND strain Komarov yang diambil dari Poultry D
	3	3	
	4	2	
	5	1	
	6	1	
V	3	3	4,4 Divaksin dengan vaksin ND strain Komarov yang diambil dari Poultry E
	4	2	
	5	3	
	6	1	
VI	0	2	2,7 Divaksin dengan vaksin
	3	6	

Lanjutan tabel 13.

Kelompok	Titer HI $\log_2$	Frekuensi	GMT $\log_2$
	4	1	ND strain Komarov yang diambil dari Poultry F
	5	1	
VII	0	5	1,6
	3	4	Divaksin dengan vaksin
	4	1	ND strain Komarov yang diambil dari Poultry G
VIII	0	1	3,2
	3	6	Divaksin dengan vaksin
	4	1	ND strain Komarov yang
	5	2	diambil dari Poultry H
IX	3	4	3,9
	4	4	Divaksin dengan vaksin
	5	1	ND strain Komarov yang
	6	1	diambil dari Poultry I
X	3	3	4,4
	4	2	Divaksin dengan vaksin
	5	3	ND strain Komarov yang
	6	2	diambil dari Poultry J
XI	0	7	0,9
	3	3	Kontrol

TABEL 14.

## TITER ANTIBODI DUA MINGGU SETELAH VAKSINASI

Kelompok	Titer HI $\log_2$	Frekuensi	GMT $\log_2$
I	3	2	4,0
	4	2	Divaksin dengan vaksin
	5	5	ND strain Komarov yang
	6	1	diambil dari Poultry A
II	4	4	5,0
	5	2	Divaksin dengan vaksin
	6	4	ND strain Komarov yang diambil dari Poultry B
III	3	2	4,5
	4	2	Divaksin dengan vaksin
	5	5	ND strain Komarov yang
	6	1	diambil dari Poultry C
IV	3	5	4,1
	4	1	Divaksin dengan vaksin
	5	2	ND strain Komarov yang
	6	2	diambil dari Poultry D
V	4	3	5,0
	5	4	Divaksin dengan vaksin
	6	3	ND strain Komarov yang diambil dari Poultry E
VI	3	4	4,2
	4	1	Divaksin dengan vaksin
	5	4	ND strain Komarov yang
	6	1	diambil dari Poultry F

Lanjutan tabel 14.

Kelompok	Titer HI log <sub>2</sub>	Frekuensi	GMT log <sub>2</sub>
VII	3	4	3,7
	4	5	Divaksin dengan vaksin
	5	1	ND strain Komarov yang diambil dari Poultry G
VIII	3	5	3,8
	4	3	Divaksin dengan vaksin
	5	1	ND strain Komarov yang
	6	1	diambil dari Poultry H
IX	3	2	4,6
	4	3	Divaksin dengan vaksin
	5	2	ND strain Komarov yang
	6	3	diambil dari Poultry I
X	4	3	5,1
	5	4	Divaksin dengan vaksin
	6	2	ND strain Komarov yang
	7	1	diambil dari Poultry J
XI	0	10	0,0 Kontrol

TABEL 15.

## TITER ANTIBODI TIGA MINGGU SETELAH VAKSINASI

Kelompok	Titer HI $\log_2$	Frekuensi	GMT $\log_2$
I	4	4	4,8
	5	4	Divaksin dengan vaksin
	6	2	ND strain Komarov yang diambil dari Poultry A
II	5	2	6,1
	6	5	Divaksin dengan vaksin
	7	3	ND strain Komarov yang diambil dari Poultry B
III	4	3	4,8
	5	6	Divaksin dengan vaksin
	6	1	ND strain Komarov yang diambil dari Poultry C
IV	4	3	5,0
	5	4	Divaksin dengan vaksin
	6	3	ND strain Komarov yang diambil dari Poultry D
V	4	1	5,5
	5	4	Divaksin dengan vaksin
	6	6	ND strain Komarov yang diambil dari Poultry E
VI	3	1	4,4
	4	5	Divaksin dengan vaksin
	5	3	ND strain Komarov yang
	6	1	diambil dari Poultry F

Lanjutan tabel 15.

Kelompok	Titer HI $\log_2$	Frekuensi	GMT $\log_2$
VII	3	2	4,2
	4	4	Divaksin dengan vaksin
	5	4	ND strain Komarov yang diambil dari Poultry G
VIII	3	3	4,8
	4	2	Divaksin dengan vaksin
	5	3	ND strain Komarov yang
	6	2	diambil dari Poultry H
IX	4	2	5,3
	5	3	Divaksin dengan vaksin
	6	5	ND strain Komarov yang diambil dari Poultry I
X	6	6	6,5
	7	3	Divaksin dengan vaksin
	8	1	ND strain Komarov yang diambil dari Poultry J
XI	0	10	0,0 Kontrol

TABEL 16.

HUBUNGAN LEVEL ANTIBODI DENGAN HASIL TANTANGAN VIRUS ND  
VIRULEN SETELAH 21 HARI VAKSINASI

Kelompok	Titer HI log <sub>2</sub>	Frekuensi	GMT log <sub>2</sub>	Mati	Hidup	% ke- matian
I	4	4	4,8	8	2	80
	5	4				
	6	2				
II	5	2	6,1	2	8	20
	6	5				
	7	3				
III	4	3	4,8	10	0	100
	5	6				
	6	1				
VI	3	1	4,4	8	2	80
	4	5				
	5	3				
	6	1				
V	4	1	5,5	4	6	40
	5	4				
	6	6				
IV	4	3	5,0	7	3	70
	5	4				
	6	3				
VII	3	2	4,2	10	0	100
	4	4				
	5	4				

Lanjutan tabel 16.

Kelompok	Titer HI $\log_2$	Frekuensi	GMT $\log_2$	Mati	Hidup	% kema- tian
VIII	3	3	4,8	8	2	80
	4	2				
	5	3				
	6	2				
IX	4	2	5,3	5	5	50
	5	3				
	6	5				
X	6	6	6,5	0	10	0
	7	3				
	8	1				
XI	0	10	0,0	10	0	100



TABEL 17.

## TITER ANTIBODI DUA MINGGU SETELAH TANTANGAN

Kelompok	Titer HI $\log_2$	Frekuensi	GMT $\log_2$
I	7	1	7,5
	8	1	
II	8	4	8,75
	9	2	
	10	2	
III	0	0	0
IV	7	2	7,33
	8	1	
V	8	4	8,33
	9	2	
VI	8	2	8,0
VII	0	0	0
VIII	8	1	8,5
	9	1	
IX	8	2	8,8
	9	2	
	10	1	
X	9	3	10,2
	10	3	
	11	3	
	12	1	
XI	0	0	0

## DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, D.J and Allan, W.H. 1973. Newcastle Disease The Natural of Virus Strain. Bull. Off. Int. Epiz. 79 ( 1-2 ) p. 15 - 26.
- Allan, W.H and Gough, R.E. 1974. Standard Hemagglutination Inhibition Test for Newcastle Disease Vaccination and Challenge. Vet. Rec. 95. p. 147 - 149.
- Allan, W.H, J.E. Lancaster and B. Toth. 1978. The Production and Use of Newcastle Disease Vaccine. FAO of United Nation. Rome. Italy.
- Anonimous. 1978. Standard HI Test Terhadap ND. Hasil Lokakarya Laboratorium Kesehatan Hewan II. Di Lawang Malang 23 - 30 Juni 1978. p. 28 - 33.
- Anonimous. 1979. Cara Produksi dan Pengujian Vaksin Newcastle Disease. Pusat Veterinaria Farma. Surabaya.
- Anonimous. 1980. Pedoman Pengendalian Penyakit Hewan Menular. Direktorat Jendral Peternakan. Jakarta.
- Beard, C.W and M. Brugh. 1975. Immunity to Newcastle Disease. Am. J. Vet. Res. 36 ( 4 ). p. 509 - 512.
- Benson, H.N., D.R Wanger and P.D Beard. 1975. Efficacy of Commercial Newcastle Disease Vaccine Against Velogenic Viscerotropic Newcastle Disease Virus. Avian Disease. 19 ( 3 ). p. 566 - 571.
- Burnet, F.M. 1960. Principle of Animal Virology 2<sup>nd</sup> Ed. Academic Press. New York and London. p. 110 - 115.

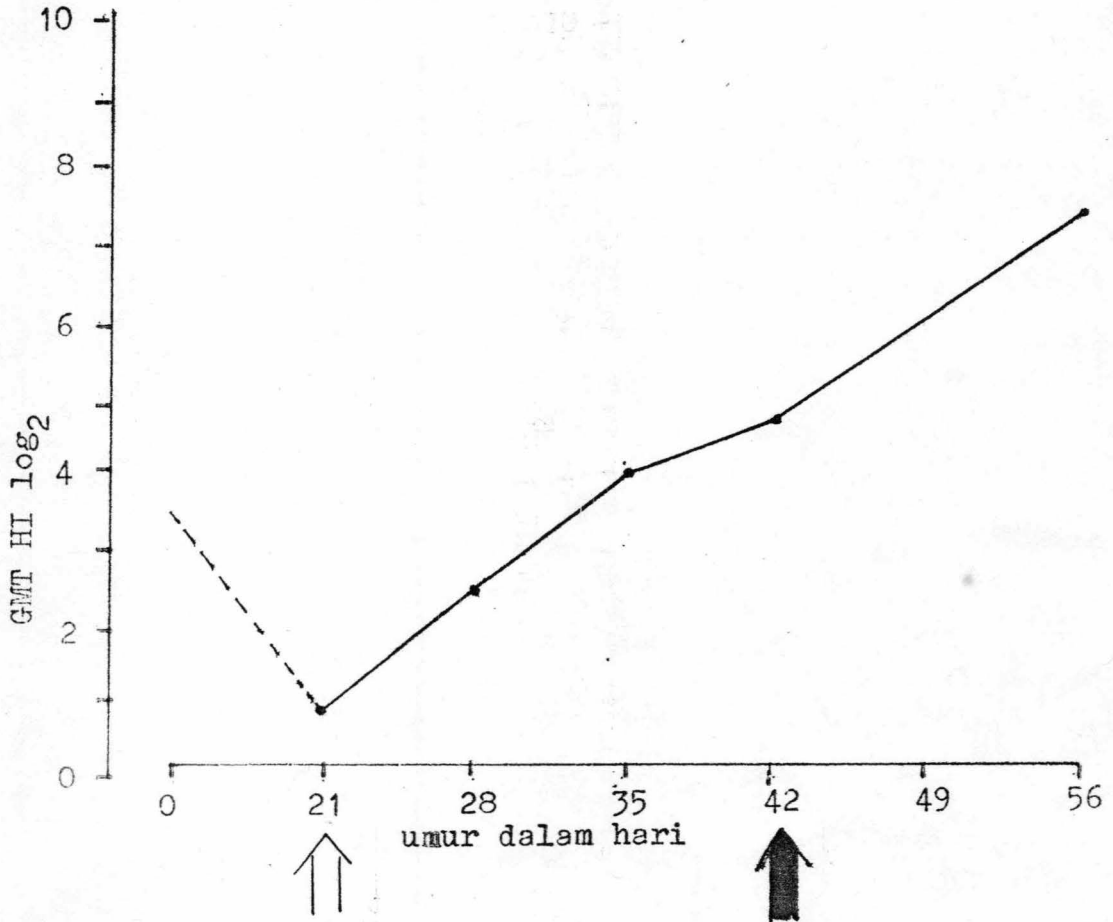
- Christopher, A. 1964. Viruses of Vertebrates. Baltimore the William and Wilkins Company. p. 116 - 119.
- Cunningham, C.H. 1964. A Laboratory Guide in Virology, 5<sup>th</sup> Ed. Burgess Publishing Company. p. 25 - 33.
- Dorsey, W.B and J.H Gillespie. 1973. Hagan's Infectious Disease of Domestic Animal, 6<sup>th</sup> Ed. Cornell University Press, Ithaca and London. p. 1063 - 1071.
- Ernawati, R and A.L Ibrahim. 1984. Newcastle Disease Vaccination in Malaysia. Application of Oil Emulsion Vaccine. Vet. Rec. 115. p. 352 - 354.
- Gordon, R.F. 1979. Poultry Disease. The English Language Book Society and Bailliere Tindall, London. p. 81 - 95.
- Hanson, R.P. 1972. Newcastle Disease. In Disease of Poultry. Iowa State University Press Ames. p. 169-656.
- Hutchison, H.L. 1975. The Control and Eradication of Newcastle Disease In Northern Ireland Vet. Rec. 96. p. 213 - 217.
- Khare, M.L., S. Kumar and J. Grun. 1976. Immunoglobulin of the Chicken Antibody to Newcastle Disease Virus ( Mukteswar and F strain ). Poult. Sci. 55. p. 127-159.
- Merchand and Packer. 1971. Veterinary Bacteriology and Virology, 7<sup>th</sup> Ed. Iowa State University Press. p. 670-674.

- Morley, A.J. 1958. Poultry Husbandry, 3<sup>th</sup> Ed. Tata Mc Graw Hill Publishing Company Ltd. Bombay New Delhi. p. 382 - 387.
- Peterson, E.H. 1978. Servicemen's Poultry Health Hand Book. Better Poultry Health Company, Fayetteville Arkansas USA. p. 83 - 88.
- Petrak, M.L. 1969. Disease of Cage and Aviary Birds. Lea and Febriger Philadelphia. p. 8 - 17.
- Ressang, A.A. 1984. Pathologi Khusus Veteriner.
- Ronohardjo, P. 1972. Tentang Kekebalan Bawaan Terhadap Penyakit Newcastle. Bull. LPPH III/I-II ( 3-4 ). hal. 31 - 38.
- Ronohardjo, P. 1974. Pengaruh Infeksi Virus Newcastle suku lapangan yang Virulen pada anak-anak ayam yang mempunyai kekebalan bawaan. Bull. LPPH, Bogor 6-7. hal. 49 - 61.
- Ronohardjo, P., S.P.J. Simandjuntak dan B.P.A Radjagukguk. 1977. Vaksinasi Penyakit Newcastle pada ayam menjelang bertelur dengan memakai kombinasi vaksin suku F dan Komarov. Bull. LPPH, Bogor 13. hal. 30 - 37.
- Ronohardjo, P., S.P.J. Simandjuntak dan B.P.A Radjagukguk. 1978. Pengujian potensi Vaksin Newcastle ( ND ) yang beredar di pasaran. Bull. LPPH, Bogor 15. hal. 18 - 21.
- Ronohardjo, P. 1980. Beberapa masalah yang menyangkut pe -


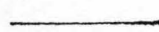
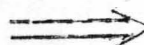

- ngendalian penyakit Tetelo ( ND ) di Indonesia. Se  
Penyakit Reproduksi dan Unggas, Tugu. 13 - 15 Maret.
- Siegmund, O.H. 1979 The Merck Veterinary Manual. A Hand  
Book of Diagnosis and Therapy for Veterinarian, 5<sup>th</sup>  
Ed. Merck and Co., Inc. Rahway, N.Y. U.S.A. p. 1106 -  
1217.
- Simandjuntak, S.J dan P. Ronohardjo. 1980. Penantangan a-  
yam pedaging ( broiler ) dengan virus ND virulen i-  
solat lapangan pada ayam broiler yang sudah bebera-  
kali memperoleh vaksinasi. Seminar Penyakit Repro-  
duksi dan Unggas, Tugu, 13 - 15 Maret.
- Soeharsono dan K.A.P Santhia. 1984. Laporan Evaluasi Pilot  
Proyek Pemberantasan Newcastle Disease di Lombok.  
Direktorat Jendral Peternakan. Balai Penyidikan Pe-  
nyakit Hewan Wilayah VI Denpasar.
- Sofjan, S.D. 1980. Imunisasi Terhadap ND dengan Permasalah-  
annya. Ayam dan Telur. Hal. 17 - 19.
- Tizard, I.R. 1977. An Intruduction to Veterinary Immunolo-  
gy. Associated Profesor. Departement of Veterinary  
and Immunology, Ontorio Veterinary College Univer -  
sity of Guelph. Ontorio. Canada.
- Westbury, H.A., G. Parson and W.H Allan. 1984. Comparison  
of Immunogenicity of Newcastle Disease Virus Strain  
V<sub>4</sub>, Hitchner B<sub>1</sub> and Lasota in Chicken. Test in Chi-  
cken with Maternal Antibody to the Virus. Aus. Vet.  
J.61 ( 1 ). p. 10 - 13.

LAMPIRAN 1

GAMBARAN TITER ANTIBODI MATERNAL DAN TITER ANTIBODI SETELAH VAKSINASI DENGAN VAKSIN YANG DIAMBIL DARI POULTRY ' A '

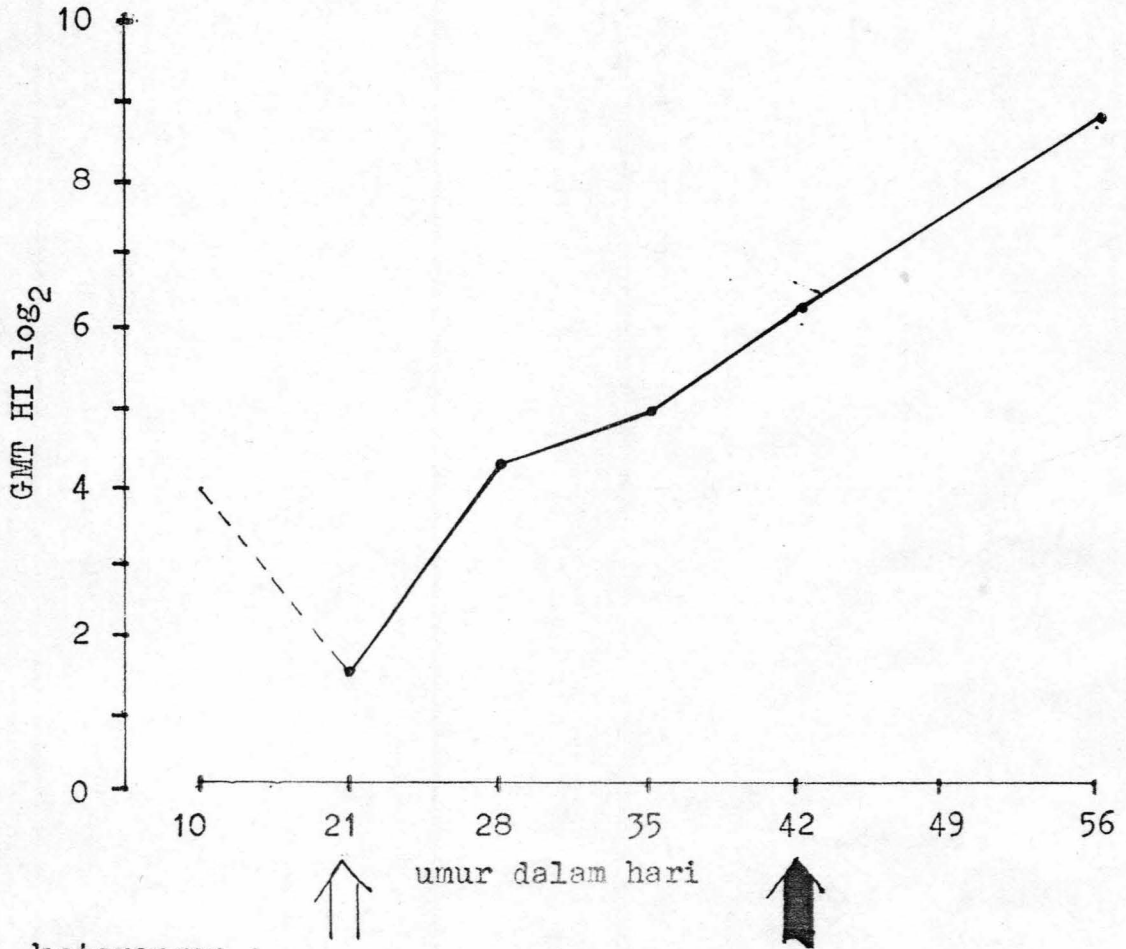


keterangan :

-  = titer antibodi maternal
-  = titer antibodi setelah vaksinasi
-  = vaksinasi
-  = challenge

LAMPIRAN 2

GAMBARAN TITER ANTIBODI MATERNAL DAN TITER ANTIBODI SETELAH VAKSINASI DENGAN VAKSIN YANG DIAMBIL DARI POULTRY ' B '

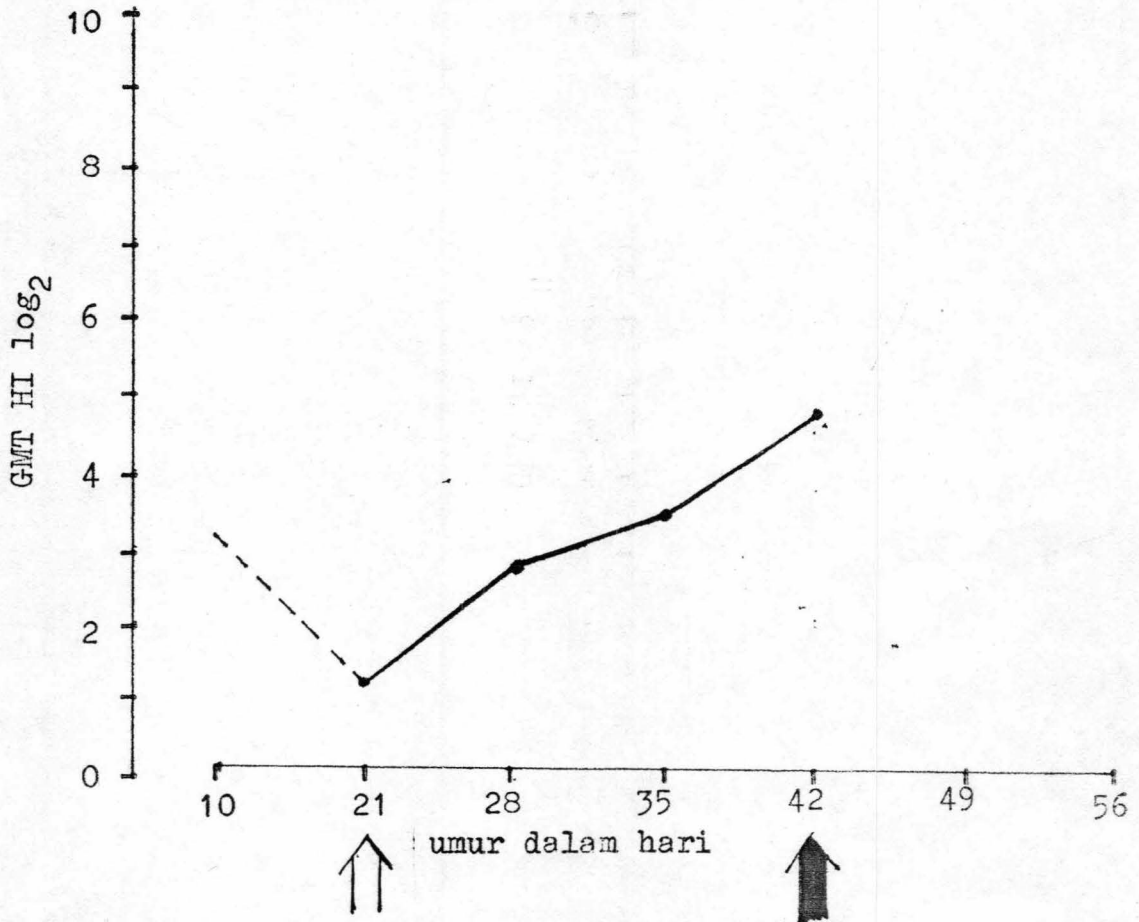


keterangan :

- = titer antibodi meternal
- = titer antibodi setelah vaksinasi
- ====> = vaksinasi
- > = challenge

LAMPIRAN 3

GAMBARAN TITER ANTIBODI MATERNAL DAN TITER ANTIBODI SETELAH VAKSINASI DENGAN VAKSIN YANG DIAMBIL DARI POULTRY ' C '



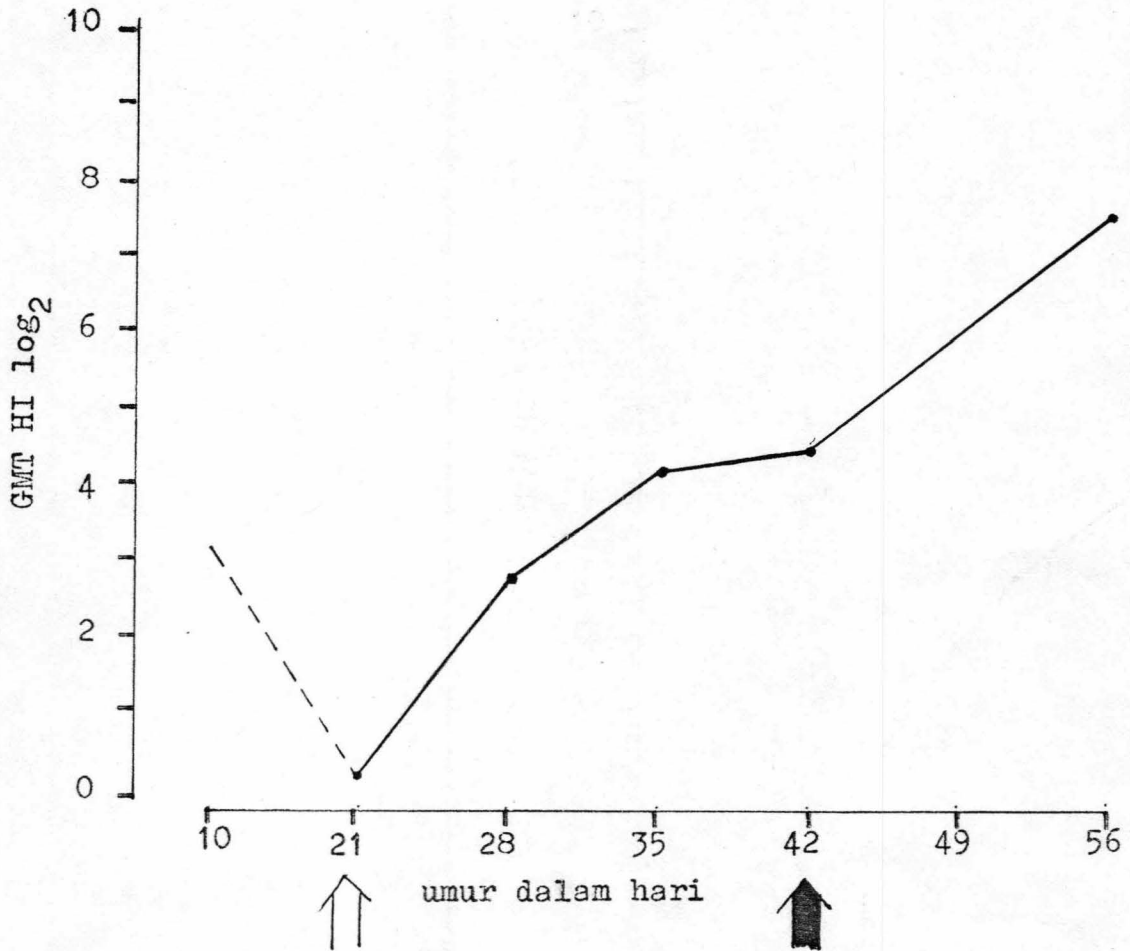
keterangan :

- = titer antibodi maternal
- = titer antibodi setelah vaksinasi
- ⇒ ⇒ ⇒ = vaksinasi
- ⇒ (thick) = challenge



LAMPIRAN 4

GAMBARAN TITER ANTIBODI MATERNAL DAN TITER ANTIBODI SETELAH VAKSINASI DENGAN VAKSIN YANG DIAMBIL DARI POULTRY ' D '



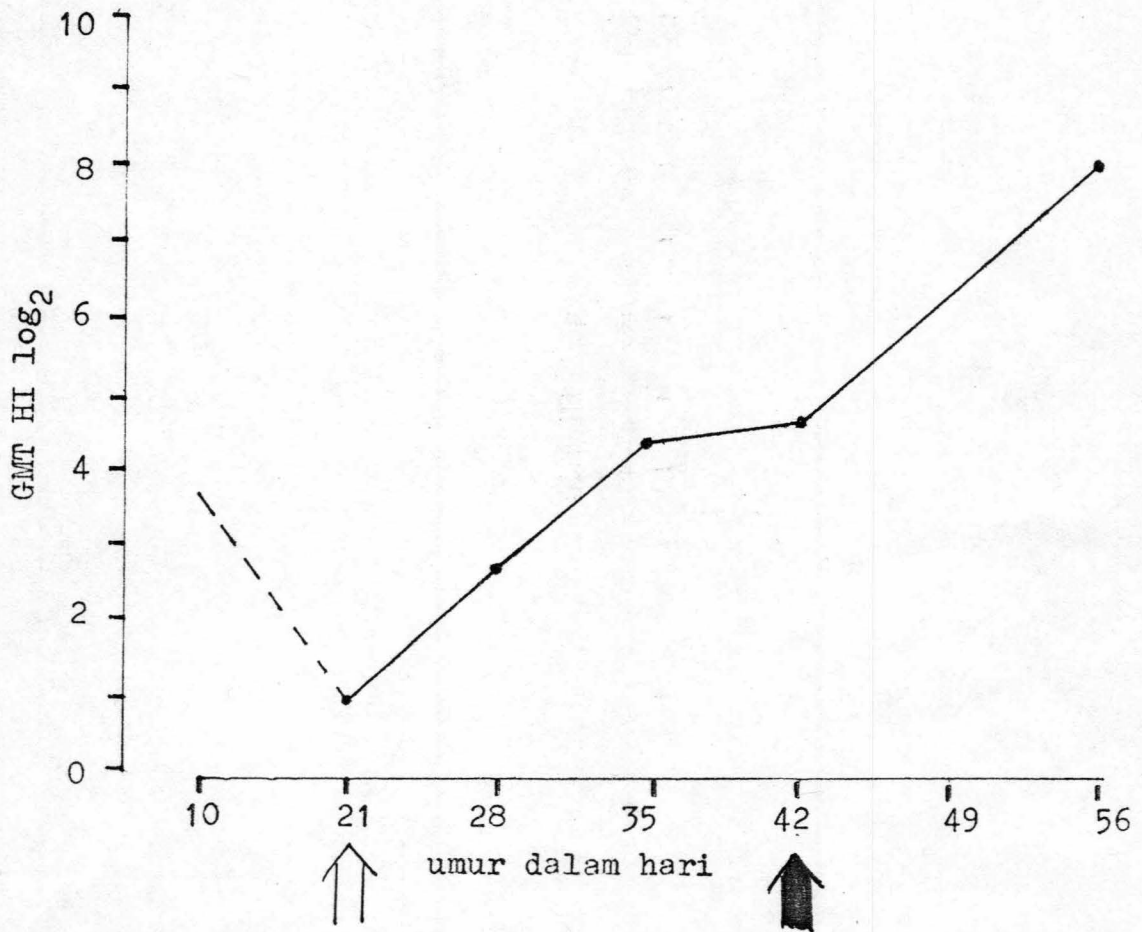
keterangan :

- = titer antibodi meternal
- = titer antibodi setelah vaksinasi
- ====> = vaksinasi
- ▬> = challenge



LAMPIRAN 6

GAMBARAN TITER ANTIBODI MATERNAL DAN TITER ANTIBODI SETELAH VAKSINASI DENGAN VAKSIN YANG DIAMBIL DARI POULTRY ' F '

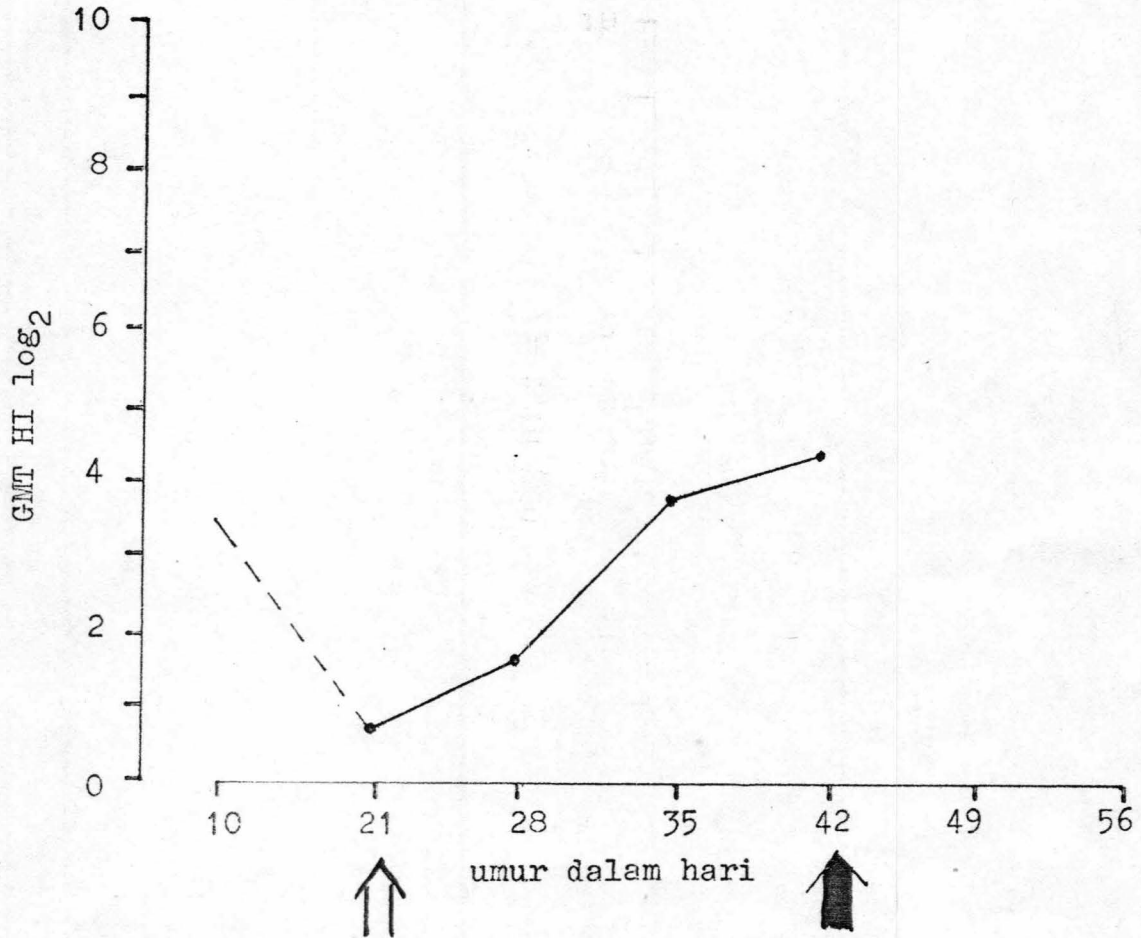


keterangan :

- = titer antibodi maternal
- = titer antibodi setelah vaksinasi
- ⇒ ⇒ ⇒ = vaksinasi
- ⇒ (thick) = challenge

LAMPIRAN 7

GAMBARAN TITER ANTIBODI MATERNAL DAN TITER ANTIBODI SETELAH VAKSINASI DENGAN VAKSIN YANG DIAMBIL DARI POULTRY ' G '

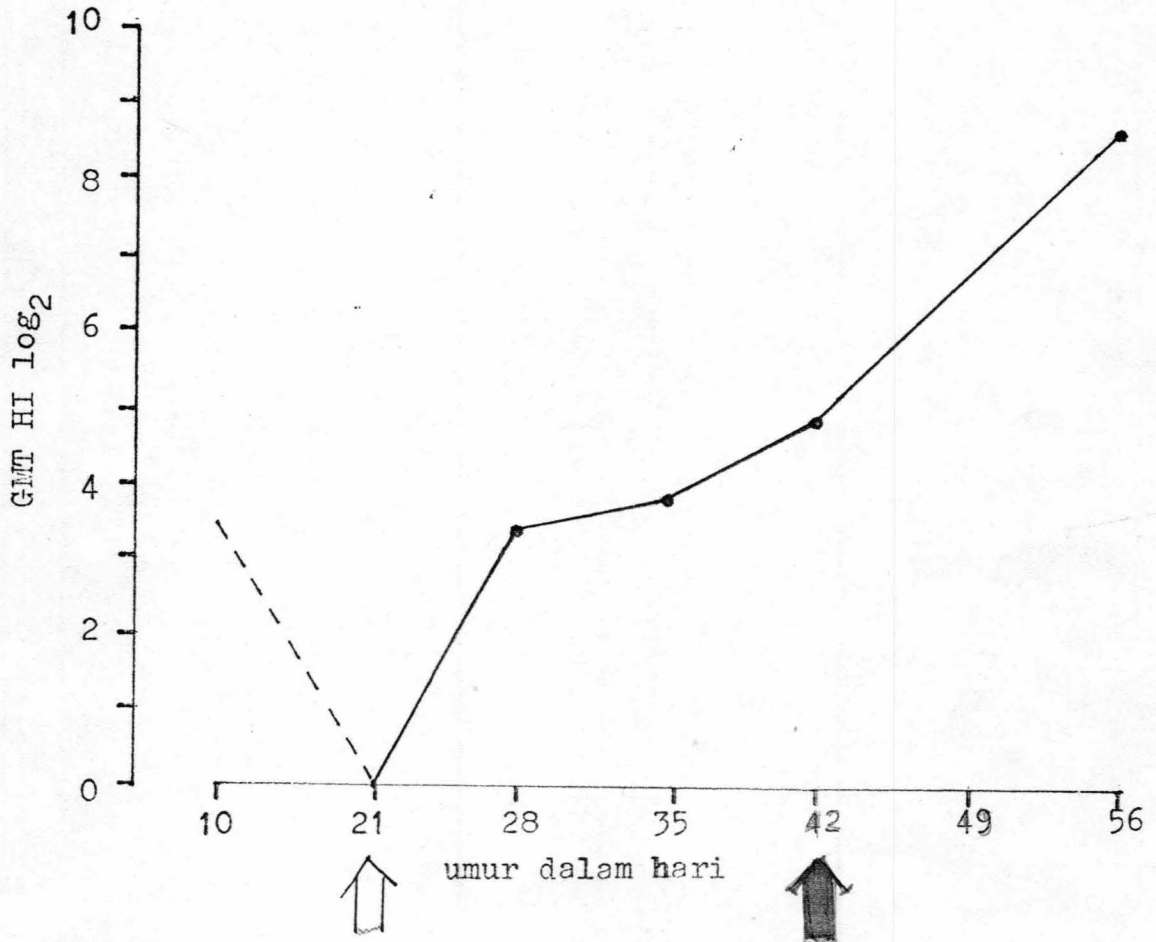


keterangan :

- = titer antibodi maternal
- ===== = titer antibodi setelah vaksinasi
- ====> = vaksinasi
- █> = challenge

LAMPIRAN 8

GAMBARAN TITER ANTIBODI MATERNAL DAN TITER ANTIBODI SETELAH VAKSINASI DENGAN VAKSIN YANG DIAMBIL DARI POULTRY ' H '

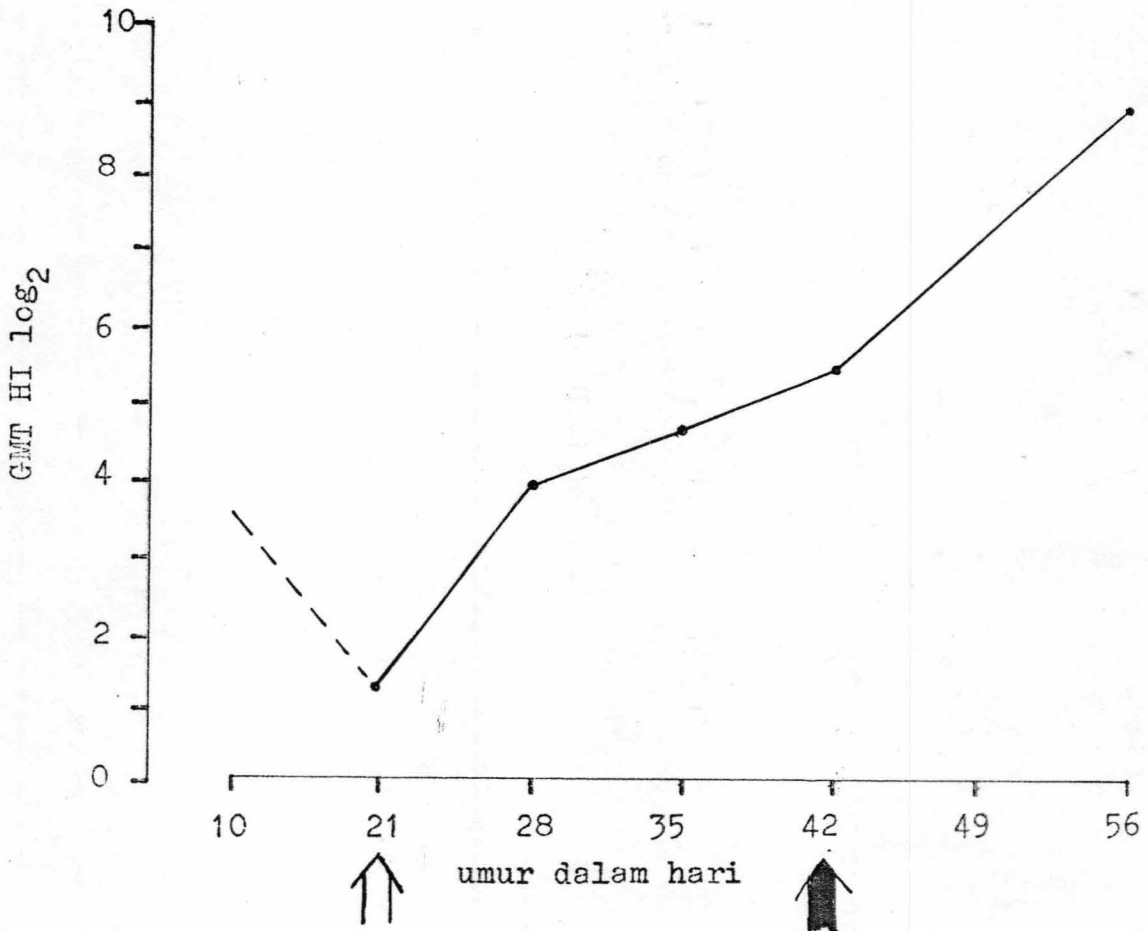


keterangan :

- = titer antibodi maternal
- = titer antibodi setelah vaksinasi
- = vaksinasi
- = challenge

LAMPIRAN 9

GAMBARAN TITER ANTIBODI MATERNAL DAN TITER ANTIBODI SETELAH VAKSINASI DENGAN VAKSIN YANG DIAMBIL DARI POULTRY ' I '



keterangan :

- = titer antibodi maternal
- = titer antibodi setelah vaksinasi
- ⇒ ⇒ ⇒ = vaksinasi
- ⇒ (thick) = challenge



## LAMPIRAN 11

## NUTRIENT AGAR

Formula :	' Lab - lemco ' powder ( Oxoid L 29 )	1	( g/l )
	Yeast extract ( Oxoid L 20 )	2	"
	Peptone ( Oxoid L 37	5	"
	Sodium chloride	5	"
	Agar no. 3 ( Oxoid L 13 )	15	"
	pH 7,4 ( approx )		

28 gram bubuk Nutrient Agar dilarutkan dalam 1 liter aquades steril kemudian dipanaskan dan diaduk hingga tercampur rata setelah itu sterilkan dalam autoclave pada suhu  $121^{\circ}$  selama 15 menit. Dituangkan Agar yang telah steril ke dalam petridis dan eramkan dalam inkubator selama 24 jam setelah itu baru media dapat dipergunakan.



## LAMPIRAN 12

## SABOUROD AGAR

Formula :	Mycological peptone	10	( g/l )
	Dextrose	40	"
	Agar No. 1 ( Oxoid L 11 )	15	"
	pH 5,6		

65 gram bubuk Sabourod Agar dilarutkan dalam 1 liter aquades steril kemudian dipanaskan dan diaduk hingga tercampur rata setelah itu sterilkan dalam autoclave pada suhu  $121^{\circ}$  selama 15 menit. Dituangkan Agar yang telah steril ke dalam petridis steril dan eramkan dalam inkubator selama 24 jam setelah itu baru media dapat dipergunakan.

## LAMPIRAN 13

## POSPHAT BUFFER SALIN ( PBS )

Formula :	Sodiumchlorida ( Na Cl )	0,800 gram
	Sodium Hidrophosphat ( Na HPO <sub>4</sub> )	0,115 gram
	Potasium chlorida ( KCl )	0,020 gram
	pH	7,2

Formula tersebut di atas dilarutkan dalam aquades sehingga volume akhir menjadi 100 ml. Kemudian larutan ini disterilkan dalam autoclave dengan tekanan 15 lb suhu 121°C selama 15 menit, kemudian didinginkan pada suhu kamar dan disimpan pada suhu 4°C sampai larutan ini dipakai.