

THE EFFECT OF NATURALGUARD SUPPLEMENTATION IN DRINKING WATER ON ND-ANTIBODY TITERS IN BROILERS

Pengaruh suplementasi *NATURALGUARD* dalam air minum terhadap titer antibodi Newcastle Diseases pada broiler

Made Shanty Meidiana^{1*}, Ida Bagus Komang Ardana², Anak Agung Gde Oka Dharmayudha², I Made Merdana³, Luh Made Sudimartini³, Yousef Haig Setrak Babikian⁵, Haig Yousef Babikian⁵, Rubiyanto Widodo Haliman⁶, Theng In Yen⁵, Kristina⁶, Hendi Yanto Efendy⁶

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

²Laboratorium Patologi klinik Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana. Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234;

³Laboratorium Farmasi dan Farmakologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana. Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234;

⁵Rhea Natural Sciences, Jl. HR Rasuna Said Kav. H1-H2, Kuningan, Setiabudi, South Jakarta, Indonesia, 12920;

⁶PT. Sinar Hidup Satwa. Tbk. Sentral Senayan II Lt.16, Jln. Asia Afrika No.8, Gelora Tanah Abang, Jakarta Pusat 10270.

*Corresponding author email: shanty.meidiana@gmail.com

How to cite: Meidiana MS, Ardana IBK, Dharmayudha AAGO, Merdana IM, Sudimartini LM, Babikian YHS, Babikian HY, Haliman RW, Yen TI, Kristina, Efendi HY. 2024. The effect of NATURALGUARD supplementation in drinking water on nd-antibody titers in broilers. *Bul. Vet. Udayana*. 16(1): 29-37. DOI: <https://doi.org/10.24843/bvu.v16i1.49>

Abstract

The broiler is the largest sector producing protein sources in Indonesia. Poultry farms are susceptible to viral diseases, including the Newcastle Disease Virus (NDV). Viral diseases can be prevented by vaccination to increase antibody titers in broiler chickens. Induction of antibody titers can be increased by providing additional ingredients such as immune system stimulants known as immunomodulators. One material that can be used as an immunomodulator is the NATURALGUARD (NG). This research was conducted to determine the effect of NG supplementation in drinking water on ND antibody titers in broilers. This study used a completely randomized design with four treatments, namely P0 as a control without NG treatment, and P1, P2, and P3 were given NG treatment at doses of 1, 2, and 4 g/L, respectively *adlibitum* for 30 days starting at three days of age. Blood samples were taken on day one before treatment, 15 and 30 days after treatment for the hemagglutination inhibition (HI) test. The results showed that maternal antibodies against ND on the first day were protective but not uniform; the highest mean HI 4 log 2 titer was at P0 (512 ± 280.43) and the lowest at P2 (384 ± 140.21). The decrease in antibodies occurred at the age of 18 days to the highest at P0 and P3, namely 16 ± 0 , and the highest at P2 (16.66 ± 4.13), and at the age of 33 days, the lowest titer was at P1 (4 ± 0) and the highest was at P2 and P3 (10 ± 6.57). It can be concluded that NATURALGUARD supplementation shows an immunomodulating effect in broiler chickens that have not been re-vaccinated with Newcastle Disease through a slower regulation of decreasing antibody titers at NG supplementation doses of 2 and 4 g/L.

Keywords: Antibody titers, broilers, immunomodulation, NATURALGUARD, Newcastle Disease virus

Abstrak

Ayam pedaging merupakan sektor terbesar penghasil sumber protein di Indonesia. Peternakan unggas masih sangat mudah terserang penyakit virus, satunya disebabkan *Newcastle Disease* (ND). Penyakit viral dapat dicegah dengan cara vaksinasi untuk menaikkan titer antibodi pada ayam broiler. Induksi titer antibodi dapat ditingkatkan dengan memberikan bahan tambahan sebagai perangsang sistem imun atau dikenal sebagai imunomodulator. Salah satu yang dapat digunakan sebagai imunomodulator yaitu *NATURALGUARD* (NG). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh NG dalam air minum terhadap titer antibodi ND pada broiler. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan 4 perlakuan yaitu P0 sebagai kontrol tanpa perlakuan NG, dan P1, P2 dan P3 diberikan perlakuan NG dengan masing-masing dosis 1, 2, dan 4 g/L secara *adlibitum* selama 30 hari mulai umur 3 hari. Sampel darah diambil pada hari ke-1 sebelum perlakuan, 15 dan 30 hari setelah perlakuan untuk di uji hemaglutinasi inhibisi (HI). Hasil penelitian menunjukkan maternal antibody terhadap ND pada hari pertama protektif namun tidak seragam, rerata titer HI 4 log 2 tertinggi pada P0 ($512 \pm 280,43$) dan terendah pada P2 ($384 \pm 140,21$). Penurunan antibodi terjadi pada umur 18 hari menjadi tertinggi pada P0 dan P3 yaitu 16 ± 0 dan tertinggi pada P2 ($16,66 \pm 4,13$), dan pada umur 33 hari titer terendah pada P1 (4 ± 0) dan tertinggi P2 dan P3 ($10 \pm 6,57$). Dapat disimpulkan bahwa suplementasi *NATURALGUARD* menunjukkan efek imunomodulasi pada ayam broiler yang tidak di re-vaksinasi *Newcastle Disease* melalui regulasi penurunan titer antibodi yang lebih lambat pada suplementasi NG dosis 2 dan 4 g/L.

Kata kunci: Broiler, imunomodulasi, *NATURALGUARD*, titer antibody, virus *Newcastle Disease*

PENDAHULUAN

Komoditas peternakan terbesar di Indonesia didominasi oleh sektor industri perunggasan (Yulistiya *et al.*, 2016). Menurut Badan Pusat Statistik Indonesia (2021), produksi perusahaan budidaya ayam pedaging selama 2021 sebanyak 184 perusahaan dengan jumlah produksi daging ayam pedaging sebanyak 3.426.042 Ton. Usaha peternakan ayam ini merupakan salah satu usaha yang mempunyai risiko tinggi, karena ada kalanya dapat terjadi wabah penyakit menular, oleh sebab itu dibutuhkan penanganan yang efisiensi di setiap aspek usaha peternakan, termasuk usaha pengendalian penyakit (Tabbu, 2000).

Berbagai penyakit yang dapat menyerang budidaya ayam pedaging contohnya seperti penyakit *Avian Encephalomyelitis* (AE), penyakit *Avian Influenza* (AI), penyakit *Infectious Bronchitis* (IB) dan yang paling banyak dikenal yaitu *Newcastle Disease* (ND). Penyakit ND merupakan salah satu kendala utama yang dilaporkan pada peternakan ayam yang membunuh hingga 80% unggas yang tidak tervaksin di daerah pedesaan (Alexander and Sanne., 2008). Hal ini dapat menjadi salah satu penyebab penurunan tingkat keberhasilan budidaya ayam pedaging. Kasus penyakit yang disebabkan oleh virus dapat dicegah dengan cara meningkatkan titer antibodi pada broiler. Antibodi merupakan protein-protein yang terbentuk sebagai respon terhadap antigen yang masuk kedalam tubuh. Titer antibodi dapat ditingkatkan dengan cara memberikan bahan tambahan sebagai perangsang sistem imun atau dikenal sebagai imunomodulator.

Imunomodulator dapat meningkatkan mekanisme pertahanan tubuh baik secara spesifik maupun non spesifik. Beberapa bahan yang sering digunakan sebagai imunomodulator adalah levamisol, isoprinosin, muramil dipeptide, hidrosiklorokin, arginin, antioksidan, mikroorganisme, polinukleotida, limfokin dan beberapa agen farmakologik. Bahan nabati atau yang lebih dikenal dengan herbal dapat digunakan sebagai imunomodulator biasanya yaitu temuputih, ketepeng cina, lidah buaya, buah merah, mahkota dewa (Baratawijaya dan Rangganis, 2010). Selain itu minyak essensial juga masuk dalam bahan herbal yang digunakan sebagai imunomodulator. Salah satu yang dapat dipertimbangkan untuk menjadi imunomodulator yang mengandung minyak essensial yaitu *NATURALGUARD*.

NATURALGUARD merupakan produk yang mengandung campuran minyak alami yaitu minyak pinus (*Pinus* sp.), minyak lavender (*Lavandula* sp.) dan minyak kayu putih (*Eucalyptus* sp.). Media pembawa campuran minyak esensial dalam NATURALGUARD adalah garam. Peningkatan produktivitas pada broiler dapat dilihat melalui peningkatan performan (peningkatan berat badan, konsumsi pakan dan *feed conversion ratio* (FCR)). Capaian performa yang baik didukung oleh kondisi fisiologis yang sehat termasuk sistem kekebalan tubuh ternak. Penggunaan minyak esensial memberikan efek positif pada ternak unggas. Pemberian secara tunggal minyak eucalyptus, minyak pinus dan minyak lavender melalui air minum dilaporkan mampu meningkatkan *performance*, respon imun humoral dan bekerja sebagai antistress (Farhadi et al., 2017; MashayekhiMazhari and Esmaeilipour, 2018). Berdasarkan uraian tersebut, maka dilakukan kajian untuk mengetahui efek imunomodulator campuran herbal yang mengandung minyak eucalyptus, pinus dan lavender terhadap pembentukan titer antibodi terhadap virus ND pada broiler.

METODE PENELITIAN

Kelaikan etik hewan coba

Prosedur dalam penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana dengan sertifikat Nomor: B/95/UN14.2.9/PT.01.04/2023.

Objek Penelitian

Obyek penelitian menggunakan DOC broiler strain CP-707 (PT. Charoen Pokphan Jaya Farm, Indonesia) sebanyak 400 ekor. Pakan ayam komersial yang digunakan merk HI-PRO-VITE (PT. Charoen Pokphand Indonesia, Indonesia). Lokasi penelitian di peternakan Armada Jaya Farm, di Desa Dausa, Kecamatan Kintamani, Bangli, Bali, menggunakan kandang sistem terbuka.

Rancangan Penelitian

Penelitian eksperimental lapangan ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial dengan tiga kali pengambilan sampel. Sebanyak 400 ekor DOC broiler secara acak dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan yaitu P0 sebagai kontrol tidak diberikan NG melalui air minum, sedangkan P1, P2, dan P3 diberikan perlakuan NG dengan masing-masing dosis 1, 2, dan 4 g/L air minum secara *adlibitum* selama 30 hari mulai umur 3 hari. DOC broiler telah mendapatkan program vaksinasi di hatchery dengan vaksin *triple* yaitu vaksin ND inaktif, ND aktif dan Gumboro aktif. Pengambilan sampel darah dilakukan pada hari pertama sebelum diberikan perlakuan, pada umur 18 hari (setela 15 hari perlakuan) dan pada umur 33 hari (setelah 30 hari perlakuan). Untuk pemeriksaan serologis uji HI, setiap pengambilan sampel darah dilakukan secara acak masing-masing 6 ekor dari setiap kelompok perlakuan berdasarkan rumus Federer. Berdasarkan penghitungan tersebut jumlah sampel yang diambil menggunakan rumus Federer berjumlah 6 ekor per kelompok. Jadi jumlah sampel darah yang diambil adalah 24 ekor untuk setiap pengujian di umur ke-1, 18 dan 33 hari.

Metode Koleksi Data

Pengumpulan data pemeriksaan hambatan hemaglutinasi (HI) dengan melihat ada tidaknya eritrosit yang turun (tearshaped) pada sumuran plat mikro yang dibaca dengan kemiringan 45°. Titer antibodi HI ditentukan dengan pengenceran serum tertinggi yang masih mampu menghambat aglutinasi eritrosit 1%. Data dikumpulkan dan ditabulasi untuk selanjutnya dilakukan analisis. Pengambilan sampel darah secara aseptis pada DOC dilakukan melalui vena jugularis, sementara pada hari ke18 dan 33 melalui vena brachialis. Darah diambil sekitar 1

mL menggunakan *disposable syringe* 3 ml dengan jarum 23G. 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 *ependorf*, kemudian disentrifuse dengan kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit pada suhu 5°C. Selanjutnya serum dipanaskan pada suhu 56°C selama 30 menit, untuk menginaktivasi komplemen dalam serum tersebut.

Pembuatan Suspensi Eritrosit

Pembuatan suspensi eritrosit 1% sesuai prosedur yang terdapat pada Laboratorium Virologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana menggunakan ayam SPF. Darah ayam diambil melalui vena *brachialis* sebanyak kurang lebih 2,5 mL dan ditampung pada tabung EDTA. Selanjutnya, dilakukan penambahan 5 mL PBS pH 7,2. Kemudian sampel darah disentrifuse dengan kecepatan 2500 rpm selama 10 menit. Berikutnya, supernatan dibuang kemudian ditambahkan PBS dan disentrifugasi kembali. Proses ini diulang kembali dengan cara yang sama sebanyak tiga kali. Endapan eritrosit kemudian diukur konsentrasinya menggunakan mikrohematokrit untuk mengetahui *Packed Cell Volume* (PCV) lalu diencerkan dengan PBS sampai menjadi konsentrasi 1% dan siap digunakan untuk uji HA/HI.

Uji Haemagglutination dan Uji Haemagglutination Inhibition

Uji HA/HI dilakukan sesuai dengan prosedur yang terdapat pada Laboratorium Virologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana dan OIE (2021). Untuk uji HA sebanyak 0,025 mL PBS ditambahkan ke dalam setiap lubang plat mikro. Selanjutnya ke dalam PBS tersebut dimasukkan suspensi antigen yang akan diuji pada lubang pertama, kemudian dilanjutkan pengenceran berseri mulai dari lubang pertama sampai lubang ke-sebelas. Tahap berikutnya, PBS ditambahkan 0,025 mL ke dalam setiap lubang plat mikro diikuti penambahan RBC 1% sebanyak 0,025 mL ke dalam setiap lubang plat mikro dan dicampurkan dengan mengetuk tepian plat mikro secara perlahan. Plat mikro dibiarkan pada suhu kamar (20°C) selama 40 menit. Titer HA yang diperoleh selanjutnya diencerkan menjadi 4 Hemagglutinati Unit (4HAU) untuk digunakan pada uji HI (OIE, 2021).

Uji HI diawali dengan memasukkan 0,025 mL PBS ke dalam setiap lubang plat mikro. Lubang pertama diisi dengan 0,025 mL serum kemudian diencerkan berseri. Selanjutnya semua lubang ditambahkan 4HAU antigen 0,02 mL dan didiamkan dalam suhu ruangan selama 30 menit, kemudian 0,025 mL eritrosit 1% dimasukkan ke dalam setiap sumuran dan didiamkan dalam suhu ruangan selama 40 menit. Titer HI dibaca dengan memiringkan plat mikro 45° dan diamati ada atau tidaknya eritrosit yang turun (*tearshaped*). Titer antibodi HI ditentukan dengan pengenceran serum tertinggi yang masih mampu menghambat aglutinasi eritrosit 1% (OIE, 2021).

Analisis data

Data titer antibodi selanjutnya ditabulasi dan dianalisis dengan menggunakan Sidik Ragam menggunakan *SPSS for windows* 26. Perbedaan yang signifikan apabila $p < 0.05$, dan dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Hasil pemeriksaan sampel serum broiler dengan menggunakan uji HI disajikan dalam Tabel 1. mencakup hasil dari P0 (Kontrol), P1 (NG-1), P2 (NG-2), dan P3 (NG-3).

Pembahasan

Respon imun pada broiler merupakan respon imun spesifik humoral yang terdiri dari sel limfosit B atau sel B sebagai pemeran utamanya. Sel B yang dirangsang oleh benda asing/antigen akan berproliferasi, berdiferensiasi dan berkembang menjadi sel plasma yang memproduksi antibodi (Baratawidjaja dan Renggaris, 2010). Proses pembentukan antibodi dapat terjadi apabila ada benda asing/antigen yang masuk ke dalam tubuh broiler. Antigen yang berhasil masuk akan melewati sistem pertahanan tubuh alami yang bersifat non-spesifik. Sistem pertahanan tubuh alami merupakan pertahanan pertama terhadap serangan antigen (bakteri, virus, mikroba) (Dahlia *et al.*, 2019). Implikasi dari rangsangan respon imun pada broiler adalah terbentuknya antibodi spesifik di dalam serum darah. Berdasarkan OIE (2021), antibodi protektif terhadap serangan virus ND apabila memiliki inhibisi pada serum yang diencerkan 1:16 (24) atau 4 HI log 2. Hasil uji HI menunjukkan bahwa titer antibody yang dimiliki pada hari ke-0 sangat protektif terhadap virus ND. Titer antibodi normal mengalami penurunan secara gradual sampai tidak protektif lagi pada broiler yang tidak di revaksinasi.

Pada Tabel 1, terlihat semua ayam umur satu hari memiliki titer antibodi yang protektif namun tidak seragam. Sehingga penting dalam suatu peternakan broiler dilakukan vaksinasi pada saat DOC untuk memperoleh keseragaman titer antibody yang protektif. Titer antibody pada DOC yang tinggi merupakan akibat dari adanya proses vaksinasi terhadap induk sehingga diwariskan kepada DOC, dalam hal ini disebut sebagai *maternal antibody*. Antibodi maternal terlihat menurun secara gradual pada pengambilan darah umur 18 hari dan 33 hari. Gharaibeh dan Mahmoud (2013), menyatakan antibodi maternal ayam akan mulai tidak protektif pada umur sepuluh hari (Titer HI < 4 HI log 2). Apabila keseragaman maternal antibodi kurang, maka turunnya titer antibodi tidak akan terjadi bersamaan, hal ini sesuai dengan yang terjadi pada kelompok perlakuan pada penelitian ini. Hasil penelitian pada kelompok kontrol dapat menggambarkan bahwa tidak terjadi infeksi virus ND lapangan selama dilakukan penelitian. Titer antibodi ND dapat mengalami peningkatan apabila ada tantangan atau induksi virus baik dari infeksi lapangan ataupun vaksinasi.

Perlakuan NG dengan kombinasi tiga minyak esensial yaitu minyak lavender, minyak pinus dan minyak kayu putih yang diberikan melalui air minum ke ayam uji menunjukkan jumlah titer yang tidak berbeda secara statistik. Hal ini mungkin disebabkan titer antibodi ND pada ayam yang diberi perlakuan NG belum sepenuhnya mengalami peningkatan, karena secara spesifik dibutuhkan adanya induksi virus yang memicu peningkatan produksi antibodi. Pada penelitian ini, ayam tidak diberikan vaksinasi ND ulangan, sehingga senyawa aktif yang terkandung dalam NG pada dosis yang diteliti belum menginduksi produksi antibodi pada target organ limfoid sebagai penghasil imunitas yang tinggi. Namun imunomodulasi NG terhadap proaktifitas organ limfoid dapat dilihat melalui produksi limfosit dan profil eritrosit.

Senyawa aktif imunomodulator akan berperan aktif jika terdapat induksi dari suatu antigen. Dalam penelitian ini, tidak ditemukan adanya paparan dari virus ND sehingga kandungan yang terdapat pada *NATURALGUARD* belum bekerja secara maksimum. Pada Tabel 1, terlihat perlakuan dosis NG pada kelompok P2 dan P3 di hari ke-33 menyebabkan penurunan titer antibody yang lebih lambat dari P0 bila dibandingkan dengan hari ke-18. Penurunan dari titer antibodi di regulasi secara perlahan pada P2 dan P3 dibandingkan P0, hal ini menunjukkan bahwa suplementasi NG pada kelompok perlakuan menunjukkan efek yang memodulasi sistem imun untuk tetap muncul dan terdeteksi, namun dikarenakan tidak adanya induksi antigen dari infeksi virus ND lapangan ataupun dari vaksinasi ulang menyebabkan tidak terjadi peningkatan titer antibodi.

Perlu pertimbangan untuk melakukan uji serologis lanjutan dengan memberikan induksi antigen berupa revaksinasi ND. Sebenarnya, untuk mengetahui kinerja dari NG, selain dengan

metode uji serologi, dapat juga melihat profil hematologi seperti PCV, MCH, limfosit, dan uji hematologi lainnya. Profil hematologi tersebut dapat menunjukkan respon imunostimulan pada kondisi sehat maupun pada kondisi terinduksi antigen spesifik. Pengujian lanjutan terkait evaluasi efikasi NG perlu dipertimbangkan untuk mendapatkan hasil yang maksimal mengenai dampak penggunaan NG.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan regulasi penurunan titer antibodi terhadap virus Newcastle disease yang lebih lambat pada suplementasi NATURALGUARD dosis 2 dan 4 g/L. Hal ini dapat kami simpulkan bahwa suplementasi NATURALGUARD menunjukkan efek imunomodulasi pada ayam broiler yang tidak di re-vaksinasi Newcastle Disease.

Saran

Berdasarkan hasil ini, dapat disarankan untuk dikaji lebih lanjut penelitian dengan dosis NATURALGUARD yang lebih tinggi dan atau pada broiler yang di re-vaksinasi ND.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima utamanya kasih kepada Dosen Pembimbing, Penguji, Kepala Laboratorium Farmasi Veteriner, Kepala Laboratorium Biomedik, dan Dekan Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana. Terimakasih yang sebesar-besarnya kepada PT. Rhea Natural Science. PT. Central Proteina Prima dan PT. Armada Jaya Farm, atas dukungan dan fasilitasnya sehingga penelitian ini dapat terselesaikan, serta kepada semua pihak yang telah bersedia membantu penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- (BPS) Badan Pusat Statistik. (2021). Statistik perusahaan peternakan ayam pedaging. Jakarta: Badan Pusat Statistik Republik Indonesia.
- (OIE) Office International Epizootic. (2021). Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals 2021 chapter 3.3.14 newcastle disease. OIE Terrestrial Manual. www.oie.int. Diakses pada tanggal 23 September 2022 pukul 09.40 WITA.
- Abbas, A.K., Lichtman, A.H., & Pillai, S. (2007). Cellular and molecular immunology. 6th ed. WB Saunders Company Saunders.
- Aldous, E.W., & Alexander, D.J. (2001). Detection and differentiation of Newcastle Disease virus (avian paramyxovirus tipe 1). *Avian Pathology*. 30(2): 117-128.
- Alexander, D.J. 2001. Newcastle disease. *British Poultry Science*. 42(1): 5-22.
- Alexander, D.J., & Senne, D.A. (2008). Newcastle disease, other avian paramyxoviruses, and pneumovirus infections. In: Saif Y M, Fadly A M and Glisson J R et al. (eds) Diseases of Poultry, pp. 75–116. Ames: Iowa State University Press.
- Al-Zubeedy, A.Z. (2009). ImmFune respons in day old broiler chicks vaccinated against newcastle disease virus. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. 23(2): 143-146.
- Baratawidjaja, K.G., & Rengganis, I. (2010). Imunologi dasar ed. 9. Jakarta. BP. FKUI. Pp. 27-217.

- Block, K.I., & Mead, M.N. (2003). Immune system effects of echinacea, gingseng, and astragalus. A Review. *Integratif Cancer Therapies*. 2(3): 247–267.
- Dahlia, Santosa, P.E., Siswanto, & Hartono, M. (2019). Pengaruh pemberian imunomodulator *echinacea purpurea (radix)* terhadap titer antibodi *avian influenza (ai)* dan *newcastle disease (nd)* pada broiler betina. Faculty of Agriculture, University of Lampung.
- Farhadi, D., Karimi, A., Sadeghi, G., Sheikhahmadi, A., Habibian, M., Raei, A., & Sobhani, K. (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.
- Gharaibeh, S., & Mahmoud, K. (2013). Decay of maternal antibodies in broiler chickens. *Poultry Science*. 92(9): 2333-2336.
- Guri, A., Kefalas, P., & Roussis, V. (2006). Antioxidant potential of six pine species. *Phytother. Res*. 20(4): 263–266.
- Hu, Y.L. (2005). Development and utilization of herb drug feed additives. BeiJing. Chemical. Industry Press.
- Janeway, C.A. Jr., Travers, P., Walport, M., & Capra, J.D. (1999). Immunobiology. The Immune System in Health and Disease. 4 th ed. USA. Garland Publishing. Pp. 79-263.
- Kencana, G.A.Y. (2017). Penyakit virus unggas. Denpasar: Udayana University Press.
- Kencana, G.A.Y., Kardena, I.M., & Mahardika, I.G.N.K. (2012). Peneguhan diagnosis penyakit newcastle disease lapang pada ayam buras di Bali menggunakan teknik RT-PCR. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 6(1): 28-31.
- Kencana, G.A.Y., Suartha, I.N., Paramita, N.M.A.S., & Handayani, A.N. (2016). Vaksin kombinasi newcastle disease dengan avian influenza memicu imunitas protektif pada ayam petelur terhadap penyakit tetelo dan flu burung. *Jurnal Veteriner*. 17(2): 257-264.
- Kim, Y.J. (2006). Effect of mugwort and fish oil addition on quality and self-life in meat-type chicken. *Korean. J. Poult. Sci*. 33: 1–6.
- Khwerissat. (2009). Lavender. <https://www.authorstream.com/presentation/farawela235217-lavendereducation-ppt-powerpoin>.
- Li, K., Li, Q.W., Li, J., Gao, D.W., Zhang, T., Han, Z.S., & Zheng, F.L. (2007). Effect of procyanidins from *Pinus koraiensis* bark on growth inhibition and expression of PCNA and TNF- α in mice with U14 cervical cancer. *Therapy*. 4(5): 685–690.
- Luo, S.J., & Zhai, M. (2007). Research and application of pine needle powder. *Feed. Industry*. 28(3): 54–57.
- Mathilda, B.W. 1987. Immunomodulator. *Cermin Dunia Kedokteran*. 44: 43-45
- Mashayekhi, H., Mazhari, M., & Esmaeilipour, O. 2018. Eucalyptus leaves powder, antibiotic and probiotic addition to broiler diets: effect on growth performance, immune response, blood components and carcass traits. *Animal*. 12(10): 2049-2055.
- Nuryati, T. 2019. Analisis performans ayam broiler pada kandang tertutup dan kandang terbuka. *Jurnal Peternakan Nusantara*. 5(2): 77-86.
- Orsi, M.A., Doretto, L.J., Camillo, S.C.A., Reischak, D., Ribeiro, S.A.M., Ramazzoti, A., Mendoca, A.O., Spilki, F.R., Buzinaro, M.G., Ferreira, H.L., & Arns, C.W. (2010). Prevalence

of newcastle disease virus in broiler chickens (*Gallus gallus*) in Brazil. *Brazillian Journal of Microbiology*. 41(2): 349-357.

Prasetyo, D., Santosa, P.E., Hartono, M., & Sirat, M.M. (2021). Pengaruh pemberian immunomodulator jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap titer antibodi avian influenza dan newcastle disease pada broiler jantan. *Journal Of Research And Innovation Of Animals*. 5(1): 37–42.

Prusinowska, R., & Smigielski, K. 2014. Composition, biological properties and therapeutic effects of lavender (*Lavandula angustifolia* L.). A Review. *Herba Polonica*. 2: 56–66.

PT. Rhea Natural Sciences dan Dinas Peternakan Jawa Tiumur. (2022). Pengaruh pemberian *NATURALGUARD liquids* pada sapi yang terinfeksi penyakit mulut kuku di Desa Jono, Kabupaten BojoNegoro, Jawa Timur. Studi Kasus

Quinn, P.J., Markey, B.K., Carter, M.E., Donnelly, W.J.C., Leonard, F.C., & Maghire, D. (2002). Veterinary microbiology and microbial disease. *Blackwell Science Ltd*. Australia.

Rahmanto. (2012). Struktur histologik usus halus dan efisiensi pakan ayam kampung dan ayam broiler. (Skripsi). Universitas Negeri Yogyakarta.

Robbins, C.T., Mole, S., Hagerman, A.E., & Hanley, T.A. (1987). Role of tannins in defending plants against ruminants: Reduction in dry matter digestion. *Ecology*. 68: 1606–1615.

Rohdewald, P. (2002). A review of the French maritime pine bark extract (Pycnogenol), a herbal medication with a diverse clinical pharmacology. *Int. J. Clin. Pharm.* 40(4): 158–168.

Salari, M.H., Amine, G., Shirazi, M.H., Hafezi, R., & Mohammadypour, M. (2006). Antibacterial effects of *Eucalyptus globulus* leaf extract on pathogenic bacteria isolated from specimens of patients with respiratory tract disorders. *Clin. Microbiol. Infect.* 12: 194-196.

Sasanejad, P., Saeedi, M., Shoeibi, A., Gorgi, A., Abbasi, M., & Foroughipour, M. (2012). Effect of essential oil in the treatment of migraine headache: a placebo-controlled clinical trial. *Eur. Neurol.* 67: 288–291.

Tabbu, C.R. 2000. Penyakit ayam dan penanggulangannya vol 1. Kanisius. Yogyakarta

Thineshini, D., & Ajeng, D. (2012). Senyawa imunomodulator dari tanaman. Fakultas Farmasi. Universitas Padjadjaran

Tizard. (2004). Veterinary immunology. An Introduction. 7th ed. WB Saundres Company. Philadelpia. Pp. 26-84.

Yang, S., Jeon, A.K., Lee, E.J., Ch, H., Shim, I., & Dam, L. (2010). Studi banding komposisi kimia dan aktivitas antioksidan enam minyak atsiri dan komponennya. *Res.* 24:140-151.

Yulistiya, E., Edy, P., & Suharyati, S. (2016). Pengaruh pemberian dosis vaksin *avian influenza* inaktif pada itik jantan terhadap jumlah sel darah putih dan titer antibodi yang dihasilkan. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. 4(4): 272-276.

Tabel

Tabel 1. Rerata titer antibodi terhadap virus *Newcastle disease* pada broiler yang diberikan NATURALGUARD (dosis 1, 2, dan 4 g/L)

Titer HI	DOC	Umur 18 hari	Umur 33 hari
P0 (Control)	512 ± 280	16 ± 0	6 ± 4,89
P1 (1 g/L)	469,33 ± 330,49	10,66 ± 4,13	4 ± 0
P2 (2 g/L)	384 ± 140,21	10,66 ± 4,13	10 ± 6,57
P3 (4 g/L)	490.67 ± 307,37	16 ± 0	10 ± 6,57
Rata-rata	464 ± 260,99	13,33 ± 3,85	7,5 ± 5,57
P-value	0,206	0,824	0,153