

UJI LAPANG VAKSIN MYCOLI UNTUK PENCEGAHAN CRD PADA AYAM POTONG

FIELD TRIAL OF MYCOLI VACCINE FOR CRD PROTECTION IN BROILER CHICKENS

Soeripto dan Andriani

Balai Penelitian Veteriner, Jl. R.E. Martadinata 30, Bogor

ABSTRACT

Field trial of Mycoli vaccine was carried out on a commercial broiler farm in West Java, Indonesia. The number of vaccinated chickens was 3.000 heads and another 3.000 heads were used as control. The route of vaccination was done via subcutaneous tissue behind the head with a dose of 0.2 ml/head. The vaccination was given at 4 days of age concurrently with ND vaccine administration. As a field control, a number of 50 vaccinated chickens designated as Group I and another 50 non vaccinated chickens designated as Group II taken from the field trial were kept in Balitvet pens. Each of the Group was then divided again into 10 subgroups of 5 heads, kept in wire cages. At 4 weeks of age, chickens in 5 subgroups of Group I and of Group II were challenged with wild strain of *Mycoplasma gallisepticum* (MG) R980 via abdominal airsacs. Blood samples were collected from all chickens before challenged and before termination day for serology MG antibody. Feed and body weight gain were measured every week. All simulated chickens at Balitvet were killed at 42 days of age and examined for pathological lesions. The results of field trial showed that vaccinated chickens had produced body weight gain of 510g and feed conversion of 0.04 per head better than non-vaccinated groups, but statistically no difference between vaccinated and control chickens. The simulated chickens at Balitvet showed that chickens of Group I had shown better protection against MG challenge than chickens of Group II. The vaccinated chickens produced body weight gain of 39g and rate of feed conversion of 0.35 per head better than control chickens, and the vaccinated challenged chickens had body weight gain and feed conversion of 48g and 0.34, respectively better than the control challenged chickens.

Key words: Mycoli vaccine, CRD, broiler chickens.

ABSTRAK

Uji lapang vaksin Mycoli dilakukan pada ayam pedaging komersial di salah satu peternakan di daerah Jawa Barat. Jumlah ayam yang divaksin sebanyak 3.000 ekor, sedang untuk kontrol digunakan sebanyak 3.000 ekor juga. Vaksinasi Mycoli dilakukan lewat subkutan dengan dosis 0.2 ml di belakang kepala pada umur 4 hari, bersamaan waktu dengan pemberian vaksin ND. Sebagai kontrol percobaan lapang, sebanyak 100 ekor ayam diambil dari percobaan lapang dan ditempatkan di kandang percobaan di Balitvet. Sebanyak 50 ekor yang divaksin dilabel sebagai Kelompok I dan 50 ekor ayam yang tidak di vaksin di label sebagai Kelompok II, Tiap kelompok dibagi lagi atas 10 subkelompok yang tiap subkelompok terdiri dari 5 ekor. Tiap subkelompok dikandangkan pada kandang kawat. Pada umur 4 minggu, semua ayam pada 5 subkelompok I dan 5 subkelompok II ditantang dengan biakan *Mycoplasma gallisepticum* (MG) R980 yang ganas lewat kantong udara rongga perut. Sampel darah diambil sebelum ayam ditantang dan sebelum akhir penelitian, untuk pemeriksaan antibodi terhadap MG. Setiap minggu berat badan, jumlah dan sisa pakan ditimbang. Pada akhir penelitian pada umur 42 hari, semua ayam di kandang Balitvet dibunuh dan diperiksa kelainan patologik. Hasil penelitian lapang secara statistik tidak menunjukkan perbedaan nyata, baik pada berat badan atau konversi pakan, tetapi secara kuantitatif ayam yang divaksin menunjukkan selisih berat badan sebesar 510 g dan konversi pakan sebesar 0,04 per ekor lebih baik dibanding dengan ayam kontrol. Kontrol percobaan ayam di Balitvet, juga memperlihatkan bahwa ayam yang divaksin mampu memberikan proteksi terhadap tantangan infeksi MG. Ayam yang divaksin memberi kenaikan berat badan 39 g dan konversi pakan 0,35 tiap ekor lebih baik dibanding dengan ayam kontrol, sedang ayam yang divaksin dan ditantang memperlihatkan kenaikan berat badan 48 g dan konversi pakan 0,34 lebih baik dibanding dengan ayam kontrol yang ditantang.

Kata kunci: Vaksin Mycoli, CRD, ayam pedaging

PENDAHULUAN

Chronic respiratory disease (CRD) pada ayam merupakan penyakit menular yang sangat merugikan peternak. Sekalipun pencegahan penyakit di tingkat *Grand parent stock* (GPS) banyak yang sukses, tetapi keberadaan penyakit ini di peternakan pembibit (*Breeding farm*) dan ayam komersial masih tersebar luas sampai saat ini. Kerugian ekonomi yang terjadi bukan disebabkan oleh kematian yang tinggi, tetapi lebih disebabkan oleh terhambatnya kenaikan berat badan pada ayam potong, turunnya nilai jual ayam, produksi telur pada ayam petelur, naiknya konversi pakan dan tingginya biaya pengobatan (Biggs, 1982; Bagust, 1989; Soeripto, 2001). Morbiditas penyakit dapat mencapai 100% tetapi mortalitas rendah kecuali terjadi infeksi sekunder (Yoder, 1991).

Pencegahan penyakit dapat dilakukan dengan vaksinasi atau kemothérapeutika. Vaksinasi dengan vaksin inaktif *Mycoplasma gallisepticum* (MG) terhadap ayam induk di luar negeri telah dilakukan tetapi hasilnya masih bervariasi (Hilderbrand, 1985). Kuryana (Komunikasi pribadi) telah menggunakan vaksin inaktif CRD tetapi hasilnya masih diragukan. Soeripto (2000) telah melaporkan penggunaan vaksin inaktif MG88016 pada ayam buras, hasilnya dapat mencegah infeksi lapang.

Penggunaan vaksin aktif MG yang dimutasikan kegenasannya telah dilaporkan oleh Lam *et al.* (1983), Soeripto, (2000), Soeripto dan Whithear (1996a,b). Penggunaan vaksin mutant TS11 yang dikembangkan oleh Soeripto di Australia, telah beredar di berbagai negara termasuk Indonesia. Beberapa informasi mengenai efikasi vaksin mutant TS11 telah dilaporkan oleh beberapa peneliti (Turner and Kleven, 1998; Branton *et al.*, 2000; Noormohammadi *et al.*, 2002). Penggunaan vaksin aktif Nobilis MG 6/85 juga telah dilakukan di USA (Branton *et al.*, 2002).

Penggunaan vaksin inaktif MG pada ayam pedaging di laboratorium yang dikombinasikan dengan *E.coli* telah dilaporkan

oleh Soeripto (1998) dan hasilnya cukup baik. Sampai saat ini, uji lapang vaksin Mycoli belum pernah dilakukan baik pada ayam potong maupun ayam petelur. Pengembangan vaksin CRD untuk pencegahan penyakit saat ini sangat diperlukan mengingat kejadian infeksi di lapang cukup tinggi (Soeripto, 2001). Penggunaan vaksin MG yang dikombinasikan dengan *E.coli* baik di Indonesia maupun di luar negeri sejauh ini belum pernah dilaporkan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efikasi vaksin inaktif Mycoli di lapang dalam mencegah atau mengontrol CRD kompleks pada ayam pedaging komersial.

MATERI DAN METODE

Ayam

Sebanyak 6.000 ekor DOC ayam pedaging komersial digunakan untuk percobaan lapang, 100 ekor dari ayam tersebut digunakan di Balitvet, Bogor, dimasukkan ke dalam kandang kawat dengan ukuran 60 x 85 cm per kandang.

Vaksin

Isolat MG88016 yang diisolasi dari peternakan ayam petelur di daerah Jawa Barat dan isolat *E.coli* serotipe O2 yang di isolasi dari ayam potong di daerah Bogor digunakan untuk pembuatan vaksin Mycoli (MG + *E.coli*). Ke 2 isolat tersebut ditumbuhkan pada masing-masing media pertumbuhan. Untuk isolat *Mycoplasma gallisepticum* (MG) ditumbuhkan pada media Mikoplasma cair dan pemurniannya dilakukan dengan *cloning* sebanyak 3 kali pada Mikoplasma agar, sedang isolat *E.coli* ditumbuhkan pada media nutrisi cair dan pemurniannya dilakukan dengan media *McConkey* atau *Eosin Methylene Blue* agar. Setelah murni, masing-masing isolat MG dan *E.coli* dibiakan lagi dalam media Mikoplasma cair untuk MG dan nutrisi cair untuk *E.coli* selama 24 jam dalam inkubator dengan suhu 37°C. Biakan 24 jam tersebut kemudian dibunuh dengan formalin 1% dan didiamkan semalam di ruang pendingin. Sebelum dipanen, masing-masing diuji kembali

viabilitasnya pada masing-masing media. Setelah tidak ada pertumbuhan koloni, biakan dicuci 3 x dengan bufer dengan menggunakan *ultra centrifuge* Beckman J2-21 dengan kecepatan 8.000 g. Kandungan protein kuman MG dan *E.coli* diukur dengan menggunakan *spectrophotometer* Varian DMS 80 dengan panjang gelombang 280nm. Setelah ke 2 antigen dicampur, diperiksa kembali pada media agar darah untuk melihat kalau terjadi kontaminasi.

Media untuk *E.coli*

Isolat *E.coli* serotipe O2 dibiakkan di dalam nutrisi cair (Difco) yang diinkubasikan pada suhu 37°C selama satu malam, pemurniannya dilakukan pada media *McConkey* (Merck) atau *Eosin Methylene Blue* agar (Merck).

Media *Mycoplasma*

Mikoplasma cair digunakan untuk memproduksi biakan kuman MG sedang Mikoplasma agar digunakan untuk memurnikan koloni dengan cara *cloning*. Medium dibuat sesuai dengan prosedur yang diformulasikan oleh Frey *et al.* (1968). Mikoplasma cair mengandung *Mycoplasma Broth Base* (Gibco), *Cystein HCl* (BDH), *Phenol red* (Chroma), *Thallos acetate* (BDH) and aquadestilata. Derajat keasaman (pH) media diukur 7,8 sebelum disterilkan. Setelah disterilkan kemudian didinginkan pada suhu ruangan. Setelah mencapai suhu ruangan, ditambah dengan penyubur yang terdiri dari 10% serum babi, 1% *yeast extract* (Difco), 0,2% DNA (Koch Light), 1% NAD (Sigma), 0,1% *glucose MB* dan 0,02% *amoxycillin* (Becham Res. Lab.). Untuk Mikoplasma agar tidak diberi phenol red, tetapi ditambah dengan 0,01% *actidione* (Up John), 1% *Special Noble agar* (Difco) dan 3% agar Bakto (Difco).

Prosedur serologi

Sampel darah diambil dari vena sayap pada saat ayam sebelum ditantang dan sebelum ayam di potong pada akhir penelitian. Uji serologi hanya dilakukan dengan metode aglutinasi cepat sesuai dengan metode yang

dilakukan di Balitvet. Cara yang dilakukan yaitu dengan sebanyak 25 µl serum yang akan diuji dimasukkan ke dalam sumuran plat WHO, kemudian ditambah dengan 25 µl antigen MG berwarna. Antigen dan antibodi yang dimasukkan ke dalam sumuran di campur sampai merata, kemudian digoyang selama 2 menit. Hasil positif ditentukan oleh ukuran aglutinasi (*clump size*) yang dihasilkan antara reaksi antigen dan antibodi MG. Aglutinasi kecil-kecil dinyatakan dengan 1+, agak besar dinyatakan dengan 2+ dan aglutinasi besar dinyatakan dengan 3+

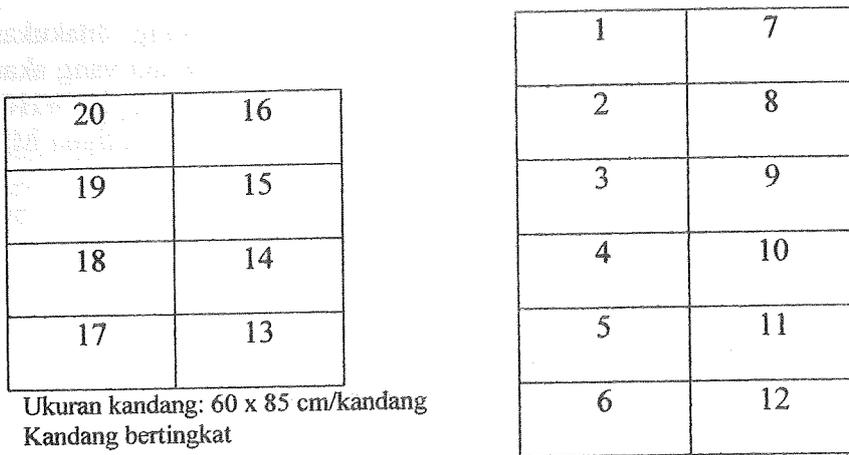
Skor patologi kantong membran udara

Sistem skor lesi kantong membran udara diambil dari metode yang telah diuraikan oleh Adler *et al.* (1960) dan Kleven *et al.* (1972). Penilaiannya adalah sebagai berikut:

- 0 : normal; membran udara bening transparan.
- 1+ : membran udara agak suram dengan sedikit bintik-bintik berwarna keputihan.
- 2+ : membran udara sedikit menebal dan perkejuan kecil-kecil pada satu sisi.
- 3+ : membran udara menebal dengan akumulasi perkejuan yang agak besar menyebar di satu sisi.
- 4+ : membran udara menebal dengan ekstensif akumulasi perkejuan pada ke dua belah sisi kantong membran udara.

Uji Lapang

Untuk uji lapang, sebanyak 6.000 ekor DOC ayam pedaging dibagi atas 2 kelompok yaitu Kelompok I dan Kelompok II. Kelompok I diberi vaksin, sedang Kelompok II tidak di vaksin digunakan sebagai kontrol. Pada umur 1-5 hari semua ayam diberi Vitachick. Pada umur 4 hari, bersamaan waktu dengan pemberian vaksin ND lewat tetes mata pada semua ayam di Kelompok I dan II, ayam di Kelompok I diberi vaksin Mycoli dengan dosis 0,2 ml per ekor di bawah kulit di belakang kepala. Pada umur 11 hari semua ayam diberi vaksin Gumboro lewat air minum, dan pada umur 21 hari semua ayam diberi vaksin ND



Gambar 1. Pola pengelompokan ayam percobaan di Balitvet

Keterangan:

1. Kandang nomor ganjil: 1,3,5,7,9,11,13,15,17,19 – di vaksin- Kelompok I
2. Kandang bernomor genap: 2,4,6,8,10,12,14,16,18,20 – kontrol – Kelompok II
3. Kelompok I yang ditantang: 3,7,11,13,19 – Kelompok IB
4. Kelompok II yang ditantang: 2,6,10,16,18 – Kelompok IIB

lagi lewat air minum. Berat badan ditimbang pada awal pemeliharaan umur 1 hari dan pada akhir pemeliharaan pada umur 40 hari.

Uji di kandang Balitvet

Pada umur 4 hari setelah vaksinasi ND dan Mycoli, sebanyak 50 ekor ayam dari Kelompok I dan 50 ekor ayam dari Kelompok II dibawa ke kandang Balitvet. Masing-masing Kelompok dibagi lagi menjadi 10 subkelompok yang tiap subkelompok terdiri dari 5 ekor, dimasukkan ke dalam kandang kawat dengan ukuran 60 x 85 cm/kandang. Seluruh kandang kawat terletak dalam satu rumah kandang. Posisi kandang untuk masing-masing ayam yang divaksin dan tidak divaksin berselangan seperti terlihat pada Gambar 1. Semua ayam diberi Vitachicks selama 3 hari. Pada umur 11 hari semua ayam diberi vaksin Gumboro lewat air minum yang diikuti pemberian vitamin lewat air minum selama 3 hari. Pada umur 21 hari semua ayam kembali diberi vaksin ND lewat air minum. Pada umur 4 minggu, ayam pada 5 subkelompok I dan 5 subkelompok II ditantang dengan biakan MG R980 yang ganas dengan dosis 2×10^8 cfu/ml sebanyak 0,2 ml lewat kantong membran udara rongga perut.

Kelompok ayam yang divaksin dilabel dengan Kelompok IA, yang divaksin dan ditantang di label dengan Kelompok IB, Kelompok kontrol dilabel dengan Kelompok IIA dan kontrol yang ditantang dilabel dengan Kelompok IIB. Sampel darah untuk uji serologi dilakukan sebelum ditantang dan pada akhir penelitian pada umur 42 hari. Setiap minggu berat badan, jumlah dan sisa pakan ditimbang.. Pada akhir penelitian, semua ayam di lapang ditimbang berat badannya dan dijual, sedang yang di kandang Balitvet ditimbang lebih dahulu, kemudian dibunuh dan diperiksa terhadap kelainan patologik pada kantong membran udara rongga perut.

Analisis data

Hasil percobaan, perbedaan berat badan dan konversi pakan di analisa dengan Analysis of Variant (ANOVA) dengan menggunakan rancangan kelompok (Steel dan Torrie, 1960).

HASIL DAN PEMBAHASAN

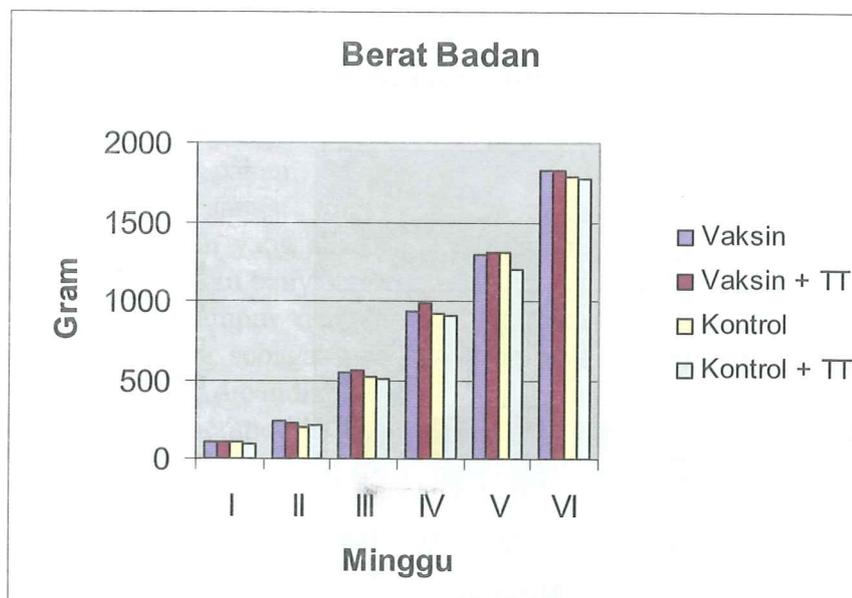
Tabel 1. memperlihatkan hasil percobaan vaksin Mycoli di lapang. Pada awal penelitian, rata-rata berat badan ayam kelompok

Tabel 1. Berat badan dan konversi pakan pada percobaan ayam di lapang

	Kelompok I (Vaksin)		Kelompok II (Kontrol)	
	Minggu I	Minggu VI	Minggu I	Minggu VI
Berat badan (g)	0,163	3,261	0,178	2,751
Konversi pakan	1,01	1,48	1,02	1,52

kontrol 0,015 g lebih besar dibanding dengan kelompok vaksin. Pada akhir penelitian, berat badan ayam pada Kelompok I memperlihatkan 510 g lebih besar dibanding dengan Kelompok II. Konversi pakan pada awal penelitian baik Kelompok I maupun II tidak memperlihatkan perbedaan, tetapi pada akhir penelitian Kelompok II memperlihatkan konversi pakan 0,04 per ekor lebih tinggi dibanding Kelompok I. Hasil ini menunjukkan bahwa vaksin inaktif Mycoli efektif digunakan untuk meningkatkan berat badan dan efisiensi pakan pada ayam pedaging atau pada ayam pembibit tipe pedaging (*broiler breeder*). Penelitian ini sejalan dengan laporan penelitian sebelumnya bahwa vaksin inaktif MG mampu untuk mencegah infeksi MG dari alam (Hilderbrand, 1985; Soeripto, 1998, 2000).

Gambar 2. memperlihatkan perkembangan berat badan ayam di kandang Balitvet. Secara analisa statistik, berat badan akhir tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata ($P>0,05$) baik pada Kelompok IA (divaksin tanpa ditantang) (1.824 g) atau Kelompok IB ditantang (1.824 g) dibanding dengan Kelompok IIA (Kontrol tidak ditantang) (1.785 g) maupun Kelompok IIB ditantang (1.776 g). Selisih berat badan akhir antara ayam pada Kelompok IA lebih tinggi 39 gram dibanding dengan Kelompok IIA sedang selisih berat badan akhir ayam pada Kelompok IB dibanding dengan ayam pada Kelompok IIB sebesar 48 g. Hal ini menunjukkan bahwa vaksin inaktif Mycoli baik di lapang maupun di kandang Balitvet memiliki efikasi pakan yang baik untuk meningkatkan berat badan. Berbeda



Keterangan TT : ditantang

Gambar 2. Perkembangan berat badan ayam selama 6 minggu

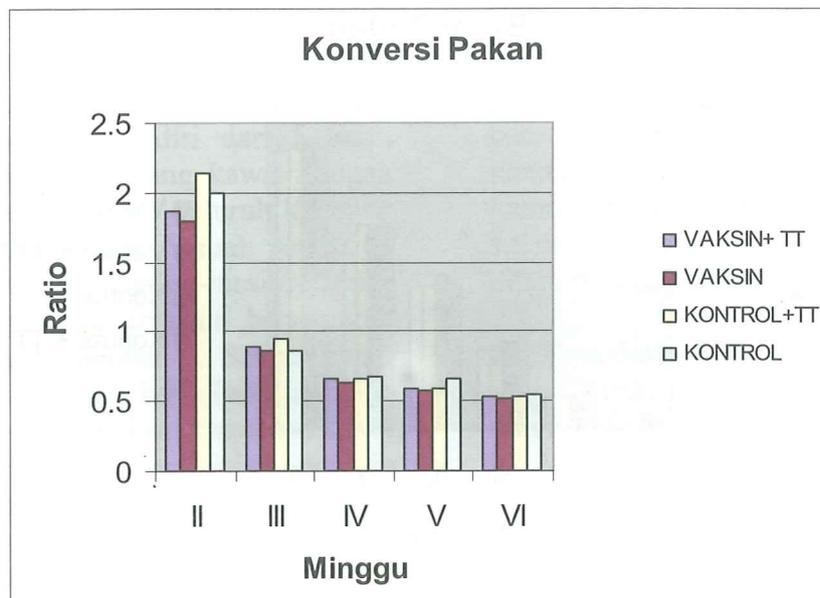
Tabel 2. Serologi dan skor lesi dari kantong membran udara rongga perut

Perlakuan	Hasil		
	Serologi		Skor lesi peradangan membran udara
	Sesudah vaksin	Sebelum dibunuh	
Kelompok IA	-	1,08	-
Kelompok IB	-	1,36	-
Kelompok IIA	-	0,92	-
Kelompok IIB	-	2,12	1,6

dengan penelitian lapang, percobaan di kandang Balitvet tidak memperlihatkan berat badan akhir sebesar berat badan ayam di lapang. Hal ini kemungkinan disebabkan karena kandang kawat yang digunakan tidak cukup besar untuk ayam 5 ekor sampai umur 6 minggu. Selain itu tempat pakan tidak digantung, sehingga banyak pakan yang tumpah bercampur dengan kotoran yang tidak bisa dihitung sebagai sisa pakan. Percobaan di Balitvet dengan kandang kawat sebaiknya ditujukan untuk melihat efikasi vaksin dalam memberikan perlindungan ayam terhadap infeksi tantangan, atau jumlah ayam dalam

kandang tersebut dikurangi menjadi 3 ekor sesuai dengan besaran kandang.

Gambar 3 memperlihatkan konversi pakan tiap minggu selama 6 minggu. Pada minggu ke 2 masing-masing perlakuan memperlihatkan konversi pakan yang tinggi yaitu Kelompok IA, Kelompok IB, Kelompok IIA dan Kelompok IIB masing-masing sebesar 1,79; 1,86; 1,99 dan 2,14. Dengan bertambahnya umur ayam dari minggu ke 2 sampai ke 6 mengalami penurunan yaitu pada akhir minggu ke 6 konversi pakan Kelompok IA, Kelompok IB, Kelompok IIA dan Kelompok IIB masing-masing sebesar 0,52;



Keterangan TT : ditantang

Gambar 3. Konversi pakan selama 6 minggu



Gambar 4. Ayam kontrol yang ditantang dengan skor lesi kantong udara 3+

0,53; 0,54 dan 0,54. Jumlah konversi pakan selama 6 minggu dari masing-masing Kelompok IA, Kelompok IB, Kelompok IIA dan Kelompok IIB masing-masing sebesar 4,38; 4,53; 4,73 dan 4,87. Jika dianalisa secara statistik konversi pakan tersebut dari masing-masing kelompok perlakuan tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata ($P > 0,05$). Jumlah konversi pakan yang diperoleh selama 6 minggu, sangat tinggi dibanding dengan konversi pakan yang ada di lapang. Hal ini mungkin disebabkan banyaknya pakan yang tumpah yang bercampur dengan kotoran yang tidak bisa dihitung sebagai sisa pakan. Sekalipun demikian jika dibandingkan secara kualitatif Kelompok IA memperlihatkan konversi pakan 0,35 lebih baik dari pada ayam Kelompok IIA, sedang ayam pada Kelompok IB memperlihatkan konversi pakan 0,20 lebih baik dibanding dengan Kelompok IIA dan 0,34 dari pada Kelompok IIB. Hasil ini juga memperlihatkan bahwa ayam yang divaksin dengan vaksin inaktif Mycoli dan yang ditantang, memiliki efisiensi pakan lebih baik

dibanding dengan ayam yang tidak divaksin dan yang ditantang. Sekalipun demikian percobaan ayam di kandang kawat Balitvet, untuk penilaian berat badan atau konversi pakan tidak atau kurang representatif karena fasilitasnya tidak sesuai. Mungkin pada kesempatan lain percobaan harus dilakukan pada kandang dengan dasar sekam (*litter*).

Hasil serologi dan skor lesi kantong membran udara rongga perut setelah ayam dipotong dapat dilihat pada Tabel 2. Uji serologi yang dilakukan dengan metode aglutinasi cepat tidak bisa mendeteksi adanya antibodi 3 minggu setelah ayam divaksin. Hal ini mungkin, waktu 3 minggu masih belum cukup untuk memproduksi antibodi dalam tubuh sehingga diperlukan waktu yang lebih lama lagi untuk memproduksi antibodi. Dua minggu setelah ditantang, antibodi dapat dideteksi, baik pada ayam di Kelompok IA, IB dan IIB. Rataan skor aglutinasi pada ayam di Kelompok IIB menunjukkan skor lebih tinggi dari pada ayam di Kelompok IB. Ini menunjukkan antibodi yang diperoleh dari

vaksin Mycoli mampu untuk melindungi ayam dari infeksi MG, tidak seperti pada ayam kontrol yang ditantang.

Ayam kontrol di Kelompok IIA memperlihatkan aglutinasi positif mungkin disebabkan oleh infeksi horizontal dari isolatantang MG R-980. Ayam pada Kelompok IB, tidak memperlihatkan lesi kantong membran udara rongga perut, sedang pada ayam di Kelompok IIB memperlihatkan rata-rata skor lesi peradangan sebesar 1,6. Hasil ini lebih menguatkan hasil vaksinasi bahwa vaksin Mycoli mampu memberikan proteksi terhadap tantangan infeksi MG dari luar. Gambar 4 memperlihatkan lesi kantong udara 2 minggu setelah ditantang.

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa vaksin inaktif Mycoli baik pada percobaan di lapang maupun simulasinya di kandang Balitvet telah memperlihatkan efektivitasnya dalam memberikan proteksi terhadap serangan infeksi MG dari luar, meningkatkan berat badan serta meningkatkan efisiensi pakan. Ayam yang di vaksin di lapang memperlihatkan peningkatan berat badan 510 g dan konversi pakan 0,04 lebih baik dibanding dengan ayam kontrol. Percobaan di kandang Balitvet, ayam yang divaksin memberikan perlindungan yang tinggi terhadap tantangan infeksi MG dari luar dan memberikan kenaikan berat badan 39 g dan konversi pakan 0,35 lebih baik dibanding dengan ayam kontrol, dan ayam yang divaksin dan ditantang memperlihatkan kenaikan berat badan 48 g dan konversi pakan 0,34 lebih baik dibanding dengan ayam kontrol yang ditantang.

Sekalipun hasil penelitian vaksin Mycoli ini telah membuktikan efikasinya, baik terhadap tantangan infeksi, berat badan maupun efisiensi pakan, tetapi uji lapang masih perlu dilakukan beberapa kali agar dapat memberikan gambaran yang lebih konsisten terhadap efektifitas vaksin dimasa yang akan datang.

DAFTAR PUSTAKA

Adler, H.E., Mc Martin, D and Shifrine, M
1960. Immunization against mycoplasma

infections of poultry. *Am. J. Vet. Res.* 21: 482-485.

Bagust T.J. 1989. An overview of Australia's poultry industry in 1989. *Aust. Vet. J.* 66: 416 - 418.

Biggs, P.M. 1982. The world of poultry disease. *Avian Pathology.* 11: 281 - 300.

Branton, S.L., Lott, B.D., May, J.D., Maslin, W.R., Pharr, G.T., Bearson, S.D, Collier, S.D., and Boykin, D.L. 2000. The Effects of ts-11 Strain Mycoplasma gallisepticum vaccination in Commercial Layer Hens on Egg Production and Selected Egg Quality Parameters. *Avian Dis.* 46: 618-623.

Branton, S.L., Bearson, S.D, Bearson, B, Lott, B.D., Maslin, W.R., Collier, S.D., Pharr, G.T and Boykin, D.L. 2002. The Effects of 6/85 Live Mycoplasma Gallisepticum vaccine in Commercial Layer Hens over a 43-Week Laying Cycle on Egg Production, Selected Egg Quality Parameters, and Egg Size Distribution When Challenged Before Beginning of Lay. *Avian Dis.* 46: 423-428.

Frey, M.C., Hanson, R.P. and Anderson, D.P. 1968. A medium for the isolation of avian mycoplasma. *Am. J. Vet. Res.* 29: 2164 - 2171.

Hilderbrand D. 1985. Immunologi and prophylaxis associated with the use of a *Mycoplasma gallisepticum* bacterin in chickens. *La Clinica Veterinaria.* 108: 89-94.

Kleven, S.H., Kind, D., and Anderson, D.P. 1972. Air-sacculitis in broilers from *Mycoplasma synoviae*; effect on air sac lesions of vaccinating with infectious bronchitis and Newcastle disease virus. *Avian Dis.* 16: 915 - 924.

- Lam, K.M., Lin, W., Yamamoto, R. and Farver, T.B. 1983. Immunization of chickens with temperature sensitive mutants of *Mycoplasma gallisepticum*. *Avian Dis.* 27: 803 - 812.
- Lam, K.M., Lin, W., Yamamoto, R. and Ghazikhanian, Y.G. 1984. Vaccination of turkeys against airsac infection with a temperature sensitive mutants of *Mycoplasma gallisepticum*. *Avian Dis.* 28: 1096 - 1101.
- Noormohammadi, A.H., Jones, J.F., Underwood, G. and Whithear, K.G. 2002. Poor Systemic Antibody response After Vaccination of Commercial Broiler Breeders with *Mycoplasma gallisepticum* Vaccine ts-11 Not Associated with Susceptibility to Challenge. *Avian Dis.* 46: 623-628.
- Soeripto. 1987. Pathogenicity and Immunogenicity of *Mycoplasma gallisepticum*. PhD. thesis 1987.
- Soeripto. 1998. Imunitas vaksin mati *Mycoplasma gallisepticum* isolat lokal pada ayam potong. *Prosiding Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner.* Hal. 930 - 934.
- Soeripto. 2000. Efikasi Vaksin *Mycoplasma gallisepticum* untuk Pengendalian Penyakit pernafasan Menahun pada Ayam Buras di Lokasi Pengembangan Bibit Ternak. *Prosiding Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner.* Hal. 532 - 537.
- Soeripto. 2001. CRD tidak main-main. *Infovet* edisi 082 Mei 2001. Hal.43 - 45.
- Soeripto and Whithear, K.G. 1996a. The virulence of 4 TS-mutants and 80083L of *Mycoplasma gallisepticum* strains in 2 week-old chickens. *Prosiding Temu Ilmiah Nasional Bidang Veteriner.* Hal. 178 - 183.
- Soeripto and K.G. Whithear. 1996b. Immunogenicity of TS-11 mutant of *Mycoplasma gallisepticum* strain in two week old chickens. *Prosiding Temu Ilmiah Nasional Bidang Veteriner.* Hal.184 - 189.
- Steel, R.G.and Torrie, D. 1960. *Principles and Procedures of Statistics.* McGraw-Hill Book Company, Inc.New York, Toronto, London.
- Turner, K.S. and Kleven, S.H. 1998. Eradication of Live F Strain *Mycoplasma gallisepticum* Vaccine Using Live ts-11 on a Multiage Commercial Layer Farm. *Avian Dis.* 42: 404-407.
- Yoder, H.W. Jr. 1991. Mycoplasmosis. In: *Diseases of Poultry.* 9 th ed. B.W. Calnek, H.J. Barnes, C.W. Beard, W.M. Reid and H.W. Yoder Jr., Eds. Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa pp.196 - 198.