

SKRIPSI

**PENGARUH INAKTIFASI DENGAN FENOL TERHADAP
STABILITAS ANTIGEN INFEKSIUS BRONCHITIS**



OLEH :

DENY SOERJANTO
NGANJUK - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1994**

PENGARUH INAKTIFASI DENGAN FENOL TERHADAP STABILITAS
ANTIGEN INFEKSIUS BRONCHITIS

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

pada


Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh


DENY SOERJANTO
068911610

Menyetujui

Komisi Pembimbing



(Soesanto Prijosepoetro, Drh)
Pembimbing Pertama



(Rahayu Ernawati, M.Sc., 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



(Mohammad Moenif, M.S., Drh)
Ketua



(Ratih Ratnasari, S.U., Drh)
Sekretaris



(Herman Setyono, Drh)
Anggota



(Soesanto Prijosepoetro, Drh)



(Rahayu Ernawati, M.Sc., Drh)

Sunabaya,

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga



Dekan



(Prof. Dr. H. Rochiman Sasmita, M.S., Drh)

NIP 130 350 739

PENGARUH INAKTIFASI DENGAN FENOL TERHADAP
STABILITAS ANTIGEN INFEKSIUS BRONCHITIS

Deny Soerjanto

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh inaktivasi dengan fenol terhadap stabilitas antigen Infeksius Bronchitis (IB).

Penelitian ini menggunakan Telur Ayam Bertunas (TAB) sebagai media untuk memperbanyak antigen maupun untuk perlakuan inaktivasi. Perlakuan inaktivasi dilakukan dengan mencampurkan fenol ke dalam cairan allantois yang telah berisi virus IB (antigen) dengan konsentrasi 0% (tidak ditambahkan fenol), 0,5%, 1%, dan 1,5%. Setelah dicampurkan, dan diinkubasi selama 3 menit pada suhu 37^o C, kemudian dari masing-masing tabung diambil 1 ml antigen untuk diinokulasikan ke dalam 10 butir TAB dimana masing-masing butir diinokulasi dengan 0,1 ml antigen. Setelah dilakukan inkubasi selama 72 jam pada suhu 37^o C, cairan allantois TAB dipanen. Antigen baik yang diinokulasikan maupun yang tidak diinokulasikan disentrifuse, disonikasi untuk mendapatkan endapan virus yang murni. Kemudian pada tiap-tiap perlakuan ditambahkan fosfolipase dan diinkubasikan selama 2 jam pada suhu 37^o C. Setelah itu diadakan uji HA pada tiap-tiap perlakuan. Untuk antigen yang diinokulasikan, uji HA dilakukan untuk mengetahui berhasil tidaknya inaktivasi. Sedangkan pengujian terhadap antigen yang tidak diinokulasikan dilakukan pengujian HA untuk tiap-tiap perlakuan setiap minggu sekali selama 5 minggu untuk pengujian stabilitas.

Hasil yang diperoleh berupa titer antigen, yaitu pengenceran tertinggi dari antigen yang masih mampu mengaglutinasi eritrosit ayam. Pengukuran titer dilakukan dengan uji HA mikrotiter. Satuannya dalam HA Unit.

Dari analisis yang dilakukan dengan uji F menunjukkan bahwa inaktivasi dengan fenol sangat berpengaruh nyata terhadap stabilitas antigen IB. Antigen mulai inaktif mulai perlakuan fenol 1%. Konsentrasi fenol yang paling efektif untuk inaktivasi adalah 1,5% sedangkan untuk menstabilkan antigen adalah 1,5%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Dengan memanjatkan puji syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat rahmat dan berkatNya-lah penulis dapat menyelesaikan tulisan ini. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada semua pihak yang telah berjasa dan turut memberikan dasar pemikiran dalam tulisan ini. Karena kerelaan dan ketulusan hatinya, semoga Tuhan Yang Maha Esa membalas budi baiknya.

Tulisan ini disusun berdasarkan hasil penelitian yang penulis lakukan di Laboratorium Virologi dan Imunologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya, mulai tanggal 1 Desember 1993 sampai dengan 28 Februari 1994.

Pada kesempatan ini pula penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Dr. Rochiman Sasmita, M.S., Drh selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.
2. Bapak Soesanto Prijosepoetro, Drh selaku pembimbing pertama atas bimbingan dan bantuan yang diberikan kepada penulis.
3. Rahayu Ernawati, M.Sc., Drh selaku pembimbing kedua atas bimbingan dan bantuan yang diberikan kepada penulis.

4. Seluruh karyawan Laboratorium Virologi dan Immunologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan atas bantuan dan kerjasama yang diberikan kepada penulis.
5. Ayah, Ibu dan saudara-saudara yang telah memberikan doa restu, dorongan dan semangat kepada penulis.
6. Ike Hendrani, yang telah memberikan dorongan semangat kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa dalam tulisan ini masih banyak kekurangan dan belum sempurna. Maka dari itu saran, pendapat dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan. Semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan, khususnya dalam bidang kedokteran hewan.

Penulis

DAFTAR ISI

	halaman
INTISARI	i
UCAPAN TERIMA KASIH	ii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR LAMPIRAN	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR DIAGRAM	x
I. PENDAHULUAN	1
Latar Belakang Masalah	1
Perumusan Masalah	3
Landasan Teori	3
Hipotesis	4
Tujuan Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
Infeksius Bronchitis	5
A. Klasifikasi virus	5
B. Sifat Antigenik	6
C. Induk Semang	6
D. Kejadian dan Penyebaran	6
E. Sifat virus	7
F. Kelainan Pasca Mati	11
G. Diagnosa	12
H. Tingkat Kejadian dan Tingkat Kematian	12

I. Diagnosa Banding	13
J. Kekebalan	13
Desinfektan,	14
III. MATERI DAN METODE	19
Materi	19
Metode	19
IV. HASIL PENELITIAN	30
V. PEMBAHASAN	41
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	46
RINGKASAN	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN	50

DAFTAR TABEL

Nomor	halaman
1. Rancangan Pengujian Inaktifasi dengan Fenol Dalam Berbagai Konsentrasi	27
2. Rancangan Pengujian Stabilitas Antigen x dengan Beberapa Selang Waktu	27
3. Hasil Titrasasi Antigen (Virus IB) Sebelum Diinokulasikan Pada TAB dengan Beberapa Perlakuan	30
4. Uji BNJ 5% Tentang Pengaruh Inaktifasi dengan Fenol Pada Berbagai Konsentrasi Sebelum Diinokulasikan Pada TAB	31
5. Hasil Titrasasi Antigen (Virus IB) Setelah Diinokulasikan Pada TAB dengan Beberapa Perlakuan	31
6. Uji BNJ 5% Tentang Pengaruh Inaktifasi dengan Fenol Pada Berbagai Konsentrasi Setelah Diinokulasikan Pada TAB	32
7. Hasil Pengujian Stabilitas Antigen (IB) Pada Perlakuan A dengan Beberapa Selang Waktu	34
8. Uji BNJ 5% Tentang Pengaruh Inaktifasi dengan Fenol Untuk Perlakuan A Terhadap Stabilitas Antigen Pada Beberapa Selang Waktu	34
9. Hasil Pengujian Stabilitas Antigen (IB) Pada Perlakuan B Dengan Beberapa Selang Waktu	35
10. Uji BNJ 5% Tentang Pengaruh Inaktifasi dengan Fenol Untuk Perlakuan B Terhadap Stabilitas Antigen Pada Beberapa Selang Waktu	36
11. Hasil Pengujian Stabilitas Antigen (IB) Pada Perlakuan C dengan Beberapa Selang Waktu	37
12. Uji BNJ 5% Tentang Pengaruh Inaktifasi dengan Fenol Untuk Perlakuan C Terhadap Stabilitas Antigen Pada Beberapa Selang Waktu	37

13. Hasil Pengujian Stabilitas Antigen (IB) Pada Perlakuan D Dengan Beberapa Selang Waktu	38
14. Uji BNJ 5% Tentang Pengaruh Inaktifasi dengan Fenol Untuk Perlakuan D Terhadap Stabilitas Antigen Pada Beberapa Selang Waktu	38
15. Hasil Pengamatan Terhadap Perubahan TAB Setelah Inkubasi	40

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	halaman
1. Hasil Titrasasi Antigen (Virus IB) Sebelum Diinokulasikan Pada TAB dengan Beberapa Perlakuan	51
2. Hasil Titrasasi Antigen (Virus IB) Setelah Diinokulasikan Pada TAB dengan Beberapa Perlakuan	53
3. Hasil Pengujian Antigen (IB) Pada Perlakuan A dengan Beberapa Selang Waktu	55
4. Hasil Pengujian Antigen (IB) Pada Perlakuan B dengan Beberapa Selang Waktu	57
5. Hasil Pengujian Antigen (IB) Pada Perlakuan C dengan Beberapa Selang Waktu	59
6. Hasil Pengujian Antigen (IB) Pada Perlakuan D dengan Beberapa Selang Waktu	61
7. Penghitungan Beda Nyata Jujur 5%	63

DAFTAR GAMBAR

Nomor	halaman
1. Skema Penularan Penyakit IB	10
2. Struktur Kimia dari Fenol	18
3. Bagan Proses Penelitian	29

DAFTAR DIAGRAM

Diagram	halaman
1. Hubungan Antara Titer Rata-rata Antigen IB Sebelum dan Sesudah Inokulasi pada TAB (dalam 2 ⁿ HA Unit)	33
2. Hubungan Antara Titer Rata-rata Antigen IB pada Pengujian Stabilitas Terhadap Masing-masing Perlakuan (dalam 2 ⁿ HA Unit)	39

x

BAB I

PENDAHULUAN

1. Latar Belakang Masalah

Peternakan unggas di Indonesia khususnya peternakan ayam dewasa ini sudah mengalami kemajuan baik peternakan ayam pembibitan, ayam petelur maupun ayam pedaging. Meskipun demikian, peternakan ayam senantiasa mendapatkan ancaman yang serius dari berbagai penyakit. Hambatan tersebut berasal dari penyakit pernafasan (paling besar) yang dapat menyebabkan penurunan produksi ternak unggas di Indonesia, seperti penyakit ND (Newcastle Disease), CRD (Chronic Respiratory Disease), Coryza, dan juga IB (Infeksius Bronchitis).

Infeksius Bronchitis adalah merupakan salah satu penyakit saluran pernafasan pada ayam yang disebabkan oleh virus dari golongan *Coronaviridae*. Penyakit ini bersifat akut dan sangat menular sehingga penyebarannya pada sekelompok ayam sangat cepat yang ditandai dengan gangguan pernafasan, keluar lendir dari hidung, konjungtivitis, penurunan produksi telur dan kualitas telur menjadi sangat jelek (Anonymous, 1980; Gordon and Jordan, 1982). Dalam dunia peternakan unggas penyakit ini dianggap sangat serius oleh peternak karena dapat menimbulkan kerugian yang cukup besar (Anonymous, 1980).

Ada beberapa cara untuk mengetahui adanya penyakit (antigen) ini antara lain dengan menggunakan uji serologis. Uji serologis yang dapat dilakukan adalah uji *Serum Netralisasi* (SN), *Complement Fixation Test* (CFT), *Indirect Hemagglutination* (HA) *Hambatan Hemagglutination* (HI), *Agar Gel Precipitin Test* (AGPT), dan *Enzim-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) (Hofstad, 1984).

Virus Infeksius Bronchitis dapat dinaktifasi dengan 1 persen fenol, kresol, formalin, larutan lugol atau metafen juga merkuri chlorit 1/1000 atau potasium permanganat 1/10.000 konsentrasi dan 5 persen NaOH (Merchant and Packer, 1971).

Pada penelitian di laboratorium banyak digunakan Beta Propiolakton untuk menginaktifasi virus IB. Tetapi belum banyak peneliti yang melakukan inaktifasi virus IB dengan menggunakan desinfektan fenol sebagai inaktifator.

Dengan dinaktifkan, diharapkan virus ini akan lebih stabil. Kalau virus telah stabil, maka akan lebih mudah dalam pembacaan pada uji-uji serologis yang akan dilakukan. Penulis menggunakan fenol karena fenol merupakan salah satu inaktifansia alternatif selain Beta propiolakton dan formalin. Selain itu fenol relatif mudah didapatkan dan harganya murah. Uji yang akan dilakukan oleh penulis adalah uji HA setelah diadakan inaktifasi. Waktu inkubasi yang

dipergunakan untuk menginaktivasi didasari dengan waktu inkubasi untuk menginaktifkan virus ND, yaitu 3 menit (Merchant and Packer, 1971). Sumber antigen yang dipergunakan adalah virus Infeksius Bronchitis strain Massachusetts galur Holland 52 dengan pertimbangan strain ini banyak tersedia dan dipergunakan sebagai vaksin di Indonesia.

Di dalam mendiagnosa antigen IB dengan uji HA memerlukan ketelitian yang cukup baik dan sulit untuk dikerjakan di lapangan karena titer biasanya terbaca dalam waktu yang cepat. Hal ini berhubungan dengan sifat virus yang mengaglutinasikan darah (Hofstad, 1984) yang berlangsung secara reversibel (bolak balik).

2. Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian yang telah dikemukakan, maka dapat dirumuskan beberapa permasalahan :

1. Dapatkah fenol menginaktifkan antigen Infeksius Bronchitis.
2. Apakah fenol dapat menstabilkan antigen Infeksius Bronchitis.

3. Landasan Teori.

Fenol bekerja dengan cara mendenaturasi protein suatu organisme. Inaktivasi terhadap antigen IB dimungkinkan karena protein yang ada pada envelop

antigen IB didenaturasi oleh fenol.

4. Hipotesis

Hipotesis nol (H_0) adalah : tidak ada perbedaan yang nyata antara stabilitas antigen IB sebelum dan sesudah penambahan fenol.

Hipotesis Alternatif (H_A) adalah : ada perbedaan yang nyata stabilitas antigen IB sebelum dan sesudah penambahan fenol.

5. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh inaktivasi dengan berbagai konsentrasi fenol terhadap stabilitas antigen Infeksius Bronchitis. Penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan antigen IB yang stabil dengan menggunakan inaktivansi fenol. Dengan dinasilkannya antigen yang stabil diharapkan dokter hewan dapat lebih mudah dan tepat dalam mendiagnosa penyakit Infeksius Bronchitis di laboratorium.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

INFEKSIUS BRONCHITIS

Penyakit Infeksius Bronchitis ayam pertama kali dilaporkan pada tahun 1931 di Amerika Serikat. Penyakit ini menyebabkan abnormalitas dari perkembangan saluran indung telur (oviduct) dan apabila mengenai ayam petelur dapat menginfeksi saluran telur sehingga akan mengakibatkan penurunan produksi maupun kualitas telur. Beberapa strain virus ini mengakibatkan nefritis pada ayam yang sedang tumbuh. Infeksi saluran pernafasan mencapai daerah yang luas dan merugikan dari segi ekonomi. Penyakit ini dapat pula mengakibatkan penurunan pertumbuhan dan konversi pakan (Gordon dan Jordan, 1985). Secara alamiah penularan terjadi pada ayam yang belum diberi vaksin Infeksius Bronchitis (IB) terlebih dahulu. Pada ayam tipe pedaging vaksin hidup yang diberikan dapat merupakan predisposisi pada proses terjadinya infeksi-infeksi berikutnya (Hofstad, 1984).

A. KLASIFIKASI VIRUS

Virus IB termasuk golongan *Coronavirus* dari famili *Coronaviridae* yang mempunyai struktur RNA (Hofstad, 1984)

B. SIFAT ANTIGENIK

Di dunia dikenal ada 8 macam serotipe virus IB yaitu Massachusetts, Connecticut, Georgia, Delaware, Iowa 97, Iowa 69, New Hampshire, Australian T virus. Kekebalan silang yang terjadi diantara serotipe tidak cukup untuk melindungi tantangan virus di alam (Ernawati dkk, 1989).

C. INDUK SEMANG (HOST)

Hanya ayam (baik pedaging maupun petelur) yang dapat tertular oleh virus IB secara alamiah (Hofstad, 1984).

D. KEJADIAN DAN PENYEBARAN

Penyakit IB tersebar di seluruh dunia. Kejadian penyakit secara alamiah di Amerika Serikat menurun sampai pada penggunaan vaksin hidup yang sudah dimodifikasi. Meskipun demikian, penyakit pada alat pernafasan kadang-kadang dapat terjadi pada ayam yang telah divaksin sebelumnya. Virus dari strain-strain dengan serotip yang berbeda dapat mengakibatkan penyakit ini (Hofstad, 1984). Penyakit ini terutama menyerang ayam-ayam muda tetapi tidak menutup kemungkinan ayam dewasa dapat terjangkit (Merchant dan Packer, 1971). Infeksi dapat terus berlangsung pada seekor ayam dalam kandang untuk beberapa bulan atau dapat pula menular dari ayam satu ke ayam lain.

Ronohardjo (1980) mengadakan penelitian tentang penyebaran IB di Indonesia, dengan melakukan uji AGP terhadap serum ayam yang diperoleh dari peternakan ayam ras di beberapa daerah. Selain itu uji yang sama dilakukan juga untuk memperoleh data penyakit pada ayam-ayam kampung. Dari hasil tersebut ternyata bahwa 54,4% peternakan telah terinfeksi oleh IB. Dari peternakan-peternakan yang terinfeksi tersebut, penyebaran penyakit berkisar antara 17,7% (Medan) dan 58% (Bogor). Di samping hasil tersebut juga terbukti bahwa 23 % ayam kampung pernah menderita penyakit IB.

E. SIFAT VIRUS

1. Morfologi Virus

Virus IB mempunyai inti asam Ribonukleat berantai tunggal, diselubungi oleh kapsid yang berbentuk helix simetris, mempunyai envelop yang terdiri dari lipoprotein dan mempunyai bentuk lingkaran atau bulat, dengan diameter 80 sampai 120 nanometer tetapi kadang-kadang dijumpai berbentuk tak tentu (pleomorf) pada saat pewarnaan (Hofstad, 1984). Ukuran virus IB mirip dengan Paramixovirus tetapi tidak menghasilkan neuroamidase. Mempunyai semacam bentukan-bentukan yang menonjol di sekeliling virus.

2. Sifat Biologis Virus

Virus IB yang tidak dibiakkan dalam cairan allantois tidak dapat menggumpalkan (aglutinasi) eritrosit. Corbo dan Cuningham menyatakan bahwa virus IB mampu mengadakan hemaglutinasi bila ditambahkan fosfolipase C (Hofstad, 1984) atau trypsin (Merchant dan Packer, 1971) setelah dilakukan pemurnian virus.

3. Daya Tahan Virus

Kebanyakan strain IB menjadi inaktif setelah 15 menit pada suhu 57^o Celcius. Beberapa strain bertahan hingga 45 menit. Virus ini hidup baik bila ditempatkan pada cairan allantois pada suhu 30^o C (Hofstad, 1984). Pada strain yang baru diisolasi, virus diinaktifkan setelah 15 sampai 30 menit, sedangkan stok kultur virus yang telah disesuaikan pada embrio ayam dapat bertahan hidup pada suhu 56^o C selama 3 jam. Virus IB tetap infeksius didalam air (pH 7,4) selama sekurang-kurangnya 24 jam pada suhu kamar tetapi mati pada suhu 37^o C selama 36 jam. Virus dapat disimpan selama beberapa bulan pada -60^o C di dalam cairan allantois atau cairan kultur. Virus stabil pada pH 3 selama 14 hari dan menunjukkan stabilitas maksimum pada pH 7,8. Virus IB dapat diinaktifkan dengan menggunakan 1 persen fenol, kresol, forma-

lin, larutan lugol atau metafen juga mercuri chlorit 1/1.000 atau potassium permanganat 1/10.000 konsentrasi dan 5 persen NaOH (Merchant dan Packer, 1971).

4. Sifat Pembiakan

Virus IB dapat tumbuh pada Telur Ayam Bertunas (TAB) umur 9-12 hari dengan inokulasi pada cairan allantois. Embrio yang terinfeksi akan memperlihatkan tanda-tanda yang khas berupa kekerdilan, jari kaki keriting, kepala membengkak dan terjadi pendarahan di seluruh tubuh. Tanda tersebut bisa tidak terjadi atau terlihat pada pasase pertama, tetapi pasti akan terlihat pada pasase selanjutnya. Setelah beradaptasi dengan embrio ayam, virus akan bertambah virulen dan dapat menyebabkan kematian dalam waktu 3-4 hari setelah inokulasi (Merchant dan Packer, 1971). Virus juga dapat dibiakkan dalam kultur sel epitel ayam, kultur sel ginjal tetapi tidak bisa pada sel fibroblas.

5. Penularan Penyakit

Penyakit menular dalam waktu yang sangat singkat. Dalam jangka waktu 2-3 hari sebagian besar atau seluruh ayam dalam satu kandang menjadi sakit. Masa inkubasi 18-36 jam. Infeksius Bronchitis merupakan penyakit yang paling menular diantara

penyakit menular unggas lainnya. ✓ Penularan tidak terjadi melalui telur. Sumber penularan adalah ayam yang sakit, virus keluar dari tubuh ayam sakit bersama partikel-partikel kecil lendir yang dibatukkan atau lendir yang dikeluarkan dari mata atau lubang hidung. Penularan terjadi secara langsung dimana ayam sehat menghirup udara yang mengandung partikel virus. Penularan juga dapat terjadi secara tidak langsung, yaitu jika virus yang mencemari petugas kandang, peralatan kandang, ayam liar/hewan lainnya masuk ke dalam tubuh ayam sehat melalui saluran pencernaan atau pernafasannya (Yahya, 1993).



Gambar 1. Skema Penularan Penyakit IB (Yahya, 1991).

6. Waktu Inkubasi

Waktu inkubasi virus IB adalah 18-36 jam, tergantung dosis dan tempat masuknya (*inokulasi*) virus. Sedangkan waktu yang alami adalah 36 jam atau lebih.

7. Gejala Klinis

Virus IB mempunyai predileksi pada saluran pernafasan, ayam yang terserang setelah melalui masa inkubasi 18-36 jam akan terlihat gejala klinik yang menonjol berupa keluarnya lendir dari hidung, sesak nafas, batuk-batuk dan terdengar suara ngorok. Sinus hidung membengkak. Mata terlihat selalu berair, sudut mata medial melebar dan selaput niktitas berwarna merah. Pada ayam dewasa terjadi penurunan produksi telur sampai 10 sampai 50% (Ernawati dkk, 1989). Kualitas telur menjadi rendah, karena bentuk telur tidak normal, kerabang kasar dan lunak. Daya tetas telur menurun. Penurunan produksi telur kadang-kadang terjadi dalam jangka waktu yang lama dan bahkan tingkat produksi tidak dapat kembali normal (Yahya, 1991).

F. KELAINAN PASCA MATI

Jika diadakan bedah bangkai akan tampak kelainan pada saluran pernafasan, kantung hawa, ovarium kadang-kadang ginjal. Perubahan pada saluran pernafasan yaitu pada trachea, bronchi dan rongga hidung ditemukan lendir yang terus bertambah serta bersifat serosa. Pada trachea, selaput lendirnya menjadi kemerahan. Kantung hawa menjadi keruh dan ada bagiannya yang menebal (cloudy swelling). Pada layer, ovarium menja-

di lemah dan lunak. Seringkali ditemukan kuning telur pecah di dalam rongga perut sehingga akan terjadi peradangan pada peritonium. Kalau pada ovarium terdapat kuning telur yang sudah masak (siap untuk diovu-lasikan), biasanya kuning telur akan pecah dan mengalir keluar dalam rongga perut. Selain indung telur (ovarium), saluran telur juga menjadi tidak sempurna. Kedua hal tersebut menyebabkan telur yang dihasilkan juga tidak sempurna. Kerusakan pada indung telur dan saluran telur sukar sembuh kembali. Pada ginjal akan ditemukan perubahan yang khas yaitu pembengkakan disertai pengendapan asam urat (Yahya, 1991).

G. DIAGNOSA

Diagnosa penyakit ini dilakukan berdasarkan gejala klinis dan epizootiologi yang diperkuat dengan diagnosa laboratorium.

Di laboratorium dilakukan isolasi virus dengan cara membiakkannya ke dalam TAB umur 9-11 hari pada cairan allantois. Untuk mendeteksi antigen virusnya dapat dilakukan dengan FAT dan HA test. Untuk mendeteksi antibodi dalam serumnya dapat digunakan uji SN, AGP, ELISA, HI test dan CFT (Ernawati dkk, 1989).

H. TINGKAT KEJADIAN DAN TINGKAT KEMATIAN

Seluruh ayam dalam satu kandang dapat terserang, tetapi kematian hanya dialami oleh ayam muda. Tingkat

kematian bervariasi, tergantung dari umur, vaksinasi yang dilakukan dan kondisi pemeliharaan. Kematian dapat mencapai 25 persen pada ayam muda. Strain Australian T lebih banyak menimbulkan kematian (karena tempat predileksinya di ginjal) daripada strain-strain Amerika (Hofstad, 1984).

I. DIAGNOSA BANDING

Penyakit IB mempunyai gejala-gejala yang mirip dengan :

- Newcastle Disease (ND)
- Infectious Laryngotracheitis (ILT)

Pendapat di atas dikemukakan oleh Ernawati (1989) dan Yahya (1991).

J. KEKEBALAN

Hewan yang sembuh dari infeksi alam akan menjadi kebal sekurang-kurangnya 6-8 bulan. Tetapi tidak bersifat *Carrier* atau pembawa bibit penyakit. Titer antibodi maternal pada anak ayam yang baru menetas bertahan tinggi sampai umur 14 hari, kemudian menurun tajam hingga pada umur sekitar 1 bulan sudah peka terhadap infeksi penyakit IB (Ernawati dan kawan-kawan, 1989).

DESINFEKTAN.

Di dalam kenyataan sehari-hari, istilah antiseptika dan desinfektan sering kacau. Perbedaannya terletak pada tujuan penggunaannya. Antiseptika adalah bahan kimia yang penggunaannya ditujukan untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme pada jaringan hidup atau jaringan tubuh. Disinfektan pada prinsipnya sama dalam hal membunuh mikroorganisme, hanya saja digunakan pada benda-benda mati seperti gedung-gedung, kandang dan peralatannya, alat-alat operasi dan lain-lain (Rawlins, 1980).

Konsentrasi bahan kimia yang digunakan sebagai antiseptika pada umumnya lebih rendah bila dibandingkan konsentrasi bahan kimia untuk untuk desinfektan. Hal ini bertujuan untuk menghindari atau mencegah terjadinya iritasi dan kerusakan pada jaringan tubuh (Jones, 1971). Cara kerja antiseptika dan desinfektan secara umum, yaitu merusak dinding dan membran sel, mendenaturasi protein atau dengan mengubah gugus fungsional protein dan asam nukleat (Jawetz et al., 1980; Joklik et al., 1984).

Efektifitas antiseptika dan disinfektan dipengaruhi oleh beberapa hal, yaitu :

- Konsentrasi dan lama kontak

Terdapat suatu hubungan yang erat antara konsentrasi bahan kimia dan lama kontak dengan mikroorganisme. Semakin besar konsentrasi dari bahan kimia yang digunakan, semakin cepat pula waktu yang dibutuhkan untuk membunuh mikroorganisme

tersebut (Rawlins, 1980).

- Suhu

Efektifitas antiseptika dan disinfektan akan meningkat dengan semakin meningkatnya suhu disekitarnya (Rawlins, 1980; Joklik et al 1984).

- pH

Mikroorganisme yang berada dalam keadaan pH asam dapat dibunuh pada suhu yang lebih rendah dan dalam waktu yang singkat dibanding dengan mikroorganisme yang sama dalam keadaan pH basa (Lawrence and Block, 1968).

- Jumlah dan spesies mikroorganisme

Untuk membunuh suatu organisme dalam jumlah besar, dibutuhkan waktu yang lebih lama dibandingkan untuk membunuh organisme dalam jumlah yang lebih kecil. Setiap spesies mikroorganisme mempunyai kerentanan yang berbeda terhadap antiseptika dan desinfektan. Adanya spora atau kapsul dari suatu organisme tertentu akan dapat mempersulit penghancuran mikroorganisme tersebut (Pelczar and Chan, 1981).

- Adanya bahan-bahan organik lain

Adanya bahan-bahan organik lain dapat menurunkan efektifitas antiseptika dan desinfektan secara nyata. Dengan cara menginaktifkan desinfektan dan antiseptika atau dengan melindungi mikroorganisme

(Pelczar and Chan, 1981).

Menurut Merchant dan Packer (1971), virus IB dapat diinaktifkan dengan menggunakan 1 persen fenol, kresol, formalin, larutan lugol atau metafen juga merkuri chlorit 1/1.000 atau potassium permanganat 1/10.000 konsentrasi dan 5 persen NaOH.

Fenol merupakan salah satu desinfektan alternatif selain formalin dan Beta propiolakton. Selain itu fenol mudah didapatkan, harganya murah dan cukup poten sebagai desinfektan. Tetapi fenol cukup berbahaya bila tidak dipergunakan sebagaimana mestinya.

Fenol bekerja dengan cara mendenaturasikan protein suatu mikroorganisme. Pertama kali fenol ditemukan oleh Runger (1834) dari ter batubara dan disebut sebagai asam karbolat, baru pada tahun 1860 digunakan sebagai desinfektan. Pada tahun 1867, Lister menggunakan fenol sebagai antiseptika dalam tindakan bedah. Konsentrasi 1-2 persen diperlukan untuk aktifitas antimikroba sedangkan konsentrasi 5 persen sangat mengiritasi jaringan, sehingga fenol banyak digunakan untuk desinfeksi benda mati dan eksreta (Katzung, 1984).

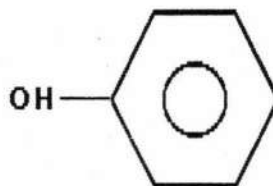
Sifat-sifat fenol adalah bila terkena pengaruh cahaya dan udara akan membentuk jarum-jarum kristal higroskopik berwarna kuning sampai ros, dengan air sampai konsentrasi 6 persen akan membentuk larutan homogen. Pada kadar air 28-92 persen dengan suhu 20^o akan membentuk dua fase cair (kesenjangan ketercampuran), tetapi

diatas suhu 26° C tidak terjadi lagi. Fenol bekerja dalam bentuk yang tidak terdisosiasi, sehingga akan memperlihatkan aktifitas tertinggi dalam lingkungan asam (Schunack *et al.*, 1990).

Fenol adalah suatu senyawa yang terbentuk dari persenyawaan antara gugus -OH yang secara langsung terikat pada struktur molekul benzena. Fenol merupakan alkohol aromatik. Karena adanya resonansi maka fenol mempunyai keasaman lebih kuat daripada alkohol alifatik. Selain itu gugus -OH pada fenol lebih sukar diganti daripada gugus -OH pada alkohol alifatik. Daya membunuh kuman dari fenol lebih kuat daripada alkohol alifatik. Rumus kimia fenol adalah C_6H_5OH (Pikir, 1983).

Fenol sangat larut pada etil eter, metil alkohol, karbon tetraklorit, asam asetat, gliserol, larutan sulfur dioxida dan benzene. Fenol kurang larut dalam parafin hidrokarbon.

Fenol adalah bahan toksik yang bila diadsorbsi kulit dapat menimbulkan kematian, meskipun terkena pada daerah yang sempit (di daerah tangan atau kaki). Kontak dengan kulit dapat berbahaya serta kulit bisa terbakar. Fenol dapat dipergunakan sebagai desinfektan dalam konsentrasi 1 sampai 2% (Kirk and Othmer, 1982).



Gambar 2. Struktur Kimia dari Fenol.

BAB III

MATERI DAN METODE

A. MATERI

- a. Telur ayam bertunas (TAB) umur 9-12 hari.
- b. Virus strain Massachusetts galur Holland 52 yang diperoleh dari PT. Lito Satwa Sempurna Surabaya dalam bentuk vaksin aktif.
- c. Tris buffer dengan pH 7,4 dan ditambahkan penisilin 10.000 unit/ml dan streptomisin 10 gr/ml.
- d. Fosfolipase C tipe 1.
- e. Suspensi eritrosit 0,5%.
- f. Fenol. Fenol yang dipakai dengan konsentrasi 96 persen.
- g. Alat-alat.

Tabung reaksi, gelas ukur, erlemeyer, gelas beker, spuit disposibel 1 cc dan 5 cc, pipet Pasteur, pipet biasa, pinset, lampu teropong, paku untuk melubangi kulit telur, inkubator, sterilisator, sentrifuse biasa dan ultrasentrifuse, cawan petri, mikropipet U, mikrodiluter 0,025 milimeter, pipet dropper 0,025 ml, api bunsen, paraffin dan botol-botol kecil.

B. METODE

1. Tempat dan Tanggal Penelitian

Penelitian ini dimulai pada tanggal 1 Desember 1993 dan selesai pada tanggal 28 Pebruari 1994. Tempat

penelitian adalah di Laboratorium Virologi dan Immunologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

2. Penyediaan Telur Ayam Bertunas.

Dalam penelitian ini TAB (Telur Ayam Bertunas) harus memenuhi syarat-syarat telur yang baik untuk pembiakan virus IB antara lain embrio di dalam TAB masih hidup (dengan diteropong sebelum diinokulasi), berasal dari induk SPF (*Specific Pathogenic Free*) dan TAB berumur antara 9-12 hari. TAB-TAB didapatkan dari PT. Anky, Prigen Kabupaten Pasuruan. Telur-telur tersebut dipergunakan sebagai media untuk :

- a. Memperbanyak persediaan antigen (dipergunakan 20 butir telur)
- b. Perlakuan inaktifasi dan stabilitas.

TAB yang dipergunakan berjumlah 40 butir telur untuk 4 kelompok perlakuan, dimana masing-masing perlakuan terdiri dari 10 butir TAB.

3. Penyediaan Antigen

- a. Inokulasi

Telur-telur yang telah disediakan disterilisasi kulitnya dengan alkohol 70% dan dibuat lubang pada kulitnya dengan paku (atau alat pelubang kulit telur) pada daerah dekat dengan kantung

hawa. Virus IB strain Holland 52 yang telah dilarutkan dalam Tris Buffer diinokulasikan sebanyak 0,1 ml pada cairan allantois melewati kantung hawa dengan memakai suntikan dengan jarum 26 G. Kemudian ditutup dengan malam dan diinkubasi pada suhu 37° C selama 72 jam.

b. Pemanenan.

Hanya cairan allantois yang tidak terkontaminasi oleh runtunan sel maupun sel darah merah yang diambil (dipanen). Cairan allantois diambil dengan memakai pipet Pasteur dan dikumpulkan dalam tabung steril yang selanjutnya akan dipergunakan sebagai sumber antigen.

4. Perlakuan

a. Inaktifasi

Ke dalam 4 tabung reaksi steril yang telah diberi notasi A, B, C dan D dimasukkan masing-masing 10 ml antigen (cairan allantois). Kemudian dilakukan inaktifasi antigen dengan cara berikut :

- tabung A tidak ditambahkan fenol (perlakuan A atau fenol 0%).
- tabung B ditambahkan 0,05 ml fenol (untuk perlakuan B atau fenol 0,5%).
- tabung C ditambahkan 0,1 ml fenol (untuk

- perlakuan C atau fenol 1%)
- tabung D ditambahkan 0,15 ml fenol (untuk perlakuan D atau fenol 1,5%)

Setelah itu tabung-tabung tersebut dikocok supaya homogen dan diinkubasikan selama 3 menit pada suhu 37^o Celcius. Kemudian diambil 1 ml antigen dari masing-masing tabung untuk diinokulasikan ke dalam TAB yang telah dipersiapkan (masing-masing telur diinokulasikan sebanyak 0,1 ml antigen). TAB yang telah diinokulasi dengan antigen diinkubasi pada suhu 37^o selama 72 jam. Setiap hari diamati dengan cara candling. Apabila ada yang mati segera disimpan dalam lemari es supaya tidak membusuk. Untuk antigen yang tidak diinokulasikan ke dalam TAB disimpan dalam suhu 4^o C dan akan diukur titernya dengan uji HA (untuk mengetahui stabilitas) bersama-sama dengan pengujian HA hasil inokulasi dari TAB.

b. Pemanenan

Setelah 72 jam cairan allantois dipanen. Apabila sampai 72 jam ada TAB yang masih hidup, maka TAB dimatikan terlebih dulu dengan dimasukkan dalam lemari es (suhu 4^o C) selama kurang lebih 1 jam, baru dibuka untuk dipanen. Tiap-tiap perlakuan hasilnya dijadikan satu dalam satu wadah yang sudah disterilisasi.

c. Sentrifuse

Cairan allantois hasil panen dijernihkan dengan cara disentrifuse dengan kecepatan 5000 g selama 10 menit. Kemudian supernatan dipisahkan, sentrifuse kembali dengan kecepatan 40.000 g selama 45 menit untuk mendapatkan endapan virus yang murni. Setelah terjadi endapan, supernatannya dibuang dan endapan virus dilarutkan kembali dengan Tris Buffer menggunakan spuit. Untuk diameter 1 mm endapan diencerkan dengan 0,2 ml Tris Buffer.

d. Sonikasi

Setelah dilakukan pengenceran dengan Tris Buffer, tindakan selanjutnya adalah antigen terlarut disonikasi pada sonikator. Tujuan dilakukan sonikasi adalah untuk memisahkan sel-sel virus yang kemungkinan masih jadi satu karena pengaruh sentrifuse. Selain itu juga dipergunakan sebagai homogenisasi.

e. Penambahan Fosfolipase

Setelah sentrifuse selesai, dengan cepat suspensi virus diberi fosfolipase 1 unit/ml dan diinkubasi pada suhu 37^o C (pada waterbath) selama 2 jam. Setelah 2 jam suspensi siap untuk diadakan pengujian dan sebaiknya dibawa pada suhu 4^o C.

Maksud pemberian fosfolipase agar zat yang menghalangi ikatan antara antigen-darah (enzim sensitive haemagglutination inhibitor) dapat dihambat sehingga akan terjadi aglutinasi. Tindakan selanjutnya adalah dilakukan pengujian terhadap antigen.

5. Penqujian Antiqen

A. Pembuatan suspensi eritrosit 0,5%.

Pertama-tama disiapkan terlebih dulu suspensi eritrosit 0,5% dengan cara:

eritrosit ayam dicuci 3 kali dengan PBS (dituangi PBS kemudian disentrifuse pada kecepatan 5.000 rpm dalam waktu 30 menit). Setelah itu suspensikan dalam PBS dalam konsentrasi 0,5%

B. Proses Pengujian dengan uji HA mikroplate.

Mikroplate U disiapkan dan lubang dari nomer 1-12 diisi dengan 0,025 ml PBS pH 7,4 dengan menggunakan mikridropper, kemudian lubang nomer 1 diisi dengan 0,025 ml suspensi virus memakai mikrodiluter dan dikocok agar homogen. Dari lubang 1 diambil 0,025 ml suspensi, lalu dipindahkan ke dalam lubang 2 demikian seterusnya sampai dengan lubang 11. Setelah itu dari lubang 11 diambil 0,025 ml dan dibuang. Kemudian pada lubang 1 sampai 12 dimasukkan 0,025 suspensi eritrosit 0,5% kemudian dikocok selama 1 menit. Setelah

itu diikubasi selama 15 menit pada 4^o C. Setelah itu diamati berapa titernya. Lubang 12 adalah kontrol eritrosit. Pengenceran tertinggi yang masih terjadi penggumpalan eritrosit adalah nilai titer HA antigen.

Pengujian dilakukan terhadap :

a. Antigen yang tidak diinokulasikan pada TAB.

Pengujian dimaksudkan untuk mengetahui stabilitas virus setelah diinaktifasi dengan fenol pada berbagai konsentrasi dengan selang waktu 1 minggu selama 5 minggu (5 kali pengujian). Hasil pengujian pada minggu pertama dipergunakan sebagai pembandingan terhadap hasil pengujian inaktifasi pada virus yang telah diinokulasikan. Bila titer rata-rata perlakuan tertentu (A, B, C atau D) pada pengujian pertama lebih besar daripada titer rata-rata pada perlakuan yang sama untuk virus yang telah diinokulasikan pada TAB, maka dapat diartikan bahwa inaktifasi telah berhasil dilakukan. Rancangan dari uji yang akan dilakukan adalah sebagai berikut :

- Pengujian I dilakukan segera setelah selesai pemurnian.
- Pengujian II dilakukan satu minggu setelah pengujian I.
- Pengujian III dilakukan satu minggu setelah pengujian II.

- Pengujian IV dilakukan satu minggu setelah pengujian III.
- Pengujian V dilakukan satu minggu setelah pengujian IV.

Setelah selesai tiap tahap pengujian antigen segera disimpan dalam suhu 4^o C.

b. Antigen yang diinokulasikan pada TAB.

Pengujian dilakukan untuk mengetahui berhasil tidaknya inaktifasi yang dilakukan. Apabila titer rata-rata antigen yang diperoleh lebih tinggi daripada titer rata-rata antigen yang tidak diinokulasikan maka bisa diartikan inaktifasi belum berhasil. Tetapi apabila titer rata-rata lebih rendah, maka berarti inaktifasi yang dilakukan telah berhasil.

6. Analisis Statistik

Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh inaktifasi dengan fenol terhadap stabilitas antigen maka dilakukan analisis statistik. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan analisis data dilakukan dengan analisa varian (ANOVA) dengan signifikansi 5%. Kemudian dilanjutkan dengan uji BNJ 5% (Beda Nyata Jujur 5%).

Sedangkan yang akan dianalisis adalah :

1. Hasil uji HA (titer antigen) IB sebelum dan setelah inaktivasi.

Tabel 1. Rancangan Pengujian Inaktivasi dengan Fenol Dalam Berbagai Konsentrasi (2^n)

	PERLAKUAN A	PERLAKUAN B	PERLAKUAN C	PERLAKUAN D
ULANGAN 1	A ₁	B ₁	C ₁	D ₁
ULANGAN 2	A ₂	B ₂	C ₂	D ₂
ULANGAN 3	A ₃	B ₃	C ₃	D ₃
ULANGAN 4	A ₄	B ₄	C ₄	D ₄
ULANGAN 5	A ₅	B ₅	C ₅	D ₅

Keterangan :

- Perlakuan A : kontrol
 Perlakuan B : inaktivasi dengan fenol 0,5%.
 Perlakuan C : inaktivasi dengan fenol 1%.
 Perlakuan D : inaktivasi dengan fenol 1,5%.
 A₁ : perlakuan I ulangan 1.
 A₂ : perlakuan I ulangan 2.
 B₁ : perlakuan II ulangan 1, dan seterusnya.

2. Hasil uji dengan HA terhadap antigen yang tidak diinokulasikan dengan beberapa selang waktu (untuk uji stabilitas).

Tabel 2. Rancangan Pengujian Antigen Perlakuan x dengan Beberapa Selang Waktu.

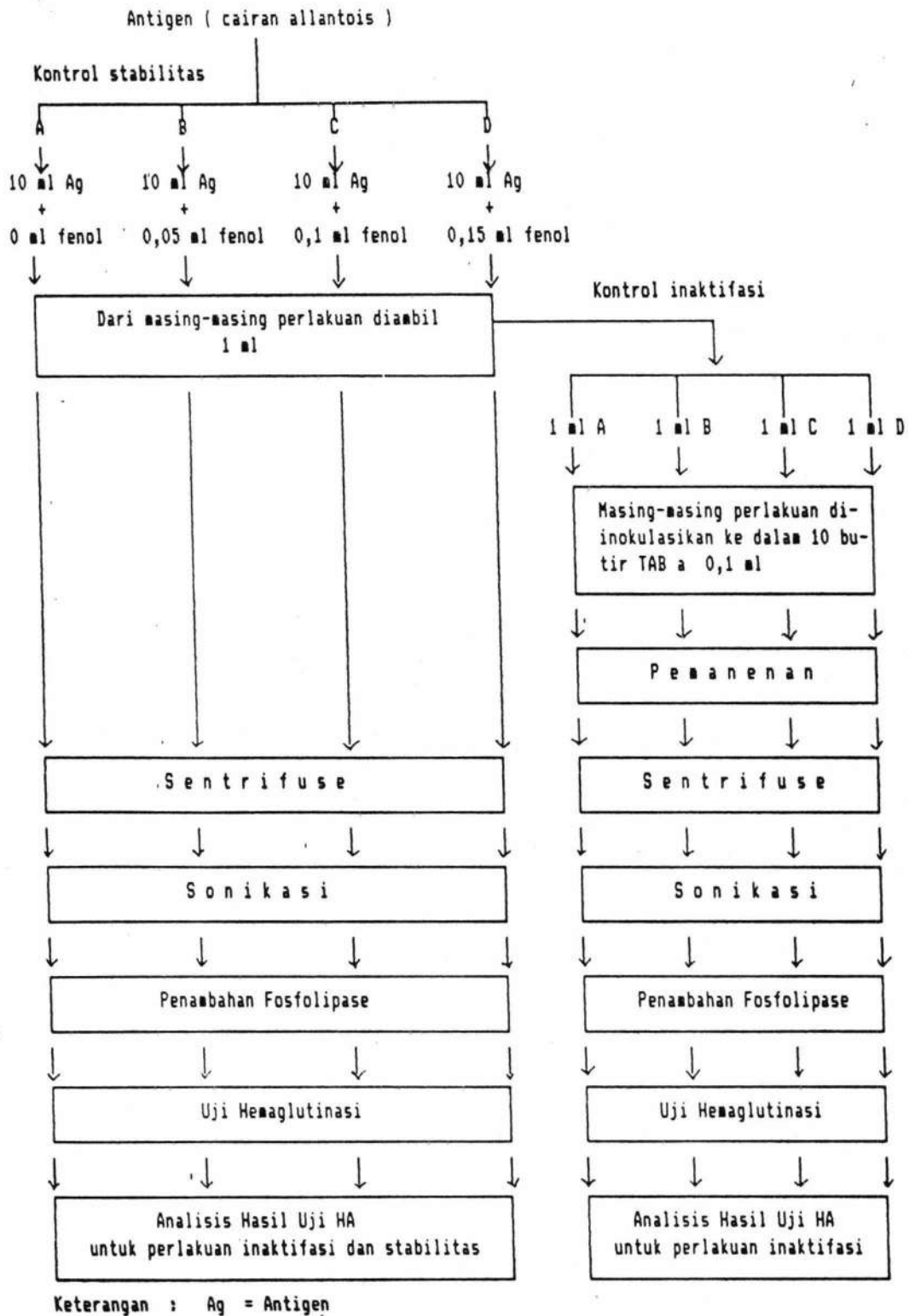
ULANGAN	P E N G U J I A N (minggu ke)				
	I	II	III	IV	V
1	I ₁	II ₁	III ₁	IV ₁	V ₁
2	I ₂	II ₂	III ₂	IV ₂	V ₂
3	I ₃	II ₃	III ₃	IV ₃	V ₃
4	I ₄	II ₄	III ₄	IV ₄	V ₄
5	I ₅	II ₅	III ₅	IV ₅	V ₅

Keterangan :

- I₁ : titer antigen minggu I (segera setelah panen) ulangan pertama
- II₁ : titer antigen pada minggu kedua ulangan pertama
- III₁ : titer antigen pada minggu ketiga ulangan pertama
Demikian seterusnya.

Froses penelitian secara ringkas dapat dilihat pada Gambar 3.

BAGAN PROSES PENELITIAN



Gambar 3. Bagan proses penelitian.

BAB IV

HASIL PENELITIAN

A. Hasil Inaktifasi

Dari pengamatan inaktifasi dengan fenol terhadap anti-gen Infeksius Bronchitis pada beberapa konsentrasi baik yang sesudah maupun sebelum diinokulasikan dalam telur Ayam Bertunas (TAB) didapatkan hasil sebagai berikut :

A.1. Sebelum diinokulasikan pada TAB

Tabel 3. Hasil Titrasi Antigen (Virus IB) Sebelum Diinokulasikan pada TAB dengan Beberapa Perlakuan (dalam 2^n HA Unit).

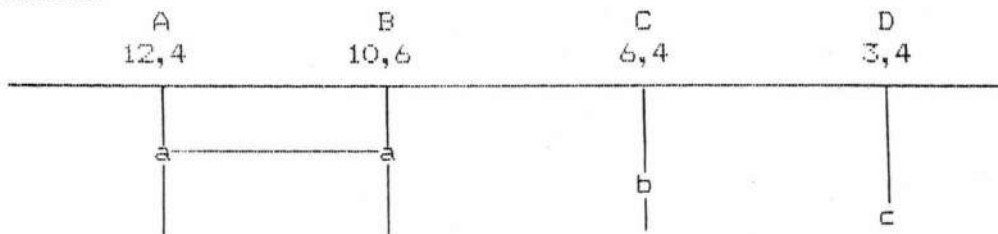
Ulangan	P e r l a k u a n			
	A	B	C	D
1	13,0	10,0	6,0	4,0
2	13,0	9,0	7,0	3,0
3	13,0	11,0	5,0	5,0
4	13,0	11,0	8,0	3,0
5	10,0	12,0	6,0	2,0

Hasil analisis hasil di atas memakai uji F dengan signifikansi 5% didapatkan $F_{hitung} (58,1) > F_{tabel} (3,24)$. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa perlakuan inaktifasi yang menggunakan fenol dengan beberapa konsentrasi berbeda nyata (lihat Lampiran 1).

Tabel 4. Uji BNJ 5% Tentang Pengaruh Inaktifasi dengan Fenol Pada Berbagai Konsentrasi Sebelum Diinokulasikan pada TAB.

Perlakuan	rata-rata	b e d a			BNJ 5%
		(x-D)	(x-C)	(x-B)	
A	12,40 ^a	9,00**	6,00**	1,8	2,17
B	10,60 ^a	7,20**	4,20**		
C	6,40 ^b	3,00**			
D	3,40 ^c				

Notasi



Berdasarkan Uji Beda Nyata Jujur 5% di atas maka perlakuan A (tidak ditambahkan fenol) tidak berbeda nyata dengan perlakuan B dan berbeda nyata dengan perlakuan C dan D. Perlakuan kedua berbeda nyata dengan perlakuan C dan D. Kemudian perlakuan C sangat berbeda nyata dengan ketiga perlakuan lainnya, demikian pula dengan perlakuan D.

A.2. Setelah diinokulasikan pada TAB

Tabel 5. Hasil Titrasi Antigen (Virus IB) Setelah Diinokulasikan pada TAB dengan Beberapa Perlakuan (dalam 2^{II} HA Unit).

Ulangan	P e r l a k u a n			
	A	B	C	D
1	13,0	14,0	5,0	3,0
2	13,0	12,0	3,0	2,0
3	15,0	12,0	4,0	1,0
4	15,0	13,0	3,0	1,0
5	15,0	14,0	4,0	2,0

Dari analisis menggunakan uji F dengan signifikansi 5% didapatkan $F_{hitung} = 221,04$, sedangkan $F_{tabel} (0,05, 16) = 3,24$. Karena $F_{hitung} > F_{tabel}$, maka dapat diambil suatu kesimpulan bahwa perlakuan inaktivasi dengan fenol sangat berbeda nyata (Lampiran 2).

Tabel 6. Uji BNJ 5% Tentang Pengaruh Inaktivasi dengan Fenol Pada Berbagai Konsentrasi Setelah Diinokulasikan pada TAB.

Perlakuan	rata-rata	beda			BNJ 5%
		(x-D)	(x-C)	(x-B)	
A	14,20 ^a	12,40**	10,40**	1,20	1,72
B	13,00 ^a	11,20**	9,20**		
C	3,80 ^b	2,00**			
D	1,80 ^c				

Notasi

A 14,2	B 13,0	C 3,8	D 1,8
a	a	b	c

Dari hasil uji Beda Nyata Jujur 5% di atas menunjukkan bahwa perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B tetapi berbeda nyata terhadap perlakuan C dan perlakuan D. Perlakuan B sangat berbeda nyata dengan perlakuan C dan D. Perlakuan ketiga berbeda nyata dengan perlakuan A dan perlakuan B, tetapi berbeda nyata dengan perlakuan D. Begitu pula dengan perlakuan D, berbeda nyata dengan ketiga

perlakuan (A, B dan C).

Perlakuan inaktifasi ini dibagi menjadi dua bagian yaitu sebelum diinokulasikan dan sesudah diinokulasikan. Hal ini dilakukan karena untuk membuktikan bahwa antigen sudah berhasil diinaktifasi atau belum. Dari hasil yang telah didapatkan, ternyata bahwa inaktifasi berhasil mulai pada perlakuan C dan perlakuan D. Hal ini dapat dilihat dengan lebih tingginya titer antigen sebelum inokulasi bila dibandingkan dengan sesudah inokulasi. Perlakuan A dan B belum berhasil diinaktifkan, terbukti dari meningkatnya titer setelah diinokulasikan pada TAB (lihat Diagram 1).

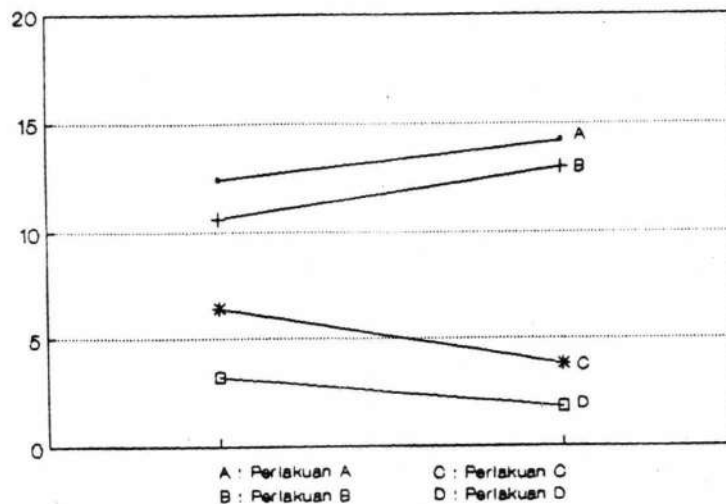


Diagram 1. Hubungan Antara Titer Rata-rata Antigen IB Sebelum dan Sesudah Inokulasi pada TAB (dalam 2^n HA Unit)

B. Pengujian Stabilitas Antigen

Dari pemeriksaan dengan menggunakan uji HA terhadap masing-masing perlakuan yang dilakukan setiap minggu

dalam waktu satu bulan dengan ulangan 5 kali didapatkan hasil sebagai berikut :

B.1. Perlakuan A.

Tabel 7. Hasil Pengujian Stabilitas Antigen (IB) pada Perlakuan A dengan Beberapa Selang Waktu (2^n HA Unit)

Ulangan	P e n g u j i a n (minggu ke)				
	I	II	III	IV	V
1	13,0	9,0	6,0	5,0	4,0
2	13,0	11,0	8,0	7,0	4,0
3	13,0	12,0	7,0	5,0	6,0
4	13,0	8,0	10,0	5,0	3,0
5	10,0	8,0	8,0	7,0	3,0

Dari analisis menggunakan uji F dengan signifikansi 5% diperoleh $F_{hitung} = 26,73$, dan $F_{tabel} (0,05, 20) = 2,87$. Karena $F_{hitung} > F_{tabel}$, maka terdapat perbedaan yang sangat nyata terhadap pengujian ulang tiap minggu selama satu bulan (lampiran 4).

Tabel 8. Uji BNJ 5% Tentang Pengaruh Inaktifasi dengan Fenol Untuk Perlakuan A Terhadap Stabilitas Antigen pada Beberapa Selang Waktu

Penguji-an	Rata-rata	b e d a				BNJ 5%
		(x-V)	(x-IV)	(x-III)	(x-II)	
I	12,4 ^a	8,4**	6,6**	4,6**	2,8**	2,6
II	9,6 ^b	5,6**	3,8**	1,8		
III	7,8 ^{bc}	3,8**	2			
IV	5,8 ^c	1,8				
V	4,0 ^c					

Notasi

I	II	III	IV	V
12,4	9,6	7,8	5,8	4,0
a	b	b	c	c

Dari pemeriksaan dengan uji Beda Nyata Jujur di atas diperoleh hasil bahwa pengujian I berbeda nyata dengan keempat pengujian lainnya (pengujian II, III, IV dan V). Sedangkan pengujian II berbeda nyata dengan pengujian IV dan V tetapi tidak berbeda nyata dengan pengujian III. Demikian pula dengan pengujian III berbeda nyata dengan pengujian V, tetapi tidak berbeda nyata dengan pengujian IV. Pada pengujian IV tidak berbeda dengan pengujian V.

B.2. Perlakuan B.

Tabel 9. Hasil Pengujian Stabilitas Antigen (IB) pada Perlakuan B dengan Beberapa Selang Waktu (2^n HA Unit)

Ulangan	P e n g u j i a n (minggu ke)				
	I	II	III	IV	V
1	10,0	7,0	6,0	5,0	3,0
2	9,0	7,0	4,0	3,0	2,0
3	11,0	8,0	5,0	4,0	2,0
4	11,0	8,0	6,0	3,0	3,0
5	9,0	9,0	7,0	4,0	1,0

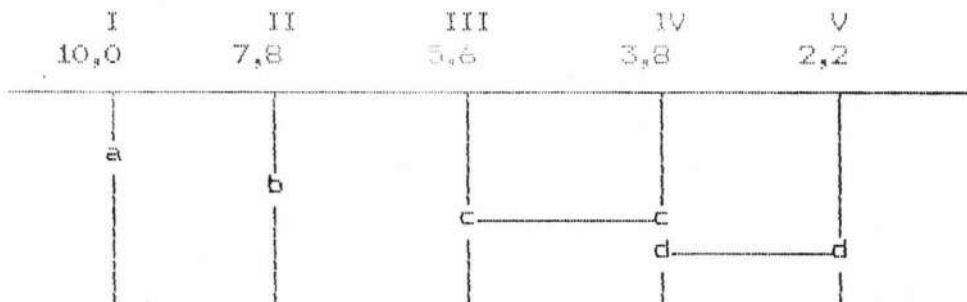
Dari analisis menggunakan uji F didapatkan $F_{tabel}(0,05,20) = 2,87$, sedangkan F_{hitung} adalah 26,73.

Dari hasil di atas dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata antara tiap pengujian yang dilakukan.

Tabel 10. Uji BNJ 5% Tentang Pengaruh Inaktifasi dengan Fenol untuk Perlakuan B Terhadap Stabilitas Antigen pada Beberapa Selang Waktu

Pengujian	Rata-rata	b e d a				BNJ 5%
		(x-V)	(x-IV)	(x-III)	(x-II)	
I	10,0 ^a	7,8**	6,2**	4,4**	2,2**	1,78
II	7,8 ^b	5,6**	4,0**	2,2**		
III	5,6 ^c	3,4**	1,8			
IV	3,8 ^{cd}	1,6				
V	2,2 ^d					

Notasi



Dari uji Beda Nyata Jujur 0,5% di atas didapatkan bahwa pengujian I, dan II berbeda nyata terhadap pengujian lainnya. Pengujian III tidak berbeda nyata dengan pengujian IV tetapi berbeda nyata dengan pengujian V. Pengujian IV berbeda nyata dengan pengujian I, dan II, tetapi tidak berbeda nyata dengan pengujian IV dan V.

B.3. Perlakuan C.

Tabel 11. Hasil Pengujian Stabilitas Antigen (IB) pada Perlakuan C dengan Beberapa Selang Waktu (2^n HA Unit)

Ulangan	P e n g u j i a n (minggu ke)				
	I	II	III	IV	V
1	6,0	5,0	5,0	5,0	5,0
2	7,0	5,0	5,0	5,0	4,0
3	5,0	6,0	6,0	4,0	5,0
4	6,0	4,0	5,0	6,0	5,0
5	6,0	6,0	4,0	4,0	3,0

Dari analisis menggunakan uji F dengan signifikansi 5% didapatkan $F_{tabel} (0,05, 20) = 2,87$, sedangkan $F_{hitung} = 2,75$. Karena $F_{tabel} > F_{hitung}$, maka tidak terdapat perbedaan yang nyata antara pengujian yang dilakukan tiap minggu.

Tabel 12. Uji BNJ 5% Tentang Pengaruh Inaktifasi dengan Fenol untuk Perlakuan C Terhadap Stabilitas Antigen pada Beberapa Selang Waktu

Pengujian	Rata-rata	b e d a				BNJ 5%
		(x-V)	(x-IV)	(x-III)	(x-II)	
I	6,0 ^a	1,6**	1,2	1,0	0,8	1,52
II	5,2 ^{ab}	0,8	0,4	0,2		
III	5,0 ^{ab}	0,6	0,2			
IV	4,8 ^{ab}	0,4				
V	4,4 ^b					

Notasi

I	II	III	IV	V
6,0	5,2	5,0	4,8	4,4

a	a	a	a	

	b	b	b	b

Dari hasil Uji BNJ 5% di atas dapat diambil kesim-

pulan bahwa pengujian I tidak berbeda nyata dengan pengujian II, III, dan IV tetapi berbeda nyata dengan pengujian V. Sedangkan pengujian II, III IV dan V tidak berbeda nyata satu terhadap lainnya.

B.4. Perlakuan D.

Tabel 13. Hasil Pengujian Stabilitas Antigen (IB) pada Perlakuan D dengan Beberapa Selang Waktu (2^n HA Unit)

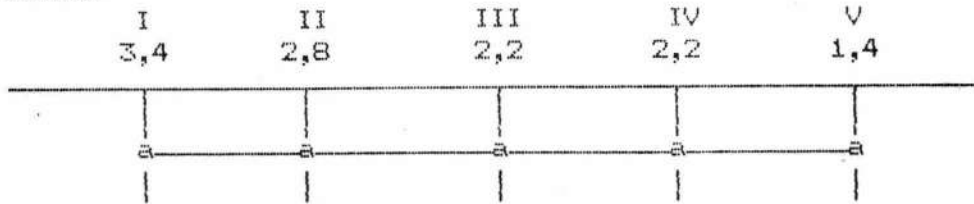
Ulangan	P e n g u j i a n (minggu ke)				
	I	II	III	IV	V
1	4,0	3,0	1,0	2,0	1,0
2	3,0	4,0	3,0	3,0	2,0
3	5,0	2,0	1,0	1,0	1,0
4	3,0	4,0	4,0	2,0	2,0
5	2,0	1,0	2,0	3,0	1,0

Dari analisis menggunakan uji F dengan signifikansi 5% $F_{hitung} = 2,46$ dan $F_{tabel} (0,05,20) = 2,87$. Karena $F_{hitung} <$ dari F_{tabel} , maka tidak terdapat perbedaan yang nyata antara pengujian yang dilakukan tiap minggu.

Tabel 14. Uji BNJ 5% Tentang Pengaruh Inaktifasi dengan Fenol untuk Perlakuan D Terhadap Stabilitas Antigen pada Beberapa Selang Waktu

Perlakuan	Rata-rata	b e d a				BNJ 5%
		(x-V)	(x-IV)	(x-III)	(x-II)	
I	3,4 ^a	2,0	1,2	1,2	0,6	2,02
II	2,8 ^a	1,4	0,6	0,6		
III	2,2 ^a	0,8	0,0			
IV	2,2 ^a	0,8				
V	1,4 ^a					

Notasi



Dari hasil Uji BNJ 5% di atas dapat diambil kesimpulan bahwa semua pengujian yang dilakukan tidak berbeda nyata. Pengujian I tidak berbeda nyata dengan pengujian II, III, IV maupun V. Demikian pula untuk keempat pengujian lainnya tidak berbeda nyata antara satu dan lainnya.

Titer rata-rata antigen tiap-tiap perlakuan pada hasil pengujian stabilitas dalam bentuk diagram dapat dilihat pada Diagram 2.

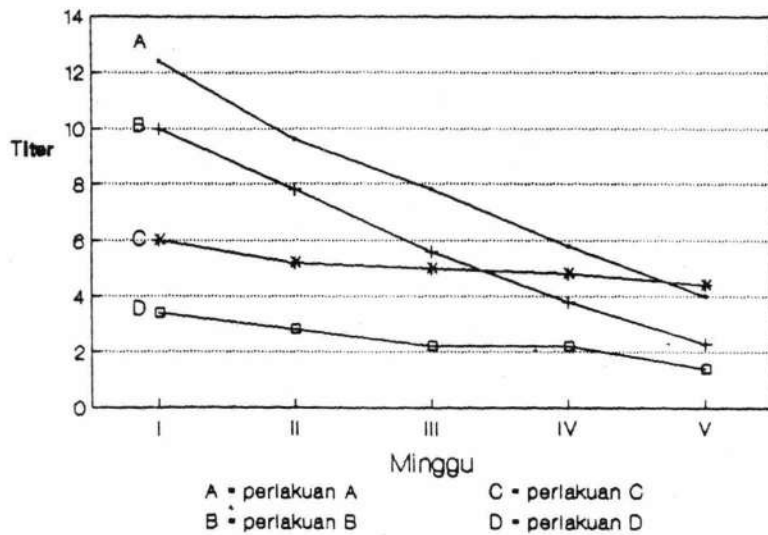


Diagram 2. Hubungan Antara Titer Rata-rata Antigen IB pada Pengujian Stabilitas Terhadap Masing-masing Perlakuan (dalam 2^n HA Unit).

Sedangkan untuk pembuktian secara biologis proses inaktivasi adalah dengan melihat keadaan Telur Ayam Bertunas pada waktu dipanen. Dari pengamatan yang dilakukan diperoleh hasil sebagai berikut :

Tabel 15. Hasil Pengamatan Terhadap Perubahan TAB Setelah Inokulasi.

Perlakuan	Ke a d a a n T A B						Jumlah
	24 jam		48 jam		72 jam		
	+	-	+	-	+	-	
A	10	-	-	-	-	-	10
B	2	8	8	-	-	-	10
C	-	-	-	-	2	8	10
D	-	-	-	-	-	10	10

Keterangan :

- + = mati dan memperlihatkan tanda-tanda terserang IB.
(jari kaki keriting, pendarahan seluruh tubuh, kekerdilan)
- = hidup dan tidak ada tanda-tanda terserang virus IB.

BAB V

PEMBAHASAN

Virus IB dapat diinaktifkan dengan menggunakan fenol 1% (Merchant and Packer, 1971). Fenol bekerja dengan cara mendenaturasi protein suatu mikroorganisme (Katzung, 1984).

Dari penelitian inaktifasi fenol dengan beberapa konsentrasi diketahui adanya perbedaan yang nyata baik untuk antigen yang diinokulasikan maupun yang tidak diinokulasikan, ditunjukkan dengan $F_{tab} < F_{hit}$ (lihat Lampiran 1 dan 2).

Dari uji Inaktifasi dengan menggunakan fenol 0% (kontrol), fenol 0,5%, fenol 1% dan fenol 1,5% didapatkan bahwa :

a. Pada perlakuan A (kontrol) dan B (0,5% fenol) dapat disimpulkan bahwa antigen masih aktif. Pernyataan tersebut di atas dapat dibuktikan dari lebih rendahnya titer antigen sebelum inokulasi daripada sesudah inokulasi. Untuk perlakuan A titer rata-ratanya meningkat dari 12,4 menjadi 14,2. Untuk perlakuan B titer rata-ratanya meningkat dari 10,6 menjadi 13,0. Hasil ini ditunjang dengan keadaan TAB setelah dipanen. Untuk perlakuan A semua telur mati pada 24 jam pertama inkubasi dengan embrio menunjukkan tanda-tanda khas IB. Untuk perlakuan B, semua mati dalam waktu 48 jam dan semua menunjukkan tanda-tanda khas IB. Hal

tersebut diatas mungkin disebabkan karena konsentrasi fenol yang dipergunakan (0% dan 0,5%) masih terlalu kecil atau waktu kontak (3 menit pada suhu 37^o C) yang tidak cukup untuk menginaktifasi antigen IB. Karena semakin besar konsentrasi fenol yang dipergunakan, maka semakin cepat pula waktu yang dibutuhkan untuk membunuh mikroorganisme (Rawlins, 1980).

- b. Antigen mulai inaktif pada perlakuan C dan D. Hal ini ditunjukkan dengan perbedaan titer antigen sebelum dan sesudah inokulasi dimana titer antigen yang diinokulasikan lebih rendah daripada titer antigen yang tidak diinokulasikan dalam perlakuan yang sama. Rendahnya titer antigen perlakuan C dan D pada antigen yang diinokulasikan disebabkan virus tidak berkembang biak pada cairan allantois TAB setelah ditambahkan 1% fenol. Hasil di atas didukung dengan adanya perubahan embrio di dalam TAB setelah dipanen. Untuk perlakuan C semua mati setelah 48 jam tanpa menunjukkan tanda-tanda khas terserang IB. Untuk perlakuan D semua masih hidup pada 72 jam. Setelah dibuka, ternyata tidak menunjukkan tanda-tanda khas terserang IB. Tetapi pada konsentrasi fenol 1% dan 1,5% belum mampu menginaktifasi antigen secara total (titernya 0). Dari hasil di atas dapat pula kita simpulkan bahwa fenol dengan konsentrasi 1% dan 1,5% telah cukup baik untuk menginaktifasi. Mungkin disebabkan konsentrasi fenol yang dipakai sudah cukup besar, sehingga waktu 3

fenol yang dipakai sudah cukup besar, sehingga waktu 3 menit mencukupi untuk menginaktivasi antigen IB.

Dari uji BNJ 5% terhadap perlakuan inaktivasi didapatkan bahwa perlakuan D menunjukkan konsentrasi fenol yang paling efektif karena mempunyai titer antigen yang paling rendah. Ternyata hasil di atas sesuai dengan pernyataan Merchant dan Packer (1971) bahwa antigen (virus) IB dapat diinaktivasi dengan fenol 1%.

Pada uji stabilitas yang dilakukan yaitu dengan pengujian kembali dengan uji HA terhadap antigen yang telah diinaktifkan dan disimpan pada suhu 4° C satu minggu sekali selama 5 minggu. Dari penelitian yang dilakukan diperoleh hasil sebagai berikut :

- Pada perlakuan A terdapat perbedaan yang nyata antara pengujian yang dilakukan satu dengan yang lain. Hal ini ditunjukkan dari hasil sidik ragam (Lampiran 3). Hal ini menunjukkan bahwa stabilitas antigen rendah karena tidak dapat mempertahankan titernya (titernya terus menurun dengan perbedaan yang nyata).
- Pada perlakuan B didapatkan perbedaan yang nyata antara pengujian yang satu dengan yang lain setelah dilihat dari hasil sidik ragam dimana $F_{tab} > F_{hit}$ (Lampiran 4). Antigen pada perlakuan ini juga tidak dapat mempertahankan titernya. Berarti, antigen mempunyai stabilitas yang rendah (titernya terus menurun dengan perbedaan yang nyata).

- Pada perlakuan C tidak terdapat perbedaan yang nyata antara pengujian yang satu dengan yang lain setelah melihat hasil dari sidik ragam dimana $F_{tab} < F_{hit}$ (Lampiran 5). Pada perlakuan ini antigen dapat mempertahankan titer yang ada dan ini berarti bahwa antigen mempunyai cukup stabilitas (titer menurun tanpa perbedaan yang nyata). Tetapi perlakuan ini belum dapat dikatakan bahwa antigen telah stabil, karena setelah diuji dengan BNJ 5%, masih terdapat perbedaan yang nyata antara pengujian I dan pengujian V.

- Pada perlakuan D tidak terdapat perbedaan yang nyata antara pengujian yang satu dengan yang lain setelah melihat hasil dari sidik ragam dimana $F_{tab} < F_{hit}$ (Lampiran 6). Berarti antigen telah cukup stabil, karena tidak ada perubahan titer yang berarti selama penyimpanan. Setelah diuji dengan BNJ 5% kelima pengujian tidak menunjukkan perbedaan yang nyata satu dengan yang lain.

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa antigen mulai inaktif pada 1% fenol. Dari hasil di atas dapat disimpulkan bahwa antigen setelah diinaktifkan dengan 1% fenol dan 1,5% fenol mempunyai kestabilan yang baik. Jadi inaktifasi dengan fenol berpengaruh terhadap stabilitas antigen Infeksius Bronchitis. Dari pembahasan di atas dapat ditarik suatu kesimpulan bahwa perlakuan inaktifasi

dengan fenol sangat berpengaruh terhadap stabilitas antigen Infeksius Bronchitis (H_A diterima dan H_O ditolak).

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari penelitian yang dilakukan dengan menginaktivasi virus IB selama 3 menit pada suhu 37^o C, dapat diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Fenol ternyata cukup baik sebagai inaktifator terhadap antigen Infeksius Broncitis.
2. Bahwa antigen IB dapat diinaktivasi dengan fenol mulai pada penambahan fenol 1%.
3. Antigen IB mempunyai stabilitas yang baik setelah diinaktivasi dengan fenol pada konsentrasi 1,5%.

SARAN

1. Perlu diadakan penelitian lanjutan mengenai inaktifasi dengan fenol untuk mengetahui pada konsentrasi berapa fenol dapat menginaktivasi secara total (titer 0) antigen Infeksius Bronchitis.
2. Perlu diadakan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh fenol dengan konsentrasi yang lebih tinggi (lebih dari 1,5% terhadap kestabilan virus Infeksius Bronchitis.

RINGKASAN

DENY SOERJANTO. Pengaruh inaktivasi dengan fenol terhadap stabilitas antigen Infeksius Bronchitis.

Telah dilakukan penelitian dengan proses inaktivasi dengan fenol memakai beberapa konsentrasi yaitu 0%, 0,5%, 1% dan 1,5% fenol. Dengan diinaktifkan diharapkan antigen IB dapat lebih stabil daripada yang tidak diinaktifkan.

Penelitian ini menggunakan metode statistik Rancangan Acak Lengkap dengan perincian sebagai berikut :

- Pada proses inaktivasi menggunakan 4 macam perlakuan yaitu tidak ditambahkan fenol(kontrol, 0%), 0,5% fenol, 1% fenol dan 1,5% fenol yang masing-masing menggunakan 5 kali ulangan.
- Pada uji stabilitas digunakan 5 macam perlakuan masing-masing pengujian I, pengujian II, pengujian III, pengujian IV dan pengujian V. Masing-masing dilakukan 5 kali ulangan.

Semua perlakuan di atas akan dibaca titernya dengan memakai uji HA. Hasil yang diperoleh dianalisis dengan uji F kemudian dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa inaktivasi dengan fenol sangat berpengaruh terhadap stabilitas antigen IB. Konsentrasi fenol mulai 1% terbukti dapat menginaktivasi virus IB dengan baik. Sedangkan konsentrasi fenol yang paling baik untuk menstabilkan antigen IB adalah 1,5%.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimous, 1980. Pedoman Pengendalian Penyakit Hewan Menular. Direktorat Kesehatan Hewan. Direktorat Jendral Peternakan. Departemen Pertanian. Jakarta : 7-10.
- Chulan, U. and Ibrahim, A. L., 1982. The use of the Haemagglutination Inhibition test For Monitoring Infectious Bronchitis Infections in Recent Advances in Poultry Disease Control. Faculty of Veterinary Medicine Animal Sciences Universiti Pertanian Malaysia Serdang, Selangor. 24 - 26 May 1982.
- Ernawati, R. dan kawan-kawan, 1989. Ilmu Penyakit Viral Veteriner Jilid II. Laboratorium Virologi dan Immunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga : 78-80.
- Gordon, R. F. and Jordan, F. T. W., 1985. Poultry Diseases, 3rd Ed. : 129-134.
- Hofstad, M. S., 1984. Diseases of Poultry: 429 - 442.
- Jawetz, E., J.L. Melnick and E.A. Adelberg. 1980. Review of Medical Microbiology, 14th Ed., Lange Medical Publication Dravier, Los Altos, California : 567-571.
- Joklik, W.K., H.P. Willet and D.B. Amos. 1984. Zinsser Mikrobiology, 18th Ed., Appleton Century Crofts, New York : 233-243
- Jones, L.M. 1971. Veterinary Pharmacology and Theurapics, 3rd Ed., The Iowa State University Press, Ames Iowa, USA : 427-453.
- Katzung, B.G. 1984. Basic and Clinical Pharmacology, Lange Medical Publication, Los Altos, California :569
- Kirk and Othmer, 1981. Encyclopedia of Chemical Technology Third Edition, Volume 17: 373-382
- Lawrence, C.A., and S.S. Block. 1986. Disinfection, Sterilitation and Preservation, Lea and Febiger, Philadelphia, USA 15-425.
- Merchant, I.A and Packer, R.A. 1971. Veterinary Bacteriology and Virology. 7th Ed : 711 - 713.

- Pelczar, M.J. and E.C.S. Chan 1981. Element of Microbiology, International Student Edition, Mc. Graw-Hill, Book Company Inc. : 7-40
- Pikir, S. 1983. Kimia Organik, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga Surabaya: 43-45
- Rawlins, E.A. 1980. Bently's Texbook of Pharmaceutics 8th Ed., The English Language Book Society and Bailliere Tindall, London :498-525
- Rochiman, K. 1989. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Universitas Airlangga Surabaya : 53-118
- Ronohardjo, P., 1980. Bulletin LPPH Vol XII. LPPH semester II tahun 1980 no 20.
- Schunack, W., K. Mayer and M. Haake. 1990. Senyawa Obat Terjemahan Wattimena, J.R., dan S. Soebito. Edisi 2, Gajah Mada University Press : 420
- Yahya, Y., Retno F.D., Witarso, Said Z.A., 1991. Penyakit-penyakit Penting pada Ayam. Edisi II : 7-11.

L A M P I R A N

Lampiran 1. Hasil Titrasi Antigen (Virus IB) Sebelum Diinokulasikan pada TAB dengan Beberapa Perlakuan (dalam 2^n HA unit).

Ulangan	Perlakuan				Jumlah
	A	B	C	D	
1	13,0	10,0	6,0	4,0	33,0
2	13,0	9,0	7,0	3,0	32,0
3	13,0	11,0	5,0	5,0	34,0
4	13,0	11,0	8,0	3,0	35,0
5	10,0	12,0	6,0	2,0	30,0
Jumlah	62,0	53,0	32,0	17,0	164,0
Rata-rata	12,4	10,6	6,4	3,4	
Kuadrat	776,0	567,0	210,0	63,0	1616,0

$$\text{Faktor Koreksi} = \frac{(\sum x)^2}{20} = 1344,80$$

$$\text{JKT} = (13)^2 + (13)^2 + (13)^2 + \dots + (2)^2 - \text{FK} = 1616,0 - 1344,8 = 271,2$$

$$\text{JKP} = \frac{(62)^2 + (53)^2 + (32)^2 + (17)^2}{5} - \text{FK} = \frac{7966}{5} - 1344,8 = 248,4$$

$$\text{JKS} = \text{JKT} - \text{JKP} = 271,2 - 248,4 = 22,80$$

$$\text{KTP} = \frac{\text{JKP}}{t-1} = \frac{248,4}{3} = 82,80$$

$$\text{KTS} = \frac{\text{JKS}}{16} = \frac{22,8}{16} = 1,43$$

$$F_{\text{hit}} = \frac{\text{KTP}}{\text{KTS}} = \frac{82,8}{1,43} = 58,11$$

$$F_{\text{tab}} (0,05) = 3,24$$

$$F_{\text{tab}} (0,01) = 5,29$$

Lanjutan Lampiran 1

Sidik Ragam Hasil Analisis

Sumber Keragaman (S.K)	Derajat Bebas (d.b)	Jumlah Kuadrat (J.K)	Kuadrat Tengah (KT)	Fhitung	Ftabel	
					0,01	0,05
Perlakuan	3	248,4	82,8	58,11*	3,25	5,29
Sisa	16	22,8	1,43			
Total	19	271,2				

Dilihat dari sidik ragam di atas, dapat disimpulkan bahwa perlakuan berbeda nyata antara satu dan lainnya. ($F_{hit} > F_{tabel}$).

Lampiran 2. Hasil Titrasasi Antigen (Virus IB) Setelah Di-inokulasikan pada TAB dengan Beberapa Perlakuan (dalam 2^{th} HA Unit).

Ulangan	Perlakuan				Jumlah
	A	B	C	D	
1	13,0	14,0	5,0	3,0	35,0
2	13,0	12,0	3,0	2,0	30,0
3	15,0	12,0	4,0	1,0	32,0
4	15,0	13,0	3,0	1,0	32,0
5	15,0	14,0	4,0	2,0	35,0
Jumlah	71,0	65,0	19,0	9,0	164,0
Rata-rata	14,2	13,0	3,8	1,8	
Kuadrat	1013,0	849,0	75,0	19,0	1956,0

$$\text{Faktor Koreksi} : \frac{(\sum x)^2}{20} = 1344,80$$

$$\text{JKT} = (13)^2 + (13)^2 + (15)^2 + \dots + (2)^2 - \text{FK} = 1956,0 - 1344,8 = 611,2$$

$$\text{JKP} = \frac{(71)^2 + (65)^2 + (19)^2 + (9)^2}{5} - \text{FK} = \frac{9708}{5} - 1344,8 = 596,8$$

$$\text{JKS} = \text{JKT} - \text{JKP} = 611,2 - 596,8 = 14,40$$

$$\text{KTP} = \frac{\text{JKP}}{t-1} = \frac{596,8}{3} = 198,93$$

$$\text{KTS} = \frac{\text{JKS}}{16} = \frac{14,4}{16} = 0,90$$

$$F_{\text{hit}} = \frac{\text{KTP}}{\text{KTS}} = \frac{198,93}{0,90} = 221,04$$

$$F_{\text{tab}} (0,05) = 3,24$$

$$F_{\text{tab}} (0,01) = 5,29$$

Lanjutan Lampiran 2

Sidik Ragam Hasil Analisis

Sumber Keragaman (S.K)	Derajad Bebas (d.b)	Jumlah Kuadrat (J.K)	Kuadrat Tengah (K.T)	F_{hitung}	F_{tabel}	
					0,01	0,05
Perlakuan	3	596,8	198,93	221,04*	3,25	5,29
Sisa	16	14,4	0,90			
Total	19	611,2				

Dilihat dari sidik ragam di atas, dapat disimpulkan bahwa perlakuan berbeda nyata antara satu dan lainnya. ($F_{hit} > F_{tabel}$).

Lampiran 3. Hasil Pengujian Antigen (IB) pada Perlakuan dengan Beberapa Selang Waktu (dalam 2ⁿ HA Unit).

Ulangan	P e n g u j i a n					Jumlah
	I	II	III	IV	V	
1	13,0	9,0	6,0	5,0	4,0	37,0
2	13,0	11,0	8,0	7,0	4,0	43,0
3	13,0	12,0	7,0	5,0	6,0	43,0
4	13,0	8,0	10,0	5,0	3,0	39,0
5	10,0	8,0	8,0	7,0	3,0	36,0
Jumlah	62,0	48,0	39,0	29,0	20,0	196,0
Rata-rata	12,4	9,6	7,8	5,8	4,0	
Kuadrat	776,0	474,0	313,0	173,0	86,0	1822,0

$$\text{Faktor Koreksi} : \frac{(\sum x)^2}{25} = 1568,16$$

$$\text{JKT} = (13)^2 + (13)^2 + (13)^2 + \dots + (3)^2 - \text{FK} = 1822,0 - 1568,16 = 253,84$$

$$\text{JKP} = \frac{(62)^2 + (48)^2 + (39)^2 + (29)^2 + (20)^2}{5} - \text{FK} = \frac{9708}{5} - 1568,16 = 213,84$$

$$\text{JKS} = \text{JKT} - \text{JKP} = 253,84 - 213,84 = 40,0$$

$$\text{KTP} = \frac{\text{JKP}}{t-1} = \frac{213,84}{4} = 53,46$$

$$\text{KTS} = \frac{\text{JKS}}{20} = \frac{40,0}{20} = 2,0$$

$$F_{\text{hit}} = \frac{\text{KTP}}{\text{KTS}} = \frac{53,46}{2,0} = 26,73$$

$$F_{\text{tab}} (0,05) = 2,87$$

$$F_{\text{tab}} (0,01) = 4,43$$

Lanjutan Lampiran 3

Sidik Ragam Hasil Analisis

Sumber Keragaman (S.K)	Derajat Bebas (d.b)	Jumlah Kuadrat (J.K)	Kuadrat Tengah (K.T)	F_{hitung}	F_{tabel}	
					0,01	0,05
Perlakuan	4	213,84	53,46	26,73*	4,43	2,87
Sisa	20	40,0	2,00			
Total	24	253,84				

Dilihat dari sidik ragam di atas, dapat disimpulkan bahwa perlakuan berbeda nyata antara satu dan lainnya. ($F_{hit} > F_{tabel}$).

Lampiran 4. Hasil Pengujian Antigen (IB) pada Perlakuan B dengan Beberapa Selang Waktu (dalam 2ⁿ HA Unit).

Ulangan	P e n g u j i a n					Jumlah
	I	II	III	IV	V	
1	10,0	7,0	6,0	5,0	3,0	31,0
2	9,0	7,0	4,0	3,0	2,0	25,0
3	11,0	8,0	5,0	4,0	2,0	30,0
4	11,0	8,0	6,0	3,0	3,0	31,0
5	9,0	9,0	7,0	4,0	1,0	30,0
Jumlah	50,0	39,0	28,0	19,0	11,0	147,0
Rata-rata	10,0	7,8	5,6	3,8	2,3	
Kuadrat	504,0	307,0	162,0	75,0	27,0	1075,0

$$\text{Faktor Koreksi} = \frac{(\sum x)^2}{25} = 864,36$$

$$\text{JKT} = (10)^2 + (9)^2 + (11)^2 + \dots + (1)^2 - \text{FK} = 1075,0 - 864,36 = 210,64$$

$$\text{JKP} = \frac{(50)^2 + (39)^2 + (28)^2 + (19)^2 + (11)^2}{5} - \text{FK} = \frac{8910}{5} - 864,36 = 193,04$$

$$\text{JKS} = \text{JKT} - \text{JKP} = 210,64 - 193,04 = 17,60$$

$$\text{KTP} = \frac{\text{JKP}}{t-1} = \frac{193,04}{4} = 48,26$$

$$\text{KTS} = \frac{\text{JKS}}{20} = \frac{17,6}{20} = 0,88$$

$$F_{\text{hit}} = \frac{\text{KTP}}{\text{KTS}} = \frac{48,26}{0,88} = 54,84$$

$$F_{\text{tab}} (0,05) = 2,87$$

$$F_{\text{tab}} (0,01) = 4,43$$

Lanjutan Lampiran 4.

Sidik Ragam Hasil Analisis

Sumber Keragaman (S.K)	Derajat Bebas (d.b)	Jumlah Kuadrat (J.K)	Kuadrat Tengah (K.T)	F_{hitung}	F_{tabel}	
					0,01	0,05
Perlakuan	4	193,04	48,26	54,84*	4,43	2,87
Sisa	20	17,6	0,88			
Total	24	210,64				

Dilihat dari sidik ragam di atas, dapat disimpulkan bahwa perlakuan berbeda nyata antara satu dan lainnya. ($F_{hit} > F_{tabel}$).

Lampiran 5. Hasil Pengujian Antigen (IB) pada Perlakuan C dengan Beberapa Selang Waktu (dalam 2ⁿ HA Unit).

Ulangan	P e n g u j i a n					Jumlah
	I	II	III	IV	V	
1	6,0	5,0	5,0	5,0	5,0	26,0
2	7,0	5,0	5,0	5,0	4,0	26,0
3	5,0	6,0	6,0	4,0	5,0	26,0
4	6,0	4,0	5,0	6,0	5,0	26,0
5	6,0	6,0	4,0	4,0	3,0	23,0
Jumlah	30,0	26,0	25,0	24,0	22,0	127,0
Rata-rata	6,0	5,2	5,0	4,8	4,4	
Kuadrat	182,0	138,0	127,0	118,0	100,0	665,0

$$\text{Faktor Koreksi} : \frac{(\sum x)^2}{25} = 645,16$$

$$\text{JKT} = (6)^2 + (7)^2 + (5)^2 + \dots + (3)^2 - \text{FK} = 665,0 - 645,36 = 19,84$$

$$\text{JKP} = \frac{(30)^2 + (26)^2 + (25)^2 + (24)^2 + (22)^2}{5} - \text{FK} = \frac{3261}{5} - 645,36 = 193,04$$

$$\text{JKS} = \text{JKT} - \text{JKP} = 19,84 - 7,04 = 12,80$$

$$\text{KTP} = \frac{\text{JKP}}{t-1} = \frac{7,04}{4} = 1,76$$

$$\text{KTS} = \frac{\text{JKS}}{20} = \frac{12,8}{20} = 0,64$$

$$F_{\text{hit}} = \frac{\text{KTP}}{\text{KTS}} = \frac{1,76}{0,64} = 2,75$$

$$F_{\text{tab}} (0,05) = 2,87$$

$$F_{\text{tab}} (0,01) = 4,43$$

Lanjutan Lampiran 5

Sidik Ragam Hasil Analisis

Sumber Keragaman (S.K)	Derajat Bebas (d.b)	Jumlah Kuadrat (J.K)	Kuadrat Tengah (K.T)	Fhitung	Ftabel	
					0,01	0,05
Perlakuan	4	7,04	1,76	2,75	4,43	2,87
Sisa	20	12,8	0,64			
Total	24	19,84				

Dilihat dari sidik ragam di atas, dapat disimpulkan bahwa perlakuan tidak berbeda nyata antara satu dan lainnya. ($F_{hit} < F_{tabel}$).

Lampiran 6. Hasil Pengujian Antigen (IB) pada Perlakuan D dengan Beberapa Selang Waktu (dalam 2ⁿ HA Unit).

Ulangan	P e n g u j i a n					Jumlah
	I	II	III	IV	V	
1	4,0	3,0	1,0	2,0	1,0	11,0
2	3,0	4,0	3,0	3,0	2,0	15,0
3	5,0	2,0	1,0	1,0	1,0	10,0
4	3,0	4,0	4,0	2,0	2,0	15,0
5	2,0	1,0	2,0	3,0	1,0	9,0
Jumlah	17,0	14,0	11,0	11,0	7,0	60,0
Rata-rata	3,4	2,8	2,2	2,2	1,4	
Kuadrat	63,0	46,0	31,0	27,0	11,0	178,0

$$\text{Faktor Koreksi} : \frac{(\sum x)^2}{25} = 144,0$$

$$\text{JKT} = (4)^2 + (3)^2 + (5)^2 + \dots + (1)^2 - \text{FK} = 178,0 - 144,0 = 34,0$$

$$\text{JKP} = \frac{(17)^2 + (14)^2 + (11)^2 + (11)^2 + (7)^2}{5} - \text{FK} = \frac{776}{5} - 144,00 = 11,20$$

$$\text{JKS} = \text{JKT} - \text{JKP} = 34,00 - 11,20 = 22,80$$

$$\text{KTP} = \frac{\text{JKP}}{t-1} = \frac{11,20}{4} = 2,80$$

$$\text{KTS} = \frac{\text{JKS}}{20} = \frac{22,80}{20} = 1,14$$

$$F_{\text{hit}} = \frac{\text{KTP}}{\text{KTS}} = \frac{2,80}{1,14} = 2,46$$

$$F_{\text{tab}} (0,05) = 2,87$$

$$F_{\text{tab}} (0,01) = 4,43$$

Lanjutan Lampiran 6

Sidik Ragam Hasil Analisis

Sumber Keragaman (S.K)	Derajat Bebas (d.b)	Jumlah Kuadrat (J.K)	Kuadrat Tengah (K.T)	Fhitung	Ftabel	
					0,01	0,05
Perlakuan	4	11,20	2,80	2,46	4,43	2,87
Sisa	20	22,8	1,14			
Total	24	253,84				

Dilihat dari sidik ragam di atas, dapat disimpulkan bahwa perlakuan tidak berbeda nyata antara satu dan lainnya. ($F_{hit} < F_{tabel}$).

Lampiran 7. Penghitungan Beda Nyata Jujur 5%.

1. Hasil perlakuan sebelum inokulasi.

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ 5\%} &= Q_{5\%} (4,16) \times \frac{\text{KTS}}{t} \\
 &= 4,05 \times \frac{1,43}{5} \\
 &= 2,17
 \end{aligned}$$

2. Hasil perlakuan sesudah inokulasi

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ 5\%} &= Q_{5\%} (4,16) \times \frac{\text{KTS}}{t} \\
 &= 4,05 \times \frac{0,90}{5} \\
 &= 2,6
 \end{aligned}$$

3. Hasil pengujian stabilitas untuk perlakuan A

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ 5\%} &= Q_{5\%} (5,20) \times \frac{\text{KTS}}{t} \\
 &= 4,24 \times \frac{2}{5} \\
 &= 2,6
 \end{aligned}$$

4. Hasil pengujian stabilitas untuk perlakuan B

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ 5\%} &= Q_{5\%} (5,20) \times \frac{\text{KTS}}{t} \\
 &= 4,24 \times \frac{0,88}{5} \\
 &= 1,78
 \end{aligned}$$

5. Hasil pengujian stabilitas untuk perlakuan C

$$\begin{aligned} \text{BNJ 5\%} &= Q_{5\%}(5,20) \times \frac{\text{KTS}}{t} \\ &= 4,24 \times \frac{0,64}{5} \\ &= 1,52 \end{aligned}$$

6. Hasil pengujian stabilitas untuk perlakuan D

$$\begin{aligned} \text{BNJ 5\%} &= Q_{5\%}(5,20) \times \frac{\text{KTS}}{t} \\ &= 4,24 \times \frac{1,14}{5} \\ &= 2,02 \end{aligned}$$