

SKRIPSI

**EFEK BERBAGAI TINGKAT PROTEIN PAKAN TERHADAP
TITER ANTIBODI AYAM PETELUR JANTAN YANG
DIVAKSIN ND (*Newcastle Disease*)**



Oleh :

TRY NUGRAHAWATY
MERAUKE - IRIAN JAYA

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2002**

**EFEK BERBAGAI TINGKAT PROTEIN PAKAN TERHADAP
TITER ANTIBODI AYAM PETELUR JANTAN YANG
DIVAKSIN ND (*Newcastle Disease*)**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh :

TRY NUGRAHAWATY
NIM. 069712431

Menyetujui,
Komisi Pembimbing,



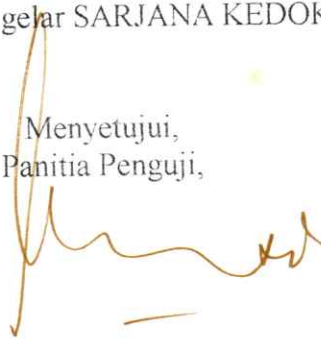
Romziah Sidik, Ph.D., drh
Pembimbing Pertama



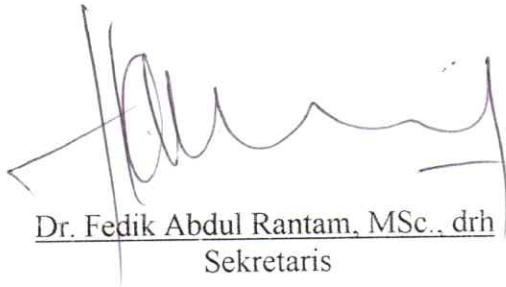
Jola Rahmahani, MKes., drh
Pembimbing Kedua

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

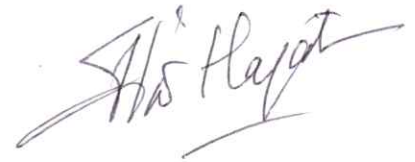
Menyetujui,
Panitia Penguji,




Prof. Dr. Mustahdi Surjoatmodjo, MSc., drh
Ketua



Dr. Fedik Abdul Rantam, MSc., drh
Sekretaris



Tri Nurhajati, MS., drh
Anggota




Romziah Sidik, Ph.D., drh
Anggota



Jola Rahmahani, MKes., drh
Anggota

Surabaya, 11 April 2002
Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga
Dekan,




Dr. Ismudiono, MS., drh
NIP. 130 687 297

EFEK BERBAGAI TINGKAT PROTEIN PAKAN TERHADAP TITER ANTIBODI AYAM PETELUR JANTAN YANG DIVAKSIN ND (*Newcastle Disease*)

TRY NUGRAHAWATY

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek berbagai tingkat protein pakan terhadap titer antibodi ayam petelur jantan yang divaksin ND (*Newcastle Disease*).

Tiga puluh ekor anak ayam petelur jantan produksi PT Charoen Pokphand berumur sehari digunakan dalam penelitian ini. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terbagi menjadi tiga perlakuan dan 10 ulangan. Peubah yang diamati adalah titer antibodi 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu setelah vaksinasi.

Perlakuan yang diberikan adalah sebagai berikut : kelompok 1 (P1), diberikan pakan percobaan dengan tingkat protein rendah 16%, kelompok 2 (P2), diberikan pakan percobaan dengan tingkat protein sedang 20% dan kelompok 3 (P3), diberikan pakan percobaan dengan tingkat protein tinggi 26%. Perlakuan diberikan pada saat anak ayam berumur 28 hari hingga akhir penelitian. Vaksinasi ND dilakukan 1 kali, pada waktu ayam berumur 35 hari dengan vaksin ND aktif strain Hitchner B1 secara tetes mata.

Pengukuran titer antibodi dilakukan pada waktu ayam berumur 28 hari untuk deteksi antibodi maternal, 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu setelah vaksinasi. Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan analisis varian satu arah, bila dijumpai perbedaan dilanjutkan dengan Duncan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi tingkat protein pakan yang diberikan mulai dari 16%, 20% dan 26% maka semakin tinggi titer antibodi yang diperoleh setelah vaksinasi ND.

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala berkat dan rahmatNya, sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan.

Skripsi ini disusun berdasarkan penelitian bahwa protein yang cukup diperlukan ayam untuk memenuhi kebutuhan dalam membangun dan memperbaiki sel tubuh, proses metabolisme maupun untuk penyusunan enzim serta hormon. Protein dan asam amino juga diperlukan dalam perkembangan organ yang berperan pada sistem kekebalan baik kekebalan seluler maupun humoral. Hal ini dimungkinkan karena protein merupakan bahan penyusun sel dan antibodi.

Kekurangan protein dalam jangka waktu lama, berakibat pada lemahnya mekanisme pertahanan seluler dan rendahnya produksi antibodi. Hal ini merupakan kendala yang perlu diatasi, mengingat kondisi demikian membuat ayam menjadi lebih peka terhadap berbagai jenis penyakit termasuk penyakit ND (*Newcastle Disease*).

Telah dilakukan serangkaian percobaan untuk mengetahui efek berbagai tingkat protein pakan terhadap titer antibodi ayam petelur jantan yang divaksin ND, yang hasilnya dituangkan dalam tulisan ini.

Pada kesempatan ini dengan hormat penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada Ibu Romziah Sidik, Ph.D., drh selaku pembimbing pertama dan Ibu Jola Rahmahani, MKes., drh selaku pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu serta memberikan saran dan bimbingannya.

Kepada Bapak, Ibu, Kakak dan Adik tercinta, ucapan terima kasih atas bantuannya selama ini baik moril maupun materiil.

Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan dan saran sehingga penulis dapat melakukan penelitian dengan baik. Semoga amal dan kebaikannya mendapat imbalan yang setimpal dari Allah SWT.

Akhirnya, penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna, untuk itu saran dan kritik selalu penulis harapkan demi penyempurnaannya. Akhir kata semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi yang memerlukannya.

Surabaya, April 2002

Penulis

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Masalah	1
1.2. Landasan Teori	3
1.3. Perumusan Masalah	4
1.4. Tujuan Penelitian	4
1.5. Manfaat Penelitian	4
1.6. Hipotesis Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Protein	5
2.1.1. Protein Pakan	7
2.1.2. Protein Serum	13
2.2. Respon Imun Humoral dan Sintesis Antibodi	14
2.3. Hubungan Protein dan Kekebalan	17
2.4. <i>Newcastle Disease</i> (ND)	18
BAB III. MATERI DAN METODE	22
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	22
3.2. Materi Penelitian	22
3.2.1. Hewan Percobaan	22
3.2.2. Bahan Penelitian	22
3.2.3. Alat Penelitian	23

3.3. Metode Penelitian	23
3.3.1. Persiapan Penelitian	23
3.3.2. Perlakuan pada Hewan Percobaan	24
3.3.3. Cara Mendapatkan Serum	25
3.3.4. Cara Pembuatan Eritrosit 0,5%	25
3.3.5. Uji Hemaglutinasi (HA) Mikrotiter	26
3.3.6. Retitrasi Antigen 4 HA Unit	27
3.3.7. Uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI) Mikroteknik	27
3.4. Rancangan Penelitian	28
3.5. Peubah yang Diamati	28
3.6. Analisis Data	29
BAB IV. HASIL PENELITIAN	30
BAB V. PEMBAHASAN	34
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	39
6.1. Kesimpulan	39
6.2. Saran	39
RINGKASAN	40
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	46

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Karakteristik nutrisi pakan ayam petelur	9
2. Asam-asam amino esensial dan tidak esensial untuk unggas	11
3. Rata-rata titer antibodi terhadap vaksin ND dengan pengaruh protein pakan yang berbeda 1 minggu pasca vaksinasi	30
4. Rata-rata titer antibodi terhadap vaksin ND dengan pengaruh protein pakan yang berbeda 2 minggu pasca vaksinasi	31
5. Rata-rata titer antibodi terhadap vaksin ND dengan pengaruh protein pakan yang berbeda 3 minggu pasca vaksinasi	31
6. Rata-rata titer antibodi terhadap vaksin ND dengan pengaruh protein pakan yang berbeda 4 minggu pasca vaksinasi	32

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Proses pencernaan protein pada sistem pencernaan ayam	12
2. Grafik rata-rata titer antibodi 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu setelah vaksinasi ND pada kelompok perlakuan dan kontrol.	33

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Kandungan nutrisi bahan pakan terpilih	46
2. Komposisi bahan premix	47
3. Komposisi pakan perlakuan	48
4. Data dan analisis statistik titer antibodi dan berat badan satu minggu sebelum vaksinasi (umur 28 hari)	49
5. Data titer antibodi 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu setelah vaksinasi ND pada kelompok perlakuan dan kontrol.	50
6. Analisis statistik titer antibodi 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu setelah vaksinasi ND pada kelompok perlakuan dan kontrol.	51
7. Hasil analisa bahan pakan	54

BAB I

PENDAHULUAN

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Keberhasilan peternak unggas dapat tercapai apabila ayam-ayam yang dipeliharanya terhindar dari gejala kemungkinan cekaman. Cekaman dalam segala bentuk selalu menimbulkan kesulitan-kesulitan dalam peternakan ayam. Dalam tata laksana peternakan, yang termasuk cekaman di antaranya adalah penyakit dan defisiensi salah satu zat makanan (Wahju, 1985).

Di antara penyakit yang dapat menyebabkan kematian yang sangat tinggi dan penurunan produksi ternak ayam di Indonesia adalah ND (*Newcastle Disease*) (Ditjen Peternakan, 1981). Usaha pengendalian dengan vaksinasi ND masih tetap diyakini sebagai cara paling ampuh mencegah serangan penyakit ND di peternakan ayam. Berdasarkan pengalaman di Indonesia bahwa vaksinasi untuk melawan ND tidak selalu efektif (Ronohardjo, 1980). Salah satu penyebab kasus ND pada ayam yang telah divaksinasi adalah rendahnya titer antibodi (Poultry Indonesia, 1992).

Kekurangan gizi dapat mengganggu setiap mekanisme yang bekerja mencegah masuknya virus dan perkembangan virus ke seluruh tubuh. Telah berulang kali diamati bahwa kekurangan gizi yang serius akan mengganggu produksi antibodi dan respon imun berperantara sel pada aktivitas fagosit melepas interferon di mana interferon adalah suatu glikoprotein yang dilepas sebagai respon terhadap infeksi virus (Fenner *et al.*, 1998).

Kekurangan protein, vitamin dan mineral akan menyebabkan berkurangnya respon imun dan kondisi imunodefisiensi ini secara nyata telah menyebabkan kegagalan vaksinasi ND pada ayam (Daniel *et al.*, 1993). Hal ini sesuai dengan pernyataan Rudyanto dan Untung (1997), bahwa selain vaksinasi, strategi pencegahan penyakit ND juga meliputi sanitasi yang baik dan pemberian pakan yang berkualitas.

Kekurangan protein atau *intake* protein rendah dalam waktu lama akan menyebabkan berkurangnya sintesis imunoglobulin (Ig), sebagai akibat kurang berkembangnya sistem imun tubuh. Hal ini merupakan kendala yang perlu diatasi, mengingat kondisi demikian dapat membuat ayam lebih peka terhadap berbagai jenis penyakit, termasuk penyakit ND (Al Arif, 1997). Pernyataan tersebut sejalan dengan yang dikemukakan oleh Subowo (1993), bahwa defisiensi protein bila terjadi dalam waktu yang cukup lama akan mengakibatkan pengecilan organ limfoid juga menyebabkan ayam menjadi lebih rentan terhadap penyakit.

Protein yang cukup, diperlukan ayam untuk memenuhi kebutuhan dalam membangun dan memperbaiki sel tubuh, proses metabolisme, maupun untuk menyusun enzim serta hormon yang diperlukan tubuh (Anggorodi, 1985). Protein dan asam-asam amino juga diperlukan dalam perkembangan organ yang berperan pada sistem kekebalan, baik kekebalan seluler maupun humoral. Hal ini dimungkinkan karena protein merupakan bahan penyusun sel dan antibodi (Tillman dkk., 1991).

Sehubungan dengan hal tersebut, maka penulis tertarik untuk melakukan suatu penelitian mengenai efek berbagai tingkat protein pakan terhadap titer antibodi pada ayam petelur.

1.2. Landasan Teori

Protein, Karbohidrat, Lemak, Vitamin dan Mineral sangat esensial untuk pertumbuhan maupun pemeliharaan tubuh. Perubahan secara kuantitatif dan kualitatif terhadap komponen unsur gizi secara nyata berpengaruh terhadap sistem imun. Adanya defisiensi atau kelebihan unsur gizi dapat mempengaruhi sintesis molekul yang berfungsi mengatur imunitas (Dubey and Yunis, 1996).

Kekurangan protein dalam jangka waktu lama, berakibat pada lemahnya mekanisme pertahanan seluler dan rendahnya produksi antibodi (Maynard *et al.*, 1979 ; Woodward, 1998). Pada keadaan ini jumlah limfosit T, limfosit B, sel plasma dan antibodi akan menurun (Keith and Jeejebhoy, 1997). Keterangan tambahan dikemukakan oleh Valbuena *et al.* (1996) yaitu bahwa pada penderita kekurangan protein terjadi penurunan jumlah imunoglobulin (IgG, IgA, IgM), komplemen C3 dan C4 serta limfosit. Sedangkan Bounous (1991), berpendapat bahwa terdapat hubungan antara diet protein tinggi dengan meningkatnya tripeptida glutathion jaringan yang diketahui bahwa tripeptida glutathion mempunyai fungsi sangat penting dalam menetralisasi radikal bebas serta metabolik berbahaya lainnya dan meningkatkan respon imun humoral.

1.3. Perumusan Masalah

Berdasarkan pada latar belakang yang telah diuraikan, maka dikemukakan suatu rumusan masalah yakni apakah tingkat protein pakan yang berbeda mempunyai efek terhadap titer antibodi ayam petelur jantan yang divaksin ND ?

1.4. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian pakan dengan tingkat protein rendah 16%, sedang 20% dan tinggi 26% terhadap titer antibodi ayam petelur jantan yang divaksin ND.

1.5. Manfaat Penelitian

Dapat diketahui efek berbagai tingkat protein pakan terhadap titer antibodi ayam petelur jantan yang divaksin ND, sebagai hasilnya dapat dimanfaatkan secara langsung untuk kepentingan petani peternak dalam memilih atau memformulasikan pakan berdasarkan aspek kualitatif pakan untuk meningkatkan kondisi sehat ayam sehingga diharapkan dapat meningkatkan kekebalan tubuh setelah vaksinasi ND.

1.6. Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah tingkat protein pakan yang berbeda dapat berpengaruh terhadap titer antibodi ayam petelur jantan yang divaksin ND. Bahwa semakin tinggi tingkat protein pakan yang diberikan maka semakin tinggi titer antibodi yang diperoleh setelah vaksinasi ND.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Protein

Protein adalah zat organik yang mengandung karbon 51-55%, hidrogen 6,5-7,3%, nitrogen 15,5-18%, oksigen 21,5-23,5%, sulfur 0,5-2,0% dan fosfor 0,0-1,5%. Zat ini merupakan zat makanan utama yang esensial bagi kehidupan karena merupakan protoplasma aktif dalam semua sel hidup (Anggorodi, 1985). Selanjutnya Wahyu (1985) dan Santoso (1987), menyatakan bahwa protein merupakan zat gizi yang esensial bagi tubuh ayam dan juga diperlukan untuk pertumbuhan dan menggantikan sel tubuh yang rusak. Pembentukan struktur jaringan lunak tubuh, bulu, kuku dan paruh juga memerlukan adanya protein. Selain penyusun utama sel-sel tubuh, membran sekeliling sel terbuat dari protein, protein juga didapatkan di dalam sel. Jumlah sel di dalam tubuh meningkat selama periode pertumbuhan karenanya selama periode anak-anak dan remaja kebutuhan proteinnya sangat tinggi, tambahan pula protein dalam jaringan selalu mengalami perombakan, karena itu harus diganti dari asam amino yang disediakan dalam ransum (Gaman dan Sherrington, 1992).

Dari keterangan tersebut tampak bahwa protein mempunyai arti penting karena mempunyai berbagai fungsi yaitu sebagai bahan pembangun, sumber energi dan bahan pengatur (Subowo, 1993). Fungsi lain protein disampaikan oleh Santoso (1987) serta Gaman dan Sherrington (1992), yaitu bahwa protein penting untuk pembentukan enzim, antibodi dan beberapa hormon.

Menurut Lehninger (1997), berdasarkan fungsi biologinya, protein dapat dikelompokkan sebagai berikut :

1. Enzim, yaitu protein yang mempunyai aktivitas katalisis. Hampir semua reaksi biomolekul organik di dalam sel dikatalisis oleh enzim.
2. Protein transport, yang di dalam plasma darah mengikat dan membawa molekul atau ion spesifik dari satu organ ke organ lain. Misalnya hemoglobin pada sel darah merah akan mengikat oksigen dari paru-paru ke jaringan perifer untuk melakukan oksidasi yang menghasilkan energi, lipoprotein pada plasma darah yang membawa lipid dari hati ke organ lain dan protein transport lain yang terdapat di dalam membran sel dan menyesuaikan strukturnya untuk membawa dan mengikat glukosa, asam amino dan nutrien lain melalui membran menuju ke dalam sel.
3. Protein sebagai nutrien dan pembawa mineral, contohnya ovalbumin pada putih telur, kasein pada susu dan ferritin jaringan hewan yang merupakan protein penyimpan besi.
4. Protein kontraktile atau motil adalah protein yang memberikan kemampuan kepada sel dan organisme untuk berkontraksi, mengubah bentuk atau bergerak. Contohnya aktin dan miosin di dalam sistem kontraktile otot kerangka.
5. Protein struktural, yang berperan sebagai filamen tebal atau lembaran penyangga untuk memberikan struktur biologi kekuatan atau proteksi seperti kolagen yang merupakan komponen utama urat dan tulang rawan, elastin pada persendian serta keratin pada rambut, kuku dan bulu.

6. Protein pertahanan, imunoglobulin atau antibodi yang dapat mengenali dan mengendapkan atau menetralkan serangan bakteri, virus atau protein asing dari spesies lain. Fibrinogen dan trombin sebagai protein penggumpal darah yang menjaga kehilangan darah jika sistem pembuluh terluka.
7. Protein pengatur, membantu mengatur aktivitas seluler atau fisiologi. Di antara jenis ini terdapat sejumlah hormon seperti insulin yang mengatur metabolisme gula. Hormon pertumbuhan berasal dari hipofisis dan hormon paratiroid yang mengatur transport Ca^{2+} dan fosfat.
8. Protein lain.

2.1.1. Protein Pakan

Pakan merupakan faktor yang paling banyak membutuhkan biaya, yaitu 60-70% dari seluruh biaya produksi (Santoso, 1987). Di dalam pakan ayam terutama harus mengandung sepuluh asam amino esensial, karena ayam tidak dapat mensintesis di dalam tubuhnya maka asam amino esensial harus disediakan dalam pakan (Tillman dkk., 1991). Sejalan dengan pernyataan tersebut Mc Donald *et al.* (1988), menambahkan bahwa ayam membutuhkan tiga asam amino penting yang harus tersedia dalam pakan sumber protein yaitu lisin, metionin dan triptofan. Secara umum diasumsikan bahwa pakan yang cukup mengandung asam amino tersebut akan secara otomatis mengatasi kekurangan jumlah asam amino yang lain. Selain tiga asam amino tersebut menurut Schaible (1970), untuk pertumbuhan normal 12 jenis asam amino harus tersedia dalam

pakan dan 6 di antaranya harus mendapat perhatian khusus yaitu lisin, metionin, triptofan, glisin, sistin dan arginin.

Kebutuhan ternak unggas terhadap protein dinyatakan dengan persentase protein dalam makanan. Hewan tua memerlukan persentase protein yang lebih sedikit dari hewan muda, karena kemampuannya untuk menyimpan protein dalam tubuh lebih rendah dari hewan muda (Anggorodi, 1985 ; Wahju, 1985 ; Tillman *et al.*, 1991). Sesuai dengan tingkatan pertumbuhan, pakan ayam petelur dibedakan atas tiga jenis, yaitu pakan kutuk petelur umur sehari sampai 6 atau 8 minggu (*starter*), pakan dara petelur umur 6 atau 8 minggu sampai 14 atau 22 minggu (*grower*) dan pakan babon petelur yang sudah memproduksi umur lebih dari 22 minggu (*layer*). Kebutuhan nilai gizi ransum tersebut dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Nutrisi Pakan Ayam Petelur

Nutrien	Periode		
	Starter	Grower	Layer
<i>Metabolizable Energy</i> , ME (Kkal/kg)	2,7-3,0	2,6-2,9	2,6-2,9
Protein (%)	19-21	15-17	15-18
Lemak (%)	3-6	3-6	3-8
Serat Kasar (%)	4-6	7-9	6-8
Kalsium(%)	1,0	0,6	3,3
Fosfor (%)	0,45	0,4	0,55
Asam-asam amino :	% protein		g/ekor/hari
Arginin	5,0	5,0	0,85
Glisin-Serin	5,0	5,0	-
Histidin	2,0	2,0	0,34
Isoleusin	4,0	4,0	0,85
Leusin	7,0	7,0	1,28
Lisin	5,0	5,0	0,72
Metionin	2,0	2,0	0,34
Sistein	1,6	1,6	0,27
Fenilalanin	3,5	3,5	0,78
Tirosin	3,5	3,5	0,34
Threonin	3,5	3,5	0,63
Triptofan	1,0	1,0	0,17
Valin	4,3	4,3	0,73

Sumber : Scott *et al.* (1982)

Kebutuhan asam-asam amino bagi ayam yang sedang tumbuh dapat dipenuhi dengan protein dari ransum yang berasal dari tumbuh-tumbuhan dan hewan (Anggorodi, 1985). Protein yang digunakan adalah dalam bentuk protein hewani dan nabati guna menjaga keseimbangan asam-asam amino esensial dalam pakan (Blakely and David, 1991).

Adapun bahan makanan yang merupakan sumber protein hewani seperti tepung ikan, tepung daging, tepung darah, tepung hati, tepung kepiting, tepung udang, produk-produk dari air susu seperti susu skim kering dan whey, sisa-sisa usaha beternak unggas (tepung bulu unggas dan sisa-sisa penetasan telur), protein sel tunggal dan lain-lain. Sedangkan protein yang berasal dari tumbuh-tumbuhan

seperti bungkil biji bunga matahari, kedelai, kacang tanah, biji kapas, biji kapuk, bungkil kelapa, kacang hijau, biji dan bungkil karet dan lain-lain. Kualitas protein ini ditentukan oleh komposisi asam amino penyusunnya. Nilai hayati protein hewani lebih tinggi dari protein tumbuhan karena protein hewani mengandung kalsium dan fosfor yang berasal dari tulang, vitamin B-kompleks terutama riboflavin pada susu skim kering, vitamin B12 dan asam-asam amino metionin dan lisin yang terdapat pada tepung ikan, telur dan susu dalam kadar yang lebih tinggi daripada protein tumbuh-tumbuhan (Anggorodi, 1985 ; Wahyu, 1985).

Protein terdiri dari asam-asam amino yang dibutuhkan oleh ayam untuk memenuhi kebutuhan tubuhnya (Sarwono, 1990). Defisiensi protein secara umum menyebabkan kenaikan dan penimbunan lemak dalam jaringan karena ketidak-sanggupan ayam untuk menggunakan energi secara produktif karena ransum tidak cukup mengandung asam-asam amino untuk pertumbuhan. Defisiensi protein atau suatu asam amino yang parah mengakibatkan pertumbuhan turun atau berhenti sama sekali (Anggorodi, 1985).

Menurut penelitian Famani (1990), pada ransum dengan kandungan protein 16% dengan suplementasi lisin 0,53% atau kandungan protein 19% dengan suplementasi lisin 0,3% dan metionin 0,15% dapat memperbaiki berat badan dibanding ransum yang sama yang tidak disuplementasi lisin dan metionin, meskipun perbaikan yang dicapai belum mampu menyamai ransum kontrol yang mengandung protein 23%. Oleh karena itu kualitas protein yang dibutuhkan ternak unggas sebenarnya ditentukan oleh asam-asam amino esensial penyusunnya (Schaible, 1970 ; Anggorodi, 1985).

Pencernaan atau metabolisme protein pakan menghasilkan asam-asam amino yang lebih lanjut akan berperan dalam produksi enzim, hormon, komponen struktural, protein darah sel-sel badan dan jaringan yang lainnya. Sintesis protein dengan memanfaatkan asam-asam amino yang tersedia, ini dipergunakan untuk membentuk protein. Protein atau polipeptida disintesis dari 20 macam asam amino, 10 macam di antaranya merupakan asam-asam amino esensial (yang tidak dapat disintesis oleh tubuh), sedangkan sisanya merupakan asam-asam amino non esensial (dapat disintesis oleh tubuh). Asam-asam amino untuk unggas tersebut dapat dilihat pada tabel 2.

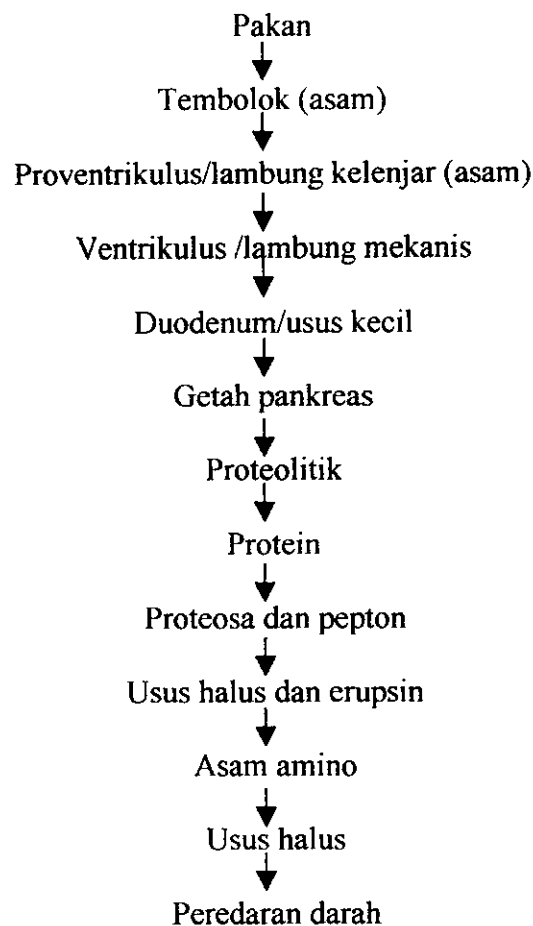
Tabel 2. Asam-Asam Amino Esensial dan Tidak Esensial untuk Unggas

Esensial	Tidak Esensial
Arginin	Alanin
Histidin	Asam Aspartat
Isoleusin	Sitralin
Leusin	Sistin
Lisin	Glisin
Metionin	Asam Glutamat
Fenilalanin	Hidroksiprolin
Treonin	Prolin
Triptofan	Serin
Valin	Tirosin

Sumber : Tillman *et al.* (1991)

Protein dalam pakan setelah masuk ke dalam saluran pencernaan akan mengalami perombakan oleh enzim-enzim hidrolitik. Protein ini akan mengalami denaturasi dalam proventrikulus, sehingga ikatan peptida yang peka terhadap pepsin menjadi pecah. Selanjutnya polipeptida-polipeptida yang didapat dari hasil pencernaan dalam proventrikulus, selanjutnya akan dirombak dalam usus halus oleh tripsin, kimotripsin dan oleh enzim-enzim elastase, aminopeptidase, karboksi

peptidase dan peptidase-peptidase yang khas dalam rongga atau mukosa usus halus menjadi asam-asam amino. Selanjutnya asam-asam amino ini diserap masuk ke peredaran darah (Wahju, 1985 ; Tillman dkk., 1991 ; Lehninger, 1997). Untuk lebih jelasnya, proses pencernaan protein pada sistem pencernaan ayam dapat disimak melalui gambar 1.



Gambar 1. Proses pencernaan protein pada sistem pencernaan ayam

(Anggorodi, 1985)

2.1.2. Protein Serum

Darah terdiri atas unsur-unsur padat, yaitu eritrosit, leukosit serta trombosit, yang tersuspensi di dalam suatu media cair, yakni plasma. Plasma darah mengandung 90% H₂O dan 10% komponen terlarut, di mana sekitar 70% merupakan protein-protein plasma, sekitar 10% garam-garam anorganik dan sekitar 20% molekul-molekul organik kecil. Bila darah dibiarkan membeku dan bekuan ini dibuang, maka cairan yang tertinggal dinamakan serum. Serum sudah tidak lagi mengandung faktor-faktor pembekuan termasuk fibrinogen yang normalnya terdapat di dalam plasma tetapi sudah terpakai dalam proses koagulasi. Pemeriksaan serum darah dengan menggunakan mikroskop elektron akan dapat ditemukan fraksi-fraksi protein yang secara garis besar terdiri dari albumin, globulin dan fibrinogen. Kadar globulin serum darah hewan lebih tinggi dari manusia, sedangkan kadar albuminnya lebih rendah (Murray *et al.*, 1993). Masih menurut Murray *et al.* (1993), di antara dua kelompok utama protein serum yaitu albumin dan globulin, albumin terdapat dalam konsentrasi masa tertinggi dan berat molekulnya yang paling rendah dibanding dengan molekul-molekul protein lainnya dalam serum.

Kadar total protein serum dapat berubah tergantung keseimbangan hormonal, status gizi, keseimbangan air dan faktor lain yang mempengaruhi kesehatan. Protein serum darah berasal dari asam amino di dalam pakan yang kemudian disintesis di hati. Protein tersebut terdapat dalam keseimbangan yang dinamis dengan asam amino tubuh. Kadar protein yang rendah dalam darah atau hipoproteinemia pada kejadian cirrhosis hepatis membuktikan bahwa hati

merupakan tempat utama pembentukan serum darah. Pada umumnya semua albumin dan fibrinogen plasma serta 50% atau lebih globulin dibentuk dalam hati, sedangkan sisa globulin dibentuk dalam jaringan limfoid dan sel-sel retikuloendotel lain (Coles and Campbell, 1986 ; Murray *et al.*, 1993).

Fungsi protein darah yang penting yaitu menyediakan nutrisi untuk jaringan tubuh dan membentuk antibodi untuk mempertahankan tubuh terhadap agen penyakit melalui fraksi gamma globulin. Di samping itu protein serum darah berfungsi pula sebagai bahan pembentuk enzim, hormon serta merupakan bahan baku hemoglobin dan eritrosit. Perbandingan albumin dan globulin serum darah tidak mengalami perubahan karena tubuh menggunakan albumin dan globulin pada tingkat yang sama untuk memelihara jaringan. Protein serum darah di dalam tubuh akan diubah menjadi asam amino yang digunakan untuk pembentukan protein jaringan (Schalm *et al.*, 1986).

2.2. Respon Imun Humoral dan Sintesis Antibodi

Sistem kekebalan pada ayam sedikit berbeda bila dibandingkan dengan sistem kekebalan pada mamalia. Perbedaan tersebut terletak pada kelengkapan alat-alat tubuhnya yang berperan dalam mekanisme imunologik, yaitu ayam mempunyai bursa fabrisius, tetapi tidak mempunyai limfe nodus (Dep. Eurindo Combained p.t., 1988).

Ada tiga sistem kekebalan pada ayam yaitu sistem kekebalan humoral, sistem kekebalan lokal dan sistem kekebalan seluler. Sistem kekebalan humoral terdiri dari limfosit B yang memproduksi sekumpulan asam amino yang disebut

imunoglobulin atau antibodi (Dep. Eurindo Combined p.t., 1988). Sistem kekebalan tubuh humoral lebih berperan dalam menetralisasi atau menginaktivkan virus ND ganas agar tidak tumbuh di dalam organ-organ visceral ayam dibandingkan dengan kekebalan lokal dan seluler (Poultry Indonesia, 1992).

Respon imun humoral sebagai akibat kontak tubuh dengan antigen ditandai dengan disintesisnya antibodi oleh sel plasma. Antibodi disintesis dan disekresikan ke luar sel oleh sel plasma atau AFC (*Antibody Forming Cells*) yang merupakan hasil pembelahan dan diferensiasi sel B setelah terjadi aktivasi akibat pengenalan terhadap antigen. Respon imun primer adalah respon imun yang berkembang setelah tubuh kontak dengan antigen untuk pertama kalinya dan ditandai dengan dihasilkannya antibodi IgM sebagai antibodi yang muncul pertama kali yang kemudian diikuti oleh IgG. Sedangkan respon imun sekunder, setelah kontak dengan antigen yang sama berikutnya dan umumnya ditandai dengan dihasilkannya antibodi IgG sebagai antibodi yang dominan. Dibandingkan respon imun primer, kadar antibodi yang dihasilkan pada respon imun sekunder jauh lebih besar (Roitt *et al.*, 1993).

Antigen yang masuk ke dalam tubuh akan dipresentasikan ke limfosit oleh sel-sel yang disebut APC (*Antigen Presenting Cells*) dalam bentuk *Major Histocompatibility Complex-II* (MHC-II) yang dikenal oleh limfosit T_H atau T-helper karena T_H tak mampu mengenal antigen bebas. Presentasi antigen atau fragmen antigen oleh APC dan adanya sel T teraktivasi diperlukan untuk proses aktivasi dan diferensiasi sel B menjadi sel plasma yang dapat mensintesis dan mensekresikan antibodi. Sel B diaktivasi oleh antigen atau fragmen antigen pada

permukaan APC dengan adanya interleukin-1 (IL-1) yang dihasilkan oleh APC dan interleukin-4 (IL-4) yang dihasilkan oleh sel T (Roitt *et al.*, 1993).

Limfosit teraktivasi akan membelah dan berdiferensiasi menjadi sel efektor (sel plasma merupakan sel efektor hasil pembelahan dan diferensiasi sel B) dan sel memori. Sebelum berdiferensiasi menjadi sel plasma, sel B teraktivasi mulai dapat mensintesis antibodi. Sel memori kembali bersirkulasi melalui pembuluh darah dan limfa ke jaringan-jaringan tubuh, sedangkan sel plasma berumur pendek. Sel B memori mempunyai afinitas yang lebih tinggi terhadap antigen dibanding sel B yang belum teraktivasi, sehingga mampu berperan sebagai APC. Komplemen berperan dalam induksi respon antibodi dengan jalan meningkatkan antigen baik terhadap APC pada umumnya maupun pada sel B (Roitt *et al.*, 1993).

Dibandingkan dengan respon antibodi primer, respon imun sekunder menunjukkan peningkatan kadar dan afinitas antibodi yang lebih tinggi. Hal ini dimungkinkan karena ada kemampuan mengingat sel memori. Ingatan ini tidak ditentukan pada respon imun sekunder terhadap antigen yang tak tergantung sel T atau T-independent. Antigen tak tergantung sel T dapat menginduksi respon imun primer tanpa peran sel T, respon imun sekunder yang timbul kemudian setelah kontak dengan antigen yang sama tidak menunjukkan peningkatan kadar antibodi yang berarti karena mirip dengan respon imun primer (Roitt *et al.*, 1993).

Molekul Ig disintesis oleh sel plasma. Sintesis masing-masing rantai polipeptida sama dengan sintesis protein umumnya (Bellanti, 1993). Imunoglobulin yang baru disintesis memiliki sifat yang dapat mengenali antigen

yang merangsang sintesisnya dan berikatan erat membentuk kompleks antigen-antibodi. Peningkatan imunoglobulin atau antibodi terjadi pada keadaan infeksi kronis, sarkoidosis, penyakit parasitik, penyakit kolagen, jenis penyakit hepar tertentu dan kelainan autoimun. Sedangkan penurunan imunoglobulin atau antibodi dijumpai pada penyakit defisiensi umum, sindroma nefrotik, leukemia, paraproteinemia mahgma serta pada malnutrisi protein diet (Murray *et al.*, 1993).

2.3. Hubungan Protein dan Kekebalan

Protein selain dibutuhkan untuk keperluan tubuh, juga diperlukan untuk memelihara fungsi sistem imun (Subowo, 1993). Fungsi sistem imun tubuh sangat dipengaruhi oleh kadar dan mutu protein yang tersedia dalam tubuh. Protein merupakan zat gizi yang sangat penting karena erat hubungannya dengan proses kehidupan. Secara umum, protein berperan dalam pertumbuhan dan pemeliharaan jaringan, mekanisme pertahanan tubuh, mengatur proses metabolisme atau enzim dan hormon serta sebagai sumber energi apabila keperluan energi tubuh tidak terpenuhi (Sediaoetama, 1991). Defisiensi ringan protein atau salah satu asam amino esensial hanya mengakibatkan penurunan pertumbuhan dan kehilangan pertumbuhan rata-rata 6-7% dari berat badan perhari (Wahju, 1985). Sedangkan hewan yang sengaja dikurangi sekali bahan protein dalam pakannya, terutama pada waktu masih muda akan menderita kerusakan fungsi sel T sitotoksik (Tc) untuk seterusnya. Sel Tc merupakan sel utama yang berperan dalam sistem imun seluler. Proses aktivasi sel Tc dimulai dari dilepaskannya IL-1 oleh APC akibat interaksi APC dengan sel T_H, IL-1 akan

meningkatkan fungsi sel T_H dengan memproduksi IL-2 dan interferon- γ (IFN- γ), IL-2 dan IFN- γ akan meningkatkan aktivitas sel Tc. Sel Tc yang teraktivasi akan melekat pada sel sasaran dan menghancurkannya dengan menyisipkan limfotoksin ke dalam membran sel sasaran. Di samping kerusakan fungsi tersebut, dikemukakan pula lenyapnya daerah limfosit T di sekitar folikel limfoid dalam kelenjar getah bening, walaupun jumlah sel plasma tidak berubah (Subowo, 1993). Fungsi sistem imun seluler juga terganggu meskipun tidak ada gangguan pemrosesan antigen oleh makrofag tetapi aktifitas fagositosis menurun (Dubey and Yunis, 1996).

2.5. Newcastle Disease (ND)

Penyakit ND juga dikenal sebagai penyakit *Tetelo*, *Pseudo Vogelpest*, *Pest Unggas*, *Aziatische Vogelpest*, *Pneumo-encephalitis* dan *Sampar Ayam* (Ressang, 1984). Penyakit ini menyerang ayam, kalkun dan beberapa spesies dari burung-burung liar dan burung-burung peliharaan (Beard dan Hanson, 1984). Penyebaran penyakit ini dapat terjadi melalui tamu yang berkunjung ke peternakan, alat-alat peternakan yang baru masuk ke kandang tanpa dicuci antiseptik atau oleh burung-burung liar. Apabila dalam satu kandang terdapat ayam terserang maka ayam-ayam lain akan mudah terserang dengan cepatnya, apalagi bila kebersihan kandang tidak dijaga dan lingkungan sekitar kandang kotor. Ayam-ayam yang mati dan tidak segera dikeluarkan dari kandang merupakan sumber penularan ke ayam lainnya (Rasyaf, 1993).

Penyakit ND disebabkan oleh *Paramyxovirus* yang berdiameter 100-200 nm. Virus tersebut berada dalam otak, limpa, paru-paru dan darah. Pada permukaan antigen terdapat hemaglutinin dan enzim neuraminidase (Ressang, 1984). Virus ini dapat menghancurkan jaringan limfoid. Akibat kehancuran dari jaringan limfoid yang disebabkan oleh virus ini maka akan segera terlihat limfopeni atau penurunan kemampuan limfosit yang bersirkulasi untuk menanggulangi rangsangan miogen. Imunosupresi pada penyakit ND mungkin disebabkan oleh reaksi dari neuraminidase virus pada membran limfosit. Kerusakan jaringan limfoid dapat juga tercermin dari hipogamaglobulinemia atau menurunnya kemampuan untuk tanggap dari antibodi humoral terhadap antigen (Tizard, 1987).

Ayam yang terkena penyakit ND menunjukkan gejala umum ayam sakit yaitu tidak aktif, sayap terkulai dan mata ngantuk (Rasyaf, 1993). Gejala spesifik dari penyakit ini adalah ayam-ayam itu tampak sesak napas dan terdengar bunyi-bunyi mencicit seakan tercekik. Hal ini disebabkan karena dalam trachea dan laring biasanya terdapat banyak lendir. Tinja yang pada permulaan penyakit berwarna putih seperti kapur dan padat lambat laun menjadi encer dan hijau, dalam beberapa hari kemudian ayam menjadi kurus. Gejala otak yang terlihat adalah ataksi, ayam hilang keseimbangan atau senantiasa memutar-mutar kepalanya, berjalan keliling, berjalan kearah belakang, kepala diletakkan di belakang punggung dan kelumpuhan (Ressang, 1984).

Diagnosa penyakit ini dapat dilakukan berdasarkan gejala klinis, epidemiologi, perubahan pasca mati, isolasi virus dan pemeriksaan serologis di antaranya Hemaglutinasi Inhibisi (HI) Test (Ditjen Peternakan, 1981).

Pencegahan dengan jalan vaksinasi merupakan salah satu usaha untuk menanggulangi ND ini. Antibodi yang terbentuk akibat vaksinasi ND dapat melindungi ayam dari serangan penyakit ND, tetapi titer antibodi yang diperoleh dari hasil vaksinasi tergantung dari beberapa faktor antara lain : respon ayam, cara dan jadwal vaksinasi, tipe virus dan vaksin yang digunakan, jenis vaksin serta penyakit yang dapat menghalangi pembentukan antibodi serta potensi dari vaksin itu sendiri (Ronohardjo, 1980 ; Nugroho, 1989).

Roephe yang dikutip oleh Sianita (1992), menyatakan bahwa kekebalan di dalam tubuh ayam yang titernya 4,8 (\log_2) tidak cukup untuk menahan wabah ND yang mungkin terjadi. Ronohardjo (1980), menyatakan bahwa vaksinasi dianggap baik jika titer antibodi yang diperoleh sama dengan atau lebih besar dari 7 (\log_2). Ada pendapat lain yang menyatakan bahwa titer HI 6,4 (\log_2) merupakan titer terendah yang dapat menahan serangan ND. Beberapa koreksi kemudian muncul, bahwa ayam yang mempunyai kekebalan terhadap ND kurang dari 6 (\log_2) harus divaksinasi ulang (Kusmanagandhi, 1982). Status kekebalan dari ayam tersebut berdasarkan virulensi yang sangat tinggi pada virus ND tipe Asia (Ressang, 1984). Di samping itu, di Indonesia, ND merupakan penyakit endemik dan telah tersebar luas, maka pencegahannya adalah menjaga titer antibodi pada tingkat perlindungan minimal 7 (\log_2) dengan cara melakukan monitoring secara kontinu 3 bulan sekali atau melakukan vaksinasi ulang secara kontinu 3 bulan sekali

sehingga dapat menanggulangi virus ND virulen bila terjadi wabah di lapangan
(Poultry Indonesia, 1992).

BAB III
MATERI DAN METODE

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian selama pemeliharaan dan perlakuan hewan coba dilakukan di kandang Yayasan Pendidikan Anak Buta (YPAB), Surabaya. Sedangkan pemeriksaan titer antibodi dikerjakan di Laboratorium Virologi dan Imunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Lama masa penelitian adalah 9 minggu, dimulai sejak tanggal 26 Oktober hingga 27 Desember 2001.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ayam petelur jantan umur satu hari produksi PT Charoen Pokphand sebanyak 30 ekor.

3.2.2. Bahan Penelitian

Vaksin ND yang digunakan untuk penelitian adalah lentovet yakni vaksin aktif ND strain Hitchner B1, produksi Medion, Bandung dengan antigen ND produksi Pusvetma berupa antigen kering beku berasal dari cairan chorioallantoin TAB (Telur Ayam Bertunas) yang ditulari virus ND. Untuk tes HA dan HI diperlukan juga cairan NaCl fisiologik, eritrosit 0,5%, antikoagulan EDTA, serum ayam dan aquades .

Pakan yang dipergunakan untuk penelitian merupakan pakan hasil olahan sendiri dengan bahan baku jagung kuning, bekatul, bungkil kedelai, bungkil kelapa, tepung ikan, minyak kelapa dan premix. Untuk pakan percobaan adalah pakan dengan kadar protein rendah 16% (P1), sedang 20% (P2) dan tinggi 26% (P3), komposisi pakan disusun menggunakan program *excel for windows 95*, seperti yang disajikan dalam lampiran 3. Selanjutnya komposisi pakan pada ketiga kelompok tersebut dianalisis di Laboratorium Makanan Ternak Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, seperti terlihat pada lampiran 7.

3.2.3. Alat Penelitian

Untuk pemeliharaan dipergunakan kandang batere lengkap dengan tempat pakan dan minum. Alat-alat lain yang dipergunakan yakni timbangan pakan dan untuk pemeriksaan titer antibodi berupa *disposable syringe*, tabung reaksi, *centrifuge*, tabung *microcentrifuge*, *freezer*, gelas beker, pembakar Bunsen, pipet *dropper* 0,025 ml dan 0,05 ml, pipet Pasteur, pipet hisap 1 ml dan 10 ml, *microdiluter* 0,025 ml dan *microplate*.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Persiapan Penelitian

Sebelum penelitian dimulai, ruangan dan kandang difumigasi dengan larutan formalin 40% dan KMnO_4 .

3.3.2. Perlakuan pada Hewan Percobaan

Tiga Puluh ekor anak ayam umur 28 hari yang telah diketahui titer antibodi dan berat badannya homogen, dibagi secara acak menjadi tiga kelompok perlakuan (P1, P2, P3). Tiap kelompok perlakuan terdiri dari sepuluh ekor ayam. Semua hewan coba tersebut divaksinasi dengan vaksin ND pada umur 35 hari dan diberi perlakuan sebagai berikut :

1. Kelompok perlakuan 1 (P1), diberikan pakan percobaan dengan tingkat protein rendah 16%.
2. Kelompok perlakuan 2 (P2), diberikan pakan percobaan dengan tingkat protein sedang 20%.
3. Kelompok perlakuan 3 (P3), diberikan pakan percobaan dengan tingkat protein tinggi 26%

Perlakuan ini mulai diberikan pada saat anak ayam berumur 28 hari hingga akhir penelitian.

Untuk pengukuran titer antibodi dengan HI test dilakukan pengambilan sampel darah melalui vena brachialis pada sayap atau langsung melalui jantung 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu setelah vaksinasi. Dengan demikian setiap variabel akan diperoleh data titer antibodi minggu pertama, minggu kedua, minggu ketiga dan minggu keempat.

3.3.3. Cara Mendapatkan Serum

Darah diambil melalui vena brachialis pada sayap dengan menggunakan *disposable syringe* secara aseptis. Darah tersebut segera dipindahkan ke dalam tabung *microcentrifuge* dan diletakkan dalam posisi miring. Ditunggu beberapa saat sampai terjadi pemisahan antara serum dan bekuan darah. Serum yang tidak terjadi pemisahan maka darah disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit. Serum yang telah terpisah segera dipisahkan ke dalam tabung *microcentrifuge* lain dan disimpan pada suhu -20°C sampai saat diperiksa (Ernawati dkk., 1994).

3.3.4. Cara Pembuatan Eritrosit 0,5%

Darah diambil melalui vena brachialis pada sayap secukupnya kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah diisi EDTA. Darah tersebut disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 2000 rpm, supernatannya dibuang dan disisakan endapannya. Selanjutnya pencucian terhadap endapan tersebut dengan NaCl fisiologik dan disentrifugasi lagi selama 10 menit. Setelah terjadi endapan, supernatan dibuang lagi dan pencucian diulang sampai 3 kali seperti cara tersebut di atas. Untuk mendapatkan eritrosit 0,5%, endapan yang terjadi diambil 0,5 ml kemudian ditambahkan NaCl fisiologik hingga mencapai volume 100 ml (Ernawati dkk., 1994).

3.3.5. Uji Hemaglutinasi (HA) Mikrotiter

Uji HA dilakukan untuk mengetahui titer antigen ND yang akan digunakan pada uji HI. Prosedur uji HA mikrotiter adalah sebagai berikut :

1. Lubang *microplate* pada baris I dan II, mulai nomor 1 sampai 12 diisi dengan 0,025 ml atau 1 tetes NaCl fisiologik. Untuk pengisian digunakan pipet *dropper* 0,025 ml.
2. Selanjutnya pada lubang 1 baris I dan II, isi dengan antigen 1 tetes.
3. Antigen dan NaCl Fisiologik tersebut diaduk menggunakan *microdiluter* dengan cara memutar-mutar, kemudian pindahkan ke lubang berikutnya 1 tetes. Demikian seterusnya sampai ke lubang ke 11 dan ke 12 digunakan sebagai kontrol eritrosit tanpa antigen.
4. Selanjutnya semua lubang diisi dengan 0,05 ml eritrosit ayam 0,5%.
5. Diinkubasikan pada suhu kamar selama 30 menit, lalu baca titernya dengan membandingkannya terhadap kontrol eritrosit.

Pembacaan HA sempurna atau 100% adalah terjadinya aglutinasi secara jelas berupa lapisan eritrosit yang terlihat sebagai bintik-bintik halus dengan tepi merata atau difuse pada dasar lubang sumuran dan penjernihan cairan pada bagian atas tanpa terjadinya pengendapan eritrosit berbentuk titik di tengah sumuran. Titer antigen adalah jumlah terkecil dari pengenceran tertinggi yang masih mampu menyebabkan hemaglutinasi. Sedangkan satu HA unit adalah jumlah terkecil dari antigen yang terkandung dalam 0,5 ml suspensi yang mengaglutinasi 0,5 ml suspensi eritrosit.

3.3.6. Retitrasi Antigen 4 HA Unit

Setelah mengamati posisi lubang sumuran tempat terjadinya aglutinasi sempurna, berikutnya dilakukan retitrasi antigen 4 HA unit. Prosedur retitrasi antigen 4 HA unit adalah sebagai berikut :

1. Lubang *microplate* pada baris I mulai nomor 1 sampai 5 diisi larutan NaCl fisiologik 1 tetes.
2. Pada lubang 1 baris I yang sama diisi antigen 4 HA unit 1 tetes, diaduk lalu dipindahkan pada tabung berikutnya demikian seterusnya.
3. Selanjutnya semua lubang diisi eritrosit ayam 0,5% sebanyak 1 tetes.
4. Diinkubasikan pada suhu kamar selama 30 menit, lalu dibaca titernya. Karena yang dibutuhkan adalah antigen 4 HA unit, maka hasil aglutinasi hanya terjadi pada sumuran nomor 2.

Hasil antigen 4 HA unit inilah yang dipergunakan untuk HI selanjutnya.

3.3.7. Uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI) Mikroteknik

Uji ini dikerjakan dengan *microplate* sebagai berikut :

1. Lubang *microplate* diisi 1 tetes NaCl fisiologik (0,025 ml) atau PBS mulai dari lubang nomor 1 hingga 12 memakai pipet *dropper* 0,025 ml.
2. Lubang nomor 1 dan 12 diisi dengan antiserum yang akan diperiksa (0,025 ml).
3. Antiserum dan PBS pada lubang nomor 1 dikocok dengan memutar-mutar *microdiluter*, lalu dipindah ke lubang berikutnya demikian seterusnya hingga mencapai lubang nomor 10.

4. Lubang nomor 1 hingga 10 diisi dengan antigen 4 HA unit sebanyak 1 tetes memakai pipet *dropper* 0,025 ml.
5. Diinkubasikan pada suhu kamar selama 30 menit.
6. Selanjutnya isi semua lubang dengan 0,05 ml sel darah merah ayam 0,5%.
7. Diinkubasikan lagi selama 30 menit pada suhu kamar.
8. Dilakukan pembacaan titer dengan membandingkan kontrol eritrosit.

HI sempurna ditunjukkan dengan terjadinya pengendapan eritrosit pada dasar tabung seperti yang terjadi pada tabung kontrol. Dengan catatan lubang nomor 11 merupakan kontrol eritrosit dan lubang nomor 12 merupakan kontrol antiserum.

3.4. Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap. Penelitian ini hanya mempunyai satu sumber keragaman yaitu pakan percobaan (P1, P2, P3).

Berdasarkan rancangan yang dibuat, dilakukan pengacakan untuk mendapatkan 30 unit eksperimen, dengan demikian tiap kelompok perlakuan terdapat 10 unit ulangan.

3.5. Peubah yang Diamati

Untuk uji HI titer dilakukan koleksi sampel darah pada minggu pertama, minggu kedua, minggu ketiga dan minggu keempat setelah vaksinasi pada semua unit ulangan hewan coba. Pengambilan darah dilakukan melalui vena brachialis pada sayap atau langsung lewat jantung. Serum darah langsung dipisahkan setelah

BAB IV
HASIL PENELITIAN

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Pada pengamatan minggu pertama, setelah dilakukan analisis statistik diperoleh rata-rata titer antibodi (\log_2) di antara ketiga perlakuan menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$). Kelompok dengan tingkat protein pakan 26% memberikan hasil kekebalan tertinggi yakni 1,3 diikuti oleh kelompok dengan tingkat protein pakan 20% sebesar 0,8. Sedangkan kelompok dengan tingkat protein pakan 16% memberikan hasil kekebalan terendah yakni 0,5. Data selengkapnya disajikan pada tabel 3 di bawah ini.

Tabel 3. Rata-rata titer antibodi terhadap vaksin ND dengan pengaruh protein pakan yang berbeda 1 minggu pasca vaksinasi

Protein Pakan (%)	Titer Antibodi (\log_2)
16%	0,2 ^b ± 0,42164
20%	0,8 ^{ab} ± 1,22927
26%	1,3 ^a ± 1,25167

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)

Pada pengamatan minggu kedua, setelah dilakukan analisis statistik didapatkan bahwa pakan percobaan berpengaruh terhadap kekebalan ($p < 0,05$). Titer antibodi minggu kedua pada kelompok dengan tingkat protein pakan 26% masih lebih tinggi yakni 5,2 dibandingkan kelompok dengan tingkat protein pakan 20% sebesar 4,3 dan kelompok dengan tingkat protein pakan 16% sebesar 2,6. Data selengkapnya disajikan pada tabel 4 di bawah ini.

Tabel 4. Rata-rata titer antibodi terhadap vaksin ND dengan pengaruh protein pakan yang berbeda 2 minggu pasca vaksinasi

Protein Pakan (%)	Titer Antibodi (\log_2)
16%	$2,6^b \pm 1,64655$
20%	$4,3^a \pm 1,05935$
26%	$5,2^a \pm 1,39841$

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)

Pada pengamatan minggu ketiga, setelah dilakukan analisis statistik didapatkan bahwa pakan percobaan juga berpengaruh terhadap kekebalan ($p < 0,05$). Tiga tingkat protein pakan 16%, 20% ataupun 26% menghasilkan tingkat kekebalan berturut-turut 3,4; 4,9 dan 5,8. Data selengkapnya disajikan pada tabel 5 di bawah ini.

Tabel 5. Rata-rata titer antibodi terhadap vaksin ND dengan pengaruh protein pakan yang berbeda 3 minggu pasca vaksinasi

Protein Pakan (%)	Titer Antibodi (\log_2)
16%	$3,4^c \pm 1,17379$
20%	$4,9^b \pm 0,73786$
26%	$5,8^a \pm 0,78881$

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)

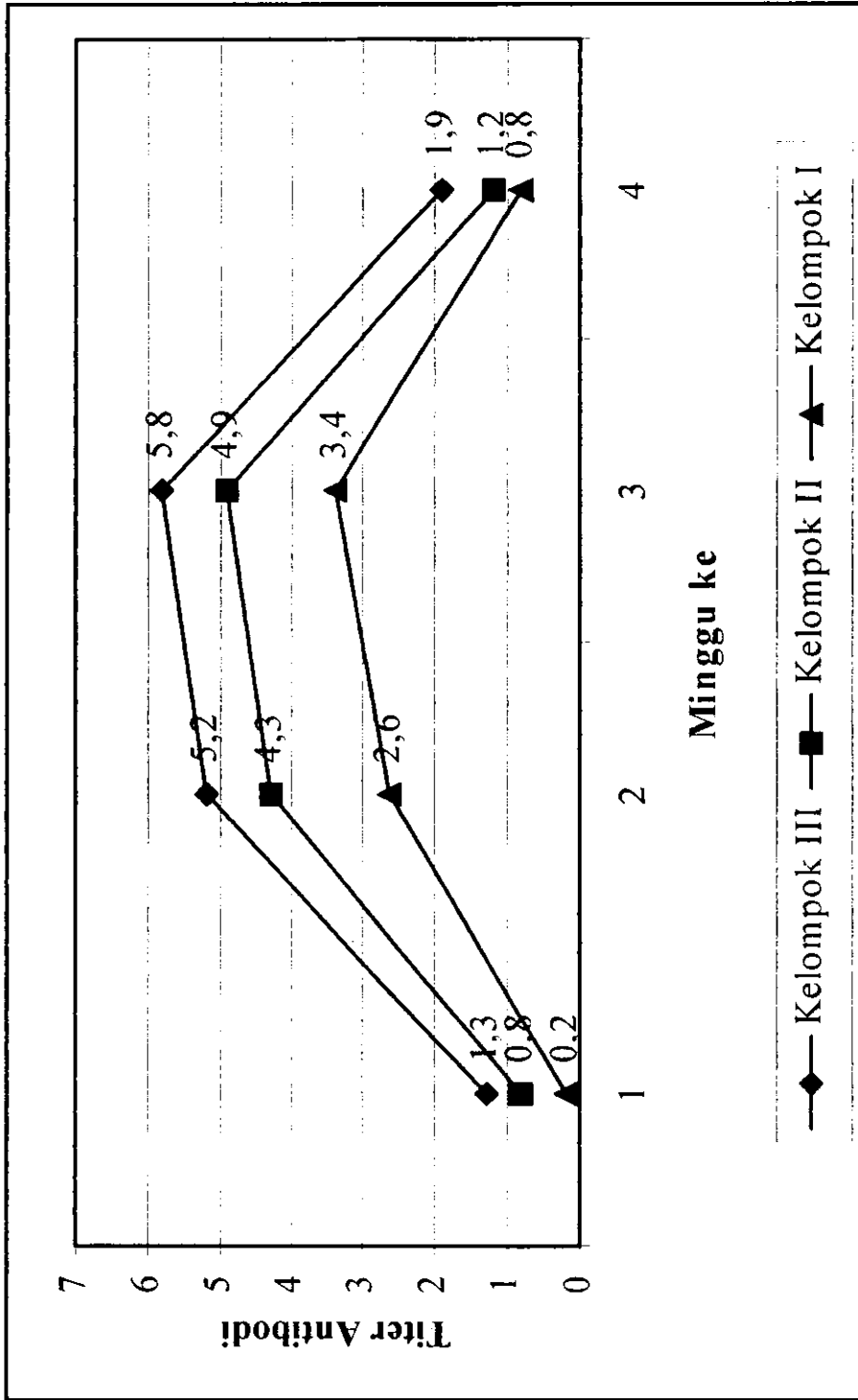
Pada pengamatan minggu keempat, setelah dilakukan analisis statistik diperoleh rata-rata titer antibodi (\log_2) di antara ketiga perlakuan memberikan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). Rata-rata titer antibodi pada 4 minggu setelah vaksinasi ND pada kelompok dengan tingkat protein pakan 16%, 20% dan 26% berturut-turut adalah 0,8; 1,2 dan 1,9. Data selengkapnya disajikan pada tabel 6 di bawah ini.

Tabel 6. Rata-rata titer antibodi terhadap vaksin ND dengan pengaruh protein pakan yang berbeda 4 minggu pasca vaksinasi

Protein Pakan (%)	Titer Antibodi (\log_2)
16%	0,8 ^b ± 1,22927
20%	1,2 ^{ab} ± 0,91894
26%	1,9 ^a ± 1,19722

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)

Grafik rata-rata titer antibodi (\log_2) kelompok ayam percobaan 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu setelah vaksinasi ND dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Grafik rata-rata titer antibodi 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu setelah vaksinasi ND pada kelompok perlakuan dan kontrol

BAB V
PEMBAHASAN

BAB V

PEMBAHASAN

Hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa kelompok perlakuan 1 yang diberikan pakan percobaan dengan tingkat protein rendah 16% menghasilkan rata-rata titer antibodi terendah, yaitu sebesar 0,2 ; 2,6 ; 3,4 dan 0,8 (\log_2) pada pengamatan 1 minggu , 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu setelah vaksinasi ND. Hal ini menunjukkan bahwa protein pakan memegang peran di dalam mempengaruhi pembentukan respon imun humoral terhadap vaksin ND aktif pada ayam petelur jantan. Ketidak cukupan protein jelas berdampak terhadap pembentukan antibodi. Menurut Daniel *et al.* (1993), terdapat perbedaan dalam menanggapi vaksin ND antara ayam yang mengalami kondisi imunodefisiensi dan ayam normal. Ayam dengan kondisi imunodefisiensi secara nyata gagal dalam menanggapi vaksin ND. Pernyataan tersebut didukung oleh Maynard *et al.* (1979) dan Woodward (1998), yang menyatakan bahwa kekurangan protein dalam jangka waktu lama, berakibat pada lemahnya mekanisme pertahanan seluler dan rendahnya produksi antibodi. Pada keadaan ini menurut Keith and Jeejebhoy (1997), jumlah limfosit T, limfosit B, sel plasma dan antibodi akan menurun. Valbuena *et al.* (1996), menyatakan bahwa pada penderita kekurangan protein terjadi penurunan jumlah imunoglobulin (IgG, IgA, IgM), komplemen C3 dan C4 serta limfosit. Rendahnya respon imun seluler maupun humoral ini tampaknya terjadi bila kandungan protein pakan sangat rendah sehingga tidak mencukupi kebutuhan protein untuk hidup pokok (Subowo, 1993).

Rata-rata titer antibodi tertinggi dihasilkan oleh kelompok perlakuan 3 yang diberikan pakan percobaan dengan tingkat protein tinggi 26%, yaitu sebesar 1,3 ; 5,2 ; 5,8 dan 1,9 (\log_2) pada pengamatan 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu setelah vaksinasi ND. Hal ini sesuai dengan pendapat yang disampaikan oleh Dubey and Yunis (1996), bahwa selain defisiensi, kelebihan dari unsur gizi dapat mempengaruhi sintesis molekul yang berfungsi mengatur imunitas. Pendapat lain disampaikan oleh Bounous (1991), bahwa terdapat hubungan antara diet protein tinggi dengan meningkatnya tripeptida glutathion jaringan yang diketahui tipeptida glutathion mempunyai fungsi sangat penting dalam menetralisasi radikal bebas serta metabolit berbahaya lainnya dan meningkatkan respon imun humoral.

Secara keseluruhan, pemberian pakan percobaan dengan tingkat protein rendah 16%, sedang 20% dan tinggi 26% yang menghasilkan tingkat kekebalan berturut-turut 3,4 ; 4,9 dan 5,8 (\log_2) pada minggu ketiga, tampaknya tidak dapat mencapai tingkat kekebalan sesuai dengan harapan. Menurut Roephe yang dikutip oleh Sianita (1992), kekebalan tubuh ayam yang titernya 4,8 (\log_2) tidak cukup untuk menahan wabah ND yang mungkin terjadi. Ditambahkan oleh pernyataan Ronohardjo (1980), bahwa vaksinasi dianggap baik jika titer antibodi yang diperoleh sama dengan atau lebih dari 7 (\log_2). Sedangkan pendapat lain menyatakan bahwa titer HI 6,4 (\log_2) merupakan titer terendah yang dapat menahan serangan ND. Beberapa koreksi kemudian muncul, bahwa ayam yang mempunyai kekebalan terhadap ND kurang dari 6 (\log_2) harus divaksinasi ulang (Kusmanagandhi, 1982). Status kekebalan dari ayam tersebut berdasarkan

virulensi yang sangat tinggi pada virus ND tipe Asia (Ressang, 1984). Di samping itu, di Indonesia, ND merupakan penyakit endemik dan telah tersebar luas, maka pencegahannya adalah menjaga titer antibodi pada tingkat perlindungan minimal 7 (\log_2) dengan cara melakukan monitoring secara kontinu 3 bulan sekali atau melakukan vaksinasi ulang secara kontinu 3 bulan sekali sehingga dapat menanggulangi virus ND virulen bila terjadi wabah di lapangan (Poultry Indonesia, 1992). Titer antibodi yang diperoleh dari hasil vaksinasi tergantung dari beberapa faktor antara lain : respon ayam, cara dan jadwal vaksinasi, tipe virus dan vaksin yang digunakan, jenis vaksin dan penyakit yang dapat menghalangi pembentukan antibodi serta potensi dari vaksin itu sendiri (Ronohardjo, 1980 ; Nugroho, 1989).

Protein pakan memiliki kaitan langsung dengan kekebalan karena pencernaan atau metabolisme protein pakan menghasilkan asam-asam amino yang lebih lanjut akan berperan dalam produksi enzim, hormon, komponen struktural, protein darah dari sel-sel badan dan jaringan lainnya (Tillman dkk., 1991). Protein dalam pakan setelah masuk ke dalam saluran pencernaan akan mengalami perombakan oleh enzim-enzim hidrolitik. Protein ini akan mengalami denaturasi dalam proventrikulus, sehingga ikatan peptida yang peka terhadap pepsin menjadi pecah. Selanjutnya polipeptida-polipeptida yang didapat dari hasil pencernaan dalam proventrikulus, selanjutnya akan dirombak dalam usus halus oleh tripsin, kimotripsin dan oleh enzim-enzim elastase, aminopeptidase, karboksipeptidase dan peptidase-peptidase yang khas dalam rongga atau mukosa usus halus menjadi asam-asam amino. Selanjutnya asam-asam amino ini diserap masuk ke peredaran

darah (Wahju, 1985 ; Tillman dkk., 1991; Lehninger, 1997). Protein serum darah khususnya globulin berasal dari asam amino di dalam pakan yang kemudian disintesis 50% di hati, sedangkan sisanya dibentuk dalam jaringan limfoid dan sel-sel retikuloendotel lain (Coles and Campbell, 1986 ; Murray *et al.*, 1993). Fungsi protein darah yang penting yaitu menyediakan nutrisi untuk jaringan tubuh dan membentuk antibodi untuk mempertahankan tubuh terhadap agen penyakit melalui fraksi gammaglobulin (Schalm *et al.*, 1986). Antibodi disintesis dan disekresikan ke luar sel oleh sel plasma atau AFC (*Antibody Forming Cells*) yang merupakan hasil pembelahan dan diferensiasi sel B setelah terjadi aktivasi akibat pengenalan terhadap antigen. Antigen yang masuk ke dalam tubuh akan dipresentasikan ke limfosit oleh sel-sel yang disebut APC (*Antigen Presenting Cells*) dalam bentuk MHC-II (*Major Histocompatibility Complex-II*) yang dikenal oleh T_H atau T-helper karena T_H tidak mampu mengenal antigen bebas. Presentasi antigen atau fragmen antigen oleh APC dan adanya sel T yang teraktivasi diperlukan untuk proses aktivasi dan diferensiasi sel B menjadi sel plasma yang dapat mensintesis dan mensekresikan antibodi (Roitt *et al.*, 1993).

Antibodi adalah senyawa protein kompleks yang diproduksi oleh sel plasma. Dalam rangka sintesis antibodi ini, sel B sebagai tempat pendewasaan dan diferensiasi sel plasma memerlukan protein dan asam amino dalam jumlah cukup dan seimbang (Tillman dkk., 1991). Protein yang cukup diperlukan ayam untuk memenuhi kebutuhan dalam membangun dan memperbaiki sel tubuh, proses metabolisme maupun untuk menyusun enzim serta hormon yang diperlukan tubuh (Anggorodi, 1985). Di samping itu protein dan asam-asam amino juga diperlukan

dalam perkembangan organ yang berperan pada sistem kekebalan, baik kekebalan seluler maupun humoral, hal ini dimungkinkan karena protein merupakan bahan penyusun sel dan antibodi (Tillman dkk., 1991). Hal tersebut serupa dengan yang disampaikan oleh Santoso (1987) serta Gaman dan Sherrington (1992), yaitu bahwa protein penting untuk pembentukan enzim, antibodi dan beberapa hormon.

BAB VI
KESIMPULAN DAN SARAN

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Kesimpulan penelitian ini adalah bahwa tingkat protein pakan yang berbeda berpengaruh terhadap titer antibodi ayam petelur jantan yang divaksin ND. Bahwa semakin tinggi tingkat protein pakan yang diberikan mulai dari 16%, 20% dan 26% maka semakin tinggi titer antibodi yang diperoleh setelah vaksinasi ND.

6.2. Saran

Berdasarkan pada hasil penelitian ini, perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan tingkat protein pakan berikut komposisi asam amino yang tepat dan seimbang serta jadwal vaksinasi yang berbeda atau umur yang tepat dilaksanakan vaksinasi sehingga diperoleh titer antibodi yang optimal dan ekonomis.

RINGKASAN

RINGKASAN

Try Nugrahawaty, Efek Berbagai Tingkat Protein Pakan Terhadap Titer Antibodi Ayam Petelur Jantan Yang Divaksin ND (*Newcastle Disease*), di bawah bimbingan Ibu Romziah Sidik, Ph.D., drh selaku pembimbing pertama dan Ibu Jola Rahmahani, MKes., drh selaku pembimbing kedua.

Di antara penyakit yang dapat menyebabkan kematian yang sangat tinggi dan penurunan produksi ternak ayam di Indonesia adalah ND (*Newcastle Disease*). Salah satu usaha untuk mencegah penyakit tersebut adalah dengan cara vaksinasi. Selain vaksinasi, strategi pengendalian ND juga meliputi sanitasi yang baik dan pemberian pakan yang berkualitas. Kekurangan protein, vitamin dan mineral akan menyebabkan berkurangnya respon imun dan secara nyata telah menyebabkan kegagalan vaksinasi ND pada ayam.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek berbagai tingkat protein pakan terhadap titer antibodi ayam petelur jantan yang divaksin ND. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan secara langsung untuk kepentingan petani peternak dalam memilih atau memformulasikan pakan berdasarkan aspek kualitatif pakan untuk meningkatkan kondisi sehat dari ayam sehingga diharapkan dapat meningkatkan kekebalan tubuh setelah vaksinasi ND.

Dalam penelitian ini digunakan 30 ekor anak ayam petelur jantan yang berumur sehari. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan dan 10 ulangan. Perlakuan pada masing-

masing kelompok adalah kelompok 1 (P1), diberikan pakan percobaan dengan tingkat protein rendah 16%, kelompok 2 (P2), diberikan pakan percobaan dengan tingkat protein sedang 20% dan kelompok 3 (P3), diberikan pakan percobaan dengan tingkat protein tinggi 26%. Perlakuan mulai diberikan pada saat anak ayam berumur 28 hari hingga akhir penelitian. Semua kelompok divaksinasi ND dengan strain Hitchner B1 secara tetes mata pada waktu berumur 35 hari. Pengukuran titer antibodi dilakukan pada waktu ayam berumur 28 hari untuk deteksi antibodi maternal, 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu setelah vaksinasi. Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan analisis varian satu arah, bila dijumpai perbedaan dilanjutkan dengan Duncan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi tingkat protein pakan yang diberikan mulai dari 16%, 20% dan 26% maka semakin tinggi titer antibodi yang diperoleh setelah vaksinasi ND.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Al Arif M.A. 1997. *Pengaruh Pemberian Minuman Bertonus Dan Latihan Fisik Terhadap Respon Imun Pada Mencit Dengan Diet Kandungan Protein Berbeda*. Laporan Penelitian Universitas Airlangga Tahun 1996/1997-1997/1998. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga. Surabaya.
- Anggorodi R. 1985. *Kemajuan Mutakhir Dalam Ilmu Makanan Ternak Unggas*. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Beard C.W. And R.P. Hanson. 1984. *Newcastle Disease In : Hofstad M.S. ; H.J. Barnes ; B.W. Calnek ; W.M. Reid ; H.W. Yoder Jr. Disease Of Poultry*. 8th Ed. Iowa State University Press. Ames Iowa, USA.
- Bellanti J.A. 1993. *Imunologi III*. Diterjemahkan A. Samik Wahab. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Blakely J. Dan David H.B. 1991. *Ilmu Peternakan*. Edisi Keempat. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Coles E.H. And T.W. Campbell. 1986. *Avian Clinical Pathology. In : Veterinary Clinical Pathology*. W.B. Saunders Company Ltd. Tokyo.
- Daniel Y.E. ; M.D. Perey ; B. Glenn And P.B. Dent. 1993. *Newcastle Disease In Normal And Immunodeficient Chickens*. American Journal Of Veterinary Research.
- Departemen Eurindo Combained p.t. 1988. *Aspek-Aspek Imunologi Dari Penyakit Ayam Yang Sering Ditemukan Pada Peternakan Ayam Ras Di Indonesia*. Technical Service. Veterinary Division. Jakarta.
- Direktorat Jenderal Peternakan. Direktorat Kesehatan Hewan. 1981. *Pedoman Pengendalian Penyakit Hewan menular*. Jilid I. Departemen Pertanian. Jakarta.
- Dubey D.R. And E.J. Yunis. 1996. *Aging And Nutritional Effect On Immune Function In Human, In : Basic And Clinical Immunology*. Eight Edition. Prentice Hall International Inc. USA.
- Ernawati R. ; Adi P.R. ; Nanik S. ; Jola R. ; Fedik A.R. ; Wahyu T. Dan Suwarno. 1994. *Petunjuk Praktikum Penyakit Viral*. Laboratorium Virologi Dan Imunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.

- Fenner F.J. ; E. Paul J.G. ; Frederick A.M. ; Rudolf R. ; Michael J.S. ; And Davido W. 1998. *Virologi Veteriner*. Edisi Kedua. Academic Press, Inc. London.
- Gaman P.M. Dan Sherrington K.B. 1992. *Ilmu Pangan : Pengantar Ilmu Pangan Nutrisi Dan Mikrobiologi*. Edisi Kedua. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Keith M.F. And K.N. Jeejebhoy. 1997. *Immunonutrition*. University Of Toronto, Ontario. Canada.
- Kusmanagandhi D. 1982. *Tindakan Yang Perlu Diambil Pada Saat ND Menyerang*. Poultry Indonesia. Edisi 48:14.
- Hartadi H. ; Soedomo R. Dan Allen D.T. 1993. *Tabel Komposisi Pakan Untuk Indonesia*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Lehninger A.L. 1997. *Dasar-Dasar Biokimia*. Alih Bahasa Thenawidjaja M. Jilid I. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Maynard L.A. ; J.K. Loosli ; H.F. Hintz And R.G. Warner. 1979. *Animal Nutrition*. 7th Ed. T.M.H. Publishing Company Ltd. New Delhi.
- Mc Donald P. ; Edwards R.A. And J.F.D. Greenhalgh. 1988. *Animal Nutrition*. Fourth Edition. John Wiley And Sons, Inc. New York.
- Murray R.K. ; D.K. Granner ; P.A. Mayer And V.W. Rodwell. 1988. *Harper's Biochemistry*. Twenty First Ed. Prentice-Hall International Inc.
- Nugroho E. 1989. *Penyakit-Penyakit Ayam Di Indonesia*. Edisi Pertama. Eka Offset. Semarang. Hal 36-46.
- Poultry Indonesia. 1992. *Penurunan Produksi Akibat NCD*. Nomor 145. Maret. Hal 20.
- Rasyaf M. 1993. *Beternak Ayam Pedaging*. Penerbit Penebar Swadaya. Jakarta.
- Ressang A.A. 1984. *Patologi Khusus Veteriner*. N.V. Percetakan. Bali.
- Roitt I. ; J. Brostoff And D. Male. 1993. *Immunology*. 3rd Ed. Toppan Company Ltd. Tokyo.
- Ronohardjo P. 1980. *Beberapa Masalah Yang Menyangkut Pengendalian Penyakit Tetelo Di Indonesia*. Seminar Penyakit Reproduksi Dan Unggas. Tugu. 15-16 Maret.

- Rudyanto M.D. Dan Untung S. 1997. *Tetelo Yang Selalu Bikin Masalah*. Infovet. Edisi 42. Januari. Hal 30.
- Santoso U. 1987. *Limbah Bahan Ransum Unggas Yang Rasional*. PT Bhatara Karya Aksara. Jakarta.
- Sarwono B. 1990. *Beternak Ayam Buras*. Penerbit Penebar Swadaya. Jakarta.
- Schaible P.J. 1970. *Poultry : Feeds And Nutrition*. The Avi Publishing Company Inc., WestPort. Connecticut.
- Schalm O.W. ; N.C. Jain And E.S. Carrol. 1986. *Veterinary Hematology*. 5th Ed. Philadelphia.
- Scott M.L. ; M.C. Nesheim And R.J. Young. 1982. *Nutrition Of The Chicken*. 3rd Ed. M.L. Scott And Associated. Ithaca-New York.
- Sediaoetama A.D. 1991. *Ilmu Gizi*. Jilid 1. Dian Rakyat. Jakarta.
- Sianita N. 1992. *Uji kandungan Virus Vaksin Newcastle Disease (ND) Aktif Yang Beredar Di Beberapa Depo Obat Hewan Di Surabaya*. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga. Departemen pendidikan Dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Steel R.G.D. Dan J.H. Torie. 1991. *Prinsip Dan Prosedur Statistika, Suatu Pendekatan Biometrik*. Edisi II. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Subowo. 1993. *Imunologi Klinik*. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Tillman A.D. ; H. Hartadi ; S. Reksodiprodjo ; S. Prawirokusumo Dan S. Lebdoesoekojo. 1991. *Ilmu Makanan Ternak Dasar*. Fakultas Peternakan UGM. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Tizard I. 1987. *Pengantar Imunologi Veteriner*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Valbuena A.A. ; M. Diaz-Ewald ; M. De Villarroel ; N. montiel ; A. Granados ; S. Diaz ; D. Salas And M. Livero. 1996. *Immunologic Characteristic Of Undernutrition*. Universidad Del Zulia, Maracaibo. Venezuela.
- Wahyu J. 1985. *Ilmu Nutrisi Unggas*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

Woodward B. 1998. *Depression In The Quantity Of Intestinal Secretory IgA And In Expression Of The Polymeric Immunoglobulin Receptor In Protein Caloric Deficiency Of The Weanling Mouse*. University Of Guelph, Ontario. Canada.

LAMPIRAN

LAMPIRAN 1. Kandungan Nutrisi Bahan Pakan Terpilih

Zat Nutrisi	Bahan Pakan									
	Jagung Kuning	Bekatul	Bungkil Kedelai	Bungkil Kelapa	Tepung Ikan	Minyak Kelapa	Premix			
ME (Kal/Kg)	3321	2887	2240	1411	3080	8600				
% Protein	8.9	12	41.3	18.6	52.6	0				
% Lemak	4	10.7	4.9	8.8	6.8	100				
% Serat Kasar	2.2	5.2	5.3	10.4	2.2	0				
% Kalsium	0.02	0.04	0.24	0.18	5.68	0				
% Fosfor	0.23	1.27	0.57	0.56	3.73	0				
Asam-Asam Amino :										
% Arginin	0.44	0.49	2.81	2.23	3.19	0				
% Sistin	0.16	0.12	0.6	0.2	0.53	0				
% Methionin	0.18	0.19	0.6	0.3	1.3	0				
% Glisin	0.36	0.67	2.13	0.97	4.04	0				
% Histidin	0.3	0.2	1	0.4	1.5	0				
% Isoleusin	0.4	0.33	2.37	0.59	2.26	0				
% Leusin	1.39	0.67	3.25	1.17	3.78	0				
% Lisin	0.29	0.5	2.56	0.55	3.97	0				
% Fenilalanin	0.52	0.36	2.08	0.78	2.44	0				
% Tirosin	0.36	0.4	1.34	0.49	1.82	0				
% Serin	0.5	0	0	0	0	0				
% Treonin	0.36	0.32	1.63	0.57	2.25	0				
% Triptofan	0.08	0.1	1	0.19	0.45	0				
% Valin	0.5	0.69	2.11	0.88	2.79	0				
Harga (Rp/Kg)	1200	800	3500	700	3250	3200				3750

Sumber : Hartadi dkk. (1993)

LAMPIRAN 2. Komposisi Bahan Premix

Tiap 1 kilogram ernmix produksi Triern Group Surabaya mengandung :

Kalsium (Ca)	40,89 %
Phosphor (P)	10,38 %
Magnesium (Mg)	2,14 %
Natrium Chlor (NaCl)	3,37 %
Kalium (K)	1,87 %
Yodium (I)	1,38 %
Sulphur (S)	0,14 %
Ferri (Fe)	0,19 %
Zinc (Zn)	60 ppm
Alanina	187,5 mg
Arginina	325 mg
Lisina	200 mg
Metionina	100 mg
Sistina	125 mg
Fenilalanina	187,5 mg
Serine	125 mg
Treonina	225 mg
Triptofan	52,5 mg
Tirosina	162,5 mg
Valina	337 mg
Asam Aspartat	300 mg
Asam Glutamat	500 mg
Vitamin A	375.000 IU
Vitamin B1	100 mg
Vitamin B2	575 mg
Vitamin B6	300 mg
Vitamin B12	0,05 mg
Asam Folat	12,5 mg
Vitamin E	0,5 mg
Kolina	50 mg
Inositol	75 mg

LAMPIRAN 3. Komposisi Pakan Perlakuan

Bahan Pakan	Kombinasi Pakan		
	P1	P2	P3
Komposisi :	----- % -----		
Jagung Kuning	70	53	37
Bekatul	6	10	8
Bungkil Kedelai	10	23	36
Bungkil Kelapa	4	2	6
Tepung Ikan	8	10	11
Minyak Kelapa	1	1	1
Premix	1	1	1
TOTAL	100	100	100
Analisis Perhitungan :			
ME (Kal/Kg)	3148.6	3012.1	2799.3
% Protein	16.032	21.048	26.023
% Lemak	4.926	4.84	4.439
% Serat Kasar	2.974	3.333	3.796
% Kalsium	1.012	1.0622	1.0931
% Fosfor	0.4796	0.6041	0.6409
Asam-Asam Amino :	----- % -----		
Arginin	0.9628	1.2921	1.6983
Sistin	0.2296	0.2918	0.3551
Methionin	0.3164	0.3914	0.4618
Glisin	0.8672	1.1711	1.4562
Histidin	0.458	0.567	0.676
Isoleusin	0.7412	1.0279	1.3116
Leusin	1.6874	1.9526	2.2239
Lisin	0.8646	1.2035	1.5416
Fenilalanin	0.82	1.0496	1.2852
Tirosin	0.5752	0.7308	0.8772
Serin	0.35	0.265	0.185
Treonin	0.637	0.8569	1.0273
Triptofan	0.2056	0.3312	0.4585
Valin	0.8608	1.1159	1.3595
Harga (Rp/Kg)	1595.5	1929.5	2237

Sumber : Perhitungan menggunakan program *excel for windows 95*

LAMPIRAN 4. Data Dan Analisis Titer Antibodi Dan Berat Badan Satu Minggu Sebelum Vaksinasi (Umur 28 hari)

Nomor Individu	Titer Antibodi	Berat Badan
1	0	350
2	0	370
3	0	370
4	0	370
5	0	350
6	0	350
7	0	355
8	0	365
9	0	355
10	0	355
11	0	350
12	0	350
13	0	355
14	0	350
15	0	350
16	0	365
17	0	350
18	0	350
19	0	350
20	0	370
21	0	370
22	0	350
23	0	370
24	0	365
25	0	365
26	0	370
27	0	355
28	0	355
29	0	350
30	0	350

Test of Homogeneity of Variances

Berat Badan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,506	2	27	,240

LAMPIRAN 5. Data Titer Antibodi Setelah Vaksinasi ND Pada Kelompok Perlakuan Dan Kontrol

Perlakuan (Kelompok)	Ulangan	Titer Antibodi			
		Minggu I	Minggu II	Minggu III	Minggu IV
P1	1	1	4	3	0
	2	0	3	2	0
	3	1	5	3	1
	4	0	1	3	0
	5	0	1	3	1
	6	0	3	4	0
	7	0	2	4	0
	8	0	1	4	0
	9	0	1	2	3
	10	0	5	6	3
\bar{x}		0,2	2,6	3,4	0,8
s		0,42164	1,64655	1,17379	1,22927
P2	1	0	5	5	2
	2	0	5	5	1
	3	1	5	4	1
	4	0	5	5	1
	5	1	4	4	0
	6	0	3	5	1
	7	0	3	4	2
	8	0	6	5	0
	9	3	3	6	3
	10	3	4	6	1
\bar{x}		0,8	4,3	4,9	1,2
s		1,22927	1,05935	0,73786	0,91894
P3	1	3	5	5	2
	2	3	7	6	3
	3	0	3	5	1
	4	0	3	6	3
	5	0	7	7	1
	6	1	5	6	2
	7	1	5	5	1
	8	1	5	5	0
	9	1	6	6	4
	10	3	6	7	2
\bar{x}		1,3	5,2	5,8	1,9
s		1,25167	1,39841	0,78881	1,19722

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Satu Minggu Setelah Vaksinasi ND	Kelompok 1	,20000	,42184	,13333	-,10162	,50162	,000	1,000
	Kelompok 2	,80000	1,22927	,38873	-7,9E-02	1,67937	,000	3,000
	Kelompok 3	1,30000	1,25167	,39581	,40461	2,19539	,000	3,000
	Total	,76667	1,10433	,20162	,35430	1,17903	,000	3,000
Dua Minggu Setelah Vaksinasi ND	Kelompok 1	2,60000	1,64655	,52068	1,42213	3,77787	1,000	5,000
	Kelompok 2	4,30000	1,05935	,33500	3,54219	5,05781	3,000	6,000
	Kelompok 3	5,20000	1,39841	,44222	4,19964	6,20036	3,000	7,000
	Total	4,03333	1,73172	,31617	3,38670	4,67997	1,000	7,000
Tiga Minggu Setelah Vaksinasi ND	Kelompok 1	3,40000	1,17379	,37118	2,56032	4,23968	2,000	6,000
	Kelompok 2	4,90000	,73786	,23333	4,37216	5,42784	4,000	6,000
	Kelompok 3	5,80000	,78881	,24944	5,23572	6,36428	5,000	7,000
	Total	4,70000	1,34293	,24518	4,19854	5,20146	2,000	7,000
Empat Minggu Setelah Vaksinasi ND	Kelompok 1	,80000	1,22927	,38873	-7,9E-02	1,67937	,000	3,000
	Kelompok 2	1,20000	,91894	,29059	,54263	1,85737	,000	3,000
	Kelompok 3	1,90000	1,19722	,37859	1,04356	2,75644	,000	4,000
	Total	1,30000	1,17884	,21523	,85982	1,74018	,000	4,000

