PERBANDINGAN BEBERAPA PROGRAM VAKSINASI PENYAKIT NEWCASTLE PADA AYAM BURAS

COMPARATION AMONG SEVERAL NEWCASTLE DISEASE VACCINATION PROGRAM ON THE NATIVE CHICKEN.

Michael Haryadi Wibowo 1, Surya Amanu 1

Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta Email: mhwibowo@ugm.ac.id

ABSTRACT

Newcastle Disease (ND) is one of a common avian diseases in Indonesia due to its high mortality rate and economic losses. Infection of ND in native chickens appear to be major cause of mortality, up to 60 % per year and serves as major constrain in the developing of native chicken population, although the indigenous breed have a reputation for resistance to the disease. The aim of this study is to develop vaccination program on the native chicken to obtain the desired immunity and protection against ND, using antibody titer and challenge test protection parameters. A total of 100 day-old chick (DOC) of native chicken was randomly divided into 4 groups, each contains 25 birds. Group A received 3-time live vaccine on the 7, 21 and 42 days. Second group (B) treated 2-time live vaccine on the 7 and 21 days respectively. Third group (C) used the combination of live and killed vaccine applied on the 7 day. The last group (D) received 2-time live vaccine applied on the 7 and 35 days respectively. Blood samples for estimation of the serum hemaglutination antibody level against ND were taken on the 63-day. The challenge test was conducted one week after taking blood samples, to confirm the protective antibody level. The level of antibody response was analyzed and compared between group using analysis of variants and Tukey-HSD test. The results obtained in this study indicate that vaccination program using the combination of live and killed vaccine at 7 days of age (group C) induces the best antibody responses with significant difference. Confirmation of its level protection of the hemagglutination inhibition titer give the best protection.

Key words: native chicken, Newcastle disease, vaccination, antibody response

ABSTRAK

Penyakit Newcastle atau lebih populer dikenal sebagai Newcastle disease (ND) merupakan salah satu penyakit ayam yang penting di Indonesia karena dapat menimbulkan kerugian ekonomi yang cukup besar berupa kematian ayam dengan prosentase tinggi. Infeksi virus ND pada ayam buras dapat menyebabkan kematian mencapai 60% dari populasi, oleh karenanya sangat menghambat perkembangan ayam buras di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji penerapan beberapa program vaksinasi ND pada ayam buras dengan parameter terukur titer antibodi dan daya tahan ayam, melalui uji tantang dengan virus velogenik viserotropik Newcastle Disease (VVND) atau virus ND virulen. Ayam buras sebanyak 100 ekor, dibagi menjadi 4 kelompok masing-masing 25 ekor. Kelompok A diterapkan program vaksinasi ND aktif pada umur 7 hari, 21 hari dan 42 hari. Program B dengan vaksin ND aktif pada umur 7 hari dan 21 hari. Program C dengan vaksin ND aktif digabung vaksin inaktif umur 7 hari, Program D dengan vaksin ND aktif umur 7 hari dan 35 hari. Koleksi serum anti ND dilakukan pada umur 63 hari. Sebagai konfirmasi tingkat proteksi antibodi dilakukan uji tantang dengan virus ND virulen pada umur 70 hari. Hasil uji hemaglutinasi inhibisi (HI) dari beberapa kelompok perlakuan tersebut didata dan kemudian dianalisis dengan analisa varian, sedangkan untuk

membandingkan efek antar perlakuan dianalisis dengan uji Tukey-HSD. Analisis statistik menunjukkan bahwa vaksinasi ND dengan vaksin aktif dan inaktif yang diberikan pada umur 7 hari, menghasilkan titer tertinggi dan berbeda secara nyata dibandingkan program lainnya. Konfirmasi proteksi dengan uji tantang terhadap titer HI kelompok ayam tersebut mampu bertahan terhadap tantangan virus ND virulen.

Kata kunci: ayam buras, Newcastle disease, vaksinasi, respon antibodi

PENDAHULUAN

Ayam kampung atau lebih dikenal sebagai ayam buras (bukan ras) merupakan salah satu sumber plasma nuftah yang mempunyai potensi penggerak ekonomi pedesaan. Hal tersebut dikarenakan beberapa nilai lebih yang dimiliki ayam buras antara lain: pemeliharaannya sederhana, memerlukan modal sedikit sehingga dapat dibudidayakan dalam skala rumah tangga yang dapat memberikan penghasilan tambahan dan sumber protein keluarga yang berkualitas (Folitse dkk., 1998). Pangsa pasar ayam buras cukup tersedia, mudah dipasarkan dan tidak dapat digantikan oleh ayam komersial lainnya. Komoditas telur dan daging ayam buras mempunyai harga yang lebih stabil dan selalu lebih tinggi dari ayam ras petelur, dan oleh karenanya ayam buras diharapkan dapat sebagai usaha agribisnis yang dapat diandalkan oleh peternak kecil dan tetap relevan pada masa sekarang (Darjono, 2001). Potensi pasar ayam buras cukup menjanjikan, misalnya beberapa produk olahan ayam buras seperti ayam goreng mbok Sabar, ayam goreng Suharti menjadi simbol dan citra kota Yogyakarta. Kondisi tersebut merupakan peluang pasar tersendiri.

Pada umumnya ayam buras belum dikelola dengan baik. Perkandangan masih seadanya, bahkan tanpa ada kandang sama sekali. Unggas tersebut biasanya dibiarkan berkeliaran untuk mencari makan sendiri, hanya kadang-kadang diberikan pakan tambahan berupa sisa-sisa makanan

pemiliknya. Program pencegahan dan pengendalian penyakit, sama sekali belum ada. Meskipun ayam buras tersebut mempunyai reputasi ketahanan terhadap penyakit, tetapi pada kenyataannya perkembangan ayam buras menjadi terhambat karena kematian ayam yang dapat mencapai lebih dari 50 % per tahun (Folitse dkk., 1998). Lebih lanjut dijelaskan bahwa penyakit utama yang berperan sebagai penyebab kematian ayam buras tersebut adalah virus velogenik viserotropik Newcastle disease (VVND) atau penyakit Newcastle bentuk pencernaan, yang dikenal sebagai salah satu penyakit ND paling virulen. Hal tersebut dipertegas oleh Sardjono (1993) bahwa virus ND yang banyak terdapat di Indonesia tersebut, termasuk dalam patotipe VVND yang merupakan virus ND paling virulen.

Penyakit Newcastle atau biasa dikenal sebagai penyakit ND, di kalangan masyarakat peternak Indonesia lebih dikenal sebagai penyakit tetelo, merupakan penyakit unggas, khususnya ayam yang bersifat sangat mudah menular dan akut serta menimbulkan gejala gangguan pencernaan, pernafasan dan syaraf. Penyakit tersebut disebabkan oleh virus Newcastle, genus Paramixovirus, dan termasuk keluarga Paramixoviridae (Alexander, 1991; Alexander, 2003; Allan dkk., 1978). Virus ND merupakan virus RNA yang mempunyai genom single standed (SS) dengan polaritas negatif. Paramixovirus berbentuk sangat pleomorfik, yaitu

antara bentuk bulat sampai bentuk filamen serta berdiameter 100 sampai 150 nm. Nukleokapsid bersimetri heliks dan dikelilingi oleh amplop yang berasal dari membran permukaan sel (Allan dkk., 1978; Fenner dkk., 1993).

Virus ND mempunyai sifat dapat mengaglutinasi eritrosit ayam, marmot dan eritrosit manusia tipe"O". Hemaglutinasi terjadi karena virus ND mempunyai suatu protein yang terdapat pada selubung virus yang disebut hemaglutinin. Mekanisme terbentuknya hemaglutinasi disebabkan oleh terjadinya ikatan antara hemaglutinin virus ND dengan reseptor sel, yaitu suatu mukoprotein yang terdapat pada permukaan eritrosit. (Fenner dkk., 1993). Hemaglutinasi dapat terlepas oleh aktivitas enzim neuraminidase yang terdapat pada spike HN virus ND tersebut. Disamping itu serum antibodi spesifik terhadap virus ND bersifat dapat menghambat reaksi hemaglutinasi. Sifat tersebut dapat dipakai dalam suatu diagnosis untuk mengetahui adanya pertumbuhan virus ND secara in ovo atau untuk keperluan titrasi antibodi virus ND dalam serum unggas yang diperiksa (Senne, 1989). Dengan kata lain fenomena hambatan aglutinasi dapat dijadikan dasar dalam melakukan identifikasi virus ND tersebut.

Sejauh ini belum ada obat yang efektif untuk mengatasi infeksi virus ND. Tindakan utama yang dapat dikerjakan adalah mencegah munculnya penyakit tersebut dengan melakukan vaksinasi dan didukung dengan perbaikan tatalaksana pemeliharaan ayam. Vaksinasi secara umum telah diterapkan secara luas dan menunjukkan hasil yang cukup memuaskan untuk mencegah dan mengontrol wabah penyakit ND (Folitse dkk.,1998). Vaksin aktif dari galur virus ND avirulen atau virulensi rendah

dan vaksin inaktif, sudah banyak diaplikasikan di lapangan (Sardjono, 1993). Sejauh ini program pencegahan penyakit ND pada ayam komersial sudah cukup intensif tetapi pada ayam buras belum banyak dikerjakan, oleh sebab itu penelitian ini dimasudkan untuk mengkaji penerapan beberapa program vaksinasi terhadap penyakit ND pada ayam buras. Hasil dari penelitan ini diharapkan dapat memberi masukan dalam memilih program vaksinasi terhadap penyakit ND tersebut, dengan beaya murah tetapi cukup efektif untuk mengatasi infeksi virus ND pada ayam buras.

MATERI DAN METODE

Hewan percobaan yang dipakai dalam penelitian ini adalah ayam buras, sebanyak 100 ekor, jantan dan betina, dibeli dari koperasi ayam buras yang tergabung dalam Rural Rearing Multiplication Center (RRMC) Yogyakarta. Kandang ayam dengan semua fasilitas pemeliharaan disiapkan dan didesinfeksi. Day Old Chicken (DOC) ayam buras tersebut dikelompokkan dan dikandangkan menjadi 4 kelompok perlakuan dan masing-masing terdiri dari 25 ekor. Masing-masing kelompok diberi pakan ayam kampung, pagi dan sore ditimbang sesuai kebutuhan perkembangan ayam, sedangkan air minum diberikan secara ad-libitum. Lima hari pada minggu pertama semua kelompok ayam diberikan antibiotika, sedangkan pada lima hari minggu kedua diberikan multivitamin. Program vaksinasi yang diteliti pada masing-masing kelompok adalah sebagai berikut:

 Kelompok A adalah kelompok ayam yang mendapat program vaksinasi ND standar ayam petelur, yaitu diberikan vaksin ND aktif pada

- hari ke-7 secara tetes mata, pada hari ke-21 dan 42 melalui air minum.
- b. Kelompok B adalah kelompok ayam dengan vaksinasi standar ayam broiler yaitu diberikan vaksin ND aktif pada hari ke-7 secara tetes mata, dan pada hari ke-21 melalui air minum.
- c. Kelompok C adalah kelompok dengan vaksinasi standar ayam broiler: diberikan vaksin ND aktif melalui tetes mata dan ND inaktif melalui suntikan subkutan pada hari ke-7.
- d. Kelompok D merupakan kelompok ayam yang mendapat vaksinasi modifikasi program broiler: vaksinasi ND aktif diberikan pada hari ke- 7 melalui tetes mata, dan hari ke -35 melalui air minum.

Vaksin ND aktif yang digunakan pada vaksinasi pertama dan ulangan adalah vaksin ND *La Sota*, sedangkan vaksin ND inaktif merupakan vaksin ND inaktif strain *Ulster 2 C* yang beradjuvan minyak. Serum anti ND dikoleksi pada umur 63 hari, sedangkan uji tantang dengan virus ND virulen dilakukan pada hari ke -70.

Virus ND yang digunakan sebagai sumber antigen adalah virus vaksin ND Lasota, sedangkan virus VVND yang digunakan pada uji tantang adalah virus ND isolat Jaten yang merupakan isolat ND dari Yogyakarta dan telah dikarakterisasi sebagai virus ND virulen (VVND) milik Drs. Sarjono, M.Sc. Kedua jenis virus tersebut diperbanyak menggunakan telur ayam berembrio umur 9 sampai 11 hari. Inokulasi virus dikerjakan pada ruang alantois dengan dosis 0,1 ml. Teknis inokulasi menurut Burleson dkk., (1992).

Uji HA menurut prosedur Allan dkk., (1978) sebagai dasar untuk menentukan titer virus ND. Uji HA dikerjakan dengan mengisi lubang 1 sampai 12 pada pelat mikro dengan 0.025 ml PBS menggunakan pipet dropper. Lubang ke-1 ditambahkan cairan alantois yang mengandung virus sebanyak 0,025 ml kemudian dari lubang ke-1 sampai lubang ke-11 dibuat pengenceran dengan mencampur dan memindahkan menggunakan dropper dari lubang 1 ke lubang 2 sebanyak 0,025 ml dan dari lubang 2 ke lubang 3 dan seterusnya sampai lubang 11. Lubang yang ke-12 dipakai sebagai kontrol. PBS sebanyak 0,025 ml ditambahkan pada setiap lubang (lubang 1 sampai lubang 12), kemudian demikian juga halnya dengan suspensi eritrosit 0,5% sebanyak 0,05 ml ditambahkan ke dalam semua lubang. Mikroplat dibiarkan pada suhu kamar sampai terlihat adanya endapan merah pada dasar lubang kontrol, lebih kurang 15 menit. Pembacaan titer HA berdasarkan pengenceran tertinggi dari virus yang mengakibatkan hemaglutinasi eritrosit sempurna.

Uji HI dilakukan dengan menggunakan prosedur beta dalam pelat mikro berbentuk U dari Allan dkk., (1978). Antibodi terhadap virus ND bersifat dapat menghambat reaksi HA oleh virus. Berdasarkan sifat tersebut uji HI dapat digunakan untuk mengetahui adanya virus ND dan titer antibodi yang ada dalam serum. Sebelum mengerjakan uji HI, dipersiapkan terlebih dahulu antigen yang telah diencerkan sehingga mengandung 4 HA unit per 0,025 ml. Uji HI dilakukan dengan mengisi setiap lubang mikroplat (lubang 1 sampai 12) dengan larutan PBS sebanyak 0,025 ml. Serum yang diperiksa dimasukkan dalam lubang 1 sebanyak 0,025 ml. kemudian diencerkan dengan mencampur serum dan PBS, setelah itu dipindahkan campuran tersebut sebanyak 0,025 ml dari lubang 1 ke lubang 2 dan dari lubang 2 ke lubang 3, demikian seterusnya sampai lubang 11. Antigen sebanyak 0,025 ml yang mengandung 4 HA unit ditambahkan pada lubang 1 sampai lubang 11, sedangkan pada lubang 12 ditambahkan 0,025 ml PBS sebagai kontrol. Mikroplate diinkubasi pada suhu kamar selama 15 menit. Setelah perlakuan tersebut suspensi eritrosit 0,5% sebanyak 0,05 ml ditambahkan pada semua lubang (lubang 1 sampai 12), kemudian digoyang kekiri dan kanan. Pelat mikro ditempatkan pada suhu kamar selama 15 menit kemudian titer HI dibaca, apabila pada lubang 12 (kontrol) sudah terlihat aglutinasi eritrosit. Pengenceran serum yang tertinggi yang masih mampu menghambat aglutinasi eritrosit dicatat sebagai titer antibodi.

Titer antibodi HI dicatat dengan titer HI log 2. Grafik masing-masing kelompok perlakuan dibuat berdasarkan rerata titer HI log 2 dari setiap kelompok tersebut.

Uji tantang dikerjakan terhadap 10 ekor ayam buras pada umur 70 hari dari masing-masing kelompok perlakuan.ayam buras. Virus yang digunakan pada uji tantang adalah virus isolat Jaten yang telah dikarakterisasi sebagai VVND diberikan secara oral sebanyak 0,5 cc dari titer virus 64 HA

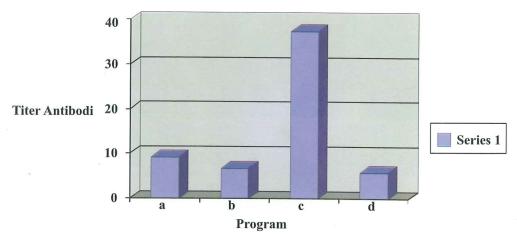
unit. Setelah tantangan diamati gejala klinis yang timbul dan kematian ayam. Data klinis dan kematian ayam hasil uji tantang didata dalam tabulasi.

Hasil uji HI dari beberapa kelompok perlakuan tersebut didata, dan kemudian dianalisis dengan analisa varian, sedangkan untuk membandingkan efek antar perlakuan dianalisis dengan uji Tukey-HSD.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, penerapan beberapa program vaksinasi ND pada ayam buras yang kemudian diukur kekebalannya (titer HI), dapat diketahui bahwa program A dengan tiga kali vaksinasi aktif pada umur 7, 21, dan 42 hari diperoleh titer rata-rata 9,2 HI unit. Program B dengan dua kali vaksinasi pada umur 7 dan 21 hari terukur titer rata-rata 6, 7 HI unit. Program C dengan vaksin aktif dan inaktif yang diberikan pada umur 7 hari, terukur titer rata-rata 37, 4 HI unit. Program D dengan dua kali vaksinasi aktif yang diberikan pada umur 7 dan 35 hari, terukur titer rata-rata 5, 8 HI unit. Secara detail titer HI tersebut dapat dilihat pada Gambar 1.





Gambar 1. Grafik titer HI yang dihasilkan oleh beberapa program vaksinasi ND

Menurut hasil tersebut, terlihat bahwa program C yang merupakan kombinasi vaksin aktif dan inaktif memberikan titer tertinggi yaitu rata-rata 37, 4 HI unit, yang diikuti progran A, B dan D. Hasil penelitian ini tampaknya seiring dengan hasil penelitian Partadireja dan Retno, (1988) bahwa titer kelompok ayam yang divaksin ND dengan metode air minum tidak menimbulkan kekebalan yang baik. Titer antibodi tersebut dinyatakan dibawah persyaratan minimal titer HI menurut Phillip (1973) yaitu: 30 HI unit. Dinyatakan pula bahwa titer HI hasil vaksinasi metode suntik menunjukkan hasil yang lebih baik dibanding air minum, meskipun demikian perlu dipertimbangkan beberapa hal yang mungkin dapat mempengaruhi hasil vaksinasi melalui air minum antara lain: kualitas air (kandungan logam berat dan khlorin) dan aspek teknis lainnya.

Penelitian tentang vaksinasi pada ayam broiler yang dilaporkan oleh Tabbu (1996) bahwa ayam broiler yang divaksin pada umur 4 hari dengan vaksin ND strain B1 dan dilakukan *booster* umur 18 hari dengan vaksin ND strain La Sota, yang diberikan secara dengan air minum diperoleh titer antibodi rerata 2,1 HI unit. Program vaksinasi lain dengan gabungan vakinasi aktif ND B1 dikombinasi dengan vaksin ND inaktif dan diberikan pada umur 4

hari, serta dilakukan booster pada umur 18 hari dengan vaksin La Sota yang diberikan melalui air minum diperoleh titer HI rerata 11,6 HI unit. Titer antibodi tersebut rendah, diduga karena perkembangan organ limfoid ayam broiler tidak sebanding dengan perkembangan tubuhnya (Akter, dkk., 2006), oleh karenanya vaksinasi pada ayam broiler tidak menghasilkan titer antibodi yang cukup tinggi. Penelitian Tabbu (1996) tersebut relevan dengan hasil penelitian ini, yaitu bahwa penggunaan vaksinasi aktif inaktif menunjukkan titer yang lebih baik, tetapi titer antibodi yang terukur dalam vaksinasi pada ayam buras ini menujukkan hasil yang lebih baik.

Perhitungan statistik menggunakan analisis varians terhadap titer HI dari berbagai program tersebut dapat dilihat dalam Tabel 1. Untuk membedakan kelompok ayam yang divaksin dengan program C dibandingkan kelompok program yang lain (antar kelompok), digunakan analisis varians yang kemudian diteruskan dengan uji Turkey-HSD. Data yang diperoleh adalah bahwa nilai F rasio (hitung) lebih besar dari nilai F probabilitas (tabel) pada tingkat kepercayaan 5%, oleh karena itu dapat ditarik suatu kesimpulan bahwa titer HI yang dihasilkan dari program C tersebut berbeda secara nyata dengan program A, B, dan D.

Tabel 1. Analisis varians titer HI dari beberapa program vaksinasi ND pada ayam buras.

Source	DF	Sum of Square	Mean Square	F Ratio	F Prob.	
Between Groups Within Groups Total		13774,5500 18773,4000 32547,9500	4591,5167 247,0184	18,5878	2,7 *	

^{*} Berbeda secara nyata pada tingkat signifikansi 5%.

Hasil uji tantang sebagai pembanding dan konfirmasi hasil analisis serologis disajikan dalam Tabel 2. Pada kelompok ayam yang divaksinasi dengan program B dan D teramati 4 ekor

menunjukkan gejala sakit setelah uji tantang, program A teramati 2 ekor menunjukkan sakit sedangkan C tidak teramati adanya ayam sakit.

Tabel 2: Hasil uji tantang kelompok ayam yang divaksin dengan berbagai program ND dengan virus VVND.

Program: A	В	C	D	19
Vaksin: (ND aktif: 7, 21 42)	(ND aktif: 7, 21) (N	D aktif/inaktif 7) (ND aktif: 7, 35)	
2*/10	4*/10			

^{*} Jumlah ayam sakit terjumlah ayam yang di uji tantang

Gejala klinis yang teramati pada kelompok ayam program B, D dan A tidak menunjukkan gejala spesifik penyakit ND, serta tidak ada kematian ayam. Gejala tersebut berupa kelesuan yang teramati selama 3 hari dan pada hari ke-5 ayam tersebut sudah sembuh. Tampaknya hasil titer antibodi terhadap penyakit ND pada penelitian ini sangat relevan dengan hasil uji tantang pada kelompok tersebut. Titer HI kelompok A lebih baik dari titer HI kelompok B dan D menujukkan perlindungan yang lebih baik, yaitu tingkat proteksi 80%, sedangkan B dan D hanya mencapai 60%. Titer HI tertinggi kelompok ayam yang divaksinasi dengan program C menunjukkan tingkat proteksi 100%, yaitu bahwa dalam uji tantang sama sekali tidak teramati adanya ayam sakit maupun kematian ayam. Hal ini sejalan dengan pendapat Philip (1973) yang disitasi oleh Partadiredja dan Retno (1988), menyatakan bahwa titer terendah yang harus dimiliki ayam agar tahan terhadap penularan ND adalah 30. Uji tantang dalam penelitian ini juga relevan dengan laporan Tabbu (1996) bahwa ayam broiler yang mendapatkan 2 kali vakin aktif pada umur 4 dan 18 hari menunjukkan tingkat proteksi 80% terhadap uji

tantang virus ND ganas pada umur 45 hari. Sedangkan hasil vaksinasi gabungan ND aktif-inaktif yang diberikan pada umur 4 hari dan dilakukan booster pada umur 18 hari menunjukkan tingkat proteksi 100%. Hasil penelitian ini sedikit berbeda dengan hasil penelitian Partadiredja dan Retno., (1988) bahwa titer HI rendah kelompok ayam hasil vaksinasi air minum, pada uji tantang mengalami kematian diatas 10 %, sedangkan pada penelitian ini tidak ada kematian ayam meskipun ada beberapa ekor dari kelompok ayam percobaan tersebut menunjukkan gejala sakit. Lebih lanjut dijelaskan bahwa pada kelompok ayam yang divaksinasi dengan teknis injeksi, meskipun hasil titer ND tidak baik sekali, tetapi masih mampu menahan serangan terhadap penyakit ND. Pendapat tersebut sangat mendukung hasil penelitian ini bahwa kelompok ayam dengan program C dengan titer HI di atas persyaratan minimal ternyata mampu bertahan terhadap infeksi ND virulen secara buatan.

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa vaksinasi aktif dan inaktif yang diberikan bersama pada umur 7 hari (program C), terbukti memberikan titer antibodi tertinggi yang berbeda secara nyata jika

dibandingkan dengan program A, B dan D. Hasil uji tantang mengkonfirmasi bahwa program C tersebut memberikan proteksi yang cukup terhadap tantangan virus ND virulen.

Perlu dikonfirmasi tinggi rendahnya titer HI dan dilakukan uji tantang pada umur yang lebih tua lagi (misalnya antara umur 3 sampai 4 bulan), sehingga diketahui lama proteksi yang dihasilkan oleh program vaksinasi tersebut. Hal tersebut mengingat kebiasaan peternak ayam buras menjual ayam pada umur sekitar 4 bulan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terlaksana atas dukungan dana masyarakat FKH-UGM, nomor: 3944/PII/Set.R/2003. Penulis sampaikan banyak terima kasih kepada Drs. B. Sarjono, MSc. atas ijin penggunaan isolat virus ND Galur Jaten dan drh. Dwi Prio W. MP., yang telah membantu koreksi hasil uji statistik dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Akter, S.H., Khan, M.Z.I., Jahan, M.R., Karim, M.R., Islam, M.R. 2006. Histomorphological Study of the Lymphoid Tissues of Broiler Chickens. *Bangl. J. Vet. Med.* 4 (2): 87–92.
- Allan, W.H., Lancester, J.E., Toth, B. 1978. Newcastle Disease Vaccines, Their Production and Use Food and Agriculture Organization of the United Nation, Rome. Italy.: 1-5.
- Alexander, D.J. 1991. Newcastle and Other Paramixovirus Infection. *Dalam*: Disease of Poultry. Calnek, B.W., Barnes, H.J., Beard, C.W., Mc. Daugld, L.R., dan Saif, Y.M. (eds.). Tenth edition. Iowa State University Press., Ames, Iowa. :496-513.

- 2003. Newcastle and Other Avian Paramixovirus and Pneumovirus Infection. *Dalam*: Disease of Poultry. Saif, Y. M., Barnes, H.J., Fadly, A.M., Glisson, J. R., McDaugld, L.R., and Swayne, D. E. (eds.). 11th edition. CD-ROM version, produced and distributed by Iowa State University Press. Blackwell Publishing Company.: 63-85
- Burleson, F.G., Thomas, M.C., Danny, L. W. 1992. Virology A Laboratory Manual. Academic Press Inc., San Diego. 45-52.
- Brandly, C.A. 1964. Recognation of Newcastle Disease as a New Disease. *Dalam* Hanson, P.R., (ed). Newcastle Disease Virus An. Evolving Pathogen. Second Edition. The University of Winconsin Press.: 53-64.
- Darjono. 2001. Prospek Pengembangan Agribisnis Perunggasan Berbasis Sumber Daya Lokal. Seminar Nasional Pengembangan Agribisnis Peternakan. Fakultas Peternakan Universitas Jendral Soedirman, Purwokerto, 17 Februari 2001. Tidak dipublikasi.: 1-5.
- Fenner, F.J., Gibb, E.P., Murphy, F.A., Studdert, M.J. White, D.O. 1993. Veterinary Virology. Academic Press, Inc.: 471-481.
- Folitse, R., Halvorson, D.A., Sivanandan, V., 1998. Efficacy of Combined Killed-in-oil Emultion and Live Newcastle Disease Vaccines in Chickens. *Avian Dis.* 42:173-178.
- Partadiredja, M., Retno D.S. 1988. Perbandingan Daya Guna Tiga Aplikasi Vaksin Newcastle Disease. *Hemerazoa* 72,: 19-24.
- Tabbu, C.R. 2000. Penyakit Ayam dan Penanggulangannya. Penerbit Kanisius Yogyakarta::164-186.
- _____. 1996. Evaluasi Lapangan Vaksin Newcastle Disease Galur VG/GA pada Beberapa Peternakan Ayam di Jawa. Tidak dipublikasikan.:1-20.

- Sardjono, B. 1993. Vaksin Iscom Glikoprotein Virus Newcastle Disease Virulen Isolat Indonesia. Laporan Penelitian, PAU-Bioteknologi-UGM.: 1-5.
- Senne, D.A. 1989. Virus Propagation in Embryonating Eggs. *Dalam* Purchase, H.G., Arp, H.L., Domermuth, C.H., dan Pearson, J.T., (eds). A Laboratory Manual for The Isolation and Identification of Avian Pathogen. Third Edition. Kendall/Hunt Publishing, Company, Iowa.: 176-181.