

SKRIPSI :

I. MADE SIBANG

**PERBANDINGAN IMUNOGENIK VAKSIN ND
GALUR F, LASOTA DAN B₁ PADA
AYAM PEDAGING**



**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1985**

PERBANDINGAN IMUNOGENIK VAKSIN ND GALUR F, LASOTA DAN B₁
PADA AYAM PEDAGING

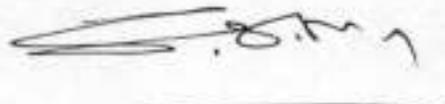
SKRIPSI

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

oleh

I MADE SIBANG

068350795.



DRH. I GDE SUDANA, DTVM

PEMBIMBING UTAMA



DRH. RAHAYU ERNAWATI MSc

PEMBIMBING KEDUA

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
S U R A B A Y A

1985.

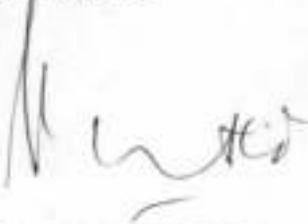
Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh sungguh kami berpendapat bahwa tulisan ini baik scope maupun kwalitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar Dokter Hewan.

Ditetapkan di Surabaya tanggal : 2 November 1985

Panitia penguji

K e t u a

Sekretaris



Anggauta

Anggauta



Anggauta

Anggauta

Anggauta

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kehadapan Idha Sang Hyang Widhi Wase, Tuhan Yang Maha Esa pada saat penyelesaian tulisan ini, penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih yang sedalam-dalamnya dan penghargaan yang tertinggi-tingginya kepada pihak yang telah berjasa dan turut memberi dasar dalam penyusunan tulisan ini. Karena kerelaan serta ketulusan hatinya, semoga Tuhan Yang Maha Esa, Maha Pengasih dan Maha Penyayang dapat memberi imbalannya.

Dalam hal ini, tidak mudah bagi penulis untuk mengungkapkan satu persatu, namun tanpa mengurangi yang lain pada saat ini penulis mencoba mencurahkan perasaan hati nurani dengan segala ketulusan dan kerendahan hati.

Tulisan ini penulis susun guna dapat memenuhi syarat dalam menyelesaikan studi profesi Dokter Hewan. Tulisan ini tersusun atas dasar hasil penelitian yang penulis lakukan di Balai Penyidikan Penyakit Hewan (BPPH) Wilayah VI Denpasar, mulai dari tanggal 14 Desember 1984 sampai 14 Februari 1985. Judul tulisan ini adalah : Perbandingan Imunogenik Vaksin ND Galur F, Lasota dan B₁ pada Ayam Pedaging. Judul ini adalah merupakan bidang Virologi dan Imunologi, karena sesuai dengan minat dari penulis.

Tersusunnya tulisan ini banyak mendapat bantuan dari berbagai pihak, maka penulis tidak lupa menghaturkan banyak banyak terimakasih kepada :

1. Bapak Drh. I Gde Sudana DTVM, Kepala Balai Penyelidikan Penyakit Hewan (BPPH) wilayah VI Denpasar, atas segala bantuan dan bimbingan yang diberikan kepada penulis.
2. Bapak Prof. IGB. Amitaba, Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, atas bimbingan yang diberikan kepada penulis.
3. Drh. Rahayu Ernawati MSc, Dosen pengajar dibagian Virologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, atas bimbingannya yang diberikan kepada penulis.
4. Drh. Ketut Santhya Adi Putra, kepala laboratorium Virologi BPPH wilayah VI Denpasar, atas bimbingan yang diberikan kepada penulis.
5. Semua asisten dibagian Virologi BPPH wilayah VI Denpasar, atas kerja samanya dalam penyelesaian penelitian ini. Dan kepada semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang juga memberikan bantuan dalam menyelesaikan tulisan ini.

Terakhir, karena kurang sempurnanya tulisan ini maka saran yang sifatnya membangun penulis sangat harapkan. Semoga tulisan ini ada manfaatnya di dunia Ilmu Pengetahuan khususnya dibidang kedokteran Hewan.

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vii
BAB I : PENDAHULUAN	1
BAB II : TINJAUAN PUSTAKA	4
BAB III : BAHAN DAN CARA KERJA	13
I. Bahan dan Alat-alat	13
A. Bahan	13
B. Alat-alat	13
C. Hewan Percobaan	13
II. Cara Kerja	13
A. Cara membuat fosfat buffer sa- lin (PBS) pH 7,2	13
B. Cara membuat larutan alsever	14
C. Cara membuat sel darah merah (RBC) ayam 1%	14
D. Cara membuat antigen 4 HA unit ..	15
E. Vaksin	15
F. Uji vaksin	15
1. Uji sterilitas	15
2. Uji kevakuman	16
3. Kandungan virus (virus content)	16
G. Uji hemaglutinasi (HA)	17
H. Cara pengambilan serum	18

I. Uji hambatan hemaglutinasi (HI) ...	18
J. Virus penantang (virus challenge)..	18
K. Rancangan penelitian	20
1. Pemeriksaan antibodi maternal...	20
2. Vaksinasi	21
3. Pengukuran titer antibodi	21
4. Uji tantangan (challenge test)..	21
5. Pemeriksaan patologi anatomis...	22
6. Isolasi dan identifikasi virus..	22
7. Pemeriksaan antibodi setelah tan- tangan	23
L. Perhitungan titer antibodi	23
M. Analisa statistik	23
BAB IV : HASIL PENELITIAN	24
BAB V : PEMBAHASAN DAN KESIMPULAN	27
Pembahasan	27
Kesimpulan	30
BAB VI : RINGKASAN	31
GRAFIK TITER HI ANTIBODI VAKSIN ND GALUR F, LASOTA DAN B ₁	44
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN	54

DAFTAR TABEL

	Halaman
TABEL 1. KANDUNGAN VIRUS (VIRUS CONTENT) DARI VAKSIN ND GALUR F (METODA REED DAN MUENCH)	33
TABEL 2. KANDUNGAN VIRUS (VIRUS CONTENT) DARI VAKSIN ND GALUR LASOTA (METODA REED DAN MUENCH)	34
TABEL 3. KANDUNGAN VIRUS (VIRUS CONTENT) DARI VAKSIN ND GALUR B ₁ (METODA REED DAN MUENCH)	35
TABEL 4. TITER ANTIBODI SEBELUM VAKSINASI PADA ANAK AYAM UMUR 20 HARI	36
TABEL 5. TITER ANTIBODI SATU MINGGU SETELAH VAK SINASI	37
TABEL 6. TITER ANTIBODI DUA MINGGU SETELAH VAK- SINASI	38
TABEL 7. TITER ANTIBODI TIGA MINGGU SETELAH VAK SINASI	39
TABEL 8. ELD ₅₀ ISOLAT VIRUS ND (LOMBOK) YANG DI GUNAKAN SEBAGAI VIRUS TANTANGAN (METO- DA REED DAN MUENCH)	40
TABEL 9. HUBUNGAN LEVEL ANTIBODI DENGAN HASIL TANTANGAN VIRUS ND VIRULEN SETELAH 22 HARI VAKSINASI	41
TABEL 10. PERSENTASE LEVEL HI ANTIBODI PROTEKTIF DITINJAU DARI HASIL PENELITIAN, STAN-	

DAR KESWAN (1978) DAN ALLAN (1974)	42
TABEL 11. TITER ANTIBODI DUA MINGGU SETELAH TAN- TANGAN	43

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
GAMBAR 1. ALAT-ALAT YANG DIGUNAKAN UJI HA DAN HI	45
GAMBAR 2. VAKSIN ND YANG DIGUNAKAN DALAM PENE- LITIAN	45
GAMBAR 3. PENANAMAN VIRUS ND PADA TELUR BEREM- BRYO UMUR 9 HARI, LEWAT RUANG ALANTOIS	46
GAMBAR 4. PANEN VIRUS ND DARI CAIRAN ALANTOIS TELUR YANG DITANAMI VIRUS ND	46
GAMBAR 5. HASIL PEMERIKSAAN UJI HA DARI VIRUS ND	47
GAMBAR 6. PENGAMBILAN DARAH MELALUI VENA AXILLA- RIS PADA AYAM PERCOBAAN	47
GAMBAR 7. VAKSINASI ND PADA AYAM PERCOBAAN MELA- LUI TETES MATA	48
GAMBAR 8. HASIL PEMERIKSAAN UJI HI DARI SERUM A- YAM PERCOBAAN	48
GAMBAR 9. GAMBARAN PATOLOGI ANATOMIS DARI AYAM YANG DITANTANG DENGAN VIRUS ND VIRULEN	49

BAB I

PENDAHULUAN

Pemerintah Indonesia berusaha untuk memenuhi kebutuhan rakyat akan protein hewani dengan jalan mengembangkan berbagai usaha dibidang peternakan. Usaha peternakan yang dikembangkan antara lain: sapi, kambing, domba, babi dan ayam.

Ternak ayam merupakan komoditi ternak yang sangat potensial sebagai sumber protein hewani, karena dapat memberikan hasil yang sangat tinggi dalam waktu yang relatif singkat, disamping itu unggas terutama ayam merupakan salah satu sumber protein hewani bagi peternak-peternak dipedesaan.

Dalam usaha pengembangan peternakan ayam di Indonesia banyak dibantu oleh pemerintah, terutama dalam bentuk kredit, Bimas ayam dan pengaturan undang-undang peternakan ayam.

Ternak ayam senantiasa mendapat ancaman serius dari berbagai penyakit, terutama Newcastle Disease (ND) yang dapat terjadi hampir setiap tahun dengan kematian yang cukup tinggi.

Newcastle Disease (ND) pertama kali dilaporkan oleh Kraneveld tahun 1926 di Jawa. Penyakit dengan tanda-tanda yang sama juga dilaporkan oleh Doyle tahun 1927 di Newcastle Inggris, sehingga sekarang penyakit ini diberi nama Newcastle Disease. Di India, yaitu di Distrik Rannikhet wabah pertama dicatat tahun 1927 oleh Brandly

(1964) sehingga penyakit ini di India lebih dikenal Rannikhet Disease. Sekarang hampir semua negara di Dunia pernah melaporkan terjadi wabah Newcastle Disease. Di Indonesia Newcastle Disease bersifat endemik.

Usaha-usaha pengendalian dengan vaksinasi sudah sejak lama dilakukan, akan tetapi sampai sekarang belum mencapai hasil yang diharapkan, baik dari segi pelaksanaan maupun dari segi tingkat kekebalan yang ditimbulkannya. Hal ini disebabkan oleh berbagai hambatan, seperti masih sedikitnya pengetahuan tentang epidemi penyakit, dana, sarana dan tenaga yang terbatas, kurangnya penyuluhan, dan kesadaran masyarakat, metoda operasional yang belum mantap dan cara pemeliharaan ayam yang masih ekstensif tradisional terutama pada ayam yang bukan ras.

Vaksinasi merupakan satu satunya upaya yang ditempuh untuk mencegah terjadinya kematian ayam dari ancaman ND.

Berdasarkan hasil monitoring dan evaluasi yang dilakukan oleh Direktorat Kesehatan Hewan tahun 1984 di beberapa daerah di Indonesia, ternyata vaksinasi ND pada ayam ras dan bukan ras yang dilakukan secara teratur dapat melindungi 70 sampai 100% populasi ayam dari kematian karena ND. Dengan demikian apabila vaksinasi dapat dilakukan pada seluruh populasi maka akan dapat diselamatkan beberapa miliar rupiah dari hasil peternakan ayam setiap tahun. Karena manfaat yang besar tersebut maka

vaksinasi mutlak diperlukan dan mengingat hasil yang sekarang baru dicapai dengan permasalahan yang dikumpulkan perlu usaha ini diperhatikan, perbaikan-perbaikan, dan peningkatannya sehingga cukup efektif dan efisien.

Berbagai jenis vaksin ND digunakan dilapangan untuk menanggulangi ND pada ayam, seperti vaksin ND mesogenik (Komarov dan Roakin) dan vaksin ND lentogenik (F, Lasota B₁ dan lain-lain). Vaksin ND lentogenik digunakan pada ayam muda (umur 1 hari sampai 1 bulan) sedangkan vaksin ND mesogenik digunakan pada ayam yang lebih tua. Vaksin ND mesogenik dapat memberikan respon imunogenik yang lebih tinggi daripada vaksin ND lentogenik, tetapi dapat mengakibatkan stres yang bersifat sementara pada ayam dewasa dan dapat menimbulkan gejala penyakit pada ayam muda.

Dari masing-masing galur vaksin ND dalam satu jenis memiliki sifat imunogenik yang berbeda, seperti vaksin ND galur Lasota dan B₁ memiliki imunogenik yang lebih tinggi daripada vaksin ND galur V₄ (Westbury et al, 1984) a dan b.

Atas dasar permasalahan ini penulis mencoba membandingkan imunogenik vaksin ND lentogenik, yakni galur F, Lasota dan B₁ pada ayam pedaging umur 21 hari, yang pada tulisan ini akan didiskusikan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Newcastle Disease (ND) merupakan penyakit yang menylar dan bersifat akut atau kronis, menyerang semua jenis unggas, ditandai dengan gejala gangguan pernafasan, pencernaan dan syarat.

Newcastle Disease disebabkan oleh virus golongan paramixo dan tersusun atas asam inti ribo (RNA) berinti tunggal. Virus ini berukuran 80 sampai 112 nm. Virus ND mempunyai sifat mengaglutinasi sel darah merah, karena sel darah merah memiliki reseptor dan virus ND memiliki aglutinin pada selubungnya. Aglutinasi ini dapat terlepas (elusi) akibat dari aktifitas enzim neuraminidase yang dihasilkan oleh virus ND (Ackerman, 1964). Atas dasar sifat ini dapat dipakai uji untuk mengetahui adanya virus ND dan uji untuk mengetahui adanya antibodi dalam serum.

Sel-sel darah merah yang dapat diaglutinasi oleh virus ND, antara lain: sel darah merah ampibi, reptil, dan beberapa sel darah merah unggas lainnya (Lancaster, 1966) sel darah mamalia, manusia, tikus dan marmut (Winslow et al, 1950). Di Indonesia dilakukan penelitian tentang aglutinasi dari virus ND yang diisolasi dari ayam terhadap sel darah merah hewan, ternyata dapat mengaglutinasi sel darah merah dari beberapa jenis hewan seperti: sel

darah merah kerbau, kambing, manusia golongan darah 0, kelinci, marmut, mencit, ayam, angsa, itik, entok, kalkun, merpati dan kakatua (Santhya et al, 1985) meskipun sifat virus ND mengaglutinasi berbagai jenis sel darah merah hewan, sampai saat ini sel darah merah ayam yang digunakan sebagai standar uji aglutinasi (Lancaster et al, 1975).

Virus ND menurut virulensinya digolongkan dalam tiga tipe, yaitu: Velogenik, Mesogenik dan Lentogenik (Hanson et al, 1955). Penggolongan ini didasarkan atas :

1. Mean Death Time (MDT), yaitu rata-rata waktu yang diperlukan oleh virus pada pengenceran tertinggi yang dapat membunuh embryo ayam umur 9 hari. MDT untuk masing-masing tipe adalah 40 sampai 70 jam (velogenik), 44 sampai 70 jam (mesogenik) dan 96 sampai 116 jam (lentogenik).
2. Intracerebral Pathogenicity Index (ICPI) pada ayam umur satu hari: velogenik 2,0 sampai 3,0; mesogenik 0,4 sampai 1,9 dan lentogenik 0,0 sampai 0,4.
3. Intravenous Pathogenicity Index (IVPI) pada ayam umur 6 minggu: velogenik 0,5 sampai 2,8; mesogenik 0,0 sampai 0,5 dan lentogenik 0,0.

Berdasarkan perubahan patologis anatomis, ND digolongkan menjadi empat bentuk (Hanson, 1963), yaitu :

1. Penyakit bentuk Doyle, dilaporkan pertama kali oleh Doyle tahun 1927. Penyakit ini bersifat akut dan mema

tikan ayam semua umur. Lesi yang menonjol adalah perdarahan pada saluran pencernaan. Bentuk penyakit ini disebabkan oleh virus ND tipe velogenik atau disebut juga tipe Asia dan lebih dikenal dengan virus ND tipe viscerotropis velogenik (VVND).

2. Penyakit bentuk Beach, dilaporkan oleh Beach tahun 1944. Penyakit ini adalah bersifat akut dan sering mengakibatkan kematian pada ayam semua umur. Penyakit ini ditandai dengan lesi pada saluran pernafasan dan sistem syaraf. Perdarahan pada saluran pencernaan tidak tampak. Penyakit ini mulanya disebut pneumoencephalitis, disebabkan oleh virus ND neutropik velogenik.
3. Penyakit bentuk Beaudette, dilaporkan oleh Beaudette tahun 1946, ditandai dengan gangguan pernafasan dan kadang-kadang infeksi syaraf. Penyakit ini mengakibatkan 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. Infeksi ringan atau infeksi saluran pernafasan yang subklinis. Penyakit ini disebabkan oleh virus ND tipe lentogenik, juga digunakan sebagai vaksin.

Newcastle Disease dapat ditularkan secara lang-

sung atau tidak langsung. Secara langsung ditularkan melalui kontak dengan ayam yang sakit, bangkai ayam yang mati karena ND dan kontak dengan ayam karier. Secara tidak langsung ditularkan lewat makanan, air minum, angin dan burung liar lainnya.

Penularan ND dapat dicegah dengan menjaga sanitasi lingkungan dan menjadikan ayam kebal terhadap penyakit. Pada ayam yang kebal, apabila terjadi infeksi virus virulen maka ayam tersebut tidak akan sakit dan virus tidak akan diekskresikan keluar tubuh, karena secara tuntas sudah dinetralisir dalam tubuh. Antibodi dapat terjadi secara aktif ataupun pasif dalam tubuh ayam. Antibodi pasif terjadi karena pemindahan serum ayam yang kebal pada ayam yang lain atau dapat pula terjadi karena transfer dari induk pada waktu pembentukan kuning telur, yang disebut dengan antibodi maternal. Antibodi aktif terjadi karena vaksinasi atau infeksi alam yang subklinis. Antibodi aktif dapat mencapai titer yang tinggi dan bertahan lebih lama (Tizard, 1977).

✓ Tindakan vaksinasi pada ayam merupakan cara yang paling efektif untuk mencegah ND (Anonim, 1971; Beard dan Brugh, 1975; Hutchinson, 1975 dan Anonim, 1978).

Antibodi yang terbentuk karena vaksinasi dapat melindungi ayam dari serangan ND. Titer antibodi yang dapat melindungi ayam dari serangan penyakit adalah lebih dari 1:32 apabila diuji dengan mikro teknik (Allan et al, 1978) atau lebih dari 1:320 apabila diuji dengan mak

kroteknik (Beard dan Brugh, 1975). 3

Titer antibodi akibat vaksinasi dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti: respon ayam, mutu vaksin, cara vaksinasi, lingkungan dan tatalaksana pemeliharaan. Kegagalan respon ayam terhadap vaksin terjadi karena adanya antibodi maternal (Benson et al, 1975; Jand et al, 1983; Ernawati dan Ibrahim, 1984 a dan b dan Westbury, 1984 a dan b) gangguan organ-rogan pembentuk antibodi, seperti penyakit yang menyerang bursa Fabricius (Faragher et al, 1974; Gimbron et al, 1976) dan jenis ayam (Peleg et al, 1976). Lingkungan terlalu panas atau terlalu dingin mengakibatkan kegagalan vaksinasi (Tizard, 1977). Suhu penyimpanan vaksin sangat berpengaruh terhadap mutu vaksin, vaksin yang tidak disimpan dalam alat pendingin mengakibatkan titer antibodi yang rendah pada ayam yang divaksin (Soeharsono dan Santhya, 1984). Vaksinasi melalui intramuskuler, tetes mata dan hidung memberikan titer antibodi tinggi dan merata dibandingkan melalui air minum atau semprotan (Benson, 1975; Westbury et al, 1984 a). Ayam yang stres meningkatkan kadar cortison dalam darah sehingga menurunkan kondisi ayam dan akhirnya tidak mau makan maka pengiriman makanan ke bursa Fabricius berkurang sehingga bursa Fabricius mengecil (regresi). Akibatnya ayam menjadi lebih peka terhadap infeksi dan apabila divaksin, respon imunogenik akan berkurang (Mohamed dan Hanson, 1980)

Penurunan titer antibodi maternal pada beberapa ayam

adalah tidak sama. Waktu yang diperlukan untuk penurunan antibodi maternal adalah sangat tergantung dari titer antibodi maternal pada saat ayam itu menetas. Penurunan antibodi maternal sampai titer di bawah $\log_2 1$ adalah 4 sampai 5 minggu (Ronohardjo, 1972) dan ada pula yang mengatakan sampai 3 minggu (Ernawati dan Ibrahim, 1984 a). Antibodi maternal mempengaruhi periode inkubasi dari virus ND virulen dan dapat pula mengurangi jumlah ayam yang sakit dan mati karena ND (Ronohardjo, 1974).

Virus ND lentogenik yang sering digunakan untuk vaksin adalah : galur F, Lasota dan B₁. Masing-masing galur tersebut memiliki sifat-sifat sebagai berikut : galur F MDT : 119 jam, ICPI : 0,25 dan IVPI 0,0. Galur Lasota MDT: 103 jam, ICPI : 0,13 dan IVPI : 0,0. Galur B₁ MDT : 117 jam, ICPI : 0,4 dan IVPI : 0,0 (Alexander dan Allan, 1973). Galur virus ND lapangan di Indonesia yang diuji dengan Agar Gel Presipitasi (AGP) memberikan hasil yang positif dengan virus ND galur Lasota dan Komarov (Ronohardjo, 1976). ✓

Mutu vaksin ND hidup ditentukan oleh kandungan virus dalam vial, level antibodi yang ditimbulkan pada kelompok ayam yang divaksinasi dan kemampuan untuk melindungi ayam yang divaksin terhadap ancaman virus ND yang virulen (Allan et al, 1978). /Potensi vaksin ND lentogenik hidup masih memenuhi standar adalah di atas 10^6 EID₅₀ per 0,1 ml (Ronohardjo et al, 1978). } 2

Kandungan virus dalam vaksin yang diberikan untuk setiap ekor sangat dipengaruhi oleh respon kekebalan yang ditimbulkan. Vaksin ND lentogenik memberikan respon kekebalan yang optimum antara $10^{6,5}$ sampai 10^7 EID₅₀ (Allan et al., 1978).

Pelarut vaksin juga mempengaruhi respon imunogenik dari vaksin ND pada ayam, seperti pelarut casiton 2% memberikan respon imunogenik yang lebih baik dibandingkan dengan pelarut garam faali atau air suling serta air ledeng (Yadin, 1981).

Individu ayam juga memberikan respon imunogenik yang berbeda terhadap vaksinasi. Kecepatan respon terhadap vaksin dipengaruhi oleh adanya sel memori dalam tubuh ayam. Sel memori terbentuk karena dipengaruhi infeksi semasa embryo-foetal, vaksinasi dan infeksi alam yang subklinis (Tizard, 1977).

Antibodi yang terbentuk dapat dideteksi dengan uji hambatan aglutinasi (HI), serum netralisasi (SN) dan Agar Gel Presipitasi (AGP) (Khare et al., 1975).

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

Pada uji hambatan aglutinasi bila menggunakan galur virus ND yang sama dengan antibodi memberikan titer HI lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan galur virus yang berbeda (Allan et al, 1978).

Uji hambatan aglutinasi (HI) dipengaruhi oleh waktu, temperatur inkubasi dan konsentrasi antigen, sedangkan konsentrasi sel darah merah (RBC) pengaruhnya sangat kecil (Brugh et al, 1978). ✓

Potensi vaksin dievaluasi dengan uji tantangan (Challenge test) menggunakan virus ND virulen melalui parenteral atau respirasi (Allan dan Brugh, 1974; Allan et al, 1978). Virus virulen yang digunakan sebagai penantang akan dieksresikan melalui saluran pencernaan dan pernafasan. Lamanya waktu eksresi dari virus virulen ini tergantung dari titer antibodi sebelum ditantang. Titer antibodi 2^3 sampai 2^7 , virus penantang akan dieksresikan dalam waktu yang lebih lama dibandingkan dengan titer antibodi 2^8 sampai 2^{12} . Titer antibodi terjadi peningkatan 2 sampai 3 kali lipat setelah ditantang. Eksresi virus virulen oleh ayam yang di kebalkan perlu dipertimbangkan karena erat hubungannya terhadap kontrol ND (Westbury et al, 1984 c).

Masalah kontrol ND di Indonesia secara umum ditemukan berbagai hambatan, seperti : perlakuan vaksin yang salah, pemeliharaan yang ekstensif tradisional, kurangnya tenaga, dana dan sarana serta rendahnya pengetahuan peternak ten-

tang cara-cara pencegahan penyakit (Sudana dan Masrihanafi, 1980). Hasil yang ingin dicapai di masa mendatang adalah menekan kematian ayam yang serendah-rendahnya akibat ND dan menghilangkan semaksimal mungkin gangguan yang disebabkan oleh ND (Anonim, 1978). Untuk mencapai keberhasilan ini maka banyak usaha yang dilakukan sehubungan dengan penyakit, seperti : monitoring hasil vaksinasi ND dari pilot proyek vaksinasi ND di Bali (Anonim, 1979 b), evaluasi hasil pemberantasan ND di Lombok (Soeharsoron dan Santhya, 1984) dan penelitian kemungkinan aplikasi vaksin ND melalui makanan pada ayam kampung (Anonim, 1979 a), pengujian potensi vaksin ND yang beredar di pasaran (Ronohardjo et al, 1978).

BAB III

BAHAN DAN CARA KERJA

I. Bahan dan Alat-alat

A. Bahan

Vaksin ND galur F, Lasota dan B₁; Isolat virus ND virulen (Lombok); phosphat buffer salin (PBS) pH 7,2; eritrosit (RBC) ayam 1%; alkohol 70%; larutan alsever; antigen (galur F, Lasota, dan B₁) 4 HA unit; serum darah ayam percobaan; aquades; blood agar dan kapas.

B. Alat-alat

Microplate bentuk U; pipet dropper 0,025 ml dan 0,05 ml; microdiluter electric 0,025 ml; venoject; handle; centrifuger; centrifuger microhaematocrit; tabung 2 ml dan 5 ml; glass beaker; rak tabung; microshaker; kaca pembaca (mirror reading); electrocitytester coil dan spuit 1 ml dan 5 ml.

C. Hewan Percobaan

Anak ayam umur 1 hari (DOC) jenis CP 707; telur ayam berembryo umur 9 sampai 11 hari.

II. Cara Kerja

A. Cara membuat phosphat buffer salin (PBS) pH 7,2

Phosphat buffer salin (PBS) pH 7,2 dibuat dengan formula sebagai berikut : 0,800 gram sodiumchlorida (Na Cl); 0,115 gram sodium hidrophosphat (Na HPO₄); 0,020 gram potasium chlorida (KCl); dila-

rutkan dalam aquades sehingga volume akhirnya 100 ml. Larutan ini disterilkan dalam autoclave tekanan 15 lb selama 15 menit. Larutan tersebut didinginkan pada suhu kamar kemudian baru disimpan pada suhu 4°C sampai larutan ini dipakai.

B. Cara membuat larutan alsever

Larutan alsever dibuat dengan susunan sebagai berikut: 2,050 gram D-glukosa (dextrose); 0,800 gram sodium sitrat ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$); 0,420 gram sodium chlorida (Na Cl); 0,055 gram asam sitrat ($\text{H}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Larutkan dalam aquades sehingga volume akhirnya 100 ml. Larutan tersebut disterilkan dalam autoclave dengan tekanan 15 lb selama 15 menit. Biarkan pada suhu kamar, setelah itu disimpan pada suhu 4°C sampai larutan ini dipakai.

C. Cara membuat sel darah merah (RBC) ayam 1%

Darah ayam donor diambil sebanyak 2 ml melalui vena axillaris dengan vacuum tainer yang berisi larutan alsever. Darah dicuci dengan PBS sambil dipusingkan dengan kecepatan 2000 rpm selama 15 menit. Supernatannya dibuang selanjutnya dilakukan pencucian dengan PBS sampai 3 kali dengan cara yang sama. Setelah pencucian terakhir kadar sel darah merah ditentukan dengan microhaematocrit. Sel darah merah yang sudah diketahui kadarnya kemudian dibuat sel darah merah menjadi 1%. Sel darah merah se-

belum dipakai dapat disimpan pada suhu 4°C selama 3 hari.

D. Cara membuat antigen 4 HA unit

Antigen 4 HA unit dibuat menurut cara Allan et al, 1978. Cairan alantois telur ayam berembryo yang di suntik dengan vaksin ND galur F, Lasota dan B₁ diuji titer antigennya. Cairan alantois yang sudah diketahui titer antigennya diencerkan dengan PBS sehingga titer menjadi 4 HA unit.

E. Vaksin

Vaksin ND galur F sebanyak 8 ampul diperoleh dari Dinas Peternakan Propinsi Daerah Tingkat I Bali. Vaksin tersebut memiliki tanding 158 F, waktu kadaluarsa April 1985, isi dalam 1 ampul 100 dosis dan kandungan virus 10^7 EID₅₀ per 0,1 ml. Vaksin ND galur Lasota dan B₁ masing-masing 4 vial, diperoleh dari Balai Penyidikan Penyakit Hewan (BPPH) wilayah VI Denpasar. Galur Lasota mempunyai tanding 169, waktu kadaluarsa 20 April 1985, kandungan virus 10^7 EID₅₀ per 0,1 ml dan 1 vial mengandung 500 dosis. Galur B₁ mempunyai tanding 266, waktu kadaluarsa 15 Desember 1985, kandungan virus 10^7 EID₅₀ per 0,1 ml dan 1 vial mengandung 500 dosis.

F. Uji vaksin

1. Uji sterilitas

Vaksin yang sudah diencerkan dengan PBS dibiak-

kan pada blood agar (10,0 gram triptose 47; 3,0 gram lab-lamco powder 29; 5,0 gram sodium chlorida (Na Cl); 12,0 gram AgNO_3 ; 7% darah domba dan aquades sampai volumenya 1 liter), pH 7,2. Biakkan diinkubasi pada suhu 37°C dan setelah 24 jam inkubasi media diperiksa.

2. Uji kevakuman

Kevakuman dari ampul dan vial diuji dengan elec trotester coil dalam ruang gelap. Apabila ampul atau vial vacum maka ultra violet berwarna ungu akan terpancar kedalamnya.

3. Kandungan virus (Virus Content)

Vaksin dari masing-masing galur dipool dan dien cerkan dengan PBS pH 7,2. Pengenceran dilakukan sesuai dengan prosedur dari pabriknya. Galur F diencerkan dengan 10 ml PBS, Lasota dan B₁ masing-masing 50 ml. Vaksin yang sudah diencerkan, kemudian dibuat secara seri kelipatan 10 mulai pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-9} , yaitu dengan me- ngambil 0,1 ml vaksin tersebut dan dimasukkan dalam tabung pertama yang sudah berisi 0,9 ml PBS. Dari tabung pertama diambil 0,1 ml dimasukk kan dalam tabung kedua sampai tabung kesembilan. Pengenceran 10^{-5} sampai 10^{-9} disuntikkan 0,1 ml pada tiap butir telur ayam berembryo umur 9 ha- ri pada ruang alantois. Masing-masing pengencer an disuntikkan pada 5 butir telur. Telur diinku

basikan pada suhu 37°C dan diamati setiap hari. Embryo yang mati kurang dari 24 jam dibuang karena kematian embryo bukan oleh virus ND. Cairan alantois dipanen setelah kematian embryo lebih dari 24 jam dan selanjutnya dilakukan uji-aglutinasi (HA) menurut cara Allan et al, 1978. Virus content dihitung menggunakan cara Reed dan Muench (1938).

G. Uji haemaglutinasi (HA) microtiter alpha prosedur dari Allan et al, 1978

Virus ND mempunyai sifat mengaglutinasi sel darah merah (RBC) ayam, karena memiliki aglutinin pada selubungnya. Sifat virus ini dipakai sebagai dasar untuk isolasi dan menentukan titer virus ND. Adapun caranya adalah sebagai berikut :

1. Setiap lubang microplate mulai lubang 1 sampai lubang 12 diisi dengan PBS sebanyak 0,025 ml dengan menggunakan microdroper.
2. Pada lubang 1 diisi dengan 0,025 ml virus yang akan diuji.
3. Buat pengenceran virus tersebut dari lubang satu sampai lubang 11 dengan melipat ganda, lubang 12 sebagai kontrol sel.
4. Tambahkan 0,025 ml PBS pada semua lubang sehingga volumenya menjadi 0,050 ml.
5. Tambahkan 0,050 ml sel darah merah (RBC) ayam 1% pada semua lubang kemudian diayak dengan mi-

cro shaker selama 30 detik.

6. Biarkan microplate diatas kaca pembaca (mirror reading) 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).

H. Cara pengambilan serum

Darah diambil melalui vena axillaris menggunakan venojack dan vacum tainer. Darah dibiarkan pada temperatur kamar. Serum sebelum dipakai disimpan pada suhu 4°C. Serum yang tidak keluar dipusingkan dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit.

I. Uji hambatan haemaglutinasi (HI) beta prosedur cara Allan et al, 1978

Antibodi yang homolog dengan virus ND akan menghambat kerja virus ND untuk mengaglutinasi sel darah merah ayam. Atas dasar kerja ini uji HI dipakai untuk identifikasi virus dan mengetahui titer antibodi dalam serum. Adapun prosedur pengerjaan HI adalah sebagai berikut :

1. Dua belas lubang microplate diisi dengan 0,025 ml PBS dengan memakai microdroper.
2. Lubang 1 ditambah 0,025 ml serum yang akan diuji.
3. Serum dengan PBS pada lubang 1 dicampur dengan

microdiluter electric 0,025 ml, kemudian dipindahkan kelubang berikutnya sampai lubang 11.

4. Lubang 1 sampai lubang 11 ditambah 0,025 ml antigen 4 HA unit, sedangkan lubang 12 ditambah 0,025 ml PBS sebagai kontrol sel. Biarkan selama 15 menit sebelum ditambah sel darah merah.
5. Tambahkan 0,050 ml sel darah merah ayam 1% pada semua lubang dengan menggunakan microdroper, kemudian diayak dengan micro shaker selama 30 detik.
6. Pembacaan dilakukan pada 15 menit pertama sampai 60 menit. Pembacaan ini dilakukan diatas kaca pembaca pada temperatur kamar. Pengenceran serum yang tertinggi yang mampu menghambat aglutinasi adalah sebagai endpoint (titer antibodi).

J. Virus penantang (Virus Challenge)

Virus penantang digunakan isolat lapangan virus ND dari ayam berasal dari Lombok. Sebelum dipakai sebagai virus penantang dihitung dosis letal minimal 50% (ELD_{50}) pada telur bertunas umur 9 hari. Isolat virus ND dipusingkan dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit. Titer virus diuji dengan uji HA sebelum dilakukan pengenceran. Virus diencerkan secara seri kelipatan 10 mulai dari pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-9} . Pengenceran 10^{-5} sampai 10^{-9} disuntikkan pada telur berembryo umur 9 hari. Dosis yang

disuntikkan adalah 0,1 ml pada ruang alantois. Jumlah telur yang disuntik dengan masing-masing penceceran adalah 5 butir. Untuk menghindari kontaminasi pada isolat ini ditambah penicillin G 500 IU dan streptomycine 500 miligram per ml isolat virus, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 30 menit. Setelah periode inkubasi baru disuntikkan pada telur yang sudah disiapkan. Telur diinkubasikan pada suhu 37°C kemudian telur diperiksa setiap hari. Embryo yang mati kurang dari 24 jam dibuang karena dianggap kematian embryo bukan oleh virus ND. Embryo yang mati lebih dari 24 jam dikumpulkan dan cairan alantoisnya dipanen dan dilakukan uji HA. ELD₅₀ dihitung dengan menggunakan metoda Reed dan Muench (1938).

K. Rancangan Penelitian

1. Pemeriksaan antibodi maternal

Duaratus ekor anak ayam pedaging umur 1 hari (DOC) jenis CP 707 (Charun Phokphan) diperoleh dari San Poultry Denpasar, tanggal 14 Desember 1984. Anak ayam dipelihara di Balai Penyidikan Penyakit Hewan wilayah VI Denpasar. Pada umur 10 hari serum diambil untuk deteksi antibodi maternal dengan uji HI microtiter. Setelah umur 10 dari 200 ekor anak ayam diambil secara acak 120 ekor dan dibagi menjadi 4 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 30 ekor. Pada umur 20 hari

masing-masing kelompok diambil serumnya untuk me
ngetahui penurunan antibodi maternal.

2. Vaksinasi

Vaksinasi dilakukan pada umur 21 hari. Dosis vak
sin adalah 0,1 ml. (10^6 sampai 10^7 ELD₅₀ lewat
tetes mata. Perlakuan vaksinasi pada masing ke -
lompok adalah sebagai berikut: kelompok I divak
sin dengan vaksin ND galur F; kelompok II divak
sin dengan vaksin ND galur Lasota; Kelompok III
divaksin dengan vaksin ND galur B₁ dan kelompok
IV tanpa divaksin atau sebagai kontrol.

3. Pengukuran titer antibodi

Antibodi akibat vaksinasi diukur setiap minggu.
Penghitungan antibodi dilakukan dengan uji HI mi
crotiter cara Allan et al, 1978 dengan mengguna
kan antigen yang homolog dengan vaksin yang digu
nakan untuk vaksinasi.

4. Uji tantangan (Challenge test)

Anak ayam umur 43 hari atau 22 hari setelah vak
sinasi ditantang dengan menggunakan isolat virus
ND virulen dari ayam berasal dari Lombok dengan
dosis 0,1 ml. ($10^{6.56}$ ELD₅₀) untuk setiap ekor a
yam melalui intramuskuler (Allan et al, 1978).

Jumlah masing-masing kelompok yang ditantang ada
lah sebagai berikut: kelompok I, II dan III ma
sing-masing 30 ekor, sedangkan kelompok IV ada

lah 10 ekor. Pengamatan hasil tantangan dilakukan 14 hari yang dimulai dari saat ditantang.

5. Pemeriksaan patologis anatomis

Ayam yang mati selama waktu tantangan dilakukan pemeriksaan patologis anatomis, dengan membedah bangkai kemudian memperhatikan perubahan yang terjadi pada organ-organ tubuh. Organ-organ yang mengalami perubahan diambil untuk isolasi dan identifikasi virus. Organ-organ tersebut dimasukkan dalam gliserin phosphat buffer. Sebelum dilakukan isolasi disimpan dalam alat pendingin pada suhu 20°C di bawah 0°C .

6. Isolasi dan identifikasi virus

Organ trachea, paru-paru, otak dan usus digerus kemudian dipusingkan dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil dan untuk mencegah kontaminasi kuman, pada tiap ml. supernatan ditambah 500 IU penisilin G dan 500 miligram streptomysine. Supernatan yang sudah ditambah antibiotik diinkubasikan pada suhu 37°C selama 30 menit. Setelah masa inkubasi baru supernatan tersebut disuntikkan 0,1 ml. pada telur ayam berembryo umur 9 hari pada ruang alantois. Masing-masing material disuntukkan pada tiga butir telur ayam berembryo, kemudian telur diinkubasikan pada suhu 37°C . Telur diperiksa setiap hari

embryo yang mati kurang dari 24 jam dibuang karena kematian embryo bukan oleh virus ND. Cairan alantois dipanen setelah kematian embryo lebih dari 24 jam. Selanjutnya diuji dengan uji HA. Identifikasi virus dilakukan dengan uji HI dengan HI menggunakan serum yang positif mengandung antibodi terhadap virus ND.

7. Pemeriksaan antibodi setelah tantangan

Pemeriksaan antibodi setelah tantangan dilakukan hari ke 15 setelah tantangan dengan menggunakan uji HI microtiter cara Allan et al, 1978

L. Perhitungan titer antibodi

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

M. Analisa statistik

Rancangan penelitian dilakukan dengan rancangan acak lengkap (RAL). Analisa data dilakukan dengan analisa varian (ANOVA). Untuk membandingkan GMT Hi dari masing masing kelompok digunakan multiple range test dari Duncan (seperti terlampir).

BAB IV

HASIL PENELITIAN

A. Uji vaksin

Vaksin ND galur F, Lasota dan B₁ yang digunakan untuk vaksinasi ayam terlebih dahulu diuji kualitasnya. Dari hasil uji ternyata vaksin tersebut mempunyai kevakuman, sterilitas dan virus content yang memenuhi standar virus content dari masing-masing galur adalah, galur F: $10^{6,62}$; Lasota : $10^{7,16}$; dan B₁ : $10^{7,38}$ per 0,1 ml (tabel 1, 2, dan 3).

B. Titer antibodi sebelum vaksinasi

Pemeriksaan antibodi maternal pada anak ayam umur 10 hari didapatkan GMT HI $\log_2 3,51$. Antibodi maternal pada umur 20 hari adalah sebagai berikut : kelompok I $\log_2 0$; kelompok II $\log_2 1,30$; kelompok III $\log_2 0,70$ dan kelompok IV $\log_2 0,40$ (tabel 4).

C. Titer antibodi setelah vaksinasi

Geometrik Mean Titer (GMT) HI hasil vaksinasi yang diukur setiap minggu selama 3 minggu ditunjukkan pada tabel 5, 6 dan 7. Pada minggu pertama GMT HI dari kelompok I $\log_2 3,60$; kelompok II $\log_2 4,83$; kelompok III $\log_2 3,86$ dan kelompok IV $\log_2 0,20$. Pada minggu kedua GMT HI dari masing-masing kelompok adalah : kelompok I $\log 5,97$; kelompok II $\log 4,73$; kelompok III $\log_2 4,07$ dan kelompok IV $\log_2 0,0$. Pada minggu ketiga GMT HI dari masing-masing kelompok adalah : kelompok I

$\log_2 4,10$; kelompok II $\log_2 4,90$; kelompok III $\log_2 4,13$ dan kelompok IV $\log_2 0,0$

D. Virus tantangan (Virus Challenge)

Virus ND yang digunakan untuk uji tantangan mempunyai dosis letal minimal 50% (ELD_{50}) pada embryo ayam pada umur 8 hari adalah $10^{6,56} ELD_{50}$ per 0,1 ml (tabel 8).

E. Hasil tantangan (challenge)

Jumlah ayam yang ditantang pada kelompok I, II dan III masing-masing 30 ekor, sedangkan kelompok IV adalah 10 ekor. Ayam-ayam mulai tampak sakit pada hari ketiga setelah ditantang, gejala klinis yang nampak adalah: tidak mau makan, lesu ngorok, bersin dan keluar leleran dari hidung, menceret berwarna putih kehijauan. Kematian terjadi hari kelima setelah tantangan. Perubahan patologi anatomis yang nampak adalah bercak-bercak perdarahan pada saluran pencernaan dimulai dari proventriculus, usus halus dan sekaton sil. Sesudah 14 hari pengamatan tantangan jumlah ayam yang mati pada masing-masing kelompok adalah kelompok I 3 ekor (10%), kelompok II 1 ekor (3,33%), kelompok III tidak ada (0%) dan kelompok IV 8 ekor (80%) (tabel 9).

F. Isolasi dan identifikasi virus

Dari organ-organ yang mengalami perubahan patologi yang jelas digerus kemudian diisolasi pada telur berembryo umur 9 hari. Uji HA virus yang dipanen dari cairan alantois telur yang ditanami virus titernya a-

dalah 2^6 per 0,025 ml. Identifikasi virus dengan serum yang positif mengandung antibodi terhadap virus adalah positif.

G. Titer antibodi setelah tantangan

Titer antibodi pada ayam yang ditantang setelah hari ke 15 tantangan adalah : kelompok I $\log_2 8,37$; kelompok II $\log_2 7,34$; kelompok III $\log_2 7,03$ dan kelompok IV $\log_2 7,50$ (tabel 10).

BAB V

PEMBAHASAN DAN KESIMPULAN

Pembahasan

Hasil pemeriksaan antibodi maternal dari anak ayam dilakukan dua kali, yaitu umur 10 hari dan 20 hari. Geometrik Mean Titer (GMT) HI antibodi maternal pada anak ayam umur 10 hari adalah $\log_2 3,51$; sedangkan pada anak ayam umur 20 hari antibodi maternal turun sampai dibawah $\log_2 1$. Dalam jangka waktu yang sama, penurunan antibodi maternal jumlahnya adalah sama (Ronohardjo, 1972) seperti dikemukakan oleh Jand *et al* (1983) ayam umur sehari yang memiliki antibodi maternal $\log_2 9$ sampai $\log_2 10$ dalam waktu 14 hari antibodi maternal tinggal $\log_2 5$ sampai $\log_2 6$ atau turun $\log_2 3$ sampai $\log_2 4$. Pada hasil penelitian yang penulis lakukan dalam waktu 10 hari berkurang $\log_2 3$, yakni dari umur 10 hari ($\log_2 3,51$) sampai umur 20 hari (kurang dari $\log_2 1$).

Perbandingan imunogenik dari vaksin ND galur F, Lasota dan B₁ pada ayam pedaging yang divaksinasi pada umur 21 hari, yang diberikan lewat tetes mata nampak pada minggu pertama vaksin ND galur Lasota mempunyai GMT HI lebih tinggi daripada vaksin ND galur F dan B₁ ($P < 0,01$). Sedangkan GMT HI vaksin ND galur F dan B₁ tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Pada minggu kedua GMT HI vaksin ND galur F tampak lebih tinggi daripada vaksin ND galur Lasota ($P < 0,05$), sedangkan terhadap vaksin ND galur B₁ vak

sin ND galur F lebih tinggi ($P < 0,01$). Vaksin ND galur Lasota dan B₁ tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Minggu ketiga GMT HI dari vaksin ND galur Lasota lebih tinggi dari pada vaksin ND galur F dan B₁ ($P < 0,05$). Vaksin ND galur F dan B₁ tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Perbandingan imunogenik dari beberapa galur vaksin ND juga diselidiki oleh Westbury *et al.*, 1984 a dan b yakni menggunakan vaksin ND galur Lasota, B₁ dan V₄, dinyatakan bahwa vaksin ND galur Lasota dan B₁ mempunyai respon imunogenik yang lebih tinggi daripada vaksin ND galur V₄, apabila diberikan lewat tetes mata dan diuji setelah 21 hari vaksinasi.

Titer antibodi hasil vaksinasi dari penelitian yang penulis lakukan setelah 21 vaksinasi didapatkan hasil bahwa pada kelompok yang divaksin dengan vaksin ND galur F didapat 3 ekor ayam yang memiliki titer antibodi $\log_2 0$, kelompok ayam yang divaksin dengan vaksin ND galur Lasota didapatkan satu ekor ayam yang memiliki titer antibodi $\log_2 0$ dan kelompok ayam yang divaksin dengan vaksin ND galur B₁ minimal memiliki titer antibodi $\log_2 3$. Sedangkan kelompok ayam kontrol semuanya memiliki titer antibodi $\log_2 0$. Ini menunjukkan bahwa pemeliharaan ayam dalam kandang penelitian bebas infeksi dari virus ND.

Hasil tantangan dengan virus ND virulen isolat dari ayam yang berasal dari Lombok adalah sebagai berikut : kelompok I, mati 3 ekor dari 30 ekor ayam yang ditantang (10%); kelompok II, mati 1 ekor dari 30 ekor ayam yang

ditantang (3,33%); kelompok III tidak ada yang mati (0,0%); dan kelompok IV mati 8 ekor dari 10 ekor ayam yang ditantang (80%). Dari hasil penelitian ini dibandingkan dengan standar level antibodi yang protektif menurut Anonim (1978) dan Allan dan Brugh, 1974 tampak galur Lasota memiliki respon imunogenik yang lebih tinggi daripada vaksin ND galur F dan B₁, karena memberikan respon yang cepat dan stabil dalam waktu yang lama serta titer antibodi yang ditimbulkan cukup tinggi.

Hasil tantangan yang penulis lakukan ternyata titer antibodi $\log_2 3$ yang diuji dengan microtiknik menurut cara Allan et al, 1978 adalah protektif, sedangkan hasil tantangan yang dilaporkan oleh Allan et al, 1978 kelompok ayam yang memiliki titer antibodi $\log_2 3$ terjadi kematian 10%. Jadi jelas dari hasil penelitian ini ada perbedaan titer antibodi yang protektif dibandingkan dengan yang dilaporkan oleh Allan dan Brugh, 1974, yakni diatas $\log_2 5$, sedangkan titer antibodi yang protektif dilaporkan oleh Keswan (1978) adalah $\log_2 6$ keatas. Persentase titer antibodi protektif dari hasil penelitian yang diukur berdasarkan masing-masing standar tersebut terlihat pada tabel 10.

Perbedaan ini disebabkan karena perbedaan kondisi tantangan, yakni kalau menurut Keswan, 1978 kondisi tantangan yang dilakukan adalah kondisi lapangan, sehingga virulensi dan kandungan virus berbeda dengan kondisi penelitian yang dilakukan di laboratorium. Terhadap hasil

penelitian yang dilaporkan oleh Allan dan Brugh, 1974 meskipun sama dalam kondisi laboratorium maka galur, virulensi dan dosis (kandungan) virus berbeda.

Antibodi yang terbentuk 14 hari setelah tantangan titer HI tampak tinggi, yaitu rata-rata dua kali lipat daripada sebelum ditantang. Hasil yang sama juga dilaporkan oleh Westbury et al, 1984 c, ini terjadi karena virus yang dipakai untuk menantang adalah virus-virulen dan dalam tubuh ayam terdapat antibodi sehingga ayam tidak mati waktu ditantang, karena sifat antigenik dari virus tersebut sangat tinggi maka terbentuklah antibodi yang tinggi.

Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang penulis lakukan, maka dapat disimpulkan bahwa vaksin ND galur Lasota secara statistik memberikan respon imunogenik yang lebih tinggi daripada vaksin ND galur F dan B₁ apabila diberikan lewat tetes mata pada hari ke 21 setelah vaksinasi.

Titer HI yang sama memberikan tingkat perlindungan yang sama terhadap tantangan virus virulen.

BAB VI

RINGKASAN

Respon imunogenik dari vaksin ND galur F, Lasota dan B₁ dipelajari pada ayam pedaging umur 21 hari yang diberikan lewat tetes mata.

Antibodi diuji secara serologi dengan memakai uji HI microtiter. Pemeriksaan antibodi dilakukan setiap minggu setelah vaksinasi selama tiga minggu berturut-turut.

Perbandingan imunogenik dari masing-masing galur vaksin ND (F, Lasota dan B₁) pada minggu pertama tampak vaksin ND galur Lasota lebih tinggi dari pada vaksin ND galur F dan B₁ ($P < 0,01$). Pada minggu kedua vaksin ND galur F lebih tinggi daripada vaksin ND galur Lasota ($P < 0,05$) sedangkan terhadap vaksin ND galur B₁, vaksin ND galur F lebih tinggi ($P < 0,01$). Minggu ketiga setelah vaksinasi galur Lasota lebih tinggi daripada vaksin ND galur F dan B₁ ($P < 0,05$).

Uji tantangan pada masing-masing kelompok yang dilakukan 22 hari setelah vaksinasi didapatkan hasil sebagai berikut : kelompok ayam yang divaksin dengan vaksin ND galur F terjadi kematian 10%; kelompok ayam yang divaksin dengan vaksin ND galur Lasota terjadi kematian 3,33%; kelompok ayam yang divaksin dengan vaksin ND galur B₁ tidak terjadi kematian (0,0%) dan kelompok ayam kontrol terjadi kematian 80%.

Pada titer antibodi yang sama dari masing-masing kelompok memberikan tingkat perlindungan yang sama terhadap tantangan virus virulen.

Titer antibodi dua minggu setelah tantangan tampak lebih tinggi, yakni rata-rata dua kali lipat daripada titer sebelum ditantang.

TABEL 1. KANDUNGAN VIRUS (VIRUS CONTENT) DARI VAKSIN ND
GALUR F (METODA REEN DAN MUENCH, 1938)

Pengencer- an	Hasil individu		Hasil komulatif			Persentase
	HA ⁺	HA ⁻	HA ⁺	HA ⁻	Ratio	
10 ⁻⁵	4	1	11	1	11/12	91,70
10 ⁻⁶	4	1	7	2	7/9	77,80
10 ⁻⁷	1	4	3	6	3/9	33,30
10 ⁻⁸	1	4	2	10	2/12	16,70
10 ⁻⁹	1	4	1	14	1/15	6,70

$$\begin{aligned}
 PD &= \frac{\% \text{ HA}^+ \text{ diatas } 50\% - 50\%}{\% \text{ HA}^+ \text{ diatas } 50\% - \text{HA}^+ \text{ dibawah } 50\%} \\
 &= \frac{77,80 - 50}{77,80 - 33,30} = \frac{27,80}{44,50} = 0,62
 \end{aligned}$$

Pengenceran 50% endpoint = 10^{-6.62}

Titer = 10^{6,62} per 0,1 ml.

Titer dalam 1 ml. adalah : 10^{7,62}.

TABEL 2. KANDUNGAN VIRUS (VIRUS CONTENT) DARI VAKSIN ND
GALUR LASOTA (METODA REED DAN MUENCH, 1938)

Pengenceran	Hasil individu		Hasil komulatif			Persentase
	HA ⁺	HA ⁻	HA ⁺	HA ⁻	Ratio	
10 ⁻⁵	4	1	13	1	13/14	92,85
10 ⁻⁶	4	1	9	2	9/11	81,81
10 ⁻⁷	3	2	5	4	5/9	55,55
10 ⁻⁸	1	4	2	8	2/10	20,00
10 ⁻⁹	1	4	1	12	1/13	7,69

$$\begin{aligned}
 PD &= \frac{\% HA^+ \text{ diatas } 50\% - 50\%}{\% HA^+ \text{ diatas } 50\% - \% HA^+ \text{ dibawah } 50\%} \\
 &= \frac{55,55 - 50}{55,55 - 20} = \frac{5,55}{35,55} = 0,16
 \end{aligned}$$

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

Titer = 10^{7,16} per 0,1 ml.

Titer dalam 1 ml. adalah : 10^{8,16}

TABEL 3. KANDUNGAN VIRUS (VIRUS CONTENT) DARI VAKSIN ND
GALUR B₁ (METODA REED DAN MUENCH, 1938)

Pengenceran	Hasil individu		Hasil komulatif			Persentase
	HA ⁺	HA ⁻	HA ⁺	HA ⁻	Ratio	
10 ⁻⁵	4	1	14	1	14/15	93,33
10 ⁻⁶	4	1	10	2	10/12	83,33
10 ⁻⁷	4	1	6	3	6/9	66,66
10 ⁻⁸	2	3	2	6	2/8	25,00
10 ⁻⁹	0	5	0	11	0/11	0,00

$$\begin{aligned}
 PD &= \frac{\%HA^+ \text{ diatas } 50\% - 50\%}{\%HA^+ \text{ diatas } 50\% - \%HA^+ \text{ dibawah } 50\%} \\
 &= \frac{66,66 - 50}{66,66 - 25} = \frac{16,66}{41,66} = 0,38
 \end{aligned}$$

Pengenceran 50% endpoint = 10^{-7,38}

Titer = 10^{7,38} per 0,1 ml.

Titer dalam 1 ml. adalah : 10^{8,38}.

TABEL 4. TITER ANTIBODI SEBELUM VAKSINASI PADA ANAK AYAM
UMUR 20 HARI

Kelompok	titer HI		Frekuensi	GMT \log_2	Notasi statistik	
	0	\log_2 3			P=0,05	P = 0,01
II	0	17	17	1,30	A	A
	3	13	13			
III	0	23	23	0,70	A	A
	3	7	7			
IV	0	26	26	0,40	A	A
	3	4	4			
I	0	30	30	0,00	A	A

TABEL 5. TITER ANTIBODI SATU MINGGU SETELAH VAKSINASI

Kelompok	Titer HI \log_2	Frekuensi	GMT \log_2	Notasi statistik	
				P = 0,05	P = 0,01
II	0	1	4,83	A	A
	3	2			
	4	6			
	5	14			
	6	4			
	7	3			
III	0	3	3,86	8	8
	3	4			
	4	15			
	5	4			
	6	4			
I	0	4	3,60	8	8
	3	7			
	4	9			
	5	9			
	6	1			
IV	0	28	0,20	C	B
	3	2			

Keterangan

A lebih besar dari B dan C.

B lebih besar dari C.

TABEL 6. TITER ANTIBODI DUA MINGGU SETELAH VAKSINASI

Kelompok	Titer HI \log_2	Frekuensi	GMT \log_2	Notasi statistik		
				P = 0,05	P = 0,01	
I	0	3	5,97	A	A	
	4	4				
	5	4				Divaksin dengan vaksin ND galur P
	6	2				
	7	5				
	8	12				
II	0	1	4,73	B	A	
	3	7				
	4	7				
	5	8				Divaksin dengan vaksin ND galur Lasota
	6	1				
	7	3				
	8	1				
	9	2				
III	0	3	4,07	B	AB	
	3	8				
	4	8				
	5	6				Divaksin dengan vaksin ND galur B ₁
	6	2				
	7	1				
	8	1				
	9	1				
IV	0	30	0,00	C	C	
			Kontrol			

TABEL 7. TITER ANTIBODI TIGA MINGGU SETELAH VAKSINASI

Kelompok	Titer HI	Frekuensi	GMT \log_2	Notasi statistik	
	\log_2			P = 0,05	P = 0,01
II	0	1	4,90	A	A
	3	4			
	4	4			
	5	13			
	6	5			
	8	3			
III	3	11	4,13	B	A
	4	8			
	5	7			
I	0	3	4,10	B	A
	3	5			
	4	8			
	5	8			
	6	6			
IV	0	30	0,00	C	C
			Kontrol		

TABEL 8. ELD₅₀ ISOLAT VIRUS ND (LOMBOK) YANG DIGUNAKAN
SEBAGAI VIRUS TANTANGAN (METODA REED DAN MUENCH)

Pengenceran	Hasil individu		Hasil komulatif			Persentase
	Mati	Hidup	Mati	hidup	Ratio	
10 ⁻⁵	5	0	13	0	13/13	100
10 ⁻⁶	5	0	8	0	8/8	100
10 ⁻⁷	2	3	3	3	3/6	50
10 ⁻⁸	0	5	1	8	1/9	11,11
10 ⁻⁹	1	4	1	12	1/13	7,69

$$\begin{aligned}
 PD &= \frac{\% \text{ kematian diatas } 50\% - 50\%}{\% \text{ kematian diatas } 50\% - \% \text{ kematian dibawah } 50\%} \\
 &= \frac{100 - 50}{100 - 11,11} = \frac{50}{88,89} = 0,56
 \end{aligned}$$

Pengenceran 50% endpoint = 10^{-6,56}

ELD₅₀ = 10^{6,56} per 0,1 ml.

Titer dalam 1 ml. adalah : 10^{7,56}

TABEL 9. HUBUNGAN LEVEL ANTIBODI DENGAN HASIL TANTANGAN
VIRUS ND VIRULEN SETELAH 22 HARI VAKSINASI

Kelompok	Titer HI \log_2	Frekuensi	Jumlah ayam diantang	mati	hidup	% kema- tian	
I	0	3	30	3	27	10,00	
	3	5					
	4	8					Divaksin dengan vaksin ND galur F
	5	8					
	6	6					
II	0	1	30	1	29	3,33	
	3	4					
	4	4					Divaksin dengan vaksin ND galur Lasota
	5	13					
	6	5					
III	3	11	30	0	30	0,00	
	4	8					Divaksin dengan vaksin ND galur B ₁
	5	7					
	6	4					
IV	0	30	10	8	2	80,00	
			Kontrol				

TABEL 10. PERSENTASE LEVEL HI ANTIBODI PROTEKTIF DITINJAU
DARI HASIL PENELITIAN, STANDAR KESWAN (1978)
DAN ALLAN (1974)

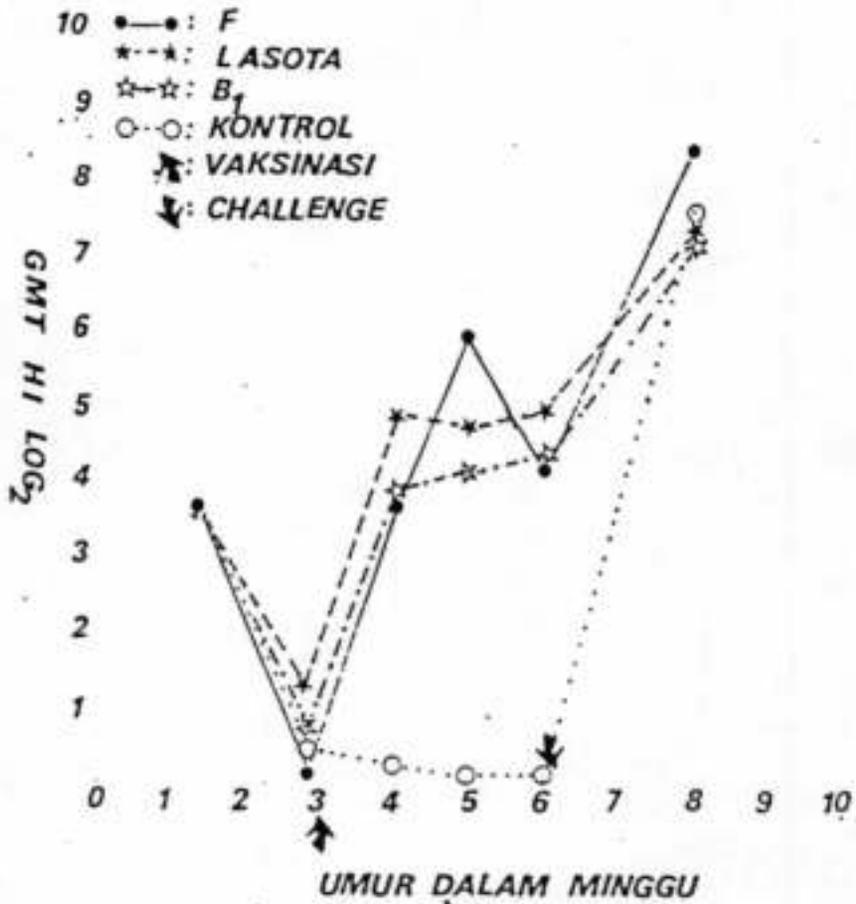
Kelompok	Minggu I (%)	Minggu II (%)	Minggu III (%)	
I	1. Hasil penelitian	86,7	90,0	90,0
	2. Allan (1974)	33,3	76,7	46,7
	3. Keswan (1978)	3,3	63,3	20,0
II	1. Hasil penelitian	96,7	96,7	96,7
	2. Allan (1974)	70,0	50,0	70,0
	3. Keswan (1978)	23,3	23,3	26,7
III	1. Hasil penelitian	90,0	90,0	100,0
	2. Allan (1974)	26,7	36,7	36,7
	3. Keswan (1978)	13,3	16,7	13,3
IV	1. Hasil penelitian	10,0	0,0	0,0
	2. Allan (1974)	0,0	0,0	0,0
	3. Keswan (1978)	0,0	0,0	0,0

Keterangan

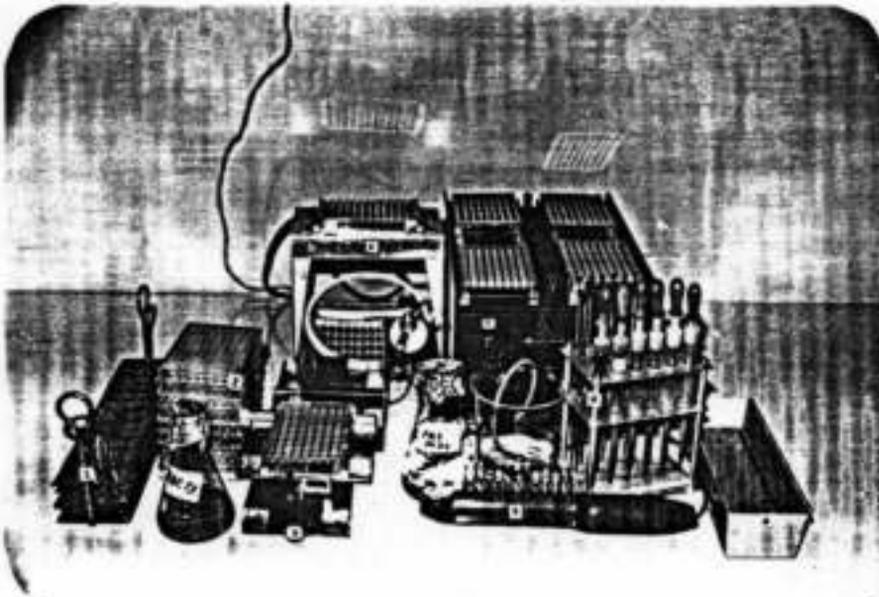
1. Level antibodi protektif hasil penelitian : $\log_2 3$
2. Level antibodi protektif standar Allan (1974) : $\log_2 5$
3. Level antibodi protektif standar Keswan (1978): $\log_2 6$

TABEL 11. TITER ANTIBODI DUA MINGGU SETELAH TANTANGAN

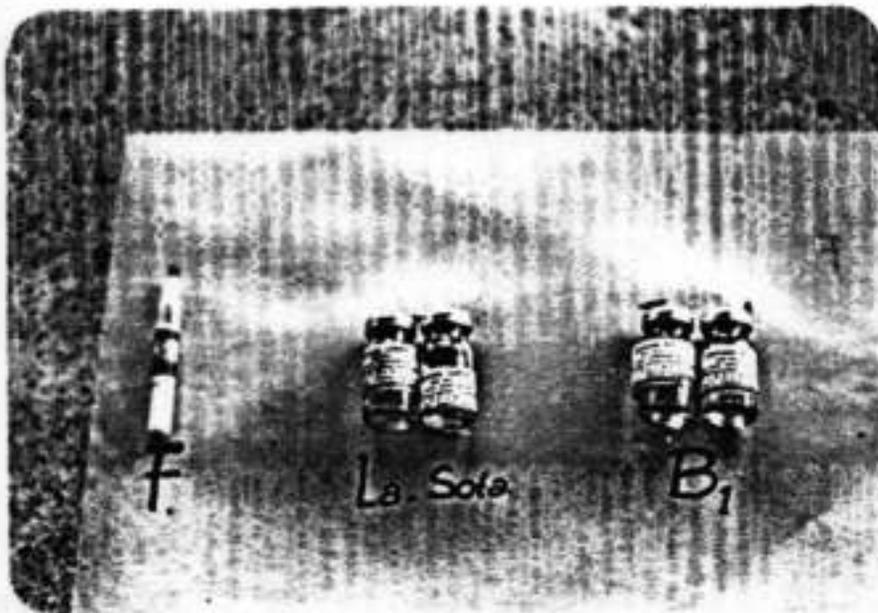
Kelom- pok	Titer HI \log_2	Frekuensi	GMT \log_2	<u>Notasi statistik</u>					
				P = 0,05	P = 0,01				
I	4	2	8,37	A	A				
	5	3							
	6	3							
	7	1							
	8	4				Divaksin dengan vaksin			
	9	3				ND galur F			
	10	4							
	11	5							
	12	2							
	IV	7				1	7,50	A	A
		8				1	Kontrol		
	II	4				6	7,34	A	A
5		5							
6		1	Divaksin dengan vaksin						
7		1	ND galur Lasota						
8		3							
9		5							
10		5							
11		3							
III	4	2	7,03	A	A				
	5	12							
	6	2							
	7	1				Divaksin dengan vaksin			
	8	2				ND galur B ₁			
	9	5							
	10	3							
	11	3							



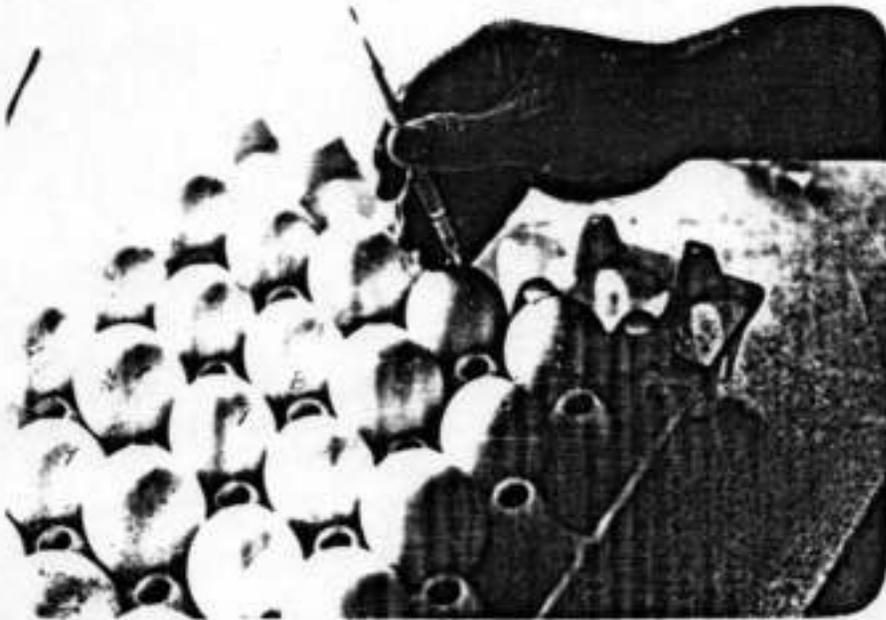
GRAFIK 1. TITER HI ANTIBODI VAKSIN NO. GALUR F, LASOTA DAN B₁



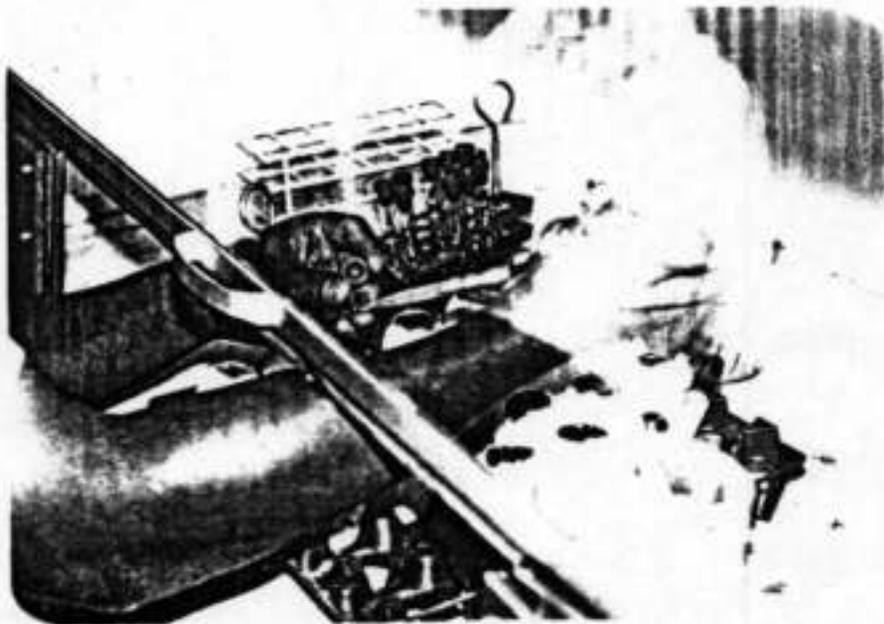
GAMBAR 1. ALAT ALAT YANG DIGUNAKAN UJI HA DAN HI
1. Rak tabung; 2. Microplate, 3. Micro droper automatic, 4. Microdroper beser ta raknya, 5. Microdiluter electric , 6. Tempat pencucian, 7. Microshaker, 8. Kaca pembaca (Mirror reading).



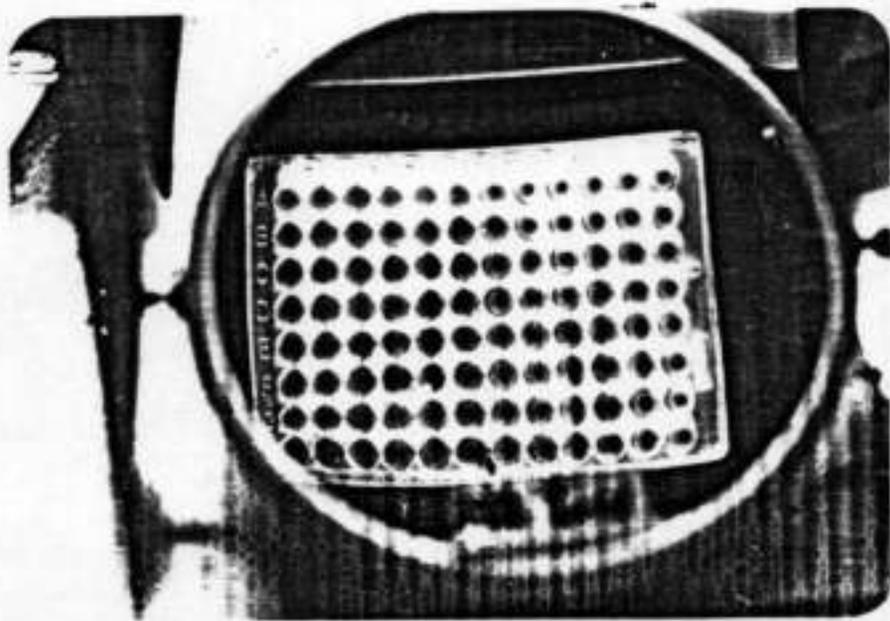
GAMBAR 2. VAKSIN ND YANG DIGUNAKAN DALAM PENE-
LITIAN



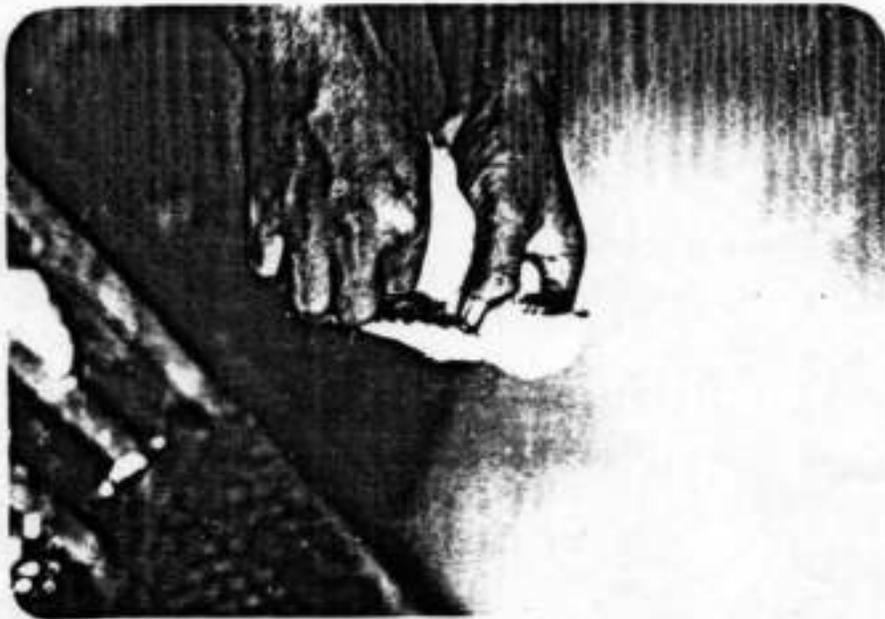
GAMBAR 3. PENANAMAN VIRUS ND PADA TELUR BEREMBRYO UMUR 9 HARI, LEWAT RUANG ALANTOIS.



GAMBAR 4. PANEN VIRUS ND DARI CAIRAN ALANTOIS TELUR YANG DITANAMI VIRUS ND.



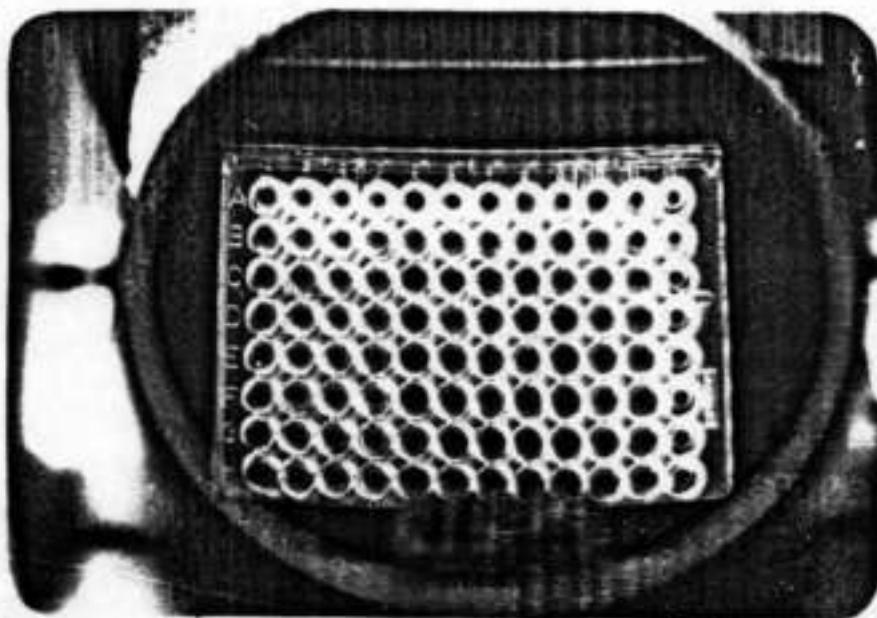
GAMBAR 5. HASIL PEMERIKSAAN UJI HA DARI VIRUS ND



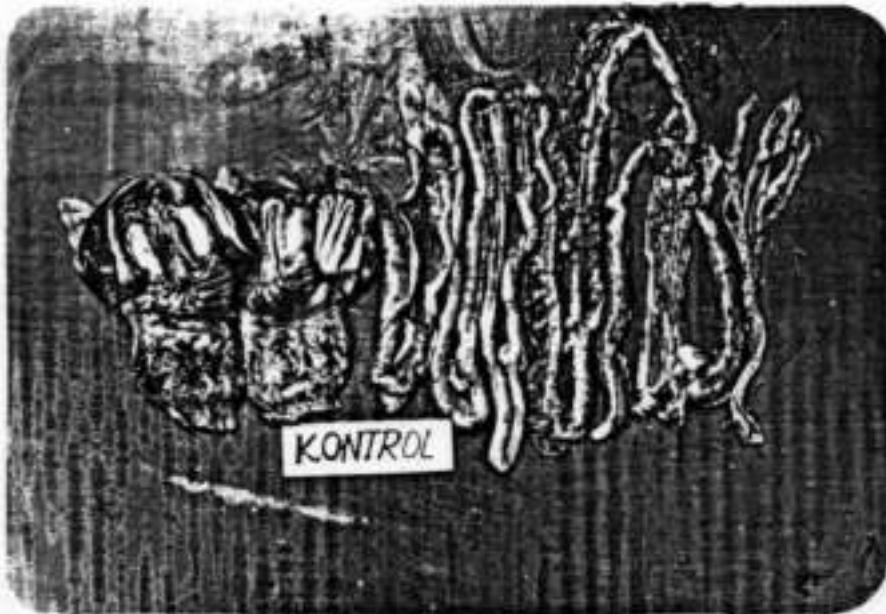
GAMBAR 6. PENGAMBILAN DARAH MELALUI VENA AXILLARIS PADA AYAM PERCOBAAN



GAMBAR 7. VAKSINASI PADA AYAM PERCOBAAN
MELALUI TETES MATA



GAMBAR 8. HASIL PEMERIKSAAN UJI HI DARI SERUM
AYAM PERCOBAAN.



GAMBAR 9. GAMBARAN PATOLOGI ANATOMIS DARI AYAM YANG DITANTANG DENGAN VIRUS ND VIRULEN: PERDARAHAN PADA PROVENTRICULUS, VENTRICULUS, USUS HALUS DAN SEKATONSIL

DAFTAR PUSTAKA

- ACKERMAN, W.W (1964). Cell Surface Phenomena of Newcastle Disease Virus. In Newcastle Disease Virus, An Evaluating Pathogen. Ed, by. R. B HANSON, Univ of Wiscosin. Press, Medison, wis. pp. 15 - 17
- ALLAN, W.H and GOUGH (1974). Standard Hemagglutination Inhibition Test of Newcastle and Challenge. Vet.Rec. 95: 147 - 149.
- ✓ ALLAN, W.H: Y.E LANCASTER and D. TOTH (1978). The Production and Use of Newcastle Disease Vaccine. FAO. Rome. Italy. pp. 20 -25.
- ALEXANDER, D.J and ALLAN, W.H (1973). Newcastle Disease The Natural of Virus Strain. Bull. Off. Int. Epiz. 79 (1-2): 15 - 26
- ANONIM (1971). Newcastle Disease Control, The Priority as Vaccination. Vet. Rec. 89: 509 - 512.
- ANONIM (1978). Standar HI tes Terhadap ND. Hasil Lokakarya Laboratorium Kesehatan Hewan II. Di Lawang Malang 23 - 30 Juni 1978: 20 - 33.
- ANONIM (1979 a). Penelitian Kemungkinan Aplikasi Vaksin ND Melalui Makanan pada Ayam Kampung dalam Kondisi Laboratorium. Laporan Penelitian ND. BPPH Wilayah VI Denpasar.
- ANONIM (1979 b). Monitoring Hasil Vaksinasi Penyakit Tetelo pada Ayam Kampung di Bali. BPPH Wilayah VI Denpasar.
- ANONIM (1982). Penyakit Pada Unggas (ND). Laporan Tahun 1981 - 1982. BPPH Wilayah VI Denpasar.
- ANONIM (1983). Kegiatan Pemberantasan Penyakit Hewan. Resume Berita-berita Penting Pembangunan Peternakan. Direktorat Jendral Peternakan. Edisi Januari (1): 2 - 3.
- ✓ BEARD, C.W and M. BRUGH (1975). Immunity to Newcastle Disease. Am. J. Vet. Res. 36 (4): 509 - 512.
- BENSON, H.N: D.R WANGER and P.D BEARD (1975). Efficacy of Commercial Newcastle Disease Vaccine Against Vilo-genic Viscerotropic Newcastle Disease Virus. Avian Dis. 19 (3): 566 - 571.

- ✓BRUGH, M: C.W BEARD and W.J WILKES (1978). The Influence of Test Codition on Newcastle Disease Hemaglutination Titer. Avian Dis. 22 (2): 320 - 327.
- BRANDLY, C.A (1964). Recognition f Newcastle as New Disease. In HANSON, R.P (ed). Newcastle Disease An Evaluating Pathogen. The Univ. of Wis. Press : 53 - 64.
- ERNAWATI, R and A.L IBRAHIM (1984 a). Vaccination Studies with Oil Emulsion Newcastle Disease Vaccine Prepared from a Slected Clon UPM AC/2 (Mukteswar Strain). Trop. Vet. 2: 43 - 47.
- ERNAWATI, R and A.L IBRAHIM (1984 b). Newcastle Disease Vaccination in Malaysia. Aplication of Oil Emulsion Vaccine. Vet. Rec. 115: 352 - 354.
- FARAGHER, J.T: W.H ALLAN and P.J WYETH (1974). Immunosupressive Affect of Infectius Bursal Agent on Vaccination Againt Newcastle Disease. Vet. Rec. 95 : 385 - 388.
- GIMBRON, J.J: C.S EIDSON; R.K PAGE; D.J FLETEHER; B.O BARGER and S.H KLEVEN (1976). Effect of Infectious Bursal Agent on the Respon of Chicken to Newcastle Disease and Marek Disease Vaccination Avian Dis. 20 (3): 354 - 544.
- GIMBRON, J.J; D.L EWART and D.S EIDSON (1977). Effect of Infectious Bursal Disease Virus on Immunological Responsiveness of the Chicken. Poul. Sci. 56 (5) : 1591 - 1594.
- HANSON, R.P and C.A BRADY (1955). Identification of Vaccine Strain of Newcastle Disease Virus. Science. 122: 156 - 157.
- HANSON, R.P (1963). Newcastle Disease. In hopstad (ed) In Disease of Poultry. Iowa State University Press: 619 - 650.
- HUTCHINSON, H.L (1975). The Control and Eradication of Newcastle Disease In Nordthern Irland Vet. Rec. 96: 213 - 217.
- JAND, S.K; A.S NARULA and S.K GUPA (1983). Roll of Maternal Antibody In Newcastle Disease Vaccination. Indian J. Microbial. Immunol. Infect. Dis. 4 (2) : 127 -128.

- ✓ KHARE, M.L; S. KUMAR and J. Grun (1976). Immunoglobulin of the Chicken Antibody to Newcastle Disease Virus (Mukteswar and F Strain). *Poult. Sci* 55 : 127 - 159.
- LANCASTER, J.E (1966). Newcastle Disease, a review, 1926-1964. Monograph no 3 Canada Departement of Agriculture, Ottawa, Ontario. pp. 12 - 17.
- LANCASTER, J.E; and D.J ALEXANDER (1975). Newcastle Disease and Spread, A Review of some of the Literature. Monograph No 11. Canada Departement of Agriculture. Ottawa. Canada. pp. 35 - 40.
- LU-CHIH CHANG (1972). The Consep of Statistics in Conect-ion with Experimentation. *Food and Fertilizer Technologi Center. Extention Bull.* 11: 26 - 33.
- MOHAMED and R.P HANSON (1980). EffStress on Newcastle Disease Virus (Lasota) Infection. *Avian Dis.* 24 (4): 908 - 915.
- PELEG, B.A; M. SOLLER; N. RON; K. HORNSTEIN; T. BRONDY and E. KALMAR (1976). Familial Differences in Antibodi Respon of Broeler Chicken to Vaccination with Attenuated and Inactivated Newcastle Disease Virus Vaccine. *Avian Dis.* 20 (4): 661 - 668
- REED and MUENCH (1938), In The Production and Use of Newcastle Disease Vaccine by Allan, et al, 1978. FAO. Rome Italy: 45.
- RONOHARDJO, P (1972). Tentang kekebalan bawaan Terhadap Penyakit Newcastle. *Bull. LPPH III/I-II (3-4) :* 31 - 36.
- RONOHARDJO, P (1974). Pengaruh Infeksi Virus Newcastle suku lapangan yang Virulen pada Anak-anak Ayam memunyai Kekebalan Bawaan. *Bull. LPPH 6 dan 7:* 48 - 61.
- RONOHARDJO, P (1976). Membandingkan Antigen-antigen Beberapa Isolat Virus Newcastle dengan suku Lasota memakai tehnik Agar Gel Difusi. *Bull. LPPH 11 : dan 12:* 9 - 13.
- ✓ RONOARDJO, P; Sp. J SIMANJUNTAK dan B.P.A RADJAGUKGUK (1978). Pengujian Vaksin Newcastle (ND) yang beredar di pasaran. *Bull. LPPH 15:* 18 - 21.

- SANTHYA, K.A.P; BRATI, A.W dan I.G SUDANA (1985). Karakterisasi Isolat Virus ND dari ayam, Itik, Burung Pelatuk, Nuri dan Kakaktua, Bull. Vet. BPPH Wilayah VI Denpasar 2 (1): 1 - 7.
- SOEHARSONO dan SANTHYA, K.A.P (1984). Laporan Evaluasi Pilot Proyek Pemberantasan Newcastle Disease di Lombok. Direktorat Jendral Peternakan. Balai Penyelidikan Penyakit Hewan Wilayah VI Denpasar.
- SUDANA I.G and MASRIHANAPI (1980). Newcastle Disease Problem In Indonesia. Tropical Agriculture Research Center. Ministri of Agriculture and Forestry. Series 13.
- TIZARD, I.R (1977). An Intruduction to Veterinary Immunology. Associated Profesor. Departement of Veterinary and Immunology, Ontorio Veterinary College University of Guelph. Ontorio. Canada: 128 - 130.
- WESTBURY, H.A (1984 a). Comparison Immunogenicity Of Newcastle Disease Virus Strain V₄, B₁ and Lasota in Chicken. Test ini Suseptible Chicken. Aust. Vet. J. 61 (1) : 5 - 9.
- WESTBURY, H.A; G. PARSON.S and W.H ALLAN (1984 b). Comparison of Immunogenicity of Newcastle Disease Virus Strain V₄, Hitchner B₁ dan Lasota in Chicken. Test in Chicken with Maternal Antibody to the Virus. Aus. Vet. J. 61 (1) 10 - 13.
- WESTBURY, H.A; G, PARSON and W.H ALLAN (1984 c). Duration of Excretion of Virulen Newcastle Disease Virus Following Challenge of Chicken Titer Serum Antibody to the Virus. Aust. Vet. J. 61 (2): 44 - 49.
- WINSLOW, N.S.R; R.P HANSON; E. UPTON AND BRANDLY, C.A (1950). Aglutination of Mammalia Erythrocyte by ND Virus. In Newcastle Disease and Spread. Monograph 11. Canada Departement of Agriculture. Ottawa. Canada.
- YADIN, H. (1981). Aerosal Vaccination Against Newcastle Disease Factor Affecting the Serological Response in Chicken. Avian Path. 10: 329- 341.

L A M P I R A N

Analisa Statistik

I. Rancangan Acak Lengkap (RAL)

Pada penelitian ini dilakukan dengan rancangan acak lengkap, karena yang berbeda disini hanya pada perlakuan saja, sedangkan yang lain adalah sama. Perbedaan perlakuan disini adalah pada galur vaksin yang digunakan (F, Lasota dan B₁) pada masing-masing kelompok.

II. Analisa Varian (ANOVA)

Analisa data dari hasil penelitian dilakukan dengan analisa varian, karena perlakuan yang diberikan disini lebih dari dua.

Formula yang dipergunakan dalam analisa varian

$$\text{Coreksi (C)} = \frac{1}{m \cdot n} \left(\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n x_{ij} \right)^2$$

Jumlah kwadrat total (JKT)

$$= \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n x_{ij}^2 - C$$

Jumlah kwadrat perlakuan (JKP)

$$= \frac{1}{n} \sum_{i=1}^m \left(\sum_{j=1}^n x_{ij} \right)^2$$

SIDIK RAGAM

Variasi	db	JK	RK	F.hit.	F. tabel	
					5%	1%
Perlakuan	m-1	JKP	$\frac{JKP}{dbP}$	$\frac{RKP}{RKS}$		
Sisa	dbT-dbP	JKT-JKP	$\frac{JKS}{dbS}$			
Total	m.n-1	JKT				

Keterangan

m = perlakuan i = perlakuan yang ke i.

n = ulangan j = ulangan yang ke j.

X_{ij} = data perlakuan ke i dan ulangan ke j.

Apabila pada analisa varian terjadi perbedaan, yaitu dimana F. hitung lebih tinggi daripada F. tabel, maka uji ini dilanjutkan dengan Multiple Range Test dari Duncan untuk membuktikan perlakuan mana yang lebih baik.

III. Multiple Range Test dari Duncan

Setelah analisa varian dapat memberikan hasil dapat dilanjutkan dengan Multiple Range Test untuk mengetahui perlakuan yang mana lebih baik.

Untuk ini dapat dipergunakan formula sebagai berikut

$$D (P.PS) = R (dbS . P.PS) \frac{S}{x}$$

Dimana

dbS = drajat bebas sisa

P = jarak antara perlakuan.

PS = Probability (5% atau 1%).

(dbS. P. PS.) = dalam tabel Duncan

$$\frac{S}{x} = \frac{RKS}{n}$$

Dari hasil ini dibandingkan dengan nilai selisih antara perlakuan. Apabila nilai selisih antara perlakuan lebih besar berarti terjadi perbedaan.

Apabila terjadi perbedaan pada P = 5% disebut berbeda nyata.

Dan bila terjadi perbedaan pada P = 1% disebut berbeda sangat nyata.

