

**RISALAH SEMINAR ILMIAH  
PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN  
APLIKASI ISOTOP DAN RADIASI  
2004**

Jakarta, 17 - 18 Februari 2004

**Teknologi Isotop dan Radiasi untuk Penelitian dan  
Pengembangan Bidang Pertanian, Peternakan, Industri,  
dan Lingkungan dalam Pembangunan Nasional**



**BADAN TENAGA NUKLIR NASIONAL  
PUSLITBANG TEKNOLOGI ISOTOP DAN RADIASI**

- Penyunting :
1. Dr. Singgih Sutrisno, APU (P3TIR - BATAN)
  2. Dr. Sofyan Yatim, APU (P3TIR - BATAN)
  3. Ir. Elsje L. Pattiradjawane, MS, APU (P3TIR - BATAN)
  4. Dr. Ir. Moch. Ismachin, APU (P3TIR - BATAN)
  5. Dr. Ir. Mugiono, APU (P3TIR - BATAN)
  6. Marga Utama, B.Sc., APU (P3TIR - BATAN)
  7. Ir. Wandowo (P3TIR - BATAN)
  8. Drs. Edih Suwadji, APU (P3TIR - BATAN)
  9. Dr. Made Sumatra, MS, APU (P3TIR - BATAN)
  10. Ir. Achmad Nasroh K., M.Sc. APU (P3TIR - BATAN)
  11. Dr. Ishak, M.Sc., M.ID, APU (P3TIR - BATAN)
  12. Ir. Sugiarto (P3TIR - BATAN)
  13. Dr. Zaenal Abidin (P3TIR - BATAN)
  14. Dr. Nelly Dhevita Leswara (Universitas Indonesia)
  15. Drs. Umar Mansur, M.Sc (Universitas Indonesia)
  16. Prof. Dr. Syamsul Arifin Achmad (Institut Teknologi Bandung)
  17. Dr. Ir. Komaruddin Idris (Institut Pertanian Bogor)

---

SEMINAR ILMIAH PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN APLIKASI ISOTOP DAN RADIASI (2004 : JAKARTA), Risalah seminar ilmiah penelitian dan pengembangan aplikasi isotop dan radiasi, Jakarta, 17 - 18 Februari 2004 / Penyunting, Singgih Sutrisno ... *(et al)* -- Jakarta : Badan Tenaga Nuklir Nasional, Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Isotop dan Radiasi, 2004.

1 jil.; 30 cm

Isi jil. 1. Teknologi Isotop dan Radiasi untuk Penelitian dan Pengembangan Bidang Pertanian, Peternakan, Industri, dan Lingkungan dalam Pembangunan Nasional

ISBN 979-3558-03-2

1. Isotop - Seminar I. Judul II. Singgih Sutrisno

621.039.8

---

Alamat : Puslitbang Teknologi Isotop dan Radiasi  
Jl. Lebak Bulus Raya, Pasar Jumat  
Kotak Pos 7002 JKSKL  
Jakarta 12070

Telp. : 021-7690709

Fax. : 021-7691607; 7513270

E-mail : [p3tir@batan.go.id](mailto:p3tir@batan.go.id); [sroji@batan.go.id](mailto:sroji@batan.go.id)

Home page : <http://www.batan.go.id/p3tir>

## **PENGANTAR**

Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Isotop dan Radiasi, Badan Tenaga Nuklir Nasional (P3TIR - BATAN) telah menyelenggarakan Seminar Ilmiah Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi ke 15, di Jakarta tanggal 17 dan 18 Februari 2004. Seminar ilmiah ini bertujuan untuk menyebarluaskan hasil-hasil penelitian teknologi isotop dan radiasi serta sebagai sarana tukar menukar informasi di antara para peneliti atau antara para peneliti dan industriawan. Hal ini untuk lebih memperluas wawasan para peneliti dan agar lebih dapat mendayagunakan teknologi isotop dan radiasi dalam bidang pertanian dan peternakan, industri, hidrologi dan lingkungan.

Seminar ilmiah ini dihadiri oleh 150 peserta (36 peserta undangan, dan 115 peserta lainnya) yang terdiri dari instansi terkait, ilmuwan dan peneliti.

Peserta pertemuan ilmiah terdiri dari :

- Lingkungan Batan;
- Instansi Pemerintah : Kementerian Riset dan Teknologi, Departemen Pertanian, Badan Standardisasi Nasional; Balai Penelitian Tanaman Sayur (Balitsa) - Bandung; Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro), Balai Penelitian Bioteknologi (Balitbio) & Balai Embrio Ternak (BET) - Bogor; dan Balai Penelitian Tanaman Hias (Balithias) - Pasar Minggu;
- Perguruan Tinggi : Universitas Indonesia - Jakarta, Institut Pertanian Bogor - Bogor, Universitas Hasanuddin - Makasar, dan Universitas Andalas - Padang;

Seminar ilmiah ini memuat seluruh makalah yang dipresentasikan dalam pertemuan tersebut yaitu 4 makalah utama/undangan dan 38 makalah peserta. Sedangkan makalah yang tidak dipresentasikan, tidak dimuat dalam risalah ini.

Seminar pertemuan ini diharapkan dapat menambah sumber informasi dan ilmu pengetahuan yang berkaitan dengan teknologi nuklir bagi pihak yang membutuhkan untuk menunjang pembangunan nasional di masa datang.

Penyunting,



## DAFTAR ISI

Pengantar .....	i
Daftar Isi .....	iii
Laporan Ketua Panitia Seminar Ilmiah .....	vii
Sambutan Kepala Badan Tenaga Nuklir Nasional .....	ix

### MAKALAH UNDANGAN

Kebijakan Ristek dalam Mendukung Ketahanan Pangan Nasional Prof. Dr. Ir. BAMBANG PRAMUDYA, M.Eng. (Staf Ahli Menristek Bidang Pangan) .....	1
Pembangunan Pertanian Berkerakyatan, Berdaya Saing, Berkelanjutan, dan Mensejahterakan dalam Era Pemerintahan Otonomi Daerah dan Perdagangan Bebas. Dr. A. SYARIFUDDIN KARAMA (Staf Ahli Menteri Pertanian Bidang Teknologi Pertanian) .....	5
Perlindungan Varietas Tanaman Dr. Ir. SUGIONO MULJOPAWIRO M.Sc. (Kepala Pusat Perlindungan Varietas Tanaman) .....	15
Standardisasi dalam Kegiatan Litbang Ir. IMAN SUDARWO (Kepala Badan Standardisasi Nasional) .....	31

### MAKALAH PESERTA (Kelompok Pertanian dan Peternakan)

✓ Mutan padi pendek hasil iradiasi sinar gamma 0,2 kGy pada varietas Atomita 4 SOBRIZAL, SUTISNA SANJAYA, CARKUM dan M. ISMACHIN .....	35
Radiasi gamma menginduksi mutan <i>catharantus roseus</i> yang stabil dan produksi ajmalisin atau serpentin tinggi SUMARYATI SYUKUR and DIAN EFANITA .....	41
Peningkatan CO <sub>2</sub> internal tanaman kapas dengan pemberian metanol guna meningkatkan produksi BADRON ZAKARIA, DARMAWAN, NURLINA KASIM, dan J. SAEPUDDIN .....	49
✓ Iradiasi sinar gamma benih F <sub>1</sub> dari persilangan atomita-4 / IR-64 untuk memperoleh varietas unggul LILIK HARSANTI dan MUGIONO .....	59
Pengaruh iradiasi sinar gamma <sup>60</sup> Co terhadap pertumbuhan tanaman bawang putih ( <i>Allium sativum</i> L) varietas lumbu hijau di dataran rendah ISMIYATI SUTARTO, NURROHMA, KUMALA DEWI dan ARWIN .....	69
Pengaruh tingkat pemberian air terhadap komponen hasil beberapa galur mutan kacang tanah ( <i>arachis hypogaea</i> l.) CARKUM, KUMALA DEWI, PARNO, dan SOBRIZAL .....	75
Sifat Simbiosis <i>Sinorhizobium Fredii</i> , J-TGS50 sebagai Bakteri Pembentuk Bintil Akar pada Tanaman Kedelai Asli Indonesia SETIYO HADI WALUYO .....	81

Pengaruh inokulasi azolla terhadap kontribusi pupuk N-Urea pada budidaya padi sawah ✓ HAVID RASJID, ELSJE L.SISWORO dan HARYANTO .....	89
Pengaruh kombinasi dua jenis pupuk hijau dan urea terhadap produksi dan serapan N padi sawah ✓ HARYANTO, IDAWATI, HAVID RASJID dan ELSJE L. SISWORO .....	97
Kemampuan berbagai jenis tanaman menyerap gas pencemar udara (NO <sub>2</sub> ) ASTRA DWI PATRA, NIZAR NASRULLAH dan ELSJE L. SISWORO .....	103
Iradiasi telur dan larva lalat buah <i>Bactocera carambolae</i> (Drew & Hancock) untuk menghasilkan inang radiasi bagi parasitoidnya A. NASROH KUSWADI, MURNI INDARWATMI dan INDAH ARASTUTI N. ...	111
Pengujian secara laboratorium ketahanan tanaman padi terhadap hama <i>Chilo suppressalis</i> Walker ✓ SINGGIH SUTRISNO .....	117
Perendaman telur dan penggunaan suhu rendah dan aerasi untuk perbaikan pembiakan massal lalat buah <i>Bactrocera carambolae</i> (Drew & Hancock) dalam teknik serangga mandul ✓ INDAH ARASTUTI N. dan A. NASROH KUSWADI .....	123
Percobaan aplikasi formulasi insektisida karbofuran penglepasan terkendali pada tanaman padi M. SULISTYATI, ULFA T.S, SOFNIE M. CH., dan A. NASROH KUSWADI .....	131
Pengaruh Iradiasi Sinar-γ terhadap residu insektisida dimetoat pada buah tomat ( <i>Lycopersicum esculantum</i> Mill.) SOFNIE M. CHAIRUL, I WAYAN REDJA, YUSLEHA Y., dan ELIDA DJABIR ....	139
Pengaruh suplemen pakan "medicated block" (SPMB) terhadap pertambahan bobot badan sapi potong setelah melahirkan ✓ SUHARYONO, L. ANDINI, dan W.T. SASONGKO .....	147
Pengaruh tanin dan penambahan peg terhadap produksi gas secara <i>in vitro</i> IRAWAN SUGORO .....	153
Uji <i>in vitro</i> kualitas suplemen pakan ummb yang berasal dari berbagai daerah ANDINI, L.S., SUHARYONO, dan W.T. SASONGKO .....	157
✓ Pertumbuhan mikroba rumen dan efisiensi pemanfaatan nitrogen pada silase red clover ( <i>Trifolium pratense</i> cv. Sabatron) ASIH KURNIAWATI .....	165
✓ Fermentasi jerami padi varietas atomita 4 secara basah dengan menggunakan inokulum campuran isolat bakteri anaerob fakultatif rumen kerbau W. T. SASONGKO dan IRAWAN SUGORO .....	171
Uji potensi vaksin cacing <i>Haemonchus contortus</i> iradiasi yang optimal dan suplemen pakan pada domba SUKARDJI P., M. ARIFIN, ENDANG YULIAWATI, ENUH RAHARDJO .....	175
✓ Pengaruh iradiasi terhadap imunogenitas <i>brucella abortus</i> M. ARIFIN, ENDHANG P., BOKY J. TUASIKAL, dan ERNAWATI YULIA ....	181
✓ Studi gangguan reproduksi sapi perah dengan teknik radioimmunoassay (RIA) progesteron. BOKY J. TUASIKAL, TOTTI TJIPTOSUMIRAT, dan RATNAWATI KUKUH .....	187

**MAKALAH PESERTA (Kelompok Industri, Hidrologi dan Lingkungan)**

✓ Sintesis hidrogel PVA untuk prostesis diskus nukleus pulposus : pembentukan interpenetrating polymer network (IPN) Hidrogel PVA dengan sinar gamma DARMAWAN D., ERIZAL, LELY HARDININGSIH dan MIRZAN T. RAZZAK ....	195
Efek bahan anorganik pada sifat fisik poli (Butilen Suksinat-co-Adipat) diiradiasi menggunakan berkas elektron MERI SUHARTINI .....	205
Pengaruh minyak minarex B dan radiasi sinar gamma terhadap sifat mekanik campuran ldp-karet alam vulkanisat untuk sol sepatu SUDRADJAT ISKANDAR dan ISNI MARLIYANTI .....	213
Uji PCR ( <i>polymerase chain reaction</i> ) untuk deteksi virus hepatitis C LINA, M.R., BUDIMAN BELA, dan DADANG S. ....	221
✓ Karakteristik film campuran polipropilen-ko-etilen/poli-ε-kaprolakton dan polipropilen ditempel maleik anhidrat hasil iradiasi NIKHAM .....	229
Aplikasi lab view <sup>®</sup> untuk pengukuran penipisan sampel pipa baja dengan teknik radiasi gamma WIBISONO dan SUGIHARTO .....	237
Studi aliran air pembilas dalam pipa minyak 8 inci dengan teknik perunut radioisotop SUGIHARTO, WIBISONO dan SYURHUBEL .....	243
✓ Mutu bakso ikan patin yang diiradiasi dengan sinar ( <sup>60</sup> Co) YAROSITA F.S, RINDY P. TANHINDARTO, BUSTAMI dan WINARTI Z. ....	249
✓ Pengaruh iradiasi gama pada kualitas tepung labu parang ( <i>cucurbita pepo l.</i> ) ZUBAIDAH IRAWATI dan M.A.N. ATIKA .....	257
Aspek dosimetri makanan olahan tradisional pada fasilitas Irapasena RINDY P. TANHINDARTO dan ADJAT SUDRAJAT .....	265
Pengaruh iradiasi pada sifat fisiko-kimia natrium alginat ERIZAL, A.SUDRAJAT, TATIEK MARTATI dan RAHAYU CHOSDU .....	273
✓ Analisa geometri hamburan sudut kecil partikel lempengan dan silinder dengan metode transformasi tak langsung KRISNA MURNI LUMBANRAJA .....	281
Aplikasi perunut radioaktif tritium untuk menentukan <i>mass recovery</i> air reinjeksi lapangan panasbumi Kamojang DJIJONO, ZAINAL ABIDIN, ALIP dan RASI PRASETYO .....	287
Penentuan redistribusi laju erosi/deposit di lahan olahan menggunakan teknik <sup>137</sup> Cs NITA SUHARTINI, SYAMSUL ABBAS R., BAROKAH A. dan ALI ARMAN .....	299
✓ Studi tritium alam di sekitar TPA Bantar Gebang - Bekasi dan TPA Leuwigajah - Bandung SATRIO, SYAFALNI dan EVARISTA RISTIN .....	309





## PENGARUH IRADIASI TERHADAP IMUNOGENITAS *BRUCELLA ABORTUS*

M. Arifin<sup>1)</sup>, Endhang Pudjiastuti<sup>2)</sup>, Boky J. Tuasikal<sup>1)</sup>, dan Ernawati Yulia<sup>2)</sup>.

1). Puslitbang Teknologi Isotop dan Radiasi - BATAN, Jakarta

2). Pusat Veterinaria Farma, Surabaya.

### ABSTRAK

**PENGARUH IRADIASI TERHADAP IMUNOGENITAS *Brucella abortus*.** Telah dilakukan percobaan untuk mengetahui dan mempelajari pengaruh iradiasi gamma terhadap imunogenitas *Brucella abortus*. Percobaan dibagi menjadi empat kelompok sesuai dengan perlakuan yang diberikan. Kelompok I (V1) diinokulasi dengan *B. abortus* iradiasi dosis 0,25 kGy. Kelompok II (V2) diinokulasi dengan *B. abortus* iradiasi dosis 0,50 kGy. Kelompok III (V3) diinokulasi dengan *B. abortus* iradiasi dosis 0,75 kGy. Kelompok IV (V4) diinokulasi dengan vaksin brucella S.19 tanpa iradiasi produksi PUSVETMA Surabaya. Pengamatan yang dilakukan meliputi uji kemurnian dan keamanan bahan, uji serologi RBT (Rose Bengal Test), pemeriksaan perkembangan dan pertumbuhan kuman/ koloni pada limpa dan pemeriksaan patologi anatomi limpa hewan percobaan yang digunakan. Hasil percobaan menunjukkan bahwa iradiasi dosis 0,25 kGy merupakan dosis harapan yang dapat menurunkan infektivitas dan membentuk imunogen *B. abortus* yang baik, yang selanjutnya dapat menstimulasi tanggapan kebal pada hewan percobaan yang digunakan.

### ABSTRACT

#### **THE EFFECT OF IRRADIATION ON THE IMMUNOGENITY OF *Brucella abortus*.**

An experiment was carried out to study the effect of irradiation on the immunogenicity of *B. abortus*. The *B. abortus* were irradiated by Gamma Cells (<sup>60</sup>Co). An experiment were divided into four groups. The first group (V1) was inoculated by irradiated *B. abortus* with the dose of 0.25 kGy. The second group (V2) was inoculated by irradiated *B. abortus* with the dose of 0.50 kGy. The third group (V3) was inoculated by irradiated *B. abortus* with the dose of 0.75 kGy. The fourth group (V4) was inoculated by Brucella vaccine S.19. The observation respectively were included purely test, safety test, RBT serological test, diffusion test, development the colony of *B. abortus* in lien, and pathology anatomic inspection. The results obtained showed that 0.25 kGy was the expectantly dose of irradiation which couldn't only decreasing the infectivity of *B. abortus* but also has the ability to become a good immunogen for stimulating the immune response in the experiment animals.

### PENDAHULUAN

Brucellosis merupakan salah satu penyakit ternak yang telah lama dikenal di Indonesia sejak tahun 1925 (1, 2). BUDIHARTA (3) menyatakan bahwa beucellosis di Indonesia terjadi pada tahun sekitar menjelang Perang Dunia kedua. Brucellosis disebabkan oleh bakteri *B. abortus*, dan dikenal juga sebagai penyakit keluron menular, atau merupakan penyakit reproduksi yang dapat menyerang sapi, domba kambing dan babi (2). Disamping itu juga brucellosis bersifat zoonosis, karena dapat menular dan berbahaya bagi kesehatan manusia. BUDIHARTA (3) melaporkan bahwa prevalensi pekerja di Rumah Potong Hewan (RPH) bisa mencapai 62.5 %, dan kenyatannya para pekerja di RPH tanpa membedakan tugasnya, rawan terinfeksi brucellosis. Oleh karena itu penyakit tersebut

mempunyai arti penting baik bidang ekonomi maupun kesehatan masyarakat. Prevalensi brucellosis di Indonesia menurut SUPAR dkk (1) dari SCOTT dkk berkisar antara 4 - 30%. Sedang menurut SUDIBYO (2) brucellosis pada sapi perah bervariasi prevalensinya, seperti misalnya di DKI Jakarta 11,8%; Jawa Barat 0,29 %; Jawa Tengah 2,7%; DI Aceh 0,17%; Sulawesi Selatan 14,3%; dan Nusa Tenggara Timur 6,6%. Prevalensi brucellosis persentasenya tiap daerah dari waktu ke waktu berubah sesuai kondisi daerah setempat. Seperti yang dikemukakan oleh BUDIHARTA (3) bahwa prevalensi brucellosis pada tahun 1972, untuk daerah Bekasi 75%, Bogor 49%, dan Jakarta 46%.

Kerugian yang ditimbulkan akibat penyakit brucellosis ialah menurunnya jumlah kelahiran karena terjadinya keguguran,

penurunan produksi susu, tenaga kerja, dan nilai jual serta menyebabkan terjadinya infertilitas hewan bersangkutan (4). Persentase keguguran umumnya tergantung pada umur kebuntingan. Kebuntingan umur 5 bulan kejadiannya sekitar 64,7%, umur kebuntingan 3 - 4 bulan 21,2% dan umur kebuntingan dibawah 3 bulan hanya sekitar 14%. Penderita yang tidak menunjukkan gejala klinis ternyata sangat potensial sebagai sumber penularan bagi hewan lainnya (3). Sedang sapi dara dan yang tidak bunting umumnya resisten terhadap brucellosis, Kuman *B. abortus* bersifat intra sel dalam arti berada di dalam sel pertahanan tubuh (makrofag dan limfosit) dan umumnya bersarang di dalam kelenjar getah bening (limfoglandulae). Dalam keadaan demikian kadangkala sangat sulit untuk dilakukan pengobatannya (1).

Pengendalian dan pemberantasan brucellosis pada ternak umumnya cukup sulit karena adanya beberapa faktor penentu, seperti misalnya masalah sosial ekonomi akan berpengaruh pada penularan dan penyebar luasan penyakit. Pengendalian yang termudah dan tercepat ialah dengan cara *test and slaughter*, yaitu apabila pada pemeriksaan serologik dan bakteriologik sapi menunjukkan reaksi positif sebaiknya segera dimusnahkan agar tidak menjadi sumber penularan lebih lanjut (5). Hanya saja pengendalian dengan cara *test and slaughter* nampaknya akan mengalami kesulitan karena diperlukan dana kompensasi pengganti kerugian yang relatif cukup besar. Terutama sekali apabila reaksi positifnya cukup besar, sehingga perlu dicari alternatif lain. Sedang pengendalian yang lain yang dapat dilakukan ialah dengan cara vaksinasi massal, khususnya untuk daerah yang mempunyai reaktor positif yang cukup tinggi. Cara ini juga perlu dicermati betul, bahwa vaksinasi massal yang harus dilaksanakan secara menyeluruh, penggunaan vaksin yang tepat serta sistem manajemen yang baik agar supaya penyakit dapat secara tuntas teratasi. Sampai saat ini telah ada jenis vaksin brucella strain 19, disamping jenis yang lainnya. Namun demikian sampai saat ini Indonesia belum terbebas dari penyakit brucellosis yang sangat berbahaya dan merugikan.

Pemanfaatan teknik nuklir di bidang peternakan telah lama digunakan dan terbukti dapat berperan serta untuk peningkatan produksi ternak. Seperti misalnya pemanfaatan perunut radioisotop untuk penentuan formula suplemen pakan ternak, aplikasi teknik iradiasi untuk menurunkan tingkat virulensi agen penyakit, atau upaya peningkatan efisiensi reproduksi ternak dengan pemanfaatan teknik RIA (*radioimmunoassay*) dalam penentuan keberhasilan/kegagalan inseminasi buatan (IB).

DARGIE (6) menyatakan bahwa iradiasi  $^{60}\text{Co}$  atau sinar X dapat dimanfaatkan dalam upaya pembuatan dan pengembangan bahan vaksin yang cukup aman dan efektif. Demikian juga YOUNG (7) menyatakan bahwa iradiasi dapat mengubah larva infeksius atau patogen menjadi non patogen yang kemudian mampu menstimulasi sistem kekebalan di dalam tubuh. Teknik iradiasi juga telah digunakan oleh SMITH (8) untuk melemahkan agen penyakit tanpa menghilangkan daya imunogeniknya dan telah berhasil dapat memberikan daya kekebalan pada domba dan sapi yang dipakai untuk percobaan.

Percobaan ini dilakukan untuk mempelajari dan menguji pengaruh iradiasi terhadap imunogenitas *B. abortus*, dalam upaya mendapatkan dosis iradiasi yang optimal yang dapat digunakan untuk mendapatkan bahan vaksin dengan teknik nuklir. Diharapkan hasil yang diperoleh dapat memberikan tambahan informasi bagi data yang sudah ada sebelumnya.

## BAHAN DAN METODE

Hewan percobaan yang digunakan adalah marmot yang berbobot badan 350 - 400 gram. Semua hewan dikandangkan dan dikelompokkan sesuai perlakuan yang diberikan serta diberi makan secukupnya. *B. abortus* strain 19 diperoleh dari PUSVETMA Surabaya. *B. abortus* diiradiasi dengan dosis 0,25 ; 0,50 ; dan 0,75 kGy menggunakan sinar gamma ( $^{60}\text{Co}$ ). Perlakuan percobaan ada empat kelompok. Kelompok I yakni kelompok yang diinokulai dengan *B. abortus* iradiasi dosis 0,25 kGy. Kelompok II yakni kelompok yang diinokulasi dengan *B. abortus* iradiasi dosis 0,50 kGy. Kelompok III yakni kelompok yang diinokulasi dengan *B. abortus* iradiasi dosis 0,75 kGy. Kelompok IV yakni kelompok yang diinokulasi dengan vaksin brucella strain 19 tanpa iradiasi (komersial) produksi PUSVETMA Surabaya.

Pengamatan yang dilakukan meliputi uji kemurnian dan keamanan bahan. Uji serologi dengan cara RBT (Rose Bengal Test) dilakukan pada hari ke 7, 14, 21 dan 28 pasca inokulasi. Pemeriksaan patologi anatomi organ limpa, juga dilakukan pengamatan perkembangan dan pertumbuhan koloni kuman yang diambil dari sampel limpanya.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi dengan melakukan pengujian kemurnian dan keamanan bahan vaksin yang dicobakan disajikan dalam Tabel 1. Hasil pengujian menunjukkan bahwa bahan yang

digunakan dalam uji coba ternyata murni dari *B. abortus* dan tidak terkontaminasi oleh bahan atau kuman lain yang bisa mengganggu jalannya uji coba yang dilakukan. Demikian juga pada uji keamanan bahan vaksin yang dicobakan terbukti aman tidak menimbulkan efek samping yang tidak diharapkan.

Masih dalam Tabel 1, bahwa pada pertumbuhan dan perkembangan koloni dari organ limpa yang ternyata bahwa untuk kelompok V2 dan V3 tidak ditemukan pertumbuhan *B. abortus*. Sedang untuk kelompok V1 ditemukan pertumbuhan koloni *B. abortus* sebanyak 10 cfu, dan untuk kelompok V4 ditemukan pertumbuhan koloni *B. abortus* sebanyak 16 cfu. Sebagaimana telah diketahui bahwa vaksin brucellosis strain 19 produksi PUSVETMA Surabaya yang diberikan merupakan vaksin yang hidup. Hal ini menunjukkan bahwa bahan tersebut mengandung agen penyakit/kuman yang masih hidup tetapi sudah tidak infeksi lagi. Bahkan sebaliknya bersifat imunogen yang mempunyai kemampuan menstimulasi sistem kekebalan yang dapat menolak atau melawan terhadap infeksi/agen penyakit homolog yang masuk kemudian. Titer antibodi yang terbentuk merupakan hasil stimulasi vaksin yang diberikan akan menetralkan antigen yang masuk ke dalam tubuh. Pada kelompok I (V1) ditemukan juga pertumbuhan kuman/koloni sebanyak 10 cfu. Keadaan ini menunjukkan bahwa dosis iradiasi 0,25 kGy merupakan dosis yang tidak mematikan secara penuh terhadap kuman, tetapi hanya menurunkan infektivitas kuman yang selanjutnya merupakan imunogen yang mempunyai kemampuan menstimulasi tanggapan kebal di dalam tubuh. Seperti yang pernah dinyatakan oleh YOUNG (7) bahwa iradiasi dapat mengubah agen penyakit patogen menjadi non patogen atau bahkan membentuk imunogen yang baik yang mampu menstimulasi tanggapan kebal sehingga tahan terhadap infeksi / tantangan yang diberikan.

Pada pemeriksaan patologi anatomi limpa ternyata tidak ditemukan adanya perubahan yang berarti. Semua kelompok kondisi limpanya masih dalam keadaan normalnya. Berbeda dengan kelompok V1 dan V4, maka kelompok V2 dan V3 tidak ditemukan adanya perkembangan dan pertumbuhan koloni/kuman pada limpanya. Hal ini menunjukkan bahwa dosis iradiasi 0,50 dan 0,75 kGy nampaknya bersifat membunuh *B. abortus*. Dengan demikian kedua kelompok (V2 dan V3) masih mempunyai kemampuan menstimulasi tanggapan kebal marmot yang dicobakan, walaupun masih terlihat lemah atau lebih rendah bila dibandingkan dengan titer antibodi yang terbentuk sebagai hasil vaksinasi

formula V4 dan juga formula V1. Seperti dimaklumi bersama bahwa vaksin hidup (*live vaccine*) efeknya lebih baik atau kuat bila dibandingkan dengan vaksin mati (*killed vaccine*).

Vaksin S.19 sebagai "a live attenuated vaccine" telah terbukti dapat memberikan proteksi pada sapi terhadap tantangan yang diberikan pada percobaan lapang. Walaupun kadang kala ditemukan juga adanya antibodi yang persisten pada sapi dewasa setelah mendapatkan vaksin. Hal demikian yang nampaknya dapat menyulitkan interpretasi dalam uji serologis (9). Dan sebaliknya hal tersebut juga jarang terjadi pada sapi umur muda dibawah 6 bulan. Vaksin brucellosis S.19 produksi PUSVETMA Surabaya (formula V4) merupakan vaksin hidup yang digunakan sebagai kontrol/pembanding dalam percobaan yang dilakukan dengan menggunakan marmot sebagai hewan percobaan. Hasil analisis formula yang lain (V1, V2 dan V3) akan mengacu kepada formula V4 tersebut, untuk membuat interpretasi lebih lanjut dalam percobaan ini.

Tabel 1. Hasil pengujian bahan

Formula	Kemurnian	Keamanan	Koloni (limpa)
V1	Murni <i>B. abortus</i>	Baik	10 cfu
V2	Murni <i>B. abortus</i>	Baik	Negatif
V3	Murni <i>B. abortus</i>	Baik	Negatif
V4	Murni <i>B. abortus</i>	Baik	16 cfu

Keterangan : V1 = *B. abortus* iradiasi 0,25 kGy ;  
 V2 = *B. abortus* iradiasi 0,50 kGy  
 V3 = *B. abortus* iradiasi 0,75 kGy ;  
 V4 = Vaksin *B. abortus* S19

Tabel 2, 3, 4 dan 5 menunjukkan hasil uji serologis dengan cara RBT. Terlihat bahwa pada penggunaan formula V4, vaksin hidup yang sudah mantap (*establish*), memberikan hasil dengan titer antibodi yang sangat tinggi (positif 4) baik pada minggu pertama maupun minggu ke empat pasca vaksinasi atau sampai akhir percobaan dilakukan. Sedang pada formula yang lain (V1, V2 dan V3) hasilnya bervariasi dari minggu pertama sampai dengan minggu akhir percobaan. Namun demikian untuk formula V1 titer antibodi yang terbentuk mulai minggu kedua pasca vaksinasi menunjukkan hasil yang lebih baik (positif 3) yang akhirnya pada minggu ke empat titer antibodinya menyamai hasil formula V4 (positif 4). Sedang untuk formula V2 dan V3 hanya dapat mencapai positif 3, artinya lebih rendah hasilnya bila dibandingkan dengan formula V1. Keadaan demikian membuktikan kembali atau memperkuat hasil pemeriksaan mengenai masih ditemukannya pertumbuhan

kuman/koloni pada limpanya. Oleh karena itu dosis 0,25 kGy bersifat menurunkan infektivitas dan patogenitas *B. abortus*, serta membentuk imunogen yang mempunyai kemampuan menstimulasi tanggap kebal yang ditandai dengan tingginya titer antibodi. Dalam percobaan ini dosis 0,25 kGy merupakan dosis harapan yang kemungkinan bisa digunakan untuk pembuatan dan penyediaan bahan vaksin khusus untuk brucellosis.

Tabel 2. Hasil uji RBT hari ke 7

Formula	Sampel				
	1	2	3	4	5
V1	+	+	++	+	++
V2	++	+	+	+	++
V3	++	+	+	++	+
V4	++++	++++	++++	++++	++++

Keterangan : V1 = *B. abortus* iradiasi 0,25 kGy ;  
 V2 = *B. abortus* iradiasi 0,50 kGy  
 V3 = *B. abortus* iradiasi 0,75 kGy ;  
 V4 = Vaksin *B. abortus* S19

Tabel 3. Hasil uji RBT hari ke 14

Formula	Sampel				
	1	2	3	4	5
V1	+++	+++	+++	+++	+++
V2	++	++	++	++	++
V3	++	++	++	+	++
V4	++++	++++	++++	++++	++++

Keterangan : V1 = *B. abortus* iradiasi 0,25 kGy ;  
 V2 = *B. abortus* iradiasi 0,50 kGy  
 V3 = *B. abortus* iradiasi 0,75 kGy ;  
 V4 = Vaksin *B. abortus* S19

SMITH (8) dalam percobaannya menyatakan bahwa teknik iradiasi dapat digunakan untuk melemahkan agen penyakit tanpa menghilangkan sifat antigenik atau imunogenitasnya sehingga mempunyai kemampuan menstimulasi sistem kekebalan dalam tubuh. Rendahnya titer antibodi yang terbentuk dalam tubuh dapat dikaitkan bahwa formula V2 dan V3 merupakan bahan atau organisme yang telah mati disebabkan oleh paparan radiasi sehingga reaksinya lebih rendah. Sebaliknya titer antibodi yang cukup tinggi sebagai reaksi tanggap kebal dari formula V1 yang diberikan menunjukkan bahwa V1 merupakan bahan hidup yang imunogenik. Formula V4 sebagai "live vaccine" yang sudah "establish" jelas memberikan reaksi yang sangat baik, yakni ditandai dengan titer antibodi yang sangat tinggi (positif 4). Seperti telah dinyatakan oleh SUTHERLAND (9) bahwa antibodi yang

terbentuk hasil vaksinasi akan lebih reaktif di dalam uji serologi. Hal tersebut telah dibuktikan dalam uji SAT (*Serum Agglutination Test*) dalam mengukur titer antibodi sapi setelah mendapatkan vaksinasi dengan vaksin brucella strain 19.

Tabel 4. Hasil uji RBT hari ke 21

Formula	Sampel				
	1	2	3	4	5
V1	+++	+++	+++	+++	+++
V2	+++	+++	+++	+++	+++
V3	++	++	++	+	++
V4	++++	++++	++++	++++	++++

Keterangan : V1 = *B. abortus* iradiasi 0,25 kGy ;  
 V2 = *B. abortus* iradiasi 0,50 kGy  
 V3 = *B. abortus* iradiasi 0,75 kGy ;  
 V4 = Vaksin *B. abortus* S19

Tabel 5. Hasil uji RBT hari ke 28

Formula	Sampel				
	1	2	3	4	5
V1	++++	++++	++++	++++	++++
V2	+++	+++	+++	+++	+++
V3	+++	+++	+++	+++	+++
V4	++++	++++	++++	++++	++++

Keterangan : V1 = *B. abortus* iradiasi 0,25 kGy ;  
 V2 = *B. abortus* iradiasi 0,50 kGy  
 V3 = *B. abortus* iradiasi 0,75 kGy ;  
 V4 = Vaksin *B. abortus* S19

Menurut BUDIHARTA (3) uji serologi yang ideal dapat digunakan untuk menentukan suatu diagnosis secara dini, mengidentifikasi infeksi yang kronis dan juga mampu membedakan antara antibodi yang timbul karena vaksinasi dengan antibodi yang timbul akibat infeksi alamiah. RBT banyak digunakan untuk mendiagnosis brucellosis secara serologis karena prosedurnya sederhana, cepat, ekonomis dan hanya sedikit memberikan hasil negatif palsu. Selanjutnya dinyatakan juga oleh BUDIHARTA dari ACHA dan SZYFRES (3) bahwa di daerah dengan kejadian infeksi brucellosis yang rendah atau di daerah yang hewannya (sapi) telah memperoleh vaksinasi terhadap brucellosis, maka RBT bisa memberikan hasil positif yang palsu dalam jumlah yang relatif besar dan tidak spesifik apabila digunakan sebagai satu-satunya uji untuk mendiagnosis brucellosis. Oleh karena perlu uji serologi pendamping seperti uji fiksasi komplemen (*Complement Fixation Test / CFT*). Uji CFT juga merupakan uji yang sensitif dan teliti walaupun tidak bisa digunakan untuk membedakan antibodi yang timbul karena

vaksinasi dengan antibodi yang timbul akibat infeksi alamiah.

Tabel 6 menunjukkan bahwa formula V1 memberikan hasil uji diffusi yang mendekati hasil formula V4. Sedang untuk formula V2 dan V3 terlihat hasilnya tidak stabil dan lebih rendah bila dibandingkan dengan formula V1 dan V4. Keadaan ini menguatkan uraian diatas bahwa dosis iradiasi 0,25 kGy merupakan dosis harapan yang mengubah kuman yang infeksi menjadi imunogenik yang mampu menstimulasi tanggap kebal yang cukup baik dengan ditandai terbentuknya titer antibodi yang cukup tinggi dalam uji secara serologis. BUDIHARTA (3) menyatakan bahwa realibilitas dari suatu uji mencakup reproduibilitas uji yang terkait, yaitu kemantapan mendapatkan hasil yang sama terhadap sampel yang sama pada saat dan tempat yang berbeda. Sebaliknya perbedaan dari hasil uji dapat dihasilkan oleh dua teknisi laboratorium yang berbeda walaupun pengujian dilakukan pada sampel serum yang sama. Menurut SUDIBYO dkk. (10) menyatakan bahwa respon serologi atau antibodi yang tinggi bukan merupakan jaminan bahwa vaksin memberikan proteksi yang tinggi terhadap infeksi *Brucella sp.* virulen. Hal ini ada kaitannya dengan sifat infeksi yang bersifat intraseluler. Oleh karena itu stimulasi terbentuknya tanggap kebal seluler diperlukan antigen berupa kuman hidup yang mampu berkembang di dalam tubuh hewan inang. Antibodi akan berkembang lebih cepat apabila diberikan stimulan berupa vaksin mati dalam ajuvan sebagai buster. Disini perlunya penggunaan kombinasi vaksin hidup dan mati untuk mendapatkan tingkat kekebalan yang tinggi.

Tabel 6. Hasil uji diffusi

Formula	Minggu				
	1	2	3	4	5
V1	+	++	++	++	+
V2	+	++	+	+	+
V3	+	++	+	+	+
V4	++	++	++	++	++

Keterangan : V1 = *B. abortus* iradiasi 0,25 kGy ;  
 V2 = *B. abortus* iradiasi 0,50 kGy  
 V3 = *B. abortus* iradiasi 0,75 kGy ;  
 V4 = Vaksin *B. abortus* S19

Dalam uji coba ini bahan atau kuman yang telah diiradiasi, dan dibandingkan dengan vaksin komersial produk Pusvetma Surabaya. Hanya saja dalam percobaan ini tidak dilakukan ujiantang. Sebagaimana disebutkan dimuka bahwa tujuan percobaan ini adalah untuk mengetahui dan mempelajari pengaruh iradiasi terhadap

imunogenitas *B. abortus* dan khususnya untuk orientasi atau mencari dosis iradiasi yang tepat. Dari hasil pengamatan nampaknya dosis 0,25 kGy merupakan dosis iradiasi yang bisa memberikan harapan dalam membentuk imunogen yang cukup potensial.

**KESIMPULAN**

Dari hasil pengamatan yang diperoleh selama percobaan berlangsung, maka dapat disimpulkan bahwa *B. abortus* iradiasi mampu menstimulasi tanggap kebal pada hewan percobaan (marmot). Dosis 0,25 kGy merupakan dosis iradiasi harapan yang mampu mengubah kuman yang bersifat infeksi menjadi kuman yang bersifat imunogenik. Seberapa jauh tingkat dan durasi tanggap kebal yang terjadi perlu diteliti lebih lanjut mengingat dalam percobaan ini belum menggunakan ujiantang, dan diharapkan dalam langkah berikutnya bisa memberikan tambahan informasi khususnya dalam upaya mendapatkan bahan vaksin yang cukup potensial, efektif dan aman.

**UCAPAN TERIMA KASIH**

Penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada kerabat kerja yang tidak kami sebutkan namanya satu persatu, yang telah memberikan bantuan sehingga percobaan ini berjalan dengan lancar dan selesai sesuai dengan rencana.

**DAFTAR PUSTAKA**

1. SUPAR., MUKMIN, Y., KURNIASIH, N., dan DJAENURI., "Pengendalian penyakit brucellosis babi dengan eliminasi reaktor positif secara ELISA dan selektif. Suatu studi lapang pada peternakan intensif di Tangerang Jabar", Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner, Risalah Pertemuan Ilmiah, 1998 Balitbangnak Bogor (1998) 935.
2. SUDIBYO, A., Studi Epidemiologi Brucellosis dan Dampaknya Terhadap Reproduksi Sapi Perah di DKI Jakarta, J. Ilmu Ternak dan Veterriner I. 1 (1995) 31.
3. BUDIHARTA, S., Brucellosis Pada Pekerja Rumah Potong Hewan Kotamadya Yogyakarta, Hemera Zoa, 75. 2. (1992) 42.
4. ULFAH, T., dan HARYONO. "Studi kejadian brucellosis di Maluku", Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner,

(Risalah Pertemuan Ilmiah, 1998) Balitbangnak Bogor (1998) 958.

5. HAMIDJOJO, A.N. Epidemiologi brucellosis pada ternak sapi di Sulawesi Utara, Penyakit Hewan, XVI. 28 (1984) 246.

6. DARGIE, J.D., Helping Small Farmer to Improve their Livestock. Application of Nuclear Techniques, IAEA Yearbook. (1989) 31.

7. YOUNG, B.A. Nuclear techniques in animal agriculture, IAEA Bul. 23. 2 (1981) 47.

8. SMITH, N.C. " Concepts and strategies for anti-parasite immunoprophylaxis and therapy", Int. Journal for Parasite 22 (1992) 1047.

9. SUTHERLAND, Brucellosis, Bahan kuliah pelatihan, Unpublished (1989)

10. SUDIBYO, A., PRIADI, A., DARODJAT, M., dan SUPAR. Pengembangan vaksin oral brucellosis : Tingkat proteksi vaksin oral *Brucella suis* galur 2 terhadap tantangan *Brucella suis* isolat lapang pada marmot, (Risalah Pertemuan Ilmiah, 1998) Balitvet, Balitbangnak. Bogor (1998) 51.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan rasa terima kasih kepada keluarga yang tidak pernah putus prihatin serta teman-teman yang telah memberikan bantuan sehingga penelitian ini berjalan dengan lancar dan selesai sesuai dengan rencana.

DAFTAR PUSTAKA

1. SUTAR, ANURIM, Y., HURNIASIH, N., dan DIANWATI. Pengembangan vaksin oral brucellosis pada ternak sapi di Sulawesi Utara. Balitvet, Balitbangnak Bogor (1998) 958.

2. SUDIBYO, A., Priadi, A., Darodjat, M., dan Supar. Pengembangan vaksin oral brucellosis : Tingkat proteksi vaksin oral *Brucella suis* galur 2 terhadap tantangan *Brucella suis* isolat lapang pada marmot, (Risalah Pertemuan Ilmiah, 1998) Balitvet, Balitbangnak. Bogor (1998) 51.

3. BUDHARTA, S. Riset Sifat Sifat Penyakit Rumah Pokok Hewan Keternakan Yogyakarta. Jember, Vol. 2 (1988) 42.

4. ULLAH, T. dan HARYONO. Sifat Sifat Penyakit Brucellosis dan Malaria. Jember, Jember Veterinary dan Veterinary

Table 6. Hasil uji titer

Galur	Waktu (hari)	Titer
Galur 1	0	10 <sup>0</sup>
	14	10 <sup>0</sup>
Galur 2	0	10 <sup>0</sup>
	14	10 <sup>0</sup>
Galur 3	0	10 <sup>0</sup>
	14	10 <sup>0</sup>
Galur 4	0	10 <sup>0</sup>
	14	10 <sup>0</sup>
Galur 5	0	10 <sup>0</sup>
	14	10 <sup>0</sup>
Galur 6	0	10 <sup>0</sup>
	14	10 <sup>0</sup>

Waktu uji titer: 0 hari, 14 hari, 28 hari, 42 hari, 56 hari, 70 hari, 84 hari, 98 hari, 112 hari, 126 hari, 140 hari, 154 hari, 168 hari, 182 hari, 196 hari, 210 hari, 224 hari, 238 hari, 252 hari, 266 hari, 280 hari, 294 hari, 308 hari, 322 hari, 336 hari, 350 hari, 364 hari, 378 hari, 392 hari, 406 hari, 420 hari, 434 hari, 448 hari, 462 hari, 476 hari, 490 hari, 504 hari, 518 hari, 532 hari, 546 hari, 560 hari, 574 hari, 588 hari, 602 hari, 616 hari, 630 hari, 644 hari, 658 hari, 672 hari, 686 hari, 700 hari, 714 hari, 728 hari, 742 hari, 756 hari, 770 hari, 784 hari, 798 hari, 812 hari, 826 hari, 840 hari, 854 hari, 868 hari, 882 hari, 896 hari, 910 hari, 924 hari, 938 hari, 952 hari, 966 hari, 980 hari, 994 hari, 1008 hari, 1022 hari, 1036 hari, 1050 hari, 1064 hari, 1078 hari, 1092 hari, 1106 hari, 1120 hari, 1134 hari, 1148 hari, 1162 hari, 1176 hari, 1190 hari, 1204 hari, 1218 hari, 1232 hari, 1246 hari, 1260 hari, 1274 hari, 1288 hari, 1302 hari, 1316 hari, 1330 hari, 1344 hari, 1358 hari, 1372 hari, 1386 hari, 1400 hari, 1414 hari, 1428 hari, 1442 hari, 1456 hari, 1470 hari, 1484 hari, 1498 hari, 1512 hari, 1526 hari, 1540 hari, 1554 hari, 1568 hari, 1582 hari, 1596 hari, 1610 hari, 1624 hari, 1638 hari, 1652 hari, 1666 hari, 1680 hari, 1694 hari, 1708 hari, 1722 hari, 1736 hari, 1750 hari, 1764 hari, 1778 hari, 1792 hari, 1806 hari, 1820 hari, 1834 hari, 1848 hari, 1862 hari, 1876 hari, 1890 hari, 1904 hari, 1918 hari, 1932 hari, 1946 hari, 1960 hari, 1974 hari, 1988 hari, 2002 hari, 2016 hari, 2030 hari, 2044 hari, 2058 hari, 2072 hari, 2086 hari, 2100 hari, 2114 hari, 2128 hari, 2142 hari, 2156 hari, 2170 hari, 2184 hari, 2198 hari, 2212 hari, 2226 hari, 2240 hari, 2254 hari, 2268 hari, 2282 hari, 2296 hari, 2310 hari, 2324 hari, 2338 hari, 2352 hari, 2366 hari, 2380 hari, 2394 hari, 2408 hari, 2422 hari, 2436 hari, 2450 hari, 2464 hari, 2478 hari, 2492 hari, 2506 hari, 2520 hari, 2534 hari, 2548 hari, 2562 hari, 2576 hari, 2590 hari, 2604 hari, 2618 hari, 2632 hari, 2646 hari, 2660 hari, 2674 hari, 2688 hari, 2702 hari, 2716 hari, 2730 hari, 2744 hari, 2758 hari, 2772 hari, 2786 hari, 2800 hari, 2814 hari, 2828 hari, 2842 hari, 2856 hari, 2870 hari, 2884 hari, 2898 hari, 2912 hari, 2926 hari, 2940 hari, 2954 hari, 2968 hari, 2982 hari, 2996 hari, 3010 hari, 3024 hari, 3038 hari, 3052 hari, 3066 hari, 3080 hari, 3094 hari, 3108 hari, 3122 hari, 3136 hari, 3150 hari, 3164 hari, 3178 hari, 3192 hari, 3206 hari, 3220 hari, 3234 hari, 3248 hari, 3262 hari, 3276 hari, 3290 hari, 3304 hari, 3318 hari, 3332 hari, 3346 hari, 3360 hari, 3374 hari, 3388 hari, 3402 hari, 3416 hari, 3430 hari, 3444 hari, 3458 hari, 3472 hari, 3486 hari, 3500 hari, 3514 hari, 3528 hari, 3542 hari, 3556 hari, 3570 hari, 3584 hari, 3598 hari, 3612 hari, 3626 hari, 3640 hari, 3654 hari, 3668 hari, 3682 hari, 3696 hari, 3710 hari, 3724 hari, 3738 hari, 3752 hari, 3766 hari, 3780 hari, 3794 hari, 3808 hari, 3822 hari, 3836 hari, 3850 hari, 3864 hari, 3878 hari, 3892 hari, 3906 hari, 3920 hari, 3934 hari, 3948 hari, 3962 hari, 3976 hari, 3990 hari, 4004 hari, 4018 hari, 4032 hari, 4046 hari, 4060 hari, 4074 hari, 4088 hari, 4102 hari, 4116 hari, 4130 hari, 4144 hari, 4158 hari, 4172 hari, 4186 hari, 4200 hari, 4214 hari, 4228 hari, 4242 hari, 4256 hari, 4270 hari, 4284 hari, 4298 hari, 4312 hari, 4326 hari, 4340 hari, 4354 hari, 4368 hari, 4382 hari, 4396 hari, 4410 hari, 4424 hari, 4438 hari, 4452 hari, 4466 hari, 4480 hari, 4494 hari, 4508 hari, 4522 hari, 4536 hari, 4550 hari, 4564 hari, 4578 hari, 4592 hari, 4606 hari, 4620 hari, 4634 hari, 4648 hari, 4662 hari, 4676 hari, 4690 hari, 4704 hari, 4718 hari, 4732 hari, 4746 hari, 4760 hari, 4774 hari, 4788 hari, 4802 hari, 4816 hari, 4830 hari, 4844 hari, 4858 hari, 4872 hari, 4886 hari, 4900 hari, 4914 hari, 4928 hari, 4942 hari, 4956 hari, 4970 hari, 4984 hari, 4998 hari, 5012 hari, 5026 hari, 5040 hari, 5054 hari, 5068 hari, 5082 hari, 5096 hari, 5110 hari, 5124 hari, 5138 hari, 5152 hari, 5166 hari, 5180 hari, 5194 hari, 5208 hari, 5222 hari, 5236 hari, 5250 hari, 5264 hari, 5278 hari, 5292 hari, 5306 hari, 5320 hari, 5334 hari, 5348 hari, 5362 hari, 5376 hari, 5390 hari, 5404 hari, 5418 hari, 5432 hari, 5446 hari, 5460 hari, 5474 hari, 5488 hari, 5502 hari, 5516 hari, 5530 hari, 5544 hari, 5558 hari, 5572 hari, 5586 hari, 5600 hari, 5614 hari, 5628 hari, 5642 hari, 5656 hari, 5670 hari, 5684 hari, 5698 hari, 5712 hari, 5726 hari, 5740 hari, 5754 hari, 5768 hari, 5782 hari, 5796 hari, 5810 hari, 5824 hari, 5838 hari, 5852 hari, 5866 hari, 5880 hari, 5894 hari, 5908 hari, 5922 hari, 5936 hari, 5950 hari, 5964 hari, 5978 hari, 5992 hari, 6006 hari, 6020 hari, 6034 hari, 6048 hari, 6062 hari, 6076 hari, 6090 hari, 6104 hari, 6118 hari, 6132 hari, 6146 hari, 6160 hari, 6174 hari, 6188 hari, 6202 hari, 6216 hari, 6230 hari, 6244 hari, 6258 hari, 6272 hari, 6286 hari, 6300 hari, 6314 hari, 6328 hari, 6342 hari, 6356 hari, 6370 hari, 6384 hari, 6398 hari, 6412 hari, 6426 hari, 6440 hari, 6454 hari, 6468 hari, 6482 hari, 6496 hari, 6510 hari, 6524 hari, 6538 hari, 6552 hari, 6566 hari, 6580 hari, 6594 hari, 6608 hari, 6622 hari, 6636 hari, 6650 hari, 6664 hari, 6678 hari, 6692 hari, 6706 hari, 6720 hari, 6734 hari, 6748 hari, 6762 hari, 6776 hari, 6790 hari, 6804 hari, 6818 hari, 6832 hari, 6846 hari, 6860 hari, 6874 hari, 6888 hari, 6902 hari, 6916 hari, 6930 hari, 6944 hari, 6958 hari, 6972 hari, 6986 hari, 7000 hari, 7014 hari, 7028 hari, 7042 hari, 7056 hari, 7070 hari, 7084 hari, 7098 hari, 7112 hari, 7126 hari, 7140 hari, 7154 hari, 7168 hari, 7182 hari, 7196 hari, 7210 hari, 7224 hari, 7238 hari, 7252 hari, 7266 hari, 7280 hari, 7294 hari, 7308 hari, 7322 hari, 7336 hari, 7350 hari, 7364 hari, 7378 hari, 7392 hari, 7406 hari, 7420 hari, 7434 hari, 7448 hari, 7462 hari, 7476 hari, 7490 hari, 7504 hari, 7518 hari, 7532 hari, 7546 hari, 7560 hari, 7574 hari, 7588 hari, 7602 hari, 7616 hari, 7630 hari, 7644 hari, 7658 hari, 7672 hari, 7686 hari, 7700 hari, 7714 hari, 7728 hari, 7742 hari, 7756 hari, 7770 hari, 7784 hari, 7798 hari, 7812 hari, 7826 hari, 7840 hari, 7854 hari, 7868 hari, 7882 hari, 7896 hari, 7910 hari, 7924 hari, 7938 hari, 7952 hari, 7966 hari, 7980 hari, 7994 hari, 8008 hari, 8022 hari, 8036 hari, 8050 hari, 8064 hari, 8078 hari, 8092 hari, 8106 hari, 8120 hari, 8134 hari, 8148 hari, 8162 hari, 8176 hari, 8190 hari, 8204 hari, 8218 hari, 8232 hari, 8246 hari, 8260 hari, 8274 hari, 8288 hari, 8302 hari, 8316 hari, 8330 hari, 8344 hari, 8358 hari, 8372 hari, 8386 hari, 8400 hari, 8414 hari, 8428 hari, 8442 hari, 8456 hari, 8470 hari, 8484 hari, 8498 hari, 8512 hari, 8526 hari, 8540 hari, 8554 hari, 8568 hari, 8582 hari, 8596 hari, 8610 hari, 8624 hari, 8638 hari, 8652 hari, 8666 hari, 8680 hari, 8694 hari, 8708 hari, 8722 hari, 8736 hari, 8750 hari, 8764 hari, 8778 hari, 8792 hari, 8806 hari, 8820 hari, 8834 hari, 8848 hari, 8862 hari, 8876 hari, 8890 hari, 8904 hari, 8918 hari, 8932 hari, 8946 hari, 8960 hari, 8974 hari, 8988 hari, 9002 hari, 9016 hari, 9030 hari, 9044 hari, 9058 hari, 9072 hari, 9086 hari, 9100 hari, 9114 hari, 9128 hari, 9142 hari, 9156 hari, 9170 hari, 9184 hari, 9198 hari, 9212 hari, 9226 hari, 9240 hari, 9254 hari, 9268 hari, 9282 hari, 9296 hari, 9310 hari, 9324 hari, 9338 hari, 9352 hari, 9366 hari, 9380 hari, 9394 hari, 9408 hari, 9422 hari, 9436 hari, 9450 hari, 9464 hari, 9478 hari, 9492 hari, 9506 hari, 9520 hari, 9534 hari, 9548 hari, 9562 hari, 9576 hari, 9590 hari, 9604 hari, 9618 hari, 9632 hari, 9646 hari, 9660 hari, 9674 hari, 9688 hari, 9702 hari, 9716 hari, 9730 hari, 9744 hari, 9758 hari, 9772 hari, 9786 hari, 9800 hari, 9814 hari, 9828 hari, 9842 hari, 9856 hari, 9870 hari, 9884 hari, 9898 hari, 9912 hari, 9926 hari, 9940 hari, 9954 hari, 9968 hari, 9982 hari, 9996 hari, 10010 hari, 10024 hari, 10038 hari, 10052 hari, 10066 hari, 10080 hari, 10094 hari, 10108 hari, 10122 hari, 10136 hari, 10150 hari, 10164 hari, 10178 hari, 10192 hari, 10206 hari, 10220 hari, 10234 hari, 10248 hari, 10262 hari, 10276 hari, 10290 hari, 10304 hari, 10318 hari, 10332 hari, 10346 hari, 10360 hari, 10374 hari, 10388 hari, 10402 hari, 10416 hari, 10430 hari, 10444 hari, 10458 hari, 10472 hari, 10486 hari, 10500 hari, 10514 hari, 10528 hari, 10542 hari, 10556 hari, 10570 hari, 10584 hari, 10598 hari, 10612 hari, 10626 hari, 10640 hari, 10654 hari, 10668 hari, 10682 hari, 10696 hari, 10710 hari, 10724 hari, 10738 hari, 10752 hari, 10766 hari, 10780 hari, 10794 hari, 10808 hari, 10822 hari, 10836 hari, 10850 hari, 10864 hari, 10878 hari, 10892 hari, 10906 hari, 10920 hari, 10934 hari, 10948 hari, 10962 hari, 10976 hari, 10990 hari, 11004 hari, 11018 hari, 11032 hari, 11046 hari, 11060 hari, 11074 hari, 11088 hari, 11102 hari, 11116 hari, 11130 hari, 11144 hari, 11158 hari, 11172 hari, 11186 hari, 11200 hari, 11214 hari, 11228 hari, 11242 hari, 11256 hari, 11270 hari, 11284 hari, 11298 hari, 11312 hari, 11326 hari, 11340 hari, 11354 hari, 11368 hari, 11382 hari, 11396 hari, 11410 hari, 11424 hari, 11438 hari, 11452 hari, 11466 hari, 11480 hari, 11494 hari, 11508 hari, 11522 hari, 11536 hari, 11550 hari, 11564 hari, 11578 hari, 11592 hari, 11606 hari, 11620 hari, 11634 hari, 11648 hari, 11662 hari, 11676 hari, 11690 hari, 11704 hari, 11718 hari, 11732 hari, 11746 hari, 11760 hari, 11774 hari, 11788 hari, 11802 hari, 11816 hari, 11830 hari, 11844 hari, 11858 hari, 11872 hari, 11886 hari, 11900 hari, 11914 hari, 11928 hari, 11942 hari, 11956 hari, 11970 hari, 11984 hari, 11998 hari, 12012 hari, 12026 hari, 12040 hari, 12054 hari, 12068 hari, 12082 hari, 12096 hari, 12110 hari, 12124 hari, 12138 hari, 12152 hari, 12166 hari, 12180 hari, 12194 hari, 12208 hari, 12222 hari, 12236 hari, 12250 hari, 12264 hari, 12278 hari, 12292 hari, 12306 hari, 12320 hari, 12334 hari, 12348 hari, 12362 hari, 12376 hari, 12390 hari, 12404 hari, 12418 hari, 12432 hari, 12446 hari, 12460 hari, 12474 hari, 12488 hari, 12502 hari, 12516 hari, 12530 hari, 12544 hari, 12558 hari, 12572 hari, 12586 hari, 12600 hari, 12614 hari, 12628 hari, 12642 hari, 12656 hari, 12670 hari, 12684 hari, 12698 hari, 12712 hari, 12726 hari, 12740 hari, 12754 hari, 12768 hari, 12782 hari, 12796 hari, 12810 hari, 12824 hari, 12838 hari, 12852 hari, 12866 hari, 12880 hari, 12894 hari, 12908 hari, 12922 hari, 12936 hari, 12950 hari, 12964 hari, 12978 hari, 12992 hari, 13006 hari, 13020 hari, 13034 hari, 13048 hari, 13062 hari, 13076 hari, 13090 hari, 13104 hari, 13118 hari, 13132 hari, 13146 hari, 13160 hari, 13174 hari, 13188 hari, 13202 hari, 13216 hari, 13230 hari, 13244 hari, 13258 hari, 13272 hari, 13286 hari, 13300 hari, 13314 hari, 13328 hari, 13342 hari, 13356 hari, 13370 hari, 13384 hari, 13398 hari, 13412 hari, 13426 hari, 13440 hari, 13454 hari, 13468 hari, 13482 hari, 13496 hari, 13510 hari, 13524 hari, 13538 hari, 13552 hari, 13566 hari, 13580 hari, 13594 hari, 13608 hari, 13622 hari, 13636 hari, 13650 hari, 13664 hari, 13678 hari, 13692 hari, 13706 hari, 13720 hari, 13734 hari, 13748 hari, 13762 hari, 13776 hari, 13790 hari, 13804 hari, 13818 hari, 13832 hari, 13846 hari, 13860 hari, 13874 hari, 13888 hari, 13902 hari, 13916 hari, 13930 hari, 13944 hari, 13958 hari, 13972 hari, 13986 hari, 14000 hari, 14014 hari, 14028 hari, 14042 hari, 14056 hari, 14070 hari, 14084 hari, 14098 hari, 14112 hari, 14126 hari, 14140 hari, 14154 hari, 14168 hari, 14182 hari, 14196 hari, 14210 hari, 14224 hari, 14238 hari, 14252 hari, 14266 hari, 14280 hari, 14294 hari, 14308 hari, 14322 hari, 14336 hari, 14350 hari, 14364 hari, 14378 hari, 14392 hari, 14406 hari, 14420 hari, 14434 hari, 14448 hari, 14462 hari, 14476 hari, 14490 hari, 14504 hari, 14518 hari, 14532 hari, 14546 hari, 14560 hari, 14574 hari, 14588 hari, 14602 hari, 14616 hari, 14630 hari, 14644 hari, 14658 hari, 14672 hari, 14686 hari, 14700 hari, 14714 hari, 14728 hari, 14742 hari, 14756 hari, 14770 hari, 14784 hari, 14798 hari, 14812 hari, 14826 hari, 14840 hari, 14854 hari, 14868 hari, 14882 hari, 14896 hari, 14910 hari, 14924 hari, 14938 hari, 14952 hari, 14966 hari, 14980 hari, 14994 hari, 15008 hari, 15022 hari, 15036 hari, 15050 hari, 15064 hari, 15078 hari, 15092 hari, 15106 hari, 15120 hari, 15134 hari, 15148 hari, 15162 hari, 15176 hari, 15190 hari, 15204 hari, 15218 hari, 15232 hari, 15246 hari, 15260 hari, 15274 hari, 15288 hari, 15302 hari, 15316 hari, 15330 hari, 15344 hari, 15358 hari, 15372 hari, 15386 hari, 15400 hari, 15414 hari, 15428 hari, 15442 hari, 15456 hari, 15470 hari, 15484 hari, 15498 hari, 15512 hari, 15526 hari, 15540 hari, 15554 hari, 15568 hari, 15582 hari, 15596 hari, 15610 hari, 15624 hari, 15638 hari, 15652 hari, 15666 hari, 15680 hari, 15694 hari, 15708 hari, 15722 hari, 15736 hari, 15750 hari, 15764 hari, 15778 hari, 15792 hari, 15806 hari, 15820 hari, 15834 hari, 15848 hari, 15862 hari, 15876 hari, 15890 hari, 15904 hari, 15918 hari, 15932 hari, 15946 hari, 15960 hari, 15974 hari, 15988 hari, 16002 hari, 16016 hari, 16030 hari, 16044 hari, 16058 hari, 16072 hari, 16086 hari, 16100 hari, 16114 hari, 16128 hari, 16142 hari, 16156 hari, 16170 hari, 16184 hari, 16198 hari, 16212 hari, 16226 hari, 16240 hari, 16254 hari, 16268 hari, 16282 hari, 16296 hari, 16310 hari, 16324 hari, 16338 hari, 16352 hari, 16366 hari, 16380 hari, 16394 hari, 16408 hari, 16422 hari, 16436 hari, 16450 hari, 16464 hari, 16478 hari, 16492 hari, 16506 hari, 16520 hari, 16534 hari, 16548 hari, 16562 hari, 16576 hari, 16590 hari, 16604 hari, 16618 hari, 16632 hari, 16646 hari, 16660 hari, 16674 hari, 16688 hari, 16702 hari, 16716 hari, 16730 hari, 16744 hari, 16758 hari, 16772 hari, 16786 hari, 16800 hari, 16814 hari, 16828 hari, 16842 hari, 16856 hari, 16870 hari, 16884 hari, 16898 hari, 16912 hari, 16926 hari, 16940 hari, 16954 hari, 16968 hari, 16982 hari, 16996 hari, 17010 hari, 17024 hari, 17038 hari, 17052 hari, 17066 hari, 17080 hari, 17094 hari, 17108 hari, 17122 hari, 17136 hari, 17150 hari, 17164 hari, 17178 hari, 17192 hari, 17206 hari, 17220 hari, 17234 hari, 17248 hari, 17262 hari, 17276 hari, 17290 hari, 17304 hari, 17318 hari, 17332 hari, 17346 hari, 17360 hari, 17374 hari, 17388 hari, 17402 hari, 17416 hari, 17430 hari, 17444 hari, 17458 hari, 17472 hari, 17486 hari, 17500 hari, 17514 hari, 17528 hari, 17542 hari, 17556 hari, 17570 hari, 17584 hari, 17598 hari, 17612 hari, 17626 hari, 17640 hari, 17654 hari, 17668 hari, 17682 hari, 17696 hari, 17710 hari, 17724 hari, 17738 hari, 17752 hari, 17766 hari, 17780 hari, 17794 hari, 17808 hari, 17822 hari, 17836 hari, 17850 hari, 17864 hari, 17878 hari, 17892 hari, 17906 hari, 17920 hari, 17934 hari, 17948 hari, 17962 hari, 17976 hari, 17990 hari, 18004 hari, 18018 hari, 18032 hari, 18046 hari, 18060 hari, 18074 hari, 18088 hari, 18102 hari, 18116 hari, 18130 hari, 18144 hari, 18158 hari, 18172 hari, 18186 hari, 18200 hari, 18214 hari, 18228 hari, 18242 hari, 18256 hari, 18270 hari, 18284 hari, 18298 hari, 18312 hari, 18326 hari, 18340 hari, 18354 hari, 18368 hari, 18382 hari, 18396 hari, 18410 hari, 18424 hari, 18438 hari, 18452 hari, 18466 hari, 18480 hari, 18494 hari, 18508 hari, 18522 hari, 18536 hari, 18550 hari, 18564 hari, 18578 hari, 18592 hari, 18606 hari, 18620 hari, 18634 hari, 18648 hari, 18662 hari, 18676 hari, 18690 hari, 18704 hari, 18718 hari, 18732 hari, 18746 hari, 18760 hari, 18774 hari, 18788 hari, 18802 hari, 18816 hari, 18830 hari, 18844 hari, 18858 hari, 18872 hari, 18886 hari, 18900 hari, 18914 hari, 18928 hari, 18942 hari, 18956 hari, 18970 hari, 18984 hari, 18998 hari, 19012 hari, 19026 hari, 19040 hari, 19054 hari, 19068 hari, 19082 hari, 19096 hari, 19110 hari, 19124 hari, 19138 hari, 19152 hari, 19166 hari, 19180 hari, 19194 hari, 19208 hari, 19222 hari, 19236 hari, 19250 hari, 19264 hari, 19278 hari, 19292 hari, 19306 hari, 19320 hari, 19334 hari, 19348 hari, 19362 hari, 19376 hari, 19390 hari, 19404 hari, 19418 hari, 19432 hari, 19446 hari, 19460 hari, 19474 hari, 19488 hari, 19502 hari, 19516 hari, 19530 hari, 19544 hari, 19558 hari, 19572 hari, 19586 hari, 19600 hari, 19614 hari, 19628 hari, 19642 hari, 19656 hari, 19670 hari, 19684 hari, 19698 hari, 19712 hari, 19726 hari, 19740 hari, 19754 hari, 19768 hari, 19782 hari, 19796 hari, 19810 hari, 19824 hari, 19838 hari, 19852 hari, 19866 hari, 19880 hari, 19894 hari, 19908 hari, 19922 hari, 19936 hari, 19950 hari, 19964 hari, 19978 hari, 19992 hari, 20006 hari, 20020 hari, 20034 hari, 20048 hari, 20062 hari, 20076 hari, 20090 hari, 20104 hari, 20118 hari, 20132 hari, 20146 hari, 20160 hari, 20174 hari, 20188 hari, 20202 hari, 20216 hari, 20230 hari, 20244 hari, 20258 hari, 20272 hari, 20286 hari, 20300 hari, 20314 hari, 20328 hari, 20342 hari, 20356 hari, 20370 hari, 20384 hari, 20398 hari, 20412 hari, 20426