

Histopathological of Fabricius Bursa in the Broiler Chicken after Vaccination with Newcastle Disease Virus Vaccine

Ummu Balqis¹, Nurjannah², Hamdani Budiman¹, Darmawi³, Cut Dahlia Iskandar⁴, M. Hasan⁵

¹Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁴Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁵Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

E-mail: nurjannah_0906@yahoo.co.id

ABSTRACT

The aim of this research was to determine an effect of Newcastle disease virus (NDV) vaccine to histopathologic on Fabricius bursa of broiler chicken at various age levels. Eighteen commercial DOC (Day Old Chick) were divided into 2 groups namely a control group that was given distilled water and a treatment group that was given NDV vaccine namely ND Lasota vaccine ocularly as much one drop per eye at day 3, then a booster dose in drinking water at day 13 was given. The bursa of Fabricius was collected from these chickens on the age of 14 days, 21 days, and 28 days after sacrificing the chickens through necropsied, then histopathological preparations are made using hematoxylin-eosin staining. The parameters observed were measured the number, diameter, and thickness of cortical of lymphoid follicles. Data were analyzed descriptively and quantitatively by unpaired t-test. The results of this research showed the NDV vaccine effects were not significantly different ($P>0.05$) to the number and diameter of lymphoid follicles. In the treatment group, 14 days old broiler chickens had a decreased number of lymphoid follicles, while its diameter tends to grow and the thickness of cortex was also seemed unchanged compared with the control group. Then at the age of 21 days, the number, diameter, and thickness of cortex of lymphoid follicles tend to increase, while at 28 days diameter of lymphoid follicles tend to be slightly reduced, but the number and thickness tend to grow out of control. It was concluded that the NDV vaccine had a good effect on the Fabricius bursa of broiler chickens with increasing age, then histopathological preparations are made using hematoxylin-eosin staining.

Key words: broilers, Newcastle disease virus vaccine, bursa of Fabricius

PENDAHULUAN

Laju pertumbuhan penduduk yang cukup tinggi menyebabkan kebutuhan akan pangan semakin meningkat, sehingga masalah pangan selalu lebih mendesak dan lebih utama disamping kebutuhan yang lain. Masalah pangan dalam hal pemenuhan gizi seperti protein hewani sampai saat ini masih menjadi suatu problem yang belum sepenuhnya dapat terpecahkan (Jaelani dkk., 2013). Kemudian kebutuhan protein hewani juga semakin meningkat sejalan dengan meningkatnya pendapatan dan kesadaran masyarakat akan gizi (Sheila, 2014). Oleh

karena itu, salah satu sumber protein hewani yang banyak dikembangkan oleh masyarakat luas adalah ternak ayam karena cara pemeliharaannya yang relatif mudah (Kencana, 2013).

Menurut Susilorini dkk. (2007) peternakan ayam pedaging (*broiler*) merupakan salah satu bidang peternakan di Indonesia yang terus menunjukkan peningkatan setiap tahunnya. Berdasarkan data statistik peternakan menunjukkan bahwa jumlah populasi ternak unggas secara nasional terus meningkat sejak tahun 2011 hingga 2013, terutama pada ayam ras pedaging (Ditjennakkeswan, 2013).

Pada satu sisi usaha peternakan ayam seperti ayam pedaging (*broiler*) tidak terlepas dari risiko yang cukup besar, karena sewaktu-waktu timbul berbagai kendala seperti wabah penyakit menular (Tabbu, 2000). *Newcastle disease* (ND) adalah salah satu penyakit pada unggas dan masih menjadi ancaman serius bagi industri peternakan di Indonesia maupun di dunia, karena dapat menimbulkan kerugian ekonomi (Robinson, 1961; Hodder dkk., 1994; Tabbu, 2000).

Tindakan utama yang dapat dilakukan untuk mengatasi infeksi virus ND adalah mencegah munculnya penyakit tersebut melalui pelaksanaan vaksinasi yang didukung dengan perbaikan tatalaksana pemeliharaan ayam (Wibowo dkk., 2013). Unggas yang tidak divaksinasi akan lebih rentan terhadap penyakit dengan morbiditas dan mortalitasnya dalam bentuk parah hingga mencapai 100% (Alexander, 2003; Manchang dkk., 2004).

Pada umumnya vaksinasi dilakukan secara individu baik dengan tetes mata, tetes hidung maupun dengan suntikan mampu memberikan hasil yang baik (Moerad, 1987; Partadiredia dan Soejoedono, 1988). Menurut Salam dkk. (2003) vaksinasi ND secara tetes mata, kemudian diinfeksi dengan virus ND menunjukkan respon imun yang lebih baik dibandingkan dengan vaksinasi melalui air minum serta tidak menimbulkan perubahan patologi pada organ limfoid seperti bursa Fabricius, timus dan kelenjar Harderian.

Berdasarkan penelitian Bibi dkk. (2013) ayam broiler yang telah divaksinasi secara tetes mata lalu ditantang dengan virus ND vilogenik, setelah dilakukan nekropsi dan pengamatan pada hari ke 26, 33 dan 40 secara umum tidak menunjukkan perubahan histopatologis bursa Fabricius. Masum dkk. (2014) menyatakan bahwa vaksinasi NDV secara tetes mata, kemudian dilanjutkan

dengan vaksin booster secara oral menunjukkan adanya peningkatan tajam frekuensi imunoglobulin yang mengandung sel plasma pada bursa Fabricius ayam broiler umur 14 hari dan 28 hari, terutama pada bagian kapsul, korteks dan medula. Menurut Handharyani dkk. (1995) pemberian vaksin ND La Sota secara tetes mata dapat menimbulkan perubahan mikroskopis yang minimal pada bursa Fabricius berupa penurunan jumlah sel limfosit, edema dan hiperemi.

MATERI DAN METODE

Metode Penelitian

Penelitian ini didasarkan pada metode yang telah dilakukan oleh Masum dkk. (2014) dengan sedikit modifikasi. Metode penelitian ini adalah eksperimen laboratorium yang dibagi atas kelompok ayam yang tidak divaksin sebagai kelompok kontrol dan kelompok ayam yang diberi vaksin sebagai kelompok perlakuan. Ayam pada kelompok kontrol yang berjumlah 9 ekor diberi setetes air suling secara tetes mata dan diberi ransum standar. Pada 9 ekor ayam kelompok perlakuan diberi vaksin ND aktif secara tetes mata pada hari ke 3 pukul 06:00, kemudian lakukan vaksinasi ulangan (*booster*) menggunakan vaksin yang sama diberikan secara oral melalui air minum pada hari ke 13 pukul 06:00 WIB. Bursa Fabricius dikoleksi dari ayam kontrol maupun perlakuan pada hari ke 14 (H14), 21 (H21), dan 28 (H28) setelah ayam dinekropsi (3 broiler per kelompok), lalu spesimen difiksasi dalam BNF 10%.

Prosedur Penelitian

Kandang dan perlengkapannya

Kandang dibuat 6 petak dengan ukuran 1 x 0,5 m², setiap petak dilengkapi

dengan satu tempat ransum, satu tempat minum dan satu lampu 35 watt sebagai penerangan saat malam hari. Melakukan beberapa tahapan manajemen persiapan kandang sebelum penelitian dimulai dari membersihkan kotoran dalam kandang, desinfeksi kandang, pengapuran, pemasangan alas litter dari sekam padi hingga melakukan penyemprotan ulang desinfektan ke seluruh bagian kandang. Hal ini dilakukan untuk memutus rantai mikroorganisme patogen bagi ayam broiler.

Pemeliharaan

Pengacakan dilakukan sebelum ayam broiler masuk ke dalam kandang dengan menyusun nomor perlakuan terlebih dahulu pada setiap petak. Kemudian setiap 3 ekor ayam broiler dimasukkan ke dalam masing-masing petak. Lamanya pemeliharaan ayam broiler dilakukan secara bervariasi mulai dari 14 hari, 21 hari dan 28 hari dengan sistem litter. Ransum diberikan dua kali sehari, sedangkan air minum diberikan secara *ad libitum* yang diganti setiap pagi dan sore serta ditambahkan dengan vitastress. Semua kelompok ayam perlakuan diberikan vaksin ND aktif secara tetes mata pada hari ke 3 sebanyak 1 tetes per mata dan pada hari ke 13 dilakukan vaksinasi ulang secara oral melalui air minum.

Nekropsi dan pengumpulan sampel

Mulai hari ke 14, 21, dan 28 sebanyak 3 ekor ayam diambil dari kandang secara acak menurut kelompok harinya. Sebelum dinekropsi, ayam dikorbankan dengan cara disembelih. Nekropsi dilakukan untuk mengambil organ yang selanjutnya diamati secara histopatologi. Organ yang diambil adalah bursa Fabricius, kemudian dimasukkan ke dalam wadah penyimpanan organ yang berisi BNF 10% dan diberi label.

Preparasi bursa Fabricius

Bursa Fabricius yang sudah difiksasi dengan larutan BNF 10% selama 2 kali 24 jam, selanjutnya dipotong untuk diproses menjadi preparat histopatologi.

Pembuatan preparat histologi

Bursa Fabricius yang telah difiksasi dalam larutan BNF 10% dimasukkan ke dalam *tissue cassette* serta diberi label. Sampel jaringan didehidrasi dengan alkohol bertingkat mulai dari alkohol 80%, 90%, 95%, dan alkohol absolut I, II masing-masing selama 2 jam. Dehidrasi bertujuan untuk mengeluarkan air dari jaringan bursa Fabricius, kemudian dilakukan *clearing* dengan cara memasukkan jaringan ke dalam silol I dan II masing-masing selama 45 menit. Tahapan ini bertujuan untuk menghilangkan sisa larutan alkohol dari proses dehidrasi. Setelah itu, dilanjutkan dengan proses infiltrasi dalam parafin cair I, II, III pada suhu 60°C masing-masing selama 45 menit.

Tahapan selanjutnya adalah proses *embedding*, yaitu penanaman jaringan bursa Fabricius dalam parafin sehingga memudahkan proses pemotongan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-5 μm dan diletakkan pada gelas objek. Kemudian diwarnai dengan hematoxilin eosin dan tutup *slide* jaringan dengan kaca penutup menggunakan bahan perekat Entellan[®] (Kiernan, 1990). Pengamatan sediaan histologi dilakukan dengan menggunakan mikroskop yang dilengkapi alat mikrofotografi dan diukur dengan *micrometer eyepiece*.

Pengamatan histopatologi

Pengamatan jumlah folikel limfoid dilakukan dengan cara 5 lapang pandang

diambil secara acak pada tiap preparat, kemudian dirata-ratakan setiap preparatnya. Pengukuran diameter folikel limfoid dilakukan dengan cara pada tiap preparat diambil sampel 5 plika, kemudian tiap plika diukur diameternya per 3 folikel limfoid. Seluruh diameter dicari rata-ratanya dengan rumus sebagai berikut (KW, 2009):

$$D = \frac{a + b}{2}$$

Keterangan : D = Diameter folikel limfoid
 a = Panjang folikel limfoid
 b = Lebar folikel limfoid

Analisis Data

Hasil data berupa jumlah folikel

limfoid dan diameter folikel limfoid bursa Fabricius ditabulasikan, kemudian dianalisis secara *unpaired t-test* (Dahlan, 2011) untuk melihat perbedaan nyata antara kelompok kontrol dengan perlakuan, sedangkan ketebalan korteks folikel dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah Folikel Bursa Fabricius

Hasil uji statistik terhadap jumlah folikel limfoid bursa Fabricius yang disajikan pada Tabel 1 menunjukkan jumlah folikel limfoid kelompok perlakuan tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol (P>0,05).

Tabel 1. Perbandingan jumlah folikel limfoid bursa Fabricius antara kelompok kontrol (tanpa vaksinasi) dengan perlakuan (vaksinasi) (lima lapang pandang per preparat)

Umur (Hari)	Kontrol	Perlakuan
14	187,33 ± 36,30 ^a	164,33 ± 24,58 ^a
21	141,33 ± 28,54 ^a	153,00 ± 5,57 ^a
28	91,33 ± 4,16 ^a	98,67 ± 17,56 ^a

Keterangan: huruf superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata (P<0.05).

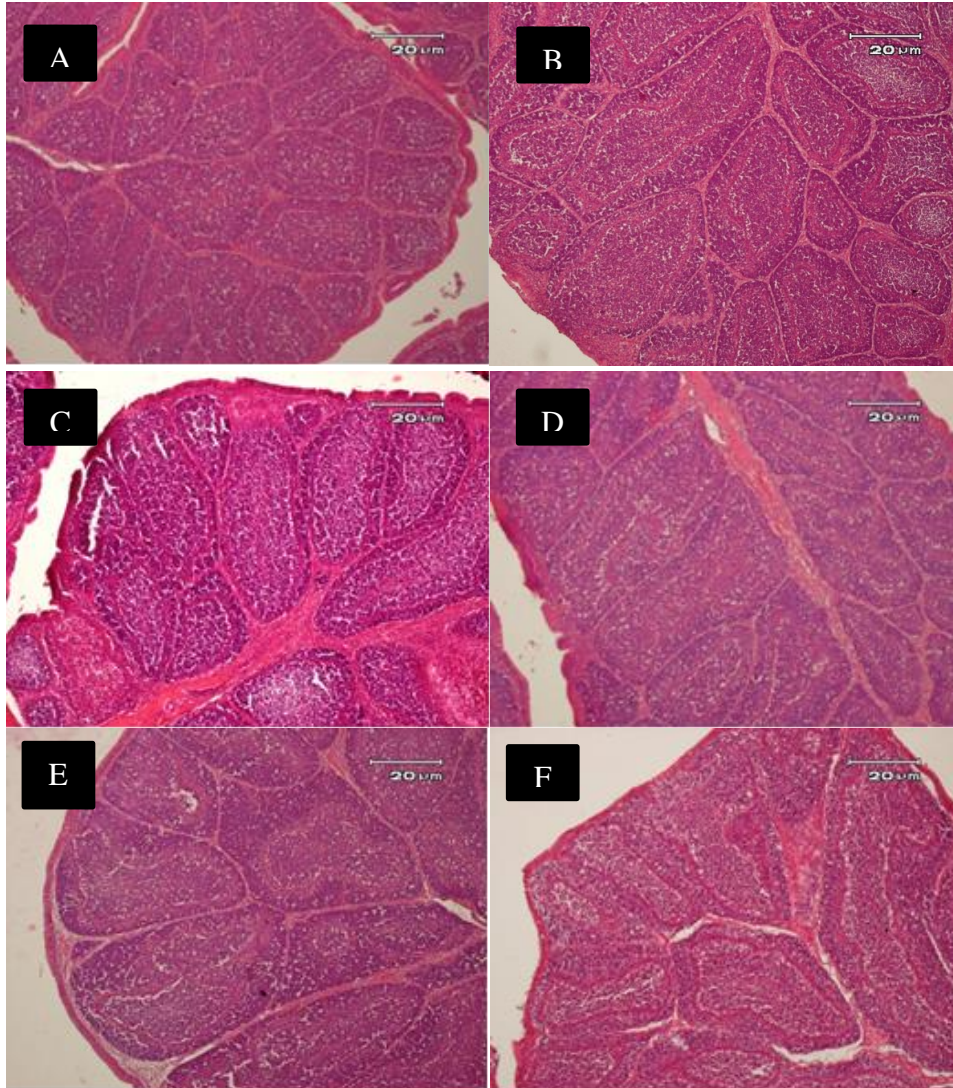
Meskipun hasilnya tidak berbeda nyata, namun pada Gambar 1 dapat dilihat bahwa jumlah folikel limfoid kelompok ayam umur 21 hari (H21) dan 28 hari (H28) yang telah divaksin ND aktif tampak cenderung lebih banyak daripada kelompok kontrol, berbeda halnya dengan jumlah folikel limfoid pada ayam umur 14 hari

(H14) yang cenderung lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol.

Pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa perbedaan rataan jumlah folikel umur 14 hari, 21 hari, dan 28 hari. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh faktor bobot badan ayam yang tidak sama antar kelompok. Semakin besar bobot badan ayam

maka semakin besar pula ukuran bursa Fabriciusnya, sehingga beratnya juga semakin meningkat. Menurut Wahyuwardani dkk. (2005) vaksinasi ND dapat menyebabkan kenaikan indeks bursa Fabricius yang menunjukkan bahwa sel B pada bursa Fabricius bereplikasi dan berdiferensiasi secara aktif untuk membentuk antibodi sebagai respon organ

tersebut terhadap antigen asing (ND) yang masuk ke dalam tubuh ayam, karena bursa Fabricius pada organ tersebut dalam kondisi dan fungsi yang normal. Wirapati (2008) menambahkan bahwa peningkatan persentase bobot bursa Fabricius disebabkan oleh meningkatnya sel limfosit B, sesuai tugas bursa Fabricius yaitu memproduksi dan memdewasakan sel limfosit B.



Gambar 1. Gambaran histopatologi bursa Fabricius setelah vaksinasi pada umur 3 dan 13 hari dengan pewarnaan HE (10x10) dilakukan pengamatan jumlah folikel : (A. kontrol; B. perlakuan) umur 14 hari, (C. kontrol; D. perlakuan) umur 21 hari(E. kontrol; F. perlakuan) umur 28 hari.

Diameter Folikel Bursa Fabricius

Berdasarkan perhitungan statistika *unpaired t-test*, pengaruh pemberian vaksin

ND aktif tidak memiliki perbedaan yang nyata terhadap diameter folikel bursa Fabricius ($P>0,05$) seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Perbandingan diameter folikel limfoid bursa Fabricius antara kelompok kontrol (tanpa vaksinasi) dengan perlakuan (vaksinasi) (15 folikel dipilih secara acak).

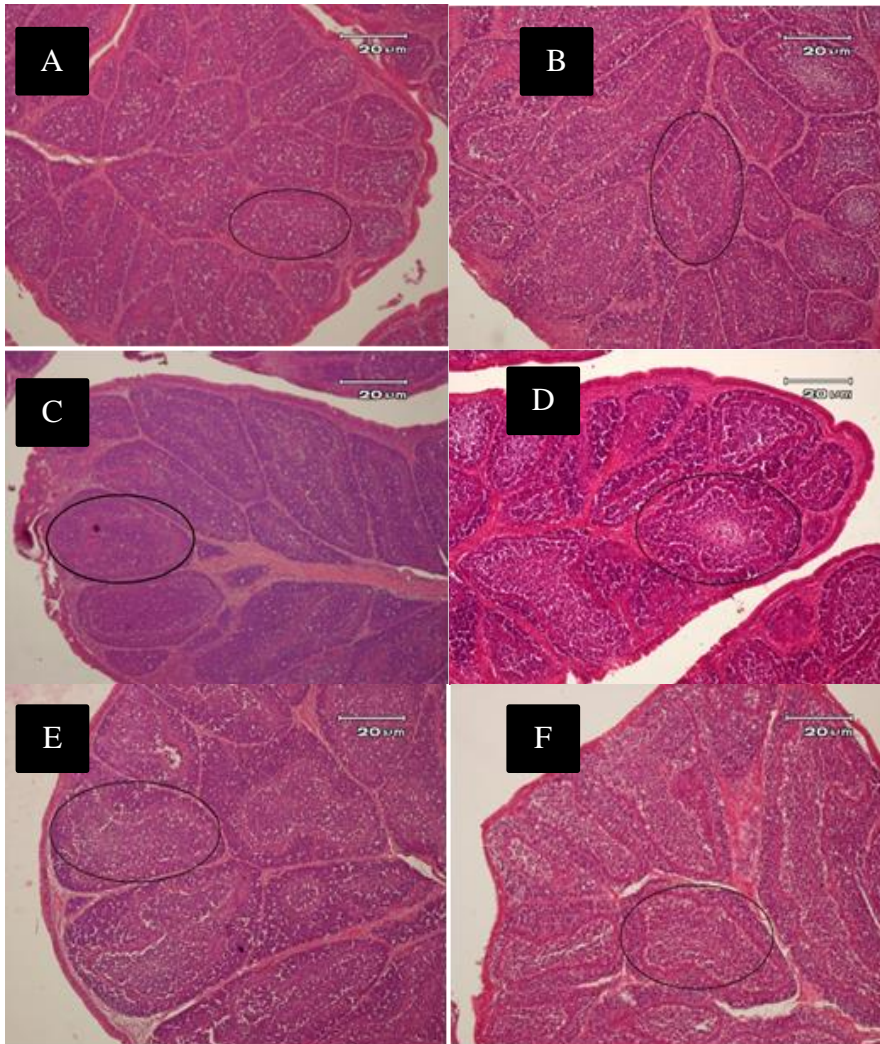
Umur (Hari)	Kontrol	Perlakuan
14	373,86 ± 82,93 ^a	380,42 ± 25,53 ^a
21	427,40 ± 42,65 ^a	487,27 ± 18,42 ^a
28	525,76 ± 6,66 ^a	524,01 ± 26,47 ^a

Keterangan: huruf superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P<0.05$).

Meskipun diameter folikel limfoid pada hasil perhitungan statistika tidak berbeda nyata, namun diameter kelompok perlakuan cenderung lebih besar pada hari ke-14 (H14) dan ke-21 (H21) dibandingkan kelompok kontrol seperti yang disajikan pada Gambar 2.

Pertambahan diameter pada umur 14 dan 21 hari menunjukkan limfosit B

semakin aktif dikeluarkan. Mikroorganisme atau antigen yang terdapat pada vaksin akan dikenal oleh sel limfosit B di dalam tubuh membentuk sistem kekebalan yang spesifik melalui respon imun humoral. Schmidt dkk. (2008) membuktikan bahwa vaksin ND LaSota mampu merangsang timbulnya respon imun humoral yang baik pada unggas.



Gambar 2. Gambaran histopatologi bursa Fabricius setelah vaksinasi pada umur 3 dan 13 hari dengan pewarnaan HE (10x10) dilakukan pengamatan diameter folikel : (A. kontrol; B. perlakuan) umur 14 hari, (C. kontrol; D. perlakuan) umur 21 hari, (E. kontrol; F. perlakuan) umur 28 hari.

Vaksin aktif bekerja dengan cara melibatkan sistem kekebalan humoral dengan mempresentasikan antigen yang telah diproses dalam makrofag (oleh MHC II) kepada sel Th (CD4+), sehingga sel Th (CD4+) dapat mengenali bentuk antigen. Kemudian sel Th (CD4+) bekerjasama dengan sel limfosit B untuk memproduksi antibodi spesifik (Yuwono, 1995).

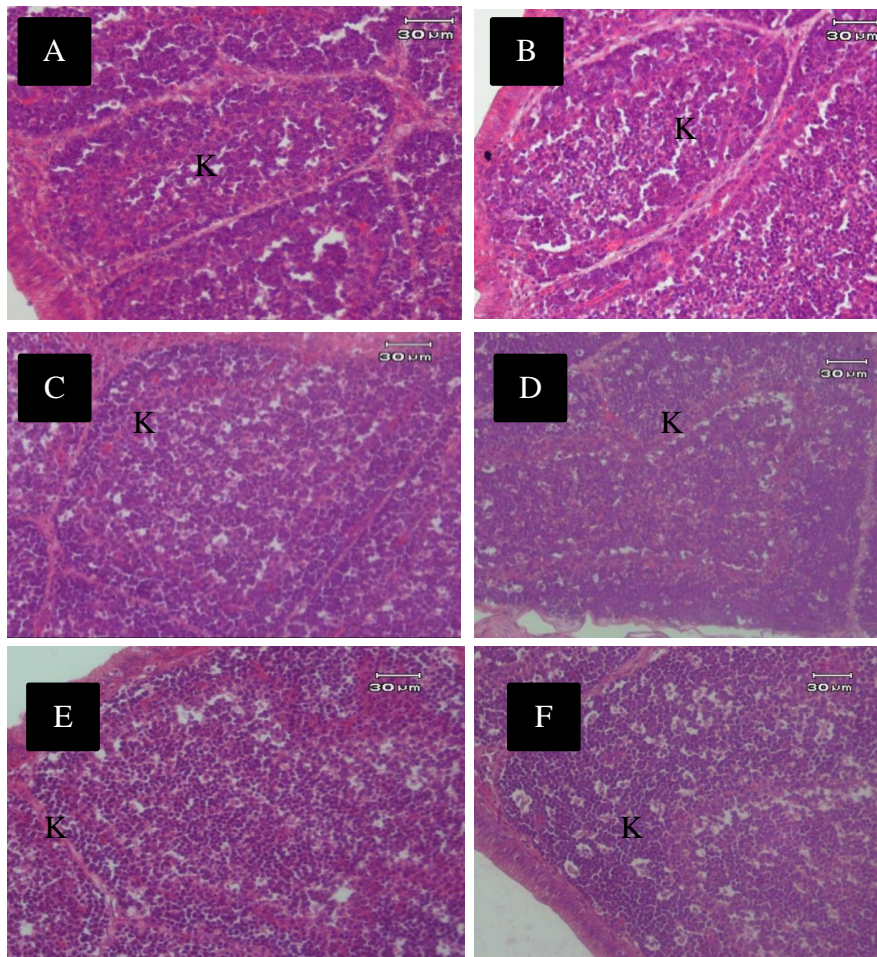
Saat ayam umur 28 hari kelompok perlakuan memiliki rata-rata diameter sedikit lebih kecil dari kelompok kontrol. Hal ini

mengindikasikan bahwa seiring bertambahnya umur pada ayam, maka pengaruh vaksin juga semakin berkurang dalam menginduksi kerja bursa Fabricius, pada akhirnya bursa Fabricius akan mengecil dan limfosit B yang dihasilkan juga berkurang. Menurut Kencana dkk. (2011) bahwa ayam yang hanya diberikan vaksin tetelo aktif, pada minggu ke-1 dan ke-2 mempunyai antibodi terhadap tetelo kurang lebih sama dengan sebelum vaksinasi, dan akhirnya menurun pada

minggu ke-3. Selain itu, penurunan ukuran diameter dalam penelitian ini kemungkinan juga disebabkan oleh kehadiran antigen dari vaksin ND aktif yang mempercepat aktivitas bursa Fabricius untuk memicu pembentukan antibodi secara terus-menerus mengikuti pertambahan umur pada ayam, sehingga kemampuan folikel limfoid untuk proliferasi dan diferensiasi limfosit B perlahan juga menurun. Tizard (1987) menyatakan semakin sering bursa Fabricius membentuk antibodi maka akan menyebabkan deplesi dan pengecilan folikel limfoid, sehingga berat relatif bursa menurun.

Ketebalan Korteks Folikel

Pada Gambar 3 terlihat perbedaan ketebalan korteks antara kontrol dan setelah diberi perlakuan. Ketebalan korteks pada ayam umur 21 dan 28 hari dalam penelitian ini menunjukkan adanya pengaruh pemberian vaksin ND aktif terhadap perkembangan korteks. Limfosit B akan mengalami proliferasi yang lebih cepat setelah vaksinasi pada ayam broiler, sehingga korteks terlihat lebih tebal dibandingkan kontrol, sedangkan ayam yang tidak diberi vaksin mengalami proliferasi yang lebih lambat. Playfair dan Chain (2013) menyatakan korteks pada bursa Fabricius adalah situs proliferasi limfosit B.



Gambar 4. Gambaran histopatologi bursa Fabricius dengan pewarnaan HE (40x10) umur 14, 21, dan 28 hari dilakukan pengamatan ketebalan korteks (K) pada folikel limfoid : (A. kontrol; B.

perlakuan) umur 14 hari, (C. kontrol; D. perlakuan) umur 21 hari, (E. kontrol; F. perlakuan) umur 28 hari.

Pada waktu menetas, struktur folikel bursa berubah dan folikel matang berkembang. Kontak dengan isi usus mungkin diperlukan untuk perkembangan bursa normal setelah menetas. Sel folikel yang terkait epitel dengan aktif mengangkut isi lumen bursa ke dalam bagian limfoid bursa (Shomali dkk., 2013). Hal ini disebabkan karena lumen bursa terhubung ke lumen usus melalui saluran bursa, sehingga dapat menyediakan mekanisme untuk perkembangan sel-sel B bursa setelah menetas karena antigen yang berasal dari usus diambil oleh bursa (Ratcliffe, 2006). Oleh karena itu, pemberian vaksinasi secara oral melalui air minum dalam penelitian ini mungkin telah memberikan dampak yang baik dalam penyerapan kandungan aktif (antigen) dari vaksin ND aktif untuk proliferasi sel limfosit B bursa Fabricius. Proliferasi yang lebih tinggi kemungkinan menjadi faktor dibalik peningkatan ketebalan korteks (Shomali dkk., 2013).

KESIMPULAN

Pemberian vaksin virus *Newcastle disease* (ND aktif) pada ayam broiler mampu memberikan efek yang baik terhadap jumlah folikel limfoid, diameter folikel limfoid, dan ketebalan korteks folikel bursa Fabricius seiring dengan pertambahan umur pada ayam broiler, namun hasil yang lebih baik dibandingkan kelompok umur yang lain adalah pada saat ayam berumur 21 hari.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, D. J. 2003. Newcastle Disease, Other Avian Paramyxoviruses, and Pneumovirus Infections. Saif, Y. M., H. J. Barnes, J. R. Glisson, A. M. Fadly, L. R. McDougald, and D. E. Swayne (Edt). In **Disease of Poultry**. 11th ed. IOWA State University Press, Ames.
- Bibi, T., A. Asim, F. R. Shafqat, Y. S. Arfat, M. Nadia, W. Abdul, J. Saira, Q. A. Sulaiman, and A. S. Hassan. 2013. Segregation of plasma cells in lymphoid organs by various routes of vaccination against *Newcastle disease* in broiler chickens. **Journal of Infection and Molecular Biology**. 1(3): 41–45.
- Dahlan, M. S. 2011. **Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan**. Edisi ke-5. Salemba Medika, Jakarta. (Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan).
2013. **Statistik Peternakan dan Kesehatan Hewan 2013**. Kementerian Pertanian RI, Jakarta.
- Handharyani E., Hernomoadi, W. L. Bibiana, dan M. B. Mamole. 1995. Perbandingan pengaruh *Escherichia coli* dan vaksinasi ND La Sota terhadap bursa Fabricius anak ayam pedaging. **Hemera Zoa**. 77(2): 99-105.
- Hodder, A. N., Z. Y. Liu, P. W. Selleck, G. L. Corino, B. J. Shiell, D. C. Grix, C. J. Morrow, and J. J. Gorman. 1994. Characterization of field isolates of *Newcastle disease* virus using antipeptide antibodies. **Avian Disease**. 38(1): 103-118.
- Jaelani, A., Suslinawati, dan Maslan. 2013. Analisis kelayakan usaha peternakan ayam broiler di Kecamatan Tapin Utara Kabupaten Tapin. **Jurnal Ilmu Ternak**. 13(2): 42-48.
- Kencana, G. A. Y. 2013. Penentuan kandungan virus vaksin *Newcastle Disease* dari dua *poultry shop* yang berbeda pada kultur sel primer fibroblast embrio ayam. **Buletin Veteriner Udayana**. 5(2): 61-69.
- Kencana, G. A. Y., A. A. A. M. Adi, I. B. K. Ardana, dan I. G. N. K. Mahardika. 2011. Vaksin gumboro menyebabkan immunosupresif pada respons primer vaksin penyakit tetelo ayam pedaging. **Jurnal Veteriner**. 12(4): 275-280.
- Kiernan, J. A. 1990. **Histological and Histochemical Method: Theory and Practice**. 2nd ed. Pergamon Press, Oxford.
- KW, A. D. 2009. Pengaruh pemberian ekstrak etanol temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*. Roxb) terhadap gambaran histopaologi bursa Fabricius ayam petelur. **Skripsi**. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Manchang, T. K., P. A. Abdu, and L. Saidu. 2004. Epidemiology and clinicopathologic manifestations of *Newcastle disease* in Nigerian local chickens. **Revue Élev. Méd. Vét. Pays Trop**. 57(1-2): 35-39.
- Masum, M. A., M. Z. I. Khan, M. M. Nasrin, M. N. H. Siddiqi., M. Z. I. Khan, and M. N. Islam. 2014. Detection of immunoglobulins containing plasma cells in the thymus, bursa of Fabricius and spleen of vaccinated broiler chickens with *Newcastle disease* virus vaccine. **International Journal of Veterinary Science and Medicine**. 2: 103-108.
- Moerad, B. 1987. *Newcastle Disease Control in Indonesia*. J. W. Copland (Edt). In **Newcastle Disease in**

- Poultry, A New Food Pellet Vaccine.** Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra.
- Partadiredja, M . dan R. D. Soejoedono. 1988. Perbandingan daya guna tiga macam aplikasi vaksin *Newcastle disease*. **Hemera Zoa**. 73(1): 19-24.
- Playfair, J. H. L. and B. M. Chain. 2013. **Immunology at a Glance**. 10th ed. Wiley-Blackwell, USA.
- Ratcliffe, M. J. 2006. Antibodies, immunoglobulin genes and the bursa of Fabricius in chicken B cell development. **Dev. Comp. Immunol.** 30(1-2): 101-118.
- Robinson, L. 1961. **Modern Poultry Husbandry**. 5th ed . Crosby Lockwood ltd, London.
- Salam R. , A. Aslam, S. A. Khan, K. Saeed, and Saleem G. 2003. Effect of different routes of vaccination against *Newcastle disease* on lymphoid organs of broilers. **Pakistan. Vet. J.** 23(2): 78-83.
- Schmidt, E. M. D. S., A. C. Paulillo, L. F. Caron, T. F. Filho, M. Agustini, H. L. B. Ventura, and L. R. Dittrich. 2008. Evaluation of experimental vaccination againts Newcastle Disease and the blood proteinogram in Ring-Necked Pheasants (*Phasianus colchicus*) during breeding season. **International Journal of Poultry Science**. 7(7): 661-664.
- Sheila, P. 2014. Efisiensi ekonomi 2 strain jenis DOC ayam broiler yang berbeda di kandang laboratorium ternak unggas Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin Makassar. **Skripsi**. Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Shomali, T., S. Hamed, M. R. Paryani, S. M. Mohseni, and M. Farzaneh. 2013. Effect of dietary inclusion of *Zataria multiflora* on histological parameters of bursa of Fabricius in broilers. **J. World's Poult. Res.** 3(1): 35-37.
- Susilorini, T. E, E. S. Manik, dan Muharlieni. 2007. **Budidaya 22 Ternak Potensial**. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Tabbu, C. R. 2000. **Penyakit Ayam dan Penanggulangannya**. Kanisius, Yogyakarta.
- Tizard, I.R. 1987. *Pengantar Immunologi Veteriner*. (Diterjemahkan Partodiredjo, M dan S. Hardjosworo). Edisi ke-2. Airlangga Press, Surabaya.
- Wahyuwardani, S., H. Huminto, dan L. Parede. 2005. Efek immunosupresif infeksi reovirus isolat lokal pada ayam pedaging. **Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner**. Bogor: 1049-1055.
- Wibowo, S. E., W. Asmara, M. H. Wibowo, dan B. Sutrisno. 2013. Perbandingan tingkat proteksi program vaksinasi *Newcastle disease* pada broiler. **Jurnal Sain Veteriner**. 31(1): 16-26.
- Wirapati, R. D. 2008. Efektivitas pemberian tepung kencur (*Kaempferia galanga* Linn) pada ransum ayam broiler rendah energi dan protein terhadap performan ayam broiler, kadar kolesterol, persentase hati dan bursa Fabricius. **Skripsi**. Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Yuwono, D. 1995. Perkembangan baru dalam teknologi vaksin virus. **Media Litbangkes**. 5(02): 3-11.