

SKRIPSI :

FEDIK ABDUL RANTAM

**ADAPTASI VIRUS PMK 0 JAVA 83 PADA TISSUE
CULTURE SEL MONOLAYER BHK₂₁ CLONE₁₃**



**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1985**

ADAPTASI VIRUS PMK 0 JAVA 83 PADA TISSUE
CULTURE SEL MONOLAYER BHK₂₁ CLONE₁₃

SKRIPSI

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

Oleh :

FEDIK ABDUL RANTAM
LAMONGAN - JAWA TIMUR



(DRH. R. ERNAWATI, M.Sc.)

Pembimbing Utama



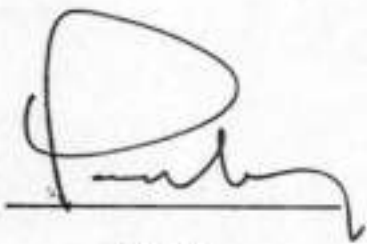
(DRH. A. WIRYONO)

Pembimbing ke dua

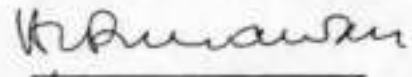
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh kami berpendapat bahwa tulisan ini baik scope maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar - DOKTER HEWAN.

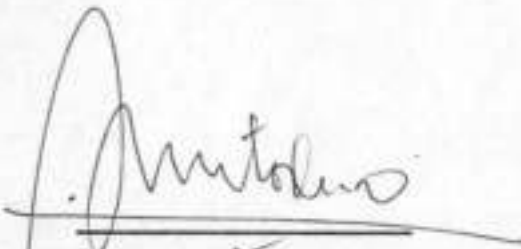
Panitia Penguji :



Ketus



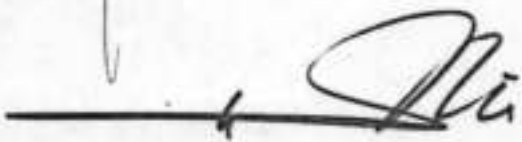
Sekreteris



Anggauta



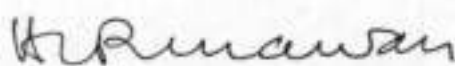
Anggauta



Anggauta



Anggauta



Anggauta

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, serta RahmadNya dan HidayahNya penulis dapat menyelesaikan skripsi. Skripsi ini dibuat sebagai salah satu tugas kurikuler guna memenuhi syarat untuk mendapatkan gelar Dokter Hewan pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada civitas academica Universitas Airlangga - pada umumnya dan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas - Airlangga pada khususnya. Penulis dapat mengenyam pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Bersama ini pula penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada :

1. Bapak Drh. Ahmad Mahjudin sebagai kepala Pusat Veterinaria Farma Surabaya, banyak memberikan saran dan bantuan fasilitas laboratorium hingga selesainya penelitian ini.
2. Bapak Drh. Hendar di sebagai Kepala Bidang Produksi vaksin Penyakit Mulut Kuku, Pusat Veterinaria Farma Surabaya.
3. Ibu Drh. Rahayu Ernawati M.Sc., sebagai Kepala Laboratorium Virologi dan Immunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang banyak memberikan bimbingan - dan pengarahan serta dorongan hingga terselesainya skripsi ini.

4. Bapak Drh. Agustinus Wiryono sebagai Kepala Sub Bidang Produksi Vaksin Laboratorium Penyakit Mulut Kuku Pusat Veterinaria Farma Surabaya, yang banyak memberikan bimbingan teknis dan pengarahan langsung dalam pelaksanaan penelitian.
5. Dra. Titin dosen FMIPA. ITS. Jurusan Statistik yang banyak membantu dalam penerapan statistik.
6. Staf dan Karyawan Laboratorium Penyakit Mulut Kuku Pusat Veterinaria Farma, yang banyak membantu kelancaran - kerja didalam pelaksanaan penelitian.
7. Semua pihak yang telah membantu penulis baik secara - langsung maupun tak langsung hingga dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.

Semoga yang telah disumbangkan kepada penulis, dalam penyusunan skripsi ini, dapat imbalan yang lebih berguna bagi Nusa dan Bangsa dari Tuhan Yang Maha Esa.

Penulis menyadari bahwa, skripsi ini jauh dari kesempurnaan, maka kritik dan saran yang membangun akan penulis perhatikan sebagai bekal dalam penyusunan nantinya.

Surabaya, Oktober 1985

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GRAFIK	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
1. Kejadian PMK	5
2. Kejadian PMK di Indonesia	6
3. Distribusi PMK	8
4. Klasifikasi virus	10
5. Bentuk, ukuran dan susunan virus..	11
6. Sifat-sifat virus	12
6.1. Sifat Fisik dan Kimiawi	12
6.2. Sifat biologis pada perbeni- nan jaringan	13
7. Isolasi virus	15
8. Kontrol PMK	16
9. Hubungan antara sifat-sifat virus, sejarah kejadian di Indonesia, kon- trol PMK dan tujuan penelitian ...	19
BAB III BAHAN DAN CARA	21
1. Bahan penelitian	21
2. Cara penelitian	24

	Halaman
BAB IV HASIL	32
1. Pengamatan pertumbuhan virus.....	33
2. Tingkat infeksi virus	35
3. Analisa data	33, 35
BAB V PEMBAHASAN	47
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	51
BAB VII RINGKASAN	53
DAFTAR KEPUSTAKAAN	55
LAMPIRAN	61

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rata-rata pertumbuhan virus dan tingkat infeksius virus (TC ID ₅₀ /0,1 ml.).....	32
2. Hasil pengamatan pertumbuhan virus	36
3. Hasil titer log. virus TC ID ₅₀ /0,1 ml.....	40

DAFTAR GRAFIK

Grafik	Halaman
1. Pertumbuhan virus PMK 0 Java 83 dan tingkat infeksius virus (TC $AD_{50}/0,1ml$).....	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar :	Halaman
1. Pertumbuhan sel monolayer BHK ₂₁ normal.....	45
2. Awal terbentuknya Cyto Pathogenic Effect (CPE).....	45
3. Bentuk Cyto Pathogenic Effect oleh virus PMK.....	46

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan titrasi virus TC $ID_{50}/0,1$ ml. pasasi pertama	61
2. Perhitungan titrasi virus TC $ID_{50}/0,1$ ml. pasasi kedua	63
3. Perhitungan titrasi virus TC $ID_{50}/0,1$ ml. pasasi ketiga	68
4. Perhitungan titrasi virus TC $ID_{50}/0,1$ ml. pasasi ke empat	73
5. Perhitungan titrasi virus TC $ID_{50}/0,1$ ml. pasasi ke lima	78
6. Perhitungan titrasi virus TC $ID_{50}/0,1$ ml. pasasi ke enam	83
7. Perhitungan titrasi virus TC $ID_{50}/0,1$ ml. pasasi ke tujuh	88
8. Perhitungan titrasi virus TC $ID_{50}/0,1$ ml. pasasi ke delapan	93
9. Perhitungan titrasi virus TC $ID_{50}/0,1$ ml. pasasi ke sembilan	98
10. Perhitungan titrasi virus TC $ID_{50}/0,1$ ml. pasasi ke sepuluh	103
11. Perhitungan analisa data pertumbuhan virus ..	108
12. Perhitungan analisa data tingkat infeksius virus TC $ID_{50}/0,1$ ml.	116

BAB I

P E N D A H U L U A N

Sebagai salah satu sumber protein asal hewani mempunyai peranan sangat penting didalam usaha peningkatan gizi masyarakat. Hal ini sesuai dengan cita-cita pemerintah Indonesia dalam meningkatkan standard kecukupan gizi masyarakat Indonesia.

Menurut laporan Menteri Muda Urusan Peningkatan Produksi Peternakan dan Perikanan, dalam Pelita IV standard minimum konsumsi protein rata-rata rakyat Indonesia 45 gram/kapita/hari, 10 gram/kapita/hari diantaranya protein asal hewani. Sementara itu dari 10 gram/kapita/hari masing-masing 6 gram/kapita/hari dari ikan dan 4 gram/kapita/hari dari ternak, sedang dalam tahun 1983 protein asal hewani baru mencapai 2,34 gram/kapita/hari (58,5%) dari ternak dan 3,43 gram/kapita/hari (57,16%) dari ikan. (Hutasoit, 1984).

Untuk menjawab tantangan tersebut maka perlu ditingkatkan produksi protein asal hewani, salah satu cara yaitu dengan menanggulangi dari berbagai penyakit hewan diantaranya adalah Penyakit Mulut Kuku.

Penyakit Mulut Kuku (PMK) adalah suatu penyakit menular yang menyerang hewan berkuku genap seperti sapi kerbau, babi, kambing, domba dan lain-lain (Hyattsville, 1980, Pereira, 1980). Sementara itu menurut Ressang, (1984) bahwa di negara Indonesia ini Penyakit Mulut -

Kuku adalah merupakan suatu penyakit yang menyangkut perekonomian Nasional, karena akibat timbulnya Penyakit Mulut Kuku menyebabkan kerugian ekonomi yang sangat besar. Hal ini bukan karena membunuh banyak hewan (James dan Ellis, 1978), melainkan karena penyakit ini menyebabkan hewan menjadi kurus dan produksi susunya turun atau hilang selama jangka waktu yang panjang (Mowat, 1978, Richard, 1978, Osmon Bin Din, 1982).

Menurut Henderson (1978) bahwa Penyakit Mulut Kuku akan mempengaruhi aspek ekonomi negara sehingga secara tidak langsung penyakit ini akan mengundang para ahli mikrobiologi untuk memikirkan masalah ini, dengan kata lain yaitu mengurangi morbiditas Penyakit Mulut Kuku. Sehingga di beberapa negara mempunyai inisiatif untuk mendirikan International program yang digunakan untuk peneltiandan kontrol Penyakit Mulut Kuku, yang pertama yaitu Office International Epizooties (OIE) kemudian Food - and Agriculture Organization (FAO) dan organisasi lainnya seperti World Health Organization (WHO), Pan-America Health Organization (PAHO) dan baru-baru ini didirikan International Association Biological Standardization, International Regional Organization for Animal Health - (OIRSA) (Beeck, 1978, Pereira, 1980).

Pada tahun 1892, terjadi wabah Penyakit Mulut Kuku di berbagai kawasan benua Eropa, Amerika, Afrika, Asia - sehingga beberapa negara ditunjuk untuk mendirikan pusat

laboratorium Penyakit Mulut Kuku seperti PAHO di Brazil (Pan-America Food and Mouth Diseases Center) dan FAO di United Kingdom Inggris (World Reference Laboratory PMD), ASEAN di Packhong Thailand, sedang di Indonesia berpusat di PUSVETMA Surabaya (Osmon Bin Din, 1982).

Kembali pada permasalahan diatas maka tujuan utama mendirikan pusat-pusat laboratorium adalah untuk menanggulangi penyebaran dan pemberantasan Penyakit Mulut Kuku, baik secara Nasional maupun secara Internasional. Beberapa cara yang digunakan untuk penanggulangan Penyakit Mulut Kuku salah satu yang paling efektif selama ini adalah dengan vaksinasi (Anonimous, 1978).

Berbagai macam cara/metode yang dipakai dalam produksi vaksin Penyakit Mulut Kuku, antara lain dengan - mengadaptasikan virus pada tissue culture dari BHK₂₁ (Baby Hamster Kidney) (Cottral, 1978).

Tissue culture yang dipakai dalam adaptasi virus PMK adalah sel monolayer BHK₂₁, karena selama ini sel - BHK₂₁ digunakan dalam produksi vaksin secara besar-besaran, baik di Indonesia maupun di negara-negara lain seperti Inggris, Perancis, Thailand dll. Hal ini karena terdapat beberapa hal yang dipertimbangkan, antara lain sifat-sifat sel BHK₂₁ Clone₁₃ yang tidak mudah berubah - dan bisa digunakan untuk adaptasi dari beberapa strain virus PMK (Clarke dan Spier, 1980), termasuk virus - PMK O Java 83 yang menimbulkan wabah tahun 1983 di per-

batasan Jawa Timur dengan Jawa Tengah tepatnya di Blora Pulau Jawa Indonesia.

Virus yang diadaptasikan pada BHK₂₁ dapat menimbulkan Cyto Pathogenic Effect (CPE) yang nyata, selain itu dapat memberikan titer yang cukup tinggi. Begitu juga CFU yang dihasilkan cukup tinggi, sesuai dengan hasil dari peneliti-peneliti lainnya.

Sementara itu Pay (1957) berpendapat, virus yang dibiakkan pada sel monolayer dari epitel lidah sapi cukup baik dan memberikan titer virus yang tinggi. Tetapi bila ditinjau dari beberapa segi kurang ekonomis dan efisien, karena selalu memerlukan epitel lidah sapi yang masih baru dipotong.

Dengan bertitik tolak pada permasalahan diatas maka tujuan penelitian ini adalah untuk :

1. Mengetahui pertumbuhan virus PMK 0 Java 83 pada tissue culture sel monolayer BHK₂₁.Clone₁₃ sehingga dalam produksi vaksin dapat terarah pada sifat-sifat virus 0 Java 83.
2. Mengetahui tingkat infeksius virus 0 Java 83 dengan demikian dapat diketanui tingkat pasasi yang dapat digunakan untuk vaksin.

BAB II

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

1. Kejadian Penyakit Mulut dan Kuku

Penyakit mulut dan Kuku pertama kali dilaporkan - oleh Hieronymus Fracastorius pada tahun 1514 di Italia Utara (Anonimous, 1982). Sejak saat itu Penyakit Mu- lut dan Kuku tersebar keseluruh dunia.

Dikawasan Eropa, terjadi letupan wabah Penyakit - Mulut dan Kuku pada tahun 1751 di Jerman dan di Norwe - gia tahun 1756, di Inggris terjadi Penyakit Mulut dan - Kuku pertama kali pada tahun 1839, kemudian selama abad ke 19 terjadi secara Epizootis di Perancis, Italia, Swi tserland dan Polandia (Anonimous, 1982).

Perkembangan Penyakit Mulut dan Kuku selama abad ke 19 semakin nyata di dunia Internasional karena sem- kin besar dunia perdagangan dan terjadi perpindahan pe- ternak, terutama di bagian Eropa Barat. Situasi penya- kit ini mencapai puncaknya di Eropa tahun 1870. Kemudian di United States of America penyakit ini pertamakali - muncul tahun 1870 dan di Australia tahun 1871 dimana ke dua-duanya akibat import sapi dari Eropa.

Di Amerika Selatan Penyakit Mulut dan Kuku pertama kali dilaporkan pada tahun 1865 yaitu di Argentina. Se- lanjutnya di Spanyol dan Portugal menyusul pada akhir abad ke 19.

Letupan PMK di Asia tahun 1981, terjadi di beberapa negara antara lain di India, Iran, Kuwait, dan di U.S. S.R. kejadian ini secara sporadis. Sedangkan di Saudi Arabia, Sri Lanka terjadi wabah dan di Thailand terjadi secara Enzootis.

Di Eropa kejadian PMK pada bulan Maret 1980 yaitu di negara Republik Rakyat Demokrasi Jerman dan Republik Federal Jerman dan Spanyol terjadi secara sporadis.

2. Kejadian Penyakit Mulut dan Kuku di Indonesia

Kejadian Penyakit Mulut dan Kuku (PMK) di Indonesia pertama kali diperkenalkan oleh Bosma (1892) pada waktu itu PMK terjadi di Malang dan Pasuruan pada tahun 1887. Dalam waktu relatif singkat PMK terus meluas sampai mencapai pantai Banyuwangi yaitu mulai dari Bangil Probolinggo, Lumajang, Jember, Bondowoso , Basuki dan Banyuwangi (Anonimous, 1978, Ronoharjo, dkk.1984).

Wabah PMK selanjutnya terjadi pada tahun 1889 di Jakarta, tahun 1892 di Aceh, tahun 1906 di Madura dan di Kalimantan, tahun 1907 di Medan dan Sulawesi, tahun 1911 di Bali dan Lombok. Sementara itu pada tahun 1913 di Surabaya terjadi wabah PMK yang menjalar sampai ke Madiun Kediri dan Madura, tahun 1914 di Malang dan Pasuruan. Di Lombok kejadian PMK pada tahun 1920 sedang di Kalimantan dan Sulawesi menyusul tahun 1926, pada tahun 1929 di Kedu, Wonosobo, Bagelan dan di susul tahun 1962 PMK -

terjadi di Bali, pada tahun 1971, kejadian PMK di daerah Sumatera Utara dan tahun 1973 di Sulawesi Selatan. Selanjutnya di pulau Jawa dilaporkan bahwa setiap tahun terjadi wabah PMK hingga tahun 1975 (Sukobagyo, 1976). Setelah itu kejadian PMK berlangsung terus sampai tahun 1979 di daerah DKI Jaya, Jawa Tengah, D.I. Yogyakarta. Sedangkan di Jawa Timur berlangsung hingga tahun 1976 dan di Jawa Barat berlangsung hingga tahun 1977 (Anonimous, 1982).

Kejadian PMK di Bali dilaporkan terakhir tahun 1974 dan Sulawesi Selatan bisa terbebaskan PMK dengan vaksinasi massal tahun 1974 - 1981, dan sampai saat ini tidak ada laporan kasus PMK. Kemudian tahun 1983 timbul wabah PMK pada pertengahan Juli 1983 di Kabupaten Blora yang dengan cepat merambat ke barat sampai ke Banten sesuai dengan jalur lalu lintas ternak. Sedang untuk daerah Jawa Timur terbatas di daerah perbatasan dengan daerah Jawa Tengah (Ronoharjo, dkk, 1984).

Menurut data statistik peternakan tahun 1984, bahwa daerah-daerah yang bebas PMK sampai akhir Desember tahun 1983 adalah meliputi Bali, Nusa Tenggara Barat, Nusa Tenggara Timur, Kalimantan Barat, Kalimantan Tengah, Kalimantan Timur, Sulawesi Selatan, Sulawesi Tengah, Sulawesi Tenggara, Sulawesi Utara, Maluku, Irian Jaya, Timor Timur (Anonimous, 1984).

3. Distribusi Penyakit Mulut dan Kuku (PMK)

Penyakit Mulut dan Kuku di sebabkan oleh satu atau lebih serotipe virus, virus PMK terdapat tujuh serotipe (Pereira, 1977). Kejadian PMK ini meluas hingga sebagian dunia, penyebaran PMK dapat dilihat pada (Peta: 1. distribusi Penyakit Mulut dan Kuku di dunia).

Negara-negara yang bebas dari PMK adalah Australia New Zealand, Amerika Utara dan Central Amerika, Scandinavia dan negara kepulauan seperti Jepang dan United Kingdom. Sedangkan negara-negara yang terjadi secara sporadis yaitu; terutama di Eropa kecuali di negara perbatasan Mediteranean dan dibagian Timur dan Selatan Benua.

Di Asia dan Afrika, dilaporkan kejadian Penyakit - Mulut dan Kuku di Sri Lanka tahun 1842, Indonesia menyusul tahun 1887, di Jepang tahun 1900 dan di Philippina tahun 1902. Di Afrika terutama di bagian Afrika Selatan pertama kali dilaporkan Penyakit Mulut dan Kuku pada tahun 1892 (Anonimous, 1982).

Valle dan Carre, tahun 1922 menemukan virus Penyakit Mulut dan Kuku (PMK) di Perancis yaitu tipe A dan tipe O. Sementara itu Waldman dan Trautwein, tahun 1926 di Jerman menemukan virus PMK tipe C, kemudian Galloway et al. (1955) menemukan tiga tipe yaitu tipe SAT₁, - SAT₂, SAT₃ di Afrika Selatan, serta tipe baru di Asia - yaitu tipe ASIA₁ (Bruner dan Gillespie, 1973).

World distribution of FMD by type

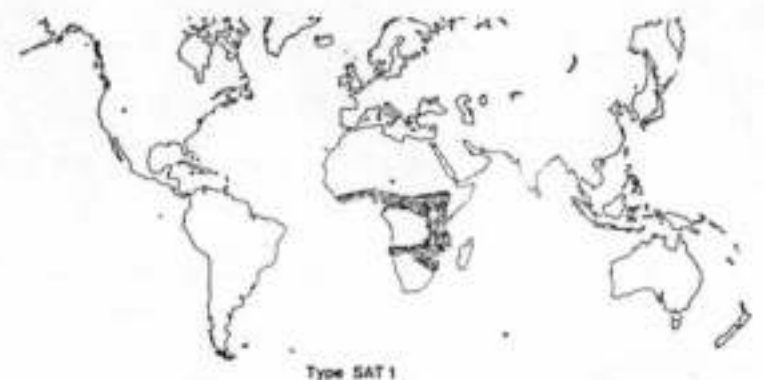
Virus type SAT3 has been recorded only in Botswana, Zimbabwe and the Republic of South Africa.

IR, PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

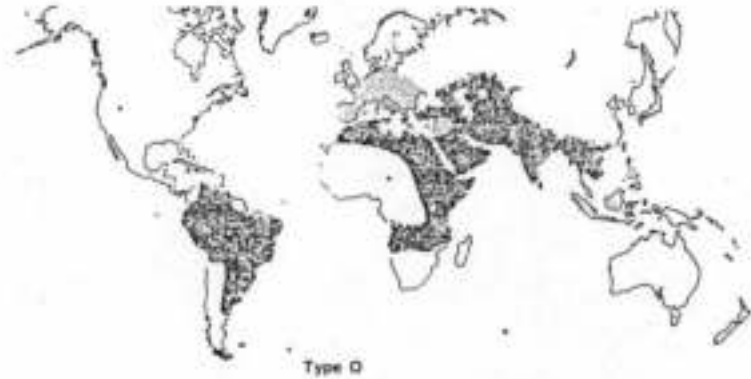
ENDEMIC SPORADIC



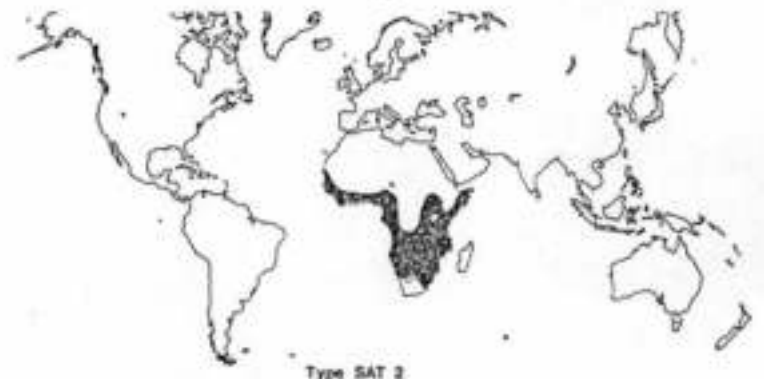
Type A



Type SAT 1



Type O



Type SAT 2



Type C



Type Asia 1

Figure 1

Menurut laporan Office International des Epizooties oleh Melendez, et al. (1982) tentang situasi Penyakit Mulut dan Kuku di dunia adalah sebagai berikut di Afrika terjadi wabah PMK November 1981, di Burundi, - Egyptinia, dan Kenya Oktober 1981, sedang di Libia dan Nigeria tahun 1981 terjadi secara sporadis.

Di Amerika kejadian PMK pada bulan Desember 1981 yaitu meliputi Argentina, Bolivia, Brazilia, Colombia, Ecuador dan Paraguay yang terjadi secara enzootis. Sementara itu PMK di Uruguay, Venezuela dan Peru terjadi secara sporadis. Selain itu negara-negara yang terserang secara enzootis adalah termasuk Amerika Selatan dan negara-negara di Afrika seperti Kenya dan Nigeria dan di Asia seperti India (Anonimous, 1982).

4. Klasifikasi virus

Virus PMK di masukkan kedalam kelompok virus :

Phylum : Vira

Sub Phylum : Deoxyvira

Class : Ribocubical

Family : Picornaviridae

Genus : Aphovirus

Species : Apthe Epizootica (Martin, 1978).

Klasifikasi virus berdasarkan bentuk, susunan, ukuran maka virus PMK dimasukkan dalam golongan . Picorna viruses (Pico Ribo Nucleic Acid Virus = Pico RNA), ter

masuk virus yang mempunyai asam inti RNA single stranded dan berkapsid (Bruner dan Gillespie, 1973, Cottral, 1978 dan Brown, 1981). Secara serologis virus PMK di seluruh dunia terdapat tujuh serotipe dan enampuluh satu sub serotipe. Serotipe O (Oise) 10 sub serotipe, A (Allemane) 30 sub serotipe, C (Waldmann) 5 sub serotipe, SAT₁ (South African Territories Types) 6 sub serotipe, SAT₂ 3 sub serotipe, SAT₃ 4 sub serotipe dan ASIA₁ 3 sub serotipe (Pereira, 1977, Martin, 1978).

5. Bentuk, ukuran dan susunan virus PMK

Bentuk virus PMK adalah Spherical dengan tangkup-Icosahedral berdiameter 22 - 25 millimikron (Merchant dan Pecker, 1967, Martin, 1978, Pereira, 1980).

Susunan virus PMK terdiri dari 31 % RNA dengan berat molekul $2,4 - 2,8 \times 10^6$ dalton dan 69 % protein dengan berat molekul $5,8 \times 10^6$ dalton, unit protein asam inti ini merupakan internal antigen yang digunakan untuk menginfeksi sel sehat. Selain itu virus PMK mempunyai 60 duplikat masing-masing terdiri dari 4 struktur rantai polypeptida, rantai polypeptida (VP_{thr}, VP_{asp}, VP_{gly}) (VP₁, VP₂, VP₃) mempunyai berat molekul yang sama - 24×10^3 , sedangkan VP₄ mempunyai berat molekul 14×10^3 (Bruner dan Gillespie, 1973, Brown, 1981).

6. Sifat-sifat virus

6.1. Sifat Fisik dan Kimiawi

Virus tidak tahan terhadap pH asam dan alkalis, panas, sinar ultraviolet dan beberapa zat kimia serta desinfektansia. Tetapi virus tahan berbulan-bulan pada bahan yang mengandung protein, tahan kekeringan dan tahan dingin (Pereira, 1980). Sementara itu Merchant - dan Pecker (1967) dan Kamolsiripichaiporn (1985), me nyatakan bahwa virus PMK tahan terhadap ether dan chlo roform, hal ini karena diselubungi lipid, sedangkan des infektansia yang efektif yaitu sodium hydroxide, sodi um carbonat, acetic acid.

Virus bisa tahan pada daging yang disimpan pada suhu 4°C selama 72 jam, hal ini karena terjadi oksidasi glikogen menjadi asam laktat sehingga pH otot menurun. Virus yang menginfeksi kelenjar lympho, darah, semen - dan epithel bisa tahan selama 60 hari pada suhu 4°C se dang pada sumsum tulang bisa bertahan sampai 194 hari (Jensen, 1974).

Menurut Bruner dan Gillespie (1973), virus PMK sangat peka terhadap pH asam, pada pH 6,5 virus kehi - langan daya tahan seper sepuluh setiap 14 jam pada suhu 4°C, pada pH 5 dan pH 6 virus inaktif 90 % per menit dan virus aktif pada pH 7 - 7,5 sedangkan pada pH 8 - 9 ku - rang aktif. Secara alami virus mengandung protein kapsid sehingga dalam pemanasan dibawah temperatur 50°C virus -

dapat tahan, sedang diatas temperatur 50°C virus tidak tahan bahkan inaktif karena mengalami degradasi protein (Pereira, 1980).

Merchant dan Pecker (1961), menyatakan bahwa, virus PMK akan mati pada suhu 85°C selama 1 menit dan pada suhu 70°C selama 15 menit. Meskipun demikian Kamolsi riphichaiporn (1985), berpendapat bahwa virus PMK dapat hidup selama 15 detik pada susu dan cream yang dipanaskan pada temperatur 85°C dan 93°C . Dengan cara kimia wi, pemberian mercuri clorida 1 % dan cresol 3 % akan mematikan virus dalam waktu 6 jam, tetapi dengan pemberian phenol 1 % dapat tahan selama 5 bulan, sedang dengan alkohol 70 % dapat tahan 2 - 3 hari. Sementara itu dengan pemberian KOH 2 % dan solution soda (Na_2CO_3) 4 % dapat mematikan virus dalam waktu singkat (Bruner dan Gillespie, 1973).

6.2. Sifat biologis pada perbenihan jaringan

Virus PMK dapat ditumbuhkan dengan baik pada sel embrional sapi, babi, domba, tikus, jantung anak sapi ginjal domba, ginjal foetus kelinci, epithel lidah babi, ginjal babi dan jaringan tumor mammae, jaringan kulit anak sapi (Thorne dan Cartwright, 1961, Pereira, 1980).

Frenkel dan Co-Workers tahun 1974, berhasil mengadaptasikan virus PMK pada tissue culture dari epithel

lidah sapi yang baru dipotong, yaitu dengan cara menghancurkan epitel lidah sapi selanjutnya di beri media Frenkel kemudian virus di inokulasikan. Cara ini kemudian di kembangkan di laboratorium untuk identifikasi dan produksi vaksin, hal ini pertama kali di kembangkan di Amsterdam Belanda dan menghasilkan titer yang paling tinggi diantara metode-metode lainnya. Tetapi masih dinilai kurang berhasil karena memerlukan lidah sapi yang masih baru dipotong, sedang di Belanda masih menggunakan metode ini sampai sekarang (Sinsuwonkwat, 1985).

Tahun 1955, Bachrach dan Sellar, pertama kali melaporkan adaptasi virus PMK pada tissue culture asal ginjal sapi dan ginjal babi. Tetapi hasil titer yang di capai rendah, kemudian mengembangkan berbagai cara untuk adaptasi virus PMK, antara lain dari jaringan ginjal bayi hamster (BHK₂₁) ternyata dapat menimbulkan Cyto Pathogenic Effect (CPE) yang karakteristik dan stabil, praktis dan efisien karena dapat digunakan adaptasi dari berbagai strain virus PMK (Clarke dan Spier, 1977, Kongthon, 1985). Sementara itu Brown (1981), berpendapat bahwa secara invitro RNA kedalam kelinci dapat menghasilkan titer antibodi sama seperti titer yang dihasilkan dari biakkan virus pada BHK₂₁.

Beberapa macam sel tissue culture yang sering di gunakan dalam adaptasi virus untuk produksi vaksin antara lain, Primary cell dan Cell line. Primary cell terdiri

ri dari ginjal babi (SK), ginjal sapi (CK). Sedang Cell line terdiri dari BHK₂₁C₁₃, HmLu, PK, BHK-S, IBRS₂, IFFA₃ (Makarasen et al., 1982, Sinsuwonkwat, 1985).

7. Isolasi

Dalam melakukan isolasi virus sangat memerlukan kecermatan tersendiri, baik dalam hal persiapan bahan penularan maupun dalam melakukan penularan sendiri.

Menurut Jensen (1974), cara yang baik dalam mengambil sampel virus yaitu berasal dari sel epitel dan sel mukosa dari oesophagus, pharyn dan tonsil. Tetapi yang paling baik yaitu dari lepuh-lepuh epitel lidah dan lepuh pada celah telapak kaki kemudian dipindahkan kedalam 50 % glycerol dan Phospat Buffer Saline dengan pH 7,6 dan ditempatkan di ruangan dingin kemudian dicampur dengan 0,08 M Phospat Buffer dengan volume yang sama pada pH. 7,6 (Dawe, 1978).

Sementara itu menurut Paul (1975), penggunaan jaringan untuk isolasi, harus diperhatikan variabel yang ada antara lain yang paling peka adalah sterilitas jaringan untuk isolasi harus bebas dari kontaminasi bakteri. Biasanya dilakukan dengan cara menambahkan preparat antibiotik yaitu Penicillin, Streptomycin dan Mycostatin. Sedangkan tehniknya dalam isolasi yaitu dengan membuat suspensi virus 10 % kemudian di inokulasikan kedalam jaringan sel.

8. Kontrol Penyakit Mulut dan Kuku

Kontrol Penyakit Mulut dan Kuku (PMK), memerlukan keterpaduan dari berbagai metode yang efektif, dengan cara pengobatan tidak efektif (Thomas dan Theford, 1984). Pada tahun 1884, dilakukan dengan cara membunuh dan membakar terhadap hewan yang tertular (Henderson, 1978, Mowat, 1978, Richard, 1978).

Sejak 20 tahun yang lalu di berbagai negara mengembangkan berbagai cara metode kontrol PMK, tetapi selama ini, salah satu cara yang paling baik dan efisien dalam melakukan kontrol PMK adalah dengan membuat pengebalan terhadap hewan yang peka yaitu dengan cara vaksinasi (Dawe, 1978). Meskipun demikian Terre et al. (1985), dalam pengujian potensi vaksin menyatakan bahwa, vaksin yang digunakan dalam kontrol penyakit PMK harus mampu menimbulkan kekebalan 70 % - 90 %. Di lembaga penelitian United Kingdom, mengembangkan produksi vaksin dari berbagai strain, tetapi yang perlu diperhatikan adalah seleksi dari sifat-sifat strain virus dan antigenya (Henderson, 1978). Hal ini terbukti di beberapa negara Amerika Utara dengan adanya wabah PMK yang sukar diberantas (Callis, 1978).

Dalam melakukan kontrol PMK disamping melakukan kombinasi vaksinasi dengan pengawasan lalu lintas perdagangan ternak, juga dilakukan pemeriksaan laboratorium terhadap serum hewan-hewan yang peka (Dawe, 1978).

Di Afrika dan Eropa Timur kontrol dilakukan dengan cara pembagian daerah yaitu, daerah bebas penyakit, daerah sporadis, daerah terancam dan daerah tertular dengan demikian akan memudahkan kontrol (Capstick, 1978 Mowat, 1978).

Sementara itu kontrol penyakit dikatakan berhasil apabila dapat menghilangkan virusnya. Di dalam membebaskan PMK tidak bisa dilakukan dalam waktu yang singkat karena terdapat beberapa faktor yaitu epizootologinya, faktor ekonomi atau kedua faktor tersebut. Vaksin yang mempunyai kualitas baik merupakan alat yang penting untuk mengontrol PMK, tetapi tidak hanya dengan vaksin saja harus ditunjang dari segi lain misalnya sanitasi lingkungan dan desinfektansia yang efektif (Anonimous, 1982).

Metode kontrol PMK

Metode kontrol disesuaikan dengan keadaan negara berdasarkan kejadian penyakit yang ada sebelumnya. Metode yang dilakukan di negara-negara yang bebas dari kasus PMK hanya terjadi secara sporadis yaitu dengan cara pemotongan. Vaksinasi sistemik harus dilakukan terhadap sapi, caranya yaitu vaksinasi harus diwajibkan, secara menyeluruh, diulang dan dikontrol. Yang kedua vaksinasi harus diulang tiap-tiap 4, 6 atau 12 bulan tergantung dari keadaan daerahnya, sedang yang ketiga distribusi dari jenis-jenis hewan lain yang bisa diserang juga diperhi -

tungkan dalam melakukan vaksinasi (Anonimous, 1982). Hal ini dilakukan terhadap negara-negara yang terserang PMK secara sporadis.

Ring vaksinasi dilakukan pada hewan-hewan didaerah sekitar wabah, sedangkan dengan cara barrier dan frontier dilaksanakan di daerah campuran untuk mencegah meluasnya penyakit dari daerah satu kedaerah lain (Anonimous, 1982).

Di Indonesia kontrol PMK, dilakukan dengan berbagai cara antara lain yang paling efektif dan efisien selama ini adalah dengan cara vaksinasi, baik secara masal maupun secara crash program (Anonimous, 1982).

Pada tahun 1976, PMK di Indonesia bisa di tekan tetapi pada pertengahan Juli 1983 muncul wabah PMK di Jawa diperbatasan antara Jawa Timur dan Jawa Tengah. Dengan adanya kejadian wabah PMK ini mengingatkan pada tahun 1980, dimana daerah-daerah sumber ternak dapat di bebaskan terhadap Penyakit Mulut dan Kuku (PMK) dan direncanakan tahun 1984 akan membebaskan di pulau Jawa. Sementara itu dalam menanggulangi penyakit tersebut pemerintah Indonesia mendatangkan berbagai macam vaksin yaitu O₁BFS 006 (PUSVETMA), O₁ BFS 549 (B. Wellcome) O₁ malaysia 3807 (I. Mericux), O Java 83 3810 (I. Mericux), dan O Java 83 008 (PUSVETMA) (Ronoharjo,dkk, 1984).

9. Hubungan antara sifat-sifat virus, sejarah kejadian di Indonesia, kontrol PMK dan tujuan penelitian

Virus Penyakit Mulut dan Kuku (PMK), terdiri dari beberapa strain maupun sub tipe yang mempunyai sifat-sifat yang berbeda-beda, maka dalam mengembangkan produksi vaksin perlu diseleksi strain dan sifat-sifatnya (Fernandez, 1978, Richard, 1978), sehingga dapat menimbulkan titer antibodi yang tinggi (Bekkum, 1978).

Sifat-sifat virus PMK mudah menular yang mempunyai struktur antigen yang mudah berubah. Secara ekonomis dapat menimbulkan kerugian sangat besar (Brown, 1981). Virus dapat ditularkan dengan berbagai jalan yaitu baik dari hewan yang sakit maupun dari hasil-hasil ternak, alat-alat yang tercemar virus, makanan ternak yang terkontaminasi dan melalui hewan yang tidak peka terhadap virus PMK, yang dapat bertindak sebagai faktor mekanik maka perlu diadakan kontrol PMK yang terpadu (Hyattsville, 1980).

Kejadian PMK di Indonesia pada pertengahan Juli - 1983, pemerintah Indonesia bertindak cepat dan tepat. Daerah tertular segera ditutup, vaksinasi terhadap PMK segera diadakan. Tindakan vaksinasi itu segera dilaksanakan juga diseluruh daerah di pulau Jawa, untuk sapi dan kerbau. Karena batasan waktu dan vaksin siap pakai, vaksin beragam terpaksa digunakan. Hal ini akan menye -

babkan introduksi sifat-sifat virus dari luar yang berbeda dengan sifat-sifat virus PMK O Java 83 yang ada di Indonesia, terbukti dari hasil penelitian Ronoharjo, dkk tentang potensi berbagai vaksin PMK yang dipakai dalam pemberantasan wabah penyakit. Dengan menggunakan sapi sapi yang divaksin dengan vaksin strain virus yang berbeda dengan O Java 83. Ternyata sapi-sapi yang divaksin dengan vaksin yang tidak berasal dari strain yang homolog tidak cukup kuat dalam menghadapi uji tantang O Java 83 (Ronoharjo, dkk, 1984).

BAB III

BAHAN DAN CARA KERJA

1. Bahan penelitian1.1. Virus

Virus O Java 83 di dapat dari epitel lidah sapi yang telah ditulari dengan virus isolat dari wabah - tahun 1983. Virus O Java 83 ini telah di isolasi dan di identifikasi PUSVETMA Surabaya. Selanjutnya epitel digerus dibuat suspensi dan dilakukan uji CFT (Com - plement Fixation Test) untuk meneguhkan tipe virus O Java 83, kemudian di adaptasikan pada tissue culture BHK₂₁ Clone₁₃.

1.2. Sel BHK₂₁ Clone₁₃

Sel BHK₂₁ Clone₁₃ adalah established Cell line yang dibuat dari ginjal anak hamster yang telah di pa sasi berpuluh-puluh dari Capstick 62, sehingga sifat sifat selnya tidak mudah berubah lagi.

1.3. Media

1.3.1. Eagle's Medium

1 l

Terdiri dari

NaCL

6,4 gram

KCL

400 mgram

MgSO ₄ .7H ₂ O	200 mgam
Glukosa	4,5 gram
Ferric Nitrat. 9H ₂ O (0,1 %)	1 ml
Air suling	750 ml
NaH ₂ PO ₄ . 2H ₂ O	140 mgam
Glutamine	292 mgam
CaCL ₂	200 mgam
NaHCO ₃	2,75 gram
Phenol red	11 ml
Stock Aminos	50 ml
Penicillin, Neomycin, Fungizone	10 gram
Air suling	183 ml

1.4. Bahan kimia

1.4.1. Bahan kimia untuk mencuci sel monolayer

Phosphat Buffer Saline Free Ca ⁺⁺ Mg ⁺⁺⁺	1 l
Terdiri dari	
Larutan "A"	
NaCL	8 gram
KCL	0,2 gram
Air suling sampai	10 ml
Larutan "B"	
KH ₂ PO ₄	0,2 gram
Na ₂ HP ₄ . 12H ₂ O	2,8 gram
Air suling sampai	1 liter

1.4.2. Bahan kimia untuk melepas sel monolayer

Terdiri dari

Versen

Trypsin 0,25 %

1.4.3. Bahan kimia untuk menghitung suspensi sel

Trypan blue 0,25 % , untuk membedakan sel - yang hidup dengan sel yang mati. Sel yang - mati dilihat dengan mikroskop akan terlihat biru, sedang sel yang hidup terlihat jernih/ trasparan.

1.5. Alat-alat yang digunakan

1.5.1. Botol 1 l, Roux, Kimex, Pyrex 250 ml

1.5.2. Bijou isi 5 ml, 75 ml

1.5.3. Gelas bekker, gelas ukur 100 ml

1.5.4. Muller filter

1.5.5. Pipet 0,1 ml, 1 ml, 2 ml, 5 ml, 10 ml

1.5.6. Reusable pipette 0,025 ml, 0,050 ml

1.5.7. Mikroskope sinar halogen

1.5.8. Unit steril Laminar Flow Cabinet

1.5.9. Water bath, autoclave, inkubator 37°C

1.5.10. Freezer

1.5.11. Microplate sterilline, titertek plate sealer

1.5.12. Multichanel pipette 0,025 ml, 0,050 ml,
0,100 ml

- 1.5.13. Micro shaker
- 1.5.14. Cover seal, aluminium foil
- 1.5.15. Petridish, karet penghisap
- 1.5.16. Thoma

2. Cara penelitian

Tahap pertama yang dilakukan adalah pembuatan suspensi virus dari sel epitel lidah sapi yang ditulari virus isolat wabah PMK tahun 1983, kemudian dilanjutkan dengan uji Complement Fixation Test (CFT) untuk meneguhkan virus O Java 83.

Tahap kedua, adalah perbanyakkan sel monolayer (Splitting), bila presentase pertumbuhan sel lebih dari 80 % confluent, maka sel tersebut bisa dipanen dan siap untuk digunakan adaptasi virus (Inokulasi virus). Bila pertumbuhan virus sudah menunjukkan fase statik, maka biakan virus tersebut bisa dipanen, selanjutnya pertumbuhan virus yang baik diambil untuk di inokulasikan ke pasasi berikutnya. Tiap-tiap roux di inokulasi virus sebanyak 2 ml, sedang biakan virus lainnya disimpan dalam Cold room atau Freezer. Tahap-tahap ini dilakukan sampai pasasi kesepuluh. Setiap pasasi dilakukan inokulasi virus sebanyak 5 roux kecuali pasasi pertama hanya 2 roux kemudian dilanjutkan dengan titrasi virus.

Didalam titrasi virus, masing-masing roux dilakukan titrasi, sehingga setiap pasasi dilakukan 5 kali titrasi, kecuali pasasi pertama hanya 2 kali titrasi.

2.1. Pembuatan suspensi virus dari sel epitel lidah sapi

Epitel lidah yang berasal dari sapi yang ditulari-virus PMK wabah tahun 1983, di timbang kemudian dipotong-potong menjadi irisan yang kecil-kecil $\pm 2 - 3$ mm. Kemudian dimasukkan kedalam mortar ditambah pasir kuarsa steril secukupnya kemudian digerus. Setelah itu di tambah - Phosphat Buffer M/25 (PBM) 1 gram dalam 10 ml, di masukan kedalam botol centrifuse dan ditambahkan chloroform - kemudian dicentrifuse selama 10 menit pada 1000 rpm. Suspensi kemudian difiltrasi dengan muller filter ukuran - 0,22 milli mikron, siap untuk di inokulasikan.

2.2 Complement Fixation Test (CFT)

CFT disini dilakukan hanya sekedar untuk meneguhkan tipe virus O Java 83.

Caranya yaitu dengan menambahkan antigen yang berupa suspensi dari epitel lidah sapi kedalam antiserum dari beberapa tipe virus O, A dan Asia₁, kemudian ditambah complement dan hemolitic sistim. Bila homolog maka tidak terjadi lysis dan bila tidak homolog maka terjadi lysis.

2.3. Cara perbanyakkan sel monolayer BHK₂₁

Setiap perbanyakkan sel BHK₂₁ yang perlu diperhatikan adalah umur sel BHK₂₁, presentase pertumbuhan sel - BHK₂₁ dan sterilitas bahan. Umur sel yang paling baik adalah tidak lebih dari 48 jam dan presentase pertumbuhan

lebih dari 80 %. Setiap 12 jam dilihat apabila media sel BHK₂₁ terlalu basa akan menghambat pertumbuhan, maka media lama dibuang diganti dengan media yang baru. Cara memperbanyak sel adalah, bila pertumbuhan sel umur 48 jam telah mencapai 80 % atau lebih maka media lama dibuang kemudian dilakukan pencucian 2 kali dengan fosfat buffer salin free Ca⁺⁺Mg⁺⁺⁺ (PBS⁻), setelah itu dilakukan trypsinasi dengan cara menambahkan larutan versen trypsin 2 ml, dimasukkan kedalam inkubator 37°C selama 5 menit. Kemudian ditambahkan eagle's media 20 ml, dicampur dengan menggunakan pipet agar sel BHK₂₁ lepas satu persatu kemudian dibagi menjadi 4 roux sehingga volume setiap roux 5 ml. Tiap-tiap roux ditambah eagle's media hingga 125 ml dan ditambahkan serum normal sapi (SN 10 %). Masing-masing roux diberi kode BHK₂₁/3p/No. pasasi/No.roux selanjutnya diinkubasikan pada suhu 37°C selama 48 jam.

2.4. Memanen sel BHK₂₁

Adanya pertumbuhan sel dari tiap-tiap roux diamati secara mikroskopis, apabila presentase pertumbuhan sel BHK₂₁ lebih dari 80 % maka sel BHK₂₁ bisa dipanen, dengan cara membuang media lama, kemudian dilakukan pencucian 2 kali dengan fosfat buffer saline free ca⁺⁺Mg⁺⁺⁺ (PBS⁻), siap untuk dibuat inokulasi virus atau dibuat suspensi sel untuk titrasi.

Dalam memanen sel BHK₂₁ memerlukan penanganan yang baik sehingga sterilitas sel BHK₂₁ bisa dijamin dengan demikian dalam biakan virus nantinya dapat memberikan

hasil Cyto Pathogenic Effek (CPE) yang karakteristik.

Di dalam membuat suspensi sel, dilakukan setelah membuang media lama dan pencucian, kemudian dituangi - Versen-Trypsin 0,25 % 2 ml. Selanjutnya di inkubasikan pada suhu 37°C selama 5 menit sehingga semua sel lepas dari dinding roux, kemudian ditambahkan 50 ml eagle's - media dan di isap-isap dengan pipet 5 ml hingga sel le pas satu sama lain. Setelah itu dilanjutkan dengan meng hitung jumlah sel per ml, bila konsentrasi suspensi sel tinggi maka di tambahkan eagle's media lagi sehingga - konsentrasi selnya menjadi $1,5 \times 10^5$ /ml.

2.5. Inokulasi virus O Java 83 pada tissue culture sel monolayer BHK₂₁

Sel BHK₂₁ yang memperlihatkan presentase pertumbuhan lebih dari 80 % dapat dipeksi untuk inokulasi vi rus. Tiap-tiap inokulasi dilakukan sebanyak 5 roux ke- cuali pada pasasi pertama hanya dilakukan 2 roux, ma - sing-masing roux diberi kode PMK/O'83/Ct/No. pasasi/No. roux/Jam pengerjaan/tanggal pengerjaan.

Observasi dilakukan setiap 6 jam setelah jam pe- ngerjaan, hal ini dilakukan sampai pada pasasi ke 10.

Cara untuk melakukan inokulasi virus yaitu dengan cara mengambil 5 roux biakan sel yang presentase pertum buhannya lebih dari 80 %, kemudian media lama dibuang dan dicuci dengan fosfat buffer saline free Ca⁺⁺Mg⁺⁺⁺

(PBS⁻) 100 ml 2 kali pencucian. Suspensi virus O Java 83 sebanyak 2 ml di inokulasikan dan di inkubasikan pada suhu 37°C selama 5 menit.

Setelah itu ditambahkan eagle's media sebanyak - 125 ml dan ditambah serum PEG 2 %, kemudian di inkubasi kan lagi pada suhu 37°C, dilakukan observasi setiap - 6 jam.

2.6. Memanen virus PMK O Java 83 dalam sel BHK₂₁

Virus dipanen bila pertumbuhan virus O Java 83 - sudah mencapai fase statik dan memperlihatkan bentukan CPE yang karakteristik dengan pengamatan secara mikros kopsis. Selanjutnya dari masing-masing roux dicatat kode inokulasi dan jam panen kemudian disimpan dalam ruangan dingin - 70°C.

2.7. Titrasasi virus

Titrasasi virus dilakukan untuk mengetahui tingkat infeksius virus PMK O Java 83 dari pasasi 1 sampai pasasi ke 10.

Masing-masing kode inokulasi dicatat dari 1 sam - pai dengan 5 kecuali pada pasasi pertama hanya 1 sampai 2, kodenya adalah PMK/O'83/Ct/No. pasasi/1,2,3,4,5. ke - mudian dari masing-masing roux biakan virus diambil 5 ml dimasukkan kedalam bijou, selanjutnya dilakukan pengenceran dari 10⁻¹ sampai dengan 10⁻⁸. Caranya adalah deng an mencampurkan 0,3 ml suspensi virus dan 2,7 ml eagle's-

media, setelah itu di isap-isap dengan memakai pipet 2 ml kemudian mengambil 0,3 ml dari campuran tersebut dan dimasukkan kedalam bijou ditambah 2,7 ml eagle's media demikian seterusnya hingga bijou ke 8.

Titrasi virus dilakukan, dengan cara mengambil 0,1 ml suspensi virus dari tingkat pengenceran tertinggi - hingga terendah. Kemudian ditambah dengan 0,15 ml suspensi sel dan dimasukkan pada lubang mikro plate steril. Setiap pengenceran, diwakili 4 lubang, sedang kontrolnya - diwakili 6 lubang. Untuk sel kontrol terdiri dari 0,1 ml eagle's media ditambah dengan 0,15 ml suspensi sel yang mengandung serum PEG 2 %.

Setelah pengerjaan semua tingkat pengenceran terwakili, permukaan mikro plate steril ditutup dengan cover seal, diratakan dengan plate sealer dan diberi kode. Inkubasi dilakukan selama 48 jam pada suhu 37°C.

2.8. Pengamatan hasil titrasi

Setelah selama 48 jam di inkubasikan, masing-masing mikro plate hasil titrasi diperiksa dengan mikroskop, dengan pembesaran 10 - 40 X. Pengamatan pertama kali diarahkan pada kontrol sel, yang terwakili oleh 6 lubang. Bila pada kontrol tersebut tidak didapatkan bentukan CPE, maka pengamatan untuk setiap lubang dilanjutkan.

2.9. Pengumpulan data pertumbuhan virus O Java 83 dan penghitungan titer virus O Java 83

Data penelitian diperoleh dengan cara melakukan observasi pertumbuhan virus O Java 83 sampai mencapai pertumbuhan fase statik, dimana ditandai dengan bentukan - CPE yang karakteristik.

Pada titer virus O Java 83 data diperoleh dengan cara, menandai bentukan CPE, apabila bentukan CPE kurang konfluent maka di beri tanda negatif (-), sedangkan bila bentukan CPE konfluent maka diberi tanda positif (+).

Penghitungan titer menggunakan metode Karber dengan rumus

$$D : \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3 + \dots h_n) d - 1/2 d$$

D : Log. TC ID₅₀

λn : Log. pengenceran tertinggi yang memperlihatkan 100 % CPE (Cyto Pathogenic Effect)

h_{1+2+n} : Jumlah kematian sel (CPE) pada pengenceran yang lebih tinggi

d : Geometric progresion.

2.10. Analisa data

Data yang diperoleh, dilakukan analisa dengan memakai cara statistik. Analisa data berupa, menghitung -

pertumbuhan virus dengan menggunakan ANAVA, apabila dalam penghitungan statistik H_0 diterima, maka penghitungan tidak dilanjutkan ke prosedur Tukey, tetapi bila H_0 ditolak maka dilanjutkan ke prosedur Tukey, untuk mengetahui selang kepercayaan tiap pasasi. Demikian juga pada analisa data tingkat infeksius virus TC ID₅₀/0,1 ml (George, et al. 1978).

BAB IV

H A S I L

Setelah dilakukan penghitungan terhadap data yang ada, hasil pertumbuhan dari virus O Java 83 pada tiap pasasi dan harga titer log. virus TC ID₅₀/0,1 ml. dimana tiap pasasi didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 1. Rata-rata pertumbuhan virus dan tingkat infeksius virus (TC ID₅₀/0,1 ml.)

Pasasi	\bar{X}		\bar{Y}
I	18	jam	10 ^{2,39} TC ID ₅₀ /0,1 ml.
II	30,2	jam	10 ^{3,75} TC ID ₅₀ /0,1 ml.
III	19,2	jam	10 ^{4,91} TC ID ₅₀ /0,1 ml.
IV	22,8	jam	10 ^{5,28} TC ID ₅₀ /0,1 ml.
V	23,86	jam	10 ^{5,45} TC ID ₅₀ /0,1 ml.
VI	21,144	jam	10 ^{6,20} TC ID ₅₀ /0,1 ml.
VII	20,5	jam	10 ^{6,70} TC ID ₅₀ /0,1 ml.
VIII	20,2	jam	10 ^{7,87} TC ID ₅₀ /0,1 ml.
IX	20	jam	10 ^{7,54} TC ID ₅₀ /0,1 ml.
X	20	jam	10 ^{7,95} TC ID ₅₀ /0,1 ml.

\bar{X} : rata-rata pertumbuhan virus

\bar{Y} : rata-rata harga titer log. virus TC ID₅₀/0,1 ml.

1. Pengamatan pertumbuhan virus

Hasil pengamatan pertumbuhan virus PMK 0 Java 83 (Tabel I dan II), didapatkan hasil antara pasasi dan pertumbuhan virus, dimana pada pasasi I sampai pasasi-IV terjadi variasi, sedang pasasi V sampai pasasi IX - pertumbuhan virus bertambah cepat sesuai dengan pertam^u bahan pasasi dan stabil pada pasasi IX dan X. Sehingga dalam grafik terlihat naik turun (Grafik hubungan an^u tara pasasi dan pertumbuhan virus).

2. Analisa data

Dari analisa data diperoleh hasil, tiap-tiap pa^u sasi mempunyai rata-rata perbedaan pertumbuhan (Tabel I dan II). Dengan analisa variasi menunjukkan bahwa - $F_{hit.} : 4,34 > F_{tab.} : 2,12$. Oleh karena itu maka H_0 di tolak pada $\alpha : 0,05$. Hal ini menunjukkan ada perbedaan-pertumbuhan antar pasasi (Lampiran XI).

Dengan prosedur Tukey, selang kepercayaan yang - tidak memuat angka nol sebanyak sembilan selang keper^u cayaan yang berbintang. Karena sembilan selang keper^u cayaan ini satu (P_2), terletak disebelah kiri nol dan de^u lapan ($P_5, P_4, P_6, P_7, P_8, P_9, P_{10}, P_3, P_1$), terletak disebelah kanan nol, maka dapat diartikan menurut be^u sarnya rata-rata pertumbuhan :

$$\eta^{P_2} < \eta^{P_5} < \eta^{P_4} < \eta^{P_6} < \eta^{P_7} < \eta^{P_8} < \eta^{P_9} = \eta^{P_{10}} < \eta^{P_3} < \eta^{P_1}$$

Dengan demikian, pertumbuhan virus pada pasasi pertama (P_1) tercepat dibandingkan dengan pasasi-pasasi lainnya. Pertumbuhan virus pada pasasi kedua terendah dibandingkan dengan pasasi yang lain, sedangkan pada pasasi sembilan dengan pasasi kesepuluh mempunyai tingkat pertumbuhan yang sama, sehingga tidak bisa kita bedakan.

3. Tingkat infeksius virus ($TC ID_{50}/0,1 \text{ ml.}$)

Tingkat infeksius virus diperoleh hasil rata-rata tiap pasasi (Tabel I dan III), harga titer log. virus $TC ID_{50}/0,1 \text{ ml.}$ memperlihatkan peningkatan harga titer dari pasasi I sampai pasasi ke X kecuali pada pasasi IX. Sehingga dengan grafik memperlihatkan parabola (Grafik 1. hubungan antara pasasi dan tingkat infeksius virus).

4. Analisa data

Dari analisa data diperoleh hasil, tiap-tiap pasasi mempunyai rata-rata tingkat infeksius. Dengan analisa variasi menunjukkan $F_{hit.} : 1,41$, sedang $F_{tab.} : F_{9;37}$ $0,05 : 2,12$. Jadi $F_{hit} < F_{tab}$. Oleh karena itu maka H_0 diterima pada $\alpha : 0,05$. Hal ini menunjukkan ada persamaan tingkat infeksius antar pasasi (Lampiran XII). Sehingga hasil perhitungan tersebut dapat diartikan :

$$\eta_{P_1} = \eta_{P_2} = \eta_{P_3} = \eta_{P_4} = \eta_{P_5} = \eta_{P_6} = \eta_{P_7} = \eta_{P_8} = \eta_{P_9} = \eta_{P_{10}}$$

Nilai rata-rata tingkat infeksius yang tertinggi adalah pasasi ke delapan dan kesepuluh sedang yang terendah pasasi pertama. Dengan demikian dapat disimpulkan :

$$\eta^{P_1} < \eta^{P_2} < \eta^{P_3} < \eta^{P_4} < \eta^{P_5} < \eta^{P_6} < \eta^{P_7} < \eta^{P_9} < \eta^{P_8} < \eta^{P_{10}}$$

Tabel 1. Hasil pengamatan pertumbuhan virus PMK O Java 83

No. Pasasi	No. Kode pasasi	Sel dan no. pasasi	% CPE	Lama inkubasi	Rata-rata inkubasi
P. I.	PMK/O'83/Ct/I/1	BHK ₂₁ /3p/56/5	90 %	18 jam	18 jam
	PMK/O'83/Ct/I/2	BHK ₂₁ /3p/56/2	90 %	18 jam	
P.II.	PMK/O'83/Ct/II/1	BHK ₂₁ /3p/57/2	80 %	33 jam	30,2 jam
	PMK/O'83/Ct/II/2	BHK ₂₁ /3p/57/1	80 %	47 jam	
	PMK/O'83/Ct/II/3	BHK ₂₁ /3p/59/1	80 %	24 jam	
	PMK/O'83/Ct/II/4	BHK ₂₁ /3p/59/2	80 %	23 jam	
	PMK/O'83/Ct/II/5	BHK ₂₁ /3p/59/3	80 %	24 jam	
P.III.	PMK/O'83/Ct/III/1	BHK ₂₁ /3p/60/1	80 %	19 jam	19,2 jam
	PMK/O'83/Ct/III/2	BHK ₂₁ /3p/60/2	80 %	19 jam	
	PMK/O'83/Ct/III/3	BHK ₂₁ /3p/59/3	80 %	19 jam	
	PMK/O'83/Ct/III/4	BHK ₂₁ /3p/60/4	80 %	19 jam	
	PMK/O'83/Ct/III/5	BHK ₂₁ /3p/60/5	80 %	20 jam	
P.IV.	PMK/O'83/Ct/IV/1	BHK ₂₁ /3p/61/1	80 %	24 jam	24 jam
	PMK/O'83/Ct/IV/2	BHK ₂₁ /3p/61/2	80 %	24 jam	
	PMK/O'83/Ct/IV/3	BHK ₂₁ /3p/61/3	80 %	24 jam	

Lanjutan tabel 1. hasil pengamatan pertumbuhan virus PMK 0 Java 83

No. Pasasi	No. Kode pasasi	Sel dan no. pasasi	% CPE	Lama inkubasi	Rata-rata inkubasi
P.IV.	PMK/0'83/Ct/IV/4	BHK ₂₁ /3p/62/2	80 %	21 jam	
	PMK/0'83/Ct/IV/5	BHK ₂₁ /3p/62/1	80 %	21 jam	
P.V.	PMK/0'83/Ct/V/1	BHK ₂₁ /3p/62/3	80 %	26 jam 30'	
	PMK/0'83/Ct/V/2	BHK ₂₁ /3p/62/4	80 %	27 jam	
	PMK/0'83/Ct/V/3	BHK ₂₁ /3p/59/2	90 %	22 jam	23,86 jam
	PMK/0'83/Ct/V/4	BHK ₂₁ /3p/59/3	90 %	22 jam	
	PMK/0'83/Ct/V/5	BHK ₂₁ /3p/33/3	85 %	22 jam	
P.VI.	PMK/0'83/Ct/VI/1	BHK ₂₁ /3p/63/3	90 %	21 jam	
	PMK/0'83/Ct/VI/2	BHK ₂₁ /3p/63/1	85 %	22 jam 22'	
	PMK/0'83/Ct/VI/3	BHK ₂₁ /3p/63/5	85 %	21 jam	21,144 jam
	PMK/0'83/Ct/VI/4	BHK ₂₁ /3p/63/4	85 %	21 jam	
	PMK/0'83/Ct/VI/5	BHK ₂₁ /3p/63/2	85 %	22 jam 5'	
P.VII.	PMK/0'83/Ct/VII/1	BHK ₂₁ /3p/65/3	80 %	20 jam	
	PMK/0'83/Ct/VII/2	BHK ₂₁ /3p/64/7	85 %	19 jam 5'	

Lanjutan tabel 1. Hasil pengamatan pertumbuhan virus PMK 0 Java 83

No. Pasasi	NO. Kode pasasi	Sel dan no. pasasi	% CPE	Lama inkubasi	Rata-rata inkubasi
P. VII.	PMK/0'83/Ct/VII/3	BHK ₂₁ /3p/65/4	85 %	19 jam	20,5 jam
	PMK/0'83/Ct/VII/4	BHK ₂₁ /3p/65/2	85 %	22 jam	
	PMK/0'83/Ct/VII/5	BHK ₂₁ /3p/65/1	90 %	22 jam	
P. VIII.	PMK/0'83/Ct/VIII/1	BHK ₂₁ /3p/68/2	99 %	20 jam	20,2 jam
	PMK/0'83/Ct/VIII/2	BHK ₂₁ /3p/68/3	99 %	20 jam	
	PMK/0'83/Ct/VIII/3	BHK ₂₁ /3p/68/1	99 %	20 jam	
	PMK/0'83/Ct/VIII/4	BHK ₂₁ /3p/68/5	99 %	21 jam	
	PMK/0'83/Ct/VIII/5	BHK ₂₁ /3p/69/2	99 %	20 jam	
P. IX	PMK/0'83/Ct/IX/1	BHK ₂₁ /3p/63/2	99 %	19 jam	20 jam
	PMK/0'83/Ct/IX/2	BHK ₂₁ /3p/63/1	99 %	20 jam	
	PMK/0'83/Ct/IX/3	BHK ₂₁ /3p/68/4	99 %	20 jam	
	PMK/0'83/Ct/IX/4	BHK ₂₁ /3p/68/3	99 %	21 jam	
	PMK/0'83/Ct/IX/5	BHK ₂₁ /3p/68/6	99 %	20 jam	

Lanjutan tabel 1. Hasil pengamatan pertumbuhan virus PMK 0 Java 83

No. Pasasi	No. Kode pasasi	Sel dan no. pasasi	% CPE	Lama inkubasi	Rata-rata inkubasi
P. X	PMK/0'83/Ct/X/1	BHK ₂₁ /3p/69/6	99 %	21 jam	
	PMK/0'83/Ct/X/2	BHK ₂₁ /3p/69/5	99 %	20 jam	
	PMK/0'83/Ct/X/3	BHK ₂₁ /3p/69/7	99 %	20 jam	20 jam
	PMK/0'83/Ct/X/4	BHK ₂₁ /3p/69/4	99 %	19 jam	
	PMK/0'83/Ct/X/5	BHK ₂₁ /3p/69/1	99 %	20 jam	

Tabel 2. Hasil titrasi virus PMK 0 Java 83

No. Pasasi	No. Kode pasasi	Sel dan no.pasasi	% CPE	TC ID ₅₀	Rata-rata TC ID ₅₀
P. I	PMK/0'83/Ct/I/1	BHK ₂₁ /3p/56/5	90 %	10 ^{2,2666}	10 ^{2,39}
	PMK/0'83/Ct/I/2	BHK ₂₁ /3p/56/2	90 %	10 ^{2,4999}	
P. II.	PMK/0'83/Ct/II/1	BHK ₂₁ /3p/57/2	80 %	10 ^{4,25}	10 ^{3,75}
	PMK/0'83/Ct/II/2	BHK ₂₁ /3p/57/1	80 %	10 ^{3,5}	
	PMK/0'83/Ct/II/3	BHK ₂₁ /3p/59/1	80 %	10 ³	
	PMK/0'83/Ct/II/4	BHK ₂₁ /3p/59/2	80 %	10 ^{3,5}	
	PMK/0'83/Ct/II/5	BHK ₂₁ /3p/59/3	80 %	10 ^{3,5}	
P. III.	PMK/0'83/Ct/III/1	BHK ₂₁ /3p/60/1	80 %	10 ^{5,4999}	10 ^{4,91}
	PMK/0'83/Ct/III/2	BHK ₂₁ /3p/60/2	80 %	10 ^{4,7916}	
	PMK/0'83/Ct/III/3	BHK ₂₁ /3p/59/3	80 %	10 ^{3,916}	
	PMK/0'83/Ct/III/4	BHK ₂₁ /3p/60/4	80 %	10 ^{3,75}	
	PMK/0'83/Ct/III/5	BHK ₂₁ /3p/60/5	80 %	10 ^{4,25}	

Lanjutan tabel 2. hasil titrasi virus PMK 0 Java 83

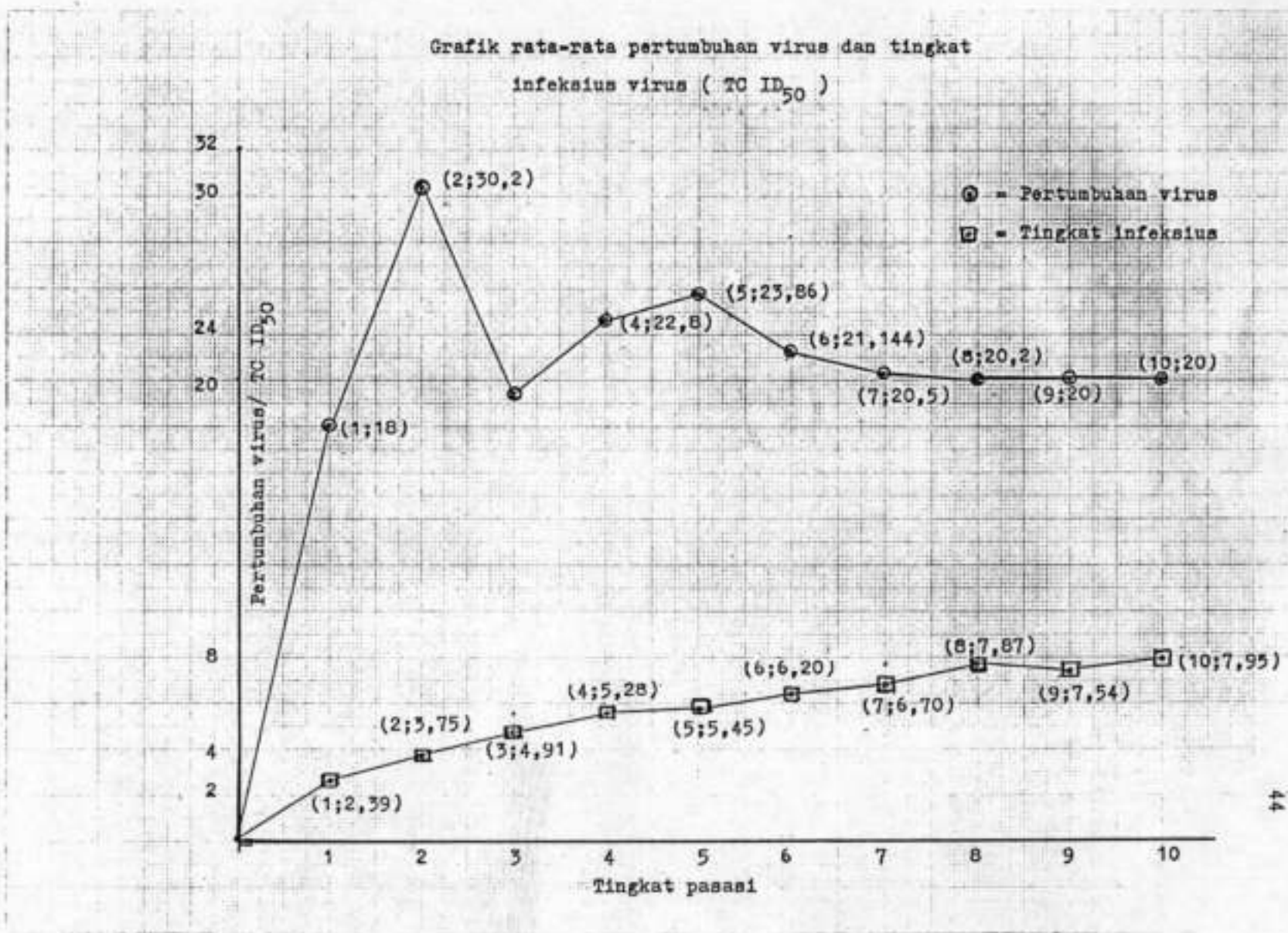
No. Pasasi	No. Kode pasasi	Sel dan no. pasasi	% CPE	TC ID ₅₀	Rata-rata TC ID ₅₀
P. IV.	PMK/0'83/Ct/IV/1	BHK ₂₁ /3p/61/1	80 %	10 ^{5,5}	10 ^{5,28}
	PMK/0'83/Ct/IV/2	BHK ₂₁ /3p/61/2	80 %	10 ⁵	
	PMK/0'83/Ct/IV/3	BHK ₂₁ /3p/61/3	80 %	10 ^{4,7333}	
	PMK/0'83/Ct/IV/4	BHK ₂₁ /3p/62/2	80 %	10 ^{5,5}	
	PMK/0'83/Ct/IV/5	BHK ₂₁ /3p/62/1	80 %	10 ^{5,25}	
P. V.	PMK/0'83/Ct/V/1	BHK ₂₁ /3p/62/3	80 %	10 ^{5,7916}	10 ^{5,45}
	PMK/0'83/Ct/V/2	BHK ₂₁ /3p/62/4	80 %	10 ⁵	
	PMK/0'83/Ct/V/3	BHK ₂₁ /3p/59/2	90 %	10 ^{5,2666}	
	PMK/0'83/Ct/V/4	BHK ₂₁ /3p/59/3	90 %	10 ^{5,2857}	
	PMK/0'83/Ct/V/5	BHK ₂₁ /3p/33/3	85 %	10 ^{5,5}	
P. VI.	PMK/0'83/Ct/VI/1	BHK ₂₁ /3p/63/3	90 %	10 ^{5,75}	
	PMK/0'83/Ct/VI/2	BHK ₂₁ /3p/63/1	85 %	10 ^{6,7333}	

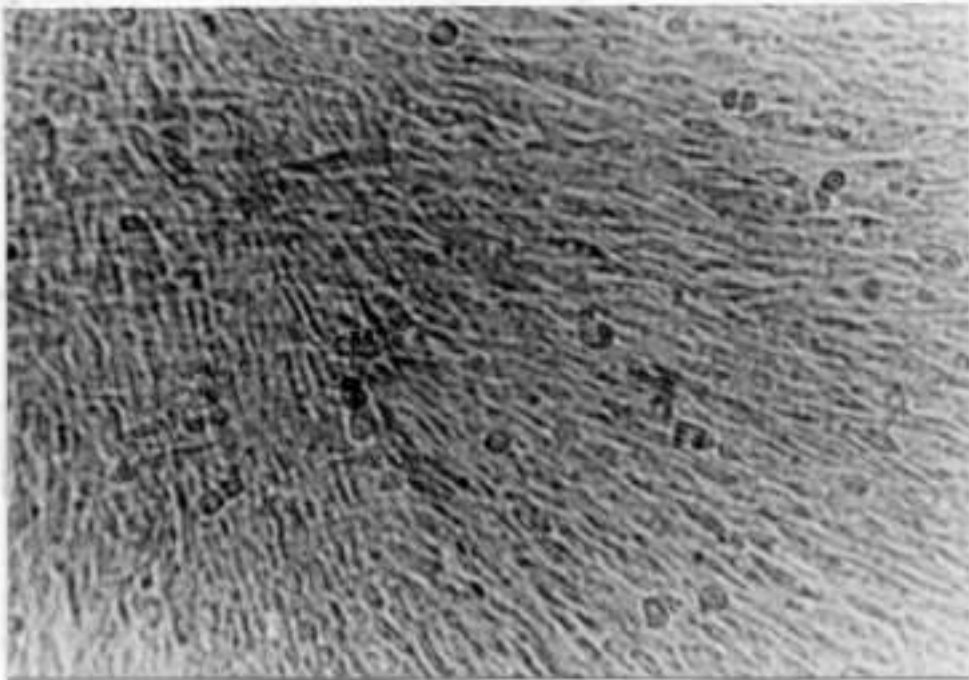
Lanjutan tabel 2. hasil titrasi virus PMK 0 Java 83

No. Pasasi	NO. Kode pasasi	Sel dan no. pasasi	% CPE	TC ID ₅₀	Rata-rata TC ID ₅₀
P. VI.	PMK/0'83/Ct/VI/3	BHK ₂₁ /3p/63/5	85 %	10 ^{5,9571}	10 ^{6,20}
	PMK/0'83/Ct/VI/4	BHK ₂₁ /3p/63/4	85 %	10 ⁶	
	PMK/0'83/Ct/VI/5	BHK ₂₁ /3p/63/2	85 %	10 ^{5,2666}	
P. VII.	PMK/0'83/Ct/VII/1	BHK ₂₁ /3p/65/3	80 %	10 ^{6,75}	10 ^{6,70}
	PMK/0'83/Ct/VII/2	BHK ₂₁ /3p/64/7	85 %	10 ^{5,5}	
	PMK/0'83/Ct/VII/3	BHK ₂₁ /3p/65/4	85 %	10 ^{7,2666}	
	PMK/0'83/Ct/VII/4	BHK ₂₁ /3p/65/2	85 %	10 ^{5,75}	
	PMK/0'83/Ct/VII/5	BHK ₂₁ /3p/65/1	90 %	10 ^{5,5}	
P. VIII.	PMK/0'83/Ct/VIII/1	BHK ₂₁ /3p/68/2	99 %	10 ^{7,7333}	10 ^{7,87}
	PMK/0'83/Ct/VIII/2	BHK ₂₁ /3p/68/3	99 %	10 ^{4,75}	
	PMK/0'83/Ct/VIII/3	BHK ₂₁ /3p/68/1	99 %	10 ^{4,5}	
	PMK/0'83/Ct/VIII/4	BHK ₂₁ /3p/68/5	99 %	10 ^{8,5}	
	PMK/0'83/Ct/VIII/5	BHK ₂₁ /3p/69/2	99 %	10 ^{6,7333}	

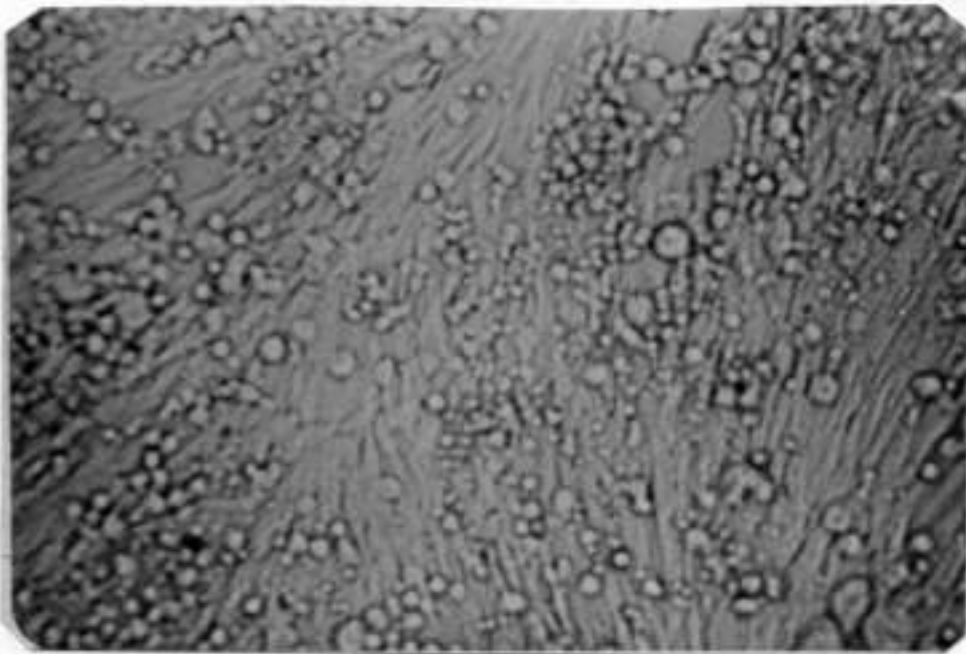
Lanjutan tabel 2. hasil titrasi virus PMK 0 Java 83

No. Pasasi	No. Kode pasasi	Sel dan no.pasasi	% CPE	TC ID ₅₀	Rata-rata TC ID ₅₀
P. IX.	PMK/0'83/Ct/IX/1	BHK ₂₁ /3p/63/2	99 %	10 ^{4,75}	10 ^{7,54}
	PMK/0'83/Ct/IX/2	BHK ₂₁ /3p/63/1	99 %	10 ^{7,9571}	
	PMK/0'83/Ct/IX/3	BHK ₂₁ /3p/68/4	99 %	10 ^{7,4999}	
	PMK/0'83/Ct/IX/4	BHK ₂₁ /3p/68/3	99 %	10 ^{5,75}	
	PMK/0'83/Ct/IX/5	BHK ₂₁ /3p/68/6	99 %	10 ^{7,7333}	
P. X.	PMK/0'83/Ct/X/1	BHK ₂₁ /3p/69/6	99 %	10 ^{7,4999}	10 ^{7,95}
	PMK/0'83/Ct/X/2	BHK ₂₁ /3p/69/5	99 %	10 ^{5,75}	
	PMK/0'83/Ct/X/3	BHK ₂₁ /3p/69/7	99 %	10 ^{8,5}	
	PMK/0'83/Ct/X/4	BHK ₂₁ /3p/69/4	99 %	10 ^{5,75}	
	PMK/0'83/Ct/X/5	BHK ₂₁ /3p/69/1	99 %	10 ⁸	

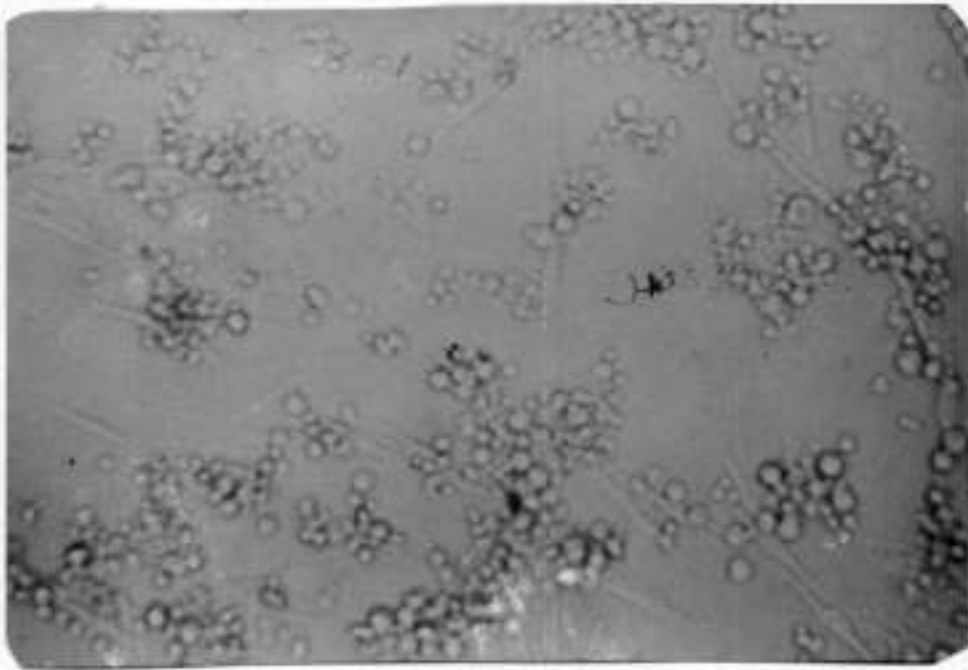




Gambar 1. Pertumbuhan sel monolayer BHK₂₁ normal



Gambar 2. Awal terbentuknya Cyto Pathogenic Effect (CPE)



Gambar 3. Bentukan Cyto Pathogenic Effect oleh virus PMK.

BAB V

P E M B A H A S A N

Pengenalan suatu penyakit adalah sangat penting se kali sesuai dengan tujuan penelitian dan program pemerin tah dalam pemberantasan Penyakit Mulut dan Kuku di Indo- nesia. Hal ini karena pada pertengahan Juli 1983 terjadi wabah PMK di perbatasan Jawa Timur dengan Jawa Tengah, se hingga dalam melakukan pemberantasan sangat memerlukan kualitas vaksin yang baik, dalam arti dapat menimbulkan kekebalan yang tinggi pada hewan yang divaksin atau mam- pu menahan uji tantang terhadap virus penyebab wabah - (Ronoharjo, dkk, 1984). Untuk mencapai tingkat kualiti- tas yang tinggi maka setidaknya-tidaknya harus memperhitun- kan beberapa hal antara lain yang paling baik adalah si fat-sifat virus yang menimbulkan wabah (Clark dan Spier, 1977).

Salah satu sifat dari hasil penelitian, menunjukkan pertumbuhan virus dari pasasi ke pasasi ada pengaruhnya, pada pasasi pertama tercepat karena jumlah molekuler yang diberikan lebih banyak dari pada pasasi berikutnya, selain itu tingkat infeksius virus pada sel epitel dan sel BHK₂₁ berbeda. Sedang pasasi kedua terendah, yang la in mulai dari pasasi kedua hingga pasasi kelima bervaria- si, ada beberapa peneliti berpendapat bahwa bervariasi - nya pertumbuhan virus karena virus belum stabil yang di- sebabkan virus belum adaptasi secara sempurna. Selanjut-

nya sampai pasasi kesembilan pertumbuhannya semakin cepat dan stabil pada pasasi kesepuluh, karena adaptasi virus semakin sempurna (Clarke dan Spier, 1980).

Sementara itu, menurut para ahli-ahli laboratorium berpendapat, pertumbuhan virus PMK yang diadaptasikan pada sel monolayer BHK₂₁, mencapai titik optimum rata-rata - 20 jam. tetapi tidak seperti halnya dalam penelitian ini. Hal ini mungkin dipengaruhi beberapa faktor yang ada, an tara lain waktu pengerjakan memerlukan waktu yang lama, - kepekaan masing-masing strain sel terhadap virus, untuk mencapai sterilitas bahan dan alat-alat pada waktu melakukan penanaman virus (Inokulasi) menggunakan api bunsen, sedangkan virus sendiri tidak tahan terhadap pemanasan (Hyattsville, 1980, Pereira, 1980). Sehingga virus ada yang mengalami degradasi protein, dengan demikian daya vi rulensi virus berkurang.

Stabilitas virus dalam biakkan sel sangat dipengaruhi suhu penyimpanan dan sterilitas bahan media dan alat - alat, antara lain waktu menyimpan virus dalam Cold room a taupun dalam Freezer, sangat sulit dikontrol karena lis - trik sering mati, sedangkan virus bisa stabil bila suhu - ruang penyimpan stabil. Sedang menurut Telling et al. (1966), bahwa sterilitas bahan dan alat-alat tergantung pada waktu melakukan filtrasi, pengambilan bahan pada waktu bottling.

Di dalam adaptasi virus yang perlu diperhatikan adalah menjaga stabilitas virus, karena sifat virus PMK -

sensitif terhadap pH kurang dari 6,5 dan lebih dari pH 8, sedang dalam penelitian ini sulit untuk mengontrol pH sewaktu menambahkan media kedalam biakkan, bila terlalu lama maka media cepat menjadi basa. Dengan demikian pertumbuhan virus akan terhambat karena virus aktif pada pH 7,2 - 7,6. Tetapi bila terlalu asam dapat dikontrol dengan menambahkan bicarbonas 8,8 %, hal inipun sulit untuk dilakukan karena bila dalam menambahkan kurang cermat akan meningkatkan pH yang tidak diharapkan, dengan demikian parameter pH sangat menentukan dalam adaptasi virus PMK O Java 83 (Nardeli dan Panina, 1977).

Dari hasil rata-rata tingkat infeksius antar pasasi menunjukkan , setiap peningkatan pasasi diikuti dengan peningkatan harga titer log. virus TC ID₅₀/0,1 ml. walaupun pada pasasi sembilan mengalami sedikit penurunan harga titer. Hal ini karena perlakuan thawing yang berkali-kali - menyebabkan stabilitas virus menurun sehingga daya menginfeksi sel menurun, selain itu kemungkinan dipengaruhi pada waktu melakukan pengenceran yang selalu memerlukan pendinginan dan beberapa faktor yang ada, karena makin banyak faktor yang mempengaruhi dalam titrasi makin kurang nyata tingkat infeksius virus PMK O Java 83 dalam menimbulkan - Cyto Pathogenic Effect (CPE). antara lain pH suspensi, macam suspensi sel, jumlah suspensi sel dan sterilitas dalam melakukan titrasi, baik sterilitas media dengan alat-alat maupun sterilitas tempat bekerja. Hal ini sangat didukung oleh para peneliti lainnya (Kongthon, 1985).

Faktor lain yang perlu diperhatikan juga, adalah macam suspensi sel, bila biakkan sel yang dipakai sudah terlalu tua maka mempengaruhi titer yang dihasilkannya. Dengan demikian dalam melakukan titrasi perlu dipersiapkan biakkan sel yang masih mudah dengan konsentrasi sel lebih dari 80 % (Zoletto dan Gagliardi, 1977).

Yang paling peka lagi adalah sterilitas dari pada bahan dan alat-alat, karena paling banyak mempengaruhi dalam pengamatan hasil titrasi disamping itu juga kecermatan sipeneliti dalam melakukan titrasi, apabila terkontaminasi maka CPE yang ditimbulkan tidak jelas terlihat dimikroskop. Yang sering mengkontaminasi adalah bakteri, fungi dan yeast keadaan ini sering dialami oleh para - peneliti lainnya (Kongthon, 1985).

Virus dapat dibuat vaksin, bila serendah-rendahnya daya infeksiya 10^6 TC ID₅₀/0,1 ml. sedangkan dalam penelitian ini $10^{6,20}$ TC ID₅₀/0,1 ml. didapatkan pada pasasi ke enam dan yang paling tinggi didapatkan pada pasasi ke sepuluh $10^{7,95}$ TC ID₅₀/0,1 ml. dengan demikian pasasi ke enam, dari adaptasi virus PMK O Java 83 sudah dapat dibuat vaksin, tetapi yang paling baik adalah pasasi ke sembilan dan ke sepuluh walaupun titer log. pada pasasi ke sembilan hanya $10^{7,54}$ TC ID₅₀/0,1 ml. karena sifat pertumbuhan virus sudah stabil. Sehingga daya virulensi untuk menimbulkan kekebalan cukup tinggi.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil data yang diperoleh dari penelitian - tanggal 5 Februari sampai dengan 17 Juni 1985 (Tabel I dan II), disamping hasil analisa data, maka dapat ditarik beberapa kesimpulan sesuai dengan tujuan penelitian dan latar belakang dari permasalahan yang ada yaitu Virologi pada umumnya dan virus PMK O Java 83 pada khususnya, dengan demikian hasilnya dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Semakin besar pasasi semakin cepat pertumbuhan virus PMK O Java 83, kecuali pada pasasi I sampai IV naik turun.
2. Semakin besar pasasi semakin tinggi titer log. virus TC ID₅₀/0,1 ml. kecuali pasasi IX . "
3. Ternyata pada pasasi VIII sampai X pertumbuhan virus PMK O Java 83 mulai stabil dengan nilai - harga titer log. virus TC ID₅₀/0,1 ml. cukup - tinggi, dengan demikian pada pasasi VIII sudah bisa dibuat vaksin.

Saran-saran

Dengan dilandasi ureian permasalahan dari hasil - penelitian maka timbul suatu pemikiran baru yang erat - hubungannya dengan latar belskeng masalah. Sebagai kom - pensasi dasar pemecahan masalah yang ada, penulis mena-

rik beberapa saran sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan karena selama ini standard tentang sifat-sifat virus - PMK O Java 83 di Indonesia belum jelas, terutama dalam pengukuran kadar 140 S dari virus PMK O Java 83, maka diharapkan dengan adanya penelitian lanjutan dapat melengkapi data yang ada sehingga sifat virus PMK O Java 83 bisa lengkap dan jelas, dengan demikian kualitas vaksin bisa tercapai dan terarah dapat menimbulkan kekebalan yang cukup tinggi.
2. Sesuai dengan cita-cita pemerintah Indonesia - ingin membebaskan Penyakit Mulut Kuku di Indonesia, salah satu cara yang ekonomis adalah - dengan cara vaksinasi. Dengan demikian sangat - perlu sekali diadakan bank-bank vaksin PMK O - Java 83, sehingga apabila ada wabah PMK pemerintah Indonesia tidak perlu lagi mengimport - vaksin. Dengan dasar pemikiran ini kemungkinan introduksi virus PMK yang mempunyai sifat-sifat atau sub tipe yang berbeda dengan di Indonesia kecil sekali.

BAB VII

RINGKASAN

Salah satu cara yang efisien dalam penanggulangan wabah Penyakit Mulut dan Kuku hingga saat ini adalah vaksinasi, sehingga tuntutan terhadap kualitas vaksin sangat besar pengaruhnya. Untuk memenuhi tuntutan dari kualitas vaksin tidak lepas dari pengenalan sifat-sifat virus itu sendiri khususnya di Indonesia adalah virus PMK O Java 83, yang diharapkan nantinya dapat memberi kekebalan yang sesuai dengan sifat-sifat virus PMK yang ada di Indonesia.

Didalam memproduksi vaksin secara besar-besaran digunakan sel BHK₂₁ Clone₁₃ karena lebih praktis dan lebih efisien dari pada dengan metode lainnya.

Pelaksanaan penelitian ini menggunakan biakkan sel monolayer BHK₂₁ Clone₁₃ dan suspensi sel BHK₂₁ Clone₁₃. Indikasi pertumbuhan virus ditandai dengan adanya bentukan Cyto Pathogenic Effect (CPE) setelah penanaman (Inokulasi).

Sebagai obyek penelitian, adalah virus PMK O Java 83 yang di adaptasikan pada sel monolayer BHK₂₁ Clone₁₃ dalam roux yang diinkubasikan pada temperatur 37°C dan di amati lama pertumbuhan virus dengan ditandai adanya bentukan CPE dan diteruskan penghitungan tingkat infeksius virus PMK O Java 83, hal ini dilakukan sampai pasasi ke sepuluh.

Bahan virus yang digunakan, adalah virus PMK O Java 83 yang berasal dari epitel lidah sapi yang ditulari dengan dengan isolat virus dari wabah tahun 1983.

Hasil penelitian, ternyata pertumbuhan virus PMK O Java 83, makin besar pasasi makin cepat pertumbuhan virus karena virus sudah beradaptasi. Pertumbuhan yang terendah pada pasasi ke dua dengan rata-rata 30,2 jam sedangkan pasasi sembilan dan ke sepuluh mempunyai tingkat pertumbuhan yang sama, dengan rata-rata 20 jam. Hal ini karena sifat virus sudah stabil pada pasasi sembilan dan ke sepuluh dalam biakkan sel BHK₂₁ Clone₁₃.

Sementara itu, tingkat infeksius yang mempunyai harga titer terendah adalah pasasi pertama, dengan harga rata-rata $10^{2,39}$ TC ID₅₀/0,1 ml. Sedang yang mempunyai harga titer tertinggi adalah pasasi ke sepuluh dengan harga titer rata-rata $10^{7,95}$ TC ID₅₀/0,1ml. Dengan demikian dapat diartikan, makin besar pasasi, makin besar harga titer log. virus TC ID₅₀/0,1 ml. kecuali pasasi ke sembilan.

Virus yang dibuat vaksin bila minimum mempunyai harga titer log. virus 10^6 TC ID₅₀/0,1 ml. sedangkan hasil penelitian ini, pasasi ke enam mempunyai nilai harga titer log. virus $10^{6,20}$ TC ID₅₀/0,1 ml., dengan demikian sifat virus PMK O Java 83 yang diadaptasikan pada sel BHK₂₁ Clone₁₃ sampai pada pasasi ke enam sudah bisa dibuat vaksin, tetapi yang paling baik pasasi sembilan dan sepuluh.

DAFTAR KEPUSTAKAAN

- Anonimous, (1984). Buku Statistik Peternakan. Dit. Bina Program. Direktorat Jendral Peternakan. Departemen Pertanian. Jakarta. 73 - 78
- Anonimous, (1983). Bulletin Epidemiologi Veteriner Direktorat Kesehatan Hewan. Direktorat Jendral Peternakan. Departemen Pertanian. Jakarta. Vol. III. No. 40. 5 - 12
- Anonimous, (1982). Wellcome Foot and Mouth Disease Vaccines. 7 - 22.
- Anonimous, (1982). Buku Saku Peternakan. Dit. Bina Program. Direktorat Jendral Peternakan. Departemen Pertanian. Jakarta. 56 - 63.
- Anonimous, (1978). Pedoman Pengendalian Penyakit Hewan Menular. Direktorat Kesehatan Hewan. Direktorat Jendral Peternakan. Departemen Pertanian. Jakarta. 23-24.
- Bekkum, J.G. (1978). Factors Affecting the Quality of Foot and Mouth Disease Vaccines. Br. Vet. J. Vol. 134, No.1, 68 - 70.
- Brown, F. (1981). Foot and Mouth Disease Virus Reprinted from in Biochemical Science. Vol.6, No.12. 325 -327
- Bruner, D.W. and J.H. Gillespie. (1973). Hagan's Infectious of Domestic Animal. 6th Ed. Comstock Publishing Associates a Devision Cornell University Press Ithaca and London. 1205 - 1228.

- Callis, J.J. (1978). National and International Foot and Mouth Disease Control Programmes in Panama, Central and North America. *Br. Vet. J.* Vol.134. No.1. 10-15.
- Capstick, P.B. (1978). Foot and Mouth Disease Control - Programmes in Africa. *Br. Vet. J.* Vol.134. No.1. 34 - 37.
- Clarke, J.B. and R.E. Spier. (1977). Studies on the Susceptibility to Foot and Mouth Disease Virus of BHK Cell Cultures Derived from Various Sources. *Developments Biological Standardization.* Vol.35. 61-66.
- Clarke, J.B. and R.E. Spier. (1980). Variation in the Susceptibility of BHK Populations and Cloned Cell Lines to Three Strains of Foot and Mouth Disease Virus. *Archives of Virology.* Vol.63. 1 - 9.
- Cottral, G.E. (1978). *Manual of Standardize Methode for Veterinary Microbiology.* 1st Ed. Comstock Publishing a Division of Cornell University Press. Ithaca and London. 247 - 251.
- Dawe, P.S. (1978). Seasonal Foot and Mouth Disease and its Control in Malawi. *Br. Vet. J.* Vol.134. No. 3. 249 - 256.
- Fernandez, A.A. (1978). Types and Subtypes of Foot and Mouth Disease Virus Currently Found in South. *Br. Vet. J.* Vol. 134. No.1. 53 - 57.
- George, E.P., W.G. Hunter., J.S. Hunter. (1978). *Statistic for Experiment an Introduction to Design, Data Analysis and Model Building,* John Weley and Sone. New York. 196 - 205.

- Henderson, W.M. (1978). An Historical Review of the Control of Foot and Mouth Disease Br. Vet. J. Vol.134 No.1. 3 - 9.
- Hyattsville. (1980). Foot and Mouth Disease Guidelines - for Eradication, Animal and Plant Health Inspection service. United States Departement of Agriculture. 62, 87 - 92.
- Hutasoit, J.H. (1984). Pembangunan Sub Sektor Peternakan dan Perikanan Tahun I Pelita IV. Bahan Rapat Kerja dengan Komisi DPR. RI. di Jakarta. 7 - 11.
- James, A.D. and P.R. Ellis. (1978). Benefit Cost Analysis in Foot and Mouth Disease Control Programmes. Br. Vet. J. Vol.134. No.1. 47 - 50.
- Jensen, R. (1974). Disease of Sheep. College of Veterinary and Biomedical Science and Agriculture Experiment Station Colorado State University Fort Collins. Lea and Febiger Philadelphia. 221 - 225.
- Kamolsiripichaiporn, S. (1985). Characteristics of Foot and Mouth Disease, FMD Vaccine Production Center, Nongsari, Nakorn Rachatsima Thailand. 1 - 7.
- Kongthon, A.B. (1985). Quality Control of Foot and Mouth Disease Vaccine Production Center, Nongsari, Pakong, Nakorn Rachatsima Thailand. 1 - 9.
- Makarasen, P.,P. Sinsuwonkwat., Chinsawaddpun., T. Tokui and T. Motohasi. (1982). Large Scale Production of FMD Vaccine Using BHK Cells in Thailand in Fievre Apteuse Foot and Mouth Disease Fiebre Aftosa. Vol. 1. 153 - 164.

- Martin, S.J. (1978). *The Biochemical or Viruses*, Cambridge University Press. Cambridge. 11 - 17, 138.
- Melendez, L.V., L. Blajan and H. Sihapanya. (1982). *The Reporting of Foot and Mouth Disease Outbreaks by - the Office International des Epizooties in Fievre - Aphteuse Foot and Mouth Disease Fiebre Aftosa . Vol. 2. 685 - 690.*
- Merchant, I.A. and R.A. Pecker. (1961). *Veterinary Bacteriology. 6th Ed.* The Iowa State University Press Ames. 755 - 759.
- Merchant, I.A. and R.A. Pecker. (1967). *Veterinary Bacteriology. 7th Ed.* The Iowa State University Press Ames. 687 - 689.
- Mowat, G.N. (1978). *Foot and Mouth Control Program in Europe and the Middle East. Br. Vet. J. Vol. 134, No. 1. 38 - 41.*
- Nardelli, L. and G.F. Panina (1977). *The Use of Suspension Cultures for FMD Vaccine Production. Criteria for - the Evaluation of Cell, Virus and Vaccine. Development Biological Standardization. Vol. 35. 9 - 26.*
- Osman Bin Din, D. (1982). *The Control of Foot and Mouth Disease in the South East Asian Region in Fievre Ap theuse Foot and Mouth Disease Fiebre Aftosa. Vol.2. 599 - 612.*
- Pay, T.W.F. (1957). *The Propagation of the Virus of Foot and Mouth Disease in Monolayer Culture of Adult Bovine Tongue Epithelium. Recent Advances in the Use of Tissue Culture Methode in Virus Research, Proce-*

- ding of the Royal Society of Medicine vol.50, No. 10, 919 - 922.
- Paul, J. (1975). Cell and Tissue Culture. 5th Ed. Aberdeen University Press. 412.
- Pereira, H.G. (1977). Subtyping Foot and Mouth Disease Virus. Development Biological Standardization. Vol.35. 167 - 174.
- Pereira, H.G. (1980). Foot and Mouth Disease. Animal Virus Research Institut, Perbriht, Woking Surrey G.U. 24 ONF. U.K. 333 - 359.
- Ressang, A.A. (1984). Pathologi Khusus Veteriner. No.V. Percetakan Denpasar, Denpasar. 449 - 451.
- Richard, R.A. (1978). Implication of Trends in Livestock Production for the Control of Foot and Mouth Disease Br. Vet. J. Vol.134, No.1. 38 - 41.
- Ronoharjo, P., Hendarli., A. Adjid., A. Wiryono. (1984). Potensi Berbagai Vaksin Mulut Kuku yang Dipakai dalam Pemberantasan Wabah Penyakit. Balai Penelitian Hewan Bogor. Veterinaria Farma Surabaya. 189 - 196.
- Sinsuwonkwat,P. (1985). Vaccine and Vaccine Production. Vaccine Production Section Foot and Mouth Disease Vaccine Production Center. Dept. of Livestock Development, Thailand. 1 - 15.
- Sukobagyo. (1976). Penyakit Apthae Epizootioae di Indone_{sia}. Direktorat Kesehatan Hewan. Direktorat Jendral Peternakan. Departemen Pertanian.

- Telling, R.C., J. Stone and M.A. Maskell. (1966). Sterilization of Tissue Culture Medium by Filtration on a large Laboratory Scale. *Biotechnology and Bioengineering*. Vol. VIII. 153 - 165.
- Terre, J., C. Stellmann., A. Brun., H. Favre., J. Fotain. (1985). Potency Testing of Foot and Mouth Disease Vaccine on Cattle, IFFA - MERIEUX - Veterinary Department of the MERIEUX INSTITUTE, Marcel Merieux. 1 - 11.
- Thomas, R. and Thedford. (1984). Goat Health Handbook - Fieldguide for Producers with Limited Veterinary Service Agriculture Experiment Station Division of Agriculture University of Arkansas. 53 - 54.
- Thorne, H.V. and S.F. Cartwright. (1961). Reaction of the Virus of Foot and Mouth Disease With Cells and Cell Debris. by Academic Press. Vol.15, No.3, 245 - 257.
- Zoletto, R. and G. Gagliardi (1977). New Media and their Advantage in the Production of Suspended Cells and Foot and Mouth Disease Virus. *Development Biological Standardization*. Vol.35. 27 - 35.

Lampiran I : Perhitungan titresi virus TC ID₅₀/0,1 ml.

Pasasi I

No. 1

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
						tingkat kematian	
				mati	hidup	ratio	presentase
10 ⁻¹	4/4	4	0	7	0	7/7 x 100 %	100 %
10 ⁻²	2/4	2	2	3	2	3/5 x 100 %	60 %
10 ⁻³	1/4	1	3	1	5	1/6 x 100 %	16,66 %
10 ⁻⁴	0/4	0	4	0	9	0/9 x 100 %	0 %
10 ⁻⁵	0/4	0	4	0	13	0/13 x 100 %	0 %

$$\begin{aligned}
 D &: \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3 + h_4) 1 - 1/2 d \\
 &: -1 - (0,60 + 0,1666 + 0 + 0) 1 - 0,5 \\
 &: -1 - (0,7666) 1 - 0,5 \\
 &: -1,7666 - 0,5 \\
 &: -2,2666 \\
 \text{TC ID}_{50} &: 10^{2,2666}
 \end{aligned}$$

Passi I

No. 2

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
						tingkat kematian	
				mati	hidup	ratio	presentase
10^{-1}	4/4	4	0	8	0	$8/8 \times 100 \%$	100 %
10^{-2}	2/4	2	2	4	2	$4/6 \times 100 \%$	66,66 %
10^{-3}	2/4	2	2	2	4	$2/6 \times 100 \%$	33,33 %
10^{-4}	0/4	0	4	0	8	$0/8 \times 100 \%$	0 %
10^{-5}	0/4	0	4	0	12	$0/12 \times 100 \%$	0 %

$$\begin{aligned}
 D &: \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3 + h_4) 1 - 1/2 d \\
 &: -1 - (0,6666 + 0,3333 + 0 + 0) 1 - 0,5 \\
 &: -1 - (0,9999) 1 - 0,5 \\
 &: -1 - 0,9999 - 0,5 \\
 &: -2,4999 \\
 \text{TC ID}_{50} &: 10^{2,4999}
 \end{aligned}$$

Lampiran II : Perhitungan titrasi virus TC ID₅₀/0,1 ml.

Pasasi II

No. 1

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
						tingkat kematian	
				mati	hidup	ratio	presentase
10 ⁻²	4/4	4	0	11	0	11/11 x 100 %	100 %
10 ⁻³	4/4	4	0	7	0	7/7 x 100 %	100 %
10 ⁻⁴	3/4	3	1	3	1	3/4 x 100 %	75 %
10 ⁻⁵	0/4	0	4	0	5	0/5 x 100 %	0 %
10 ⁻⁶	0/4	0	4	0	9	0/9 x 100 %	0%

$$D : \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3) 1 - 1/2 d$$

$$: -3 - (0,75 + 0 + 0) 1 - 0,5$$

$$: -3 - (0,75) 1 - 0,5$$

$$: -3 - 0,75 - 0,5$$

$$: -4,25$$

$$TC ID_{50} : 10^{4,25}$$

Pasasi II

No. 2

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
						tingkat kematian	
				mati	hidup	ratio	presentase
10^{-2}	4/4	4	0	8	0	$8/8 \times 100 \%$	100 %
10^{-3}	4/4	4	0	4	0	$4/4 \times 100 \%$	100 %
10^{-4}	0/4	0	4	0	4	$0/4 \times 100 \%$	0 %
10^{-5}	0/4	0	4	0	8	$0/8 \times 100 \%$	0 %
10^{-6}	0/4	0	4	0	12	$0/12 \times 100 \%$	0 %

$$D : \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3) \left(1 - \frac{1}{2} d \right)$$

$$: -3 - (0 + 0 + 0) \left(1 - 0,5 \right)$$

$$: -3 - (0) \left(1 - 0,5 \right)$$

$$: -3 - 0,5$$

$$: -3,5$$

$$TC \cdot ID_{50} : 10^{3,5}$$

Pasasi II

No. 3

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
				matâ	hidup	tingkat kematian	
						ratio	presentase
10^{-2}	4/4	4	0	6	0	$6/6 \times 100 \%$	100 %
10^{-3}	2/4	2	2	2	2	$2/4 \times 100 \%$	50 %
10^{-4}	0/4	0	4	0	6	$0/6 \times 100 \%$	0 %
10^{-5}	0/4	0	4	0	10	$0/10 \times 100 \%$	0 %
10^{-6}	0/4	0	4	0	14	$0/14 \times 100 \%$	0 %

$$D : \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3 + h_4) 1 - 1/2 d$$

$$: -2 - (0,50 + 0 + 0 + 0) 1 - 0,5$$

$$: -2 - (0,50) 1 - 0,5$$

$$: -2 - 0,50 - 0,5$$

$$: -2,50 - 0,5$$

$$: -3$$

$$TC ID_{50} : 10^3$$

Pasasi II

No, 4

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
						tingkat kematian	
				mati	hidup	ratio	presentase
10^{-2}	4/4	4	0	8	0	$8/8 \times 100 \%$	100 %
10^{-3}	4/4	4	0	4	0	$4/4 \times 100 \%$	100 %
10^{-4}	0/4	0	4	0	4	$0/4 \times 100 \%$	0 %
10^{-5}	0/4	0	4	0	8	$0/8 \times 100 \%$	0 %
10^{-6}	0/4	0	4	0	12	$0/12 \times 100 \%$	0 %

$$D : \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3) 1 - 1/2 d$$

$$: -3 - (0 + 0 + 0) 1 - 0,5$$

$$: -3 - (0) 1 - 0,5$$

$$: -3 - 0,5$$

$$: -3,5$$

$$TC ID_{50} : 10^{3,5}$$

Pasasi II

No. 5

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
						tingkat kematian	
				mati	hidup	ratio	presentase
10^{-2}	4/4	4	0	8	0	$8/8 \times 100 \%$	100 %
10^{-3}	4/4	4	0	4	0	$4/4 \times 100 \%$	100 %
10^{-4}	0/4	0	4	0	4	$0/4 \times 100 \%$	0 %
10^{-5}	0/4	0	4	0	8	$0/8 \times 100 \%$	0 %
10^{-6}	0/4	0	4	0	12	$0/12 \times 100 \%$	0 %

$$D : \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3) 1 - 1/2 d$$

$$: -3 - (0 + 0 + 0) 1 - 0,5$$

$$: -3 - (0) 1 - 0,5$$

$$: -3 - 0,5$$

$$: -3,5$$

$$TC ID_{50} : 10^{3,5}$$

Pasasi III
No.1

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
						tingkat kematian	
				mati	hidup	ratio	presentase
10 ⁻²	4/4	4	0	16	0	16/16 x 100 %	100 %
10 ⁻³	4/4	4	0	12	0	12/12 x 100 %	100 %
10 ⁻⁴	4/4	4	0	8	0	8/8 x 100 %	100 %
10 ⁻⁵	2/4	2	2	4	2	4/6 x 100 %	66,66 %
10 ⁻⁶	2/4	2	2	2	4	2/6 x 100 %	33,33 %
10 ⁻⁷	0/4	0	4	0	8	0/8 x 100 %	0 %

$$\begin{aligned}
 D &: \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3) - 1/2 d \\
 &: -4 - (0,6666 + 0,3333 + 0) - 0,5 \\
 &: -4 - (0,9999) - 0,5 \\
 &: -4 - 0,9999 - 0,5 \\
 &: -5,4999 \\
 \text{TC ID}_{50} &: 10^{5,4999}
 \end{aligned}$$

Pasasi III

No. 2

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
						tingkat kematian	
				mati	hidup	ratio	presentase
10^{-2}	4/4	4	0	11	0	11/11 x 100 %	100 %
10^{-3}	4/4	4	0	9	0	9/9 x 100 %	100 %
10^{-4}	3/4	3	1	5	1	5/6 x 100 %	83,33 %
10^{-5}	1/4	1	3	2	4	2/6 x 100 %	33,33 %
10^{-6}	1/4	1	3	1	7	1/8 x 100 %	12,5 %
10^{-7}	0/4	0	4	0	11	0/11 x 100 %	0 %

$$\begin{aligned}
 D &: \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3 + h_4) \cdot 1 - 1/2 d \\
 &: -3 - (0,8333 + 0,3333 + 0,125 + 0) \cdot 1 - 0,5 \\
 &: -3 - (1,2916) \cdot 1 - 0,5 \\
 &: -3 - 1,2916 - 0,5 \\
 &: -4,2916 - 0,5 \\
 &: -4,7916 \\
 TC \text{ ID } 50 &: 10^{4,7916}
 \end{aligned}$$

Pasasi III

No. 3

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
						tingkat kematian	
				mati	hidup	ratio	presentase
10^{-2}	4/4	4	0	9	0	$9/9 \times 100 \%$	100 %
10^{-3}	3/4	3	1	5	1	$5/6 \times 100 \%$	83,33 %
10^{-4}	1/4	1	3	2	4	$2/6 \times 100 \%$	33,33 %
10^{-5}	1/4	1	3	1	7	$1/8 \times 100 \%$	12,5 %
10^{-6}	0/4	0	4	0	11	$0/11 \times 100 \%$	0 %

$$\begin{aligned}
 D &: \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3 + h_4) \cdot 1 - 1/2 d \\
 &: -2 - (0,8333 + 0,3333 + 0,125 + 0) \cdot 1 - 0,5 \\
 &: -2 - (1,2916) \cdot 1 - 0,5 \\
 &: -2 - 1,2916 - 0,5 \\
 &: -3,7916 \\
 TC ID_{50} &: 10^{3,916}
 \end{aligned}$$

Lampiran III

Pasasi III

No. 4

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
				tingkat kematian		tingkat kematian	
				mati	hidup	ratio	presentase
10^{-2}	4/4	4	0	9	0	$9/9 \times 100 \%$	100 %
10^{-3}	4/4	4	0	5	0	$5/5 \times 100 \%$	100 %
10^{-4}	1/4	1	3	1	3	$1/4 \times 100 \%$	25 %
10^{-5}	0/4	0	4	0	7	$0/7 \times 100 \%$	0 %
10^{-6}	0/4	0	4	0	11	$0/11 \times 100 \%$	0 %

$$D : \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3) 1 - 1/2 d$$

$$: -3 - (0,25 + 0 + 0) 1 - 0,5$$

$$: -3 - (0,25) 1 - 0,5$$

$$: -3 - 0,25 - 0,5$$

$$: -3,75$$

$$TC ID_{50} : 10^{3,75}$$

Pasasi III
No. 5

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
						tingkat kematian	
				mati	hidup	ratio	presentase
10^{-2}	4/4	4	0	11	0	$11/11 \times 100 \%$	100 %
10^{-3}	4/4	4	0	7	0	$7/7 \times 100 \%$	100 %
10^{-4}	3/4	3	1	3	1	$3/4 \times 100 \%$	75 %
10^{-5}	0/4	0	4	0	5	$0/5 \times 100 \%$	0 %
10^{-6}	0/4	0	4	0	9	$0/9 \times 100 \%$	0 %

$$\begin{aligned}
 D &: \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3) - 1/2 d \\
 &: -3 - (0,75 + 0 + 0) - 0,5 \\
 &: -3 - (0,75) - 0,5 \\
 &: -3 - 0,75 - 0,5 \\
 &: -4,25 \\
 TC ID &: 10^{4,25}
 \end{aligned}$$

Lampiran IV : Perhitungan titrasi virus TC ID₅₀/0,1 ml.

Pasasi IV

No.1

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
				mati	hidup	tingkat kematian	
						ratio	presentase
10 ⁻³	4/4	4	0	12	0	12/12 x 100 %	100 %
10 ⁻⁴	4/4	4	0	8	0	8/8 x 100 %	100 %
10 ⁻⁵	4/4	4	0	4	0	4/4 x 100 %	100 %
10 ⁻⁶	0/4	0	4	0	4	0/4 x 100 %	0 %
10 ⁻⁷	0/4	0	4	0	8	0/8 x 100 %	0 %
10 ⁻⁸	0/4	0	4	0	12	0/12 x 100 %	0 %

$$D : \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3) 1 - 1/2 d$$

$$: -5 - (0 + 0 + 0) 1 - 0,5$$

$$: -5 - (0) 1 - 0,5$$

$$: -5 - 0,5$$

$$: -5,5$$

$$TC ID_{50} : 10^{5,5}$$

Pasasi IV

No. 2

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
						tingkat kematian	
				mati	hidup	ratio	presentase
10^{-4}	4/4	4	0	6	0	$6/6 \times 100 \%$	100 %
10^{-5}	2/4	2	2	2	2	$2/4 \times 100 \%$	50 %
10^{-6}	0/4	0	4	0	6	$0/6 \times 100 \%$	0 %
10^{-7}	0/4	0	4	0	10	$0/10 \times 100 \%$	0 %
10^{-8}	0/4	0	4	0	14	$0/14 \times 100 \%$	0 %

$$\begin{aligned}
 D &: \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3 + h_4) \cdot 1 - 1/2 d \\
 &: -4 - (0,5 + 0 + 0 + 0) \cdot 1 - 0,5 \\
 &: -4 - (0,5) \cdot 1 - 0,5 \\
 &: -4 - 0,5 - 0,5 \\
 &: -5 \\
 TC ID_{50} &: 10^5
 \end{aligned}$$

Pasasi IV
No. 3

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup		Nilai akumulasi		
			mati	hidup	tingkat kematian		
			ratio	presentase			
10^{-3}	4/4	4	0	9	0	$9/9 \times 100 \%$	100 %
10^{-4}	3/4	3	1	5	1	$5/6 \times 100 \%$	83,3%
10^{-5}	2/4	2	2	2	3	$2/5 \times 100 \%$	40 %
10^{-6}	0/4	0	4	0	7	$0/7 \times 100 \%$	0 %
10^{-7}	0/4	0	4	0	11	$0/11 \times 100 \%$	0 %
10^{-8}	0/4	0	4	0	15	$0/15 \times 100 \%$	0 %

$$\begin{aligned}
 D &: \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3 + h_4 + h_5) \cdot 1 - 1/2 d \\
 &: -3 - (0,8333 + 0,40 + 0 + 0 + 0) \cdot 1 - 0,5 \\
 &: -3 - (1,2333) \cdot 1 - 0,5 \\
 &: -3 - 1,2333 - 0,5 \\
 &: -4,7333 \\
 TC ID_{50} &: 10^{4,7333}
 \end{aligned}$$

Pasasi IV
No. 4

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi							
				mati		hidup		tingkat kematian			
				ratio	presentase	ratio	presentase	ratio	presentase		
10 ⁻³	4/4	4	0	12	0	12/12 x 100 %	100 %				
10 ⁻⁴	4/4	4	0	8	0	8/8 x 100 %	100 %				
10 ⁻⁵	4/4	4	0	4	0	4/4 x 100 %	100 %				
10 ⁻⁶	0/4	0	4	0	4	0/4 x 100 %	0 %				
10 ⁻⁷	0/4	0	4	0	8	0/8 x 100 %	0 %				
10 ⁻⁸	0/4	0	4	0	12	0/12 x 100 %	0 %				

$$\begin{aligned}
 D &: \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3) - 1/2 d \\
 &: -5 - (0 + 0 + 0) - 1/2 \cdot 0,5 \\
 &: -5 - (0) - 0,5 \\
 &: -5 - 0,5 \\
 &: -5,5 \\
 TC ID_{50} &: 10^{-5,5}
 \end{aligned}$$

Pasasi IV
No. 5

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup			Nilai akumulasi	
			mati	hidup	tingkat kematian		
					ratio	presentase	
10^{-3}	4/4	4	0	11	0	11/11 x 100 %	100 %
10^{-4}	4/4	4	0	7	0	7/7 x 100 %	100 %
10^{-5}	3/4	3	1	3	1	3/4 x 100 %	75 %
10^{-6}	0/4	0	4	0	5	0/5 x 100 %	0 %
10^{-7}	0/4	0	4	0	9	0/9 x 100 %	0 %
10^{-8}	0/4	0	4	0	13	0/13 x 100 %	0 %

$$\begin{aligned}
 D &: \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3 + h_4) 1 - 1/2 d \\
 &: -4 - (0,75 + 0 + 0 + 0) 1 - 0,5 \\
 &: -4 - (0,75) 1 - 0,5 \\
 &: -4 - 0,75 - 0,5 \\
 &: -4,75 - 0,5 \\
 &: -5,25 \\
 \text{TC ID}_{50} &: 10^{5,25}
 \end{aligned}$$

Lampiran V : Perhitungan titrasi virus TC ID₅₀/0,1 ml.

Pasasi V

No. 1

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
				mati	hidup	tingkat kematian	
						ratio	presentase
10 ⁻³	4/4	4	0	13	0	13/13 x 100 %	100 %
10 ⁻⁴	4/4	4	0	9	0	9/9 x 100 %	100 %
10 ⁻⁵	3/4	3	1	5	1	5/6 x 100 %	83,33 %
10 ⁻⁶	1/4	1	3	2	4	2/6 x 100 %	33,33 %
10 ⁻⁷	1/4	1	3	1	7	1/8 x 100 %	12,5 %
10 ⁻⁸	0/4	0	4	0	11	0/11 x 100 %	0 %

$$\begin{aligned}
 D &: \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3 + h_4) \cdot 1 - 1/2 d \\
 &: -4 - (0,8333 + 0,3333 + 12,5 + 0) \cdot 1 - 0,5 \\
 &: -4 - (1,2916) \cdot 1 - 0,5 \\
 &: -4 - 1,2916 - 0,5 \\
 &: -5,7916 \\
 \text{TC ID}_{50} &: 10^{5,7916}
 \end{aligned}$$

Pasasi V

No. 2

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup		Nilai akumulasi		
			mati	hidup	tingkat kematian		
			ratio	presentase			
10^{-3}	4/4	4	0	10	0	10/10 x 100 %	100 %
10^{-4}	4/4	4	0	6	0	6/6 x 100 %	100 %
10^{-5}	2/4	2	2	2	2	2/4 x 100 %	50 %
10^{-6}	0/4	0	4	0	6	0/6 x 100 %	0 %
10^{-7}	0/4	0	4	0	10	0/10 x 100 %	0 %
10^{-8}	0/4	0.	4	0	14	0/14 x 100 %	0 %

$$D : \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3 + h_4) 1 - 1/2 d$$

$$: -4 - (0,50 + 0 + 0 + 0) 1 - 0,5$$

$$: -4 - (0,50) 1 - 0,5$$

$$: -4 - 0,50 - 0,5$$

$$: -5$$

$$TC ID_{50} : 10^5$$

Pasasi V

No. 3

	Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi		
					mati	hidup	tingkat kematian
							ratio
10^{-3}	4/4	4	0	11	0	$11/11 \times 100 \%$	100 %
10^{-4}	4/4	4	0	7	0	$7/7 \times 100 \%$	100 %
10^{-5}	2/4	2	2	3	2	$3/5 \times 100 \%$	60 %
10^{-6}	1/4	1	3	1	5	$1/6 \times 100 \%$	16,66 %
10^{-7}	0/4	0	4	0	9	$0/9 \times 100 \%$	0 %
10^{-8}	0/4	0	4	0	13	$0/13 \times 100 \%$	0 %

$$\begin{aligned}
 D &: \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3 + h_4) - 1/2 d \\
 &: -4 - (0,6 + 0,1666 + 0 + 0) - 0,5 \\
 &: -4 - (0,7666) - 0,5 \\
 &: -4 - 0,7666 - 0,5 \\
 &: -4,7666 - 0,5 \\
 &: -5,2666 \\
 TC ID_{50} &: 10^{5,2666}
 \end{aligned}$$

Pasasi V

No. 4

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
						tingkat kematian	
				mati	hidup	ratio	presentase
10^{-3}	4/4	4	0	11	0	11/11 x 100 %	100 %
10^{-4}	4/4	4	0	7	0	7/7 x 100 %	100 %
10^{-5}	1/4	1	3	3	3	3/6 x 100 %	50 %
10^{-6}	2/4	2	2	2	5	2/7 x 100 %	2,857 %
10^{-7}	0/4	0	4	0	9	0/9 x 100 %	0 %
10^{-8}	0/4	0	4	0	13	0/13 x 100 %	0 %

$$\begin{aligned}
 D &: \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3 + h_4) \cdot 1 - 1/2 d \\
 &: -4 - (0,50 + 0,2857 + 0 + 0) \cdot 1 - 0,5 \\
 &: -4 - (0,7857) \cdot 1 - 0,5 \\
 &: -4 - 0,7857 - 0,5 \\
 &: -4,7857 - 0,5 \\
 &: -5,2857 \\
 TC ID_{50} &: 10^{5,2857}
 \end{aligned}$$

Pasasi V

No. 5

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup		Nilai akumulasi		
			mati	hidup	tingkat kematian		
					ratio	presentase	
10^{-3}	4/4	4	0	12	0	12/12 x 100 %	100 %
10^{-4}	4/4	4	0	8	0	8/8 x 100 %	100 %
10^{-5}	4/4	4	0	4	0	4/4 x 100 %	100 %
10^{-6}	0/4	0	4	0	4	0/4 x 100 %	0 %
10^{-7}	0/4	0	4	0	8	0/8 x 100 %	0 %
10^{-8}	0/4	0	4	0	12	0/12 x 100 %	0 %

$$D : \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3) \cdot 1 - 1/2 d$$

$$: -5 - (0 + 0 + 0) \cdot 1 - 0,5$$

$$: -5 - (0) \cdot 1 - 0,5$$

$$: -5 - 0,5$$

$$: -5,5$$

$$TC ID_{50} : 10^{5,5}$$

Lampiran VI : Perhitungan titrasi virus TC ID₅₀/0,1 ml.

Pasasi VI

No. 1

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
				mati	hidup	tingkat kematian	
						ratio	persentase
10 ⁻³	4/4	4	0	13	0	13/13 x 100 %	100 %
10 ⁻⁴	4/4	4	0	9	0	9/9 x 100 %	100 %
10 ⁻⁵	4/4	4	0	5	0	5/5 x 100 %	100 %
10 ⁻⁶	1/4	1	3	1	3	1/4 x 100 %	25 %
10 ⁻⁷	0/4	0	4	0	7	0/7 x 100 %	0 %
10 ⁻⁸	0/4	0	4	0	11	0/11 x 100 %	0 %

$$D : \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3) 1 - 1/2 d$$

$$: -5 - (0,25 + 0 + 0) 1 - 0,5$$

$$: -5 - (0,25) - 0,5$$

$$: -5,25 - 0,5$$

$$: -5,75$$

$$TC ID_{50} : 10^{5,75}$$

Pasasi VI

No. 2

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi					
				mati		hidup		tingkat kematian	
				ratio	presentase	ratio	presentase	ratio	presentase
10^{-3}	4/4	4	0	17	0	$17/17 \times 100 \%$	100 %		
10^{-4}	4/4	4	0	13	0	$13/13 \times 100 \%$	100 %		
10^{-5}	4/4	4	0	9	0	$9/9 \times 100 \%$	100 %		
10^{-6}	3/4	3	1	5	1	$5/6 \times 100 \%$	83,33 %		
10^{-7}	2/4	2	2	2	3	$2/5 \times 100 \%$	40 %		
10^{-8}	0/4	0	4	0	7	$0/7 \times 100 \%$	0 %		

$$\begin{aligned}
 D &: \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3) \cdot 1 - 1/2 d \\
 &: -5 - (0,8333 + 0,40 + 0) \cdot 1 - 0,5 \\
 &: -5 - (1,2333) \cdot 1 - 0,5 \\
 &: -6,2333 - 0,5 \\
 &: -6,7333 \\
 TC \ ID_{50} &: 10^{6,7333}
 \end{aligned}$$

Pasasi VI

No. 3

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
				mati	hidup	tingkat kematian	
						ratio	presentase
10^{-3}	4/4	4	0	14	0	14/14 x 100 %	100 %
10^{-4}	4/4	4	0	10	0	10/10 x 100 %	100 %
10^{-5}	3/4	3	1	6	1	6/7 x 100 %	85,71 %
10^{-6}	3/4	3	1	3	2	3/5 x 100 %	60 %
10^{-7}	0/4	0	4	0	6	0/6 x 100 %	0 %
10^{-8}	0/4	0	4	0	10	0/10 x 100 %	0 %

$$\begin{aligned}
 D &: \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3 + h_4) - 1/2 d \\
 &: -4 - (0,8571 + 0,6 + 0 + 0) - 0,5 \\
 &: -4 - (1,4571) - 0,5 \\
 &: -4 - 1,4571 - 0,5 \\
 &: -5,4571 - 0,5 \\
 &: -5,9571 \\
 TC ID_{50} &: 10^{5,9571}
 \end{aligned}$$

Pasasi VI

No. 4

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
				mati	hidup	tingkat kematian	
						ratio	presentase
10^{-3}	4/4	4	0	14	0	14/14 x 100 %	100 %
10^{-4}	4/4	4	0	10	0	10/10 x 100 %	100 %
10^{-5}	4/4	4	0	6	0	6/6 x 100 %	100 %
10^{-6}	2/4	2	2	2	2	2/4 x 100 %	50 %
10^{-7}	0/4	0	4	0	6	0/6 x 100 %	0 %
10^{-8}	0/4	0	4	0	10	0/10 x 100 %	0 %

$$D ; \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3) 1 - 1/2 d$$

$$: -5 - (0,50 + 0 + 0) 1 - 0,5$$

$$: -5 - (0,50) 1 - 0,5$$

$$: -5 - 0,50 - 0,5$$

$$: -6$$

$$TC ID_{50} : 10^6$$

Pasasi VI
No. 5

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
						tingkat kematian	
				mati	hidup	ratio	presentase
10 ⁻³	4/4	4	0	11	0	11/11 x 100 %	100 %
10 ⁻⁴	4/4	4	0	7	0	7/7 x 100 %	100 %
10 ⁻⁵	2/4	2	2	3	2	3/5 x 100 %	60 %
10 ⁻⁶	1/4	1	3	1	5	1/6 x 100 %	16,66%
10 ⁻⁷	0/4	0	4	0	9	0/9 x 100 %	0 %
10 ⁻⁸	0/4	0	4	0	13	0/13 x 100 %	0 %

$$\begin{aligned}
 D &: \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3 + h_4) \cdot 1 - 1/2 d \\
 &: -4 - (0,60 + 0,1666 + 0 + 0) \cdot 1 - 0,5 \\
 &: -4 - (0,7666) \cdot 1 - 0,5 \\
 &: -4 - 0,7666 - 0,5 \\
 &: -5,2666 \\
 \text{TC ID}_{50} &: 10^{5,2666}
 \end{aligned}$$

Lampiran VII : Perhitungan titrasi virus TC ID₅₀/0,1 ml.

Pasasi VII

No. 1

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
				mati	hidup	tingkat kematian	
						ratio	presentase
10 ⁻⁴	4/4	4	0	13	0	13/13 x 100 %	100 %
10 ⁻⁵	4/4	4	0	9	0	9/9 x 100 %	100 %
10 ⁻⁶	4/4	4	0	5	0	5/5 x 100 %	100 %
10 ⁻⁷	1/4	1	3	1	3	1/4 x 100 %	25 %
10 ⁻⁸	0/4	0	4	0	7	0/7 x 100 %	0 %

$$D : \lambda n - (h_1 + h_2) 1 - 1/2 d$$

$$: -6 - (0,25 + 0) 1 - 0,5$$

$$: -6 - 0,25 - 0,5$$

$$: -6,75$$

$$\text{TC ID}_{50} : 10^{6,75}$$

Pasasi VII

No. 2

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup		Nilai akumulasi		
			mati	hidup	tingkat kematian		
			ratio	presentase			
10^{-4}	4/4	4	0	8	0	$8/8 \times 100 \%$	100 %
10^{-5}	4/4	4	0	4	0	$4/4 \times 100 \%$	100 %
10^{-6}	0/4	0	4	0	4	$0/4 \times 100 \%$	0 %
10^{-7}	0/4	0	4	0	8	$0/4 \times 100 \%$	0 %
10^{-8}	0/4	0	4	0	12	$0/12 \times 100 \%$	0 %

$$D : \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3) 1 - 1/2 d$$

$$: -5 - (0 + 0 + 0) 1 - 0,5$$

$$: -5 - (0) 1 - 0,5$$

$$: -5 - 0,5$$

$$: -5,5$$

$$TC ID_{50} : 10^{5,5}$$

Pasasi VII
No. 3

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
						tingkat kematian	
				mati	hidup	ratio	presentase
10^{-4}	4/4	4	0	14	0	14/14 x 100 %	100 %
10^{-5}	4/4	4	0	10	0	10/10 x 100 %	100 %
10^{-6}	4/4	4	0	6	0	6/6 x 100 %	100 %
10^{-7}	2/4	2	2	3	2	3/5 x 100 %	60 %
10^{-8}	1/4	1	3	1	5	1/6 x 100 %	16,66%

$$\begin{aligned}
 D &: \lambda n - (h_1 + h_2) 1 - 0,5 \\
 &: -6 - (0,60 + 0,1666) 1 - 0,5 \\
 &: -6 - (0,7666) 1 - 0,5 \\
 &: -6 - (0,7666) - 0,5 \\
 &: -6,766 - 0,5 \\
 &: -7,2666 \\
 TC ID_{50} &: 10^{7,2666}
 \end{aligned}$$

Pasasi VII
No. 4

Penggenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi					
				mati		hidup		tingkat kematian	
						ratio	presentase		
10^{-4}	4/4	4	0	9	0	$9/9 \times 100 \%$	100 %		
10^{-5}	4/4	4	0	5	0	$5/5 \times 100 \%$	100 %		
10^{-6}	1/4	1	3	1	3	$1/4 \times 100 \%$	25 %		
10^{-7}	0	0	4	0	7	$0/7 \times 100 \%$	0 %		
10^{-8}	0	0	4	0	11	$0/11 \times 100 \%$	0 %		

$$\begin{aligned}
 D &: \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3) 1 - 0,5 \\
 &: -5 - (0,25 + 0 + 0) 1 - 0,5 \\
 &: -5 - (0,25) 1 - 0,5 \\
 &: -5,25 - 0,5 \\
 &: -5,75 \\
 TC ID_{50} &: 10^{5,75}
 \end{aligned}$$

Pasasi VII

No. 5

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup		Nilai akumulasi		
			mati	hidup	tingkat kematian		
			ratio	presentase			
10^{-4}	4/4	4	0	8	0	$8/8 \times 100 \%$	100 %
10^{-5}	4/4	4	0	4	0	$4/4 \times 100\%$	100 %
10^{-6}	0/4	0	4	0	4	$0/4 \times 100 \%$	0 %
10^{-7}	0/4	0	4	0	8	$0/8 \times 100 \%$	0 %
10^{-8}	0/4	0	4	0	12	$0/12 \times 100 \%$	0 %

$$D : \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3) 1 - 1/2 d$$

$$: -5 - (0 + 0 + 0) 1 - 0,5$$

$$: -5 - 0,5$$

$$: -5,5$$

$$TC ID_{50} : 10^{5,5}$$

Lampiran VIII : Perhitungan titrasi virus TC ID₅₀/0,1 ml.

Pasasi VIII

No. 1

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
						tingkat kematian	
				mati	hidup	ratio	presentase
10 ⁻⁴	4/4	4	0	17	0	17/17 x 100 %	100 %
10 ⁻⁵	4/4	4	0	13	0	13/13 x 100 %	100 %
10 ⁻⁶	4/4	4	0	9	0	9/9 x 100 %	100 %
10 ⁻⁷	3/4	3	1	5	1	5/6 x 100 %	83,33 %
10 ⁻⁸	2/4	2	2	2	3	2/5 x 100 %	40 %

$$D : \lambda n - (h_1 + h_2) 1 - 1/2 d$$

$$: -6 - (0,8333 + 0,40) 1 - 0,5$$

$$: -6 - (1,233) 1 - 0,5$$

$$: -6 - 1,2333 - 0,5$$

$$: -7,2333 - 0,5$$

$$: -7,7333$$

$$TC ID_{50} : 10^{7,7333}$$

Pasasi VIII
No. 2

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
						tingkat kematian	
				mati	hidup	ratio	presentase
10^{-4}	4/4	4	0	5	0	$5/5 \times 100 \%$	100 %
10^{-5}	1/4	1	3	1	3	$1/4 \times 100 \%$	25 %
10^{-6}	0/4	0	4	0	7	$0/7 \times 100 \%$	0 %
10^{-7}	0/4	0	4	0	11	$0/11 \times 100 \%$	0 %
10^{-8}	0/4	0	4	0	15	$0/15 \times 100 \%$	0 %

$$\begin{aligned}
 D &: \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3 + h_4) - 1/2 d \\
 &: -4 - (0,25 + 0 + 0 + 0) - 0,5 \\
 &: -4 - (0,25) - 0,5 \\
 &: -4 - 0,25 - 0,5 \\
 &: -4,25 - 0,5 \\
 &: -4,75 \\
 TC ID_{50} &: 10^{4,75}
 \end{aligned}$$

Pasasi VIII

No. 3

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup		Nilai akumulasi		
			mati	hidup	tingkat kematian		
					ratio	presentase	
10^{-4}	4/4	4	0	4	0	$4/4 \times 100 \%$	100 %
10^{-5}	0/4	0	4	0	4	$0/4 \times 100 \%$	0 %
10^{-6}	0/4	0	4	0	8	$0/8 \times 100 \%$	0 %
10^{-7}	0/4	0	4	0	12	$0/12 \times 100 \%$	0 %
10^{-8}	0/4	0	4	0	16	$0/16 \times 100 \%$	0 %

$$D : \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3 + h_4) 1 - 1/2 d$$

$$: -4 - (0 + 0 + 0 + 0) 1 - 0,5$$

$$: -4 - 0,5$$

$$: -4,5$$

$$TC ID_{50} : 10^{4,5}$$

Pasasi VIII

No. 4

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
						tingkat kematian	
				mati	hidup	ratio	presentase
10^{-4}	4/4	4	0	20	0	20/20 x 100 %	100 %
10^{-5}	4/4	4	0	16	0	16/16 x 100 %	100 %
10^{-6}	4/4	4	0	12	0	12/12 x 100 %	100 %
10^{-7}	4/4	4	0	8	0	8/8 x 100 %	100 %
10^{-8}	4/4	4	0	4	0	4/4 x 100 %	100 %

$$D : \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3 + h_4) 1 - 1/2 d$$

$$: -8 - (0) 1 - 0,5$$

$$: -8 - 0,5$$

$$: -8,5$$

$$TC ID_{50} : 10^{8,5}$$

Pasasi VIII

No. 5

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
				mati	hidup	tingkat kematian	
						ratio	presentase
10^{-4}	4/4	4	0	13	0	$13/13 \times 100 \%$	100 %
10^{-5}	4/4	4	0	9	0	$9/9 \times 100 \%$	100 %
10^{-6}	3/4	3	1	5	1	$5/6 \times 100 \%$	83,33 %
10^{-7}	2/4	2	2	2	3	$2/5 \times 100 \%$	40 %
10^{-8}	0/4	0	4	0	7	$0/7 \times 100 \%$	0 %

$$D : \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3) 1 - 1/2 d$$

$$: -5 - (0,8333 + 0,40 + 0) 1 - 0,5$$

$$: -5 - (1,2333) 1 - 0,5$$

$$: -5 - 1,2333 - 0,5$$

$$: -6,2333 - 0,5$$

$$: -6,7333$$

$$TC ID_{50} : 10^{6,7333}$$

Lampiran IX : Perhitungan titrasi virus TC ID₅₀/0,1 ml.

Pasasi IX

No. 1

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
						tingkat kematian	
				mati	hidup	ratio	presentase
10 ⁻⁴	4/4	4	0	5	0	5/5 x 100 %	100 %
10 ⁻⁵	1/4	1	3	1	3	1/4 x 100 %	25 %
10 ⁻⁶	0/4	0	4	0	7	0/7 x 100 %	0 %
10 ⁻⁷	0/4	0	4	0	11	0/11 x 100 %	0 %
10 ⁻⁸	0/4	0	4	0	15	0/15 x 100 %	0 %

$$D : \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3 + h_4) 1 - 1/2 d$$

$$: -4 - (0,25 + 0 + 0 + 0) 1 - 0,5$$

$$: -4 - (0,25) 1 - 0,5$$

$$: -4 - 0,25 - 0,5$$

$$: -4,25 - 0,5$$

$$: -4,75$$

$$TC ID_{50} : 10^{4,75}$$

Pasasi IX

No. 2

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
						tingkat kematian	
				mati	hidup	ratio	persentase
10^{-4}	4/4	4	0	18	0	$18/18 \times 100 \%$	100 %
10^{-5}	4/4	4	0	14	0	$14/14 \times 100 \%$	100 %
10^{-6}	4/4	4	0	10	0	$10/10 \times 100 \%$	100 %
10^{-7}	3/4	3	1	6	1	$6/7 \times 100 \%$	85,71 %
10^{-8}	3/4	3	1	3	2	$3/5 \times 100 \%$	60 %

$$\begin{aligned}
 D &: \lambda n - (h_1 + h_2) \cdot 1 - 1/2 d \\
 &: -6 - (0,8571 + 0,60) \cdot 1 - 0,5 \\
 &: -6 - (1,4571) \cdot 1 - 0,5 \\
 &: -6 - 1,4571 - 0,5 \\
 &: -7,9571 \\
 TC ID_{50} &: 10^{7,9571}
 \end{aligned}$$

Pasasi IX
No. 3

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
				mati	hidup	tingkat kematian	
						ratio	presentase
10^{-4}	4/4	4	0	16	0	$16/16 \times 100 \%$	100 %
10^{-5}	4/4	4	0	12	0	$12/12 \times 100 \%$	100 %
10^{-6}	4/4	4	0	8	0	$8/8 \times 100 \%$	100 %
10^{-7}	2/4	2	2	4	2	$4/6 \times 100 \%$	66,66 %
10^{-8}	2/4	2	2	2	4	$2/6 \times 100 \%$	33,33 %

$$\begin{aligned}
 D &: \lambda n - (h_1 + h_2) \cdot 1 - 1/2 d \\
 &: -6 - (0,6666 + 0,3333) \cdot 1 - 0,5 \\
 &: -6 - (0,9999) \cdot 1 - 0,5 \\
 &: -6 - 0,9999 - 0,5 \\
 &: -7,4999 \\
 TC ID_{50} &: 10^{7,4999}
 \end{aligned}$$

Pasasi IX

No.4

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi					
				mati		hidup		tingkat kematian	
				ratio	presentase	ratio	presentase	ratio	presentase
10^{-4}	4/4	4	0	9	0	$9/9 \times 100 \%$	100 %		
10^{-5}	4/4	4	0	5	0	$5/5 \times 100 \%$	100 %		
10^{-6}	1/4	1	3	1	3	$1/4 \times 100 \%$	25 %		
10^{-7}	0/4	0	4	0	7	$0/7 \times 100 \%$	0 %		
10^{-8}	0/4	0	4	0	11	$0/11 \times 100 \%$	0 %		

$$D : \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3) 1 - 1/2 d$$

$$: -5 - (0,25) 1 - 0,5$$

$$: -5 - 0,25 - 0,5$$

$$: - 5,75$$

$$TC ID_{50} : 10^{5,75}$$

Pasasi IX
No. 5

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
						tingkat kematian	
				mati	hidup	ratio	presentase
10^{-4}	4/4	4	0	17	0	$17/17 \times 100 \%$	100 %
10^{-5}	4/4	4	0	13	0	$13/13 \times 100 \%$	100 %
10^{-6}	4/4	4	0	9	0	$9/9 \times 100 \%$	100 %
10^{-7}	3/4	3	1	5	1	$5/6 \times 100 \%$	83,33 %
10^{-8}	2/4	2	2	2	3	$2/5 \times 100 \%$	40 %

$$\begin{aligned}
 D &: \lambda n - (h_1 + h_2) \left(1 - \frac{1}{2} d \right) \\
 &: -6 - (0,8333 + 0,40) \left(1 - 0,5 \right) \\
 &: -6 - (1,2333) \left(1 - 0,5 \right) \\
 &: -6 - 1,2333 - 0,5 \\
 &: -7,7333 \\
 TC ID_{50} &: 10^{7,7333}
 \end{aligned}$$

Lampiran X : Perhitungan titrasi virus TC ID₅₀/0,1 ml.

Pasasi X

No.1..

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
						tingkat kematian	
				mati	hidup	ratio	presentase
10 ⁻⁴	4/4	4	0	16	0	16/16 x 100 %	100 %
10 ⁻⁵	4/4	4	0	12	0	12/12 x 100 %	100 %
10 ⁻⁶	4/4	4	0	8	0	8/8 x 100 %	100 %
10 ⁻⁷	2/4	2	2	4	2	4/6 x 100 %	66,66 %
10 ⁻⁸	2/4	2	2	2	4	2/6 x 100 %	33,33 %

$$\begin{aligned}
 D &: \lambda n - (h_1 + h_2) \cdot 1 - 1/2 d \\
 &: -6 - (0,6666 + 0,3333) \cdot 1 - 0,5 \\
 &: -6 - (0,9999) \cdot 1 - 0,5 \\
 &: -6 - 0,9999 - 0,5 \\
 &: -7,4999 \\
 \text{TC ID}_{50} &: 10^{7,4999}
 \end{aligned}$$

Pasasi X
No. 2

	Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi		
					mati	hidup	tingkat kematian
							ratio
10^{-4}	4/4	4	0	9	0	$9/9 \times 100 \%$	100 %
10^{-5}	4/4	4	0	5	0	$5/5 \times 100 \%$	100 %
10^{-6}	1/4	1	3	1	3	$1/4 \times 100 \%$	25 %
10^{-7}	0/4	0	4	0	7	$0/7 \times 100 \%$	0 %
10^{-8}	0/4	0	4	0	11	$0/8 \times 100 \%$	0 %

$$\begin{aligned}
 D &: \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3) 1 - 1/2 d \\
 &: -5 - (0,25 + 0 + 0) 1 - 0,5 \\
 &: -5 - (0,25) 1 - 0,5 \\
 &: -5 - 0,25 - 0,5 \\
 &: -5,75 \\
 TC ID_{50} &: 10^{5,75}
 \end{aligned}$$

Pasasi X
No,3

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai aRumulasi			
				mati	hidup	tingkat kematian	
				ratio		presentase	
10 ⁻⁴	4/4	4	0	20	0	20/20 x 100 %	100 %
10 ⁻⁵	4/4	4	0	16	0	16/16 x 100 %	100 %
10 ⁻⁶	4/4	4	0	12	0	12/12 x 100 %	100 %
10 ⁻⁷	4/4	4	0	8	0	8/8 x 100 %	100 %
10 ⁻⁸	4/4	4	0	4	0	4/4 x 100 %	100 %

$$D : \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3 + h_4) 1 - 1/2 d$$

$$: -8 - (0) 1 - 0,5$$

$$: -8 - 0,5$$

$$: -8,5$$

$$TC ID_{50} : 10^{8,5}$$

Pasasi X

No. 4

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
						tingkat kematian	
				mati	hidup	ratio	presentase
10^{-4}	4/4	4	0	9	0	$9/9 \times 100 \%$	100 %
10^{-5}	4/4	4	0	5	0	$5/5 \times 100 \%$	100 %
10^{-6}	1/4	1	3	1	3	$1/4 \times 100 \%$	25 %
10^{-7}	0/4	0	4	0	7	$0/7 \times 100 \%$	0 %
10^{-8}	0/4	0	4	0	11	$0/11 \times 100 \%$	0 %

$$D : \lambda n - (h_1 + h_2 + h_3 + h_4) 1 - 1/2 d$$

$$: -5 - (0,25 + 0 + 0) 1 - 0,5$$

$$: -5 - (0,25) 1 - 0,5$$

$$: -5 - 0,25 - 0,5$$

$$: -5,75$$

$$TC ID_{50} : 10^{5,75}$$

Pasasi X

No. 5

Pengenceran	Tingkat kematian	Mati	Hidup	Nilai akumulasi			
						tingkat kematian	
				mati	hidup	ratio	presentase
10^{-4}	4/4	4	0	18	0	18/18 x 100 %	100 %
10^{-5}	4/4	4	0	14	0	14/14 x 100 %	100 %
10^{-6}	4/4	4	0	10	0	10/10 x 100 %	100 %
10^{-7}	4/4	4	0	6	0	6/6 x 100 %	100 %
10^{-8}	2/4	2	2	2	2	2/4 x 100 %	50 %

$$D : \lambda n - (h_1 + h_2) l - 1/2 d$$

$$: -7 - (0,50) l - 0,5$$

$$: -7 - 0,50 - 0,5$$

$$: -8,0$$

$$TC ID_{50} : 10^8$$

Lampiran XI. Perhitungan analisa data dari pertumbuhan virus PMK 0 Java 83

P.1.	P.2.	P.3.	P.4.	P.5.	P.6.	P.7.	P.8.	P.9	P.10.
18	33	19	24	26,30	21	20	20	19	21
18	47	19	24	27	22,22	19,5	20	20	20
	24	19	24	22	21	19	20	20	20
	23	19	21	22	21	22	21	21	19
	24	20	21	22	20,5	22	20	20	20
T: 36	151	96	114	119,3	105,72	102,5	101	100	100.G:1025,52
n: 2	5	5	5	5	5	5	5	5	5. N: 47
Y ² : 648	4979	1844	2610	2872,69	2236,9784	2109,25	2041	2002	2002 $\sum Y^2$: 23344,9184

$$S_A = \frac{G^2}{N} = \frac{(1025,52)^2}{47} = \frac{1051691,27}{47} = 22376,41001$$

$$S_D = \sum Y^2 - S_A = 23344,9184 - 22376,41001 = 968,50839$$

$$S_T = \frac{(36)^2}{2} + \frac{(151)^2}{5} + \frac{(96)^2}{5} + \frac{(114)^2}{5} + \frac{(119,3)^2}{5} + \frac{(105,72)^2}{5} + \frac{(102,5)^2}{5} + \frac{(101)^2}{5} + \frac{(100)^2}{5} +$$

$$\frac{(100)^2}{5} - S_A = 22873,89168 - 22376,41001 = 497,48167$$

$$S_R = S_D - S_T = 968,50839 - 497,48167 = 471,02672$$

$$S_T^2 = \frac{S_T}{k-1} = \frac{497,48167}{10-1} = 55,27574111$$

$$S_R^2 = \frac{S_R}{N-k} = \frac{471,02672}{47-10} = 12,73045189$$

Lanjutan lampiran XI. Perhitungan analisa data dari pertumbuhan virus PMK 0 Java 83

Sumber variasi	Jumlah kuadrat	Derajat bebas	Kuadrat rata-rata	F-ratio
Diantara perlakuan	$S_T = 497,48167$	$(k-1) = 9$	$S_T^2 = 55,27574111$	$\frac{S_T^2}{S_R^2} = 4,342009348$
Didalam perlakuan	$S_R = 471,02672$	$(N-k) = 37$	$S_R^2 = 12,73045189$	
Total kuadrat	$S_D = 968,50839$	$(N-1) = 46$		

$$H_0 = \eta_{P_1} = \eta_{P_2} = \eta_{P_3} = \dots \eta_{P_{10}}$$

$H_1 =$ ada yang tidak sama

$F_{hit.} > F_{tab.} \longrightarrow H_0$ ditolak

$F_{hit.} < F_{tab.} \longrightarrow H_1$ ditolak

Ternyata, dari data ini didapatkan bahwa $F_{hit.} = 4,34$. Sedang $F_{tab.} = F_{9;37;0,05} = 2,12$

Jadi $F_{hit.} > F_{tab.}$. Oleh karena itu maka H_0 ditolak pada $\alpha = 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa ada-

perbedaan antar pasasi-pasasi itu. Karena ada perbedaan antar pasasi-pasasi itu maka langkah-selanjutnya adalah mencari pasasi-pasasi mana yang berbeda, mana yang sama. Untuk itu prosedur yang dipakai adalah prosedur Tukey.

Langkah-langkahnya :

- a. mencari selang kepercayaan $\eta_1 - \eta_j$

$$(\bar{y}_1 - \bar{y}_j) \pm \frac{q_{k,v,d/2}}{\sqrt{2}} s \sqrt{1/n_1 + 1/n_j}$$

dimana $q_{k,v,d/2}$ merupakan harga dalam tabel distribusi studentized rang
 $n_1 = \dots, n_j = \dots$

- b. Jika selang kepercayaan tersebut tidak memuat angka nol, berarti perlakuan i dan j berbeda. Sedangkan untuk mengetahui mana yang lebih baik, dicari perlakuan mana yang mempunyai rata-rata yang lebih kecil.

Lanjutan dari prosedur Tukey

P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅	P ₆	P ₇	P ₈	P ₉	P ₁₀
SD: 0	10,23	0,44	1,64	2,55	0,63	1,41	0,44	0,70	0,70

$$\begin{aligned}
 s^2 &= \frac{(SD_1)^2 + (SD_2)^2 + \dots + (SD_{10})^2}{k} \\
 &= \frac{0 + 104,6529 + 0,1936 + 2,6896 + 6,5025 + 0,3969 + 1,9881 + 0,1936 + 0,49 + 0,49}{10} \\
 &= \frac{117,5972}{10} = 11,75972 \\
 s &= \sqrt{s^2} = \sqrt{11,75972} = 3,429244814
 \end{aligned}$$

Lanjutan dari prosedur Tukey

$$\begin{aligned}
 P_1 - P_2 &= (\bar{y}_1 - \bar{y}_2) \pm \frac{q_{k,v, \alpha/2}}{\sqrt{2}} s \sqrt{1/n_1 + 1/n_2} \\
 &= (-12,2) \pm \frac{4,767}{\sqrt{2}} \cdot 3,429244814 \cdot \sqrt{1/2 + 1/5} \\
 &= (-12,2) \pm 3,370778026 \cdot 3,429244814 \cdot 0,836660026 \\
 &= (-12,2) \pm (9,671139869) \\
 &= (-2,528860131); (-21,87113987)
 \end{aligned}$$

Karena selang ini tidak memuat angka nol maka perlakuan P_1 dan P_2 berbeda.

$$\begin{aligned}
 P_3 - P_4 &= (-3,6) \pm 3,370778026 \cdot 3,429244814 \sqrt{1/5 + 1/5} \\
 &= (-3,6) \pm 3,370778026 \cdot 3,429244814 \cdot 0,632455532
 \end{aligned}$$

$$= (-3,6) \pm (7,310694572) \longrightarrow \text{Karena selang ini memuat nol maka perlakuan } P_3 \text{ dan } P_4 \text{ mempunyai selang sama.}$$

Jadi, dengan menggunakan harga-harga $(\bar{y}_i - \bar{y}_j)$ dapat kita bentuk empat puluh lima interval konfidensi (selang) bersama sebagai berikut.

Lanjutan prosedur Tukey. Perbandingan ganda Tukey pertumbuhan virus O Java 83.

P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅	P ₆	P ₇	P ₈	P ₉	P ₁₀	P : Pasasi
18	30,2	19,2	22,8	23,86	21,144	20,5	20,2	20	20	\bar{y} : Rata-rata
	-12,2 *	-1,2	-4,8	-5,86	-3,144	-2,5	-2,2	-2	-2	
		11 *	7,4 *	6,34 *	9,056 *	9,7 *	10 *	10,2 *	10,2 *	
			-3,6	-4,66	-1,944	-1,3	-1	-0,8	-0,8	
				-1,06	1,656	2,3	2,6	2,8	2,8	
					2,716	3,36	3,66	3,86	3,86	
						0,644	0,944	1,144	1,144	
							0,3	0,5	0,5	
								0,2	0,2	
									0	

LAMPIRAN XII : PERHITUNGAN ANALISA DATA DARI HARGA TITER LOG VIRUS TC ID_{50/01 ml}

ANALISA :

P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅	P ₆	P ₇	P ₈	P ₉	P ₁₀	
184,7566164	17782,79141	316154,9603	316227,766	618870,8114	562341,3252	5623413,252	54112799,18	56234,13252	31615496,03	
316,1449603	3162,27766	61887,08114	100,000	100,000	5411279,918	316227,766	56234,13252	90594117,75	562341,3252	
	1000	8241,3011	54112,79918	184756,6164	905941,1775	18475661,64	31622,7766	31615496,03	316227766	
	3162,27766	5623,413252	316227,766	193063,4221	1000,000	562341,3252	316227766	562341,3252	562341,3252	
	3162,27766	17782,7941	177827,941	316227,766	184756,6164	316227,766	5411279,918	54112799,18	1000,000,000	
T :	500,911767	28269,62708	409689,63	964396,2722	1412918,616	7164319,037	25293871,75	375839702	176940998,4	448967944,7
G :	1037022601									
n :	2	5	5	5	5	5	5	5	5	
y ² :	134088,9662	34722766	1,0419974x10. ¹¹	2,4455097x10. ¹¹	5,6440957x10. ¹¹	3,01453042x10. ¹³	3,7348907x10. ¹⁴	1,0295748x10. ¹⁷	1,21355346x10. ¹⁶	1,1100017x10. ¹⁷
y ² :	2,2649796x10. ¹⁷									

LANJUTAN LAMPIRAN XII : PERHITUNGAN ANALISA DATA HARI MARGA TITER LOG VIRUS TC $10^{50/0,1}$ ml

$$S_A = \frac{c^2}{n} = \frac{1037022601}{47} = 2,2081188 \times 10^{16}$$

$$S_D = y^2 - S_A = 2,2649786 \times 10^{17} - 2,2081188 \times 10^{16} = 2,036167 \times 10^{17}$$

$$S_T = \frac{t^2}{nt} - S_A = 125456,2038 + 159834363 + 3,3569118 \times 10^{10} + 1,8601203 \times 10^{11} + 3,992678 \times 10^{11} + 1,926543 \times 10^{13} +$$

$$1,2795598 \times 10^{14} + 2,8251098 \times 10^{16} + 6,261622 \times 10^{15} + 4,0314443 \times 10^{16} - 2,2081188 \times 10^{16} =$$

$$7,4966002 \times 10^{16} - 2,2081188 \times 10^{16} = 5,2084814 \times 10^{16}$$

$$S_R = y^2 - S_A - S_T = 2,2649786 \times 10^{17} - 2,2081188 \times 10^{16} - 5,2084814 \times 10^{16}$$

$$= 1,5153188 \times 10^{17}$$

$$S_T^2 = \frac{S_T}{K-1} = \frac{5,2084814 \times 10^{16}}{9} = 5,7872015 \times 10^{15}$$

$$S_R^2 = \frac{S_R}{N-K} = \frac{1,5153188 \times 10^{17}}{37} = 4,0954562 \times 10^{15}$$

SUMBER VARIASI	JUMLAH KWADRAT	DERAJAT BEBAS	KWADRAT RATA-2	F - RATIO
Diantara perlakuan	$S_T = 5,2084814 \times 10^{16}$	$(K - 1) = 9$	$S_T^2 = 5,7872015 \times 10^{15}$	$\frac{S_T^2}{S_R^2} = 1,413078597$
Didalam perlakuan	$S_R = 1,5153188 \times 10^{17}$	$(N - K) = 37$	$S_R^2 = 4,0954562 \times 10^{15}$	
TOTAL KWADRAT	$S_D = 2,036167 \times 10^{17}$	$(N - 1) = 46$		

TERNYATA DARI HASIL PERHITUNGAN INI DIDAPATKAN HASIL BAHWA $F_{hit} = 1,41$. SEDING $F_{tab.} = 2,12$, JADI $F_{hit} < F_{tab.}$. OLEH KARENA ITU H_0 DITERIMA PADA $\alpha 0,05$ HAL INI MENUNJUKAN BAHWA TIDAK ADA PERBEDAAN ANTAR PASASI . DENGAN DEMIKIAN TIDAK DILANJUTKAN KE PROSEDUR TUKEY.