

B A B : III

MATERI DAN METODA PENELITIAN

1. Materi Penelitian .

Dalam melaksanakan penelitian, dipersiapkan bahan dan alat-alat sebagai berikut :

1.1. Bahan - bahan penelitian.

1.1.1. 30 ekor anak ayam leghorn berumur 4 minggu, diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma Surabaya.

30 ekor anak itik Mojosari berumur 4 minggu, diperoleh dari desa Modopuro kecamatan Mojosari Kabu - paten Mojokerto.

1.1.2. Virus Fowl pox yang ditularkan diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma Surabaya.

1.1.3. Telur ayam berembryo SPF berumur 10 hari sebanyak - 20 butir, diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma - Surabaya, guna memperbanyak dan meningkatkan viru- lensi virus Fowl pox.

1.1.4. Makanan dan minuman, diberikan secara ad libitum se- lama penelitian berlangsung, diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma Surabaya.

1.2. Alat - alat penelitian .

1.2.1. Kandang kawat yang ditempatkan didalam suatu ruangan

yang terisolasi dalam Laboratorium Penelitian Pusat Veterinaria Farma dan sudah disuci hamakan.

- 1.2.2. Mikroskop, kamera dan film untuk pembuatan slide dan foto.
- 1.2.3. Alat-alat dan zat untuk pembuatan sediaan histopatologi seperti dehydrator aparat otomatis, mikrotom, obyek glas, cover glass, zat warna haematoxylen dan eosin, balsam canada, alkohol, xylol, egg-albumin.
- 1.2.4. Alat-alat dan zat untuk nekropsis dan fiksasi seperti scalpel, pinset, gunting, kaos tangan dan formalin 10⁰/o.
- 1.2.5. Alat-alat dan zat untuk penularan buatan seperti tuberculin spuit disposibel, larutan garam fisiologis, anti biotika, Jodium tincture dan tabung reaksi.
- 1.2.6. Alat tulis untuk pencatatan data dan pembuatan makalah seperti kertas, karbon dan mesin ketik.

2. Metoda Penelitian .

Penelitian dilaksanakan secara bertahap sebagai berikut:

2.1. Periode Persiapan .

2.1.1. Pembelian sejumlah anak ayam dan anak itik, kemudian dikandangkan.

2.1.2. Hewan dikarantinakan selama 14 hari, setiap harinya dilakukan pengamatan dan perlakuan yang sama serta dijaga agar kondisi hewan tetap sehat dan normal dengan pemberian makanan, minuman dan lingkungan yang sehat.

2.1.3. Penyediaan virus .

Virus Fowl pox yang akan ditularkan diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma Surabaya, yang di isolasi dan di identifikasi dari suatu wabah cacar ayam pada tahun 1970.

Virus tersebut perlu ditingkatkan virulensinya dan diperbanyak jumlahnya dengan jalan dipassagekan pada selaput chorio allantois telur ayam berembryo yang berumur 10 hari, telur dieramkan pada suhu 37°C selama 5 hari. Setiap harinya dilakukan pengamatan, dan pada hari terakhir pengeraman, semua telur dibuka dan selaput chorio allantoisnya dikeluarkan.

Selaput chorio allantois yang mengandung bungkul bungkul cacar dipisahkan dan digerus, dibuat suspensi $10^0/\text{o}$ dengan larutan garam fisiologis dan ditambah Penicilline 1000 IU dan Streptomycine 5 mg untuk setiap mili liter suspensi. Suspensi dituang-

kedalam tabung reaksi, kemudian dilakukan pemutaran dengan centrifuge yang berkecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatannya dipisahkan dengan bagian endapan, kemudian di inokulasikan kembali pada telur ayam berembryo masing-masing 5 butir dengan penipisan 1×10^{-1} , 1×10^{-2} , 1×10^{-3} , kemudian telur dieramkan pada suhu 37°C selama 5 hari.

Bungkul-bungkul cacar pada selaput chorio allantois telur ayam berembryo dari penipisan tertinggi dibuat suspensi 10% sebagai bahan baku virus Fowl pox - yang akan ditularkan pada hewan percobaan.

2.2. Periode Pelaksanaan .

2.2.1. Pengelompokan Hewan Percobaan.

Semua anak ayam dan anak itik diberi nomor secara random dan dibagi menjadi tiga kelompok secara random dengan menggunakan tabel bilangan random seperti termaksud pada Lampiran VIII dan IX.

Setiap kelompoknya terdiri 10 ekor anak ayam dan 10 ekor anak itik.

Adapun pengelompokannya seperti berikut :

- Kelompok " A 0 ".

Sebagai kelompok pembanding, terdiri 10 ekor anak

ayam dan 10 ekor anak itik yang diperlakukan tanpa penularan dikumpulkan dalam kandang yang terpisah.

- Kelompok " A 1 ".

Sebagai kelompok percobaan yang diperlakukan dengan suntikan secara intra vena, terdiri 10 ekor anak ayam dan 10 ekor anak itik, dikumpulkan dalam kandang yang terpisah.

- Kelompok " A 2 ".

Sebagai kelompok percobaan yang diperlakukan dengan suntikan secara intra dermal, terdiri 10 ekor anak ayam dan 10 ekor anak itik, dikumpulkan dalam kandang yang terpisah.

2.2.2. Perlakuan terhadap hewan .

Semua hewan percobaan diperlakukan sama, kecuali treatment.

- Kelompok " A 0 " sebagai kelompok pembanding, -
tidak ditulari virus Fowl pox.

- Kelompok " A 1 " diperlakukan dengan suntikan se-
cara intra vena dengan virus Fowl pox suspensi -
10⁰%, pada vena sayap dengan dosis 0,1 ml.

- Kelompok " A 2 " diperlakukan dengan suntikan -

secara **intra dermal** dengan virus Fowl pox suspensi 10⁰/o, pada kulit wajah dengan dosis 0,1 ml.

2.3. Pengamatan Klinis .

Pengamatan dilaksanakan setiap hari untuk mengetahui timbulnya bengkul pertama pada kulit yang menjadi predelesi utama virus Fowl pox yaitu kulit wajah, kelopak mata, jengger, pial, kulit sayap bagian bawah, kulit disekitar cloaca dan kulit kaki.

Masa inkubasi satuannya ditentukan dalam hari.

Penilaiannya ditetapkan dengan jumlah hari yang dihitung mulai saat inokulasi sampai dengan timbulnya bengkul pertama pada kulit.

Bengkul yang timbul pada kulit sebelum 24 jam post inokulasi, diperhitungkan dalam hari pertama, dan bengkul yang timbul selewat 24 jam namun sebelum 48 jam post inokulasi, diperhitungkan dalam hari kedua dan seterusnya.

Pengamatan dilakukan selama 14 hari, atau jika semua hewan percobaan yang diperlakukan dengan penularan sebelum hari ke 14 sudah menunjukkan adanya bengkul pada kulitnya, maka waktu pengamatan dapat dipersingkat. Namun jika ada hewan yang diperlakukan dengan penularan pada hari ke 14 belum memperlihatkan adanya bengkul cacar pada kulitnya, maka waktu

pengamatan diperpanjang menjadi 21 hari guna memberi kesempatan bagi hewan percobaan yang belum tertular - supaya tertular atau tetap tidak tertular.

Jika sampai hari ke 21 ada hewan yang diperlakukan dengan suntikan belum memperlihatkan adanya bengkak pada kulitnya, maka hewan tersebut dianggap tidak tertular.

- 2.4. Hari inkubasi dicatat dalam tabel dan dilakukan tabulasi untuk analisa varian sesuai dengan Rancangan Faktorial (18 , 19).