

SKRIPSI

**UJI TANTANG *Pasteurella multocida* PADA AYAM
YANG TELAH DIVAKSINASI TERHADAP
FOWL CHOLERA**



OLEH :

DYAH ANGGRAINI

KEDIRI - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1994**

**UJI TANTANG *Pasteurella multocida* PADA AYAM
YANG TELAH DIVAKSINASI TERHADAP
FOWL CHOLERA**

**Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
pada
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga**

Oleh :

DYAH ANGGRAINI

068911558

**Menyetujui,
Komisi Pembimbing**



Didik Handijatno, M.S., Drh.

Pembimbing I

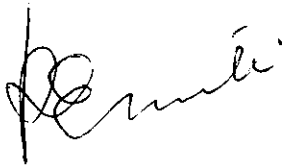


Djoko Galiono, M.S., Drh.

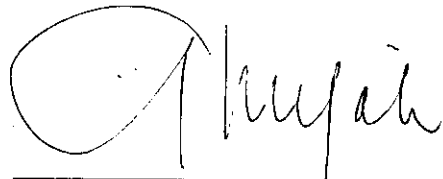
Pembimbing II

Setelah menguji dan mempelajari sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan

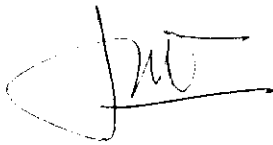
Menyetujui,
PANITIA PENGUJI



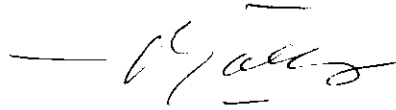
Rahayu Ernawati, M.Sc., Drh
Sekretaris



Ajik Azmijah, S.U., Drh
Anggota



Didik Handijatno, M.S., Drh
Anggota



Djoko Galiono, M.S., Drh
Anggota


Surabaya, 3 November 1994

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga



Dekan



Prof. Dr. H. Rochiman Sasmita, M.S., Drh
NIP. 130 350 739

UJI TANTANG *Pasteurella multocida* PADA AYAM
YANG TELAH DIVAKSINASI TERHADAP
FOWL CHOLERA

Oleh :

Dyah Anggraini

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui seberapa besar pengaruh vaksinasi dalam melindungi ayam pedaging dari uji tantang *Pasteurella multocida*.

Sejumlah 90 ekor ayam pedaging jenis CP 707 yang berumur 28 hari dibagi menjadi 3 bagian yaitu 30 ekor untuk penentuan LD₅₀, 30 ekor untuk perlakuan atau divaksin, dan 30 ekor untuk kontrol atau tanpa divaksin. Pada penentuan titer antibodi, masing-masing kelompok perlakuan dan kontrol diambil 10 ekor secara acak tiap minggu sampai minggu ke VI setelah vaksinasi, sedangkan uji tantang *Pasteurella multocida* dilakukan pada minggu ke II, IV dan ke VI setelah vaksinasi. Rancangan percobaan yang digunakan pada penentuan titer antibodi adalah rancangan acak lengkap yang diuji dengan split plot, sedangkan data hasil uji tantang kuman diuji dengan uji Chi Square (X^2) dan untuk mengetahui hubungan antara titer antibodi (\log_2) dengan hasil uji tantang kuman digunakan uji korelasi.

Lethal Dose (LD₅₀) terhadap *Pasteurella multocida* pada ayam pedaging umur 28 hari adalah $10^{2,667}$ /ml. GMT antibodi (\log_2) kelompok perlakuan pada minggu ke I = 1,9 minggu ke II = 4,4 ; minggu ke III = 7,2 ; minggu ke IV = 8,5 ; minggu ke V = 8,8 ; dan minggu ke VI = 7,8. Adanya antibodi akibat vaksinasi mampu melindungi ayam sebesar 80% setelah ditantang kuman *Pasteurella multocida*. Terdapat korelasi antara titer antibodi (\log_2) dengan jumlah ayam yang hidup setelah ditantang kuman.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala Rahmat dan Karunia yang telah dilimpahkan, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

Dengan rasa hormat penulis menyampaikan rasa terima kasih yang tak terhingga kepada bapak Didik Handijatno, M.S., Drh. selaku pembimbing pertama dan bapak Djoko Galiono, M.S., Drh. selaku pembimbing kedua, yang telah bersedia memberi bimbingan, saran dan petunjuk sampai terselesainya makalah ini.

Demikian pula penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada Dekan dan staf Pengajar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas bekal ilmu yang telah diberikan.

Tidak lupa penulis ucapkan terima kasih kepada seluruh staf Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi, laboratorium Virologi dan Imunologi FKH Unair, rekan Luky, Emy, Suharsana atas bantuannya selama penelitian serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Kepada Bapak dan Ibu yang tercinta, kakak, adik dan Kuntjoro yang dengan penuh kasih memberi dorongan semangat, do'a restu dan bantuan, makalah ini ananda persembahkan sebagai ungkapan rasa terima kasih yang tak terhingga.

Akhirnya penulis berharap, semoga hasil-hasil yang dituangkan dalam skripsi ini bermanfaat bagi mereka yang memerlukan.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I PENDAHULUAN	1
Latar Belakang Permasalahan	1
Perumusan Masalah	3
Tujuan Penelitian	3
Landasan Teori	3
Manfaat Penelitian	4
Hipotesis Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
Sejarah Penyakit Kolera Unggas	5
Kuman Penyebab Penyakit	6
Penyebaran Penyakit	9
Diagnosa Penyakit	9
Diagnosa Banding	12
Pencegahan dan Pengobatan	12
BAB III MATERI DAN METODE	14
Waktu dan Tempat Penelitian	14
Materi Penelitian	14
Metode Penelitian	15
Parameter yang Diamati	19
Analisis Data	19
BAB IV HASIL PENELITIAN	21
Penentuan Maternal Antibodi	21
Penentuan Lethal Dose ₅₀ (LD ₅₀)	21
Peneraan Titer Antibodi	22
Hasil Uji Tantang Kuman <i>Pasteurella multocida</i>	23
Hasil Analisis Data	24
BAB V PEMBAHASAN	26

BAB VI	KESIMPULAN DAN SARAN	29
	Kesimpulan	29
	Saran	30
BAB VII	RINGKASAN	31
	DAFTAR PUSTAKA	33
	LAMPIRAN	35

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Hasil Penentuan LD_{50} dari <i>Pasteurella multocida</i> pada Ayam Pedaging dengan Dosis 1 ml Intra-muskuler	22
2. GMT Antibodi (\log_2) dari Ayam Pedaging pada Minggu ke I sampai Minggu ke VI Setelah Vaksinasi	22

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. GMT Antibodi (\log_2) Selama 6 Minggu Setelah Vaksinasi	23
2. Persentase Jumlah Ayam yang Hidup Setelah Ditantang Kuman <i>Pasteurella multocida</i> pada Minggu ke II, IV, dan VI setelah Vaksinasi	23
3. Hubungan Antara Titer Antibodi (\log_2) dengan Hasil Uji Tantang Kuman <i>Pasteurella multocida</i> pada Ayam Pedaging yang Divaksin	51

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Penentuan Maternal Antibodi pada Ayam Pedaging Sebanyak 90 ekor	35
2. Penentuan LD ₅₀ dari <i>Pasteurella multocida</i> pada Ayam Pedaging dengan Dosis 1 ml Intramuskuler...	36
3. Titer Antibodi (\log_2) Hasil Vaksinasi pada Ayam Pedaging selama 6 ² Minggu setelah Vaksinasi	37
4. Geometric Mean Titer Antibodi (\log_2) pada Ayam Pedaging Selama 6 Minggu Setelah ² Vaksinasi	38
5. Hasil Uji Tantang <i>Pasteurella multocida</i> pada Ayam Pedaging Minggu ke II, IV dan VI setelah Vaksinasi	39
6. Penghitungan Statistik terhadap Titer Antibodi (\log_2) Hasil Vaksinasi selama 6 Minggu Setelah Vaksinasi	40
7. Penghitungan Statistik Hasil Uji Tantang Kuman <i>Pasteurella multocida</i> pada Ayam Pedaging Setelah Vaksinasi	44
8. Analisis Data dengan Uji Korelasi	48

BAB I

PENDAHULUAN

Latar Belakang Permasalahan

Dewasa ini permintaan akan pangan yang bergizi semakin meningkat seiring dengan meningkatnya taraf penghasilan penduduk dan tingginya kesadaran masyarakat bahwa untuk membentuk badan yang sehat, kuat dan cerdas diperlukan makanan yang mengandung protein terutama yang berasal dari hewan. Dibanding protein nabati, protein hewani lebih banyak mengandung asam amino essensial yang sangat penting bagi pertumbuhan tubuh. Hal ini menyebabkan usaha pengembangan dalam bidang peternakan merupakan faktor yang cukup penting. Selain usaha pengembangan dalam bidang peternakan juga dilakukan pembinaan kesehatan ternak yang merupakan bagian dari pembangunan peternakan dalam mendukung upaya peningkatan populasi dan produksi ternak serta menjamin kesehatan dan keamanan konsumen produk-produk peternakan. Oleh karenanya pembangunan peternakan terus ditingkatkan khususnya peternakan unggas terutama ayam pedaging.

Peternakan ayam pedaging telah lama dibudidayakan di Indonesia sebagai sumber protein dan sumber pendapatan bagi peternak. Banyak faktor yang harus diperhatikan dalam mencapai keberhasilan usaha peternakan, misalnya

faktor pembibitan, makanan, pemasaran, dan yang tak kalah pentingnya adalah pengetahuan tentang penyakit-penyakit yang biasa menyerang tubuh ternak sekaligus mengambil tindakan penanganan yang cepat dan tepat. Penyakit yang biasa menyerang tubuh ternak salah satunya adalah penyakit bakterial. Penyakit bakterial yang sering ditemukan pada peternakan ayam ras di Indonesia adalah CRD, *Coryza*, *Colibacillosis* dan *Fowl Cholera* (Kolera Unggas) (Anonimus, 1986).

Kolera Unggas adalah penyakit menular yang disebabkan oleh kuman *Pasteurella multocida* dan dapat menyerang ayam, itik, kalkun, angsa dan unggas lain (Bruner and Gillespie, 1973; Curtis, 1987). Penularan secara alam pada ayam dapat menyebabkan kematian 10-20%, pada itik dapat mencapai 50%, sedang pada kalkun lebih dari 50% (Anonimus, 1982).

Upaya pencegahan penyakit Kolera Unggas salah satunya dapat dilakukan dengan jalan vaksinasi. Vaksinasi dapat dilakukan dengan cara : oral (air minum), palatum, okuler, atau injeksi subkutan (Rice et al., 1977).

Berdasarkan uraian di atas penulis mencoba meneliti tentang Uji Tantang *Pasteurella multocida* pada ayam yang telah divaksinasi terhadap *Fowl Cholera*.

Perumusan Masalah

Mengingat pentingnya upaya pencegahan secara vaksinasi terhadap suatu penyakit maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut: Apakah pemberian vaksin dapat melindungi ayam pedaging dari infeksi *Pasteurella multocida*.

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui seberapa besar pengaruh vaksinasi dalam melindungi ayam pedaging dari infeksi *Pasteurella multocida*.

Landasan Teori

Vaksinasi merupakan suatu usaha pengebalan yang melibatkan pemberian antigen pada hewan sehingga tanggap kebal ditingkatkan dan tercapai resistensi terhadap agen menular. Dengan vaksinasi maka di dalam tubuh ternak akan terbentuk antibodi yang mampu berikatan khusus dengan antigen serta mempercepat penghancuran dan penyingkiran-nya. Antibodi terdapat dalam berbagai cairan tubuh tetapi konsentrasi tertinggi dan termudah diperoleh dalam jumlah banyak untuk analisis dari serum darah (Tizard, 1988).

Manfaat Penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi mengenai efektifitas vaksinasi dalam upaya pencegahan penyakit Kolera Unggas.

Hipotesis Penelitian

Pemberian vaksin *Pasteurella multocida* pada ayam pedaging dapat menimbulkan antibodi sehingga dapat melindungi dari infeksi *Pasteurella multocida*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Sejarah Penyakit Kolera Unggas

Wabah Kolera Unggas telah berjangkit di Eropa sejak pertengahan akhir abad ke-18. Penyakit ini pertama kali diselidiki di Perancis oleh Chabert, di Amerika Serikat oleh Salmon dan di Canada oleh Higgins (Anonimus, 1982). Penyakit ini dikenal dengan istilah *Fowl Cholera*, *Hemorrhagic Septicemia*, *Avian Pasteurellosis*. Tahun 1877 dan 1878 Perroncito dari Italia dan Semmer dari Rusia berhasil menemukan kuman berbentuk *cocoid* yang terdapat sendiri-sendiri atau berpasangan, dalam jaringan hewan yang sakit. Tahun 1879 Toussant mengisolasi dan selanjutnya dapat membuktikan bahwa kuman berbentuk *cocoid* dan terdapat sendiri-sendiri atau berpasang-pasangan tersebut merupakan penyebab penyakit Kolera Unggas (Bruner and Gillespie, 1973; Hofstad et al., 1984).

Di Indonesia Kolera Unggas telah lama diduga ada dan ditemukan secara klinis pada ayam-ayam petelur. Isolasi kuman ini dari ayam petelur berhasil dilakukan oleh Sri Purnomo, sedangkan pada itik oleh BPPH Denpasar dan oleh Fakultas Kedokteran Hewan Bogor (Anonimus, 1982).

Kuman Penyebab Penyakit

Kolera Unggas merupakan penyakit menular yang menyerang unggas piaraan dan unggas liar dengan angka morbiditas dan mortalitas tinggi, disebabkan oleh kuman *Pasteurella multocida* atau disebut juga *Pasteurella aviseptika*, *Pasteurella avicida*, *Pasteurella choleragallinarum* (Anonimus, 1982). Berdasarkan antigen kapsularnya, kuman ini digolongkan menjadi lima tipe, yaitu : tipe A, B, C, D dan E. Tipe-tipe tersebut dapat diidentifikasi dengan cara Indirect Haemagglutination (IHA) dari penggolongan tersebut tipe A paling sering menyebabkan Kolera Unggas (Carter and Rundel, 1975). Sedang tipe B sering menyebabkan *Septicemia Epizootica* pada sapi dan kerbau, tipe C menyerang anjing dan kucing, tipe D biasanya paling banyak dijumpai pada babi dan tipe E menyebabkan *Septicemia Epizootica* pada sapi di Afrika (Bruner and Gillespie, 1973).

Pasteurella multocida berbentuk batang pendek dengan ukuran $0,2 - 0,4 \times 0,6 - 2,5$ mikron, tetapi pada penanaman berulang-ulang dapat berbentuk *coccoid*, rantai atau filamen. Kuman ini tidak bergerak, tidak berspora, gram negatif, bipolar dan pada isolasi primer mempunyai kapsul (Merchant and Packer, 1971; Jawetz et al., 1984).

Pasteurella multocida dapat tumbuh pada keadaan aerob maupun fakultatif anaerob, pada pH antara 7-7,4 dan suhu optimum 37°C. Dapat tumbuh pada media sederhana, namun pertumbuhannya lebih baik bila media mengandung serum atau darah (Jawetz et al., 1984). Pertumbuhan kuman ini dalam perbenihan cair terlihat seperti kabut yang tersebar merata dan setelah beberapa hari terlihat adanya endapan didasar tabung (Bruner and Gillepie, 1973).

Media yang biasa digunakan untuk menumbuhkan *Pasteurella multocida* adalah *Tryptosa Agar* (Seneviratna, 1969). Kuman ini tidak menghemolisa butir darah merah dan apabila ditanam pada agar yang mengandung serum, maka setelah inkubasi 37 °C 24 jam dapat dilihat beberapa sifat koloni kuman yaitu: Tipe *Smooth* (S) atau *Fluorescent Colonies*, koloninya kecil halus, diameter 1,0-1,5 mm, merupakan strain yang ganas. Strain ini membentuk antigen kapsular polisakarida dan dapat diisolasi dari kejadian Kolera Unggas yang akut ; tipe *Mucoid* (M), koloninya agak besar, dengan diameter 2,0-3,0 mm. Strain ini sifatnya kurang ganas, membentuk antigen kapsular *hialuronat* dengan atau tanpa polisakarida ; Tipe *Rough* (R) atau *Blue Colonies*, koloninya kecil tidak membentuk antigen kapsular dan mempunyai sifat keganasan yang rendah (Anonimus, 1982; Bruner and Gillespie, 1973).

Sifat-sifat biokimia dari *Pasteurella Multocida* adalah: menfermentasi beberapa karbohidrat (glukosa, sukrosa, manitol) tanpa menghasilkan gas, membentuk indol, mereduksi nitrat dan metilen blue, uji katalase dan reduktase positif, uji metil red negatif, tidak mengubah susu litmus, dan dapat menghasilkan amoniak (Hitchner et al., 1975).

Pasteurella multocida tidak tahan terhadap desinfektan biasa, sinar matahari, pemanasan maupun pengeringan (Gordon and Jordan, 1982 ; Fraser, 1986). Kuman ini mempunyai daya tahan dalam kotoran ayam selama satu bulan, dalam bangkai selama tiga bulan, dalam litter selama dua minggu setelah hewan mati dan pada suhu $-6^{\circ}\text{C} - 4^{\circ}\text{C}$ menjadi inaktif setelah disimpan 1 tahun. Pada preparat ulas darah yang dikeringkan pada suhu kamar masih bertahan hidup selama 8 hari dan pada cotton swab kering tahan 118 jam pada suhu kamar. Pada pemanasan 60°C kuman mati dalam waktu 10 menit, cahaya matahari membunuh kuman dalam waktu 48 jam. Kuman ini mudah mati oleh desinfektan kresol 3%, fenol 1%, formalin 1%, NaOH 0,5% dan larutan Hg Cl_2 1 : 5000 (Anonimus, 1982).

Keganasan *Pasteurella multocida* sangat bervariasi, tergantung strain kuman itu sendiri, spesies induk semangnya dan kondisi atau keadaan pada waktu kontak antara keduanya (Hitchner et al., 1975).

Penyebaran Penyakit

Pasteurella multocida tersebar luas di dunia dan dapat menyerang ayam, itik, kalkun, angsa dan unggas lainnya tetapi dalam keadaan normal dapat ditemukan pada alat respirasi bagian atas hewan sehat. Timbulnya penyakit disebabkan oleh karena penurunan daya tahan tubuh. Faktor-faktor predisposisi timbulnya penyakit ini yaitu : cuaca yang buruk, kandang yang terlalu penuh, ventilasi kandang yang kurang baik, makanan yang buruk, dan faktor-faktor lainnya yang menimbulkan stres (Merchant and Packer, 1971 ; Curtis, 1987).

Penularan penyakit dapat melalui saluran respirasi, saluran pencernaan, selaput lendir mata dan luka-luka kulit. Cairan yang keluar dari hidung dan mulut hewan penderita, bila mencemari makanan, air minum atau alat peternakan, merupakan sumber penularan yang utama bagi hewan sehat lainnya. Unggas yang bersifat karier, burung yang baru sembuh dari penyakit, burung-burung liar, tikus dan binatang pengerat lainnya dapat menularkan penyakit ini (Gordon and Jordan, 1982; Hofstad et al., 1984).

Diagnosa Penyakit

Penyakit Kolera Unggas lebih banyak menyerang unggas umur 4 bulan ke atas atau umur dewasa, dan diagnosa penyakit ini didasarkan pada sejarah kejadian penyakit,

gejala klinis, kelainan pasca mati dan diperkuat dengan pemeriksaan laboratorium (Anonymous, 1982).

Menurut jalannya penyakit dapat dibagi dalam tiga sifat yaitu : perakut, akut dan kronis, dengan masa inkubasi pada penularan secara alam 4 - 9 hari, tetapi dalam percobaan 2 hari (Seneviratna, 1969). Unggas yang terserang bentuk perakut biasanya mati tanpa menunjukkan gejala klinis, sedangkan unggas yang terserang bentuk akut mati setelah menunjukkan beberapa gejala yaitu : demam, nafsu makan menurun, keluarnya cairan dari mulut dan hidung, bulu suram, diare dengan feses berwarna hijau dan berlendir, pial dan jengger berwarna gelap atau sianosis, frekwensi pernafasan meningkat. Apabila unggas dapat bertahan dari bentuk akut ini, maka unggas akan menderita bentuk kronis atau sembuh. Gejala yang tampak pada bentuk kronis yaitu pembengkakan pada bursa sternalis, pial, persendian dan telapak kaki, kesulitan bernafas, radang selaput lendir mata dan tortikolis (Gordon and Jordan, 1982 ; Hofstad et al., 1984).

Hungerford (1969) membedakan gejala klinis Kolera Unggas menjadi 4 bentuk yaitu : (a) bentuk *Septikemia*, banyak dijumpai pada Kolera Unggas akut yang terjadi 48 jam setelah terinfeksi kuman *Pasteurella multocida*. (b) bentuk respirasi, dijumpai pada Kolera Unggas subakut atau kronis. Terdapat eksudat pada hidung dan sinus infra

abund.

orbitalis yang menyebabkan kesulitan bernafas pada unggas penderita, dan kadang-kadang terjadi konjungtivitis. (c) bentuk *Encephalitis*, dijumpai pada Kolera Unggas kronis yang ditandai dengan tremor sebagai akibat adanya lesi-lesi pada otak, dan (d) bentuk Kronik, ditandai dengan arthritis, tortikolis karena adanya infeksi pada telinga dan basal otak, pembengkakan pada persendian dan telapak kaki.

Kelainan pasca mati pada Kolera Unggas perakut ditandai adanya bintik-bintik perdarahan pada otot jantung. Kolera Unggas bentuk akut ditandai perdarahan yang lebih meluas yaitu pada organ-organ viscera, selaput serosa, dan otot jantung, serta adanya timbunan cairan peritoneal, kebengkakan dan fokus-fokus nekrosa pada hati dan radang paru-paru. Kolera Unggas bentuk kronis menyebabkan adanya timbunan cairan radang bersifat fibrinosupuratif pada daerah yang membengkak, pada sinus infra orbitalis, dan pada saluran pernafasan (Hitchner et al., 1975 ; Hofstad et al., 1984).

Untuk memperkuat diagnosa perlu dilakukan pemeriksaan laboratorium, meliputi pemeriksaan preparat ulas darah, atau jaringan hewan sakit lainnya, isolasi dan identifikasi kuman penyebab, penyuntikan isolat kuman penyebab pada hewan percobaan (Seneviratna, 1969 ; Gordon and Jordan, 1982).

Diagnosa Banding

Penyakit Kolera Unggas sering dikelirukan dengan penyakit unggas lain, yang gejala klinisnya hampir sama, yaitu : penyakit Tetelo atau Newcastle Disease (ND) dengan tanda tortikolis, tetapi penyakit ND ini disebabkan oleh *Paramyxovirus*, sedang pembengkakan dan adanya sarang-sarang nekrosa pada hati dapat dikelirukan dengan *Fowl Typhoid* yang disebabkan oleh *Salmonella spp.*, angka mortalitas dan morbiditas yang tinggi seperti *Fowl Plague* yang disebabkan oleh virus, dan tanda-tanda gangguan respirasi seperti CRD yang disebabkan oleh kuman *Mycoplasma gallisepticum* (Anonimus, 1982).

Pencegahan dan Pengobatan

Pencegahan penyakit dapat dilakukan dengan memperbaiki manajemen peternakan meliputi pengaturan jumlah ternak, kebersihan kandang dan peralatan. Tindakan pencegahan yang lain adalah dengan vaksinasi. Vaksinasi merupakan suatu usaha pengebalan yang melibatkan pemberian antigen pada hewan sehingga tanggap kebal ditingkatkan dan tercapai resistensi terhadap agen menular (Tizard, 1982). Banyak faktor yang mempengaruhi keberhasilan suatu vaksinasi, baik faktor-faktor internal maupun eksternal. Apabila faktor-faktor tersebut dapat ditiadakan atau diperkecil maka kekebalan yang diharapkan akan terbentuk

dengan baik dan vaksinasi dapat dikatakan berhasil. Faktor-faktor yang mempengaruhi tersebut adalah : jenis vaksin, pelaksanaan vaksinasi, kondisi ayam, keadaan lingkungan atau cuaca (Anonimus, 1986).

Pengobatan dapat dilakukan dengan menggunakan obat golongan sulfonamid atau antibiotika. Obat golongan sulfonamid yang biasa digunakan yaitu : sulfakuinoksalin 0,05% dalam air minum, sulfametasin dan sodium sulfametasin 0,5-1,0% dalam makanan atau 0,1% dalam air minum, sulfamerasin 0,5% dalam makanan atau 0,2% dalam air minum. Beberapa antibiotika yang dapat digunakan adalah streptomisin 150.000 mg, khloramfenikol 20 mg/kg berat badan, dan teramisin 25 mg/kg berat badan (Anonimus, 1982; Hofstad et al., 1984).

BAB III

MATERI DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi, Laboratorium Virologi dan Imunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga pada tanggal 23 Desember 1993 sampai dengan 1 Maret 1994.

Materi Penelitian

1. Ayam Pedaging

Ayam pedaging yang digunakan dalam penelitian jenis CP 707 sebanyak 90 ekor berumur 28 hari.

2. Vaksin Kolera Unggas

Vaksin yang digunakan adalah Kolravet buatan PUSV E TMA yang diberikan melalui suntikan subkutan pada bagian belakang leher dengan dosis 0,5 ml. Vaksinasi dilakukan pada ayam umur 28 hari

3. Kuman *Pasteurella multocida*

Kuman diperoleh dari PUSVETMA yang digunakan untuk ujiantang dan penentuan LD₅₀.

4. Antigen *Pasteurella multocida*

Antigen digunakan untuk penentuan maternal antibodi dan penentuan titer antibodi.

5. Media

Media isolasi yang digunakan untuk pertumbuhan *Pasteurella multocida* yaitu Tryptosa Agar, dan untuk media identifikasi memakai Triple Sugar Iron Agar (TSIA), SIM dan Gula-gula.

6. Bahan dan alat lain yang digunakan dalam penelitian ini antara lain NaCl Fisiologis, alkohol, pembakar Bunsen, spuit 2,5 ml, termos es, *microplate*, diluter, pipet dropper 0,025 ml, gelas obyek, ose, sentrifuge, inkubator, dan cawan petri.

Metode Penelitian

1. Persiapan

a. Pembuatan Suspensi *Pasteurella multocida*

Pasteurella multocida dalam bentuk beku kering (Seed) diencerkan dalam 1 ml NaCl fisiologis steril, kemudian digoyang-goyang hingga terbentuk suspensi. Suspensi tersebut ditanam pada media Tryptosa Agar dengan penggoresan (streak) diinkubasi 37 °C selama 24 jam. Koloni kuman yang tumbuh pada media diambil satu untuk diperbanyak pada media Tryptosa Agar dengan cara streak, kemudian diinkubasi 37 °C selama 24 jam. Koloni hasil pupukan ini diidentifikasi terhadap *Pasteurella multocida*, bila pada identifikasi hasilnya positif *Pasteurella multocida*

maka koloni hasil pupukan tersebut digunakan untuk suspensi kuman. Cara: diambil satu koloni kuman dengan ose steril dipupuk kembali pada satu cawan petri media Tryptosa Agar, pemupukan dilakukan sebanyak lima cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Koloni hasil pupukan dipanen dengan menambahkan 3 ml NaCl fisiologis pada setiap cawan petri. Hasil panen ditampung pada botol steril, maka terbentuklah suspensi kuman *Pasteurella multocida*. Suspensi kuman dihitung jumlah kuman per ml dengan pengenceran (metode Koch).

b. Pembuatan Antigen *Pasteurella multocida*

Bakteri *Pasteurella multocida* ditanam pada 1 liter media tryptose cair, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam. Hasil penanaman tersebut dicuci dua kali dengan 10% formalin dalam fosfat Buffer Saline (PBS). Suspensi dibiarkan sebentar dan supernatan dibuang, kemudian endapan ditambah dengan 10 ml PBS (Schlink and Olson, 1979).

2. Pelaksanaan Penelitian

a. Penentuan Maternal Antibodi

Pemeriksaan maternal antibodi pada ayam pedaging

umur 28 hari sebanyak 90 ekor dilakukan dengan Rapid Agglutination Plate (RAP), caranya : darah diambil dari vena sayap kemudian dipisahkan serumnya. Serum diteteskan pada gelas obyek yang bersih dan dicampur dengan antigen *Pasteurella multocida* sama banyak. Pengamatan dilakukan dengan menggoyang-goyangkan campuran tersebut.

b. Penentuan Lethal Dose₅₀ (LD₅₀)

Ayam yang digunakan sebanyak 30 ekor dibagi menjadi 6 kelompok sama banyak. Kelompok I, II, III, IV, V, dan VI masing-masing mendapat suntikan (inokulasi) suspensi kuman *Pasteurella multocida* dari 10^0 sampai 10^5 dengan dosis 1 ml intramuskuler. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 14 hari. Ayam yang mati pada pengamatan dilakukan isolasi identifikasi terhadap *Pasteurella multocida*.

c. Peneraan Titer Antibodi

Ayam yang digunakan sebanyak 60 ekor, yang terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan maternal antibodi. Ayam yang tidak menunjukkan adanya maternal antibodi divaksin terhadap Kolera Unggas sebanyak 30 ekor sebagai perlakuan dan 30 ekor sebagai kontrol tanpa vaksinasi. Peneraan titer antibodi dilakukan setiap minggu sampai dengan minggu ke VI setelah vaksinasi.

Pada minggu pertama setelah vaksinasi masing-masing kelompok diambil 10 ekor untuk diukur titer antibodi dalam serumnya dengan cara microtiter agglutinasii. Caranya : darah diambil dari vena sayap sebanyak 2,5 ml, kemudian dipisahkan serumnya. Pada masing-masing lubang dari microplate diisi dengan 0,025 ml Phosphat Buffer Saline (PBS) menggunakan pipet dropper 0,025 ml, kemudian pada lubang no.1 dan 12 ditambahkan antiserum yang diperiksa sebanyak 0,025 ml. Dengan menggunakan microdiluter 0,025 ml dicampurkan antiserum dengan PBS pada lubang no. 1 dengan cara memutar-mutar mikrodiluter kemudian dipindahkan ke lubang berikutnya, demikian seterusnya sampai lubang no. 10. Kemudian pada lubang no. 1 sampai no. 11 diisi dengan antigen yang telah diencerkan 5 kali sebanyak 0,025 ml dengan menggunakan pipet dropper. Diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit baru dibaca titer antibodinya. Pengukuran titer antibodi diulang pada minggu ke II, III, IV, V dan VI setelah vaksinasi.

d. Uji Tantang *Pasteurella multocida*

Uji tantang dilakukan pada minggu ke II, IV dan VI setelah vaksinasi. Masing-masing kelompok diambil 10 ekor kemudian ditantang dengan suspensi kuman *Pasteurella multocida* sebanyak 1 ml (LD_{50}) intra

muskuler. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 14 hari, ayam yang mati waktu pengamatan dilakukan isolasi identifikasi.

Parameter yang Diamati

- a. Pada penentuan maternal antibodi, positif bila terjadi agglutinasi atau penggumpalan yang kasar. Sedangkan penggumpalan yang halus dianggap dubius (meragukan) yang tidak menunjukkan agglutinasi atau penggumpalan dianggap negatif.
- b. Pada penentuan LD₅₀, ayam yang mati setelah ditantang kuman *Pasteurella multocida* dianggap positif, sedangkan yang hidup dianggap negatif.
- c. Pada penentuan titer antibodi, titer antibodi ditentukan pada pengenceran serum tertinggi yang masih menunjukkan adanya agglutinasi.
- d. Ayam yang mati setelah ditantang dianggap tidak tahan atau tidak kebal, sedangkan ayam yang hidup dianggap tahan atau kebal.

Analisis Data

Pada penentuan maternal antibodi, data yang diperoleh ditabulasikan dan dianalisis secara deskriptif berdasarkan persentase.

Pada penentuan LD_{50} , data yang didapat dihitung dengan metode Reed and Muench dengan rumus :

$$\text{Proportionate Distance (PD)} = \frac{\text{Persentase kematian diatas } 50\% - 50\%}{\text{Persentase kematian di atas } 50\% - \text{Persentase kematian di bawah } 50\%}$$

Pengenceran end point 50% = Pengenceran di atas 50% - PD

$$LD_{50} = \frac{1}{\text{end point } 50\%} \times \text{dilution} \times \text{dosis per ml}$$

Pada penentuan titer antibodi hasil vaksinasi data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang diuji dengan split plot (Kusriningrum, 1989). Jumlah ayam yang hidup dan mati hasil dari ujiantang kuman *Pasteurella multocida*, data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan Chi Square (χ^2). Dan untuk mengetahui hubungan antara titer antibodi (\log_2) dengan hasil ujiantang kuman pada ayam yang hidup, digunakan uji korelasi (R) (Sudjana, 1989).

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Setelah dilakukan penelitian tentang Uji Tantang *Pasteurella multocida* pada ayam yang telah divaksinasi terhadap *Fowl Cholera*, menunjukkan hasil sebagai berikut:

Penentuan Maternal Antibodi

Penentuan maternal antibodi secara *Rapid Agglutination Plate* (RAP) test pada anak ayam pedaging umur 28 hari sebanyak 90 ekor diperoleh hasil 100% reaksi negatif tidak terdapat maternal antibodi terhadap *Pasteurella Multocida* (Lampiran 1).

Penentuan Lethal Dose₅₀ (LD₅₀)

Pada penentuan Lethal Dose₅₀ dari *Pasteurella Multocida* pada ayam pedaging umur 28 hari, menunjukkan hasil LD₅₀ adalah $10^{2,667}$ per ml dengan jumlah kuman $3,4 \times 10^{6,333}$ sel per ml (Tabel 1, Lampiran 2).

Tabel 1. Hasil Penentuan LD_{50} dari *Pasteurella Multocida* pada Ayam Pedaging dengan dosis 1 ml Intra Muskuler

Pengenceran	Hasil Individu	
	Hidup	Mati
10^0	0	5
10^{-1}	1	4
10^{-2}	2	3
10^{-3}	3	2
10^{-4}	4	1
10^{-5}	4	1

Peneraan Titer Antibodi

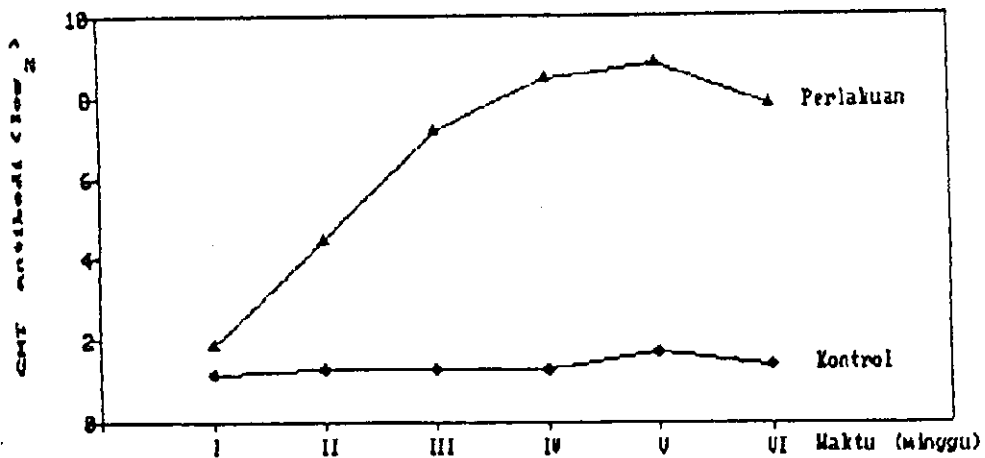
Peneraan titer antibodi dilakukan pada minggu ke I sampai dengan minggu ke VI setelah vaksinasi dan menunjukkan hasil dalam *Geometric Mean Titer* antibodi (\log_2) pada minggu ke I = 1,9; minggu ke II = 4,4; minggu ke III = 7,2; minggu ke IV = 8,5; minggu ke V = 8,8; dan minggu ke VI = 7,8 (Tabel 2, Gambar 1).

Tabel 2. GMT antibodi (\log_2) dari Ayam Pedaging pada Minggu ke I Sampai Minggu ke VI Setelah Vaksinasi

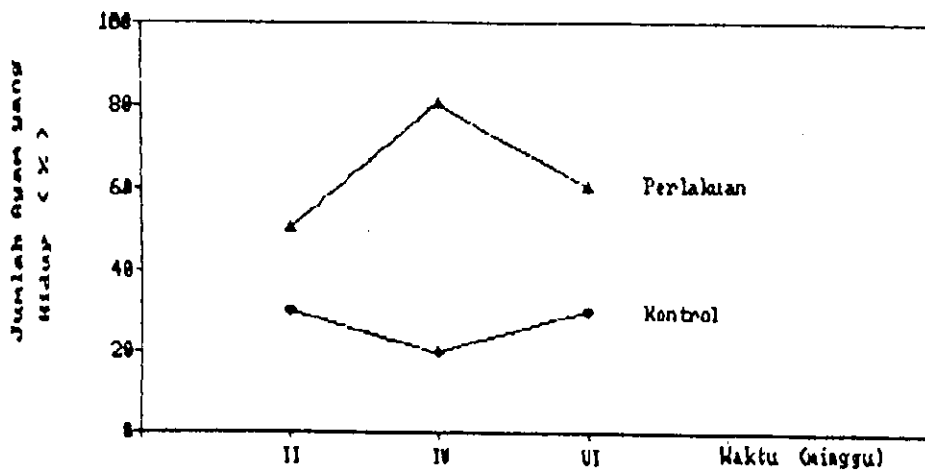
Waktu	Perlakuan	Kontrol
Minggu I	1,9	1,2
II	4,4	1,3
III	7,2	1,3
IV	8,5	1,3
V	8,8	1,7
VI	7,8	1,4

Hasil Uji Tantang Suspensi Kuman *Pasteurella multocida*

Uji tantang kuman *Pasteurella multocida* yang dilakukan pada minggu ke II, IV, dan VI setelah vaksinasi menunjukkan hasil pada minggu ke II ayam yang hidup 50%, pada minggu ke IV ayam yang hidup 80%, dan minggu ke VI ayam yang hidup 60%. Sedangkan pada kelompok kontrol menunjukkan hasil pada minggu ke II ayam yang hidup 30%, minggu ke IV 20%, dan minggu ke VI 30% (Gambar 2).



Gambar 1. GMT antibodi (\log_2) Selama 6 Minggu Setelah Vaksinasi



Gambar 2. Persentase Jumlah Ayam yang Hidup Setelah Ditantang Kuman *Pasteurella Multocida* pada Minggu ke II, IV, VI Setelah Vaksinasi

Hasil Analisis Data

Penerapan titer antibodi akibat vaksinasi diperoleh data yang kemudian diuji secara statistik. Ternyata titer antibodi (\log_2) pada ayam yang divaksin berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) dengan ayam tanpa di vaksin. Pada kelompok ayam yang divaksin (perlakuan) titer antibodi tertinggi pada minggu ke V tetapi tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan minggu ke IV. Minggu ke IV tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan minggu ke VI, sedangkan minggu ke VI tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan minggu ke III. Pada minggu ke III berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) dengan minggu ke II dan ke I. Titer antibodi (\log_2) terendah pada minggu ke I yang berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) dengan minggu yang lain. Terdapat interaksi ($P < 0,01$) antara waktu atau minggu setelah vaksinasi dengan perlakuan.

Pada hasil ujiantang kuman *Pasteurella multocida* setelah diuji secara statistik dengan Chi Square (χ^2), diperoleh hasil : pada minggu ke II setelah vaksinasi $\chi^2 = 0,208$, pada minggu ke IV $\chi^2 = 5,00$, dan pada minggu ke VI $\chi^2 = 0,808$. Hal ini berarti bahwa pada minggu ke II dan ke VI setelah vaksinasi tidak terdapat perbedaan yang nyata ($P > 0,05$) hasil ujiantang kuman, sedang pada minggu ke IV terdapat perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) hasil ujiantang kuman pada perlakuan dan kontrol.

Analisis data dengan uji korelasi pada ayam yang divaksin diperoleh hasil terdapat korelasi ($r = 0,987$) antara titer antibodi (\log_2) dengan jumlah ayam yang hidup setelah ditantang kuman *Pasteurella multocida*.

BAB V

P E M B A H A S A N

Maternal antibodi merupakan antibodi yang diperoleh secara pasif dari induk, pada anak ayam maternal antibodi berasal dari kuning telur yang merupakan cadangan makanan. Vaksinasi dilakukan bila dalam tubuh ayam sudah tidak ditemukan adanya maternal antibodi, hal ini dikarenakan bahwa maternal antibodi akan merusak bakterin atau vaksin sehingga mencegah berhasilnya vaksinasi. Pada ayam, maternal antibodi sudah tidak didapatkan lagi sekitar umur 10 - 20 hari setelah menetas. Pada penelitian ini semua ayam sudah tidak ditemukan adanya maternal antibodi, keadaan ini disebabkan karena pengujian maternal antibodi dilakukan pada ayam umur 28 hari atau memang tidak dilakukan vaksinasi pada induk terhadap *Pasteurella multocida* (Tizard, 1988).

Pada penentuan LD₅₀ dari *Pasteurella multocida* pada ayam umur 28 hari didapatkan LD₅₀ adalah $10^{2,667}$ per ml dengan jumlah kuman $3,4 \times 10^{6,333}$ sel per ml. Penentuan LD₅₀ dipengaruhi oleh umur hewan percobaan, cara infeksi kuman, kekebalan individu, umur biakan kuman, umur hewan percobaan dan jenis hewan percobaan (Syamsudin, 1972). Tiap jenis hewan percobaan tingkat kepekaannya berbeda terhadap kuman *Pasteurella multocida*, misalnya nilai LD₅₀

26

beberapa jenis hewan percobaan terhadap biakan *Pasteurella multocida* isolat 57/79 penyebab Kolera Unggas urutan kepekaannya adalah : mencit, ayam ras, marmot dan itik. Sedang tikus putih sangat resisten (Syamsudin, 1987).

Pada penentuan titer antibodi, antibodi sudah terbentuk pada minggu ke I setelah vaksinasi. Minggu ke I setelah vaksinasi diperoleh titer antibodi dalam GMT (\log_2) = 1,9. Titer antibodi meningkat pada minggu ke II, III, IV, dan mencapai puncaknya pada minggu ke V setelah vaksinasi, karena respon pembentukan antibodi masih terus berlangsung oleh antigen (vaksin), sedangkan destruksi atau kerusakan imunoglobulin masih sedikit. Titer antibodi mulai turun pada minggu ke VI setelah vaksinasi karena respon pembentukan antibodi menurun dan jumlah imunoglobulin yang mengalami kerusakan atau destruksi makin banyak. Pemberian vaksin *Pasteurella multocida* bentuk bakterin berarti memasukkan zat yang bersifat antigen ke dalam tubuh yang akan menggertak timbulnya antibodi. Antibodi diproduksi oleh sel limfosit, sedang limfosit didalam tubuh ada dua macam yaitu limfosit B yang berperan dalam tanggap kebal humoral dan limfosit T yang berperan dalam tanggap kebal berperantara sel. Organ yang mengatur produksi dan diferensiasi limfosit dikenal sebagai organ limfoid. Organ limfoid terbagi menjadi dua yaitu organ limfoid primer (timus, bursa) dan organ

limfoid sekunder (limfa, simpul limfe). Vaksinasi dilakukan secara subkutan, berarti antigen masuk ke dalam tubuh dan disebarkan kembali oleh cairan tubuh melalui simpul limfe yang akhirnya mencapai aliran darah. Kemudian antigen dijerat sedemikian rupa sehingga dapat diketahui sebagai benda asing sehingga antigen akan mampu merangsang sel peka antigen untuk memproduksi antibodi. Antigen dijerat, diolah dan akhirnya disingkirkan oleh makrofage (Tizard, 1988).

Titer antibodi pada ayam yang divaksin berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) dengan ayam tanpa divaksin, hal ini disebabkan karena dalam tubuh ayam yang divaksin terdapat antigen yang akan menggertak timbulnya antibodi, antibodi yang terbentuk akan melindungi ayam dari ujiantang kuman *Pasteurella multocida*. Dengan uji korelasi dapat diketahui bahwa terdapat korelasi ($r = 0,987$) antara titer antibodi dengan jumlah ayam yang hidup setelah ditantang kuman. Kekebalan yang diakibatkan oleh vaksin mampu melindungi ayam sebanyak 80% pada minggu ke IV setelah vaksinasi. Hal ini kemungkinan disebabkan titer antibodi yang dihasilkan cukup tinggi atau galur *Pasteurella multocida* yang digunakan untuk vaksin sama dengan galur *Pasteurella multocida* yang digunakan untuk ujiantang.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Penelitian tentang Uji Tantang *Pasteurella multocida* pada ayam yang telah divaksinasi terhadap Fowl Cholera maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Vaksinasi dapat menimbulkan antibodi mulai minggu ke I setelah vaksinasi, meningkat pada minggu ke II, III, IV dan mencapai puncaknya pada minggu ke V. Titer antibodi mulai turun pada minggu ke VI setelah vaksinasi.
2. Vaksinasi dapat melindungi ayam dari kematian setelah dilakukan uji tantang dengan suspensi kuman *Pasteurella multocida* dengan dosis 1 ml intramuskuler, persentase ayam yang masih hidup pada minggu ke II sebanyak 50%, minggu ke IV sebanyak 80%, dan minggu ke VI sebanyak 60%.
3. Terdapat korelasi yang positif antara titer antibodi ayam yang divaksin dengan jumlah ayam yang hidup setelah ditantang suspensi kuman *Pasteurella multocida*.

Saran

Berdasarkan penelitian ini, dapat disarankan beberapa hal:

1. Perlu dilakukan vaksinasi lanjutan atau vaksinasi kedua, 5 minggu setelah vaksinasi pertama yaitu pada waktu titer antibodi menurun.
2. Perlu dilakukan penelitian mengenai tingkat kepekaan ayam pedaging pada berbagai umur terhadap kuman *Pasteurella multocida*.
3. Para peternak ayam diharapkan memperhatikan upaya pencegahan penyakit salah satunya dengan cara vaksinasi.

BAB VII

RINGKASAN

DYAH ANGGRAINI. Uji Tantang *Pasteurella multocida* pada ayam yang telah divaksinasi terhadap Fowl Cholera (dibawah bimbingan Didik Handijatno, M.S., Drh. sebagai pembimbing pertama dan Djoko Galiono, M.S., Drh. sebagai pembimbing kedua).

Tujuan penelitian ini ialah untuk mengetahui seberapa besar pengaruh vaksinasi dalam melindungi ayam pedaging dari infeksi *Pasteurella multocida*.

Penelitian ini menggunakan ayam pedaging jenis CP 707 sebanyak 90 ekor, 30 ekor untuk penentuan LD₅₀, 30 ekor untuk perlakuan (divaksin), dan 30 ekor untuk kontrol (tanpa divaksin). Pada penentuan LD₅₀, 30 ekor ayam dibagi menjadi 6 kelompok sama banyak. Masing-masing kelompok mendapat suntikan kuman *Pasteurella multocida* dari 10⁰ sampai 10⁵ dosis 1 ml intramuskuler. Diperoleh hasil LD₅₀ adalah 10^{2,667} per ml dengan jumlah kuman 3,4 x 10^{6,333} sel per ml.

Pada peneraan titer antibodi masing-masing kelompok diambil 10 ekor secara acak untuk ditera titer antibodinya setiap minggu sampai minggu ke VI setelah vaksinasi.

Titer antibodi telah terbentuk pada minggu ke I setelah vaksinasi, dengan GMT antibodi (\log_2) diketahui bahwa titer antibodi tertinggi pada minggu ke V, terendah pada minggu ke I dan menurun pada minggu ke VI.

Kekebalan pada ayam pedaging diuji dengan melakukan ujiantang kuman *Pasteurella multocida* secara intramuskuler dengan dosis 1 ml (LD_{50}) pada minggu ke II, IV, dan VI setelah vaksinasi. Titer antibodi yang dihasilkan cukup tinggi, sehingga mampu melindungi ayam sebesar 80% pada minggu ke IV setelah vaksinasi. Hal ini kemungkinan dapat disebabkan galur *Pasteurella multocida* yang digunakan untuk vaksin dan untuk ujiantang ayam adalah sama. Maka pencegahan penyakit Kolera Unggas secara vaksinasi dianjurkan dan disarankan untuk melakukan vaksinasi ulang 5 minggu setelah vaksinasi pertama.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 1982. Pedoman Pengendalian Penyakit Hewan Menular, Jilid IV. Direktorat Kesehatan Hewan, Dirjen. Peternakan, Dep. Pertanian, Jakarta. 70-80.
- Anonimus. 1986. Aspek-aspek Imunologi dari Penyakit Ayam Yang Sering Ditemukan pada Peternakan Ayam Ras di Indonesia. Technical Service. Departement Eurindo Combined p.t. Veterinary Division. 9-11.
- Bruner, D. W. and J.H. Gillespie. 1973. Hagan's Infectious Diseases of Domestic Animals. 6th ed. ✓
Cornell University Press, Ithaca and London.
173-183.
- Carter. G. P. and S. W. Rundell. 1975. Identification of type A S train of *Pasteurella multocida* using Staphylococcal hyaluronidase. The Vet. Rec. 97 : 343. ✓
- Curtis, P. 1987. Poultry Diseases. 2nd ed. Liverpool ✓
University Press, Liverpool. 42 - 43.
- Fraser, C.M. 1986. The Merck Veterinary Manual. Merck and Co. Inc., Rahway, N.J., U.S.A. 1278 - 1279.
- Gordon, R. F. and F.T.W. Jordan. 1982. Poultry Diseases. 2nd ed. Bailliere Tindall, London. 286-298. ✓
- Hitchner, S. B., C. H. Domermuth., H. G. Purchase and J. E. Williams. 1975. Isolation and Identification of Avian Pathogens. Arnold Printing Cooperation, Ithaca, New York. ✓
- Hofstad, M. S., C. H. Barnes., B. W. Calnek., W. M. Reid and H.W. Yoder, Jr. 1984. Diseases of Poultry. 8 th ✓
ed. Iowa States University Press, Ames, Iowa, U.S.A.
141 - 164.
- Hungerford, T.G. 1969. Disease of Poultry. 4th ed. Cage Birds and Pigeon. Angus Robertson. Sidney. London. Melbourne. 286 - 298.
- Jawetz, E., J. L. Melnik and E.A. Adelberg. 1984. Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan. Edisi 16. ✓
Terjemahan Tinang, H. EGC Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta. 150-153.

- Kusriningrum. 1989. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. 151-155.
- Merchant, I. A. and R. A. Packer. 1971. Veterinary Bacteriology and Virology. 7th ed. Iowa States University Press, Ames Iowa. 335-343. ✓
- Rice, J. T., J. W. Dick and B. W. Bierer. 1977. New Subcutaneous Vaccination of Chickens with a Live, Avirulent *Pasteurella multocida* Vaccine. Poultry Science 57 : 1514-1518.
- Schlink, G. T. and L. D. Olson. 1979. A Microtiter Agglutination Test for Anti *Pasteurella multocida* Antibodies in Turkeys. Avian Disease 24 : 1066 - 1071.
- Seneviratna, P. 1969. Diseases of Poultry (Including Cage Birds). 2nd ed. John Wright and Sons Ltd., Bristol. ✓
57-61.
- Sudjana. 1986. Metoda Statistik, 4th ed. Penerbit Tarsito, Bandung. 368-376.
- Syamsudin, A. 1972. Kepekaan Beberapa Hewan Percobaan Terhadap *Pasteurella multocida* Strain Kupang. Bull. LPPH. 3 (3-4) : 1 - 5.
- Syamsudin, A. 1987. Tingkat Kepekaan Hewan Percobaan Terhadap *Pasteurella multocida* Penyebab Kolera Unggas. Bull. LPPH. 19 (33) : 1-2.
- Tizard. 1988. Pengantar Imunologi Veteriner, 2th ed. Airlangga University Press.

Lampiran 1. Penentuan Maternal Antibodi pada Ayam Pedaging
Sebanyak 90 ekor

No . Ayam	No . Ayam	No . Ayam
1 . -	31 . -	51 . -
2 . -	32 . -	52 . -
3 . -	33 . -	53 . -
4 . -	34 . -	54 . -
5 . -	35 . -	55 . -
6 . -	36 . -	56 . -
7 . -	37 . -	57 . -
8 . -	38 . -	58 . -
9 . -	39 . -	59 . -
10 . -	40 . -	60 . -
11 . -	41 . -	71 . -
12 . -	42 . -	72 . -
13 . -	43 . -	73 . -
14 . -	44 . -	74 . -
15 . -	45 . -	75 . -
16 . -	46 . -	76 . -
17 . -	47 . -	77 . -
18 . -	48 . -	78 . -
19 . -	49 . -	79 . -
20 . -	50 . -	80 . -
21 . -	51 . -	81 . -
22 . -	52 . -	82 . -
23 . -	53 . -	83 . -
24 . -	54 . -	84 . -
25 . -	55 . -	85 . -
26 . -	56 . -	86 . -
27 . -	57 . -	87 . -
28 . -	58 . -	88 . -
29 . -	59 . -	89 . -
30 . -	60 . -	90 . -

Keterangan : + = terjadi aglutinasi

- = tidak terjadi aglutinasi

Lampiran 2. Penentuan LD_{50} dari *Pasteurella multocida* pada Ayam Pedaging⁵⁰ dengan Dosis 1 ml Intramuskuler

Pengenceran	Hasil Individu		Hasil Kumulatif		Persentase
	Hidup	Mati	Hidup	Mati	
10^0	0	5	0	16	100
10^{-1}	1	4	1	11	91,67
10^{-2}	2	3	3	7	70
10^{-3}	3	2	6	4	40
10^{-4}	4	1	10	2	16,76
10^{-5}	4	1	14	1	6,67

$$PD = \frac{\% \text{ kematian di atas } 50\% - 50\%}{\% \text{ kematian di atas } 50\% - \% \text{ kematian di bawah } 50\%}$$

$$= \frac{70\% - 50\%}{70\% - 40\%} = 0,667$$

$$\begin{aligned} \text{Pengenceran End Point } 50\% &= \text{Pengenceran di atas } 50\% - PD \\ &= -2 - 0,667 \\ &= -2,667 \\ &= 10^{-2,667} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} LD_{50} &= \frac{1}{EP_{50\%}} \times \text{dosis/ml} \\ &= \frac{1}{10^{-2,667}} \times 1/\text{ml} = 10^{2,667} \end{aligned}$$

$$1 \text{ ml suspensi kuman} = 10^{2,667} LD_{50} \text{ dengan jumlah kuman } 3,4 \times 10^{6,333} \text{ sel.}$$

Lampiran 3. Titer Antibodi (\log_2) Hasil Vaksinasi pada Ayam Pedaging selama 6 Minggu setelah Vaksinasi

Ulangan	Perlakuan						Kontrol					
	I	II	III	IV	V	VI	I	II	III	IV	V	VI
1	2	6	6	8	9	8	2	2	3	1	3	2
2	1	4	7	9	9	9	1	0	0	2	2	1
3	3	3	7	8	9	7	0	1	1	1	1	2
4	2	5	6	9	8	9	2	1	2	0	1	3
5	2	4	8	9	9	7	1	3	0	3	1	0
6	1	4	7	8	9	6	0	0	2	1	2	1
7	1	4	8	9	8	9	2	2	1	2	1	2
8	2	5	7	7	9	8	1	1	2	1	1	1
9	3	5	8	9	9	7	2	1	1	2	2	2
10	2	5	8	9	9	8	1	2	1	0	2	0
Jumlah	19	44	72	85	88	78	12	13	13	11	17	14

Lampiran 4. Geometric Mean Titer Antibodi (\log_2) pada Ayam Pedaging Selama 6 Minggu Setelah² Vaksinasi

Minggu	Perlakuan	Kontrol
I	1,9	1,2
II	4,4	1,3
III	7,2	1,3
IV	8,5	1,3
V	8,8	1,7
VI	7,8	1,4

Lampiran 5. Hasil Uji Tantang *Pasteurella multocida* pada Ayam Pedaging Minggu ke II, IV dan VI setelah Vaksinasi

Ulangan	Perlakuan			Kontrol		
	II	IV	VI	II	IV	VI
1	-	-	-	-	-	-
2	+	-	-	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+
4	-	-	-	+	+	-
5	+	-	+	-	-	+
6	+	-	+	+	+	+
7	+	-	-	+	+	+
8	-	+	-	+	+	+
9	-	-	-	-	+	-
10	-	-	+	+	+	+

Keterangan :

+ = Ayam yang mati

- = Ayam yang hidup

Lampiran 6. Penghitungan Statistik terhadap Titer Antibodi (\log_2) Hasil Vaksinasi selama 6 Minggu Setelah Vaksinasi

Minggu (A)	Perlakuan (B)	Ulangan										Jumlah
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
I	Vaksinasi	2	1	3	2	2	1	1	2	3	2	19
	Tanpa Vaksinasi	2	1	0	2	1	0	2	1	2	1	12
	Jumlah	4	2	3	4	3	1	3	3	5	3	31
II	Vaksinasi	5	4	3	5	4	4	4	5	5	5	44
	Tanpa Vaksinasi	2	0	1	1	3	0	2	1	1	2	13
	Jumlah	7	4	4	6	7	4	6	6	6	7	57
III	Vaksinasi	6	7	7	6	8	7	8	7	8	8	72
	Tanpa Vaksinasi	3	0	1	2	0	2	1	2	1	1	13
	Jumlah	9	7	8	8	8	9	9	9	9	9	85
IV	Vaksinasi	8	9	8	9	9	8	9	7	9	9	85
	Tanpa Vaksinasi	1	2	1	0	3	1	2	1	2	0	13
	Jumlah	9	11	9	9	12	9	11	8	11	9	98
V	Vaksinasi	9	9	9	8	9	9	8	9	9	9	88
	Tanpa Vaksinasi	3	2	1	0	2	2	1	1	2	2	17
	Jumlah	12	11	10	9	11	11	9	10	11	11	105
VI	Vaksinasi	8	9	7	9	7	6	9	8	7	8	78
	Tanpa Vaksinasi	2	1	2	3	0	1	2	1	2	0	14
	Jumlah	10	10	9	12	7	7	11	9	9	8	92
Jumlah seluruh		51	53	43	48	48	41	49	45	51	47	468

Hubungan Antara Minggu setelah Vaksinasi dengan perlakuan

Minggu	Vaksinasi	Tanpa Vaksinasi	Jumlah
I	19	12	31
II	44	13	57
III	72	13	85
IV	85	13	98
V	88	17	105
VI	78	14	92
Jumlah	386	82	468

$$FK = \frac{(468)^2}{120} = 1825,2$$

$$JKA = \frac{(31)^2 + (57)^2 + (85)^2 + (98)^2 + (105)^2 + (92)^2}{20} - 1825,2$$

$$= 201,2$$

$$JKT_1 = \frac{(4)^2 + (2)^2 + (3)^2 \dots + (9)^2 + (9)^2 + (8)}{2} - 1825,2$$

$$= 239,8$$

$$JKS_{(a)} = 239,8 - 201,2 = 38,6$$

$$JKB = \frac{(386)^2 + (82)^2}{60} - 1825,2 = 770,13$$

$$JKAB = (19)^2 + (44)^2 + (72)^2 + \dots (17)^2 + (14)^2 - 1825,2 - 201,2 - 770,13 = 170,47$$

$$JKT_2 = (2)^2 + (1)^2 + (3)^2 + \dots (1)^2 + (2)^2 (0)^2 - 1825,2$$

$$= 1214,8$$

$$JKS_{(b)} = 1214,8 - 239,8 - 770,13 - 170,47 = 34,4$$

Daftar Sidik Ragam

Sidik Keragaman (SK)	db	JK	KT	F hitung	F Tabel	
					0,05	0,01
Analisis Petak Utama						
Minggu (Faktor A)	5	201,2	40,24	56,28**	2,39	3,38
Sisa (a)	54	38,6	0,715			
Total (1)	59	239,8				
Analisis Anak Petak						
Perlakuan (Faktor B)	1	770,13	770,13	1208,995**	4,02	7,13
Interaksi A x B	5	170,47	34,094	53,523**	2,39	3,38
Sisa (b)	54	34,4	0,637			
Total (2)	119	1214,8				

** Beda sangat nyata

Perlakuan vaksinasi dan tanpa vaksinasi berbeda sangat nyata ($P < 0,01$). Terdapat interaksi ($P < 0,01$).

$$\begin{aligned} \text{BNT } 5\% &= t \text{ } 5\% \text{ (db)} \times \sqrt{\frac{2\text{KTS}}{n}} \\ &= 2,005 \times \sqrt{\frac{2(0,637)}{10}} = 0,72 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT } 1\% &= t \text{ } 1\% \text{ (db)} \times \sqrt{\frac{2\text{KTS}}{n}} \\ &= 2,670 \times \sqrt{\frac{2(0,637)}{10}} = 0,98 \end{aligned}$$

Minggu	Rata-rata	Beda				
	(\bar{X})	($\bar{X} - \text{I}$)	($\bar{X} - \text{II}$)	($\bar{X} - \text{III}$)	($\bar{X} - \text{VI}$)	($\bar{X} - \text{IV}$)
V a	8,8	6,9**	4,4**	1,6**	1,0**	0,3
IV ab	8,5	6,6**	4,1**	1,3**	0,7	
VI bc	7,8	5,9**	3,4**	0,6		
III c	7,2	5,3**	2,8**			
II d	4,4	2,5**				
I e	1,9					

Keterangan :

** = Beda sangat nyata.

Lampiran 7. Perhitungan Statistik Hasil Uji Tantang Kuman *Pasteurella multocida* pada Ayam Pedaging Setelah Vaksinasi dengan Uji Chi Square (χ^2).

Hasil yang akan diuji :

Ho : Tidak terdapat perbedaan yang nyata hasil Uji Tantang kuman *Pasteurella multocida* antara kelompok perlakuan dan kontrol.

H1 : Terdapat perbedaan nyata hasil uji tantang kuman *Pasteurella multocida* antara kelompok perlakuan dan kontrol.

Rumus mencari Chi-Square :

$$\chi^2 = \frac{n \left\{ (|ad - bc| - 1/2 (n)) \right\}^2}{(a+b) (a+c) (b+d) (c+d)}$$

Data hasil uji tantang kuman *Pasteurella multocida* minggu ke II setelah vaksinasi antara kelompok perlakuan dan kontrol

Kelompok	Ayam yang mati	Ayam yang hidup	Jumlah
Perlakuan	5	5	10
Kontrol	7	3	10
Jumlah	12	8	20

$$X^2 = \frac{n \left\{ (|ad - bc|) - 1/2 (n) \right\}^2}{(a+b) (a+c) (b+d) (c+d)}$$

$$\frac{20 \left\{ (|15 - 35|) - 1/2 (20) \right\}^2}{(10) (20) (10) (8)} = \frac{2000}{9600} = 0,208$$

$$\text{derajat bebas (db)} = n - 1 = 2 - 1 = 1$$

$$X^2 \text{ tabel : } X^2_{(1-0,05) (1)} = X^2_{(0,95) (1)} = 3,84$$

$$X^2_{(1-0,01) (1)} = X^2_{(0,99) (1)} = 6,63$$

Didapatkan X^2 hitung lebih kecil dari $X^2_{0,05}$ dan $X^2_{0,01}$, maka tidak terdapat perbedaan yang nyata hasil uji tantang kuman *Pasteurella multocida* pada ayam minggu II setelah vaksinasi antara kelompok perlakuan dan kontrol.

Data hasil uji tantang kuman *Pasteurella multocida* minggu ke IV setelah vaksinasi antara kelompok perlakuan dan kontrol

Kelompok	Ayam yang mati	Ayam yang hidup	Jumlah
Perlakuan	2	8	10
Kontrol	8	2	10
Jumlah	10	10	20

$$\chi^2 = \frac{n \left\{ (|ad - bc|) - 1/2 (n) \right\}^2}{(a+b) (a+c) (b+d) (c+d)}$$

$$\frac{20 \left\{ (|4 - 64|) - 1/2 (20) \right\}^2}{(10) (10) (10) (10)} = \frac{50000}{10000} = 5,00$$

$$\text{derajat bebas (db)} = n - 1 = 2 - 1 = 1$$

$$\chi^2 \text{ tabel : } \chi^2_{(0,95) (1)} = 3,84$$

$$\chi^2_{(0,99) (1)} = 6,63$$

Didapatkan χ^2 hitung lebih besar dari $\chi^2_{(0,05)}$ tetapi lebih kecil dari $\chi^2_{(0,01)}$, maka terdapat perbedaan yang nyata hasil ujiantang kuman *Pasteurella multocida* pada ayam minggu ke IV setelah vaksinasi antara kelompok perlakuan dan kontrol.

Data hasil ujiantang kuman *Pasteurella multocida* minggu ke VI setelah vaksinasi antara kelompok perlakuan dan kontrol

Kelompok	Ayam yang mati	Ayam yang hidup	Jumlah
Perlakuan	4	6	10
Kontrol	7	3	10
Jumlah	11	9	20

$$\chi^2 = \frac{n \left\{ (|ad - bc|) - 1/2 (n) \right\}^2}{(a+b) (a+c) (b+d) (c+d)}$$

$$\frac{20 \left\{ (|12 - 42|) - 1/2 (20) \right\}^2}{(10) (11) (10) (9)} = \frac{8000}{9900} = 0,808$$

$$\text{derajat bebas (db)} = n - 1 = 2 - 1 = 1$$

$$\chi^2 \text{ tabel : } \chi^2_{(0,95) (1)} = 3,84$$

$$\chi^2_{(0,99) (1)} = 6,63$$

Didapatkan χ^2 hitung lebih kecil dari $\chi^2_{(0,05)}$ dan $\chi^2_{(0,01)}$ maka tidak terdapat perbedaan yang nyata hasil uji tantang kuman *Pasteurella multocida* pada ayam minggu ke VI setelah vaksinasi antara kelompok perlakuan dan kontrol.

Lampiran 8. Analisis Data dengan Uji Korelasi Hubungan Antara Titer Antibodi (\log_2) dengan Hasil Uji Tantang Kuman pada Ayam yang Divaksin

No.	Titer Antibodi (\log_2) pada minggu ke			Ayam yang diinfeksi pada minggu ke		
	II (X_1)	III (X_2)	IV (X_3)	II (Y_1)	III (Y_2)	IV (Y_3)
1.	5	8	8	-	-	-
2.	4	9	9	+	-	-
3.	3	8	7	+	+	+
4.	5	9	9	-	-	-
5.	4	9	7	+	-	+
6.	4	8	6	+	-	+
7.	4	9	9	+	-	-
8.	5	7	8	-	+	-
9.	5	9	7	-	-	-
10.	5	9	8	-	-	+
Total	44	85	78	5	8	6

Keterangan : + = mati

- = hidup

$$\sum X_i = 44 + 85 + 78 = 207$$

$$\bar{X} = \frac{207}{10} = 20,7$$

$$\sum Y_i = 5 + 8 + 6 = 19$$

$$\bar{Y} = \frac{19}{10} = 1,9$$

$$\sum X_i Y_i = (44 \times 5) + (85 \times 8) + (78 \times 6) = 1368$$

$$\sum X_i^2 = (44)^2 + (85)^2 + (78)^2 = 15245$$

$$\sum Y_i^2 = (5)^2 + (8)^2 + (6)^2 = 125$$

$$r = \frac{n \sum X_i Y_i - (\sum X_i) (\sum Y_i)}{\sqrt{\{n \sum X_i^2 - (\sum X_i)^2\} \{n \sum Y_i^2 - (\sum Y_i)^2\}}}$$

$$= \frac{10 \times 1368 - (207) (19)}{\sqrt{\{10 \times 15245 - (207)^2\} \{10 \times 125 - (19)^2\}}}$$

$$= \frac{13680 - 3933}{\sqrt{(152450 - 42849) (1250 - 361)}}$$

$$= \frac{9747}{\sqrt{(109601) (889)}}$$

$$= \frac{9747}{\sqrt{97435289}} = \frac{9747}{9870,932} = 0,987$$

$$r \text{ tabel} = r_{0,05} = 0,632$$

$$= r_{0,01} = 0,765$$

Didapatkan r hitung lebih besar dari $r_{5\%}$ dan $r_{1\%}$, maka terdapat hubungan yang sangat nyata ($P < 0,01$) hasil titer antibodi (\log_2) dengan hasil ujiantang kuman pada ayam yang hidup pada kelompok perlakuan.

Analisis regresi

$$b = \frac{n \sum X_i Y_i - (\sum X_i) (\sum Y_i)}{n \sum X_i^2 - (\sum X_i)^2}$$

$$= \frac{10 \times 1368 - (207) (19)}{10 \times 15245 - (207)^2}$$

$$= \frac{13680 - 3933}{152450 - 42849}$$

$$= \frac{9747}{109601} = 0,0889$$

$$a = \frac{(\sum Y_i) (\sum X_i) - (\sum X_i) (\sum X_i Y_i)}{n \sum X_i^2 - (\sum X_i)^2}$$

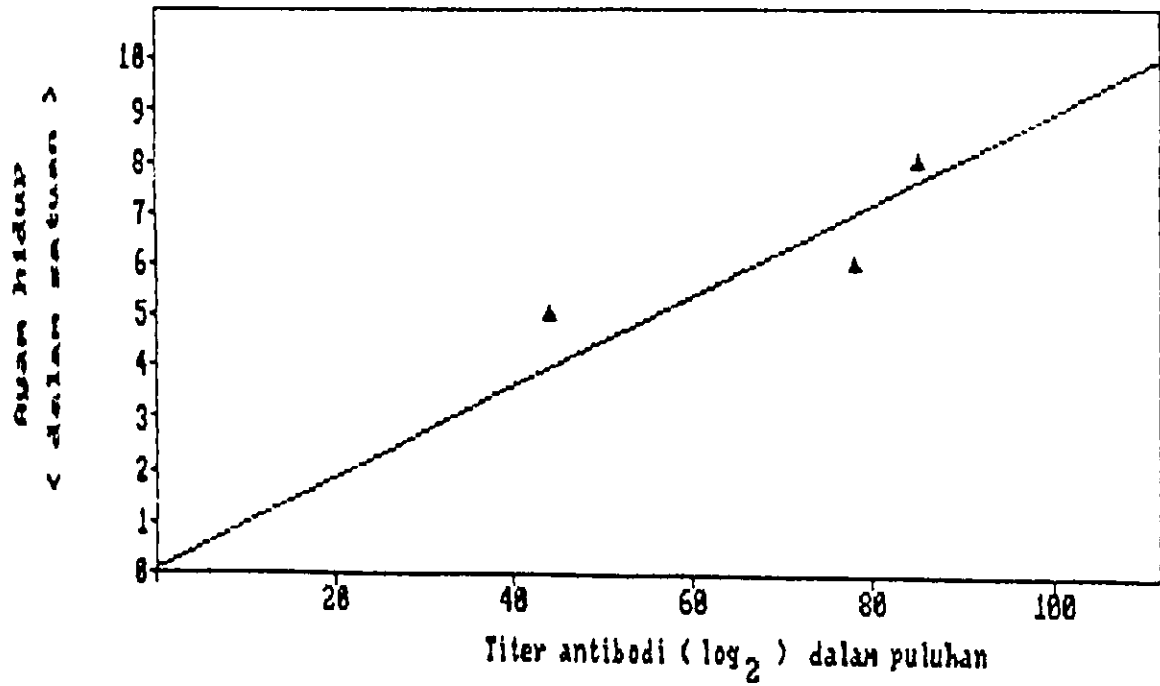
$$= \frac{(19) (15245) - (207) (1368)}{10 \times (15245) - (207)^2}$$

$$= \frac{289655 - 283176}{152450 - 42849}$$

$$= \frac{6479}{109601} = 0,00591$$

$$\hat{y} = a + bX$$

$$\hat{y} = 0,0591 + 0,0889 X \longrightarrow \text{garis regresi}$$



Gambar 3. Hubungan Antara Titer Antibodi (log) dengan Hasil Uji Tantang Kuman *Pasteurella multocida* pada Ayam Pedaging yang Divaksin.