

HETEROPHIL-LYMPHOCYTE RATIO IN LAYING HENS VACCINATED WITH NEWCASTLE DISEASE-INFECTIOUS BRONCHITIS**Rasio heterofil-limfosit pada ayam petelur yang divaksinasi *Newcastle Disease-Infectious Bronchitis*****Savira Hadi Putri^{1*}, Anak Agung Sagung Kendran², Gusti Ayu Yuniati Kencana³,
I Made Damriyasa², Ida Bagus Kade Suardana³, I Nyoman Sulabda⁴**¹Mahasiswa Sarjana Pendidikan Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. P.B. Sudirman, Denpasar, Bali, 80234, Indonesia;²Laboratorium Patologi Klinik Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. P.B. Sudirman, Denpasar, Bali, 80234, Indonesia;³Laboratorium Virologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. P.B. Sudirman, Denpasar, Bali, 80234, Indonesia;⁴Laboratorium Fisiologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. P.B. Sudirman, Denpasar, Bali, 80234, Indonesia*Corresponding author email: hadi.putri@student.unud.ac.id

How to cite: Putri SH, Kendran AAS, Kencana GAY, Damriyasa IM, Suardana IBK, Sulabda IN. 2024. Heterophil-lymphocyte ratio in laying hens vaccinated with newcastle disease-infectious bronchitis. *Bul. Vet. Udayana*. 16(4): 1229-1237. DOI:

<https://doi.org/10.24843/bulvet.2024.v16.i04.p29>

Abstract

Vaccination plays a role in the formation of specific immunity against certain antigens. Stressful conditions in animals can potentially influence post-vaccination immune responses. To be able to monitor this condition, it can be seen using stress indicators in poultry, namely the heterophil-lymphocyte ratio (H/L) value. This research was conducted to determine the value of the heterophil-lymphocyte ratio (H/L) in laying hens vaccinated with ND-IB. The samples used were 10 chicken blood samples taken from 40 chickens randomly during the pre-vaccination period; one week, two weeks, and three weeks post-vaccination. The research was preceded by calculating total leukocytes and leukocyte differential, followed by calculating the heterophil-lymphocyte (H/L) ratio value from the results obtained, then analyzed using the SPSS program. The results of this research show that livestock experienced mild stress in the first week post-vaccination which is thought to have occurred due to the handling carried out. A significant increase in the heterophil-lymphocyte ratio (H/L) value occurred in the second week post-vaccination, this occurred due to the influence of environmental factors in the form of bacterial infections. In the third week post-vaccination, livestock no longer experience stress. Further research needs to be carried out using negative controls to determine the exact cause of the increase in the heterophil-lymphocyte (H/L) ratio.

Keywords: Laying hens, vaccination, stress, heterophil-lymphocyte (H/L) ratio

Abstrak

Vaksinasi berperan dalam pembentukan imunitas spesifik terhadap antigen tertentu. Kondisi stres pada hewan dapat berpotensi memengaruhi respons imun pascavaksinasi. Untuk dapat memantau kondisi tersebut dapat dilihat menggunakan indikator stres pada unggas, yaitu nilai rasio heterofil-limfosit (H/L). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui nilai rasio heterofil-limfosit (H/L) pada ayam petelur yang divaksinasi ND-IB. Sampel yang digunakan merupakan 10 sampel darah ayam yang diambil dari 40 ekor ayam secara acak selama masa pascavaksinasi; satu minggu, dua minggu, dan tiga minggu pascavaksinasi. Penelitian didahului dengan menghitung total leukosit dan diferensial leukosit, diikuti dengan penghitungan nilai rasio heterofil-limfosit (H/L) dari hasil yang didapat, kemudian dianalisis menggunakan program SPSS. Hasil penelitian ini menunjukkan ternak mengalami stres ringan pada masa pascavaksinasi minggu pertama yang diduga terjadi akibat *handling* yang dilakukan. Kenaikan nilai rasio heterofil-limfosit (H/L) yang signifikan terjadi pada masa pascavaksinasi minggu kedua, hal ini terjadi akibat adanya pengaruh faktor lingkungan berupa infeksi bakteri. Pada masa pascavaksinasi minggu ketiga, ternak sudah tidak mengalami stres. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan kontrol negatif untuk mengetahui penyebab kenaikan nilai rasio heterofil-limfosit (H/L) secara pasti.

Kata kunci: Ayam petelur; vaksinasi; stres; rasio heterofil-limfosit (H/L)

PENDAHULUAN

Perkembangan zaman menyebabkan permintaan masyarakat akan berbagai kebutuhan meningkat, seperti pada bidang pangan dengan adanya peningkatan permintaan terhadap hasil produk hewani. Contoh produk hewani yang menjadi permintaan masyarakat adalah daging dan telur. Komoditas tersebut perlu dijaga kualitasnya dengan melakukan langkah pencegahan terhadap berbagai tantangan yang dapat menyerang, salah satunya adalah tantangan dari penyakit yang dapat menyerang ternak. Pada industri unggas sendiri, penyakit yang masih perlu diwaspadai, diantaranya penyakit *Newcastle Disease* (ND) dan *Infectious Bronchitis* (IB). Tingginya prevalensi penyakit unggas menimbulkan kendala dalam pengembangan sektor industri perunggasan, dan hal ini memerlukan tindakan intervensi sebelum penyakit menyerang (Birhane & Fesseha, 2020). Pada saat ini, sudah terdapat langkah pencegahan yang efektif terhadap penyakit-penyakit viral tersebut, yaitu dengan vaksinasi.

Vaksinasi diharapkan dapat memberikan dampak terhadap tingkat imunitas atau ketahanan tubuh yang dimiliki oleh hewan yang telah divaksinasi. Vaksinasi tentunya sangat bermanfaat demi kesehatan ternak, namun tidak dapat dipungkiri bahwa vaksinasi juga dapat menyebabkan stress ringan yang bersifat sementara namun juga berperan dalam meningkatkan imunitas tubuh ternak (Li et al., 2020). Stres pascavaksinasi biasanya hanya berlangsung dalam jangka waktu yang singkat. Kondisi tersebut dapat merangsang sekresi hormon adrenokortikotropik (ACTH). Hormon ini dapat memengaruhi jaringan limfoid yang menyebabkan penurunan limfosit dan peningkatan heterofil pada peredaran darah. Hal tersebut juga berperan dalam merangsang sekresi hormon kortikosteroid seperti kortisol dan kortikosteron yang sangat berkaitan dengan respon terhadap stres pada unggas (Kencana et al., 2023). Apabila ternak mengalami stres, terutama stres berlebih, hal ini dapat memengaruhi tingkat keberhasilan vaksinasi hingga menyebabkan kegagalan vaksinasi (Birhane & Fesseha, 2020).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Kencana et al. (2023) menggunakan vaksin AI H5N1 isolat Bali, indikator stres yang digunakan pada unggas adalah nilai dari rasio heterofil-limfosit (H/L). Stres pada ayam dapat merangsang sekresi hormon adrenokortikotropik yang menyebabkan berkurangnya peredaran limfosit dalam darah dan meningkatkan heterofil. Hal ini dapat tergambarkan pada nilai rasio heterofil-limfosit yang tinggi.

Angka rasio yang semakin tinggi, menggambarkan tingkat stres pada unggas yang meningkat pula (Kusnadi, 2009). Sehingga pemeriksaan nilai rasio ini dilakukan untuk memberikan gambaran terhadap efektivitas vaksinasi yang dilakukan dengan menganalisis pengaruh vaksinasi terhadap tingkat stres dari ayam petelur tersebut pascavaksinasi.

METODE PENELITIAN

Kelaikan etik hewan coba

Penelitian ini telah mendapatkan sertifikat persetujuan etik hewan dari komisi etik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana dengan nomor: B/19/UN14.2.9/PT.01.04/2024

Objek Penelitian

Objek yang digunakan pada penelitian ini ayam petelur berumur 30 minggu yang telah divaksinasi ND menggunakan vaksin aktif kombinasi ND-IB dengan vaksin ND strain LaSota dan IB strain H120 secara injeksi intramuskuler sebanyak 0,3 ml.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini termasuk dalam penelitian deskriptif eksperimental dengan prinsip Rancangan Acak Lengkap (RAL). Metode yang digunakan adalah metode survei lapangan dengan *purposive sampling*. Penelitian menggunakan 4 perlakuan, yaitu pengambilan sampel darah pada masa prevaksinasi; 7 hari, 14 hari, dan 21 hari pascavaksinasi menggunakan 10 sampel dalam setiap pengulangan sehingga diperoleh 40 sampel secara total. Sampel yang digunakan adalah darah dari ayam yang diambil secara intravena melalui vena *brachialis* di bawah sayapnya sejumlah 1,5 ml. Nilai rasio heterofil-limfosit (H/L) dapat diketahui dengan menghitung total leukosit menggunakan metode manual dan total diferensial leukosit menggunakan metode apusan darah. Selanjutnya, jumlah sel heterofil dibagi dengan jumlah sel limfosit yang ditemukan dari setiap sampel.

Variabel Penelitian

Variabel bebas adalah vaksinasi ND-IB yang dilakukan pada ayam petelur, variabel terikat adalah rasio H/L dari ayam petelur, dan variabel kontrol adalah ras ayam, cara pemberian vaksin, dan manajemen pemeliharaan.

Metode Koleksi Data

Prosedur Pengambilan Darah

Pengambilan darah dilakukan pada vena *brachialis* ayam menggunakan spuit 3 ml. Pertama-tama, area pengambilan darah diusap menggunakan kapas yang telah dibasahi dengan alkohol 70%. Selanjutnya, spuit diarahkan ke area otot di dekat vena *brachialis* kemudian jarum diteruskan hingga memasuki vena. Kemudian darah dimasukkan ke dalam tabung EDTA. Tabung tersebut dimasukkan ke dalam *cool box* dan dibawa ke Laboratorium Patologi Klinik Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana untuk pemeriksaan selanjutnya.

Proses Penghitungan Jumlah Heterofil dan Limfosit

Penghitungan jumlah total leukosit diawali dengan pengenceran darah menggunakan pipet thoma. Sampel darah dihisap menggunakan pipet sampai garis yang bertanda 0,5 dan darah berlebih di ujung pipet dapat dihapus menggunakan kapas atau tisu secara perlahan. Selanjutnya, ujung pipet dimasukkan ke dalam larutan pengencer, yaitu larutan Turk, dan larutan pengencer dihisap secara perlahan sampai pada garis bertanda 11. Pipet diangkat dari larutan pengencer dan ujung pipet ditutup dengan jari lalu karet penghisap dapat dilepaskan. Campuran antara darah dan larutan pengencer dapat dihomogenkan dengan cara menggerakkan tangan membentuk angka delapan sambil memegang pipet thoma selama beberapa detik.

Langkah selanjutnya adalah pengisian kamar hitung. Kamar hitung disiapkan dan bagian atasnya ditutup menggunakan gelas penutup (*cover glass*). Pipet thoma dihomogenkan selama 1-3 menit. Campuran dari dalam pipet thoma diteteskan pada tisu atau kapas sebanyak 3-4 tetes. Kemudian, ujung pipet thoma disentuhkan pada permukaan kamar hitung dengan cara menyinggung pinggir gelas penutup. Perlu diperhatikan untuk tidak melewati garis batas dan kamar hitung terisi cairan secara perlahan. Kamar hitung didiamkan selama 2-3 menit.

Selanjutnya, kamar hitung diperiksa di bawah mikroskop dan dilakukan penghitungan dengan melihat jumlah leukosit yang berada dalam 4 bidang besar yang terletak pada keempat sudut kamar hitung. Bila sel yang menyinggung salah satu garis batas bidang, maka sel yang dihitung adalah yang menyinggung garis batas atas dan kiri. Penghitungan dapat dilakukan dari sudut kiri atas, ke kanan kemudian turun ke bawah dari kanan ke kiri dan begitu selanjutnya. Jumlah leukosit yang telah dihitung di bawah mikroskop kemudian dimasukkan ke dalam rumus penghitungan jumlah sel leukosit (McKenzie & Williams, 2015).

$$\text{Total leukosit} = \frac{\text{Total jumlah sel leukosit yang dihitung} \times \text{Pengenceran}}{\text{Jumlah kotak yang dihitung} \times \text{Luas setiap kotak} \times \text{Kedalaman bilik hitung}}$$

Penghitungan total diferensial leukosit dilakukan dengan metode apusan darah. Sampel darah diteteskan pada pinggir bagian kaca objek yang pertama, kemudian kaca objek lainnya digunakan untuk menyebarkan darah pada kaca objek yang pertama. Kaca objek pertama diletakkan di atas permukaan yang datar kemudian kaca objek kedua dipegang pada kedua sisi panjangnya dengan membentuk sudut 30-45° di atas kaca objek pertama dan di depan sampel darah yang telah diteteskan sebelumnya. Kaca objek kedua ditarik ke arah darah hingga sisi lebar dari kaca objek dipenuhi oleh darah yang menyebar. Selanjutnya, kaca objek kedua didorong ke depan dengan stabil dan cepat hingga terbentuk ulas darah yang tipis di atas kaca objek yang pertama (Harvey, 2012).

Preparat difiksasi menggunakan larutan metanol selama 5 menit. Pewarna giemsa diencerkan dengan komposisi 1 ml Giemsa dan 4 ml larutan *buffer phosphate*. Kemudian, preparat direndam dalam pewarnaan Giemsa selama 25-30 menit hingga akhirnya dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan. Penghitungan jenis leukosit dilakukan di bawah mikroskop menggunakan minyak emersi dengan pembesaran lensa objektif 100x. Penghitungan nilai leukosit absolut dilakukan hingga ditemukannya 100 sel darah putih pada preparat, kemudian dihitung dengan rumus:

$$\text{Total diferensial leukosit} = \frac{\text{Jumlah jenis leukosit}}{100} \times \text{Jumlah total leukosit}$$

Penghitungan Rasio Heterofil-Limfosit (H/L)

Penghitungan rasio heterofil-limfosit dilakukan dengan membagi jumlah heterofil dan jumlah limfosit dari masing-masing sampel. Rasio ini dihitung pada masa pravaksinasi ayam dan pascavaksinasi pada hari ke-7, ke-14, dan ke-21.

Analisis data

Rasio H/L yang telah diperoleh kemudian dianalisis menggunakan sidik ragam *one-way ANOVA* dilanjutkan dengan uji Duncan apabila terdapat perbedaan yang signifikan. Data disajikan secara deskriptif kuantitatif dalam bentuk tabel dan grafik dan juga secara deskriptif kualitatif mengenai hasil analisis faktor yang telah dilakukan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Hasil dari penelitian yang telah dilakukan menunjukkan vaksinasi ND-IB berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap rasio heterofil-limfosit pada ayam petelur pascavaksinasi. Hasil rerata nilai

absolut heterofil dan limfosit serta nilai rasio heterofil-limfosit terhadap waktu pengambilan sampel dipaparkan pada tabel 1. Nilai rerata jumlah heterofil ($\times 10^3/\mu\text{l}$) sampel tertinggi terdapat pada masa pascavaksinasi minggu kedua, yaitu $32,75 \pm 6,95$. Sedangkan, nilai rerata terendah terdapat pada masa pascavaksinasi minggu ketiga, yaitu $16,85 \pm 5,10$. Rerata jumlah limfosit ($\times 10^3/\mu\text{l}$) tertinggi terdapat pada masa pravaksinasi, yaitu $42,51 \pm 8,45$ dan nilai rerata terendah terdapat pada masa pascavaksinasi minggu kedua, yaitu $26,27 \pm 6,39$.

Nilai kedua sel tersebut dalam darah menentukan nilai rasio heterofil-limfosit (H/L) yang diperoleh. Dapat terlihat pada gambar 1, bahwa terjadi peningkatan nilai rasio H/L pada masa pascavaksinasi minggu pertama dibandingkan dengan masa pravaksinasi, yaitu menjadi $0,76 \pm 0,26$. Terjadi peningkatan yang signifikan pada masa pascavaksinasi minggu kedua, yaitu nilai rerata rasio H/L menjadi $1,34 \pm 0,52$. Pada masa pascavaksinasi minggu ketiga terjadi penurunan yang signifikan, yaitu $0,47 \pm 0,22$.

Berdasarkan analisis regresi yang telah dilakukan, didapat garis regresi dari persamaan $Y = 0.65 - 0.78 * X + 1.21 * X * X - 0.32 * X * X * X$ yang berpengaruh nyata ($P < 0,05$). Hal ini menunjukkan adanya kaitan erat antara pengamatan nilai rasio heterofil-limfosit dengan vaksinasi ND-IB yang dilakukan. Dapat dilihat dari persamaan tersebut bahwa Y merupakan nilai rerata rasio heterofil-limfosit dan X merupakan variabel regresi berupa waktu pengambilan darah yang dilakukan pada masa pravaksinasi dan pascavaksinasi. Persamaan regresi tersebut dapat digunakan untuk memprediksi nilai rerata rasio heterofil-limfosit setelah masa pascavaksinasi minggu ketiga. Grafik persamaan regresi yang diperoleh dapat dilihat pada gambar 2 berikut.

Pembahasan

Kencana et al. (2023), menyatakan bahwa vaksinasi menggunakan vaksin AI H5N1 isolat Bali tidak menyebabkan stres yang signifikan pada ayam karena rasio H/L masih berada pada standar normal (0,5). Pada minggu pertama pascavaksinasi, ayam mengalami stres dengan nilai rasio H/L $0,76 \pm 0,26$ dan pada minggu kedua yaitu dengan nilai rasio H/L $1,34 \pm 0,52$. Pada penelitian ini, stres tidak terjadi pada ayam percobaan periode tiga minggu pascavaksinasi dengan nilai rasio H/L $0,47 \pm 0,22$. Hal tersebut berkaitan dengan respons imun yang terjadi pada ayam pascavaksinasi.

Pada masa pascavaksinasi minggu pertama, jumlah sel heterofil yang ada dalam sirkulasi darah sejumlah $23,26 \pm 6,11$ atau rata-rata jumlah relatifnya adalah 37%. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Arfah, 2015), persentase heterofil pada umumnya adalah 20-30% dan berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Mohanty et al. 2020), nilai relatif heterofil berjumlah berada pada kisaran 6-19%. Data tersebut menunjukkan bahwa terjadi peningkatan sel heterofil dalam darah pada masa pascavaksinasi minggu pertama. Jumlah rerata sel limfosit pada masa pascavaksinasi minggu pertama adalah $31,56 \pm 4,76$ dengan nilai relatif 51%. Berdasarkan penelitian yang dilakukan (Harahap, 2014), persentase limfosit darah ayam berada pada 42-66%. Hal tersebut menunjukkan bahwa jumlah sel limfosit dalam darah masih berada di batas normal. Peningkatan nilai rasio H/L pada masa pascavaksinasi minggu pertama dapat terjadi karena peningkatan sel heterofil pada peredaran darah.

Kondisi stres yang dialami ayam pada minggu pertama pascavaksinasi diduga disebabkan oleh tindakan pengambilan sampel darah yang dilakukan setiap minggunya. Kencana et al. (2018) menyatakan, *handling* yang dilakukan saat proses pengambilan sampel darah dapat menjadi penyebab stres pada ayam. Selain itu, adanya kehadiran orang baru di kandang dapat menjadi pemicu stres bagi ayam. Penelitian yang dilakukan Wein et al. (2017) juga membuktikan bahwa nilai rasio heterofil-limfosit (H/L) pada kelompok ayam yang dilakukan pengambilan darah

dengan restrain manual secara signifikan lebih tinggi dibanding kelompok ayam dengan darah yang diambil dengan metode kanulasi intravena.

Kenaikan yang signifikan terlihat pada rerata nilai rasio H/L pada masa pascavaksinasi minggu kedua. Nilai rerata sel heterofil pada masa pascavaksinasi minggu kedua adalah $32,75 \pm 6,95$ dengan nilai relatif 49,7%. Sedangkan, nilai rerata sel limfosit pada masa pascavaksinasi minggu kedua adalah $26,27 \pm 6,39$ dengan nilai relatif 40%. Hasil tersebut menunjukkan terjadi peningkatan yang signifikan pada sel heterofil dan penurunan pada sel limfosit. Hal tersebut yang menyebabkan terjadinya peningkatan nilai rasio H/L.

Setelah dilakukannya pemeriksaan pada minggu kedua, petugas lapangan di peternakan menginformasikan bahwa ternak mengalami diare dan konsultan peternakan menyatakan bahwa ternak menunjukkan gejala infeksi bakteri sehingga menyarankan untuk dilakukan terapi berupa pemberian antibiotik. Peningkatan jumlah sel heterofil dalam darah berkaitan dengan infeksi bakteri pada ternak. Hal ini dikarenakan heterofil merupakan sel darah putih yang berperan dalam respons imun yang bersifat non spesifik. Sel ini berperan dalam respons utama seperti pada peradangan dan perlawanan terhadap patogen yang masuk ke dalam tubuh dengan mekanisme fagositosis (Kaspers et al., 2021).

Nilai rasio H/L yang kembali ke standar normal berkaitan dengan kenaikan jumlah limfosit dalam darah. Jumlah rerata sel heterofil pada masa pascavaksinasi ketiga adalah $16,85 \pm 5,10$ dengan nilai relatif 26,1%. Sedangkan, jumlah rerata sel limfosit, yaitu $39,49 \pm 9,01$ dengan nilai relatif 60,5%. Data hasil tersebut menunjukkan bahwa jumlah kedua sel tersebut berada pada rentang nilai normal dan terjadi peningkatan nilai limfosit dari pemeriksaan pada minggu sebelumnya

Kencana et al. (2021), menyatakan bahwa peningkatan total leukosit pascavaksinasi ditandai dengan peningkatan jumlah leukosit menunjukkan terbentuknya respons imun spesifik dalam tubuh yang diperankan oleh sel limfosit T, yang terdiri atas sel T sitotoksik dan sel T helper (Th), serta sel limfosit B yang memproduksi antibodi spesifik. Pada kontak pertama, antigen akan menginduksi terbentuknya respons imun primer yang mengakibatkan pembentukan kelompok sel yang disebut sel memori. Sehingga, apabila antigen yang sama kembali menginfeksi, sel memori tersebut akan berproliferasi dan menimbulkan respons imun sekunder yang bersifat lebih cepat dan lebih intensif dibandingkan dengan respons imun primer (Suardana, 2017). Konsep tersebut merupakan penerapan dari vaksinasi sehingga apabila salah satu tipe limfosit teraktivasi, sel tersebut akan berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel efektor, untuk melawan antigen, dan sel memori yang spesifik terhadap antigen (Hewajuli & Dharmayanti, 2015).

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kondisi stres ringan pada ternak pascavaksinasi dapat terjadi. Berdasarkan hasil analisis regresi yang dilakukan, menunjukkan bahwa rasio heterofil-limfosit akan menurun bahkan setelah masa pascavaksinasi minggu ketiga.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, vaksinasi ND-IB pada ayam petelur berpengaruh terhadap nilai rasio heterofil-limfosit (H/L) yang meningkat pada minggu pertama dan kedua masa pascavaksinasi, sedangkan pada minggu ketiga sudah menurun ke arah nilai normal. Waktu pengambilan sampel berpengaruh terhadap nilai rasio heterofil-limfosit (H/L) pada ayam petelur pascavaksinasi ND-IB.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan kontrol negatif sehingga penyebab perubahan nilai heterofil-limfosit (H/L) yang terjadi dapat ditentukan secara pasti.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada peternakan ayam petelur UD. Sari Boga, Laboratorium Patologi Klinik Veteriner Universitas Udayana, serta berbagai pihak yang telah membantu dan memfasilitasi penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Arfah, N. M. (2015). Pengaruh Pemberian Tepung Kunyit Pada Ransum Terhadap Jumlah Eritrosit, Hemoglobin, PCV, dan Leukosit Ayam Broiler. *Universitas Hasanuddin*.
- Birhane, N., & Fesseha, H. (2020). Vaccine Failure in Poultry Production and its Control Methods: A Review. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 29(4), 22588–22596. <https://doi.org/10.26717/bjstr.2020.29.004827>
- Harahap, R. A. (2014). Profil Darah Ayam Broiler Periode Finisher yang Diberi Pakan Plus Formula Herbal. *Institut Pertanian Bogor*.
- Harvey, J. W. (2012). Hematology Procedures. In *Veterinary Hematology*. <https://doi.org/10.1016/b978-1-4377-0173-9.00002-6>
- Hewajuli, D. A., & Dharmayanti, N. (2015). The Role of Non-specific and Specific Immune Systems in Poultry against Newcastle Disease. *Indonesian Bulletin of Animal and Veterinary Sciences*, 25(3), 135–146. <https://doi.org/10.14334/wartazoa.v25i3.1158>
- Kencana, G. A. Y., Kendran, A. A. S., Anggreni, L. D., & Widyasanti, N. W. H. (2018). Total dan Diferensial Leukosit Ayam Petelur Pascavaksinasi Tetelo dan Flu Burung. *Jurnal Veteriner*, 19(2), 190–195. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2018.19.2.190>
- Kencana, G. A. Y., Sari, T. K., Suartha, I. N., Ramanda, I. K. T. C., & Kendran, A. A. S. (2021). Respon Imun Seluler Ayam Petelur Pascavaksinasi Avian Influenza Subtipe H5N1 Isolat dari Bali. *Jurnal Sain Veteriner*, 39(3), 277–288. <https://doi.org/10.22146/jsv.66086>
- Kencana, G. A. Y., Suartha, I. N., Juliantari, P. T., Tama, K. T., Kendran, A. A. S., Sari, T. K., ... Tenaya, I. W. M. (2023). Avian Influenza H5N1 Isolated from Bali, its Safety and Potential as a New Vaccine Candidate. *International Journal of Veterinary Science*, 12(6), 786–792. <https://doi.org/https://doi.org/10.47278/journal.ijvs/2023.023>
- Kusnadi, E. (2009). Perubahan Malonaldehida Hati, Bobot Relatif Bursa Fabricius dan Rasio Heterofi l/Limfosit (H/L) Ayam Broiler yang Diberi Cekaman Panas. *Jurnal Media Peternakan*, 32(2), 81–87.
- Li, R. F., Liu, S. P., Yuan, Z. H., Yi, J. E., Tian, Y. N., Wu, J., & Wen, L. X. (2020). Effects of induced stress from the live LaSota Newcastle disease vaccination on the growth performance and immune function in broiler chickens. *Poultry Science*, 99(4), 1896–1905. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.12.004>
- McKenzie, S. B., & Williams, J. L. (2015). Clinical Laboratory Hematology Third Edition. In *Pearson*.
- Mohanty, S., Mohapatra, S., & Acharya, G. (2020). Comparative haematology and biochemical parametrs of indigenious and broiler chicken. *International Journal of Scientific and Technology Research*, 9(4), 972–979.

Schat, K. A., Kaiser, P., & Kaspers, B. (2021). Avian Immunology. In *Avian Immunology*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818708-1>

Suardana, I. B. K. (2017). Diktat Immunologi Dasar Sistem Imun. In *Http://Simdos.Unud.Ac.Id* (pp. 1–36). Retrieved from https://simdos.unud.ac.id/uploads/file_pendidikan_1_dir/284a0e69155751dc6c459b07f14bc03c.pdf

Wein, Y., Shira, E. B., & Friedman, A. (2017). Avoiding handling-induced stress in poultry: Use of uniform parameters to accurately determine physiological stress. *Poultry Science*, 96(1), 65–73. <https://doi.org/10.3382/ps/pew245>

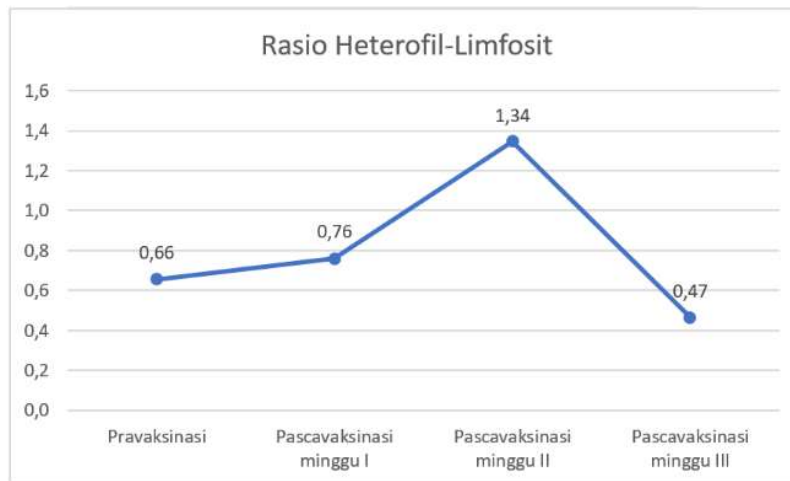
Tabel

Tabel 1. Rerata Jumlah Sel Heterofil dan Limfosit serta Nilai Rasio Heterofil-Limfosit pada Peternakan Ayam Petelur di Desa Selanbawak, Kabupaten Tabanan

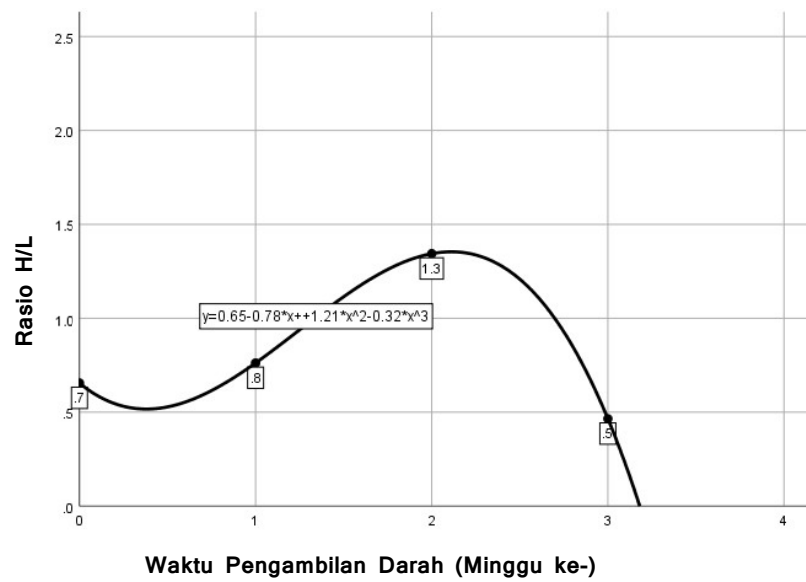
Waktu Pengambilan Sampel	Jumlah Sel		Rasio H/L
	Heterofil ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	Limfosit ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	
Pravaksinasi	$24,60 \pm 12,35^b$	$42,51 \pm 8,45^b$	$0,66 \pm 0,48^a$
Pascavaksinasi minggu I	$23,26 \pm 6,11^{a,b}$	$31,56 \pm 4,76^a$	$0,76 \pm 0,26^a$
Pascavaksinasi minggu II	$32,75 \pm 6,95^c$	$26,27 \pm 6,39^a$	$1,34 \pm 0,52^b$
Pascavaksinasi minggu III	$16,85 \pm 5,10^a$	$39,49 \pm 9,01^b$	$0,47 \pm 0,22^a$

Keterangan: Huruf (superskrip) yang berbeda menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$). Sebaliknya, huruf (superskrip) yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$).

Gambar



Gambar 1. Grafik Rerata Nilai Rasio Heterofil-Limfosit Ayam Petelur Pascavaksinasi ND-IB



Gambar 2. Grafik Persamaan Regresi Nilai Rasio Heterofil-Limfosit Ayam Petelur Pascavaksinasi ND-IB