

Respons Kekebalan Tubuh Ayam IPB D1 terhadap Infeksi Virus Penyakit Tetelo (*Newcastle Disease*)

(*IMMUNE RESPONSE OF IPB D1 CHICKEN AGAINST NEWCASTLE DISEASE VIRUS*)

Retno Setyaningsih¹, Sri Murtini^{2*},
Okti Nadia Poetri², Cece Sumantri³

¹Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor,
Babakan, Dramaga, Bogor, Jawa Barat. Indonesia 16680

²Departemen Ilmu Penyakit Hewan
dan Kesehatan Masyarakat Veteriner,

Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor,
³Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan,

Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor,
Jln Agathis, Kampus IPB Dramaga, Bogor,
Jawa Barat, Indonesia 16680.

*Email: smurtinifs@yahoo.com

ABSTRACT

Newcastle disease (ND) or Tetelo is an endemic poultry disease in Indonesia, and caused significant economic losses. Instead of diseases control programme has been carried out, ND outbreaks still occurs among poultry flock. IPB D1 chicken is a type of cross-breeding chickens between pelung-sentul crossbred chicken male and kampung-broiler crossbred chicken female, this chicken is genetically selected based on body resistance to disease. The aim of our research is to study immune response of IPB D1 against ND infection. Fourty IPB D1 chickens were used in this study, and divided into three groups : vaccinated group, unvaccinated group, control group. Vaccinated group received two time ND vaccination at age 10 weeks and booster at age 12 weeks. Unvaccinated and control group were remain not vaccinated. At age 13 weeks, vaccinated and unvaccinated group were challenge with ND virus (10^7 EID50/mL). Immune response were determined based on antibody titer which is measured by haemagglutination inhibition (HI) test and the profile of white blood cell of the chicken. Our result showed that both vaccinated and unvaccinated group has ND antibody titer $e^{-\log 2^4}$ at challenge time, and survived after challenge. White blood cell profile among all groups showed that lymphocytes has the higher number than other leukocyte type. It can be concluded that IPB D1 chickens showed a good response against ND virus.

Keywords: IPB D1 chicken; immune response; Newcastle disease; antibody titre; white blood cell

ABSTRAK

Penyakit tetelo atau *Newcastle* (ND) merupakan penyakit viral endemis di Indonesia dan menyebabkan kerugian ekonomi yang tidak sedikit. Wabah ND tetap muncul pada ternak meskipun program pengendalian terhadap penyakit tersebut telah dilakukan. Ayam IPB D1 merupakan jenis ayam hasil persilangan antara ayam jantan pelung-sentul dan ayam betina kampung-broiler berdasarkan seleksi genetik sifat ketahanan tubuh ayam tersebut terhadap penyakit. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari sistem kekebalan tubuh pada ayam IPB D1 terhadap ND. Penelitian ini menggunakan ayam IPB D1 sebanyak 40 ekor yang dibagi atas tiga kelompok yaitu kelompok ayam yang divaksinasi, tanpa vaksinasi dan kontrol. Vaksinasi ND dilakukan sebanyak dua kali pada ayam umur 10 minggu dan vaksinasi ulang (*booster*) saat ayam berumur 12 minggu. Vaksinasi tidak dilakukan pada kelompok ayam yang lain termasuk kelompok kontrol. Uji tantang dilakukan pada kelompok ayam yang divaksinasi maupun kelompok ayam yang tidak divaksin saat ayam berumur 13 minggu menggunakan virus ND (10^7 EID50/mL). Respons kekebalan ditentukan berdasarkan titer antibodi yang diukur menggunakan uji haemagglutinasi inhibisi (HI) dan identifikasi profil sel darah putih (SDP) ayam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok ayam IPB D1 yang divaksinasi dan tidak divaksinasi memiliki titer antibodi $e^{-\log 2^4}$ saat uji tantang dan bertahan pascaujji tantang. Profil SDP ayam IPB D1 menunjukkan bahwa limfosit merupakan jenis leukosit dengan jumlah paling tinggi dibandingkan dengan jenis leukosit lainnya, baik dalam kondisi divaksinasi maupun tidak divaksinasi. Simpulannya adalah ayam IPB D1 menunjukkan respons kekebalan yang baik terhadap virus ND

Kata kunci: ayam IPB D1; respons imun, penyakit tetelo/*Newcastle disease*; titer antibodi sel darah putih

PENDAHULUAN

Ayam IPB D1 merupakan salah satu inovasi jenis ayam lokal yang tengah dikembangkan oleh Institut Pertanian Bogor (IPB). Ayam IPB D1 merupakan jenis ayam hasil kawin silang antara ayam jantan hasil biakan F1 ayam pelung dan ayam sentul dengan ayam betina hasil biakan F1 ayam kampung dan *parent stock* ayam *broiler strain Cobb* (Ulupi *et al.*, 2016). Pemilihan ketiga jenis ayam lokal tersebut (ayam pelung, sentul dan kampung) dan ayam *broiler* untuk dikawin silang berdasarkan pertimbangan sifat genetik yang dimiliki oleh masing-masing ayam baik berupa potensi dalam menghasilkan daging, telur, efisiensi pakan maupun ketahanan terhadap penyakit.

Penyakit yang lebih dikenal dengan sebutan penyakit tetelo (*Newcastle disease/ND*) merupakan salah satu penyakit viral yang seringkali menyerang unggas dan endemik di Indonesia. Penyakit ini disebabkan oleh *Avian Paramyxovirus* serotipe-1 (APMV-1) dari famili *Paramyxoviridae* dengan tingkat mortalitas dan morbiditas hingga 100% (Alexander, 2000). Wabah ND masih sering terjadi meskipun pengendalian terhadap ND telah diterapkan baik melalui metode diagnosis yang efektif maupun melalui vaksinasi (Adjid *et al.*, 2014). Penelitian terhadap respons kebal terhadap infeksi *Salmonella sp.* pada ayam kampung, pelung dan sentul telah dilakukan oleh Ulupi *et al.* (2014), hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ketiga jenis ayam tersebut memiliki gen ketahanan terhadap infeksi bakteri. Ayam ras pedaging (*broiler*) sangat rentan terhadap penyakit bakterial maupun viral karena rendahnya kemampuan adaptasi lingkungan terutama pada musim tertentu (Wiedosari dan Wahyuwardani, 2015).

Imunokompetensi dapat ditingkatkan melalui seleksi genetik pada ayam untuk menghasilkan respons antibodi yang tinggi untuk mengontrol imunisasi menggunakan antigen tunggal (Yunis *et al.*, 2002). Ayam persilangan diharapkan memiliki gen-gen ketahanan terhadap penyakit yang diperoleh dari induknya. Ayam IPB D1 yang merupakan hasil persilangan ayam pelung, ayam sentul dan ayam kampung yang masing-masing diketahui tahan terhadap penyakit bakterial (Ulupi *et al.*, 2014) serta ayam *broiler* sehingga diharapkan membawa gen ketahanan penyakit dari induknya. Informasi mengenai respons

kekebalan ayam IPB D1 masih sangat terbatas terutama respons kebal ayam IPB D1 terhadap infeksi-infeksi virus ND sehingga sangat diperlukan penelitian untuk mengetahui sistem kekebalan ayam IPB D1 terhadap infeksi penyakit tetelo. Tujuan dari penelitian ini adalah mempelajari respons kekebalan ayam IPB D1 terhadap infeksi penyakit tetelo.

METODE PENELITIAN

Persetujuan Etik

Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan (FKH), Institut Pertanian Bogor (IPB) dengan nomor persetujuan etik: 091/KEH/SKE/VIII/2018.

Hewan Coba

Sebanyak 40 ekor ayam IPB D1 generasi keenam (G6) dipelihara pada fasilitas kandang ayam Unit Pengelola Hewan Laboratorium (UPHL) FKH IPB, dan dibagi menjadi tiga kelompok yaitu: kelompok vaksinasi (n=20), kelompok tidak vaksinasi (n=10) dan kelompok kontrol (n=10). Seluruh ayam diberi pakan ayam komersial dengan bobot pemberian pakan sebanyak ±80 g/ekor/hari dan air minum secara *ad libitum*.

Vaksinasi dan Uji Tantang

Vaksinasi dilakukan menggunakan vaksin aktif ND La Sota (Medivac Medion®, Bandung, Indonesia) yang memiliki titer virus $10^{6.5}$ EID-50/dosis. Ayam divaksinasi (0,5 mL/ekor) pada umur 10 minggu dengan rute per oral (p.o.) dan *booster* dilakukan 14 hari setelah vaksinasi pertama (p.v.1). Uji tantang dilakukan pada saat ayam berumur 13 minggu. Ayam pada kelompok vaksinasi dan tidak vaksinasi ditantang menggunakan virus stok ND Sato dari FKH IPB yang mengandung titer virus 10^7 EID50/mL melalui rute per oral (p.o) (0,5 mL) dan intra muskuler (i.m.) (0,5 mL). Pengamatan terhadap gejala klinis ND dan kematian dilakukan selama tujuh hari setelah tantang (p.i.).

Pengambilan Sampel Darah, Koleksi Serum dan Pengukuran Titer Antibodi ND

Pengambilan sampel darah dilakukan sesaat sebelum vaksinasi pertama (v.1) (hari ke-0), hari ke-7 p.v.1, sesaat sebelum *booster* (hari ke-14 p.v.1), sesaat sebelum uji tantang (hari ke-21 p.v.1) dan hari ke-28 p.v.1. Darah diambil

melalui vena *brachialis* menggunakan *syringe* steril 3 mL secara aseptis. Sampel darah dibagi dalam dua tabung yaitu tabung tanpa antikoagulan dan tabung dengan antikoagulan (heparin). Serum dari sampel darah dalam tabung tanpa antikoagulan dipisahkan dari bekuan darah yang terbentuk dan disimpan dalam tabung mikro yang sudah diberi label. Serum disimpan pada suhu -20°C hingga saatnya digunakan. Penentuan titer antibodi terhadap virus ND dilakukan dengan menggunakan uji Haemaglutinasi Inhibisi (HI) menurut prosedur yang tertera pada manual OIE (2014).

Identifikasi Profil Sel Darah Putih (SDP)

Profil SDP dilihat menggunakan teknik pemeriksaan diferensial darah dengan metode apus darah menggunakan Giemsa sebagai pewarna, sedangkan total jumlah SDP dihitung menggunakan hemositometer menurut cara Fudge (2000). Profil sel darah putih (SDP) diidentifikasi setiap minggu sejak dimulai penelitian, dengan waktu pengambilan sampel SDP sama dengan waktu pengambilan sampel serum.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Respons kekebalan tubuh ayam IPB D1 terhadap virus ND diamati dengan menentukan titer antibodi setelah vaksinasi, gejala klinis dan kematian setelah tantang serta berdasarkan profil sel darah putih. Rataan titer antibodi ND pada semua kelompok disajikan pada Tabel 1. Rataan titer antibodi kelompok vaksin dan tidak vaksinasi pada saat tantang menunjukkan titer diatas log 2^4 yang mengindikasikan bahwa pada kedua kelompok ini semua ayam memiliki antibodi positif terhadap ND. Titer hasil uji haemaglutinasi inhibisi (HI) dianggap positif antibodi ND apabila titer diatas log 2^4 (Ghanei dan Mohammadzadeh, 2012). Rataan titer antibodi pada kelompok vaksinasi lebih tinggi dibandingkan dua kelompok lainnya pada minggu ke-0, 1, 2 dan 3 (Tabel 1). Rataan titer antibodi ND tertinggi pada kelompok vaksinasi adalah pada minggu ke-2 setelah vaksinasi (Gambar 1), hal ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang dilaporkan oleh Siswanto *et al.* (2016), yang menunjukkan bahwa jumlah limfosit yang berperan menghasilkan antibodi spesifik pada ayam pedaging yang divaksinasi ND galur La-Sota mengalami peningkatan dua

minggu setelah vaksinasi. Antibodi merupakan respons kekebalan humorai yang dapat dideteksi pada 6-10 hari setelah infeksi dan jumlah antibodi akan mencapai puncaknya 2-4 minggu setelah infeksi (Amanu dan Rohi, 2005; Kencana *et al.*, 2017).

Suryana (2006) menyatakan bahwa titer antibodi ND protektif terhadap virus ND *velogenic* memiliki titer di atas log 2^5 . Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ayam IPB D1 yang divaksinasi ND dapat membentuk antibodi ND dengan rataan titer antibodi di atas log 2^5 pada minggu ke-2 dan 3 setelah vaksinasi, hal ini menunjukkan bahwa ayam IPB D1 memiliki respons pembentukan antibodi yang baik terhadap vaksinasi ND.

Titer antibodi ND pascauji tantang (minggu ke-4) pada kelompok ayam IPB D1 yang divaksinasi sedikit mengalami penurunan dibandingkan titer antibodi sebelum uji tantang dilakukan yang terjadi karena adanya reaksi neutralisasi antibodi ND terhadap virus ND tantang. Antibodi berperan dalam melakukan neutralisasi dengan mengikat dan mencegah perlekatan virus ND pada sel inang (Al Garib *et al.*, 2003). Namun demikian, meskipun mengalami sedikit penurunan titer antibodi ND, kelompok ayam IPB D1 yang divaksinasi masih menunjukkan titer antibodi diatas log 2^4 pascauji tantang sedangkan kelompok ayam yang tidak divaksinasi pascauji tantang mengalami kenaikan titer antibodi ND (minggu ke-4) dibandingkan dengan titer antibodi sebelum tantang. Hal ini menyebabkan titer antibodi ND tidak berbeda nyata diantara kedua kelompok ayam pascauji tantang (Tabel 1). Ayam IPB D1 yang tidak divaksin dan ditantang dapat bertahan hidup setelah tantang virus ND, hal ini menunjukkan bahwa kekebalan yang dimiliki ayam IPB D1 cukup baik dalam menghadapi infeksi virus ND tantang. Daya tahan yang dimiliki oleh ayam IPB D1 dapat diwariskan dari sifat ketahanan tetuanya berupa ayam lokal yang memiliki respons kebal yang baik terhadap infeksi virus ND dibandingkan dengan ayam *broiler*.

Seluruh kelompok ayam IPB D1 menunjukkan titer antibodi ND diatas log 2^3 pada minggu ke-0 sedangkan titer antibodi diatas log 2^4 ditunjukkan pada ayam yang tidak divaksinasi pascatantang. Ayam IPB D1 yang digunakan pada penelitian ini tidak pernah dilakukan vaksinasi ND ataupun riwayat vaksinasi lain sebelumnya, oleh karena itu titer antibodi ND yang terbentuk pada seluruh

Tabel 1. Rataan titer antibodi ND ayam IPB D1 masing-masing kelompok

Kelompok	Rataan Titer Antibodi pada minggu ke- (Log2±SD)*				
	0	1	2	3	4
Vaksinasi	3,9±1,17 ^a	4,2±1,9 ^a	6,5±1,76 ^a	5,6±1,72 ^a	5,1±1,52 ^a
Tanpa Vaksinasi	3,4±1,96 ^a	2,3±1,94 ^{ab}	4,5±1,6 ^b	4,43±1,51 ^{ab}	4,17±1,17 ^a
Kontrol	3,3±2,1 ^a	2,0±1,51 ^b	3,75±1,67 ^b	2,86±0,89 ^b	td

Keterangan: *0 = sebelum/saat vaksinasi pertama; 1 = satu minggu setelah vaksinasi pertama; 2= dua minggu setelah vaksinasi pertama/saat booster; 3= satu minggu setelah booster/saat tantang; 4= satu minggu setelah tantang; td = tidak dilakukan
Huruf *superscript* yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($p<0,05$)

Tabel 2. Gejala klinis ND pascauji tantang pada ayam IPB D1

Gejala Klinis ^a	Kelompok	
	Vaksinasi	Tanpa Vaksinasi
Konjungtivitis	TAK ^b	TAK ^b
Lethargi	TAK ^b	TAK ^b
Anoreksia	TAK ^b	TAK ^b
Diare	TAK ^b	TAK ^b
Peradangan bagian kepala dan leher	TAK ^b	TAK ^b
Tortikolis	TAK ^b	TAK ^b
Paresis/Paralisis	TAK ^b	TAK ^b
Mati	TK ^c	TK ^c

Keterangan: ^aOIE (2013); ^bTidak Ada Kelainan (TAK); ^cTidak Ada Kematian (TK)

kelompok ayam disebabkan oleh adanya infeksi ND yang bersifat subklinis di alam. Wibawan (2012) menyatakan bahwa kondisi endemis penyakit atau *shedding* virus akibat vaksinasi menjadi salah satu penyebab manifestasi subklinik suatu penyakit. Manifestasi klinik suatu penyakit ditandai oleh keberadaan virus patogen di dalam tubuh ayam yang secara klinik tampak sehat. Keberadaan virus ND ini yang menyebabkan pembentukan titer antibodi sebagai respons kebal pada ayam.

Respons tanggap kebal pada ayam IPB D1 juga dapat dilihat dari kemampuan bertahan pascauji tantang. Gejala klinis ND pascauji tantang (Tabel 2) tidak terlihat pada kedua kelompok, baik kelompok ayam IPB D1 yang divaksinasi maupun kelompok ayam IPB D1 yang tidak divaksinasi. Kemampuan virus ND dalam menginfeksi terkait dengan keberadaan protein tertentu dalam tubuh inang. Penelitian yang dilakukan oleh Carrasco *et al.* (2016) pada

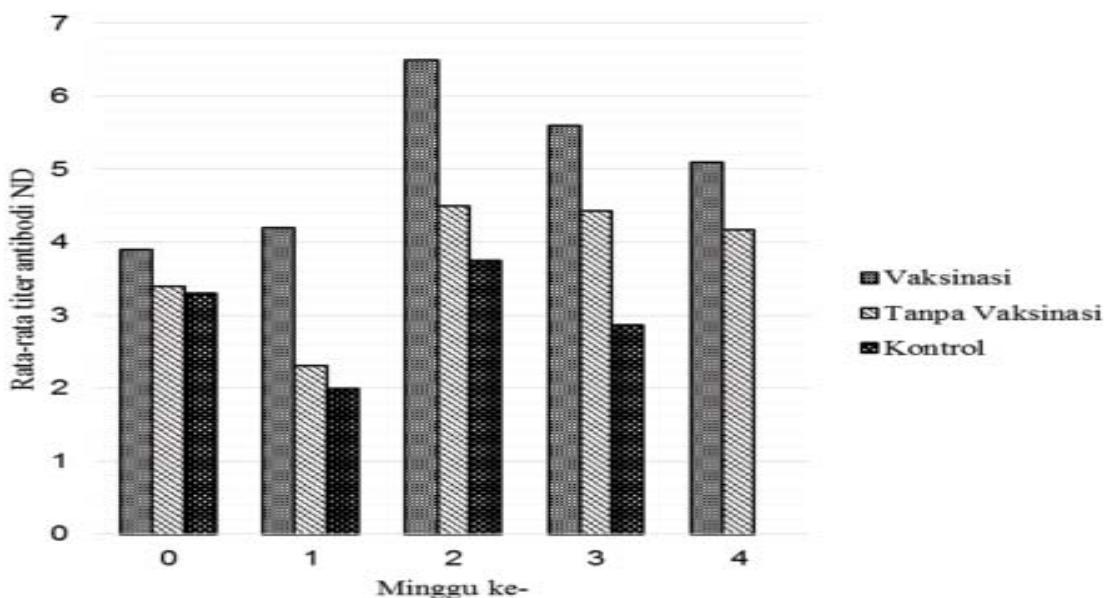
burung dara yang tidak divaksinasi dan yang divaksinasi tidak menunjukkan adanya gejala klinis maupun kematian. Namun, kematian 100% ditunjukkan pada ayam *broiler* pascauji tantang menggunakan virus ND yang sama. Penelitian serupa yang dilakukan oleh Omeke *et al.* (2018) menunjukkan bahwa ayam *broiler* rentan mengalami kematian akibat infeksi virus ND dibandingkan dengan ayam *layer*. Resistensi dan tingkat kerentanan unggas terhadap infeksi virus ND juga telah diketahui terkait dengan variasi genetik (Kapczynski *et al.*, 2013, Deist *et al.*, 2017). Variasi genetik pada ayam IPB D1 diduga menjadi faktor penyebab ayam dapat bertahan pascauji tantang.

Pembentukan antibodi sebagai respons vaksinasi ND dan tantang virus ND akan memengaruhi profil SDP. Coles (2006) menyatakan bahwa jumlah normal sel darah putih (SDP) sekitar 7.000-32.000 μL^{-1} dengan persentasi komposisi jenis SDP untuk heterofil

Tabel 3. Profil sel darah putih ayam IPB D1 masing-masing kelompok

Kelompok	Perlakuan	Minggu Ke ^a	Rataan Jumlah SDP± SD (%) ^b				Total SDP
			Limfosit	Heterofil	Monosit	Eosinofil	
Vaksinasi ND	Di tantang virus ND	0	69,0±12,5	29,0±13,0	2,3±0,6	0,0±0,0	13000±3200
		1	46,0±24,0	47,0±32,0	6,0±6,0	0,7±1,2	17600±7900
		2	62,0±29,0	31,0±28,0	6,0±4,6	0,7±1,2	10300±10100
		3	65,0±24,0	26,0±41,0	9,0±3,0	3,7±1,2	10600±3300
		4	69,0±25,0	28,0±25,0	2,7±0,6	0,3±0,6	13800±5700
	Tidak di tantang virus ND	0	80,0±4,2	19,0±4,6	1,3±0,6	0,0±0,0	13200±4700
		1	64,0±22,0	33,0±21,0	2,3±1,5	0,3±0,6	15400±5100
		2	60,0±11,0	34,0±12,0	4,0±2,0	1,3±1,5	13800±6900
		3	58,0±14,0	40,0±14,0	1,3±0,6	0,7±0,6	11800±4800
		4	65,0±16,0	31,0±15,0	2,7±2,0	0,7±1,2	13800±5700
Tidak Vaksinasi ND	Di tantang virus ND	0	82,0±10,0	16,0±10,0	1,7±0,6	0,0±0,0	8200±3400
		1	77,0±15,0	18,0±18,0	5,0±4,0	0,0±0,0	13200±3900
		2	35,0±4,0	60,0±5,5	4,0±1,7	1,0±1,7	19600±15900
		3	57,0±10,0	39,0±9,5	2,0±1,2	1,7±0,6	7000±3700
		4	81,0±8,9	17,0±11,0	2,3±2,3	0,0±0,0	9600±4200
Kontrol	Tidak di tantang virus ND	0	83,0±16,0	15,0±16,0	2,0±0,0	0,0±0,0	15000±7700
		1	64,0±24,0	33,0±23,0	3,3±2,3	0,0±0,0	16200±7100
		2	44,0±37,0	50,0±39,0	4,3±3,2	0,0±0,0	19400±8700
		3	49,0±13,0	46,0±13,0	5,3±2,0	0,3±0,6	14,6±0,69
		4	60,0±20,0	34,0±22,0	4,7±1,5	0,7±0,6	23,2±12,0

Keterangan: ^a0 = sebelum/saat vaksinasi pertama; 1 = satu minggu setelah vaksinasi pertama; 2= dua minggu setelah vaksinasi pertama/saat booster; 3= satu minggu setelah booster/saat tantang; 4= satu minggu setelah tantang; ^b% = jumlah sel dari jenis leukosit terhadap jumlah total 100 leukosit (Fudge 2000)



Gambar 1. Rata-rata titer antibodi ayam IPB D1 sebelum vaksinasi (minggu ke-0), paska vaksinasi (minggu ke-1 dan 2), sebelum uji tantang (minggu ke-3) dan paska uji tantang (minggu ke-4).

20%-75%, limfosit 20%-65%, monosit 2%-5%, basofil 0%-0,6% dan eosinofil 1%-4%. Hasil penelitian menunjukkan jumlah total SDP kelompok ayam yang divaksin baik sebelum maupun setelah ditantang tidak berbeda nyata pada setiap minggu pengamatan, demikian halnya dengan kelompok yang tidak divaksin. Jumlah SDP ayam IPB D1 dalam penelitian ini berkisar antara 7.000-23.200 iL¹. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Ulupi *et al.* (2016) yang menunjukkan bahwa Ayam IPB D1 memiliki jumlah rataan SDP dalam kisaran normal 7.000-24.000 iL¹. Jenis SDP yang ditemukan pada ayam IPB D1 antara lain limfosit, heterofil, monosit, dan eosinofil. Persentase limfosit, heterofil, monosit dan eosinofil pada kelompok yang divaksinasi tidak berbeda secara signifikan dibandingkan dengan kelompok yang tidak divaksinasi. Sel darah putih yang paling banyak ditemukan pada setiap kelompok adalah limfosit dengan persentase berkisar antara 35%-83% (Tabel 2). Hal ini sesuai dengan pernyataan Al Garib *et al.* (2003) dan Kapczynski *et al.* (2003) yang menyatakan bahwa limfosit merupakan komponen respons kekebalan berperantara sel yang berperan penting dalam sistem pertahanan tubuh ayam dalam mengaktifasi sel B untuk berproliferasi dan berdiferensiasi membentuk antibodi, serta bertanggungjawab terhadap proses *clearance* virus ND. Pada penelitian ini, dilakukan vaksinasi ND dan uji tantang virus ND pada ayam IPB D1, dengan demikian profil SDP yang menunjukkan bahwa persentase limfosit adalah yang paling tinggi, mengindikasikan bahwa ayam IPB D1 memiliki respons kebal spesifik yang baik terhadap virus ND.

SIMPULAN

Ayam IPB D1 dalam penelitian ini menunjukkan respons kekebalan yang baik terhadap virus ND baik pada kelompok ayam yang divaksinasi ND maupun kelompok ayam yang tidak divaksinasi ND.

SARAN

Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruh jenis kelamin serta lingkungan terhadap respons kebal pada ayam IPB D1.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Fakultas Kedokteran Hewan IPB, Badan Pengembangan Sumber Daya Manusia Pertanian Kementerian Pertanian (BPSDM-KP) serta seluruh pihak terkait yang telah memfasilitasi penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adjid RMA, Indriani R, Damayanti R, Aryanti T, Parede L. 2014. Hasil-hasil penelitian dan dukungan teknologi dalam mengendalikan dan mencegah penyakit viral penting pada ayam lokal. *JITV* 8(4): 247–255.
- Alexander DJ. 2000. Paramyxoviridae: Newcastle disease virus and other avian paramixoviruses. *Rev Sci Tech* 19(2): 443–462.
- Al Garib SO, Gielkens ALJ, Gruys E, Hartog L, Koch G, 2003. Immunoglobulin class distribution of systemic and mucosal antibody responses to Newcastle disease in chickens. *Avian Dis* 47: 32–40.
- Amanu S, Rohi OK. 2005. Studi serologi dengan uji hambatan aglutinasi terhadap angsa yang dapat bertindak sebagai pembawa Newcastle Disease di D.I Yogyakarta. *J Sainvet* 1: 8–12.
- Carrasco AOT, Seki MC, Benevenute JL, Ikeda P, Pinto AA. 2016. Experimental infection with Brazilian Newcastle disease virus strain in pigeons and chickens. *Brazil J Microbiol* 47: 231–242.
- Coles BH. 2006. Essential of Avian Medicine and Surgery. Iowa. Blackwell Publishing. Hlm. 53–54.
- Deist MS, Gallardo RA, Bunn DA, Dekkers JCM, Zhou H, Lamont SJ. 2017. Resistant and susceptible chicken lines show distinctive responses to *Newcastle* disease virus infection in the lung transcriptome. *BMC Genom* 18(989): 1–15.
- Fudge AM. 2000. *Laboratory Medicine Avian and Exotic Pets*. Philadelphia (US). WB Saunders. Hlm. 375–400.

- Ghanie A, Mohammadzadeh N. 2012. Detection of *Newcastle* disease virus antibodies in serum of broiler chickens of Iran. *J Anim Poul Sci* 1(1): 24-28.
- Kapczynski DR, Afonso CL, Miller PJ. 2013. Immune responses of poultry to *Newcastle* disease virus. *Develop Compar Immunol* 41: 447–453.
- Kencana GAY, Suartha IN, Nainggolan DRB, Tobing ASL. 2017. Respons imun ayam petelur pascavaksinasi *Newcastle Disease* dan *Egg Drop*. *J Sainvet*. 35 (1):81–90.
- Siswanto, Sulabda IN, Soma IG. 2016. Titer antibodi dan hitung jenis leukosit ayam potong jantan pasca vaksinasi virus *Newcastle Disease*. *Indonesia Medicus Veterinus* 5(1): 89–95.
- Omeke JN, Ezema WS, Eze DC. 2018. Low dose velogenic viscerotropic *Newcastle* disease virus infection caused 30% mortalities in Anak broilers but none in Lohmann Brown layer chickens. *J App Anim Res.* 46(1): 1352–1357.
- Suryana N. 2006. Pengamatan daya proteksi ayam post vaksinasi *Newcastle Disease* dengan uji tantang. Temu Teknis Nasional Tenaga Fungsional Pertanian; 2006; Bogor, Indonesia. (ID). Bogor. Balitvet. Hlm. 282–286.
- Ulupi N, Muladno, Sumatri C, Wibawan IWT. 2014. Identifikasi keragama Gen *Toll-Like Receptor-4* ayam lokal dengan *polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism*. *J Vet* 15(3): 345–352.
- Ulupi N, Sumantri C, Darwati S. 2016. Resistance against *Salmonella pullorum* in IPB-D1 crossbreed, Kampong and commercial broiler chicken. *Proceeding Of The First International Conference Technology on Biosciences and Social Science*; 2016 Nop 17-19; Padang, Indonesia. Padang [ID]: Lembaga Literasi Dayak. Hlm 88–91.
- Wibawan IWT. 2012. Major diseases in village chicken and its control strategies. Di dalam: Wina E et al., editor. *Workshop Nasional Unggas Lokal. Prosiding Seminar dan Nasional Peternakan Veteriner Puslitbangnak*; 2012 Okt 1-4; Bogor, Indonesia. Bogor [ID]: IAARD Press. Hlm 34–37.
- Wiedosari E, Wahyuardani S. 2015. Studi kasus penyakit ayam pedaging di Kabupaten Sukabumi dan Bogor. *Jurnal Kedokteran Hewan* 9(1): 9–13.
- Yadav SP, Kannaki TR, Mahapatra RK, Paswan C, Bhattacharya TK, Sarkar SK, Chatterjee RN. 2018. In vivo cell-mediated immune, hemagglutination inhibition response, hematological and biochemical values in native vs. exotic chicken breeds. *Poult Sci* 97(9): 3063–3071.
- Yunis R, Ben-David A, Heller ED, Cahaner A. 2002. Genetic and phenotypic correlations between antibody responses to *Escherichia coli*, Infectious bursa disease virus (IBDV) and *Newcastle* disease virus (NDV) in broiler lines selected on antibody response to *Escherichia coli*. *Poult Sci* 81: 302–308.