
EFEKTIVITAS BEBERAPA VAKSIN *NEWCASTLE DISEASE* (ND) PADA AYAM LAYER TERHADAP TITER ANTIBODY JUMLAH LEUKOSIT DAN ERITROSIT

Oleh

Deni Febriasyah Hasbawi^{1*}, Kurniawan Sinaga²

^{1,2}Program Studi Peternakan, Universitas Pembangunan Panca Budi

Email: ^{1*}Febriansyahd602@gmail.com

Article History:

Received: 01-08-2025

Revised: 28-08-2025

Accepted: 02-09-2025

Keywords:

Antibody titer, erythrocyte
newcastle disease,
Leukocytes, vaccination.

Abstract: *This study aims to determine the effectiveness of several newcastle disease vaccines in layer chickens on antibody titers, leukocyte counts, and erythrocytes with the hope that administering newcastle disease vaccines to layer chickens will have a positive effect on antibody titers, leukocyte counts, and erythrocytes so that this study can help the public understand newcastle disease vaccination in layer chickens with various vaccines and their effectiveness. This study shows the results of a total of 20 blood samples of laying hens obtained a picture of the blood titer results from the four treatments showed a picture of antibody titers that were still protective, namely ≥ 4 HI Log² with the highest value of 11.78 HI Log², with leukocyte values that increased with the highest value of $32.81 \times 10^3/\mu\text{L}$ so that it is able to provide better immune protection against the new castle disease virus, while the number of erythrocyte cells increased although it was still within the normal range so that it did not have a significant effect on increasing the immunity of laying hens, so in a simple sense vaccination with the newcastle disease vaccine is able to provide immune protection for laying hens with an increase in the number of leukocyte cells and does not affect the number of erythrocyte cells so that it is still within the normal range.*

PENDAHULUAN

Telur merupakan salah satu protein hewani yang paling murah dan mudah di dapatkan oleh masyarakat Indonesia dikarenakan harga yang murah dan stabilitas produk yang baik, kebutuh telur ini ditopang oleh salah satu komoditi unggas penghasil telur yang banyak dibudidayakan oleh peternak di Indonesia. Ayam layer memiliki potensi yang besar untuk menjadi penghasil sumber utama protein hewani bagi masyarakat Indonesia dengan ketersediaan dan aksesibilitas harga yang terjangkau. Produksi telur ayam layer Indonesia pada 2023 diperkirakan sebesar 5,70 juta ton dan akan terus meningkat menjadi 6,17 juta ton pada 2026 dengan rata-rata pertumbuhan 2,63% per tahun. Tantangan yang dihadapi untuk mencapai produksi 6,17 juta ton pada 2026 adalah kondisi manajemen kesehatan ayam layer yang harus di perhatikan, karena pada praktiknya budidaya ayam layer tidak terlepas dari serangan wabah penyakit *Newcastle Disease* (ND) yang sering menyerang ayam layer.

ND merupakan penyakit zoonosis dengan angka morbiditas yang tinggi dan disebabkan oleh virus dengan genus Paramyxivirus, famili Paramyxoviridae. ND dibeberapa daerah sering disebut sebagai pseudo-fowl pest, pseudovogel-pest, avian pest, avian distemper, ranilchet disease, tetelo disease, Korean fowl plague, dan avian pneumoencephalitis (Zubeedy, 2009 dalam Susanti *et al.*, 2021). Penyakit ND dapat menyerang unggas khususnya ayam layer sangat rentan terinfeksi, ND bersifat akut serta menular secara cepat dengan gejala gangguan pernafasan yang sering diikuti oleh gangguan saraf, diare, dan menurunkan produksi telur. Kerugian yang ditimbulkan oleh penyakit ND yaitu berupa kematian ayam yang tinggi, penurunan produksi telur, mordibitas yang ND dianggap sebagai salah satu penyakit strategis di bidang perunggasan. Kejadian wabah penyakit ND sering menyerang kelompok ayam layer yang tidak memiliki antibody yang kuat akibat terlambatnya program vaksinasi.

Vaksinasi merupakan upaya pemberian kekebalan pada unggas dengan menggunakan vaksin yang merupakan pertahanan kedua dalam upaya mengendalikan dan memberantas wabah penyakit pada ayam layer. Vaksin ialah bibit penyakit baik virus maupun bakteri yang sudah dilemahkan atau dimatikan dengan prosedur tertentu yang digunakan untuk merangsang pembentukan antibody serta dapat menahan serangan penyakit. Vaksinan bertujuan untuk merangsang daya tahan tubuh ayam layer dengan cara dimasukkan ke dalam tubuh ayam layer dengan berbagai metode salah satunya adalah tetes mata atau intra orbital yang telah dicampur dengan bahan lainnya. Pengadaan dan penyiapan vaksin yang aman, kuat, dan efektif sangat penting dalam manajemen pengendalian penyakit pada ayam layer. Imunisasi ayam layer dengan vaksin berkualitas tinggi adalah sarana kontrol utama bagi banyak penyakit yang menyerang ayam layer. Vaksin yang digunakan sangat menentukan keberhasilan pengendalian dan pemberantasan penyakit secara nasional.

Beberapa vaksin ND sudah dikembangkan dan diproduksi secara masal di Indonesia untuk mencegah dan memberantas penyakit ND, berdasarkan latar belakang di atas peneliti akan melakukan penelitian evaluasi beberapa vaksin ND terhadap titer antibody jumlah leukosit dan eritrosit pada ayam layer.

LANDASAN TEORI

Ayam Petelur

Menurut Setyono *et al.* (2013), ayam petelur adalah jenis ayam yang dibudidayakan untuk produksi telur. Ayam ras petelur dikenal karena kemampuan produksinya yang tinggi dalam menghasilkan telur (Suci dan Hermana, 2012). Karakteristik ayam petelur meliputi sifat mudah terkejut, bentuk tubuh yang ramping, produksi telur yang tinggi, dan tidak memiliki naluri mengeram (Suprijatna *et al.*, 2008). Di Indonesia, ayam petelur umumnya menghasilkan telur dengan kerabang berwarna coklat (Jahja, 2004). Beberapa strain ayam petelur populer di Indonesia antara lain *Isa Brown*, *Lohmann*, *Hyline*, dan *Rode Island Red* (RIR), yang dikembangkan untuk memiliki produktivitas tinggi, efisiensi pakan, ketahanan, dan periode bertelur yang panjang. Hyline adalah salah satu strain ayam petelur dwiguna yang banyak dipasarkan dan dikembangkan untuk tujuan komersial (Setyono *et al.*, 2013).

Klasifikasi merupakan sistem pengelompokan jenis-jenis ternak berdasarkan karakteristik yang serupa dan berbeda. Berdasarkan sistematika biologi yang dikemukakan oleh Rasyaf (2003), ayam layer (*Gallus gallus*) dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom Animalia, Pilum Chordata, Kelas Aves, Ordo Galliformes, Famili Phasianidae, Genus Gallus, dan Spesies Gallus gallus. Ayam ras petelur sendiri adalah jenis ayam yang dibudidayakan untuk produksi telur dalam jumlah besar dan merupakan hasil akhir dari proses seleksi ayam ras yang tidak boleh disilangkan kembali untuk menjaga kualitas genetiknya (Sudaryani dan Santosa, 2000).

Penyakit Newcastle Disease (ND)

Penyakit Newcastle Disease (ND) merupakan suatu kondisi patologis yang disebabkan oleh Avian Paramyxovirus serotype 1 (APMV-1), sebuah virus RNA yang termasuk dalam genus Avulavirus familia Paramyxoviridae. Virus ND memiliki karakteristik yang sangat menular dan dapat menginfeksi berbagai spesies unggas, termasuk ayam petelur (*Gallus gallus domesticus*), ayam pedaging, dan ayam buras, dengan manifestasi patologi yang khas dan beragam. Penularan penyakit ini dapat terjadi melalui beberapa rute, termasuk inhalasi udara yang terkontaminasi virus dari unggas yang terinfeksi, serta melalui kontak langsung dengan bangkai atau produk unggas yang terkontaminasi virus, seperti daging atau telur (Yulianti *et al.*, 2020). Selain itu, penularan juga dapat terjadi melalui fomites, seperti peralatan, kendaraan, dan pakaian yang terkontaminasi virus.

Penyakit Newcastle Disease (ND) dapat memanifestasikan dirinya dalam berbagai tingkat keparahan, mulai dari infeksi ringan tanpa gejala klinis yang jelas hingga infeksi akut dengan mortalitas yang sangat tinggi, mencapai 100% (Kencana *et al.*, 2015). Gejala klinis yang umum terlihat pada unggas yang terinfeksi ND meliputi gejala respiratori, seperti batuk dan bersin, serta gejala neurologis, seperti tremor dan paralisis. Selain itu, gejala klinis nonspesifik lainnya yang dapat diamati pada unggas yang terinfeksi ND meliputi depresi, bulu rontok, sulit bernafas dengan mulut terbuka, hipertermia, anoreksia, lesu, dan hipotermia sebelum kematian (Agustin dan Ningtyas, 2021).

Faktor-faktor yang dapat memicu timbulnya penyakit ini meliputi perubahan musim, sanitasi dan biosekuriti yang tidak memadai, serta nutrisi yang tidak seimbang (Sahara *et al.*, 2020). Oleh karena itu, pemahaman yang mendalam tentang patogenesis dan dinamika penularan penyakit ND sangat penting untuk pengembangan strategi pencegahan dan pengendalian yang efektif, termasuk vaksinasi, sanitasi, dan biosekuriti yang baik.

Secara patologis, penyakit ND umumnya ditandai dengan kelainan pada saluran pernafasan, pencernaan, dan sistem saraf pusat. Dugaan terhadap ND dapat ditegakkan berdasarkan adanya perdarahan dan nekrosis pada organ limpa, timus, bursa fabricius, dan saluran pencernaan unggas yang sakit (Hewajuli dan Dharmayanti, 2015). Lesi perdarahan dan nekrosis juga dapat ditemukan pada usus kecil, proventrikulus, dan seka tonsil. Oleh karena itu, diagnosis yang akurat dan tepat waktu sangat penting untuk pengendalian penyakit ND yang efektif.

Vaksinasi Unggas

Vaksin merupakan salah satu usaha untuk mengurangi gejala dari infeksi dan mencegah penyebaran virus ND. Vaksin ND yang digunakan di Indonesia terbagi menjadi 2 tipe, yaitu vaksin aktif dan inaktif. Vaksin aktif memiliki biaya produksi yang lebih murah, dan dapat diberikan melalui cairan (minum) (Indriani & Dharmayanti, 2016). Vaksin aktif di Indonesia umumnya menggunakan strain lentogenik dan mesogenik, sedangkan vaksin inaktif menggunakan strain velogenik. Vaksin inaktif lebih direkomendasikan untuk diterapkan di Indonesia karena kesesuaiannya dengan strain velogenik genotipe VII yang mendominasi dibandingkan strain lainnya (Kurnianingtyas *et al.*, 2017).

Titer Antibody Ayam Layer

Sistem imun adalah sistem kekebalan tubuh makhluk hidup yang melindungi diri dari paparan benda asing seperti bakteri dan virus. Sistem imun terbagi menjadi dua, yaitu sistem imun spesifik (*acquired adaptive immunity*) atau imun buatan dan sistem imun nonspesifik (*innate immunity*) atau imun bawaan (Fitri & Putra, 2021). Sistem imun nonspesifik adalah sistem imun yang telah ada sejak lahir seperti pertahanan fisik (kulit, bersin dan batuk), biokimia (pH asam dari keringat dan HCl pada lambung) dan seluler (fagosit dan sel natural killer). Sistem imun ini merupakan bentuk pertahanan awal tubuh dengan mendeteksi zat asing yang tidak mampu diingat oleh sistem imun nonspesifik.

Sistem imunitas spesifik atau adaptif adalah imunitas dengan respon lambat dan melibatkan mekanisme pengenalan spesifik terhadap patogen atau antigen yang terlibat (Aripin, 2019). Sistem imun ini akan bekerja setelah patogen berhasil melewati sistem imun nonspesifik. Sistem ini juga memiliki komponen memori seperti limfosit (sel B dan sel T), sehingga dapat mengenali patogen selanjutnya. Sel limfosit B (imunitas humoral) memiliki fungsi untuk pembentukan antibodi yang beredar didalam darah (Dina *et al.*, 2019).

Sel limfosit T (imunitas seluler) tidak berfungsi untuk membentuk antibodi, namun bertanggung jawab atas penghancuran sel penghasil antigen (Suciyani *et al.*, 2017). Antigen adalah senyawa asing yang bersifat multivalen dan dapat menginduksi pembentukan antibodi sebagai bentuk respon imun. Sifat multivalen adalah sifat antigen yang memiliki lebih dari satu macam titik pengenalan sehingga antigen dapat bereaksi dengan antibodi. Struktur antigen akan mempengaruhi kemampuan antigen untuk dapat bereaksi dengan antibodi, seperti keberadaan epitop yaitu bagian dari molekul antigen yang berikatan bereaksi dengan antibodi pada limfosit T (Antari, 2017).

Antigen yang masuk akan memicu tubuh ayam untuk memberikan respon yaitu dengan pembentukan antibodi selama 1 minggu (Mufidah *et al.*, 2020). Antibodi disebut sebagai protein imunoglobulin (Ig) yang disekresi oleh plasma darah dan dapat digolongkan ke dalam 5 golongan, yaitu Ig D, Ig M, Ig A, Ig G, dan Ig E (Amro *et al.*, 2018). Antibodi telah ada sejak minggu pertama ayam menetas dan berasal dari induknya. Antibodi ini disebut antibodi maternal. Antibodi terbentuk ketika induk mentransfer antibodi ke dalam kuning telur dengan melewati 2 tahap, yaitu transfer imun menuju kuning telur dan transfer antibodi menuju embrio yang sedang berkembang (Mufidah *et al.*, 2020).

Antibodi maternal akan melindungi ayam dari serangan virus dan bakteri pada waktu tertentu. Antibodi ini akan menurun drastis pada ayam berumur 10 hari. Hal ini didukung dengan penelitian yang menyatakan nilai antibodi ayam pada minggu ke 2 menurun hingga 22 (Putra *et al.*, 2020). Maka sebagai tindakan pencegahan, peternak memberikan vaksin agar ayam mampu terhindar dari penyakit jika antibodi maternal sudah tidak ada. Untuk mengetahui keberadaan antibodi pada tubuh ayam pedaging, dilakukan uji serologi titer antibodi yaitu uji *Haemagglutination Assay* (HA)/ *Haemagglutination Inhibition* (HI).

Uji Haemagglutination Inhibition

Uji Haemagglutination Assay (HA) dan Haemagglutination Inhibition (HI) merupakan metode serologi yang umum digunakan untuk diagnosis penyakit Newcastle Disease (ND) pada unggas, karena kemampuan virus ND untuk mengaglutinasi eritrosit (Chaichana *et al.*, 2018). Haemagglutination Assay (HA) adalah suatu teknik diagnostik yang digunakan untuk mendeteksi dan mengukur titer antigen virus ND dalam sampel biologis,

seperti supernatan jaringan embrio, cairan kultur sel, atau allantoic fluid dari telur ayam. Virus ND, sebagai anggota famili Paramyxoviridae, memiliki sifat hemagglutinasi yang memungkinkan deteksi langsung melalui reaksi aglutinasi eritrosit, yang ditandai dengan pembentukan endapan homogen yang menunjukkan hasil positif.

Prosedur pengujian HA telah distandarisasi dan digunakan secara luas dalam tes diagnostik dan evaluasi vaksin oleh lembaga internasional seperti *National Veterinary Services Laboratory* (NVSL) dan *The World Organization for Animal Health* (OIE) (Spackman, 2020). Sementara itu, Haemagglutination Inhibition (HI) merupakan metode yang diandalkan untuk mengukur titer antibodi spesifik terhadap virus ND dalam serum hewan, dengan memanfaatkan kemampuan antibodi untuk menghambat reaksi aglutinasi eritrosit oleh virus. Metode HI dikenal karena kecepatan dan kemudahan aplikasinya di laboratorium, sehingga menjadi alat yang berharga dalam studi seroepidemiologi dan evaluasi efektivitas vaksinasi (Truelove *et al.*, 2016). Dengan demikian, kombinasi uji HA dan HI memberikan pendekatan yang komprehensif untuk diagnosis dan pemantauan penyakit ND pada populasi unggas.

Uji *Haemagglutination Inhibition* (HI) merupakan teknik utama yang digunakan untuk mengukur titer antibodi terhadap virus influenza dan ND, serta menjadi landasan penting dalam menentukan strategi vaksinasi yang efektif. Pada prinsipnya, antibodi spesifik dapat menghambat reaksi aglutinasi eritrosit oleh virus dengan cara mengikat glikoprotein permukaan virus, sehingga mencegah interaksi antara virus dan reseptor sialic acid pada permukaan eritrosit. Ketika konsentrasi virus dan antibodi seimbang, keduanya akan membentuk kompleks yang mencegah eritrosit mengendap di dasar sumur pelat atau tabung mikrotiter, sehingga memungkinkan pengamatan dan penghitungan titer antibodi berdasarkan pola pengendapan eritrosit yang khas (Spackman, 2020).

Uji serologis menggunakan metode HA-HI berkaitan erat dengan deteksi antigen dan antibodi dalam serum darah ayam pedaging. Keberadaan antibodi yang terdeteksi menunjukkan bahwa ayam pedaging telah terpapar dengan virus ND, baik melalui infeksi alami maupun vaksinasi (Yesica, 2013). Oleh karena itu, uji HI menjadi alat yang berharga dalam mengevaluasi status kekebalan populasi unggas dan memantau efektivitas program vaksinasi. Dengan demikian, informasi yang diperoleh dari uji HI dapat digunakan untuk mengoptimalkan strategi pengendalian penyakit dan meningkatkan kesehatan unggas.

Leukosit Ayam Layer

Leukosit, atau sel darah putih, merupakan komponen penting dari sistem kekebalan tubuh yang memiliki kemampuan untuk bergerak secara independen dan melindungi tubuh terhadap infeksi. Gambaran leukosit pada seekor ternak dapat menjadi indikator yang berguna untuk mendeteksi penyimpangan fungsi organ atau infeksi oleh agen patogen dan benda asing (Lestari *et al.*, 2013). Leukosit berfungsi sebagai garis pertahanan pertama tubuh terhadap kuman penyakit dengan cara melakukan fagositosis dan menghasilkan antibodi (Wardiny *et al.*, 2012).

Leukosit memiliki dua mekanisme pertahanan utama, yaitu menghancurkan langsung bakteri dan virus melalui fagositosis, serta membentuk antibodi yang dapat menghancurkan patogen. Proses ini melibatkan berbagai organ dan jaringan limfoid, seperti sumsum tulang, kelenjar limfe, timus, tonsil, dan sel-sel limfoid lainnya (Guyton dan Hall, 1997 dalam Arfah, 2015).

Berdasarkan karakteristik morfologinya, leukosit dapat dibagi menjadi dua kelompok utama, yaitu granulosit dan agranulosit. Granulosit terdiri dari heterofil, eosinofil, dan basofil, sedangkan agranulosit terdiri dari monosit dan limfosit (Cahyaningsih *et al.*, 2007). Pemahaman tentang jenis dan fungsi leukosit sangat penting dalam mendiagnosis dan memantau kondisi kesehatan ternak.

Eritrosit Ayam Layer

Eritrosit, atau sel darah merah, merupakan komponen penting dari sistem sirkulasi darah yang berfungsi membawa hemoglobin dan oksigen ke jaringan tubuh. Pada unggas, eritrosit memiliki bentuk oval dengan inti sel yang terletak di tengah dan struktur bikonkaf yang khas, yang dibentuk di sumsum tulang belakang (Ganong, 2008). Komposisi eritrosit terdiri dari air (65%), hemoglobin (33%), serta komponen lainnya seperti sel stroma, lemak, mineral, vitamin, dan ion kalium (Kusumawati, 2004).

Fungsi utama eritrosit adalah membawa oksigen dari paru-paru ke jaringan tubuh, mengedarkan nutrisi, serta mengangkut sisa-sisa metabolisme ke ginjal untuk diekskresikan. Pembentukan eritrosit pada unggas dimulai pada masa embrional dalam kantung telur, kemudian berlanjut di limpa dan sumsum tulang setelah perkembangan embrio (Guyton dan Hall, 2010). Proses pembentukan eritrosit memerlukan bahan-bahan seperti zat besi, vitamin B12, asam folat, vitamin B6, protein, dan faktor lainnya (Fauci *et al.*, 2008).

Faktor-faktor seperti pemberian unsur Cu dan Fe dengan rasio tertentu dapat mempengaruhi status hematologis dan pertumbuhan ayam (Praseno, 2005). Jumlah eritrosit juga dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti umur, jenis kelamin, aktivitas individu, nutrisi, ketinggian tempat, dan suhu lingkungan (Suprijatna, 2008; Guyton dan Hall, 2010). Kadar normal eritrosit pada ayam berkisar antara 2,0-3,2 juta mm⁻³, yang dapat menjadi indikator penting dalam mengevaluasi status kesehatan unggas.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) non factorial yang terdiri dari 4 perlakuan dan 5 ulangan dengan bahan dan alat yang digunakan yaitu: 20 ekor ayam layer yang sudah divaksinasi umur 20 Minggu, Alkohol, NaCl fisiologis 0.9%, kapas. Alat yang digunakan yaitu spuit ukuran 3 cc, tabung venoject dengan antikoagulan, box, tabung reaksi, sentrifug, tabung microplate, multichannel pipet dengan diikuti perlakuan yang diberikan adalah sebagai berikut :

V0 : Kontrol (Ayam Layer Tanpa Vaksin)

V1 : Ayam Layer Vaksin ND Sanbe

V2 : Ayam Layer Vaksin ND Mensana

V3 : Ayam Layer Vaksin ND Medion

Ulangan yang didapat berasal dari rumus :

$$P (n-1) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 15 + 4$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 19/4$$

$n = 4,8$ atau 5

Analisis Data

Data hasil penelitian akan dianalisis dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan metode linear sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

Keterangan :

Y_{ij} = Hasil pengamatan pengaruh perlakuan ke - i dan ulangan ke - j

μ = Nilai tengah umum

τ_i = Pengaruh perlakuan ke - i

ϵ_{ij} = Galat percobaan akibat perlakuan ke-i dan ulangan ke - j

Data hasil penelitian dianalisis dengan sidik ragam. Jika diperoleh hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$) dilanjutkan dengan uji lanjut sesuai dengan koefisien keragaman hasil penelitian (Hanafiah, 2014).

Pelaksanaan penelitian

Pengambilan Sampel Darah

Pengambilan sampel darah dilakukan pada setiap ayam layer yang sudah divaksin dan tidak divaksin dengan cara pengambilan dari bagian vena brachialis dan lokasinya berada dibagian sayap bawah ayam layer. Pengambilan sampel darah ayam dilakukan menggunakan spuit 3 cc dengan jumlah pengambilan 1 ml hingga 1,5 ml. Sampel darah yang sudah berhasil diambil dimasukkan ke dalam tabung venoject, dan disimpan ke dalam box berisi es untuk dibawa ke laboratorium guna dilakukan pengujian. Sampel darah yang sudah dikoleksi, dibiarkan agar serum terpisah dengan sel darah merah, kemudian serum dimasukkan ke dalam microtube lalu disimpan pada suhu 4° C.

Pembuatan Suspensi Eritrosit

Pembuatan suspensi eritrosit ayam dimulai dengan pengambilan darah dari ayam yang Spesific Pathogen Free (SPF), yaitu ayam yang tidak memiliki titer antibodi dan berusia di atas 3 bulan. Darah diambil sebanyak 3 ml melalui vena brachialis dan ditampung dalam tabung reaksi steril yang berisi antikoagulan. Kemudian, darah dan antikoagulan dicampur perlahan dengan cara mengocok tabung membentuk angka delapan untuk memastikan campuran yang homogen.

Setelah itu, 10 ml NaCl fisiologis 0,9% steril ditambahkan ke dalam tabung, kemudian disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Supernatan kemudian dibuang, dan proses pencucian diulangi sebanyak tiga kali hingga supernatan jernih dan eritrosit mengendap di dasar tabung. Setelah proses pencucian selesai, supernatan dibuang, dan diperoleh eritrosit 100%.

Suspensi eritrosit ayam 0,5% kemudian dibuat dengan menambahkan 99,5 ml larutan NaCl fisiologis 0,9% ke dalam 0,5 ml eritrosit ayam 100%. Suspensi eritrosit ini dapat digunakan langsung atau disimpan dalam lemari es dengan suhu 4°C (Amanu dan Rohi, 2005 dalam Agustin dan Ningtyas, 2021).

Untuk melakukan uji Hemagglutination (HA), microplate diisi dengan 25 µl NaCl fisiologis 0,9% pada setiap sumur, mulai dari sumur 1 hingga 12, menggunakan multichannel pipet. Kemudian, antigen dan NaCl fisiologis 0,9% dicampurkan pada sumur pertama, dan dilakukan pengenceran serial hingga sumur ke-11. Sumur ke-12 digunakan sebagai kontrol eritrosit tanpa antigen. Semua sumur kemudian diisi dengan 50 µl eritrosit ayam 0,5%.

Microplate kemudian digoyangkan dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit

atau hingga eritrosit pada sumur kontrol mengendap sempurna. Setelah itu, titer antigen dapat dibaca berdasarkan reaksi hemaglutinasi yang terjadi. Interpretasi hasil uji HA didasarkan pada pembentukan lapisan eritrosit yang merata pada dasar sumur, yang menunjukkan reaksi hemaglutinasi positif. Titer antigen didefinisikan sebagai jumlah terkecil dari pengenceran tertinggi yang masih mampu menunjukkan reaksi hemaglutinasi (OIE, 2012).

Titer 4 unit HA kemudian digunakan sebagai bahan uji Hemagglutination Inhibition (HI) untuk mendeteksi keberadaan antibodi spesifik terhadap virus tertentu dalam serum hewan. Dengan demikian, uji HA dan HI menjadi alat yang penting dalam diagnosis dan pemantauan penyakit pada unggas.

Uji Haemagglutination Inhibition (HI)

Uji *Hemagglutination Inhibition* (HI) dimulai dengan mengisi setiap sumur plat mikro dengan 25 µl PBS. Serum kemudian ditambahkan ke dalam sumur pertama dan kedua, dan diencerkan secara serial dengan kelipatan dua mulai dari sumur kedua hingga sumur ke-10 menggunakan *microdiluter*. Setelah itu, 25 µl suspensi antigen 4 HA unit ditambahkan ke dalam sumur pertama hingga ke-11, sedangkan sumur ke-12 digunakan sebagai kontrol dengan penambahan 25 µl PBS.

Mikroplate kemudian di-shaker selama 30 detik dan didiamkan selama 30 menit untuk memungkinkan reaksi antara antigen dan antibodi. Setelah itu, 0,05 mL suspensi sel darah merah 1% ditambahkan ke dalam setiap sumur, dan mikroplate di-shaker kembali selama 30 detik. Mikroplate kemudian diinkubasi selama 1 jam pada suhu kamar, dan hasilnya dibaca setiap 15 menit hingga maksimal 1 jam.

Titer HI ditentukan sebagai antilog pengenceran tertinggi dari serum yang masih mampu menghambat aglutinasi eritrosit 1% secara sempurna (OIE, 2012). Hasil uji HI dapat dilihat dari pembentukan aglutinasi eritrosit, dan titer antibodi dapat ditentukan berdasarkan pengenceran tertinggi yang masih menunjukkan reaksi aglutinasi yang sempurna. Dengan demikian, uji HI menjadi alat yang berguna untuk mendeteksi keberadaan antibodi spesifik terhadap virus tertentu dalam serum hewan.

Uji Jumlah Leukosit dan Eritrosit

Penghitungan jumlah leukosit dapat dilakukan dengan metode manual, yaitu dengan menghitung leukosit dalam darah yang telah diencerkan dan diisi ke dalam bilik hitung. Kemudian, jumlah leukosit dihitung menggunakan mikroskop (Gandasoebrata, 2010). Metode ini melibatkan beberapa langkah, yaitu pengenceran darah, pengisian bilik hitung, dan penghitungan jumlah leukosit dengan menggunakan mikroskop untuk mendapatkan hasil yang akurat.

Perlakuan dan Pengambilan Data

Perlakuan dilakukan pada saat ayam layer berusia 20 minggu, kemudian dilakukan vaksinasi ND dengan metode tetes mata atau intra orbital. Pengambilan data dilakukan 14 hari setelah vaksinasi dilakukan.

Parameter penelitian :

1. Titer Antibody

Titer antibody dihitung berdasarkan metode uji HI. Prosedur uji Hemagglutination Inhibition (HI) dimulai dengan mengisi setiap sumur plat mikro dengan 25 µl larutan PBS, kemudian serum ditambahkan ke dalam sumur pertama dan kedua, diikuti dengan

pengenceran serial kelipatan dua dari sumur kedua hingga sumur ke-10 menggunakan microdiluter. Suspensi antigen 4 HA unit sebanyak 25 µl ditambahkan ke dalam sumur pertama hingga ke-11, sedangkan sumur ke-12 digunakan sebagai kontrol negatif dengan penambahan 25 µl PBS. Setelah itu, mikropate di-shaker selama 30 detik dan didiamkan selama 30 menit, kemudian 0,05 mL suspensi sel darah merah 1% ditambahkan ke dalam setiap sumur dan di-shaker kembali selama 30 detik. Mikropate diinkubasi pada suhu kamar selama 1 jam, dengan pembacaan hasil setiap 15 menit hingga maksimal 1 jam. Titer HI ditentukan sebagai antilog pengenceran tertinggi dari serum yang masih mampu menghambat aglutinasi eritrosit 1% secara sempurna (OIE, 2012). Hasil uji HI menunjukkan titer antibodi berdasarkan pembentukan aglutinasi eritrosit.

2. Jumlah Leukosit

Analisis Kode sampel	Titer Antibody (HI Log ²)	Eritrosit (10 ⁶ /µL)	Leukosit (10 ³ /µL)
V0	5,26 ^A	2,86 ^A	24,25 ^A
V1	10,78 ^C	3,47 ^C	31,85 ^B
V2	10,36 ^B	3,86 ^D	32,25 ^C
V3	11,78 ^D	3,33 ^B	32,81 ^D

Penghitungan jumlah leukosit dilakukan secara manual dengan menggunakan kamar hitung, yang melibatkan beberapa langkah, yaitu pengenceran darah, pengisian bilik hitung, dan penghitungan jumlah leukosit di bawah mikroskop (Gandasoebrata, 2010). Dengan metode ini, leukosit dalam darah dapat dihitung secara akurat untuk menentukan jumlah leukosit dalam sampel darah.

3. Jumlah Eritrosit

Penghitungan jumlah leukosit dilakukan secara manual dengan metode kamar hitung, yang meliputi proses pengenceran darah, pengisian bilik hitung, dan pengamatan serta penghitungan leukosit menggunakan mikroskop untuk mendapatkan hasil yang akurat (Gandasoebrata, 2010).

Analisis Kode sampel	Titer Antibody (HI Log ²)	Eritrosit (10 ⁶ /µL)	Leukosit (10 ³ /µL)
V0	5,26 ^A	2,86 ^A	24,25 ^A
V1	10,78 ^C	3,47 ^C	31,85 ^B
V2	10,36 ^B	3,86 ^D	32,25 ^C
V3	11,78 ^D	3,33 ^B	32,81 ^D

HASIL DAN PEMBAHASAN

Nilai hematologi pada penelitian ini seperti pada Table 1. Dibawah ini:
Tabel 1. Hasil Analisis Titer Antibody, Eritrosit Dan Leukosit Pada Darah Ayam Layer Dengan Penggunaan Beberapa Merek Vaksin *Newcastle Disease*.
Setiap huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (P< 0,05)

Hasil uji lanjut pada Titer antibody dan Eritrosit dilakukan menggunakan uji anova ral

tanpa adanya uji lanjut disebabkan nilai koefisien keragaman lebih besar (diatas 5%) sementara itu pada nilai Leukosit dilakukan uji lanjut dengan uji lanjut BNJ karena nilai koefisien keragaman lebih kecil (dibawah 5%). Setiap huruf yang berbeda dalam kolom yang sama memperlihatkan perbedaan yang sangat nyata berdasarkan sampel yang digunakan pada penelitian. Nilai titer antibody pada perlakuan V0 menunjukkan nilai >0 disebabkan ayam yang digunakan sudah pernah dilakukan vaksinasi *newcastle disease* dan penelitian ini merupakan program revaksinasi yang diambil sebagai sampel penelitian dengan umur sampel 20 minggu yang dimana hal ini membuktikan bahwa sudah pernah dilakukan vaksinasi sebelumnya.

Titer Antibody

Analisis hasil keragaman pada tabel 1. Membuktikan bahwa dengan melakukan vaksinasi berpengaruh sangat nyata ($P<0,05$) terhadap titer antibody yang ditingkatkan pada perlakuan V1, V2 dan V3 dimana titer tertinggi didapatkan pada perlakuan V3 yaitu $11,78 \text{ HI Log}^2$. Tingginya titer yang dihasilkan dipengaruhi beberapa hal menurut (Hewajuli dan Dharmayanti 2015). Yang menyatakan bahwa respon imun yang diperantarai sel mulai memuncak selama minggu ke-2 sampai ke-3 atau lebih setelah dilakukan vaksinasi ND. Selain itu (Faramitha *et al.* 2024) menyatakan bahwa tinggi rendahnya titer yang dihasilkan dari suatu produk vaksin yang telah diaplikasikan dipengaruhi oleh strain vaksin yang digunakan. Dimana strain vaksin terbagi menjadi 3 yaitu, *Lentogenik* (Ringan), *Mesogenik* (sedang), *Velogenik* (sangat ganas). Titer pada perlakuan V0 menunjukkan titer sebesar $5,26 \text{ HI Log}^2$ dimana titer tersebut masih mampu melindungi ayam dari penyakit ND dimana (OIE, 2012) Menyatakan bahwa titer $\geq 4 \text{ HI Log}^2$ masih mampu melindungi ayam dari penyakit ND sebesar 100%. Selain itu juga (Kencana, *et al.*, 2017) mengungkapkan bahwa titer yang masih tinggi pada saat vaksinasi mampu meningkatkan titer antibody disebabkan lebih cepatnya pembentukan titer dikarenakan sel telah mengenal virus yang masuk sebelumnya sehingga mempercepat pembentukan antibody pada vaksinasi selanjutnya.

Jumlah Leukosit

Analisis hasil keragaman pada tabel 1. Menunjukan nilai sebesar $31,85 \text{ } 10^3/\mu\text{L}$ - $32,81 \text{ } 10^3/\mu\text{L}$ berbeda sangat nyata pada keempat perlakuan ($P<0,05$) yang dimana hasil perhitungan jumlah total leukosit ayam petelur 2 minggu pasca vaksinasi ND nilainya berada diatas kondisi normal atau mengalami peningkatan dimana pada kondisi normal jumlah sel leukosit yaitu $12 \text{ } 10^3/\mu\text{L}$. hal ini sejalan dengan pernyataan (Amer *et al.*, 2013) yang mengatakan bahwa leukositosis pascavaksinasi ditandai dengan peningkatan jumlah limfosit akibat adanya efek imunostimulator dari vaksin yang digunakan, dimana leukositosis diartikan sebagai jumlah leukosit yang nilainya diatas standar normal. Peningkatan sel limfosit pasca vaksinasi yang merupakan sel darah yang berperan penting dalam respon imun spesifik yang mampu memicu pembentukan antibody pasca vaksinasi. Hal ini sejalan dengan pernyataan (Siswanto *et al.* 2016) yang mengatakan bahwa jumlah limfosit dan titer antibody mengalami peningkatan pasca vaksinasi ND pada ayam.

Jumlah Eritrosit

Hasil penelitian pada analisis keragaman menunjukan perbedaan yang sangat nyata ($P<0,05$) diantara perlakuan pada jumlah eritrosit dimana setelah dilakukan vaksinasi menunjukan nilai sebesar $31,85 \text{ } 10^6/\mu\text{L}$ - $32,81 \text{ } 10^6/\mu\text{L}$ pada perlakuan V1 sampai V3 yang dimana nilai yang dihasilkan masih masuk kategori rentang normal, dengan nilai rujukan

atau nilai normal berkisar $2,5 \times 10^6/\mu\text{L}$ - $3,9 \times 10^6/\mu\text{L}$. Dengan kata lain vaksinasi ND tidak berpengaruh besar terhadap peningkatan jumlah sel eritrosit pada ayam petelur hal ini sejalan dengan penelitian (Agustin *et al.*, 2021) yang menyatakan bahwa eritrosit pada ayam petelur setelah dilakukan vaksinasi ND tetap berada pada rentang normal, baik yang diberikan pada ayam muda atau yang diulang (*revaksinasi*) tidak secara signifikan mengubah jumlah eritrosit dalam darah baik menggunakan vaksin live ataupun vaksin inaktif.

KESIMPULAN

Adapun kesimpulan dari penelitian ini adalah dari total 20 sampel darah ayam petelur yang diperoleh gambaran hasil titer darah dari keempat perlakuan menunjukkan hasil titer antibody yang masih protektif dari penggunaan tiga merek vaksin yang dibandingkan, yaitu $\geq 4 \text{ HI Log}^2$ dengan nilai tertinggi sebesar $11,78 \text{ HI Log}^2$ dengan nilai leukosit yang mengalami peningkatan dengan nilai tertinggi sebesar $32,81 \times 10^3/\mu\text{L}$ sehingga mampu memberikan proteksi kekebalan tubuh yang lebih baik melawan virus ND, sedangkan jumlah sel eritrosit mengalami peningkatan walaupun masih berada dalam rentang normal sehingga tidak berpengaruh signifikan terhadap peningkatan kekebalan tubuh ayam petelur.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Agustin, A. L. D., & Ningtyas, N. S. I. I. (2021). Titer Antibody of Newcastle Disease in Layer Chicken in Narmada District, West Lombok. *Jurnal Medik Veteriner*, 4(1), 98-103.
- [2] Akbar, S., Ardana, I. B. K., & Suardana, I. B. K. (2017). Perbandingan titer antibodi Newcastle Disease pada ayam petelur fase layer I dan II. *Indonesia Medicus Veterinus*, 6(4), 327-333.
- [3] Ali Hanafiah, Kemas. 2014. Rancangan Percobaan Teori & Aplikasi, Palembang : Universitas Sriwijaya.
- [4] Amro, W. A., Al-Qaisi, W., & Al-Razem, F. (2018). Production and purification of IgY antibodies from chicken egg yolk. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(1), 99-103.
- [5] Antari, A. L. (2017). *Imunologi Dasar* (1st ed.). Yogyakarta: Deepublish Publisher
- [6] Arfah, N. H. (2015). Pengaruh pemberian tepung kunyit pada ransum terhadap jumlah eritrosit, hemoglobin, pcv, dan leukosit ayam broiler. Universitas Hasannudin Makasar, Makasar.
- [7] Aripin, I. (2019). Pendidikan nilai pada materi konsep sistem imun. *Bio Educatio*, 4(1), 377842.
- [8] Cahyaningsih, U., Malichatin, H., & Hedianto, Y. E. (2007). Diferensial leukosit pada ayam setelah diinfeksi *Eimeria tenella* dan pemberian serbuk kunyit (*Curcuma domestica*) dosis bertingkat.
- [9] Chaichana, P., Jenjaroen, K., Amornchai, P., Chumseng, S., Langla, S., Rongkard, P., Sumonwiriya, M., Jeeyapant, A., Chantratita, N., Teparrukkul, P., Limmathurotsakul, D., Day, N. P. J., Wuthiekanun, V., & Dunachie, S. J. (2018). Antibodies in melioidosis : The role of the indirect hemagglutination assay in evaluating patients and exposed populations. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 99(6), 1378–1385. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.17-0998>
- [10] Dewi, M., Abrar, M., Jamin, F., & Manaf, Z. H. (2015). Deteksi antibodi serum ayam kampung (*gallus domesticus*) terhadap virus Newcastle Disease di Kota Banda

- Aceh. Jurnal Medika Veterinaria, 9(1).
- [11] Dina, D., Zaini, M., & Yahya, Y. (2019). Gambaran Pemeriksaaan Hapusan Darah Tepi Diffcount (Sel Limfosit) Pada Penderita TBC Di Puskesmas Kelayan Timur Banjarmasin. Jurnal Kajian Ilmiah Kesehatan dan Teknologi, 1(2), 34-38.
 - [12] Fitri, W. E., & Putra, A. (2021, February). Peranan Senyawa Flavonoid Dalam Meningkatkan Sistem Imun Di Masa Pandemi Covid-19. In Prosiding Seminar Nasional Stikes Syedza Saintika (Vol. 1, No. 1).
 - [13] Hewajuli, D. A., & Dharmayanti, N. L. P. I. (2015). Peran sistem kekebalan non-spesifik dan spesifik pada unggas terhadap newcastle disease. Wartazoa, 25(3), 135-146.
 - [14] Jahja, J. 2004. Ayam Sehat Ayam Produktif. Bandung: Medion Poultry Printing.
 - [15] Kencana, G. A. Y., Suartha, N., Simbolon, M. P., Handayani, A. N., Ong, S., & Kusumastuti, A. (2015). Respons Antibodi terhadap Penyakit Tetelo pada Ayam yang Divaksin Tetelo dan Tetelo-Flu Burung (Newcastle Disease/Nd Antibody Response Of Chickens Vaccinated With Nd Single And Combined Nd And Avian Influenza Vaccines). Jurnal Veteriner, 16(2).
 - [16] Kencana, G. A. Y., Suartha, I. N., Paramita, N. M. A. S., & Handayani, A. N. (2016). Vaksin kombinasi newcastle disease dengan avian influenza memicu imunitas protektif pada ayam petelur terhadap penyakit tetelo dan flu burung. Jurnal Veteriner, 17(2), 257-264.
 - [17] Kencana, G. A., Suartha, I. N., Nainggolan, D. R. B., & Tobing, A. S. L. (2017). Respons imun ayam petelur pascavaksinasi newcastle disease dan egg drop syndrome. Jurnal Sain Veteriner, 35(1), 81-90.
 - [18] Kurnianingtyas, E., Setyaningsih, S., & Indrawati, A. (2017). Penentuan Patotipe Molekuler Virus Newcastle Disease: Isolat Lapang di Tiga Wilayah Kabupaten Jawa Timur. Acta Veterinaria Indonesia, 5(1), 8-15. Mahon, P.
 - [19] Lestari, S. H. A., Ismoyowati, I. M., & Indradji, M. (2013). Kajian jumlah leukosit dan diferensial leukosit pada berbagai jenis itik lokal betina yang pakannya disuplementasi probiotik. Jurnal Ilmiah Peternakan, 1(2), 699-709.
 - [20] Lisnanti, E. F. (2022). Profil Titer Antibodi Avian Influenza Pada Ayam Layer Di Kandang Sistem Terbuka Dan Tertutup. Jurnal Ilmiah Fillia Cendekia, 7(2), 78-82.
 - [21] Mufidah, T., Purwaningsih, U., Nafiqoh, N., & Lusiastuti, A. M. (2020). Immunoglobulin Yolk Anti Streptococcus agalactiae Untuk Immunoterapi Penyakit Streptococcosis Pada Ikan Nila (Oreochromis niloticus). Jurnal Riset Akuakultur, 15(2), 103-110.
 - [22] Putra, I., Wasito, R., & Wuryastuty, H. (2020). Penambahan Water Additive Kimchi Dapat Mencegah Infeksi Alami Flu Burung (Avian Influenza) pada Ayam Pedaging. Jurnal Veteriner, 21(1).
 - [23] Rahmawati, A., Wijaya, N. S., Purnama, M. T. E., Rahmahani, J., Yudhana, A., & Yunita, M. N. (2018). Pengaruh Ekstrak Kulit dan Jus Buah Delima Putih (Punica granatum L.) Terhadap Titer Antibodi Ayam Kampung Super yang Divaksin Newcastle Disease. Jurnal Medik Veteriner, 1(3), 68-73.
 - [24] Rizal, M. Y., & Prasetyo, D. (2022). Pemeriksaan patologi anatomi dan pengukuran titer antibodi Avian Influenza dan Newscatle Disease pasca vaksinasi pada peternakan ayam petelur di Brenda Farm. ARSHI Veterinary Letters, 6(2), 21-22.
 - [25] Sahara, E., N. Gofar, dan M. Apriandi. 2020. Peran jamu hewan untukantisipasi penyakit ND (newcastle disease) pada ternak unggas. Jurnal Pengabdian Sriwijaya. 8(2): 1028-

- 1033.
- [26] Saputro, B., Santosa, P. E., & Kurtini, T. (2014). Pengaruh cara pemberian vaksin nd live pada broiler terhadap titer antibodi, jumlah sel darah merah dan sel darah putih. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 2(3).
 - [27] Setyono, D. J. dkk. 2013. *Sukses Meningkatkan Produksi Ayam Petelur*. Jakarta : Penebar Swadaya
 - [28] Spackman, E. (2020). *Animal influenza virus (Methods in molecular biology)* (3rd ed.). Humana Press. <https://doi.org/doi:10.1007/978-1-0716-0346-8>
 - [29] Suci, D. M., dan W. Hermana. 2012. *Pakan Ayam*. Penebar Swadaya. Jakarta.
 - [30] Suciyani, S., Naim, N., & Armah, Z. (2018). Analisis Kuantitas dan Hitung Jenis Leukosit pada Petugas Radiologi di Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat (BBKPM) Makassar. *Media Kesehatan Politeknik Kesehatan Makassar*, 12(1), 59-65.
 - [31] Sudaryani dan Santoso. 2000. *Pemeliharaan Ayam Ras Petelur di Kandang Baterai*. Penerbit PT. Penebar Swadaya. Jakarta.
 - [32] Suprijatna, E., U. Atmomrsono dan R. Kartasudjana. 2008. *Ilmu Dasar Ternak Unggas*. Penebar Swadaya, Jakarta.
 - [33] Susanti, W. G., Wicaksono, A., & Basri, C. (2021). Kejadian kasus penyakit newcastle di peternakan ayam buras di Kabupaten Barru. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 26(3), 379-385.
 - [34] Truelove, S., Zhu, H., Lessler, J., Riley, S., Read, J. M., Wang, S., On, K., Yi, K., Qiang, C., & Derek, J. (2016). A comparison of hemagglutination inhibition and neutralization assays for characterizing immunity to seasonal influenza A. *Influenza and Other Respiratory Viruses*, 10, 518–524. <https://doi.org/10.1111/irv.12408>
 - [35] Wardiny, T. M., & Retnani, Y. Taryati. 2012. Pengaruh ekstrak daun mengkudu terhadap profil darah puyuh starter. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan*, 2(2), 110-120.
 - [36] Wulandari, I., Rahmahani, J., Rahmawati, I., Putih, N., Azahro, A., Ernawati, R., & Rantam, F. A. (2021). Karakterisasi Molekuler Protein Hemagglutinin-Neuraminidase Virus Newcastle Disease (ND) di Surabaya Tahun 2003 dan 2016. *Jurnal Medik Veteriner*, 4(2), 231-242.
 - [37] Yesica, R. (2013). Deteksi antibodi Avian influenza (Subtipe H5) dengan uji HI (Hemagglutination inhibition) pada serum merpati (*Columba livia*) yang diambil dari Pasar Banjaran Kota Kediri. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
 - [38] Yulianti, V., I.B.K. Suardana, dan I.M. Sukada. 2020. Seroprevalensi penyakit tetelo pada ayam kampung yang disembelih di rumah potong unggas di Kota Denpasar. *Indonesia Medicus Veterinus*. 9(3): 392- 400.

HALAMAN INI SENGAJA DIKOSONGKAN