

THE EFFECT OF NATURAL GUARD IN DRINKING WATER ON NEWCASTLE DISEASE ANTIBODY TITER IN LAYING HENS

Pengaruh *Natural Guard* dalam Air Minum Terhadap Titer Antibodi Newcastle Disease Ayam Petelur

Misfah Maulidiyah^{1*}, Ida Bagus Komang Ardana², Ida Bagus Kade Suardana³

¹Mahasiswa Progam Studi Kedokteran Hewan, Universitas Udayana Jl. Lkr. Timur Unud, Jimbaran, 80361, Bali, Indonesia;

²Laboratorium Patologi Klinik Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana Jl. Lkr. Timur Unud, Jimbaran, 80361, Bali, Indonesia

³Laboratorium Virologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana Jl. P.B Sudirman, Sanglah, Denpasar, Bali, 80234, Indonesia;

*Corresponding author email: misfah012@student.unud.ac.id

How to cite: Maulidiyah M, Ardana IBK, Suardana IBK. 2025. The effect of natural guard in drinking water on Newcastle Disease antibody titer in laying hens. *Bul. Vet. Udayana*. 17(3): 721-728. DOI: <https://doi.org/10.24843/bulvet.2025.v17.i03.p17>

Abstract

Natural Guard is a combination of pine oil, lavender oil and eucalyptus oil which can be used as an immunomodulator. The aim of this study was to determine the effect of Natural Guard administration through drinking water on the antibody titer against Newcastle Disease (ND) virus. This study used 24 Hy-line Brown laying hens randomly assigned to four treatment groups. Natural Guard was mixed into the drinking water at different concentrations: 0 ml/L (control), 0.1 ml/L (P1), 0.2 ml/L (P2), and 0.3 ml/L (P3), and administered for 30 days. ND antibody titers were measured using the Hemagglutination Inhibition (HI) test. The data obtained were analyzed using analysis of variance. The results showed that administration of Natural Guard at doses of 0.1 ml/L, 0.2 ml/L, and 0.3 ml/L did not significantly ($P > 0.05$) increase ND virus antibody titers in laying hens.

Keywords: Antibody titer, eucalyptus oil, laying hens, lavender oil, newcastle disease, pine oil.

Abstrak

Natural Guard merupakan kombinasi minyak Pinus, minyak lavender, dan minyak kayu putih yang dapat dijadikan sebagai imonomodulator. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian *Natural Guard* melalui air minum terhadap titer antibodi virus *Newcastle Disease*. Penelitian ini menggunakan 24 ekor ayam petelur strain Hy-line Brown yang diambil secara acak dari 4 kelompok perlakuan. Pemberian *Natural Guard* yang dicampur dalam air minum dengan dosis yang berbeda 0 ml/L (kontrol), 0,1 ml/L (P1), 0,2 ml/L (P2), dan 0,3 ml/L (P3) selama 30 hari. Titer antibodi ND diukur menggunakan uji Hambatan Hemaglutinasi (HI). Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji sidik ragam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian *Natural Guard* dengan dosis 0,1 ml/L, 0,2 ml/L dan

0,3 ml/L tidak berbeda nyata ($P>0,05$) dalam meningkatkan titer antibodi virus ND pada ayam petelur.

Kata kunci: Ayam petelur, minyak kayu putih, minyak lavender, minyak pinus, *Newcastle disease*, titer antibodi.

PENDAHULUAN

Ayam petelur merupakan salah satu komoditas unggas yang mempunyai peranan penting sebagai penghasil telur untuk memenuhi kebutuhan protein hewani yang relatif murah dan mudah didapatkan oleh masyarakat (Setyono et al., 2013). Tingginya kesadaran akan pentingnya gizi yang berasal dari produk hewani menyebabkan permintaan terus meningkat, sehingga mendorong peternak membudidayakan ayam petelur. Untuk memenuhi kebutuhan protein hewani yang terus meningkat, produktivitas perlu ditingkatkan melalui manajemen pemeliharaan yang baik dan kondisi kesehatan. Masalah kesehatan biasanya dapat disebabkan oleh bakteri, parasit, dan virus. Salah satu penyakit yang ditimbulkan dari virus yaitu Newcastle Disease (ND).

Di Indonesia penyakit ND dikenal dengan sebutan penyakit Tetelo, yang disebabkan oleh *virus Avian Paramyxovirus type-1* (APMV-1). Penyakit ini bersifat akut pada unggas serta dapat menular secara cepat dan menyebabkan gangguan pada saluran pernapasan, saluran pencernaan dan sistem saraf pusat. Penyakit ND mengakibatkan kerugian ekonomi yang sangat besar pada peternakan ayam (Aldous et al., 2003). Kerugian ini disebabkan karena angka kesakitan (morbiditas) dan angka kematian (mortalitas) pada ternak unggas yang sangat tinggi mencapai 50-100% akibat infeksi virus ND strain velogenik terutama pada kelompok ayam yang peka, 50% pada strain mesogenik, dan 30% pada infeksi virus strain lentogenik (Tubbu, 2000).

Timbulnya penyakit yang disebabkan oleh virus dapat dicegah dengan cara menerapkan vaksinasi, namun data di lapangan menunjukkan bahwa masih banyak kasus penyakit ND yang dihadapi peternak meski telah menerapkan vaksinasi secara rutin (Wibowo et al., 2013). Selain itu, dapat juga dilakukan dengan cara meningkatkan respon imun pada ayam petelur dengan memberikan bahan alami atau tanaman herbal sebagai perangsang sistem imun atau dikenal sebagai imunomodulator. Imunomodulator adalah senyawa yang dapat meningkatkan mekanisme pertahanan tubuh baik secara spesifik maupun non spesifik. Penggunaan imunomodulator dapat ditambahkan ke dalam pakan maupun air minum. Salah satu imunomodulator yang dapat digunakan yaitu kombinasi minyak pinus, minyak lavender dan minyak kayu putih yang sudah diformulasikan dan dikemas menjadi produk bernama *Natural Guard*.

Natural Guard merupakan produk yang mengandung campuran minyak pinus, minyak lavender dan minyak kayu putih yang memiliki kemampuan sebagai imunomodulator (Merdana et al., 2024). Minyak pinus mengandung *isobornyl acetate* yang memiliki aktivitas antimikroba, antiinflamasi dan antioksidan, serta meningkatkan produktivitas dan kesehatan pada ternak (Kim, 2010). Minyak lavender mengandung *linalool* yang berperan sebagai antibakteri, antijamur, antivirus, antioksidan dan imunostimulan (Barbarestani, 2020). Sementara itu, minyak kayu putih mengandung *sineol* yang berperan sebagai antimikroba, antioksidan, antiinflamasi, analgesik, dan spasmolitik, serta telah dilaporkan dapat meningkatkan fagositosis dan menekan produksi sitokin proinflamasi seperti TNF- α (Sadlon & Lamson, 2010). Penelitian sebelumnya oleh Merdana et al., (2024) pemberian *Natural Guard* yang diberikan pada ayam pedaging dengan dosis 100 ppm menunjukkan hasil yang signifikan dalam meningkatkan performa pertumbuhan, profil darah, dan titer antibodi *Newcastle Disease*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi

minyak pinus, minyak lavender dan minyak kayu putih dalam air minum terhadap peningkatan titer antibodi ND pada ayam petelur.

METODE PENELITIAN

Kelaikan etik hewan coba

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Kode Etik Universitas Udayana dengan nomor surat B/199/UN14.2.9/PT.01.04/2024.

Objek Penelitian

Penelitian ini menggunakan ayam petelur strain Hy-line Brown di peternakan Sari Nadi Farm yang berlokasi di Blahkiuh, Kecamatan Abiansema, Kabupaten Badung, Bali. Ayam dipelihara secara *open house* dengan kandang baterai.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimental dan pengambilan sampel dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Pemberian *Natural Guard* pada Ayam petelur melalui air minum dalam wadah kapasitas 50 liter dengan dosis yang berbeda yaitu 0 ml/L (P0 sebagai kontrol), 0,1 ml/L (P1), 0,2 ml/L (P2), dan 0,3 ml/L (P3) setiap hari selama 30 hari. Perlakuan ini dilakukan setelah ayam petelur mendapatkan vaksinasi ND. Untuk pemeriksaan serologis uji HI, setiap pengambilan sampel darah dilakukan secara acak masing-masing 6 ulangan dari 4 kelompok perlakuan. Jumlah sampel yang akan diambil ditentukan menggunakan rumus Federer : $(r - 1) (t - 1) \geq 15$, sehingga sampel yang diambil adalah sebanyak 24 ekor.

Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan pada penelitian ini diantaranya adalah variabel bebas (perbedaan dari dosis *Natural Guard* yang diberikan dalam air minum selama 30 hari, yaitu 0,1 ml/L, 0,2 ml/L, dan 0,3 ml/L air minum). Variabel terikat (titer antibodi *Newcastle Disease*). Variabel kontrol (pakan, kualitas air minum, manajemen ternak, lingkungan kandang, status kesehatan, umur ayam, strain ayam dan genetik).

Metode Koleksi Data

Perlakuan dan Pengambilan sampel

Ayam petelur ditempatkan di kandang terbuka dan dibagi menjadi empat kelompok perlakuan yang berbeda yaitu kelompok P0 sebagai kontrol yang tidak diberikan campuran *Natural Guard* pada air minumnya. Kelompok P1 diberikan campuran *Natural Guard* dengan dosis 0,1 ml/L. Kelompok perlakuan P2 diberikan campuran *Natural Guard* dengan dosis 0,2 ml/L. Dan kelompok perlakuan P3 diberikan campuran *Natural Guard* dengan dosis 0,3 ml/L. setelah itu, pengambilan sampel darah ayam petelur dilakukan melalui vena *brachialis* sebanyak 1 ml menggunakan *disposable syringe* 3 ml. Syringe yang berisi darah diletakkan pada coolbox dengan posisi horizontal agar serum dapat keluar. Setelah darah membeku dan serum terlihat ditandai dengan terlihatnya cairan kuning sedikit kemerahan lalu dipindahkan ke dalam tabung *eppendorf*, kemudian disentrifuse dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Selanjutnya serum dipanaskan pada suhu 56°C selama 30 menit, untuk menginaktivasi komplemen dalam serum tersebut.

Pembuatan Suspensi Eritrosit 1%

Suspensi eritrosit 1% dibuat dengan cara mengambil darah ayam pada vena *brachialis* sebanyak 2,5 ml, dan ditampung dalam tabung yang berisi EDTA. Sel darah merah dicuci dengan

ditambahkan PBS dan dihomogenkan secara perlahan-lahan. Sampel darah disentrifugasi dengan kecepatan 2.500 rpm selama 10 menit, lalu pisahkan supernatan dari endapan sel darah merah. Sel darah merah dicuci kembali dengan ditambahkan PBS, lalu proses ini diulang kembali dengan cara yang sama sebanyak tiga kali. Sel darah merah diukur *packed cell volumen* (PCV) lalu diencerkan dengan larutan PBS sampai menjadi konsentrasi 1% dan siap digunakan untuk uji HA/HI (Kencana et al., 2016).

Uji Hemaglutinasi (HA)

Uji ini dilakukan untuk menguji antigen sebelum persiapan antigen 4 HA untuk uji HI. Setiap lubang plat mikro (1-2) diisi 0,025 ml PBS lalu dilakukan pengenceran berseri kelipatan dua mulai dari lubang 2 sampai lubang 11. Lalu tambahkan 0,025 ml antigen dari lubang pertama hingga ke-11 dan ayak menggunakan *microshaker*. Selanjutnya, ditambahkan 0,05 ml suspensi sel darah merah 1% lalu di ayak selama 30 detik. Hasil diamati setiap 15 menit sampai 1 jam pada suhu kamar. Hasil positif ditandai dengan bentuk seperti butiran pasir berwarna merah pada dasar lubang plat mikro (OIE, 2021).

Uji Hambatan Hemaglutinasi (HI)

Uji HI adalah uji serologi dengan menambahkan 0,025 ml PBS ke setiap lubang plat mikro. Sumuran 1 dan 2 diisi 0,025 ml serum, lalu diencerkan berseri hingga sumuran 10. Sumuran 1-11 ditambahkan 0,025 ml virus standar (4 HAU), sedangkan sumuran 12 hanya berisi PBS. Plat mikro di ayak selama 30 detik menggunakan *microshaker* dan didiamkan selama 30 menit. Selanjutnya tambahkan 0,025 ml suspensi eritrosit 1% ditambahkan ke semua sumuran dan di ayak lagi. Setelah plat mikro diinkubasikan selama 1 jam dengan pengamatan tiap 15 menit. Hasil positif ditandai adanya endapan eritrosit 1% pada dasar plat mikro atau tidak ada aglutinasi (OIE, 2021).

Analisis data

Hasil pemeriksaan titer antibodi selanjutnya ditabulasi dan dianalisis dengan menggunakan uji sidik ragam menggunakan SPSS *for windows* 26.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Pemberian *Natural Guard* pada ayam petelur melalui air minum tidak berbeda nyata ($P>0,05$) antara perlakuan kontrol, P1, P2 dan P3 terhadap peningkatan titer antibodi ND yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil pada Grafik 1 rata-rata titer antibodi pada kelompok P0 (kontrol) dan dosis 0,1 ml/L (P1) yaitu sebesar 8,83 HI unit log 2, sedangkan pada dosis 0,2 ml/L (P2) dan 0,3 ml/L (P3) mengalami peningkatan titer antibodi sebesar 9,00 HI unit log 2, tetapi secara statistik tidak berbeda nyata ($P>0,05$).

Pembahasan

Pemberian *Natural Guard* pada semua kelompok perlakuan menunjukkan hasil yang baik, dimana titer antibodi virus ND berada dalam kategori protektif dalam memberikan perlindungan terhadap virus ND. Berdasarkan OIE, (2008) titer antibodi dianggap protektif jika nilai uji HI melebihi log 2⁵ atau 32 unit HI. Hal ini disebabkan oleh keberhasilan program vaksinasi yang telah berjalan optimal, sehingga titer antibodi mencapai tingkat perlindungan yang diharapkan. Vaksin yang telah diberikan pada ayam petelur ini mengakibatkan terbentuknya sel memori yang dapat berfungsi untuk mengikat kembali antigen atau zat asing yang masuk ke dalam tubuh dan segera membentuk antibodi untuk menetralkan antigen

tersebut. Hal ini sesuai dengan pendapat (Tizard, 2017) yang menyatakan bahwa sel memori terbentuk sempurna apabila adanya vaksin booster setelah vaksin terdahulu.

Berdasarkan hasil dari Tabel 1. pemberian *Natural Guard* yang dicampur dalam air minum tidak berbeda nyata ($P>0,05$). Hal ini mungkin disebabkan oleh dosis masing-masing perlakuan yang masih kurang optimal, sehingga senyawa aktif yang terkandung dalam *Natural Guard* belum bekerja secara maksimal. Dosis imunomodulator harus benar-benar sesuai sehingga dapat memicu respon imun humoral secara maksimal. Dosis yang sesuai dapat memicu peningkatan total leukosit sehingga terjadi peningkatan kekebalan tubuh yang berakhir dengan meningkatnya titer antibodi (Tizard, 2017). Faktor umur juga memengaruhi respons imun. Ayam dewasa memiliki sistem imun yang relatif matang dan stabil, sehingga respons terhadap stimulasi eksternal seperti imunomodulator cenderung tidak sekuat pada ayam yang lebih muda. Hal ini sejalan dengan penelitian Merdana et al. (2024) yang menunjukkan bahwa ayam muda (*day-old chick/DOC*) mengalami peningkatan titer antibodi yang signifikan. Hal ini terjadi karena sistem imun pada ayam muda masih dalam tahap perkembangan, sehingga lebih sensitif dan responsif terhadap rangsangan seperti vaksinasi maupun pemberian imunostimulan. Selain itu, karena pengambilan sampel dilakukan secara acak, ada kemungkinan beberapa ayam yang dijadikan sampel hanya mengonsumsi sedikit air perlakuan. Hal ini dapat menyebabkan hasil yang diperoleh tidak sesuai dengan yang diinginkan.

Berdasarkan hasil analisis Grafik 1. titer antibodi ND dari keempat kelompok perlakuan, diketahui rata-rata titer antibodi ND yang paling tinggi terdapat pada kelompok perlakuan P2 dan P3 dengan pemberian *Natural Guard* sebanyak 0,2 ml/L dan 0,3 ml/L yaitu sebesar 9.00 HI unit log 2, yang dapat meningkatkan titer antibodi terhadap virus ND. Hal ini menunjukkan bahwa *Natural Guard* memiliki kemampuan sebagai imunomodulator, sejalan dengan penelitian oleh Merdana et al., (2024) bahwa minyak esensial *Natural Guard* memiliki kemampuan sebagai imunomodulator. Penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa minyak esensial memiliki peran sebagai imunostimulator (Gopi et al., 2014.), serta imunoregulator (Gandhi et al., 2020).

Minyak kayu putih mengandung senyawa utama 1,8-*sineol* atau *eucalyptol* (Ismanto, 2018) yang memiliki sifat imunostimulan serta peran probiotik dalam meningkatkan keseimbangan mikroflora usus, yang dapat meningkatkan respons imun humoral. Hal ini sejalan dengan penelitian (Fathi et al., 2019) yang menyatakan minyak kayu putih secara signifikan meningkatkan kekebalan tubuh karena konsentrasi tanin yang terkait dalam daun kayu putih, yang telah terbukti dapat meningkatkan respons imunologis dengan memiliki efek imunomodulator. Diet ayam pedaging yang disuplemenkan dengan bubuk daun kayu putih memiliki respons antibodi yang lebih baik, memiliki efek khusus pada produksi IgM dalam respons antibodi primer (Farhadi et al., 2017). Penelitian oleh (Serafino et al., 2008) pemberian minyak kayu putih dapat merangsang respons sistem imun dengan meningkatkan aktivitas fagositosis monosit. Selain itu, bahan aktif *sineol* dalam minyak kayu putih mengendalikan sekresi lendir di lapisan epitel saluran udara sistem pernapasan (Juergens et al., 2004).

Minyak pinus mengandung senyawa *isobornyl acetate*, *fenolik*, *flavonoid*, dan *alkaloid*, yang menghambat peroksidasi, meningkatkan kekebalan, dan memberikan sifat antibakteri (Guo et al., (2022). Suplementasi pinus pada 100 mg/kg secara signifikan meningkatkan konsentrasi IgG, IgM, dan IgA serum dibandingkan dengan kelompok lain, yang serupa dengan temuan Cui et al., (2020) yang melaporkan bahwa pinus mengaktifkan makrofag dan meningkatkan fungsi kekebalan bawaan ayam pedaging. Dalam penelitian Wei et al., (2014) menunjukkan bahwa bubuk jarum pinus 0,1% memperbaiki imunitas ayam.

Minyak lavender terdiri dari senyawa aktif *linalool*, *linalool asetat*, dan *terpinol* yang berperan sebagai antibakteri, antijamur, antivirus antioksidan dan imunostimulan (Adaszyńska-Skwirzyńska et al., 2021; Barbarestani et al., 2020). Pemberian minyak esensial lavender terhadap broiler dengan Dosis 200-600 mg/kg dapat meningkatkan status kekebalan broiler dan memiliki efek hipolipidemik sehingga dapat menggantikan *Antibiotic Growth Promoter* (AGP) untuk meningkatkan performa broiler (Barbarestani et al., 2020).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Pemberian *Natural Guard* dalam air minum dengan dosis 0,1 ml/L, 0,2 ml/L, dan 0,3 ml/L selama 30 hari tidak berbeda nyata ($P>0,05$) terhadap peningkatan titer antibodi virus ND pada ayam petelur.

Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh pemberian *Natural Guard* terhadap peningkatan titer antibody virus ND dengan dosis dan waktu pemberian yang berbeda dari penelitian ini agar memberikan hasil yang lebih baik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada peternakan Sari Nadi Farm, Balai Besar Veteriner Denpasar Bali, serta semua pihak yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adaszyńska-Skwirzyńska, M., Szczerbińska, D., & Zych, S. (2021). The use of lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oil as an additive to drinking water for broiler chickens and its in vitro reaction with enrofloxacin. *Animals*, 11(6). <https://doi.org/10.3390/ani11061535>
- Aldous, E. W., Mynn, J. K., Banks, J., & Alexander, D. J. (2003). A molecular epidemiological study of avian paramyxovirus type 1 (Newcastle disease virus) isolates by phylogenetic analysis of a partial nucleotide sequence of the fusion protein gene. *Avian Pathology*, 32(3), 237–255. <https://doi.org/10.1080/0307945031000097831>
- Barbarestani, Y. S., Jazi, V., Mohebodini, H., Ashayerizadeh, A., Shabani, A., & Toghyani, M. (2020). Effects of dietary lavender essential oil on growth performance, intestinal function, and antioxidant status of broiler chickens. *Livestock Science*, 233. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.103958>
- Cui, X. Z., Luan, Y., Li, T. T., Yang, Y., Guan, W. C., Zhang, K., Wang, F. C., & Song, X. Y. (2020). Innate immunomodulatory effect of pine needle polysaccharide on chicken macrophage HD11. *Scientia Agricultura Sinica*, 53(15), 3180–3186. <https://doi.org/10.3864/j.issn.0578-1752.2020.15.017>
- Farhadi, D., Karimi, A., Sadeghi, Sheikhhahmadi, G., Habibian, A., Raei, M., & Sobhani, A. (2017). Effects of using eucalyptus (*Eucalyptus globulus* L.) leaf powder and its essential oil on growth performance and immune response of broiler chickens. *Iranian journal of veterinary research*, 18(1), 60.
- Fathi, M., Abdelsalam, M., Al-Homidan, I., Ebeid, T., Shehab-El-Deen, M., El-Razik, M. A., Abou-Emera, O., & Mostafa, M. (2019). Supplemental Effects of Eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis*) Leaves on Growth Performance, Carcass Characteristics, Blood Biochemistry and Immune Response of Growing Rabbits. *Annals of Animal Science*, 19(3), 779–791. <https://doi.org/10.2478/aoas-2019-0023>

Gandhi, G. R., Vasconcelos, A. B. S., Haran, G. H., Calisto, V. K. da S., Jothi, G., Quintans, J. de S. S., Cuevas, L. E., Narain, N., Júnior, L. J. Q., Cipolotti, R., & Gurgel, R. Q. (2020). Essential oils and its bioactive compounds modulating cytokines: A systematic review on anti-asthmatic and immunomodulatory properties. *Phytomedicine*, 73. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2019.152854>

Gopi M, Karthik K, Manjunathachar HV, Tamilmahan P, Kesavan M, Dashprakash M, Balaraju BL, dan Purushothaman MR (2014). Essential oils as a feed additive in poultry nutrition. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 2(1), 1-7. DOI: <https://www.doi.org/10.14737/journal.aavs/2014.2.1.1.7>

Guo, Y., Huang, S., Zhao, L., Zhang, J., Ji, C., & Ma, Q. (2022). Pine (*Pinus massoniana* Lamb.) Needle Extract Supplementation Improves Performance, Egg Quality, Serum Parameters, and the Gut Microbiome in Laying Hens. *Frontiers in Nutrition*, 9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.810462>

Ismanto, A. W. (2018). *Ekstraksi minyak atsiri dari daun kayu putih (Melaleuca leucadendra Linn.) dengan metode microwave hydrodistillation dan solvent-free microwave extraction* (Doctoral dissertation, Institut Teknologi Sepuluh Nopember).

Juergens, U., Engelen, T., Racke, K., Stober, M., Gillissen, A., & Vetter, H. (2004). Inhibitory activity of 1,8-cineol (eucalyptol) on cytokine production in cultured human lymphocytes and monocytes. 17(5), 281–287.

Kencana, G., Suartha, I., Paramita, N., & Handayani, A. (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. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2016.17.2.257>

Kim, E. J. (2010). Amino Acid Digestibility Of Various Feedstuffs Using Different Methods. Doctoral dissertation University of Illinois at Urbana-Champaign.

Merdana, I. M., Maharanthi, K. N., Sudimartini, L. M., Sumadi, I. K., Babikian, Y. H. S., Babikian, H. Y., Laiman, H., Haliman, R. W., Yen, T. I., Kristina, Efendy, H. Y., Setiasih, N. L. E., & Ardana, I. B. K. (2024). Effects of Natural Guard Liquid (an Essential Oil-Based Product) on Growth Performance, Hematological Profile, and Antibody Response to Newcastle Disease Virus in Broiler Chickens. *Journal of World's Poultry Research*, 14(1), 113–123. <https://doi.org/10.36380/jwpr.2024.11>

Office International Epizootic (OIE). (2008). *Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals. 6th Edition*.

Office International Epizootic (OIE). (2021). *Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Chapter 3.3.14 Newcastle Disease*. www.oie.int.

Sadlon, A. E., & Lamson, D. W. (2010). Immune-Modifying and Antimicrobial Effects of Eucalyptus Oil and Simple Inhalation Devices. *Alternative Medicine Review. Journal of Clinical Therapeutic*, 15(1).

Serafino, A., Vallebona, P., Andreola, F., Zonfrillo, M., Mercuri, L., Federici, M., Rasi, G., Garaci, E., & Pierimarchi, P. (2008). Stimulatory effect of Eucalyptus essential oil on innate cell-mediated immune response. *BMC Immunology*, 9. <https://doi.org/10.1186/1471-2172-9-17>

Tizard, I. R. (2017). *Veterinary immunology-E-book: Veterinary immunology-E-book*. Elsevier Health Sciences.

Tabbu, C. R. (2000). Penyakit ayam dan penanggulangannya. *Kanisius. Yogyakarta*, 164-186.

Wei, W., Hong-Ying, Z., Xue-Bing, W., Fang-Fang, D., Xiang-Yue, D., & Fang, L. (2014). Effect of pine needle on immune function and serum cholesterol of chickens. *Animal Husbandry and Feed Science; Cranston*. 7(4), 233-237.

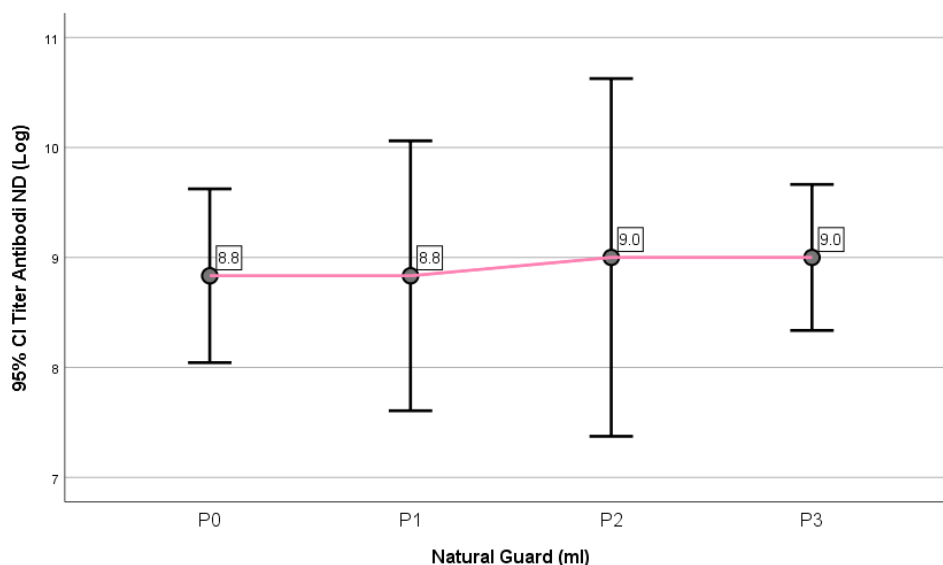
Wibowo, S. E., Asmara, W., Wibowo, M. H., & Sutrisno, B., (2013). Perbandingan Tingkat Proteksi Program Vaksinasi Newcastle Disease pada Broiler. *Jurnal Sain Veteriner*. 31(1), 16-22. <http://dx.doi.org/10.22146/jsv.2625>

Tabel

Tabel 1. Rata-rata titer antibodi virus ND ayam petelur yang diberi *Natural Guard* dalam air minum selama 30 hari

Perlakuan (<i>Natural Guard</i>)	Rerata Titer Antibodi ND Log 2 $\pm$ SD
P0	8,83 $\pm$ 0,753
P1	8,83 $\pm$ 1,169
P2	9,00 $\pm$ 1,549
P3	9,00 $\pm$ 0,632

Grafik



Grafik 1. Rata-rata titer antibodi ND yang diberikan *Natural Guard* selama 30 hari.

Keterangan: P0 = Kelompok tanpa pemberian *Natural Guard* (Kontrol); P1 = Kelompok yang diberikan 0, 1 ml/L *Natural Guard*, P2 = Kelompok yang diberikan 0, 2 ml/L *Natural Guard*, P3 = Kelompok yang diberikan 0, 3 ml/L *Natural Guard*