

SHEDDING DETECTION OF NEWCASTLE DISEASE VIRUS VACCINE IN LAYING HENS POST-VACCINATION

Deteksi *shedding* virus vaksin *Newcastle Disease* pada ayam petelur pascavaksinasi

Ni Kadek Kamala Dewi^{1*}, Gusti Ayu Yuniati Kencana², Ida Bagus Kade Suardana²

¹Mahasiswa Sarjana Pendidikan Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. P.B Sudirman, Denpasar, Bali, 80234, Indonesia;

²Laboratorium Virologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. P.B Sudirman, Denpasar, Bali, 80234, Indonesia;

*Corresponding author email: kamala.dewi@student.unud.ac.id

How to cite: Dewi NKK, Kencana GAY, Suardana IBK. 2024. Shedding detection of newcastle disease virus vaccine in laying hens post-vaccination. *Bul. Vet. Udayana*. 16(2): 493-500. DOI: <https://doi.org/10.24843/bulvet.2024.v16.i02.p19>

Abstract

The poultry industry in Indonesia is still experiencing problems, especially in terms of disease attacks, one of which is Newcastle Disease (ND). ND is caused by Avian Paramyxovirus type-1 (APMV-1) virus and is an infectious and also acute disease in Indonesia. ND management has so far been carried out by vaccination and improved husbandry management. ND vaccination can use active vaccines, inactive vaccines or combination vaccines. Despite vaccination, ND is still frequently reported. The aim of this study was to determine the safety of Newcastle Disease (ND) Genotype VII vaccine based on post-vaccination virus shedding. Shedding viruses leave the body of poultry through excretion, especially feces, which can cause environmental pollution. The samples used were 10 cloacal swab samples of laying hens taken for five periods and isolation of embryonated chicken eggs. The inoculated liquid on embryonated chicken eggs was harvested and HA test was conducted to check the shedding of ND vaccine virus. The results showed no shedding of the vaccine virus characterized by negative results in the HA test. These negative results indicate that the inactivated ND Genotype VII vaccine is safe for the environment, however farmers need to implement biosecurity to prevent the entry of ND into the farm.

Keywords: Laying hens, Newcastle Disease, virus isolations, virus shedding.

Abstrak

Industri perunggasan di Indonesia hingga saat ini masih mengalami kendala terutama dalam hal serangan penyakit, salah satunya adalah penyakit *Newcastle Disease* (ND). Penyakit ND disebabkan oleh virus *Avian Paramyxovirus type-1* (APMV-1) dan merupakan penyakit menular akut di Indonesia. Penanggulangan penyakit ND sejauh ini dilakukan dengan vaksinasi dan perbaikan tatalaksana pemeliharaan. Vaksinasi ND dapat menggunakan vaksin aktif, vaksin inaktif, maupun vaksin kombinasi. Meskipun vaksinasi telah dilakukan, tetapi penyakit ND masih sering dilaporkan. Hal tersebut dapat dipengaruhi oleh kualitas vaksin, keamanan vaksin, dan aplikasi vaksin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui

keamanan vaksin *Newcastle Disease* (ND) Genotipe VII berdasarkan *shedding* virus pascavaksinasi. *Shedding virus* keluar dari tubuh unggas melalui ekskresi terutama feses yang dapat menyebabkan pencemaran lingkungan. Sampel yang digunakan adalah 10 sampel swab kloaka ayam petelur yang diambil sebanyak lima periode dan dilakukan isolasi pada telur ayam berembrio. Cairan hasil inokulasi pada TAB dipanen dan dilakukan uji HA untuk memeriksa adanya *shedding* virus vaksin ND. Hasil penelitian menunjukkan tidak ditemukannya *shedding* virus vaksin yang ditandai dengan hasil negatif pada uji HA. Hasil negatif tersebut menandakan bahwa vaksin inaktif ND Genotipe VII tidak membahayakan lingkungan, meskipun demikian peternak perlu menerapkan biosecuriti untuk mencegah masuknya penyakit ND ke peternakan.

Kata kunci: Ayam petelur, isolasi virus, Newcastle Disease, *shedding* virus

PENDAHULUAN

Peternakan merupakan salah satu bagian dari subsektor pertanian yang memiliki peranan yang cukup besar khususnya dalam pemenuhan pangan dan gizi masyarakat. Hampir 70% industri peternakan di Indonesia didominasi oleh industri perunggasan (Yulistya *et al.*, 2016). Salah satu industri perunggasan yang memiliki peranan penting dalam penyediaan protein hewani adalah peternakan ayam petelur karena menghasilkan produk telur konsumsi (Pelafu *et al.*, 2018). Kendala yang sering dihadapi dalam industri perunggasan ialah serangan penyakit, salah satunya adalah penyakit *Newcastle Disease* (ND). Di Indonesia, penyakit ND memiliki nama lain penyakit tetelo, sedangkan di Bali lebih dikenal dengan istilah penyakit gerubug (Kencana *et al.*, 2012). Penyakit ini disebabkan oleh virus *Avian Paramyxovirus type-1* (APMV-1), genus *Avulavirus*, dan keluarga *Paramyxoviridae*. Penyakit ND menyerang sistem pernapasan, susunan jaringan syaraf, sistem pencernaan hingga sistem reproduksi pada unggas. Penyakit ND menginfeksi semua jenis unggas terutama ayam, baik ayam ras maupun ayam bukan ras (buras). Penularan ND terjadi melalui kontak langsung antara ayam sakit dan ayam sehat maupun kontak tidak langsung melalui pakan, air minum, udara yang tercemar virus (Kencana *et al.*, 2013).

Wibowo & Amanu (2010) menyatakan masih belum ada obat yang efektif untuk mengatasi infeksi virus ND, sehingga tindakan utama yang dapat dilakukan adalah mencegah munculnya penyakit tersebut melalui perbaikan tatalaksana pemeliharaan ayam dan melalui vaksinasi menggunakan vaksin aktif maupun vaksin inaktif. Vaksin ND digunakan secara luas untuk mengurangi gejala penyakit dari infeksi endemis dengan virulensi rendah, melindungi ayam terhadap penyakit yang tidak virulen (Shunlin *et al.*, 2009). Program vaksinasi ND sudah diterapkan selama beberapa dekade, tetapi penyakit ND belum dapat diberantas secara tuntas di Indonesia, bahkan kasus ND pada ayam buras juga ditemukan di Bali (Kencana & Kardenia, 2011).

Munculnya kasus ND pada ternak unggas yang telah divaksinasi dapat terjadi karena beberapa faktor seperti kualitas vaksin yang buruk termasuk keamanan vaksin, perlakuan terhadap vaksin yang tidak memenuhi standar seperti suhu saat penyimpanan, dan kesalahan vaksinator (Saepulloh & Darminto, 2005; Kencana, 2013). Selain itu, Liang (2002) menyatakan alasan virus ND masih mewabah dikarenakan strain virus ND mempunyai perbedaan yang signifikan di dalam biologi, sitologi dan genetiknya. Lebih lanjut, untuk menguji suatu keamanan vaksin dapat dilihat dengan mendeteksi adanya *shedding* atau pelepasan virus vaksin ketika virus berhasil bereplikasi dalam sel inang. *Shedding* virus tersebut dapat dikeluarkan melalui feses dan mampu berperan sebagai sumber penyebaran penyakit ND meskipun virulensinya lebih rendah dibandingkan dengan strain alami virus ND. Untuk mendeteksi adanya *shedding* virus dapat diketahui dari swab kloaka yang kemudian dilakukan isolasi virus dan pengujian HA/HI serta uji RT-PCR (Kencana *et al.*, 2021). Tujuan

dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengetahui keamanan vaksin *Newcastle Disease* (ND) Genotipe VII berdasarkan *shedding* virus pascavaksinasi.

METODE PENELITIAN

Kelaikan Etik Hewan Coba

Sertifikat persetujuan etik hewan nomor: B/23/UN14.2.9/PT.01.04/2024

Objek Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan 50 ekor ayam petelur umur 22 minggu yang divaksinasi booster dengan vaksin kombinasi ND-IB. Vaksin tersebut merupakan vaksin inaktif berbentuk emulsi yang mengandung virus *Newcastle Disease* genotipe VII dari strain velogenik dan *Infectious Bronchitis* (IB) strain klasik.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola berjenjang. Sampel yang diambil berupa swab kloaka ayam pada pravaksinasi dan pascavaksinasi. Pada penelitian ini menggunakan 10 sampel swab kloaka ayam yang diambil secara acak dari 50 ekor ayam. Pengambilan sampel secara periode sebanyak 5 kali pengambilan yaitu satu minggu pravaksinasi, satu minggu, dua minggu, tiga minggu, dan empat minggu pascavaksinasi, sehingga total sampel yang diperoleh adalah 50 swab kloaka.

Variabel Penelitian

Untuk melakukan penelitian tersebut perlu memperhatikan variabel-variabel yang berpengaruh. Variabel bebas adalah vaksin kombinasi *Newcastle Disease-Infectious Bronchitis*. Variabel terikat adalah *shedding* virus vaksin *Newcastle Disease*. Variabel kontrol adalah status kesehatan, ras, lingkungan, vaksin, vaksinator, dan sistem pemeliharaan.

Metode Koleksi Data

Vaksinasi

Vaksinasi dilakukan dengan cara injeksi melalui intramuskular pada 50 ekor ayam petelur ketika berumur 22 minggu. Vaksin yang digunakan adalah vaksin kombinasi ND-IB.

Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah swab kloaka ayam petelur pravaksinasi dan pascavaksinasi. Sampel diambil sebanyak lima periode, yaitu satu minggu pravaksinasi, satu minggu, dua minggu, tiga minggu, dan empat minggu pascavaksinasi. Sebelum pengambilan sampel, dilakukan persiapan alat dan bahan yang dibutuhkan, salah satunya adalah pembuatan *media transport*. Sampel swab kloaka nantinya akan dikirim ke laboratorium harus dimasukkan ke dalam media transport. Pada penelitian ini, *media transport* yang digunakan adalah NaCl fisiologis dan dimasukkan dalam tabung eppendorf. Sampel diambil dengan menggunakan *cotton swab* steril. Setelah itu, swab kloaka dimasukkan ke dalam tabung eppendorf yang telah diisi dengan media transport. Tabung eppendorf dimasukkan ke dalam coolbox yang telah berisi elemen pendingin.

Pembuatan Inokulum

Sampel yang telah diambil selanjutnya dilakukan *pooling* atau penggabungan beberapa sampel swab ke dalam satu tabung (*pool*). Setiap lima swab kloaka dari ayam petelur yang berbeda dilakukan *pooling* menjadi satu tabung sampel, sehingga didapatkan total 10 *pooled*, kemudian dibuat inokulum dengan cara mencampurkan sampel swab kloaka dengan media transport yang mengandung 2×10^6 U/L penisilin dan 200 mg/L streptomisin.

Isolasi pada Telur Ayam Berembrio

Isolasi virus menggunakan Telur Ayam Berembrio (TAB) umur 10 hari. Sebelum itu, TAB dibersihkan pada area cangkang dan dilakukan pemeriksaan dalam ruangan gelap dengan *egg candler* untuk melihat pergerakan embrio dan posisi ruang udara. Tahap berikutnya adalah TAB didesinfeksi dengan alkohol 70% dan inokulum dimasukkan ke dalam telur pada ruang alantois dengan cara membuat lubang pada cangkang telur menggunakan jarum penusuk. Masing-masing inokulum diinokulasikan sebanyak 0,1-0,2 ml pada empat buah TAB yang berbeda menggunakan *disposable syringe* 1 ml. Bekas penyuntikan ditutup dengan kuteks dan diberi label penanda, kemudian TAB dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37° selama 3 hari. Perubahan yang terjadi dan perkembangan embrio diamati setiap hari dengan metode candling. Telur yang telah mati, dibuka cangkangnya pada bagian rongga udara secara melingkar dengan pinset maupun gunting. Kemudian, selaput korioalantoisnya dikuakkan dengan pinset sehingga tampak embrio dikelilingi cairan alantois berwarna jernih. Cairan alantois diambil secara hati-hati dengan pipet hisap steril dan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf dan disimpan di lemari es.

Pembuatan Eritrosit Suspensi 1%

Suspensi eritrosit 1% diperlukan ketika melaksanakan uji HA. Dalam pembuatan suspensi eritrosit 1% diperlukan darah ayam yang diambil melalui vena brakialis atau vena yang terletak di sayap dengan menggunakan *disposable syringe* 3 ml, kemudian ditampung dalam tabung steril yang telah diisi anti-koagulan. Suspensi darah kemudian dicuci dengan ditambahkan 5 ml *Phosphat Buffered Saline* (PBS) pH 7,2 dan dihomogenkan secara perlahan-lahan agar tidak rusak. Setelah itu, dipusingkan dengan *sentrifuge* selama 10 menit dengan kecepatan 2500 rpm, kemudian darah dipisahkan dari *supernatant* dan *buffy coat*. Sisa endapan eritrosit dicuci dengan menggunakan PBS lalu dihomogenkan. Pencucian diulang sebanyak tiga kali. Endapan eritrosit diukur konsentrasinya dengan cara disentrifugasi menggunakan mikrohematokrit, kemudian dilakukan pengukuran *Packed Cell Volume* (PCV) dan diencerkan dengan PBS sampai konsentrasi menjadi 1%.

Uji Hemaglutinasi (HA)

Selanjutnya cairan alantois diuji HA untuk mengetahui adanya virus yang menghemaglutinasi sel darah merah (Rell *et al.*, 2015). Sebelum dilakukan uji hemaglutinasi teknik mikrotiter, dilakukan uji hemaglutinasi cepat atau rapid HA. Uji hemaglutinasi cepat dilakukan dengan cara cairan alantois dan suspensi sel darah merah ditetaskan masing-masing sebanyak 25 µL atau dengan perbandingan 1:2 ke dalam *microplate U bottom*. Kemudian diayak dengan *microshaker* selama 30 detik. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya aglutinasi sel darah merah di dasar plate dalam waktu 15 menit setelah dicampur. Selanjutnya dilakukan uji HA teknik mikrotiter dengan cara mengisi setiap sumuran dengan 25 µL PBS pH 7,2, kemudian ditambahkan 25 µL suspensi antigen ND pada sumuran pertama dan kedua. Selanjutnya, diencerkan berseri kelipatan dua dengan menggunakan mikropipet dari sumuran kedua sampai sumuran ke-11. Kemudian ditambahkan 25 µL PBS pH 7,2 ke semua sumuran dan diayak dengan *microshaker*. Pada tiap sumuran ditambahkan suspensi sel eritrosit 1% sebanyak 0,05 µL lalu diayak selama 30 detik dan diinkubasikan selama 30 menit pada suhu kamar. Setelah itu, dilakukan pembacaan hasil uji HA dan dibaca titernya. Titer antigen dinyatakan sebagai pengenceran tertinggi dari antigen yang masih mampu mengaglutinasi 100% sel darah merah ayam (Wisnantari *et al.*, 2022).

Analisis data

Data yang diperoleh kemudian dianalisis deskriptif kualitatif yaitu dengan melihat jumlah sampel positif dan negatif pada uji HA yang disajikan dalam bentuk tabel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada ayam petelur umur 22 minggu yang telah divaksinasi dengan vaksin inaktif *Newcastle Disease* Genotipe VII dari strain velogenik di peternakan komersial Desa Mangesta, Kecamatan Penebel, Tabanan tidak ditemukan *shedding* virus vaksin *Newcastle Disease*. Tidak ditemukannya *shedding* virus tersebut didapatkan berdasarkan pengujian hemaglutinasi (HA) dari cairan alantois yang menunjukkan hasil negatif pada semua cairan alantois. Cairan alantois tersebut merupakan hasil inokulasi sampel swab kloaka pravaksinasi dan pascavaksinasi pada Telur Ayam Berembrio (TAB) yang telah diinkubasikan selama 3 hari.

Pada tabel 1 tertera bahwa pada pengambilan sampel periode satu minggu pravaksinasi, satu minggu pascavaksinasi, dua minggu pascavaksinasi, tiga minggu pascavaksinasi, dan empat minggu pascavaksinasi ditemukan hasil negatif pada uji rapid HA maupun uji HA teknik mikrotiter. Hasil negatif tersebut ditunjukkan dengan titer 2^0 pada semua sampel cairan alantois atau dengan tidak ditunjukkannya bentukan berpasir atau kristal pada dasar *microplate*. Beberapa cairan alantois dengan kualitas buruk seperti terlihat keruh dan tercampur darah dilakukan pasase pada TAB. Setelah dilakukan pasase dan kembali dilakukan pengujian HA, tetap ditemukan hasil negatif pada semua sampel cairan alantois.

Pembahasan

Penyakit *Newcastle Disease* (ND) merupakan salah satu penyakit yang menyebabkan penurunan produksi dan kerugian ekonomi bahkan juga dapat menyebabkan kematian (Permana *et al.*, 2022). Salah satu cara mencegah penularan penyakit ND yang dianggap paling efektif dan efisien yaitu dengan menerapkan program vaksinasi. Vaksinasi merupakan proses memasukkan mikroorganisme penyebab penyakit yang telah dilemahkan ke dalam tubuh hewan, sehingga dapat merangsang pembentukan antibodi terhadap agen penyakit tersebut. Meskipun demikian, masih dijumpai penyakit ND pada ayam yang telah divaksinasi. Hal tersebut dapat dipengaruhi oleh kualitas vaksin yang buruk, perlakuan terhadap vaksin yang tidak memenuhi standar, serta kesalahan vaksinator. Pada penelitian ini menggunakan vaksin inaktif *Newcastle Disease* Genotipe VII. Potensi vaksin juga sangat ditentukan oleh kandungan virus vaksin, dari antigen vaksin yang digunakan, di samping kualitas antigen, komposisi *adjuvant* yang digunakan juga mempengaruhi potensi inaktif (Indriani & Dharmayanti, 2016). Menurut Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPMSOH), pengujian vaksin inaktif ND dilakukan meliputi uji umum seperti uji fisik, uji kemurnian, uji sterilitas dan uji kandungan virus, uji keamanan, dan uji potensi. Uji keamanan tersebut salah satunya dapat dilihat melalui *shedding* virus pascavaksinasi. *Shedding* virus sendiri merupakan pelepasan virus hasil replikasi dalam sel inang yang dapat dikeluarkan terutama melalui feses (Kencana *et al.*, 2021).

Berdasarkan penelitian ini dilakukan pengamatan pada 50 sampel swab kloaka yang telah diinokulasikan pada Telur Ayam Berembrio tidak menunjukkan tanda-tanda kematian embrio yang diakibatkan oleh virus ND seperti kematian embrio pada hari ketiga disertai dengan perdarahan dan gangguan pertumbuhan (embrio kerdil). Hasil panen cairan alantoisnya pun memiliki warna yang beragam, dari bening, kuning kemerahan, hingga kuning kecoklatan. Oleh karena itu, untuk mendeteksi *shedding* virus maka dilakukan uji hemaglutinasi dan ditemukan hasil negatif pada semua sampel yaitu dengan titer sebesar 2^0 . Titer tersebut menunjukkan bahwa tidak ada konsentrasi virus yang mengaglutinasi sel darah merah ayam. Hal tersebut sejalan dengan pernyataan Haryanto *et al.* (2012) bahwa uji HA dapat memberikan hasil negatif apabila titer virus rendah. Hasil negatif ditunjukkan dengan tidak adanya bentuk

kristal pada sumuran plat mikro akibat reaksi hemaglutinasi. Reaksi tersebut timbul dikarenakan virus ND memiliki kemampuan berikatan secara spesifik dengan reseptor asam sialat yang terdapat pada membran plasma sel eritrosit ayam. Proses hemaglutinasi tersebut terjadi karena sel darah merah ayam yang dicampur dengan virus ND dalam proporsi seimbang (Wibowo *et al.*, 2012.). Akan tetapi, reaksi hemaglutinasi virus ND berlangsung maksimal selama satu jam dikarenakan virus ND mengandung enzim neuramidase yang akan merusak ikatan antara reseptor eritrosit dengan protein hemaglutinin virus ND atau biasa disebut dengan proses elusi. Untuk meminimalisir terjadinya kesalahan pembacaan hasil pada saat uji HA, maka dilakukan pasase untuk beberapa isolat sampel dan ketika kembali diuji kemampuannya dalam mengaglutinasi sel darah merah tetap menunjukkan hasil negatif.

Oleh karena itu, pada penelitian ini membuktikan bahwa vaksin inaktif yang mengandung virus ND Genotipe VII memiliki keamanan yang baik karena tidak mengeluarkan *shedding* virus pascavaksinasi. Hal tersebut sejalan dengan pernyataan Rachmawati *et al* (2020) bahwa tindakan vaksinasi yang tepat, dapat menimbulkan reaksi antibodi yang sesuai sehingga mampu mencegah terjadinya *shedding* virus. *Shedding* virus sendiri dapat memungkinkan terjadinya resirkulasi ke lingkungan sekitar dan dapat menyebabkan virus mengalami mutasi dan mengakibatkan perubahan adaptif terhadap respon imun (Kusmanagandi, 2024). Tidak ditemukannya *shedding* virus ND maka vaksin inaktif tersebut tidak membahayakan lingkungan karena *shedding* virus vaksin dapat berperan sebagai sumber penyebaran penyakit ND meskipun virulensinya lebih rendah dibandingkan dengan strain alami virus ND. Dengan ditemukannya hasil negatif ketika pengujian serologis membuktikan bahwa biang (*seed*) pada vaksin inaktif yang digunakan telah terinaktivasi sempurna sehingga tidak terjadi pelepasan virus hasil replikasi dalam sel inang. Virus yang terkandung dalam vaksin tersebut dapat terinaktivasi dalam suhu panas, radiasi, maupun bahan kimia seperti formaldehide dan Beta-propiolactone (BPL).

Meskipun unggas tampak sehat pascavaksinasi, tetapi apabila masih mampu mengeluarkan virus, hal tersebut dapat menjadi faktor penyebaran virus ke unggas lain. Hal tersebut berbahaya jika menyebar pada sekelompok unggas yang belum divaksinasi dikarenakan tidak memiliki antibodi untuk melawan antigen tersebut. Virus *Newcastle Disease* dapat bertahan lebih dari 8 minggu bertahan dalam feses, sehingga sangat penting dilakukan tindakan biosekuriti agar tidak terjadi penyebaran bibit penyakit baik dari luar kedalam area peternakan, dari suatu kandang ke kandang lain atau ke luar dari area peternakan.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa vaksinasi pada ayam petelur umur 22 minggu dengan vaksin inaktif ND Genotipe VII strain velogenik tidak menimbulkan *shedding* virus *Newcastle Disease* pascavaksinasi. Hal tersebut dibuktikan dengan pengujian 50 sampel swab kloaka ayam petelur didapatkan hasil negatif dalam uji HA, serta dilakukan pasase pada beberapa isolat dan tetap ditemukan hasil negatif ketika dilakukan uji HA. Dengan tidak ditemukannya *shedding* virus vaksin pascavaksinasi, maka vaksin inaktif ND Genotipe VII strain velogenik memiliki keamanan yang baik dan tidak membahayakan lingkungan.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai *shedding* virus IB untuk memastikan keamanan vaksin yang lebih optimal. Selain itu, meskipun vaksin inaktif ND Genotipe VII dinyatakan aman, peternak tetap harus menerapkan biosekuriti sebagai tindakan preventif untuk mencegah masuknya penyakit *Newcastle Disease* seperti dengan memperhatikan

kebersihan dan sanitasi kandang, pemantauan kesehatan pada ayam, serta memberikan vaksinasi sesuai jadwal dan prosedur yang tepat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Peternakan CV. Cahya Adi Surya dan Laboratorium Virologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, serta seluruh pihak yang telah membantu dan memfasilitasi penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Haryanto, A., Krisanti, B., Handayani Irianingsih, S., Wahyu Yudianingtyas, D., (2012) *Diagnosis Molekuler Virus Flu Burung-A Subtipe H5 Berdasarkan Amplifikasi Gen M dan H5 dengan Metode Onestep Simplex RT-PCR*
- Indriani, R., & Dharmayanti, N. (2016). Pengembangan Vaksin Inaktif Tetelo Genotipe VII Isolat Lokal pada Kondisi Laboratorium. *Jurnal Veteriner*, 17(3), 322–330. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2016.17.3.322>
- Kencana, G. A. Y., & Kardenia, I. M. (2011, June). Gross pathological observation of acute Newcastle Disease in domestic chicken. In *Prosiding Seminar Internasional Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia (PERMI) dan International Union of Microbiological Societes (IUMS) Denpasar* (pp. 22-24).
- Kencana, G. A. Y., Sari, T. K., Wijaya, D. A. M., Suartha, I. N., & Kendran, A. A. S. (2021). Shedding Virus Vaksin Flu Burung Subtipe (H5N1) Isolat Dari Bali Tidak Ditemukan Pascavaksinasi Ayam Petelur. *Indonesia Medicus Veterinus*, 10(6), 830–841. <https://doi.org/10.19087/imv.2021.10.6.830>
- Kencana, G. A. Y. (2013). Penentuan Kandungan Virus Vaksin Newcastle Disease Dari Dua Poultry Shops Yang Berbeda Pada Kultur Sel Primer Fibroblast Embrio Ayam. *Buletin Veteriner Udayana*, 5(2).
- Kencana, G.A.Y., Made Kardenia, I., Ngurah, G., & Mahardika, K. (2012). Peneguhan diagnosis penyakit newcastle disease lapang pada ayam buras di bali menggunakan teknik rt-pcr. In *Jurnal Kedokteran Hewan* (Vol. 6, Issue 1).
- Kusmanagandi. (2024). Strategi Pengendalian Newcastle Disease di Indonesia. Media Agribisnis Peternakan. Tersedia pada <http://troboslivestock.com/detail-berita/2023/04/01/50/17028/dedy-kusmanagandi-strategi-pengendalian-newcastle-disease-di-indonesia>. Diakses pada 20 Januari 2024
- Liang, R., Cao, D.J., Li, J.Q., Chen, J., Guo, X., Zhuang, F.F., & Duan, M.X. (2002). Newcastle Disease outbreak in westren China are cause by the genotype VIIa dan VIII. *Veterinary Microbiology*. 87(1): 193-203.
- Pelafu, F., Najooan, M., & Elly, F. H. (2018). Potensi pengembangan peternakan ayam ras petelur di kabupaten halmahera barat. *Zooteck Journal*, 38(1), 209–219.
- Permana, I. B. K. I., Suardana, I. B. K., & Nindhia, T. S. (2022). Deteksi Antibodi Maternal Newcastle Disease pada Broiler. *Buletin Veteriner Udayana*, 112. <https://doi.org/10.24843/bulvet.2023.v01.i01.p15>
- Rachmawati, P. D., Adikara, T. S., Plumeriastuti, H., Ernawati, R., Rahmahani, J., Handijatno, D., & Nugroho, C. M. H. (2020). Analisis filogenetik gen hemagglutinin dan neuraminidase avian influenza H9N2 asal ayam petelur di Jawa Timur. *Jurnal Veteriner*. 21(2): 216-226.

Rell, F., Agung, A., Adi, M., Ngurah, G., & Mahardika, K. (2015). Virulensi Virus Newcastle Disease Isolat Lapang Berdasarkan Analisis Bioinformatika Gen Protein Hemagglutinin-Neuraminidase Virulence of Field Isolates of Newcastle Disease Virus Based on Bioinformatic Analysis of Hemagglutinin-Neuraminidase Protein Genes. In *Jurnal Ilmu dan Kesehatan Hewan, Februari* (Vol. 3, Issue 1).

Saepulloh, M. (2005). Study and Control of Newcastle Disease in Ducks. WARTAZOA. Indonesian Bulletin of Animal and Veterinary Sciences. 15(2): 84-94.

Shunlin, H., Ma, H., Wu, Y., Liu, W., Wang, X., Liu, Y., & Liu, X. (2009). A vaccine candidate of attenuated genotype VII Newcastle disease virus generated by reverse genetics. *Vaccine*. 27: 904-910.

Wibowo, M.H., & Amanu. (2010). Perbandingan Beberapa Program Vaksinasi Penyakit Newcastle Disease pada Ayam Buras. *J. Sains Vet*. 28 (1): 27-35.

Wibowo, M. H., Untari, T., Tri, A. E., Wahyuni, H., Mikrobiologi, B., Hewan, K., Gadjah, U., Fauna, M. J., & Karangmalang, Y. 55281. (2012). *Isolasi, Identifikasi, Sifat Fisik, dan Biologi Virus Tetelo yang Diisolasi dari Kasus di Lapangan*.

Wisnantari, N. M. S., Suardana, I. B. K., & Nindhia, T. S. (2022). Titer Antibodi Newcastle Disease pada Broiler yang Divaksin Umur Satu hari dan Dibooster Umur 15 hari. *Buletin Veteriner Udayana*, 652. <https://doi.org/10.24843/bulvet.2022.v14.i06.p07>

Yulistya, E., Yulistiya, E., Edy, P., & Suharyati, S. (2016). The Effect Of Inactivated Avian Influenza Vaccine Doses in Male Ducks Againts Production of White Blood Cells and Antibody Titers. In *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu* (Vol. 4, Issue 4).

Tabel

Tabel 1. Hasil Uji Hemaglutinasi (HA) cairan alantois

Periode Pengambilan	Jumlah Sampel Swab Kloaka	Hasil Uji Hemaglutinasi
1 minggu pravaksinasi (kontrol)	10	Negatif
1 minggu pascavaksinasi	10	Negatif
2 minggu pascavaksinasi	10	Negatif
3 minggu pascavaksinasi	10	Negatif
4 minggu pascavaksinasi	10	Negatif