

**PENGARUH PEMBERIAN DEKSAMETASON TERHADAP RESPON
KEKEBALAN HUMORAL PADA TELUR AYAM BERTUNAS
YANG DITULARI VIRUS NEWCASTLE DISEASE**

Oleh :

RETNO WURYANI PUTRI HANDAYANI



**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1989**

**PENGARUH PEMBERIAN DEKSAMETASON TERHADAP RESPON
KEKEBALAN HUMORAL PADA TELUR AYAM BERTUNAS
YANG DITULARI VIRUS NEWCASTLE DISEASE**

Oleh :

RETNO WURYANI PUTRI HANDAYANI

**Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Dokter Hewan
pada Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga
Surabaya**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1989**

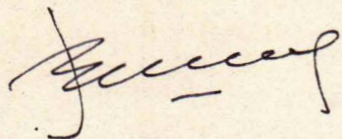
JUDUL SKRIPSI :

PENGARUH PEMBERIAN DEKSAMETASON TERHADAP RESPON
KEKEBALAN HUMORAL PADA TELUR AYAM BERTUNAS
YANG DITULARI VIRUS NEWCASTLE DISEASE

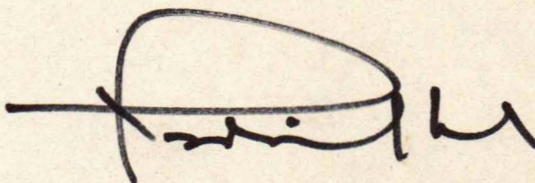
Nama Mahasiswa : RETNO WURYANI PUTRI HANDAYANI

Nomor Pokok : 068210650

Menyetujui,



Dr. Drh. R. BENDRYMAN S.
Pembimbing I



Dr. Drh. R.T.S. ADIKARA. MS
Pembimbing II

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

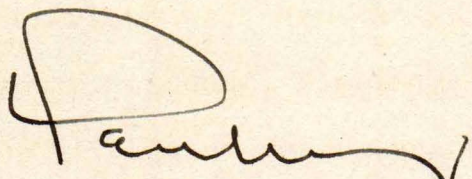
UNIVERSITAS AIRLANGGA

SURABAYA

1989

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

Menyetujui
Panitia Skripsi



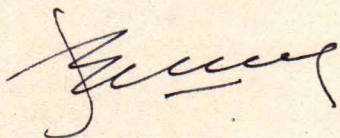
Prof. Dr. Soehartojo. H. , M. Sc.

K e t u a



Drh. Rochiman S. MS

S e k r e t a r i s



Dr. Drh. R. Bendryman S.

A n g g o t a



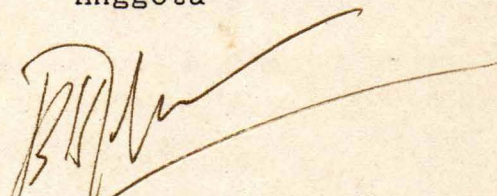
Dr. Drh. R. T. S. Adikara, MS

A n g g o t a



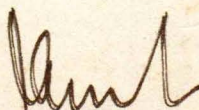
Drh. Rahayu Ernawati, M. Sc

A n g g o t a



Drh. Bambang Sasongko T., MS

A n g g o t a



Drh. Soenardi

A n g g o t a

UCAPAN TERIMAKASIH

Pertama kami panjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayahNya, sehingga makalah seminar ini dapat penulis selesaikan.

Tiada untaian kata-kata indah yang dapat diungkapkan sebagai pengganti rasa haru dan terimakasih, sungkem dan hormat penulis kepada Ayah dan Ibu tercinta atas cinta kasih, nasehat, bimbingan dan bekal yang diberikan kepada penulis dalam mengarungi kehidupan yang penuh tantangan ini.

Kepada Bapak Prof. Dr. Soedarso Djojonegoro, Rektor Universitas Airlangga, atas kesempatan dan segala fasilitas yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti program Strata 1 pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Kepada Bapak Prof. Dr. Soehartojo Hardjopranjoto, M.Sc, Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menuntut ilmu disini.

Kepada Bapak Dr. Drh. R. Bendryman Soedjoko dan Bapak Dr. Drh. R. T. S. Adikara, M. S., selaku pembimbing yang telah banyak memberikan nasehat, bimbingan, dorongan dan petunjuk yang sangat besar artinya dalam perwujudan makalah ini. Rasa terima kasih yang dalam dan tulus tentu saja

tidak akan pernah cukup, karena penulis menyadari akan besarnya jasa dan pengorbanan beliau baik dalam bentuk tenaga maupun pikiran. Semoga Allah SWT senantiasa melipatgandakan karuniaNya kepada beliau.

Rasa terimakasih yang tulus dan tak terhingga juga penulis sampaikan kepada seluruh staf pengajar di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, beserta laboran yang telah banyak membantu baik dalam bentuk nasehat, sumbangan pikiran maupun tenaga dan fasilitas selama melakukan penelitian ini.

Ucapan terimakasih yang tulus ini juga penulis tujukan bagi rekan-rekan seperjuangan Rini, Nano, dan Adi yang telah banyak memberi andil dalam perwujudan makalah ini. Tanpa bantuan, pengorbanan, pengertian dan kerja sama yang baik, penulis menyadari makalah ini tidak pernah ada.

Terima kasih.

Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmatNya bagi kita sekalian.

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT, akhirnya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan memaparkannya dalam bentuk karya tulis ini.

Makalah ini penulis ajukan untuk memenuhi persyaratan dalam meraih gelar Dokter Hewan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Makalah ini mengemukakan tentang peran tanggapan kebal humoral terhadap masuknya bahan asing dalam tubuh pada masa embrional di bawah pengaruh imunoregulator deksametason. Bahan asing tersebut adalah virus *Newcastle Disease*, mengingat virus ini merupakan faktor penghambat dan selalu mengancam perkembangan ternak unggas di negara kita.

Dengan demikian penelitian makalah dan seminar ini memberi tujuan untuk menyampaikan informasi tentang pengaruh pemberian deksametason terhadap aktifitas sel B dalam melawan virus *Newcastle Disease*. Karena sel-sel tersebut mempunyai arti yang besar dalam mekanisme pertahanan tubuh.

Selain untuk tujuan di atas, penulisan makalah ini juga dimaksudkan untuk memberikan wawasan bagi mahasiswa lain yang tertarik untuk melakukan penelitian sejenis serta menambah pengetahuan, khususnya bagi rekan-rekan mahasiswa yang tertarik pada bidang ini.

Meskipun telah berupaya dengan sepenuh kemampuan, penulis menyadari bahwa makalah ini masih jauh dari sempurna, sehingga senantiasa berlapang dada terhadap segala masukan untuk perbaikannya.

Mudah-mudahan makalah seminar ini dapat menunjang ilmu, kemajuan masyarakat dan kesejahteraan umat.

Surabaya, Nopember 1989

DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMAKASIH	i
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB I : PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Masalah	1
1.2. Tujuan Penelitian	2
1.3. Kegunaan Penelitian	3
1.4. Hipotesis	3
BAB II : TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Sistem Kekebalan Tubuh	4
A. 1. Sistem Kekebalan Pada Unggas	9
A. 1. a. Masa Embrional	12
A. 1. b. Masa Paska Tetas	18
A. 2. Pengujian Kapasitas Sistem Kekebalan Humoral Secara Serologis	20
B. Deksametason	22
B. 1. Pengaruh Deksametason Secara Fisi- logis Pada Tubuh	25

B. 2. Pengaruh Deksametason Terhadap Sistem Kekebalan Tubuh	28
C. Virus <i>Newcastle Disease</i>	31
C. 1. Penggolongan <i>Newcastle Disease</i>	34
C. 2. Imunitas Terhadap <i>Newcastle Disease</i>	36
BAB III : MATERI DAN METODE PENELITIAN	39
BAB IV : HASIL PENELITIAN	49
BAB V : PEMBAHASAN	65
BAB VI : KESIMPULAN DAN SARAN	72
RINGKASAN	74
DAFTAR PUSTAKA	76

DAFTAR GAMBAR

No.	Halaman
1. Skema Respon Immunologik Spesifik	5
2. Asal Mula Timbulnya Sistem Hemopoietik	13
3. Skematik Asal Mula Terjadinya Respon Imun yang Menunjukkan Deferensiasi Sel Progenitor Men- jadi Sel Hemopoietik dan Sel Imunokompeten . .	14
4. Skema Respon Immunologik Humoral	17
5. Rumus Bangun Deksametason Sodium Fosfat	24
6. Rata-rata Titer HA (log 2) pada TAB Umur 13 Hari	51
7. Rata-rata Titer HA (log 2) pada TAB Umur 17 Hari	54
8. Rata-rata Titer HA (log 2) pada TAB Umur 21 Hari	57
9. Titer HI (log 2) pada Berbagai Umur pada Masa Embrional	61
10. Membuat Lubang untuk Tempat Penyuntikan Virus ND dan Deksametason pada TAB	97
11. Penyuntikan Deksametason 0,1 pada TAB	97
12. Membuka Telur pada Ruang Hawa	98
13. Pengambilan Cairan Allantois dengan Eppendorf	98
14. Pembuatan Suspensi Organ 10 %	99
15. Pengambilan Darah Melalui Jantung pada TAB Umur 21 Hari	99

DAFTAR TABEL

No.	Halaman
1. Hasil Rata-rata dan Simpangan Baku ($S_{\bar{D}}$) Titer HA (log 2) dari TAB Umur 13 Hari yang Ditulari Virus ND di bawah Pengaruh Deksametason	50
2. Notasi Pengaruh Perlakuan Terhadap Titer HA (log 2) pada TAB Umur 13 Hari	52
3. Hasil Rata-rata dan Simpangan Baku ($S_{\bar{D}}$) Titer HA (log 2) dari TAB Umur 17 Hari yang Ditulari Virus ND di bawah Pengaruh Deksametason	53
4. Notasi Pengaruh Perlakuan Terhadap Titer HA (log 2) pada TAB Umur 17 Hari	55
5. Hasil Rata-rata dan Simpangan Baku ($S_{\bar{D}}$) Titer HA (log 2) dari TAB Umur 21 Hari yang Ditulari Virus ND di bawah Pengaruh Deksametason	56
6. Hasil Rata-rata dan Simpangan Baku ($S_{\bar{D}}$) Titer HA (log 2) dari TAB Umur 21 Hari yang Ditulari Virus ND di bawah Pengaruh deksametason	58
7. Hasil Rata-rata dan Simpangan Baku ($S_{\bar{D}}$) Titer HI (log 2) dari TAB yang Ditulari Virus ND di bawah Pengaruh Deksametason	59
8. Notasi Pengaruh Perlakuan Pemberian Deksametason dan Virus ND pada Telur Ayam Bertunas	63
9. Notasi Pengaruh Umur pada Telur Ayam Bertunas	64

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Halaman
1. Perhitungan Kandungan Virus (Virus Content) dari Vaksin ND Mesogenik Strain Komarov	86
2. Tabel Indikasi Cara Menghasilkan Pengenceran untuk Hasil Desimal Logaritmik Reed dan Muench dalam Menyuntikkan Sejumlah EID ₅₀ pada Hewan Percobaan	87
3. Pengujian Statistik dengan RAL (Rancangan Acak Lengkap) Hasil Titer HA (log 2) dari TAB Umur 13 Hari yang Ditulari Virus ND di bawah Pengaruh Deksametason	88
4. Pengujian Statistik dengan RAL (Rancangan Acak Lengkap) Hasil Titer HA (log 2) dari TAB Umur 17 Hari yang Ditulari Virus ND di bawah Pengaruh Deksametason	90
5. Pengujian Statistik dengan RAL (Rancangan Acak Lengkap) Hasil Titer HA (log 2) dari TAB Umur 21 Hari yang Ditulari Virus ND di bawah Pengaruh Deksametason	92
6. Pengujian Sstatistik dengan Split-Plot Hasil titer HI (log 2) dari TAB yang Ditulari Virus ND di bawah Pengaruh Deksametason	94

BAB I

PENDAHULUAN

1. 1. Latar Belakang Masalah

Pembangunan sub sektor peternakan, khususnya peternakan ayam ras di Indonesia beberapa tahun terakhir, ini menunjukkan kemajuan yang sangat pesat. Hal ini dapat dilihat dari makin bertambahnya populasi dan hasil-hasil peternakan ayam ras yaitu telur dan daging.

Berbagai usaha telah dilaksanakan untuk mengembangkan usaha peternakan ayam antara lain peningkatan mutu genetik, efisiensi pemberian pakan, usaha pencegahan dan pemberantasan penyakit viral, bakterial dan parasiter, juga penggunaan obat-obatan dan hormon.

Di bidang perunggasan preparat glukokortikoid telah banyak digunakan sebagai perangsang pertumbuhan, dan penggunaan kortikosteron yang disuntikkan dalam kantong kuning telur dilaporkan telah dapat mempercepat waktu penetasan dan meningkatkan daya tetas.

Kortikosteroid adalah bahan immunosupresif yang mempunyai khasiat menekan atau menghambat reaksi imunologis tubuh. Penggunaan kortikosteroid dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan timbulnya sifat immunosupresif sehingga menggagalkan program vaksinasi dan ayam menjadi lebih peka terhadap bermacam infeksi (1).

ok Berdasarkan pernyataan di atas, maka dapat diketahui kebaikan penggunaan kortikosteron dilihat dari segi peternakan akan tetapi yang perlu diingat disini adalah efek kortikosteron sebagai immunosupresif yang dapat menurunkan respon imun sehubungan dengan infeksi bakteri, virus, fungi, dan toksin bakteri (2). Hal ini diperkuat oleh pendapat Bellanti bahwa efek immunosupresif kortikosteroid menimbulkan penurunan tingkat imunoglobulin dan komplemen (1).

Dengan latar belakang seperti inilah, peneliti ingin mengetahui efek immunomodulasi yang ditimbulkan oleh deksametason (derivat kortison) apabila diberikan pada masa embrional terhadap respon humoral dan efeknya terhadap infeksi ND.

1. 2. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui apakah pemberian deksametason pada berbagai umur pada masa embrional ayam yang ditulari virus ND, akan menunjukkan efektifitas yang berbeda pula terhadap respon humoral.

Untuk mengetahui kemampuan virus ND tumbuh di dalam cairan allantois pada berbagai umur pada masa embrional ayam (13, 17, dan 21 hari) di bawah pengaruh deksametason.

1. 3. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menunjukkan bukti-bukti ilmiah tentang efek pemberian preparat hormon kortikosteroid yaitu deksametason yang merupakan imuno-regulator pada ayam. Hal tersebut perlu dikemukakan mengingat beberapa pendapat bahwa preparat kortikosteroid dapat mempercepat penetasan telur ayam bertunas, yang kelihatannya sangat menguntungkan. Tetapi pendapat tersebut masih belum dihubungkan dengan keadaan sistem kekebalan tubuhnya. Maka berdasarkan hasil penelitian ini akan diketahui apakah pemberian deksametason mempunyai dampak positif ataukah negatif terhadap ayam, dalam hal ini terhadap sistem kekebalan tubuhnya, yang dihubungkan dengan kerentanannya terhadap penyakit khususnya virus *Newcastle Disease*.

1. 4. Hipotesis

Salah satu jenis respon imun akibat inveksi virus adalah pelepasan antibodi ke dalam darah dan cairan tubuh dimana reaksi ini dapat diketahui melalui uji serologis. Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah :
Ada pengaruh pemberian deksametason terhadap respon kekebalan humoral melalui uji *Serologis Haemagglutination (HA)* dan uji *Haemagglutination Inhibition (HI)* pada embrio ayam berumur 13, 17, dan 21 hari yang ditulari virus *Newcastle Disease*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Sistem Kekebalan Tubuh

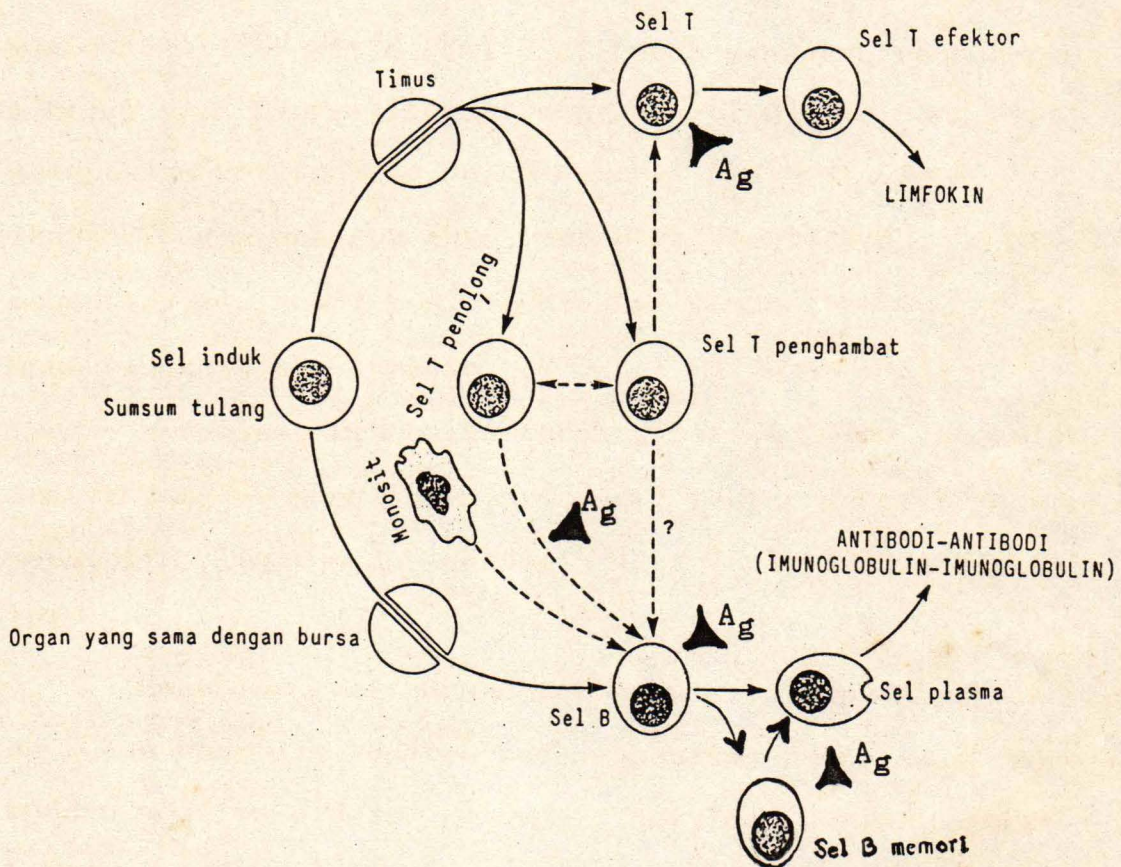
Imunitas dalam ilmu kedokteran berarti resistensi relatif terhadap suatu mikroorganisme. Resistensi terbentuk berdasarkan respon imunologik. Respon imun mencakup pengertian pengenalan zat atau benda asing oleh suatu makhluk hidup dengan segala rangkaian kejadian yang melibatkan sistem retikulo endotelial (3).

Di dalam tubuh manusia dan hewan terdapat suatu sistem yang disebut limforetikuler, yaitu suatu sistem yang melaksanakan fungsi kekebalan tubuh. Bila tubuh kemasukan zat asing atau antigen, maka tubuh akan memberikan respon imunologik yang secara garis besar dibedakan menjadi dua yaitu : respon imunologik spesifik dan respon imunologik non spesifik (4).

Respon imunologik spesifik muncul akibat dari interaksi antigen dengan sel sistem imun. Dengan rangsangan antigen ini, sel-sel sistem imun berproliferasi dan berdiferensiasi sedemikian rupa sehingga bersifat imunogenik yaitu kapasitas untuk menimbulkan respon imun (5,6). Sedangkan respon imunogenik non spesifik adalah reaksi awal tanggap kebal terhadap benda asing dengan meniadakan antigen secara non spesifik dengan cara fagositosis. Sel-sel yang berperan dalam proses fagositosis ini

adalah makrofag, eosinofil, netrofil dan basofil (4).

Respon imunologik spesifik ada 3 macam yaitu respon imunologik seluler, humoral, dan interaksi antara keduanya (7), yang secara skematis dapat dikemukakan seperti pada gambar 1.



Gambar 1 : Skema respon imunologik spesifik (5)

Pada respon imunologik seluler yang berperan dalam tanggap kebal adalah sel limfosit T. Limfosit T berubah menjadi sel-sel yang dapat menghancurkan antigen secara langsung atau dengan cara mengeluarkan limfokin. Sel ini

disebut sel T efektor. Disamping itu populasi limfosit T yang lain menjadi sel-sel yang mengatur produksi antibodi oleh sel B atau sel plasma dan juga mengatur aktivitas sel efektor. Sel-sel ini disebut limfosit T penolong dan limfosit T penekan (7).

Pada respon imunologik humoral yang berperan adalah sel limfosit B. Sel B di bawah pengaruh rangsangan antigen akan berproliferasi menjadi sel plasma yang dapat melepaskan antibodi ke dalam darah. Antibodi yang berikatan dengan antigen akan membentuk kompleks Ag-Ab yang mengaktivasi komplemen. Sehingga mengakibatkan penghancuran kompleks tersebut (7).

Mekanisme kekebalan tubuh dibatasi oleh sejumlah faktor yang mempengaruhinya seperti faktor genetik, umur, metabolik, lingkungan, anatomi, fisiologi, dan mikrobial (8).

Mekanisme pertahanan tubuh mula-mula pada permukaan tubuh yang digolongkan pada mekanisme pertahanan permukaan non imunologis, dimana individu normal mempertahankan dan melindungi diri dari mikroorganisme serta antigen yang merugikan melalui barier pertahanan alami yaitu barier mekanis (9). Kulit yang utuh merupakan barier mekanik karena adanya lapisan tanduk yang berfungsi sebagai pelindung tubuh, keringat, dan kelenjar yang bersifat bakterisid. Demikian pula kulit pada telur yang berkapur merupakan barier pertahanan terhadap

masuknya mikroorganisme (10,11).

Mekanisme pertahanan non imunologis fisik yang lain adalah lendir penghalang yang dihasilkan oleh sel-sel silia pada saluran pernapasan dan pengelupasan pada kulit. Selain mekanisme fisik, mekanisme pertahanan yang lain adalah faktor kimiawi seperti lisozim dalam air mata yang dapat menghancurkan kuman gram negatif, asam lambung yang dapat menghambat kolonisasi kuman patogen seperti *Escherichia coli* (4,12).

Mekanisme pertahanan permukaan imunologis adalah mekanisme yang melibatkan imunoglobulin dalam sekresi air liur, cairan usus, sekresi hidung, air mata, air susu dan kolustrum, air kencing dan sekresi saluran urogenital. Contohnya adalah Imunoglobulin A (Ig A) yang terdapat dalam sekresi hewan dimana Ig A mempunyai aktivitas netralisasi enzim virus dan bakteri (4).

Kedua mekanisme pertahanan di atas merupakan mekanisme aktif dalam pertahanan tubuh yang diperoleh sejak lahir. Sedangkan suhu tubuh dan komplemen tergolong mekanisme pasif (12).

Suhu tubuh, misalnya pada golongan mamalia yang mempunyai temperatur tubuh 39°C dimana jarang sekali bakteri patogen yang dapat tumbuh. Seperti contohnya *Micobacterium ulcera* yang tumbuh baik pada suhu 37°C (12).

Komplemen terdapat dalam serum darah semua spesies

hewan dan muncul pertama kali pada masa perkembangan foetus sebelum antibodi Ig A bersirkulasi dalam tubuh (13). Komplemen yang terdiri dari protein terikat pada enzim yang bersifat termo labil dimana ia dapat dihilangkan pada suhu 56°C selama setengah jam. Selain itu komplemen berperan dalam melindungi terhadap serangan mikroorganisme misalnya dalam aktivasi sel, sel lisis, dan opsonisasi yaitu membantu meningkatkan kemampuan fagositasi terhadap bakteri patogen atau benda asing lainnya. Komplemen juga dapat merusak, membunuh sel berinti, eritrosit, bakteri gram positif, bakteri gram negatif dengan bantuan lisozim dan virus (4,14,15).

Kekebalan buatan bisa diperoleh setelah ada antigen masuk ke dalam tubuh dan di dapat secara aktif maupun pasif. Kekebalan buatan pasif alamiah misalnya anak ayam yang memperoleh kekebalan dari induknya melalui kuning telur, yaitu melalui serum induk ayam ke dalam kuning telur saat telur masih berada dalam ovarium. Ig G yang terdapat dalam kuning telur diserap sehingga masuk dalam sirkulasi embrio. Sedangkan Ig M dan Ig A maternal dalam albumin cairan amniom ditelan sehingga kelak bila menetas ditemukan dalam saluran pencernaan.

Kekebalan buatan pasif yang buatan misalnya perlindungan dengan pemberian antibodi homolog atau γ -globulin homolog.

Kekebalan buatan aktif bisa terjadi secara alamiah

misalnya setelah kontak dengan infeksi atau sembuh dari sakit seperti cacar atau secara buatan dengan imunisasi toksoid, jasad renik mati atau yang dilemahkan (4,14).

A. 1. Sistem Kekebalan Pada Unggas

Pada dasarnya, setiap makhluk hidup mempunyai sistem pertahanan yang gunanya untuk menjaga keutuhan dirinya demi kelangsungan hidupnya. Sistem dan mekanisme pertahanan bervariasi dari yang sederhana sampai yang kompleks. Pada makhluk yang sederhana, misalnya protozoa telah memiliki mekanisme fagositosis yaitu menelan benda asing tersebut. Sedangkan makhluk hidup dengan struktur hidup yang kompleks, misalnya ayam, reaksi pertahanan tubuhnya terhadap benda asing adalah mekanisme imunologik, disamping juga mekanisme fagositosis tersebut (3).

Sistem kekebalan pada ayam sedikit berbeda bila dibandingkan dengan sistem kekebalan pada mamalia, walaupun keduanya sama-sama termasuk makhluk hidup yang struktur tubuhnya kompleks. Perbedaan tersebut terletak pada kelengkapan alat-alat tubuhnya yang berperan dalam mekanisme imunologik, yaitu ayam mempunyai bursa Fabrisius yang tidak terdapat dalam mamalia (4).

Sistem kekebalan ayam dapat dibagi dalam 3 sistem yaitu sistem kekebalan humoral, sistem kekebalan sekretori, dan sistem kekebalan seluler.

Sistem kekebalan humoral dan sekretori keduanya tergantung pada sel B yang dihasilkan oleh bursa Fabriscius, sedangkan kekebalan seluler tergantung pada sel T yang dihasilkan oleh Timus (16).

Bursa Fabriscius adalah organ kecil berwarna putih dan merupakan organ *lymphoepithelial* yang khas pada bangsa unggas yang terletak di sebelah dorsal dari kloaka, tepatnya di dorsal divertikulum dari kloaka, sering disebut *the cloacal thymus* (17,18).

Payne (1971) yang dikutip oleh Firth (1977) mengemukakan mengenai peranan bursa Fabriscius dalam perkembangan imunologis humoral :

1. Bursa Fabriscius adalah penghasil sel-sel limfosit B dewasa.
2. Bursa Fabriscius akan mensekresi suatu hormon yang diperlukan dalam perkembangan sel-sel limfosit B untuk mensintesa imunoglobulin dari sel-sel yang berasal dari non bursa (19).

Peranan dari imunitas humoral pada resistensi terhadap penyakit telah banyak diselidiki dengan penelitian tentang reaksi unggas yang telah mengalami bursektomi terhadap penyakit (17).

Percobaan bursektomi pada ayam dengan cara pembedahan atau dengan metode hormonal rata-rata menghasilkan penurunan respon terhadap antibodi. Demikian pula pengambilan bursa Fabriscius pada ayam pada waktu atau

sebelum menetas akan mengganggu perkembangan sel limfosit B dengan ditunjukkan oleh penurunan konsentrasi dari antibodi terhadap antigen (18,20).

Pada ayam jumlah Timus ada 7 pasang yang terletak menyebar sepanjang leher, berdekatan dengan vena jugularis. Pada periode embrional, sel T sudah dapat dideteksi terdapat di dalam Timus pada hari ke 15 - 16 penetasan. Kelenjar ini tersusun sebagai suatu lobules yang merupakan susunan mata rantai sel-sel epitel dengan kumpulan limfosit di dalamnya (4,14).

Timus menghasilkan sekelompok hormon yang terdiri beberapa fraksi, dimana setiap fraksi mempunyai fungsi serta tugas tertentu terhadap sistem kekebalan seluler. Fraksi-fraksi tersebut diantaranya adalah Timosin dan Faktor Thymus Serum (FTS). Timosin bekerja pada sel - sel induk dari sumsum tulang untuk membuatnya menjadi matang dan berdeferensiasi menjadi sel T (8,14).

Diferensiasi sel T mencakup berbagai tahap diantaranya adalah pembentukan petanda permukaan, perubahan antigen permukaan, dan sifat-sifat fungsional limfosit. Limfosit T berdeferensiasi menjadi limfosit-limfosit diantaranya T penolong, T penekan, T sitotoksik, T memori, dan T hipersentitif lambat, yang kesemuanya berfungsi dalam respon kekebalan seluler (8,21,22).

A. 1. a. Masa Embrional

Mekanisme pertahanan embrio berkembang segera setelah timbulnya sistem hemopoetik. Terbentuknya darah pertama kali terjadi di dalam ruang vaskulosa dari blastodisk ayam dimana kelak bergabung dalam kantung kuning telur, kemudian dibentuk dalam tubuh embrio (23).

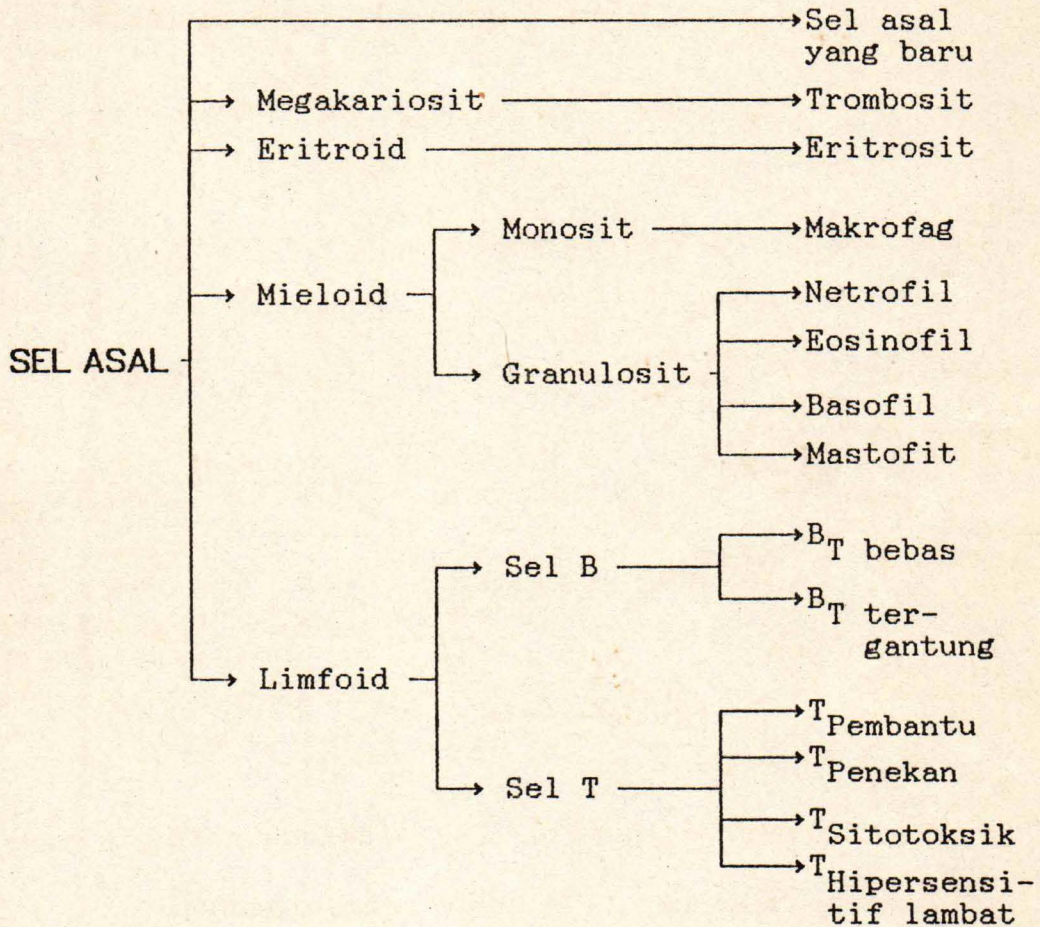
Setelah proses hemopoesa berlangsung dalam kuning telur, proses ini kemudian diambil alih oleh hati janin, timus, limpa, bursa Fabricius dan akhirnya oleh sumsum tulang (24). Sel-sel hemopoietik asal yang menurunkan elemen-elemen pembentuk darah dan sel-sel sistem limforetikuler, bersifat multipoten/pluripoten yaitu mempunyai kemampuan menghasilkan sel-sel yang baru (14).

Semua sel darah berasal dari sel induk pluripoten yang kemudian berdeferensiasi menjadi :

1. Sel induk Limfoid yang membentuk sel limfosit T dan sel limfosit B.
2. Sel induk Mieloid yang selanjutnya berkembang menjadi monosit dan granulosit.
3. Sel induk Eritroid yang kelak menjadi eritrosit.
4. Sel induk Megakariosit yang kelak menjadi Trombosit (14,21,25) (gambar 2).

Organ limfomielioid sebagai organ imunitas terbagi dalam dua kelompok yaitu organ limfoid primer yang terdiri dari kantong kuning telur, organ limfo-

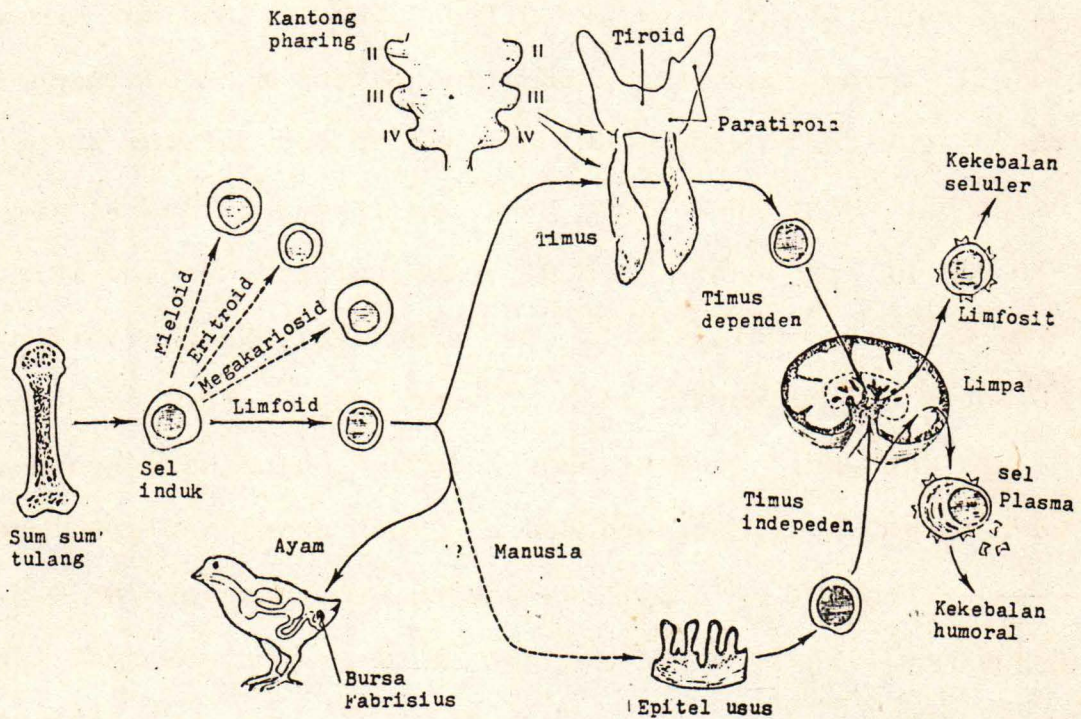
epitelial (Timus dan bursa Fabrisius) dan sumsum tulang. Sedangkan organ limfoid sekunder terdiri dari limpa, Caecal tonsil, dan glandula Harderian (26,27).



Gambar 2 : Asal mula timbulnya sistem hemopoietik (14).

Pada ayam umur 5 hari inkubasi bursa sebagai organ penghasil sel limfosit B mulai nampak secara anatomis, lalu pada umur 12 - 14 hari inkubasi mulai ditemukan limfosit dan akhirnya bursa terbentuk baik dan dikuasai oleh limfoidal pada umur 17 hari inkubasi (11).

Sel induk limfoid yang berasal dari sel induk pluri potensial berasal dari sumsum tulang. Dalam perkembangan selanjutnya sel induk limfoid mengalami diferensiasi menjadi limfosit T dan B.



Gambar 3 : diferensiasi sel progenitor menjadi sel hemopoietik dan sel imunokompeten (25).

Jika sel induk limfoid tumbuh di bawah pengaruh Timus maka ia akan matang menjadi sel T yang kelak berperan dalam kekebalan berperantara sel. Bila sel induk limfoid tumbuh di bawah bursa Fabricius, maka akan berdeferensiasi menjadi sel B yang berperan dalam kekebalan humoral (25) (gambar 3).

Sistem kekebalan humoral pada ayam terdiri dari

sel B yang mensintesa antibodi yang tetap terikat pada membran selnya, dan karena molekul antibodi adalah globulin maka dikenal sebagai Imunoglobulin (Ig) (4).

Sel B pada ayam menghasilkan paling sedikit 3 macam antibodi (Imunoglobulin) yaitu Ig M, Ig G dan Ig A. Imunoglobulin M adalah antibodi utama yang cepat timbul segera setelah seekor ayam kontak dengan antigen. Pada umur 14 hari inkubasi sel yang mengandung Ig M ditemukan dalam bursa Fabricius, umur 18 hari inkubasi Ig A diproduksi dan akhirnya pada umur 21 hari inkubasi Ig G diproduksi (16). Sampai umur 16 hari inkubasi Ig M belum meninggalkan bursa, setelah umur 19 hari inkubasi Ig M meninggalkan bursa dan juga beberapa sel yang mengandung Ig G. Hingga akhirnya pada umur 21 hari inkubasi semua sel yang mengandung Ig G dan Ig A meninggalkan bursa (4,16).

Imunoglobulin M dihasilkan dalam tanggap kebal primer dimana dalam serum kadarnya cepat meningkat namun masih lebih rendah dibanding Ig G. Setelah 10 - 12 hari kontak dengan antigen, kadar Ig M akan menghilang dalam serum (4).

Selain itu Ig M juga dihasilkan dalam tanggap kebal sekunder, namun jumlahnya tertutup oleh produksi Ig G yang banyak sekali. Walaupun jumlahnya relatif kecil Ig M sangat efisien dibandingkan Ig G pada aktivasi komplemen, opsonisasi, netralisasi virus, dan aglutinasi.

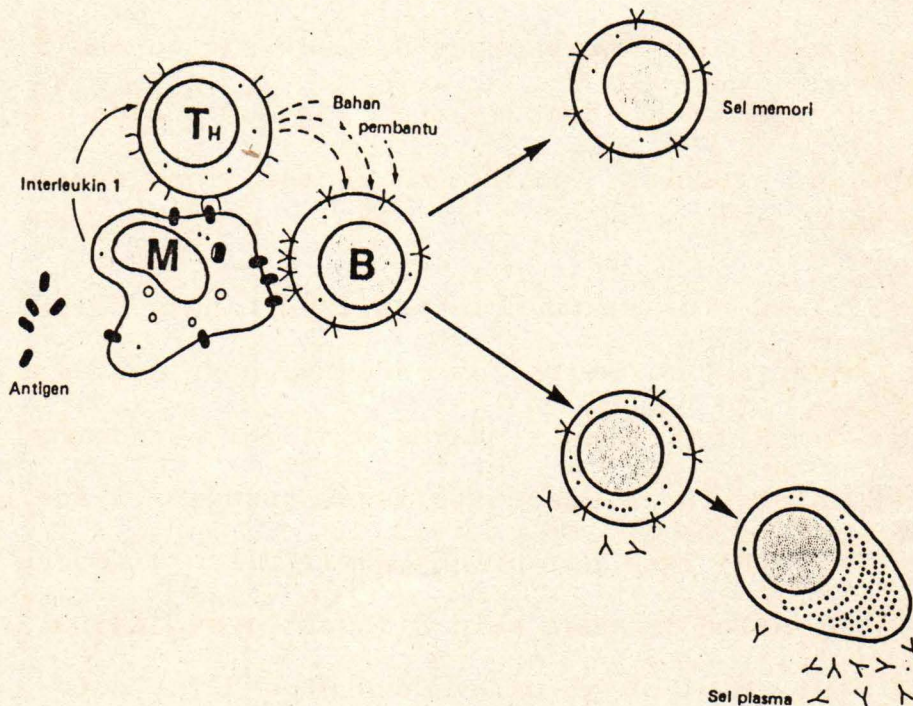
Kadar imunoglobulin G dalam serum terbanyak dibanding yang lain namun pembentukannya lebih lambat yaitu kira-kira 5 hari setelah kontak dengan antigen. Ig G berperan dalam opsonisasi, aglutinasi, dan presipitasi antigen.

Sedangkan Ig A adalah dikenal sebagai antibodi lokal, karena terdapat dalam cairan lendir yang dihasilkan oleh mukosa traktus respiratorius, gastro intestinal, dan genital. Kadar Ig A pada ayam sangat kecil namun dapat mengaglutinasi partikel antigen dan menetralkan virus yaitu mencegah melekatnya antigen pada permukaan tubuh (4,28).

Semua antibodi pada permukaan sel B yang manapun mempunyai tempat pengikatan antigen yang identik. Bila antigen/benda asing masuk ke dalam tubuh akan di fagosit, diantaranya oleh makrofag (29) selanjutnya makrofag akan merubah antigen tersebut menjadi super antigen, dan kemudian super antigen yang terikat pada makrofag tersebut bertemu dengan limfosit T untuk diproses lebih lanjut.

Disamping itu makrofag mengeluarkan interleukin 1 untuk menggiatkan sel T pembantu serta meningkatkan tanggap sel B. Sel T pembantu yang sudah terangsang akan mengeluarkan interleukin 2 yang berfungsi untuk merangsang sel B dan sel T yang lain yaitu T memori, T supre-

sor, T sitotoksik dan T DTH supaya menjadi aktif. Sel B yang terangsang akan membesar dan berproliferasi berulang kali hingga perlahan-lahan berdeferensiasi menjadi dua kali populasi sel yang berbeda fungsi dan morfologinya. Yang pertama adalah sel plasma yang mempunyai kemampuan menghasilkan antibodi dan yang kedua adalah sel memori dengan morfologi yang tidak berubah, sel memori mempunyai reseptor imunoglobulin dengan kekhususan identik dengan yang dipunyai sel induk. Sel memori dapat hidup berbulan-bulan bahkan tahunan setelah kontak dengan antigen sehingga dosis antigen kedua dapat merangsang lebih banyak lagi sel peka antigen (4,30,31).



Gambar 4 : Skema respon imunologik humoral (4).

A. 1. b. Masa Paska Tetas

Setelah menetas, ayam akan mengalami perkembangan pada sistem kekebalan tubuhnya sesuai dengan perkembangan umurnya.

Timus dan bursa Fabrisius yang merupakan organ pertahanan pada ayam akan bertambah pula ukuran dan beratnya sejalan dengan perkembangan umur. 1 - 2 minggu sesudah menetas bursa akan mengalami kemunduran perlahan-lahan, dan setelah mencapai kematangan seksual (6 bulan) organ tersebut akan mengalami atropi (32). Setelah dewasa fungsi bursa tersebut akan digantikan oleh sumsum tulang (33).

Timus sebagai tempat pendewasaan sel T pun akan mengalami atropi dan sel T tersebut akan menyebar ke limpa, darah tepi, caecal tonsil dan glandula Harderian (4).

Sel B yang dihasilkan oleh bursa pada umur 12 - 15 hari penetasan akan menyebar ke bagian tubuh ayam yang lain. Penyebaran ini akan berakhir pada umur 2 - 3 minggu dimana sel B tersebut dapat ditemukan di glandula Harderian, caecal tonsil, limpa, dan darah tepi (4).

Sedikitnya terdapat 3 klas imunoglobulin yang disintesa oleh sel B pada ayam yaitu Ig G, Ig M, dan Ig A (16). Ig G dapat dideteksi dalam serum ayam 3 - 6 hari setelah menetas. Ig G berfungsi fagositosis, menetralsir

toksin dan menginaktivasi virus. Tempat pembuatannya di limpa dan jaringan limfoid. Konsentrasi dalam serum adalah 300 - 700 mg/100ml (4,32).

Imunoglobulin M yang merupakan antibodi utama tidak dapat dideteksi dalam serum ayam 3 - 4 hari setelah menetas, namun dengan teknik kultur invitro, pada umur 16 - 18 hari embrional bursa telah dapat mensintesa Ig M. Tempat pembuatan Ig M adalah pada limpa dan jaringan limfoid dengan konsentrasi 120 - 250 mg/100ml dalam serum ayam. Ig M ini merupakan bahan yang efisien dalam meng-aglutinasi dan sitolisis antigen (4,16,32).

Imunoglobulin ke-3 pada ayam yaitu Ig A yang dikenal sebagai antibodi lokal karena terdapat pada cairan tubuh eksternal seperti air mata, saliva dan dalam sekresi yang dihasilkan lapisan mukosa saluran pernapasan. Tempat pembuatan Ig A adalah pada jaringan limfoid dan sub epitelial dengan konsentrasi 30 mg/100ml dalam serum. Bersama dengan komplemen dan lisozym, Ig A menyebabkan bakteriolisis (4,32,34).

Anak ayam yang berasal dari induk yang divaksinasi biasanya dalam serumnya terdapat antibodi yang diturunkan. Sifat kekebalan ini bersifat pasif atau dikenal sebagai antibodi maternal (16).

Maternal antibodi yang terdapat pada anak ayam yang baru menetas biasanya Ig M dan Ig A. Konsentrasinya

dalam serum umumnya sebanding dengan induk ayam tersebut, namun kadarnya hanya bertahan 3 - 4 minggu setelah menetas (4).

Kekebalan induk yang terdapat dalam serum anak ayam ini memberi pengaruh negatif terhadap vaksinasi, sebab akan terjadi netralisasi virus vaksin hidup dan juga menekan penghambatan umpan balik terhadap sintesa antibodi aktif (32).

A. 2. Pengujian Kapasitas Sistem Kekebalan Humoral Secara Serologis

Serologi adalah suatu pemeriksaan reaksi antigen dan antibodi secara invitro dari serum yaitu memberi hasil kuantitatif dengan cara mengencerkan suatu reagen sedang reagen yang lain konstan (35).

Interaksi antigen dan antibodi melalui prosedur serologis terbagi dalam 3 kategori yaitu uji pengikatan primer, sekunder, dan tersier. Uji pengikatan primer terdiri dari Radioimunoessai, Imuno Fluoresen dan metode Presipitasi Amonium Sulfat. Uji pengikatan sekunder terdiri dari Presipitasi, Netralisasi Virus, Uji Pengikatan Komplemen dan Aglutinasi. Sedang uji pengikatan tersier yaitu Anafilaksis kulit pasif (4,36).

Melalui pengujian tersebut kita dapat mendeteksi dan mengidentifikasi antigen, antibodi atau mengukur

tingkat atau titer dari antibodi yang tidak diketahui (35).

Reaksi aglutinasi dapat diklasifikasikan menjadi 2 yaitu aglutinasi langsung dan aglutinasi tak langsung (pasif). Sel darah merah, bakteri, dan jamur dapat diaglutinasi langsung oleh antibodi dalam serum. Sedangkan aglutinasi pasif yaitu antigen terlarut yang secara pasif dapat diabsorpsi atau diikat oleh sel darah merah menjadi partikel yang tidak larut misalnya virus, *Toxoplasma*, *Escherichia coli* dan lipopolisakarida dari bakteri tertentu (36,37).

Reaksi aglutinasi bisa berupa hemaglutinasi, leukoaglutinasi maupun bakterial aglutinasi (36).

Burnet pada tahun 1942 menemukan bahwa virus *Newcastle Disease* dapat mengaglutinasi sel darah merah ayam. Tes hemaglutinasi dapat digunakan sebagai uji pendahuluan yang cepat untuk mengenali adanya virus dalam cairan telur yang terinfeksi atau jaringan yang tertular (38).

Virus tertentu mengandung hemaglutinasi yang dapat mengaglutinasi sel darah merah dari berbagai jenis hewan seperti misalnya virus dari golongan Myxovirus yang mengaglutinasi sel darah merah manusia, mencit, dan unggas, Pox virus dapat mengaglutinasi sel darah merah unggas, dan golongan Para mixovirus dapat mengaglutinasi sel darah merah ayam (39).

Uji hambatan aglutinasi (HI) biasanya sering digunakan untuk mengenali virus khusus atau untuk mengukur titer antibodi dalam serum yaitu pengenceran tertinggi dari serum yang masih dapat menghambat aglutinasi sel darah merah (35).

Uji hambatan aglutinasi (HI) ini pada dasarnya adalah merupakan penghambatan virus untuk mengaglutinasi sel darah merah oleh antibodi yang homolog dengan virus tersebut. Penghambatan ini terjadi karena aglutinin dari virus berikatan dengan reseptor antibodi sehingga reseptor dari sel darah merah tetap bebas dan akhirnya mengendap (40).

Dalam uji hambatan aglutinasi ini biasanya virus yang ditambahkan dalam jumlah konstan, sedang serum yang diuji diencerkan seri. Virus sebelum digunakan dititrasi dahulu untuk menentukan aktivitas hemaglutinasinya dan bila akan digunakan dalam pengujian distandardisasi hingga mencapai 4 HA unit (39).

B. Deksametason

Kortek kelenjar adrenal bertanggung jawab atas pembentukan berbagai jenis steroid. Bagian kortek ini mengeluarkan 3 macam kortikosteroid yang khasiatnya ber-

lainan : glukokortikoid seperti kortisol (hidrokortison), kortikosteron dan kortison; mineralokortikoid seperti aldosteron dan desoksi kortikosteron (Doc) dan steroid dengan aktivitas androgenik (41,42,43).

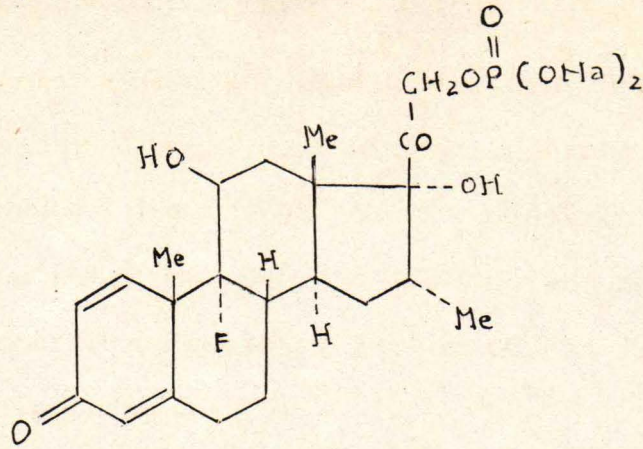
Hormon golongan glukokortikoid dibagi lagi menjadi hormon yang alami dan sintetik. Contoh hormon glukokortikoid yang alami adalah kortison, kortikosteron dan hidrokortison, sedangkan yang sintetik adalah 6- α metil prednisolon, 6- α fluoro prednisolon, prednisolon, triamnisolon, betametason dan deksametason (44).

Kerja dari hormon adrenal kortek sintetik lebih baik dibandingkan dengan bentuk alami, seperti halnya 0,75 mg deksametason sama pengaruhnya dengan 25 mg kortison, 20 mg hidrokortison, 5 mg prednisolon dan 4 mg triamnisolon (43).

Obat deksametason banyak dikenal dengan nama lain seperti : Oradekson, dekadron, deronil, deksakortisil heksadekadrol, dekason, dan banyak yang lain (45).

Rumus bangun deksametason sodium fosfat adalah

sebagai berikut :



Gambar 5 : Rumus bangun deksametason sodium fosfat (46).

Deksametason (9 α -fluoro-16 α metil prednisolon) merupakan derivat kortisol sintetik dari golongan fluor-kortikoida yaitu turunan fluor dari prednisolon. Berdasarkan posisi atom fluor dalam rumus steroid maka deksametason bersama dengan triamnisolon, betametason, desoksimetason, flupredniden dan amsinonida tergolong 9 α -fluor (47,48).

Deksametason digunakan pada terapi non spesifik yaitu sebagai anti radang, anti alergi dan obat imunosupresif (1).

Deksametason digunakan untuk menekan inflamasi pada keadaan dermatosis dan arthritis, juga digunakan untuk mendapatkan efek glukogenik pada ketosis pada sapi. Dosis pada hewan besar 10 - 50 mg sedang hewan kecil 0,25 - 2 mg (49).

B. 1. Pengaruh Deksametason Secara Fisiologis Pada Tubuh

Hormon dari golongan glukokortikoid dihasilkan oleh kortek kelenjar adrenal dan fungsi sekresi kortek adrenal dipengaruhi oleh ACTH yang disekresi oleh kelenjar hipofisa anterior. Sekresi ACTH selanjutnya diatur oleh Corticotropin Releasing Factor (CRF) yang dikeluarkan oleh hipotalamus (50).

Efek penghambatan kortisol pada hipotalamus dan pada hipofisa anterior akan menyebabkan penurunan sekresi ACTH. Umpan balik ini membantu mengatur konsentrasi kortisol plasma, yaitu jika konsentrasi terlalu besar, umpan balik ini secara otomatis mengurangi konsentrasi kembali ke tingkat pengaturan normal (51).

Scott *et al.* telah mengukur level kortikosteron embrio ayam pada hari ke 10 inkubasi dan meningkat dengan cepat pada hari ke 15. Sedang Wenworth dan Hussein mengukur level kortikosteron embrio kalkun pada hari ke 12 dan terjadi peningkatan pada hari ke 15. Hal ini disebabkan karena adanya pengaruh dari axis hypothalamo - adenohypophysis - kortek adrenal yang terbentuk pada hari ke 14 sampai ke 16 inkubasi ayam. Aktivitas mitosis kelenjar adrenal dan banyaknya sel sekretori kortek adrenal terbesar pada hari ke 13 dan mencapai puncak pada hari ke 14 inkubasi. Dari pengaruh axis tersebut akan

dikeluarkan kortikosteron (52,53).

Terdapat hubungan yang erat antara banyaknya kematian pada awal penetasan dengan level kortikosteron dalam plasma. Kematian menjadi lebih tinggi jika level kortikosteron menjadi lebih rendah (54). Rendahnya level kortikosteron menurut beberapa ahli yang dikutip oleh Wenworth dan Hussein, disebabkan oleh meningkatnya metabolisme hormon, menurunnya sintesa hormon dan menurunnya sekresi hormon pada saat itu. Tetapi jika level kortikosteroid terlalu tinggi akan menyebabkan lambatnya waktu penetasan, menurunnya daya tetas dan retraksi kuning telur pada embrio. Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa penambahan dosis kortikosteron 540 ng/embrio dapat mempercepat waktu penetasan dan meningkatkan daya tetas (52).

Fungsi farmakologi dan fisiologi kortikosteroid sangat banyak meliputi metabolisme protein dan karbohidrat, efek anti inflamasi, dan penghambatan pengeluaran ACTH (47).

Pemberian dosis tertentu kortikostroid dapat ber-efek fisiologik atau farmakologik tergantung dari keadaan dan aktifitas penderita, dosis, lama dan cara pemberian serta jenis preparat (55).

Pada pengobatan fisiologis digunakan untuk memperbaiki insufisiensi adrenokortikal kronis maupun hypopito-

starisin yang disebabkan oleh kekurangan ACTH. Pada pengobatan farmakologis digunakan untuk keadaan inflamasi maupun alergi (49).

Glukokortikoid mempunyai efek metabolisme pada beberapa jaringan yaitu otot, kulit, limfoid dan jaringan adipose. Glukokortikoid bekerja membentuk kompleks dengan reseptor spesifik dalam sitoplasma yang dapat mempengaruhi pembentukan sintesa asam ribo nukleat (RNA) yaitu enzim tirosin amino transferase dan triptofan pirolase. Enzim ini berguna meningkatkan kadar protein dan glikogen dalam hati (56).

Deksametason sebagai derivat glukokortikoid sintetik mempunyai khasiat anti inflamasi dan daya glukokortikoid yang sangat besar yaitu 10 - 30 kali lebih kuat dari kortisol dan efeknya bertahan 3 - 4,5 kali lebih lama daripada kortisol, sedang efek mineralokortikoidnya lenyap sama sekali (57,58). Selain itu deksametason termasuk preparat glukokortikoid yang bekerja lama berdasarkan masa paruh biologiknya yaitu lebih dari 48 jam (55).

Efek samping dari penggunaan deksametason terjadi bila diberikan dalam jangka panjang atau dalam dosis besar antara lain hambatan pertumbuhan, supresi anak ginjal dan supresi daya tangkis terhadap infeksi (1,48,59).

Dosis terapi yang digunakan pada sapi adalah 5 mg/hari intra muskuler atau intra vena, pada anjing dan kucing 0,125 - 1 mg/hari intra muskuler atau secara oral (47).

B. 2. Pengaruh Deksametason Terhadap Sistem Kekebalan

Tubuh

Deksametason sebagai obat immunosupresif memiliki sifat limpolitik yaitu dapat mengurangi ukuran, berat, dan juga kerusakan jaringan limfoid dari nodus limfatikus, timus, dan limpa (1,5).

Selain memiliki efek anti inflamasi, deksametason juga memiliki efek immunosupresif yang berakibat penurunan sirkulasi limfosit dan monosit dan penurunan kadar immunoglobulin dan komplemen (1).

Cara kerja kortikosteroid yaitu dengan mengganggu reaksi imunitas. Reaksi imunologis dapat terganggu melalui dua tahap yaitu sentral dan eferen. Fase sentral merupakan proliferasi dan diferensiasi sel dalam sistem imunologik yang disertai dengan pembentukan antibodi atau pembentukan sel-sel yang dapat mengenal dan bereaksi dengan antigen. Gangguan dari fase sentral ini berupa perubahan distribusi limfosit sehingga menimbulkan limfositopenia, penghambatan aktifitas limfosit T oleh mitogen dan efek limfokin terhadap sel target dihambat.

Fase eferen merupakan reaksi antara antibodi atau sel-sel yang sensitif dengan antigen. Gangguan dari fase eferen ini berupa penurunan kadar imunoglobulin dan kadar komplemen (60).

Kortikosteroid sebagai obat immunosupresif bekerja pada fase pre induksi yaitu fase sebelum antigen masuk ke dalam tubuh untuk pertama kalinya, dimana kortikosteroid menimbulkan kerusakan pada limfosit, imunokompeten dan jika obat ini diberikan setelah terjadi stimulus antigen, biasanya tidak diperoleh efek immunosupresif sehingga respon imun dapat berlanjut terus (61).

Glukokortikoid sintetis seperti deksametason atau prednisolon dapat menekan imunitas seluler dan sintesa antibodi. Sel T supresor dan sel T penolong mengalami lisis sedang plasma sel menjadi lebih peka terhadap kortikosteroid sehingga menurunkan konsentrasi antibodi (5).

Efek immunosupresi menurut Gan dapat dicapai melalui cara menghambat fagositosis dan pengolahan Ag oleh makrofag untuk diubah menjadi Ag imunogenik; menghambat pengenalan Ag oleh sel imunokompeten; merusak sel limfoid imunokompeten; menekan diferensiasi dan proliferasi sel imunokompeten, sehingga tidak terbentuk sel plasma penghasil Ab ataupun *sensitized T cells* untuk respon imun seluler; dan menghentikan produksi Ab oleh sel plasma dan melenyapkan *sensitized T cells* yang telah terbentuk (3).

Glukokortikoid menghambat pelepasan interleukin 2 dari T sel oleh gangguan langsung dari stimulasi interleukin 1 yang dihasilkan oleh makrofag sehingga tidak dapat merangsang sel B untuk berdiferensiasi menjadi sel plasma. Pengurangan respon terhadap sel B menyebabkan pengurangan produksi imunoglobulin (62).

Prednisolon dilaporkan dapat menyebabkan lisisnya sel T penekan dan sel T penolong.

Pemberian glukokortikoid dosis farmakologik secara in vivo secara umum akan menekan produksi Imunoglobulin (Ig) G, Ig A, dan Ig M. Sedangkan bila diberikan pada konsentrasi farmakologik secara in vitro dapat tidak mempengaruhi produksi imunoglobulin namun dapat pula mematangkan sel B untuk memproduksi Ig sehingga Ig G, Ig A, dan Ig M justru meningkat produksinya (62).

Pada penggunaan klinik preparat glukokortikoid sering digunakan sebagai bahan yang berkhasiat menekan sistem imun seperti pada penyakit autoimun yaitu anemia, purpura trombositopenik idiopatik dan lupus eritomatosis. Selain itu juga digunakan secara luas pada transplantasi organ (5,61).

Kortikosteroid mempunyai efek baik pada reaksi inflamasi maupun proses imun. Efek dari reaksi inflamasi adalah berkurangnya lekosit yang beredar, menghambat pengerahan netrofil dan makrofag - monosit ke tempat in-

flamasi (63).

Pada reaksi imunologis kortikosteroid ternyata lebih mempengaruhi limfosit T dibanding dengan limfosit B. Efek supresor terhadap limfosit T adalah pada populasi dari sel T penolong dan sel T penekan. Deksametason yang mempunyai masa paruh biologik lama yaitu 48 jam, pengaruhnya terhadap limfosit T dapat dideteksi 24 - 48 jam setelah pemberian (64,65).

Kortikosteroid dapat menurunkan total serum Ig G dengan jalan menghambat sintesa imunoglobulin ini. Ger-muth, Oyama dan Ottinger yang dikutip oleh Settipane pada tahun 1978 menyimpulkan bahwa kortikosteroid dapat mengurangi antibodi yang beredar dengan menghambat pembentukan antibodi dibandingkan dengan merusak antibodi (65).

C. Virus Newcastle Disease

Newcastle Disease (ND) merupakan penyakit endemik dan telah tersebar luas, dimana ND dapat menyerang semua jenis unggas.

Di daerah lebih dikenal dengan nama tetelo atau sampar ayam, sedang nama lainnya antara lain Pseudofowl pest, pseudopoultry plaque, Doyle's disease, Avian pneumoencephalitis dan Avian fowl pest (39).

Kerugian ekonomis akibat serangan ND sangat besar yang disebabkan oleh angka kematian yang tinggi, penurunan produksi, kualitas, dan daya tetas telur serta pertumbuhan yang terhambat. Dalam serangan wabah ND yang akut dan ganas, dapat membunuh seluruh ayam di kandang dalam waktu hanya 3 - 4 hari saja (38).

Newcastle Disease merupakan penyakit menular dan bersifat akut atau kronis, ditandai dengan gejala gangguan pernapasan, pencernaan dan syaraf (39,66).

Penyebab penyakit ND adalah virus yang termasuk golongan paramixo dan tersusun atas asam inti ribo (RNA) beruntai tunggal. Virus ini berukuran 120 - 300 nm atau rata-rata 180 $m\mu$, virus tersebut terdiri dari amplop yang mempunyai penonjolan pada permukaannya disebut spike. Spike yang panjangnya 80 Å atau 8 nm mengandung komponen yang bersifat antigenik dimana komponen tersebut dapat menstimulasi untuk memproduksi enzim neuraminidase. Akibat dari aktifitas enzim neuraminidase ini maka aglutinin yang terdapat pada selubung virus akan terlepas dan dapat mengaglutinasi sel darah merah (38,39,67).

Atas dasar sifat ini dapat dipakai uji untuk mengetahui adanya virus ND dan uji untuk mengetahui adanya antibodi dalam serum.

Virus ND dapat mengaglutinasi sel darah merah amphihi, reptil, dan beberapa sel darah merah unggas

lainnya, sel darah merah mamalia, manusia, tikus dan marmut. Sedangkan penelitian yang telah dilakukan di Indonesia, ternyata virus ND yang diisolasi dari ayam dapat mengaglutinasi sel darah merah kerbau, kambing, manusia golongan darah O, kelinci, marmut, ayam, angsa, itik, entok, kalkun, merpati, dan kakak tua. Namun sebagai standar uji aglutinasi, sel darah merah ayam yang digunakan sampai sekarang (68,69,70,71).

Selain mengaglutinasi sel darah merah virus ND juga dapat melisis sel darah merah karena virus ND mempunyai hemolisin. Reaksi ini dipengaruhi oleh pH, suhu, dan konsentrasi garam (72).

Burnet (1942) menjelaskan untuk yang pertama kalinya reaksi hemaglutinasi virus ND dan ia juga menemukan reaksi penghambatnya dengan antiserum ND.

Virus ND dapat tumbuh dalam cairan allantois telur ayam bertunas umur 9 - 11 hari pada temperatur 37^o- 38^oC. Selain itu virus tersebut dapat pula tumbuh pada perbenihan jaringan asal ginjal embrio ayam, ginjal sapi, ginjal kera, sel fibroblas embrio ayam dan BHK (Baby Hamster Kidney). Dalam waktu 2 - 6 hari virus ND yang di biakkan dalam cairan allantois TAB dapat mematikan embrio ayam sedang pada perbenihan jaringan dapat menyebabkan cytopathogenic efec (CPE), Syncytium, hemabsorbsi dan badan-badan inklusi (inklution bodies) di dalam sito-

plasma sel yang bersifat eosinofilik (38,39,73).

C. 1. Penggolongan Newcastle Disease

Virus ND menurut virulensinya dapat digolongkan dalam tiga tipe yaitu (66,72) :

1. Tipe Lentogenik

Tipe ini memiliki virulensi yang sangat lemah, terdiri dari strain B₁, F dan La Sota yang diberikan pada unggas semua golongan umur. Aplikasi secara tetes hidung, tetes mata, melalui air minum atau aerosol. Strain B₁ lebih efektif dan lebih virulen daripada strain F. Pada strain B₁ bisa digunakan melalui air minum, sedang La Sota menghasilkan imunitas yang baik jika diberikan secara tetes mata atau air minum.

2. Tipe Mesogenik

Tipe ini mempunyai virulensi yang lebih kuat, terdiri dari strain Komarov, Mukteswar, Roakin, Mass MK-107, MY-Jones, yang diberikan pada ayam masa pertumbuhan. Strain ini secara luas digunakan di negara tropis seperti di Asia Tenggara. Strain ini juga dipakai sebagai pembuatan vaksin dengan aplikasi secara intra muskuler dan digunakan sebagai booster setelah vaksinasi dengan strain lentogenik atau pada ayam umur di atas 6 minggu dengan maksud untuk menghindari stress atau efek post vaksinal.

3. Tipe Velogenik

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

Berdasarkan perubahan patologis anatomis, ND digolongkan menjadi 4 bentuk (38) yaitu :

1. Penyakit bentuk Doyle, dilaporkan oleh Doyle pertama kali pada tahun 1927. Penyakit ini bersifat akut dan mematikan ayam semua umur. Lesi yang menonjol adalah perdarahan pada saluran pencernaan. Bentuk penyakit ini disebabkan oleh ND tipe velogenik atau disebut juga tipe Asia yang dikenal juga dengan virus ND tipe viscesotropis velogenik (VVND).
2. Penyakit bentuk Beach, dilaporkan oleh Beach tahun 1944. Penyakit ini bersifat akut dan sering mengakibatkan kematian pada ayam semua umur. Penyakit ini ditandai dengan lesi pada saluran pernapasan dan syaraf, sedang perdarahan pada saluran pencernaan tidak tampak. Penyakit ini disebut pneumoencephalitis, disebabkan oleh virus ND neurotropik velogenik.
3. Penyakit bentuk Beaudette, dilaporkan oleh Beaudette tahun 1946, ditandai dengan gangguan pernafasan dan kadang-kadang infeksi syaraf. Penyakit ini mengakibat-

kan kematian pada ayam umur muda. Ayam yang umurnya lebih tua jarang mengalami kematian. Penyakit ini disebabkan oleh virus ND tipe mesogenik dan dapat digunakan sebagai vaksin.

4. Penyakit bentuk Hitchner, dilaporkan oleh Hitchner tahun 1948 dan 1950. Ditandai dengan infeksi ringan atau infeksi saluran pernapasan yang sub klinis. Penyakit ini disebabkan oleh virus ND tipe lentogenik, juga dapat digunakan sebagai vaksin.

C. 2. Imunitas Terhadap Newcastle Disease

Suatu perlindungan yang diturunkan oleh induk kepada anak-anak ayam yang baru menetas dan bersifat pasif disebut sebagai antibodi maternal. Antibodi pasif terjadi karena pemindahan serum ayam yang kebal pada ayam yang lain atau karena transfer dari induk pada waktu pembentukan kuning telur. Sedangkan antibodi aktif terjadi karena vaksinasi atau infeksi alam yang sub klinis (4).

Antibodi yang terbentuk karena vaksinasi ND dapat melindungi ayam dari serangan ND, dan tindakan vaksinasi ini merupakan cara yang paling efektif untuk mencegah ND (74).

Titer virus ND yang tinggi dapat diperoleh 24 - 48 jam sebelum embrio mati dan titer 1 : 320 atau lebih merupakan titer antibodi yang dapat melindungi ayam dari

serangan penyakit (38,74).

Banyak hal yang mempengaruhi besarnya titer antibodi akibat vaksinasi seperti pemilihan vaksin yang tepat, pelaksanaan vaksinasi yang menyangkut persiapan vaksin untuk kemudian melaksanakan tindakan vaksinasi, kondisi ayam yang cukup sehat sehingga mampu memberi respon yang optimal, lingkungan, gangguan organ pembentuk antibodi seperti penyakit yang menyerang bursa Fabricius, adanya antibodi maternal yang dapat menggagalkan program vaksinasi (75).

Antibodi maternal pada anak ayam yang baru menetas akan menurun titernya dan menjadi tidak berarti setelah umur 3 - 5 minggu. Saat terbaik untuk vaksinasi adalah pada umur 18 hari, sedangkan untuk umur pertumbuhan (masa grower) perlu dilakukan vaksinasi ulang pada umur 10 - 12 minggu (75,76).

Antibodi dalam serum ayam ditemukan 6 - 10 hari setelah kontak dengan antigen lalu mencapai puncak dalam 3 - 4 minggu dan kemudian turun dalam 3 - 4 bulan. Antibodi tidak dapat dideteksi lagi dalam 8 - 12 bulan (72).

Respon imun spesifik yang terjadi akibat masuknya virus ND melibatkan sel limfosit B dan sel limfosit T atau kerjasama dari keduanya untuk dapat menghasilkan imunoglobulin semaksimal mungkin. Selain itu juga bantuan dari aktifitas makrofag, komplemen dan interferon untuk

menghambat replikasi virus ND pada ayam (74).

Interferon adalah protein yang dibebaskan oleh suatu sel yang terinfeksi oleh virus. Tempat pembentukan interferon adalah limpa, paru-paru, hati, dan limfosit. Sifat interferon berbeda dengan antibodi dimana interferon diproduksi hanya dalam waktu beberapa jam setelah terjadinya infeksi untuk membuat aktifitas antiviral sebelum infeksi dibentuk dalam target organ, bekerjanya intraseluler, diproduksi di tempat terjadinya infeksi, diproduksi dalam jumlah sedikit dan sulit ditemukan dalam bentuk murni (77).

BAB III

MATERI DAN METODE PENELITIAN

Tempat dan Lama Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya, dimulai dari tanggal 6 Maret 1989 dan berakhir 31 Mei 1989.

Hewan Percobaan

Dalam penelitian ini dipergunakan hewan percobaan telur ayam bertunas (TAB) jenis Bromo 907 berumur 10 hari, 13 hari, 17 hari, dan 21 hari sebanyak 175 butir. TAB ini diperoleh dari P. T. Anputraco.

Bahan dan Peralatan

Bahan yang digunakan adalah Deksametason Sodium Phosphate injeksi 5 mg/ml buatan Harsen-Jakarta, Reg. D. 7811130 dan PBS sebagai pengencer.

Untuk infeksi buatan digunakan vaksin *Newcastle Disease* dari jenis mesogenik strain Komarov dengan nomor Batch 2189 K, yang diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma Surabaya.

Untuk pengambilan darah ayam yang akan digunakan pada HA dan HI test digunakan Heparin Leo 5000 iu/ml.

Fumigasi mesin tetas menggunakan Formaldehyde 40 % 40 cc dan kalium permanganat 20 gr, sedang untuk desinfektan telur memakai Alkohol 70 % dan larutan Iodine. Bahan lain yaitu parafin cair untuk menutup lubang telur dan pasir kuarsa untuk menggerus organ.

Peralatan yang digunakan adalah mesin tetas kapasitas 100 TAB dari Dinas Peternakan DATI I Jawa Timur.

Sebagai alat *candling* digunakan alat peneropong yang diberi lampu pijar. Untuk pengenceran digunakan alat suntik 1cc, 3 cc, dan 10 cc, tabung reaksi, api bunsen. Inokulasi pada telur menggunakan paku atau bor, pensil, kapas, alat suntik 1 cc. Alat suntik 5 cc untuk pengambilan darah ayam sehat. Pinset, gunting, mortir, centrifuge, vial steril dan timbangan neraca untuk menggerus dan membuat suspensi organ. *Microtiter plate* bentuk U, *ependorf* otomatis, dan cermin untuk *Haemagglutination (HA) test* dan *Haemagglutination inhibition (HI) test*.

Metode Penelitian

1. Persiapan

Mesin tetas sebelum dipakai, terlebih dahulu difumigasi dan panasnya dibuat tetap 3 hari sebelum mesin dipakai yaitu pada suhu $38,33^{\circ}\text{C}$ sampai 40°C atau 101°F sampai 104°F , juga dijaga agar bak di dalam mesin terisi penuh dengan air.

2. Melakukan Titrasi Virus ND Dengan Metode Reed dan Muench.

Sebelum diadakan penelitian dengan menggunakan vaksin *Newcastle Disease*, maka diperlukan penelitian pendahuluan untuk menentukan kandungan virus tersebut. Dengan menggunakan metode penelitian secara *in vivo* dan *in vitro*, virus tersebut diinfeksi pada TAB dan dilakukan penghitungan titer EID_{50} (Egg infectious dose 50). Dari penghitungan titer EID_{50} diharapkan hemaglutinasi positif pada TAB akibat virus *Newcastle Disease*, adalah 50% (sesuai dengan metode Reed dan Muench, 1938).

Untuk penghitungan titer EID_{50} dari virus *Newcastle Disease* dapat dilakukan dengan cara :

Vaksin yang sudah diencerkan dengan PBS 0,5 cc dibuat seri kelipatan 10 mulai pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-10} yaitu dengan mengambil 0,5 cc vaksin tersebut dan dimasukkan ke dalam tabung pertama yang sudah berisi 4,5 cc PBS. Dari tabung pertama diambil 0,5 cc dimasukkan dalam tabung kedua demikian seterusnya sampai tabung kesepuluh. Pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-10} disuntikkan 0,1 cc TAB umur 10 hari pada ruang allantois. Masing-masing pengenceran disuntikkan pada 10 butir TAB. Telur diinkubasikan pada suhu $37^{\circ}C$ dan diamati sampai mati embrionya. Embrio yang mati kurang dari 24 jam dibuang karena kematiannya bukan oleh virus ND. Cairan allantois

dipanen setelah kematian embrio dan selanjutnya dilakukan uji aglutinasi (HA) menurut cara Allan *et al*, 1978. *Virus content* dihitung menggunakan cara Reed dan Muench (1938).

Selanjutnya vaksin yang dipakai dalam penelitian ini adalah vaksin yang mempunyai titer $10^{6,68}$ dan titer inilah yang kemudian dipakai sebagai pedoman dalam melakukan infeksi buatan. (Lihat lampiran 1 dan 2)

3. Pembagian Kelompok Percobaan.

TAB yang digunakan sebanyak 75 butir yang terbagi dalam 3 kelompok umur yaitu 13 hari, 17 hari dan 21 hari. Masing-masing kelompok umur dibagi dalam 5 kelompok perlakuan yang masing-masing terdiri dari :

- A. 5 butir TAB dengan perlakuan pemberian deksametason 16,5 ng dan 30 jam kemudian diberi infeksi buatan.
- B. 5 butir TAB dengan pemberian deksametason 16,5 ng dan infeksi buatan bersamaan.
- C. 5 butir TAB dengan pemberian infeksi buatan dan 30 jam kemudian diberi deksametason 16,5 ng.
- D. 5 butir TAB dengan pemberian infeksi buatan saja.
- E. 5 butir TAB sisanya hanya diberi deksametason 16,5 ng saja.

Pada semua perlakuan, 48 jam sesudah infeksi buatan telur dibuka untuk diambil cairan allantoisnya atau diambil organnya (dibuat suspensi 10%) untuk HA test

dan diambil serumnya atau organnya (dibuat suspensi 10 %) untuk HI test. Hal yang sama dilakukan pula pada kelompok umur 17 hari dan 21 hari.

4. Pemberian Deksametason

Deksametason disuntikkan ke dalam ruang allantois dalam volume 0,1 cc pada kelompok perlakuan A, B, C, dan E. Dosis yang digunakan 16,5 ng/embrio dan pengenceran dilakukan dengan penambahan PBS.

5. Infeksi Buatan

Suspensi virus *Newcastle Disease* disuntikkan pada TAB dari kelompok perlakuan A, B, C, dan D dengan dosis 0,01 EID₅₀ sebanyak 0,1 cc. Penyuntikan dilakukan pada ruang allantois.

6. Cara Penyuntikan Pada Telur

Sebelum dilakukan penyuntikan, telur-telur tersebut dicandling sehingga batas ruang hawa dan daerah penyuntikan (dekat pembuluh darah) dapat ditandai dengan pensil. Daerah yang bertanda dibersihkan dengan kapas beralkohol 70 % dan didesinfeksi dengan jodium tinctur. Buat lubang pada lubang hawa, kemudian dibuat lubang lagi pada daerah penyuntikan dengan menggunakan bor/alat penusuk. Setelah melakukan penyuntikan melalui lubang ini ke dalam ruang allantois, lubang didesinfeksi dengan kapas yang telah dibasahi jodium tinctur, kemudian di-

tutup dengan parafin cair. Selanjutnya telur-telur tersebut diinkubasi kembali.

Mengambil Cairan Allantois Serum dan Pembuatan Suspensi Organ Untuk Uji HA dan HI

48 jam setelah pemberian infeksi buatan, TAB dimasukkan ke dalam lemari pendingin 4^o C. 30 menit kemudian telur dibuka dengan jalan memecahkan daerah lubang hawa yang sebelumnya didesinfeksi dengan alkohol 70 %. Gunting daerah lubang hawa dan membran allantois dibuka sehingga terlihat cairan allantois. Dengan pipet eppendorf cairan allantois diambil dan dimasukkan dalam vial. Setelah itu disimpan dalam freezer siap untuk HA test. Apabila cairan allantois sudah tidak ada bisa diambil melalui organ embrio seperti otak, trachea, dan paru-paru dengan membuat suspensi 10% yaitu : 1 gr organ digerus dengan pasir koarsa secukupnya, lalu ditambah PBS 9 cc sedikit demi sedikit. Kemudian disentrifus 1500 rpm selama 15 menit. Dengan menggunakan pipet supernatan diambil dan dimasukkan dalam vial lalu disimpan dalam freezer.

Untuk HI test dapat juga membuat suspensi 10% dari organ jantung dan limpa pada embrio yang berumur 13 dan 17 hari. Sedangkan pada TAB yang berumur 21 hari bisa diambil serumnya yaitu dengan mengambil darah melalui

jantungnya menggunakan spuit tubercullin. Kemudian darah dimasukkan dalam tabung reaksi melalui dindingnya dengan posisi miring perlahan-lahan. Tabung tersebut diletakkan pada suhu kamar dalam posisi miring selama 10 menit kemudian disimpan pada suhu 4°C selama 30 menit. Selanjutnya disentrifus 1500 rpm selama 15 menit. Serum yang sudah terpisah diambil dengan menggunakan pipet dan dimasukkan dalam vial steril siap digunakan untuk HI test. Sebelumnya diinaktivasi dalam waterbath 56°C selama 30 menit.

Pembuatan Suspensi Eritrosit 1 %

Darah ayam diambil dari vena Axillaris dengan menggunakan spuit steril yang berisi antikoagulan Heparin. Kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi dan diamkan. Darah dicuci dengan PBS sambil dipusingkan dengan kecepatan 1500 rpm selama 15 menit. Supernatannya dibuang dan dilakukan pencucian sampai 3 kali dengan cara yang sama. Kemudian dibuat eritrosit dengan konsentrasi 1 % dengan cara :

1 ml eritrosit 100% + 9 ml PBS ----- eritrosit 10%

1 ml eritrosit 10% + 9 ml PBS ----- eritrosit 1 %

Siap digunakan untuk tes HA dan HI.

Uji Hemaglutinasi (HA) Microtiter Alpha Prosedur dari Allan et al, 1978.

- Lubang microplate 1 diisi dengan 0,05 cc antigen dan lubang 2 sampai 12 diisi dengan PBS sebanyak 0,025 cc dengan menggunakan microdropper.
- Buat pengenceran virus dengan menggunakan microdiluter dari lubang 1 ke 2 lalu dicampur, demikian seterusnya sampai lubang 11. Lubang 12 sebagai kontrol eritrosit tanpa antigen.
- Tambahkan 0,025 cc PBS pada semua lubang sehingga volumenya menjadi 0,05 cc.
- Semua lubang diisi dari nomor 1 sampai 12 dengan eritrosit ayam 1 % 0,05 cc dengan menggunakan microdropper.
- Microplate digoyangkan selama 30 detik dan dibiarkan pada suhu kamar. Pembacaan dilakukan 15 menit pertama dan dilanjutkan sampai 60 menit. Pengenceran yang tertinggi dari virus yang mengakibatkan 100% aglutinasi sel darah merah diambil sebagai endpoint (titer).

Uji Hambatan Hemaglutinasi (HI) Beta Prosedur Cara Allan et al, 1978

- Lubang microplate 1 diisi dengan 0,05 cc serum dan lubang 2 sampai 12 diisi dengan PBS sebanyak 0,025 cc.

- Buat pengenceran serum 0,025 cc dengan menggunakan microdiluter dari lubang 1 ke lubang 2 lalu dicampur, demikian seterusnya sampai lubang 11.
- Isi lubang 1 sampai 11 dengan antigen 4 HAU 0,025 cc, sedangkan lubang 12 ditambah 0,025 PBS sebagai kontrol sel darah merah. Goyang-goyangkan supaya homogen dan biarkan pada suhu kamar selama 10 menit sebelum ditambah sel darah merah.
- Tambahkan 0,05 cc sel darah merah ayam 1% pada semua lubang dengan menggunakan eppendorf, kemudian micro-plate digoyangkan selama 30 menit dan biarkan pada suhu kamar.
- Pembacaan dilakukan 15 menit pertama sampai 60 menit. Pengenceran serum tertinggi yang mampu menghambat aglutinasi adalah sebagai *endpoint* (titer antibodi).

Cara Membuat Antigen 4 HA Unit

Antigen 4 HA unit dibuat menurut cara Allan *et al*, 1978. Cairan allantois TAB disuntik dengan vaksin ND komarov diuji dengan titer antigennya. Cairan allantois yang sudah diketahui tingkat antigennya diencerkan dengan PBS sehingga titer menjadi 4 HA unit, siap digunakan untuk tes HI.

Analisa Data

Pengukuran data titer antigen virus ND dengan metode HA tes pada telur berbagai variabel umur, masing-masing menggunakan rancangan percobaan acak lengkap (RAL). Data hasil penelitian dianalisis dengan metode analisis varian F. Jika dengan pengujian Anava F terdapat perbedaan nyata, maka data tersebut akan diuji lebih lanjut dengan metode uji beda nyata jujur (BNJ) pada taraf kepercayaan $\alpha = 1 \%$.

Pengukuran data titer HI menggunakan rancangan percobaan split plot, data hasil penelitian dianalisis dengan metode analisis varian F. Jika dengan pengujian Anava F terdapat perbedaan yang nyata atau sangat nyata, maka data tersebut akan diuji lebih lanjut dengan metode uji jarak Duncan pada taraf kepercayaan 1 % (78).

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Di dalam pelaksanaan penelitian ini beberapa tahap penelitian yang meliputi titrasi virus ND (penelitian pendahuluan), dan penelitian yang sesungguhnya yaitu penyuntikan deksametason dan virus ND pada hewan percobaan telur ayam bertunas umur 13, 17, dan 21 hari telah dilakukan. Hasil penelitian yang dapat dikemukakan meliputi titer antigen yang diperiksa melalui uji hemaglutinasi dan titer antibodi yang diperiksa melalui uji hambatan aglutinasi.

A. TITER HA (Haemagglutination)

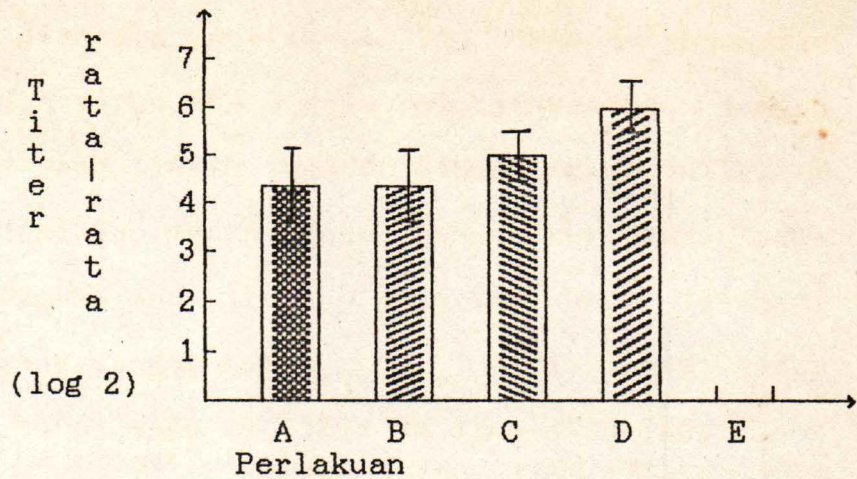
Data hasil penelitian uji hemaglutinasi (HA) pada TAB umur 13, 17, dan 21 hari yang ditulari virus ND dibawah pengaruh deksametason selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 3 sampai 5. Sedangkan hasil rata-rata dari masing-masing perlakuan pada umur 13, 17, dan 21 hari dapat dilihat pada tabel 1, 3, dan 5.

Tabel 1 : Hasil rata-rata dan simpangan baku ($S_{\bar{D}}$) titer HA (log 2) dari TAB umur 13 hari yang ditulari virus ND di bawah pengaruh Deksametason (rata-rata dari 5 ekor hewan percobaan).

	A	B	C	D	E
	D → ND	D + ND	ND → D	ND	D
\bar{x}	4,4	4,4	5,2	5,6	0
$S_{\bar{D}}$	0,89	0,89	0,55	0,55	0

Dari data tersebut dapat dilihat adanya perbedaan titer HA rata-rata diantara perlakuan yang satu dengan yang lain. Disamping itu juga dapat dilihat adanya persamaan titer HA rata-rata yaitu pada perlakuan A dan B. Apabila diperhatikan lebih lanjut, maka perlakuan C dan D lebih tinggi dibandingkan perlakuan A dan B sedangkan kelompok E tidak menampakkan HA yang positif.

Secara skematis hasil interpretasi data penelitian berupa titer HA (log 2) pada TAB umur 13 hari disajikan dalam bentuk histogram seperti pada gambar 6.



Gambar 6 : Rata-rata titer HA (log 2) pada TAB umur 13 hari.

Keterangan :

- A. Titer HA kelompok yang diberi deksametason dan 30 jam kemudian diinfeksi dengan virus ND.
- B. Titer HA kelompok yang diberi deksametason dan infeksi virus ND bersamaan.
- C. Titer HA kelompok yang diberi infeksi virus ND dan 30 jam kemudian diberi deksametason.
- D. Titer HA kelompok yang diberi infeksi virus ND saja.
- E. Titer HA kelompok yang diberi deksametason saja.

Hasil analisis varian terhadap data titer HA pada TAB umur 13 hari yang ditulari virus ND di bawah pengaruh deksametason (lampiran 3) tersebut menunjukkan bahwa pada taraf kepercayaan $\alpha = 1\%$ dan derajat bebas (db) sisa = 20, nilai F tabel = 4,43; sedangkan F hitung = 60,38.

Dari hasil analisis varian tersebut, maka didapatkan satu kesimpulan yaitu ada perbedaan titer HA yang

sangat nyata diantara perlakuan TAB dengan pemberian deksametason dan virus ND. Hal ini dinyatakan dengan nilai F hitung yang lebih besar dibandingkan nilai F tabel. Hasil demikian menunjukkan bahwa perlakuan pemberian deksametason dan virus ND pada TAB umur 13 hari memberi efek yang sangat nyata ($p < 0,01$) pada kadar antigen dalam tubuh melalui titer HA yang diperiksa.

Selanjutnya untuk dapat mengetahui pengelompokan efek masing-masing perlakuan terhadap titer HA yang ditimbulkan perlu diadakan pengujian dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf kepercayaan 1 % yang perhitungannya disajikan pada lampiran 3.

Berdasarkan hasil uji BNJ ini maka dapat ditentukan notasinya guna mengklasifikasi tiap perlakuan seperti pada tabel 2.

Tabel 2 : Notasi Pengaruh beberapa Perlakuan terhadap Titer HA (\log_2) pada TAB umur 13 hari.

	Perlakuan	\bar{x}	Notasi
D	ND	5,6	a
C	ND \rightarrow D	5,2	a
B	D + ND	4,4	b
A	D \rightarrow ND	4,4	b
E	D	0	c

Dari hasil penentuan notasi tersebut (tabel 2) dapat dikemukakan bahwa perlakuan D dan C dengan masing-

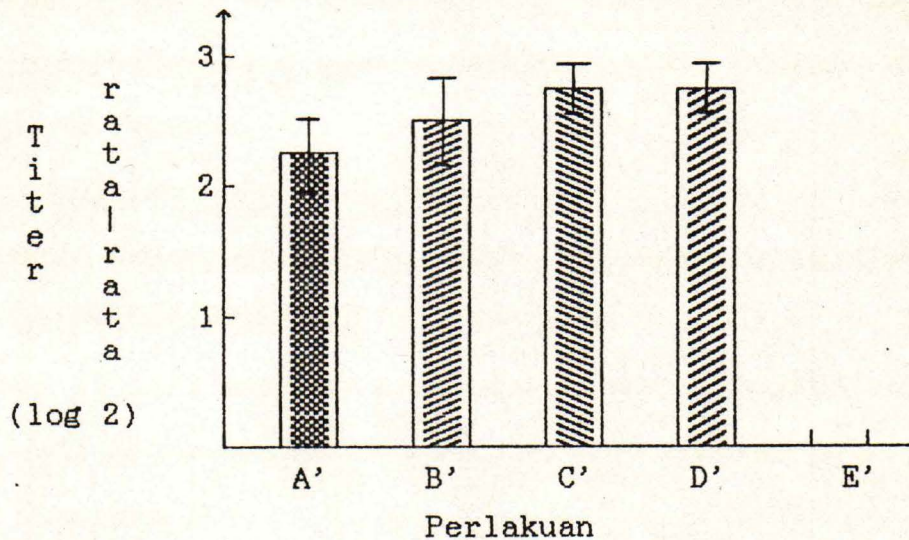
masing titer HA rata-rata 5,6 dan 5,2 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Begitu pula pada perlakuan B dan A tidak berbeda nyata tetapi berbeda nyata dengan perlakuan D dan C. Sedangkan perlakuan E berbeda nyata dengan perlakuan D, C, B dan A.

Tabel 3 : Hasil rata-rata dan simpangan baku ($S_{\bar{D}}$) titer HA ($\log 2$) dari TAB umur 17 hari yang ditulari virus ND di bawah pengaruh deksametason (rata-rata dari 5 ekor hewan percobaan).

	A'	B'	C'	D'	E'
	D → ND	D + ND	ND → D	ND	D
\bar{x}	2,2	2,4	2,6	2,6	0
$S_{\bar{D}}$	0,84	0,89	0,55	0,55	0

Dari data tersebut dapat dilihat adanya perbedaan rata-rata titer HA diantara perlakuan pemberian deksametason dan virus ND. Disamping itu juga dapat dilihat adanya persamaan rata-rata titer HA yaitu pada perlakuan C' dan D' yang masing-masing titernya 2,6 dan 2,6. Pada perlakuan pemberian deksametason dan 30 jam kemudian virus ND (A') titer HA rata-ratanya 2,2 dan pada perlakuan pemberian Deksametason bersamaan dengan virus ND (B') titer HA rata-ratanya 2,4. Sedangkan pada perlakuan pemberian deksametason saja (E') menunjukkan titer HA rata-rata terendah yaitu 0.

Secara skematis hasil interpretasi data penelitian berupa titer HA rata-rata pada TAB umur 17 hari disajikan dalam bentuk histogram seperti pada gambar 7.



Gambar 7 : Titer HA (log 2) rata-rata pada TAB umur 17 hari.

Keterangan :

- A' : Titer HA kelompok yang diberi deksametason dan 30 jam kemudian diinfeksi dengan virus ND.
- B' : Titer HA kelompok yang diberi deksametason dan infeksi virus ND bersamaan.
- C' : Titer HA kelompok yang diberi infeksi virus ND dan 30 jam kemudian diberi deksametason.
- D' : Titer HA kelompok yang diberi infeksi virus ND saja.
- E' : Titer HA kelompok yang diberi deksametason saja.

Hasil analisis varian terhadap data titer HA pada TAB umur 17 hari yang ditulari virus ND di bawah pengaruh

deksametason (lampiran 4) tersebut menunjukkan bahwa pada taraf kepercayaan $\alpha = .1\%$ dan derajat bebas (db) sisa = 20, nilai F tabel = 4,43, sedangkan F hitung = 14,62.

Dari hasil analisis varian tersebut, didapatkan satu kesimpulan yaitu adanya perbedaan yang sangat nyata diantara perlakuan. Hal ini dinyatakan dengan nilai F hitung yang lebih besar dibandingkan dengan nilai F tabel pada taraf kepercayaan 1%. Hasil demikian menunjukkan bahwa perlakuan pemberian deksametason dan virus ND pada TAB umur 17 hari memberi efek yang sangat nyata ($p < 0,01$) pada kadar antigen dalam tubuh melalui titer HA yang diperiksa.

Setelah dilakukan uji lebih lanjut dengan uji BNJ pada taraf kepercayaan 1% (lampiran 4 lanjutan) dapat ditentukan notasinya guna mengklasifikasi tiap perlakuan seperti disajikan pada tabel 4.

Tabel 4 : Notasi pengaruh beberapa perlakuan terhadap titer HA (log 2) pada TAB umur 17 hari.

	Perlakuan	\bar{x}	Notasi
D'	ND	2,6	a
C'	ND \rightarrow D	2,6	a
B'	D + ND	2,4	a
A'	D \rightarrow ND	2,2	a
E'	D	0	b

Dari hasil penentuan notasi sebagaimana yang dikemukakan pada tabel 4, maka dapat dilihat bahwa diantara perlakuan D', C', B, dan A' masing-masing dengan titer HA rata-rata 2,6; 2,6; 2,4; dan 2,2 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata, namun berbeda dengan perlakuan E'.

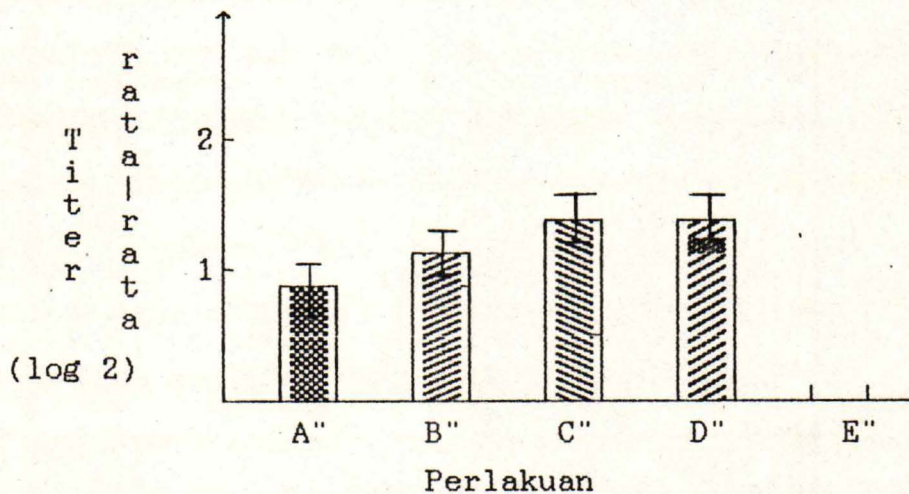
Tabel 5 : Hasil rata-rata dan simpangan baku ($S_{\bar{D}}$) titer HA (log 2) dari TAB umur 21 hari yang ditulari virus ND di bawah pengaruh deksametason (rata-rata dari 5 ekor hewan percobaan).

	A''	B''	C''	D''	E''
	D → ND	D + ND	ND → D	ND	D
\bar{x}	0,8	1,2	1,4	1,4	0
$S_{\bar{D}}$	0,4	0,4	0,5	0,5	0

Dari data tersebut dapat dilihat adanya perbedaan maupun persamaan titer HA rata-rata diantara perlakuan seperti yang terlihat pada perlakuan pemberian virus ND dan 30 jam kemudian deksametason (C'') dan perlakuan pemberian virus ND saja (D'') yang masing-masing mempunyai titer HA rata-rata 1,4 dan 1,4. Pada perlakuan pemberian deksametason dan 30 jam kemudian virus ND (A'') titer HA rata-ratanya 0,8 dan pada perlakuan pemberian deksametason bersamaan dengan virus ND (B'') titer HA rata-ratanya 2,4. Sedangkan pada perlakuan pemberian deksametason saja

(E'') menunjukkan titer HA rata-rata terendah yaitu 0.

Secara skematis hasil interpretasi data penelitian berupa titer HA rata-rata pada TAB umur 21 hari disajikan dalam bentuk histogram seperti pada gambar 8.



Gambar 8 : Titer HA (log 2) rata-rata pada TAB umur 21 hari.

Keterangan :

- A'' : Titer HA kelompok yang diberi deksametason dan 30 jam kemudian diinfeksi dengan virus ND.
- B'' : Titer HA kelompok yang diberi deksametason dan infeksi virus ND bersamaan.
- C'' : Titer HA kelompok yang diberi infeksi virus ND dan 30 jam kemudian diberi deksametason.
- D'' : Titer HA kelompok yang diberi infeksi virus ND saja.
- E'' : Titer HA kelompok yang diberi deksametason saja.

Hasil analisis varian terhadap data titer HA pada TAB umur 21 hari yang ditulari virus ND di bawah pengaruh deksametason (lampiran 5) tersebut menunjukkan bahwa pada taraf kepercayaan $\alpha = 1\%$ dan derajat bebas (db) sisa = 20, nilai F tabel = 4,43, sedangkan F hitung = 8,7.

Dari hasil analisis varian tersebut, didapatkan perbedaan yang sangat nyata diantara perlakuan. Hasil demikian menunjukkan bahwa perlakuan pemberian deksametason dan virus ND pada TAB umur 21 hari memberi efek yang sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap kadar antigen dalam tubuh melalui titer HA yang diperiksa.

Selanjutnya dari uji BNJ pada taraf kepercayaan 1% (lampiran 5) maka dapat ditentukan notasinya guna mengklasifikasi tiap perlakuan seperti pada tabel 6.

Tabel 6 : Notasi pengaruh perlakuan terhadap titer HA (log 2) pada TAB umur 21 hari.

	Perlakuan	\bar{x}	Notasi
D''	ND	1,4	a
C''	ND \rightarrow D	1,4	a
B''	D + ND	1,2	a
A''	D \rightarrow ND	0,8	b
E''	D	0	c

Dari hasil penentuan notasi sebagaimana yang dikemukakan pada tabel 6, maka dapat disimpulkan bahwa

diantara perlakuan D", C", dan B" yang masing-masing dengan rata-rata titer HA 1,4; 1,4; dan 1,2 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata, namun berbeda nyata dengan perlakuan A". Sedangkan pada perlakuan E" berbeda nyata dengan perlakuan D", C", B", dan A".

B. TITER HI (Haemagglutination Inhibition)

Data hasil penelitian uji hambatan aglutinasi (HI) pada TAB umur 13, 17, dan 21 hari yang ditulari virus ND di bawah pengaruh deksametason selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 6. Hasil rata-rata dari tiap perlakuan dapat dilihat pada tabel 7.

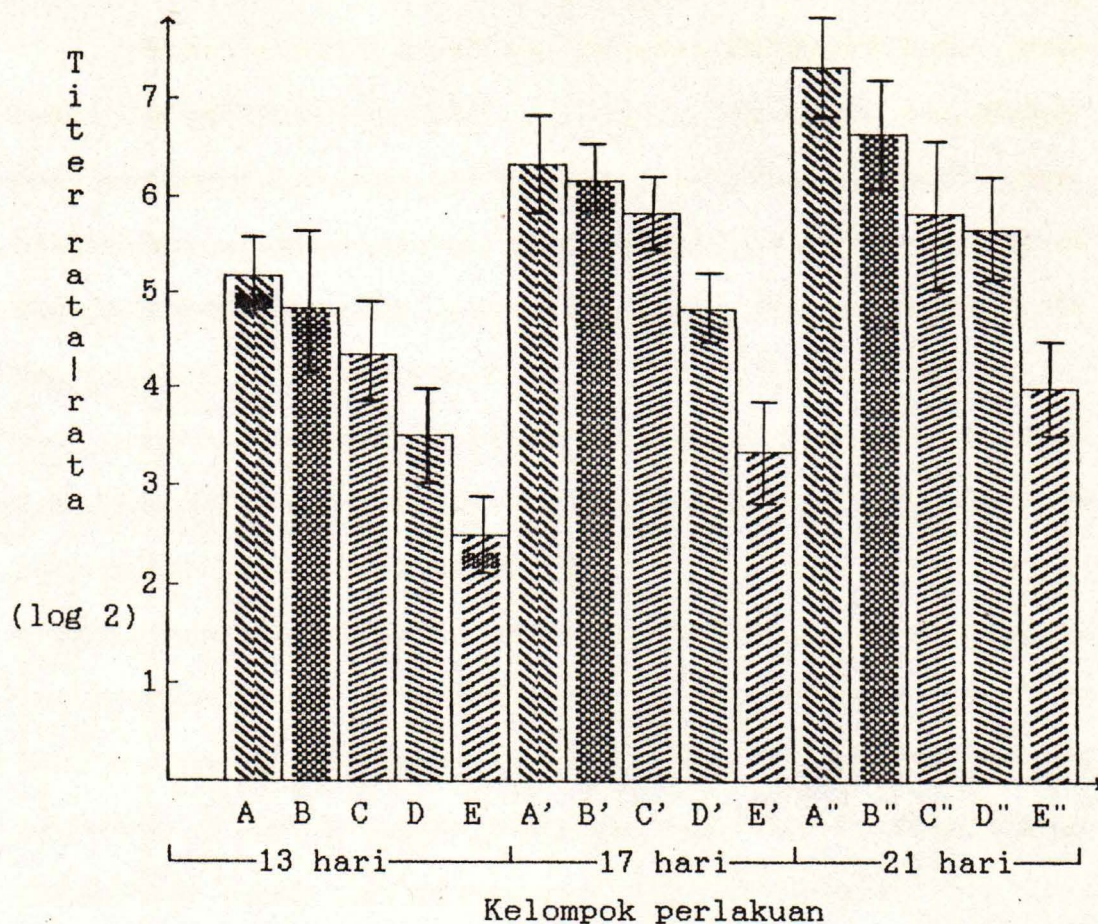
Tabel 7 : Hasil rata-rata dan simpangan baku (S_D) titer HI (log 2) dari TAB yang ditulari virus ND di bawah pengaruh Deksametason (rata-rata dari 5 ekor hewan percobaan).

		Umur TAB				
Perla- kuan		13 hari	17 hari	21 hari	Jumlah	\bar{x}
A	D → ND	5,2±0,45	6,4±0,55	7,4±0,55	19	6,33
B	D + ND	4,6±0,89	6,2±0,45	6,4±0,55	17,2	5,73
C	ND → D	4,4±0,55	5,8±0,45	6 ± 0,71	16,2	5,4
D	ND	3,6±0,55	4,8±0,45	5,4±0,55	13,8	4,6
E	D	2,8±0,45	3,4±0,55	3,6±0,55	9,8	3,27
Jumlah		20,6	26,6	28,8	76,0	25,33
\bar{x}		4,12	5,32	5,76	15,2	5,07

Pada tabel 7 tersebut tampak bahwa telur-telur ayam bertunas umur 13 hari dengan perlakuan A (diberi deksametason dan 30 jam kemudian diberi virus ND), B (diberi deksametason dan virus ND bersamaan), C (diberi virus ND dan 30 jam kemudian diberi deksametason), D (diberi virus ND saja) dan E (diberi deksametason saja) masing-masing mempunyai titer HI rata-rata 5,2; 4,6; 4,4; 3,6; dan 2,8. Untuk telur-telur ayam bertunas umur 17 hari dengan perlakuan A, B, C, D, dan E masing-masing mempunyai titer HI rata-rata 6,4; 6,2; 5,8; 4,8; dan 3,4. Untuk telur-telur ayam bertunas yang berumur 21 hari dengan perlakuan A, B, C, D, dan E masing-masing mempunyai titer HI rata-rata 7,4; 6,4; 6; 5,4 dan 3,6.

Dari data tersebut dapat dilihat adanya perbedaan titer HI rata-rata diantara kelompok umur dan perlakuan. Titer HI rata-rata pada kelompok umur 21 hari perlakuan A adalah 7,4 merupakan titer yang tertinggi, kemudian menurun terus hingga kelompok umur 13 hari perlakuan E (2,8) yang merupakan titer HI terendah.

Secara skematis hasil interpretasi data penelitian berupa titer HI (\log_2) disajikan dalam bentuk histogram seperti pada gambar 9.



Gambar 9 : Titer HI (log 2) pada berbagai umur pada masa embrional.

Keterangan :

- A. Titer HI kelompok yang diberi deksametason dan 30 jam kemudian diinfeksi dengan virus ND.
- B. Titer HI kelompok yang diberi deksametason dan infeksi virus ND bersamaan.
- C. Titer HI kelompok yang diberi infeksi virus ND dan 30 jam kemudian diberi deksametason.
- D. Titer HI kelompok yang diberi infeksi virus ND saja.
- E. Titer HI kelompok yang diberi deksametason saja.

Hasil analisis varian terhadap titer HI pada berbagai umur embrio yang ditulari virus ND di bawah pengaruh deksametason (lampiran 6 lanjutan) tersebut menunjukkan bahwa perlakuan 1 pada taraf kepercayaan $\alpha = 1\%$ dan derajat bebas (db) sisa 12, nilai F tabel = 6,93 sedangkan F hitung = 360,2.

Pada perlakuan 2 pada taraf kepercayaan $\alpha = 1\%$ dan derajat bebas (db) sisa = 48, nilai F tabel = 3,74 sedangkan F hitung = 55,45.

Pada perlakuan interaksi pada taraf kepercayaan $\alpha = 1\%$ dan derajat bebas (db) sisa = 48, nilai F tabel = 2,90 sedangkan F hitung = 1,18.

Dari hasil analisis varian tersebut di atas, maka didapatkan bahwa ada perbedaan yang sangat nyata dari titer HI diantara berbagai umur embrio dan perlakuan pemberian deksametason dan virus ND. Hal ini dinyatakan dengan nilai F hitung yang lebih besar dibandingkan F tabel pada taraf kepercayaan 1%. Hasil demikian menunjukkan bahwa pemberian deksametason pada berbagai umur embrio ayam yang diinfeksi dengan virus ND memberi efek yang sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap pembentukan antibodi dalam tubuh melalui titer HI yang diperiksa.

Pada analisa interaksi antara perbedaan perlakuan pemberian obat dan perbedaan umur embrio tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Hal ini dinyatakan dengan nilai

F hitung yang lebih kecil dibandingkan F tabel pada taraf kepercayaan 1% .

Lebih lanjut, dengan uji jarak Duncan pada taraf kepercayaan 1% (lampiran 6 lanjutan) dapat ditentukan notasinya guna mengklasifikasi perlakuan seperti pada tabel 8.

Tabel 8 : Notasi pengaruh perlakuan pemberian deksametason dan virus ND terhadap titer HI (log 2) pada telur ayam bertunas.

	Perlakuan	\bar{x}	Notasi
A	D \rightarrow ND	6,33	a
B	D + ND	5,73	ab
C	ND \rightarrow D	5,4	b
D	ND	4,6	c
E	D	3,27	d

Dari hasil penentuan notasi tersebut (tabel 8) dapat dikemukakan bahwa titer HI yang paling baik pada perlakuan pemberian deksametason dan 30 jam kemudian virus ND (A) namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan pemberian deksametason dan virus ND bersamaan (B) dengan masing-masing titer HI rata-rata 6,33 dan 5,73. Pada perlakuan pemberian virus ND dan 30 jam kemudian deksametason (C) dengan titer HI rata-rata 5,4 berbeda nyata dengan perlakuan A namun tidak berbeda nyata dengan per-

lakukan B. Sedangkan pada perlakuan pemberian virus ND saja (D) dengan rata-rata titer HI (4,6) menunjukkan perbedaan yang nyata dengan tiga perlakuan sebelumnya yaitu A, B, dan C. Demikian pula pada perlakuan pemberian deksametason saja (E) dengan rata-rata titer HI terendah yaitu 3,27 menunjukkan perbedaan yang nyata dengan perlakuan A, B, C, dan D.

Hasil uji jarak Duncan akibat pengaruh umur embrio terhadap titer HI dapat ditentukan notasinya seperti pada tabel 9.

Tabel 9 : Notasi pengaruh umur pada telur ayam bertunas.

Umur (hari)	\bar{x}	Notasi
21	5,76	a
17	5,32	b
13	4,12	c

Dari hasil penentuan notasi sebagaimana yang dikemukakan pada tabel 9, maka dapat disimpulkan bahwa pada TAB umur 21, 17, dan 13 hari masing-masing berbeda nyata satu dengan yang lainnya, dan hasil penelitian menunjukkan bahwa TAB umur 21 hari nilai rata-rata titer HI-nya paling baik dan paling tinggi dibanding yang lainnya. Sedangkan TAB umur 13 hari mempunyai nilai rata-rata titer HI yang paling rendah yaitu 4,12.

BAB V
PEMBAHASAN

Hasil penelitian uji hemaglutinasi (HA) pada tabel 1, 3, dan 5 yang positif menunjukkan adanya pertumbuhan virus ND pada embrio ayam umur 13 hari, 17 hari, dan 21 hari. Pada umur 13 hari, penyuntikan virus ND dilakukan di dalam cairan allantois dan untuk pengujian HA menggunakan cairan allantois, sedangkan pada umur 17 hari dan 21 hari dimana embrio ayam sudah memenuhi kapasitas telur dan sedikitnya cairan allantois maka virus ND disuntikkan dalam tubuhnya. Pengujian HA pada umur 17 dan 21 hari menggunakan suspensi organ otak paru-paru dan trachea embrio tersebut.

Adanya pertumbuhan virus tersebut dapat dibuktikan bahwa dengan penyuntikan virus ND baik melalui cairan allantois maupun tubuh embrio, ternyata setelah dilakukan uji hemaglutinasi pada cairan allantois maupun suspensi organ otak, trachea, dan paru-paru dapat memberi hasil yang positif. Hal ini menunjukkan bahwa virus tersebut mengadakan multiplikasi dan beredar dalam tubuh embrio.

Titer HA yang menurun dari umur 13 hari hingga 21 hari menunjukkan bahwa sistem imun dalam tubuh embrio ayam tersebut sudah bekerja terutama pada umur 15 hari inkubasi dimana Ig G yang terdapat dalam kantung kuning

telur telah diabsorpsi masuk dalam sistem sirkulasi embrio ayam (32).

Hal ini yang menjadi alasan mengapa embrio ayam pada umur inkubasi yang telah lanjut (di atas umur 15 hari inkubasi) pada umumnya tidak cocok untuk percobaan isolasi virus ayam (32).

Apabila tubuh kontak dengan antigen maka dalam tubuh tersebut akan terjadi rangkaian reaksi yang melibatkan sistem retikulo endotelial (3).

Virus ND yang disuntikkan ke dalam TAB akan beraksi dengan makrofag atau monosit untuk kemudian diolah sedemikian rupa sehingga bersifat imunogenik. Selanjutnya Ag yang telah diolah ini akan diteruskan oleh makrofag kepada sel limfoid dari sistem retikulo endotelial yang bersifat imunokompeten yaitu sel B dan sel T.

Sesuai dengan sifat imunogeniknya virus ND yang bertindak sebagai antigen tersebut akan merangsang sel B untuk berdeferensiasi dan berproliferasi menjadi sel plasma yang nantinya akan menghasilkan Ab.

Pernyataan di atas tadi dapat menjadi dasar mengapa dalam pengujian hambatan aglutinasi pada embrio ayam berumur 13, 17, dan 21 hari memberi hasil positif. Hasil tersebut membuktikan bahwa ada antigen yang masuk dalam tubuh embrio ayam sehingga dapat merangsang terbentuknya antibodi. Pada umur 13 hari inkubasi penyuntik-

an virus ND dilakukan pada cairan allantois sedang untuk pengujian hambatan aglutinasi digunakan suspensi organ jantung dan limpa, namun memberi hasil uji HI yang positif.

Hal ini dapat terjadi karena embrio ayam berhubungan langsung dengan cairan disekelilingnya. Dalam masa pertumbuhannya cairan tersebut akan habis karena diserap oleh tubuhnya maupun ditelan (32).

Hubungan antara cairan dan tubuh embrio dapat pula dibuktikan pada saat penyuntikan virus ND dalam ruang allantois pada TAB umur 9 - 11 hari dengan dosis yang tinggi maka dapat menyebabkan kematian embrio yang ditandai dengan adanya kongestif atau hemoraghi pada tubuhnya (72).

Imunomodulasi atau imunoregulasi merupakan suatu perlakuan yang dikenakan pada sistem imun dengan tujuan untuk merubah kapasitas fungsional salah satu atau beberapa parameter imunitas organisme (79).

Bila sistem imun diatur dengan perlakuan tertentu, maka efek yang diharapkan pada sistem tersebut naik, turun, atau tetap. Hal tersebut dapat dideteksi melalui parameter, dimana dalam penelitian ini adalah produksi antibodi.

Sesuai dengan pengaturan pada sistem imun suatu substansi, ternyata deksametason lebih mempengaruhi

limfosit T dibanding limfosit B (64), namun limfosit T dalam reaksinya juga akan mempengaruhi limfosit B dalam memproduksi antibodi.

Pada penelitian ini digunakan deksametason injeksi 16,5 ng/embrio. Dosis yang digunakan dalam penelitian ini merupakan peralihan dari dosis penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Wenworth dan Hussein pada tahun 1985 yaitu kortikosteron 540 ng/embrio. Alasan menggunakan dosis ini adalah untuk melihat apakah dosis kortikosteron yang digunakan Wenworth dan Hussein untuk mempercepat waktu penetasan dan mempertinggi daya tetas tersebut mempunyai pengaruh yang baik pula terhadap sistem kekebalan tubuhnya mengingat kortikosteron termasuk obat imunomodulator.

Selain alasan di atas, dalam penelitian ini tidak menggunakan kortikosteron tetapi deksametason injeksi, hal ini disebabkan karena alasan teknis dimana selama ini preparat kortikosteron dijumpai dalam bentuk suspensi sedangkan deksametason dalam bentuk solusio. Bentuk solusio ini memudahkan dalam hal penyerapannya ke dalam tubuh embrio karena bentuknya yang larut.

Dari hasil penelitian uji hambatan aglutinasi pada embrio umur 13, 17, dan 21 hari di bawah pengaruh deksametason, ternyata memberi hasil yang sangat nyata ($p < 0,01$). Kadar antibodi meningkat dari umur 13, 17, hingga 21 hari dan pada umur 21 hari kadar antibodinya ter-

tinggi (tabel 9).

Dari hasil ini maka dapat diajukan suatu pemikiran bahwa sesuai dengan perkembangan umur dimasa embrional, sistem kekebalannya berkembang pula secara fungsional yang proporsional.

Sesuai dengan pengertian imunomodulator, deksametason yang digunakan pada penelitian ini ternyata bersifat sebagai imunostimulan, bukan sebagai imunodipresan seperti halnya yang dilaporkan oleh beberapa peneliti antara lain Bellanti, Cupps, Settipane, dan lain-lain (1,62,65). Hal ini dapat dilihat pada tabel 8 dimana deksametason yang diberikan sebelum/sesudah atau bersamaan dengan infeksi virus ND memberi hasil tes HI yang lebih tinggi dibandingkan dengan hanya memberi virus ND saja.

Seperti halnya sifat dari kortikosteron sebagai imunoregulator, regulasi pada sistem kekebalan sangat dipengaruhi oleh saat pemberian, dosis pemberian, dan cara pemberian (60). Sifat suatu imunomodulator adalah non spesifik, maksudnya bahwa hanya mengaktifkan sel-sel kebal terhadap agresi yang datang dari luar baik itu agresi virus, bakteri, parasit, maupun tumoral (80).

Dengan demikian hasil penelitian ini mengkonfirmasi kebenaran penelitian terdahulu bahwa cara pemberian deksametason dari hasil penelitian ini mem-

pengaruhi titer antibodi anti ND yang dibentuk. Lebih lanjut dari hasil penelitian ini dapat diajukan suatu pemikiran bahwa dosis deksametason yang sangat kecil (16,5 ng/embrio) ternyata belum bertindak sebagai imuno-depresan. Efek depresi dari hormon golongan glukokortikoid biasanya timbul bila diberikan dalam dosis besar dan berulang kali sehingga dapat menurunkan kadar serum imunoglobulin (60).

Seperti dikemukakan oleh Atkinson dan Frank pada tahun 1973, bahwa pada dosis yang setara dengan 500 kali dosis penelitian ini pada hewan marmut, kortikosteroid meningkatkan aktifitas komplemen. Hambatan terhadap aktifitas komplemen mulai terlihat bila dosis ditingkatkan menjadi 2000 kali, sedangkan hambatan yang mutlak terhadap aktifitas komplemen terjadi bila dosis ditingkatkan 10000 kali (81). Dengan demikian terlihat bahwa dosis yang digunakan dalam penelitian ini 16,5 ng/embrio masih lebih kecil daripada dosis yang masih memberikan rangsangan terhadap aktifitas komplemen.

Dari hasil yang diperlihatkan pada tabel 8 dapat terlihat bahwa deksametason bekerja lebih baik apabila diberikan sebelum infeksi embrio. Hal ini dikarenakan deksametason bertindak memekakan/mensensibilisasi sel peka antigen sehingga apabila ada antigen masuk maka tubuh telah siap untuk menghadapinya.

Dengan demikian dari hasil penelitian ini dapat ditunjukkan bahwa deksametason pada dosis yang relatif kecil dan dengan cara pemberian sebelum infeksi mampu bertindak sebagai imunostimulan karena mampu meningkatkan kapasitas fungsi kekebalan.

BAB IV

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil penelitian tentang pengaruh pemberian deksametason terhadap tanggap kebal humoral pada TAB yang ditulari virus ND, dapat disimpulkan bahwa :

1. Sistem kekebalan ayam pada masa embrional dapat berfungsi pada hari 13 inkubasi TAB dan berkembang untuk menjawab rangsangan antigen.
2. Perkembangan sistem kekebalan pada masa embrional terlihat dengan menurunnya multiplikasi antigen ND yang seimbang dengan pertambahan umur embrio ayam dan meningkatnya titer Ab anti ND sejalan dengan perkembangan embrio.
3. Cara pemberian deksametason sebagai imunoregulator dan virus ND mempengaruhi titer Ab anti ND yang terbentuk.
4. Deksametason sebagai imunomodulator mengaktifkan kemampuan pembentukan Ab bila diberikan sebelum antigen ND.
5. Aktifitas deksametason dengan antigen ND terhadap kemampuan embrio ayam di dalam membentuk Ab anti ND adalah secara sinergis.
6. Efek peningkatan kemampuan pembentukan Ig dapat dicapai dengan dosis deksametason yang relatif rendah.

7. Peningkatan kemampuan pembentukan Ab anti ND terjadi pada saat pemberian deksametason 30 jam sebelum ND.

S a r a n

1. Perlu penelitian sejenis lebih lanjut pada umur embrio ayam yang lebih muda.
2. Perlu penelitian lebih lanjut dengan melihat kemampuan pembentukan Ab terhadap agen penyebab penyakit selain ND.
3. Perlu penelitian sejenis lebih lanjut dengan melihat kemampuan pembentukan Ab pada spesies yang berbeda.

RINGKASAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FKH Unair Surabaya pada tanggal 6 Maret sampai 31 Mei 1989

Bursa Fabricius merupakan organ limfoid primer yang berperan dalam sistem kekebalan humoral pada ayam. Aktifitas sel-sel B yang dihasilkan bursa Fabricius dipengaruhi oleh mikro organisme yang menginfeksi sehingga dihasilkan antibodi terhadap antigen tersebut.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sejauh mana deksametason yang bersifat sebagai imunoregulator berpengaruh terhadap aktifitas sel B dalam melawan virus *Newcastle Disease* pada embrio ayam.

Hewan percobaan yang digunakan adalah 75 butir TAB umur 13, 17, dan 21 hari jenis Bromo 907. Infeksi buatan virus ND dosis $0,01 \cdot 10^{6,68}$ EID₅₀ disuntikan sesudah/sebelum dan bersamaan dengan deksametason 16,5 ng/embrio kedalam cairan allantois. Jarak waktu penyuntikan antara deksametason dan virus ND adalah 30 jam. 48 jam setelah infeksi virus ND dilakukan pemeriksaan terhadap cairan allantois, suspensi organ otak dan paru-paru untuk pemeriksaan uji hemaglutinasi dan terhadap suspensi organ jantung, limpa dan serum darah untuk uji hambatan hemaglutinasi.

Dari hasil percobaan setelah dianalisis secara statistik diperoleh hasil bahwa diantara perlakuan umur dan pembe-

rian deksametason beserta virus ND terdapat perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$) antara umur embrio ayam yang satu dengan yang lain dan diantara embrio yang diberi deksametason dengan kelompok kontrol terhadap titer HI.

Pada pengujian statistik maka perlakuan terbaik adalah pemberian deksametason 30 jam sebelum infeksi virus ND dengan dosis 16,5 ng/embrio, dan titer HI tertinggi didapat pada TAB umur 21 hari.

Hasil ini menunjukkan bahwa deksametason pada dosis 16,5 ng/embrio ternyata mampu meningkatkan aktivitas sel B dalam menghasilkan antibodi atau dapat dikatakan sebagai imunostimulan.

Kata-kata kunci : Embrio ayam, deksametason, sel B, antibodi, imunoregulator, *Newcastle Disease*, imunostimulan.

DAFTAR PUSTAKA

- ✓ 1. Bellanti, J.A. , Clinical Aspects of Immunosupresiion. Di dalam : Immunology II. Saunders Internatio-
nal Edition. Bellanti, J. A. W. B. Saunders
Comoany. 1978. Hal. 746 - 756.
2. Gell, P.G.H., Coombs, R.R.A., and Lachman, R. Clinic-
al Aspect of Immunology. 3th Edition, Section
IV. Blackwell Scientific Publication. Oxford.
1975.
3. Gan, V.H.S., Obat Imunosupresan. Di dalam : Farma-
kologi dan Terapi. Edisi 2. Bagian Farmakologi
Universitas Indonesia. 1981. Hal. 651 - 659.
4. Tizard, L. Veterinary Immunology an Introduction. 3rd
Edition. W.B. Saunders Company. 1987.
5. Meyers, F.H., Jawets, E., Goldfein, A., Review of Me-
dical Pharmacology. 6th Edition. Lange Medical
Publication. Los Altos. California. 1978.
6. Atlas, R.M., Microbiology : Fundamental and Applicati-
ons. 2nd Edition. Mac Millan Publishing Co.
New Yrok. 1978.
7. Weir, D.M., Immunology for Undergraduates. 3rd Editi-
on. Churchill Livingstone. Edinburg and London.
1973.
- ✓ 8. Bellanti, J.A., Introduction to Immunology. Di dalam
: Immunology III. Saunders Company. 1985. Hal.
1 - 14.
9. Jawets, E., Melinck, J.L., Adelberg, E., A., Review
of Medical Microbiology. 14th Edition. Lange
Medical Publication. Los Altos. California.
1978.

10. Merchant, I.A., Packer B.A., Veterinary Bacteriology and Virology. 7th Edition. The Iowa State University Press. Ames. Iowa. 1971.
- ✓ 11. Seto, F., Early Development of the Avian Immune System. Poultry Sci. 1981. 60. Hal 1982 -1995.
12. Herbert, W.J., Veterinary Immunology. Blackwell Scientific Publications. Oxfors. London. 1974.
13. Roitt, I.M., Brostoff, J., Male, D.K., Immunology. Gower Medical Publishing. London. 1985.
14. Roitt, I. M., Essential Immunology. 4th Printing. Blackwell Scinetific Publication. London. 1973.
15. Murphey, S.A., Root, R.K., Schreiber, A.D., The Rule of Antibody and Complement in Phagocytosis by Rabbit Alveolar Macropages. The Journal of Infectious Diseases. 1979. 140 : 6 . Hal. 896 - 902.
16. Leslie, G.A., Ontogeny of the Chicken Humoral Immune Mechanism. Am. J. Vet. Res. 1975. 36 : 4. Hal. 482 - 484.
- ✓ 17. Glick, B., Chang, T.S., and Jaap, R.G., The Bursa of Fabrisius and Antibody Production. Poultry Sci. 1956. 35. Hal 224 - 225.
18. Pierre, R.L., and Ackerman, G.A. Bursa of Fabrisius in Chickens. Possible Humoral Factor Science. 1965. 147. Hal. 1307 -1308.
19. Firth, G.A., The Normal Lympatyc System of the Domes-tic Fowl. The Veterinary Bulletin. 1977. 47. Hal. 167 -179.

20. Van Alten, P.J., and Meurissen, H.J., Production of Specific Antibody by Lymphocytes of the Bursa of Fabrisius. Poultry Sci. 1972. 176. Hal. 45 - 47.
21. Kresno, S.B., Pengantar Hematologi dan Imunohematologi. Gaya Baru Pres. Jakarta. 1988.
22. Low. T.L.K., Thorman, G.B., Zatz. M.M., Hu, S.K., and Goldstein, A.L., A Multifaceted Role of Thymosyn and Its Composite Pepetides in T Cell Regulation. Di dalam : Advances in Immunopharmacology. Hadden, J., Chedid, L., Mullen, P., Sparfico, F., Eds. Pergamon Press. 1981. 517. Hal. 67 - 75.
23. Romanoff, A.L., The Avian Embryo. Mac Millan. New York. 1960.
24. Metcalf, D., and Moore, M.A.S., Haemopoietic Cells. North. Holland. Amsterdam. 1971.
25. Bellanti J.A., Immunology II. Asian Edition. W.B. Saunders Company. 1978.
26. Wolfe H.R., Sheridan, S.A., Bilstad, N.M., and Johnson M.A., The Growth of Lymphoidal Organs and the Testes of Chickens. Anat. Rec. 1962. 142. Hal. 485 - 493.
- ✓ 27. Glick B., The Immune Response in the Chicken : Lymphoid Development of the Bursa of Fabrisius and Thymus and an Immune Response Role for the Gland of Harges. Poultry Sci. 1978. 57. Hal. 1441 - 1444.
28. Bienenstock, J., The Local Immune Response. Am. J. Vet. Res. 1975. 36 : 4. Hal. 488 - 490.

29. Volk dan Wheeler. Mikrobiologi Dasar. Edisi ke-5. Penerbit Erlangga. Lembaga Pengetahuan Indonesia. Jakarta. 1988.
30. Bendtzen, K., Interleukins. Di dalam : Comparative Immunology, Microbiology and Infections Disease. Pillet, C., Pergamon Press, Ltd. Great Britain. 1985. Hal. 225 - 234.
31. Fudenberg, H.H., Stites, D.P., Caldwell, J.L., Basic and Clinical Immunology. Lange Medical Publications. Los Altos. Cal. USA. 1978.
32. Aitken, I.D., Avian Immune System. Di dalam : Poultry Diseases. Gordon, R.F., and Jordon, F.T., 2nd Edition. Bailliere Tindall London. 1982. Hal. 328 - 341.
33. Kramer, T.T., Cell Mediated Immunity. Am. J. Vet. Res. 1975. 36. Hal. 492.
34. Blenenstock, J., The Local Immune Response. Am. J. Vet. Res. 1975. 36. 4. Hal. 488 - 490.
35. Baker, F.J., and Breach, M.R., Medical Microbiological Techniques. Butter Worth and Co. 1980. Hal. 377 - 383.
36. Zmijewski, C.M., Hubscher, T.T., and Bellanti, J.A., Antigen and Antibody Interactions. Di dalam : Immunology II. Bellanti. J.A. Asian Edition. W.B. Saunders Company, Philadelphia. 1978. 8. Hal 203 - 224.
37. Stites, D.P., Clinical Laboratory Methods for Detection of Antigen and Antibodies. Di dalam : Basic and Clinical Immunology. Stites, D.P., Stobu, J.D., Fudenberg, H.H., and Wells, J.V.

- 4th Edition. Maruzen Asian Edition. 1982. 22.
Hal. 325 - 363.
38. Hanson, R.P., Newcastle Disease. Di dalam : Disease of Poultry. Hofstad, M.S., Barnes, J.H., Calnek, B.W., Reid, W.M., and Yoder, H.W., 6th Edition. The Iowa State University Press. 1972. 18. Hal. 619 - 644.
39. Cottral, G.E., Manual of Standardized Methods for Veterinary Microbiology. 1978. Hal. 60 - 78.
40. Allan, W.H., Lancaster, Y.E., and Toth, D., The Production and Use of Newcastle Disease Vaccine. FAO. Rome. Italy. 1978. Hal. 20 - 25.
41. Stephen, E.S., Bagaimana Obat Bekerja. Edisi 1. P.T. Grafidian Jaya. Jakarta. 1982.
42. Siegmund, O.H., and Frazer, G.M., A Hand Book of Diagnosis and Therapy for the Veterinarian. 5th Edition. The Merck Veterinary Manual. 1979.
43. Musser, R.D., and O'Neill, J.J., Pharmacology and Therapeutics. 4th Edition. The Mac Millan Company. 1969.
44. Brander, G.C., Pugh, D.M., Veterinary Applied Pharmacologic and Therapeutics. 2nd Edition. Bailliere Tindall London. 197 . Hal. 137 - 152.
45. John, C., Krantz J.R., and Jelleff, C., Principle of Medical Practice. 7th Edition. The Williams and Wilkin Company. 1969. Hal. 655 - 664.
46. Anonymous. Brithish Pharmacopoeia. London Her Majesty's Stationery Office. 1980.
47. Mc Donald, L.E., Veterinary Endocrinology and Reproduction. 2nd Edition. Lea and Febiges.

Philadelphia. 1975.

48. Tjay, T.H., dan Rahardja, K., Obat-obat Penting, Khasiat, Penggunaan dan Eferk-efek Sampingnya. Edisi 4. P.T. Kimia Farma. 1978. Hal. 549 - 567.
49. Anonymous, AMA Drug Evaluation. 2nd Edition. Publishing Sciences Group, Inc. 1973. Hal. 381 - 400.
50. Ringer, R.K., Adrenals. Di dalam : Avian Physiology. Storkie, P.D., 3rd Edition. Springer Verlag. New York. 1976.
51. Guyton, A.C., Fisiologi II. Diterjemahkan : Dharma, A., dan Lukmanto, P., Penerbit Buku Kedokteran. E.G.C. 1983.
- ✓ 52. Wentworth, B.C., and Hussein, M.O., Serum Corticosterone Levels in Embryos. Newly Hatched and Yong Turkey Poolts. Poultry Sci. 1984. 64. Hal. 2195 - 2201.
53. Scott, T.R., Jhonson, W.A., Satterlee, D.G., and Gildersleeve, R.P., Circulating Level of Corticosterone in the Serum of Developing Chick Embryo and Newly Hatched Chick. Poultry Sci. 1981. 61. Hal. 1314 - 1320.
54. Davis, G.S., and Siopes, T.D., Adrenal Cortical Response of Tom Poult. Poultry Sci. 1985. 64. Hal. 2189 - 2194.
- ✓ 55. Suherman, S.K., Adrenokortikotropin, Adrenokortikosteroid, dan Kortikosteroid Sintetik. Di dalam : Farmakologi dan Terapi. Edisi 2. Bagian Farmakologi. FK UI. Hal. 358 - 377.

56. Baxter, J.D., and Forsham, D.H., Tissue Effect of Glucocorticoids. Am.J.Med.1972.53. Hal.573 - 589.
57. Anonymous, A Hand Book of Diagnosis and Therapy for the Veterinarian. 5th Edition. Merck and Co. Inc. 1979.
58. Steinberg, A.D., and Williams, G.W., Pharmacological Immunosuppression. Di dalam : Immunological Disease. Santer M., 3rd Edition. Little Brown and Co, USA. 1978. II. Hal. 1522 - 1533.
59. Dulin, W.E., Effect of Corticosterone, Cortisone, and Hydrocortisone on fat Metabolism. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1956. 92. No. 2. Hal.253 - 255.
60. Muchtar, A. Dasar-dasar Farmakologi Untuk Pengobatan Dengan Glukokortikoid. Di dalam : Naskah lengkap Seminar Kortikosteroid. Muchtar, A., dan Setiawati, A. Edisi I. 1979. Hal 3 - 22.
61. Setiawati, A., Mekanisme Kerja Imunosupresif. Di dalam : Imunologi Diagnosis dan Terapi. Tjokronegoro, A., dan, Cornain, S., Penerbit FK UI. Jakarta. 1982.
62. Cupps, T.R., and Fauci, A.S., Corticosteroid Mediated Immuno regulation in Man. Immunological Rev. 1982. 65. Hal. 133 - 149.
63. Parrillo, J.E., and Fauci, A.S., Mechanisms of Glucocorticoid Action on Immune Processes. Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 1979. 19. Hal. 179 - 201.
64. Gillis, S., Crabtree, G.R., and Smith, K.A., The Effect on Mitogen Induced Lymphocyte Proliferation. Di dalam : Glucocorticoid Induced In-

- hibition of T Cell Growth Factor Production.
The Journal of Immunology. 1979. 123.4. Hal. 1621 - 1631.
65. Settipane, G.A., Pudupakkam, R.K., and Mc Gowan, J. H., Corticosteroid Effect on Immunoglobulins. The Journal of Allergy and Clinical Immunology. 1978. 62. 3. Hal. 162 - 166.
66. Anonymous, ND Vaccines. Food and Agriculture Organization of the United Nation. Via delle Terme di Cara Calla. Rome. Italy. 1978.
67. Ackerman, W.W., Cell Surface Phenomena of Newcastle Disease Virus. Di dalam : Newcastle Disease Virus an Evaluating Phatogen. Hanson, R.B., University of Wisconsin Press. Medison. Wis. 1964. Hal. 15 - 17.
68. Lancaster, J.E., Newcastle Disease a Review, 1926 - 1964. Monograph no. 3 Canada Depertement of Agriculture. Ottawa. Ontario. 1966. Hal. 12 - 17.
69. Winslow, N.S.R., Hanson, R.P., Upton, E., and Brandy, C.A., Aglutination of Mammalia Erythrocyte by ND Virus: Di dalam : Newcastle Disease and Spread. Monograph no. 11. Canada Depertement of Agriculture. Ottawa. Canada. 1950.
70. Santhya, K.A.P., Brati, A.W., dan Sudana, I.G., Karakterisasi Isolat Virus ND dari Ayam, Itik, Burung Pelatuk, Nuri dan Kakak Tua. Bull. Vet. BPPH Wilayah VI Denpasar. 1985. 2. 1. Hal. 1 - 7.

71. Lancaster, J.E., and Alexander, D.J., Newcastle Disease and Spread, A Review of Some of the Literature. Monograph no. 11. Canada Departement of Agriculture. Ottawa. Canada 1975. Hal. 35 - 40.
72. Beard, C.W., and Hanson, R.P., Newcastle Disease. Di dalam : Disease of Poultry. Hofstad, M.S., Barnes, J.H., Calnek, B.W., Reid, W.H., and Yoder, H.H., 8th Edition. The Iowa State University Press. 1984. Hal. 452 - 467.
73. Ressang, A.A., Pathology Khusus Veterinair. Edisi 2. Departemen Urusan Riset Nasional Republik Indonesia. 1984. Hal. 567 - 574.
74. Beard, C.W., and Brugh, M., Immunity to Newcastle Disease. Am. J. Vet. Res. 1975. 16. 4. Hal. 509 - 512.
75. Allan, W.H., Alexander, D.J., Biggs, P.M., Gordon, R. F. Jordon, F.T.W., and Mc Ferran, J.B., Viral Disease. Di dalam : Poultry Diseases. 2nd Edition. Bailliere Tindall London. 1982. Hal. 98 - 111.
76. Allan, W.H., and Gough, R.E., Standard Haemagglutination Inhibition Test for Newcastle Disease Vaccination and Challenge. Vet. Rec. 1974. 95. Hal. 147 - 149.
77. Bankowski, R.A., Interferon and Its Role in Poultry Health. Am. J. Vet. Res. 1975. 36. Hal. 494 - 496.

78. Box, G.E.P., Hunter, J., Statistic for Experimental : An Introduction to Design, Data, Analysis, and Model Bullding. John Wiley and Sons, Inc. New York. 1978.
79. Bendryman Soedjoko, R., Pengaruh Immunostimulan Biologis Pada Penyakit Infeksi. Di dalam : Temu-Ilmiah Immunologi dan Infeksi. 1988. Hal. 10 - 17.
80. Bendryman Soedjoko, R., Evaluasi Sistem Fagositosis Organisme Dalam Pemberian Substansi Immunostimulan. Seminar Nasional Immunologi. P. A. U. Bioteknologi Universitas Gajahmada. Jogjakarta. 1988.
81. Atkinson, J. P., and Frank , M. M., Effect of Cortisone Theraphy on Serum Complement Components. The Journal of Immunology. 1973. 111 : 4. Hal. 1061 - 1065.

Lampiran 1 : Perhitungan kandungan virus (*virus content*) dari vaksin komarov (metoda Reed dan Muench, 1938).

Peng- enceran	Hasil individu		Hasil komulatif			Prosen- tase
	HA ⁺	HA ⁻	HA ⁺	HA ⁻	Ratio	
10 ⁻¹	10	0	62	0	62/62	100%
10 ⁻²	10	0	52	0	52/52	100%
10 ⁻³	10	0	42	0	42/42	100%
10 ⁻⁴	10	0	32	0	32/32	100%
10 ⁻⁵	8	2	22	2	22/24	85,71%
10 ⁻⁶	7	3	14	5	14/19	61,11%
10 ⁻⁷	4	6	7	11	7/18	26,32%
10 ⁻⁸	3	7	3	18	3/21	8,33%
10 ⁻⁹	0	10	0	28	0/28	0%
10 ⁻¹⁰	0	10	0	38	0/38	0%

Rumus :

$$EID_{50} = \frac{(M_1 - S_1)(M_2 + S_1)}{2[(M_1 \times S_2)(M_2 \times S_1)]}$$

M₁ = Total kematian pada pengenceran yang lebih rendah.

S₁ = Total yang hidup pada pengenceran yang lebih rendah.

M₂ = Total kematian pada pengenceran yang lebih tinggi.

S₂ = Total yang hidup pada pengenceran yang lebih tinggi.

$$EID_{50} = \frac{(14 - 5)(7 + 11)}{2[(14 \times 11)(5 \times 7)]} = \frac{162}{238} = 0,68 \approx 0,7.$$

Jadi EID₅₀ yang didapat adalah pada pengenceran 10^{6,7}

sehingga titer EID₅₀ = 10^{6,7}/0,1 cc.

Lampiran 2 : Tabel indikasi cara menghasilkan pengenceran untuk hasil desimal logaritmik Reed dan Muench dalam penyuntikan sejumlah EID_{50} pada hewan percobaan.

Untuk men- dapatkan	Perimbangan dan peng- enceran, n harus di- tambahkan (cc)	Jumlah volume total
n, 1	0,25	1,25
n, 2	0,6	1,6
n, 3	1	2
n, 4	1,5	2,5
n, 5	2,2	3,2
n, 6	3	4
n, 7	4	5
n, 8	5,3	6,3
n, 9	7	8

Keterangan : n adalah hasil Reed dan Muench kelipatan 10.

Dalam penelitian ini yang digunakan adalah $EID_{50} = 10^{6,7}$. Maka yang diberikan adalah 1 cc dari pengenceran 10^{-8} ditambah 4 cc larutan PBS (berdasar pada tabel). Sedangkan pada penelitian ini menggunakan sampel 75 butir telur ayam bertunas, dengan dosis 0,1 cc/TAB. Maka dibutuhkan 2 cc dari pengenceran 10^{-8} ditambah dengan (2 x 4 cc) pelarut PBS sehingga didapatkan jumlah volume 10 cc.

Lampiran 3 : Pengujian Statistik dengan RAL (Rancangan Acak Lengkap)

Hasil HA test dari TAB umur 13 hari yang ditulari virus ND dibawah pengaruh deksametason.

Ulangan	Perlakuan				
	D → ND	D + ND	ND → D	ND	D
1.	5	5	5	6	0
2.	4	5	6	6	0
3.	5	3	5	5	0
4.	3	4	5	6	0
5.	5	5	5	5	0
Total	22	22	26	28	0
Rata-rata	4,4	4,4	5,2	5,6	0

Daftar Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kwadrat	Kwadrat Tengah	F Hitung	F Tabel 0,01
Perlakuan	4	101,44	25,36	60,38**	4,43
Sisa	20	8,4	0,42		
Total	24	109,84			

Lanjutan Lampiran 3

Uji BNJ pengaruh perlakuan pemberian deksametason dan virus ND terhadap titer HA (log 2) pada TAB umur 13 hari.

Perlakuan	X	X - E	X - A	X - B	X - C	BNJ 1%	
D	ND	5,6	5,6 *	1,2 *	1,2 *	0,4	0,45
C	ND → D	5,2	5,2 *	0,8 *	0,8 *		
B	D + ND	4,4	4,4 *	0			
A	D → ND	4,4	4,4 *				
E	D	0					

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ } 1\% &= Q \ 1\% \ (\text{db sisa}) \times \frac{\text{KTS}}{n} \\
 &= Q \ 1\% \ (20) \times \frac{0,42}{5} \\
 &= 5,294 \times 0,084 \\
 &= 0,45
 \end{aligned}$$

Lampiran 4 : Pengujian Statistik dengan RAL (Rancangan Acak Lengkap)

Hasil Titer HA (log 2) dari TAB umur 17 hari yang ditulari virus ND dibawah pengaruh deksametason.

Ulangan	Perlakuan				
	D → ND	D + ND	ND → D	ND	D
1.	3	3	2	2	0
2.	2	1	3	3	0
3.	3	3	2	2	0
4.	2	2	3	3	0
5.	1	3	3	3	0
Total	11	12	13	13	0
Rata-rata	2,2	2,4	2,6	2,6	0

Daftar Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kwadrat	Kwadrat Tengah	F Hitung	F Tabel 0,01
Perlakuan	4	24,56	6,14	14,62**	4,43
Sisa	20	8,4	0,42		
Total	24	32,96			

Lanjutan Lampiran 4

Uji BNJ pengaruh perlakuan pemberian deksametason dan virus ND terhadap titer HA pada TAB umur 17 hari.

Perlakuan		\bar{X}	$\bar{X} - E$	$\bar{X} - A$	$\bar{X} - B$	$\bar{X} - C$	BNJ 1 %
D	ND	2,6 a	2,6 *	0,4	0,2	0	0,45
C	ND → D	2,6 a	2,6 *	0,4	0		
B	D + ND	2,4 a	2,4 *	0,2			
A	D → ND	2,2 a	2,2				
E	D	0 b					

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ } 1\% &= Q \ 1\% \ (\text{db sisa}) \times \frac{\text{KTS}}{n} \\
 &= Q \ 1\% \ (20) \times \frac{0,42}{5} \\
 &= 5,294 \times 0,084 \\
 &= 0,45
 \end{aligned}$$

Lampiran 5 : Pengujian Statistik dengan RAL (Rancangan Acak Lengkap)

Hasil HA test dari TAB umur 21 hari yang ditulari virus ND dibawah pengaruh deksametason.

Ulangan	Perlakuan				
	D → ND	D + ND	ND → D	ND	D
1.	1	1	1	2	0
2.	0	1	1	1	0
3.	1	1	1	1	0
4.	1	1	2	2	0
5.	1	2	2	1	0
Total	4	6	7	7	0
Rata-rata	0,8	1,2	1,4	1,4	0

Daftar Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kwadrat	Kwadrat Tengah	F Hitung	F Tabel 0,01
Perlakuan	4	6,96	1,74	8,7 **	4,43
Sisa	20	4	0,2		
Total	24	10,96			

Lanjutan Lampiran 5

Uji BNJ pengaruh perlakuan pemberian deksametason dan virus ND terhadap titer HA pada TAB umur 21 hari.

Perlakuan		\bar{X}	$\bar{X} - E'$	$\bar{X} - A'$	$\bar{X} - B'$	$\bar{X} - C'$	BNJ 1 %
D''	ND	1,4 a	1,4 *	0,6 *	0,2	0	0,21
C''	ND → D	1,4 a	1,4 *	0,6 *	0,2		
B''	D + ND	1,2 a	1,2 *	0,4 *			
A''	D → ND	0,8 ab	0,8 *				
E	D	0 c					

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ } 1\% &= t \ 1\% \text{ (db sisa)} \times \frac{\text{KTS}}{n} \\
 &= t \ 1\% \text{ (20)} \times \frac{0,2}{5} \\
 &= 5,294 \times 0,04 \\
 &= 0,21
 \end{aligned}$$

Lampiran 6 : Pengujian statistik dengan Split Plot.

Hasil Titer HI (log 2) dari TAB yang ditulari virus ND di bawah pengaruh deksametason.

Petak ut-tama umur (hari)	Anak Petak Perlakuan	Ulangan					Jumlah	Rata-rata
		I	II	III	IV	V		
13	D → ND	6	5	5	5	5	26	5,2
	D + ND	3	5	5	5	5	23	4,6
	ND → D	5	4	5	4	4	22	4,4
	ND	4	4	3	3	4	18	3,6
	D	3	3	3	3	2	14	2,8
Jumlah		21	21	21	20	20	103	20,6
17	D → ND	7	6	6	6	7	32	6,4
	D + ND	6	6	7	6	6	31	6,2
	ND → D	5	6	6	6	6	29	5,8
	ND	5	5	5	5	4	24	4,8
	D	4	4	3	3	3	17	3,4
Jumlah		27	27	27	26	26	133	26,6
21	D → ND	8	8	7	7	7	32	7,4
	D + ND	6	6	7	7	6	32	6,4
	ND → D	6	6	5	6	7	30	6,0
	ND	6	5	6	5	5	27	5,4
	D	3	4	4	4	3	18	3,6
Jumlah		29	29	29	29	28	144	28,8

Lanjutan lampiran 6

Hubungan umur TAB dan perlakuan pemberian deksametason dan Newcastle Disease.

Umur (hari)	Perlakuan Pemberian					Jumlah
	D→ND	D + ND	ND→D	ND	D	
13	26	23	22	18	14	103
17	32	31	29	24	17	133
21	37	32	30	27	18	144
Jumlah	95	86	81	69	49	380

Daftar Sidik Ragam

Sumber Keragaman (SK)	db	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	F Hitung	bel
					1%
<u>An. Petak Utama</u>					
Perlakuan (1)	2	36,03	18,02	360,4**	6,93
Sisa (1)	12	0,64	0,05		
Total (1)	14	36,67			
<u>An. Anak Petak</u>					
Perlakuan (2)	4	84,27	21,07	55,45**	3,74
Intraksi (1)x(2)	8	3,57	0,45	1,18	2,90
Sisa (1)	48	18,16	0,38		
Total (2)	74	142,67			

Lanjutan lampiran 6.

Uji jarak berganda Duncan pengaruh perlakuan pemberian deksametason dan virus ND terhadap titer HI (log 2).

Per-lakuan	Rata-rata	$\bar{x} - E$	$\bar{x} - D$	$\bar{x} - C$	$\bar{x} - B$	P	SSR 0,01	LSR 0,01
D → ND	6,33 _a	3,06*	1,73*	0,93*	0,6	5	4,15	0,66
ND + D	5,73 _{ab}	2,46*	1,13	0,33		4	4,07	0,65
ND → D	5,4 _b	2,13*	0,80			3	3,96	0,63
ND	4,60 _c	1,33				2	3,8	0,61
D	3,27 _d							

$$S_e = \sqrt{\frac{KTS}{n}} = \sqrt{\frac{0,38}{15}} = 0,16$$

$$LSR = SSR \times S_e$$

Uji Jarak Berganda Duncan Pengaruh Umur Embrio Terhadap Titer HI (log 2)

	Umur (hari)	Rata-rata	$\bar{x} - no_3$	$\bar{x} - no_2$	p	SSR 0,01	LSR 0,01
1	21	5,76 _a	1,64*	0,44*	3	4,55	0,18
2	17	5,32 _b	1,2*		2	4,32	0,17
3	13	4,12 _c			1		

$$S_e = \sqrt{\frac{KTS}{n}} = \sqrt{\frac{0,05}{25}} = 0,04$$

$$LSR = SSR \times S_e$$



Gambar 10. Membuat Lubang untuk Tempat Penyuntikan Virus ND dan Dekسامetason pada TAB.



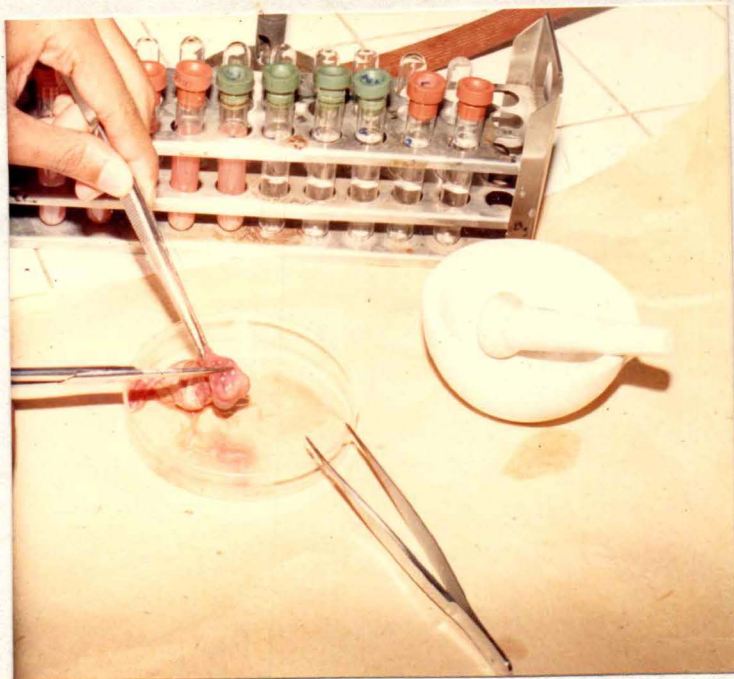
Gambar 11. Penyuntikan Dekسامetason 0,1 pada TAB.



Gambar 12. Membuka Telur pada Ruang Hawa.



Gambar 13. Pengambilan Cairan Allantois dengan Eppendorf.



Gambar 14. Pembuatan Suspensi Organ 10 %.



Gambar 15. Pengambilan Darah Melalui Jantung pada TAB Umur 21 Hari.