

TOTAL AND DIFFERENTIAL LEUKOCYTES OF LAYING CHICKENS AFTER NEWCASTLE DISEASE AND INFECTIOUS BRONCHITIS VACCINATION**Total dan diferensial leukosit pada ayam petelur pascavaksinasi *Newcastle Disease* dan *Infectious Bronchitis*****Iqbal Bayu Samudra^{1*}, Anak Agung Sagung Kendran², Gusti Ayu Yuniati Kencana³, I Made Damriyasa², Ida Bagus Kade Suardana³, I Gede Soma⁴**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, IndonesiaCorresponding author email: bayu.samudra@student.unud.ac.id

How to cite: Samudra IB, Kendran AAS, Kencana GAY, Damriyasa IM, Suardana IBK, Soma IG. 2024. *Bul. Vet. Udayana*. 16(4): 1350-1361. DOI: <https://doi.org/10.24843/bulvet.2024.v16.i04.p41>

Abstract

Research on the total and differential leukocytes of post-vaccination laying hens which was carried out on commercial farms in Tabanan Regency, Bali aims to determine and study the effect of combination vaccines Newcastle Disease LaSota strains and Infectious Bronchitis on the total number and types of leukocytes in the blood. A total of 40 laying hens aged 30 weeks were taken using purposive sampling for the research sample. Chicken blood samples were taken four times, starting from pre-vaccination to three weeks post-vaccination. The total leukocyte count is checked using a hemocytometer, while the leukocyte differential is checked using a blood smear. Data from total and differential leukocyte examination results were analyzed quantitatively descriptively. The results showed that there was a significant effect ($p < 0.05$) on total leukocytes, heterophils, eosinophils and lymphocytes, and no significant effect ($p > 0.05$) on basophils and monocytes.

Keywords: Laying hen, total and differential leukocyte, vaccination

Abstrak

Penelitian tentang total dan diferensial leukosit ayam petelur pascavaksinasi yang telah dilakukan pada peternakan komersial di Kabupaten Tabanan, Bali bertujuan untuk mengetahui dan mempelajari pengaruh vaksin kombinasi *Newcastle Disease* strain LaSota dan *Infectious Bronchitis* terhadap jumlah total dan jenis-jenis leukosit dalam darah. Sebanyak 40 ekor ayam petelur berumur 30 minggu yang diambil menggunakan *purposive sampling* untuk sampel

penelitian. Pengambilan sampel darah ayam dilakukan sebanyak empat kali pengulangan, mulai dari pravaksinasi hingga tiga minggu pascavaksinasi. Pemeriksaan jumlah total leukosit dilakukan menggunakan hemositometer, sedangkan diferensial leukosit diperiksa menggunakan preparat apusan darah. Data hasil pemeriksaan total dan diferensial leukosit dianalisis secara deskriptif kuantitatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi pengaruh yang nyata ($p < 0,05$) terhadap total leukosit, heterofil, eosinofil, dan limfosit, serta tidak berpengaruh nyata ($p > 0,05$) terhadap basofil dan monosit.

Kata kunci: Ayam petelur, total dan diferensial leukosit, vaksinasi

PENDAHULUAN

Newcastle Disease (ND) dan *Infectious Bronchitis* (IB) adalah penyakit virus unggas yang dapat mengakibatkan kerugian besar pada peternakan ayam (Orsi et al., 2010). Kerugian akibat penyakit ND-IB disebabkan angka kesakitan (morbiditas) dan angka kematian (mortalitas) pada ternak unggas yang sangat tinggi. Mortalitas dan morbiditas dapat mencapai 50–100% akibat infeksi virus ND strain velogenik terutama pada kelompok ayam yang peka. Penyakit IB di Indonesia masih menjadi masalah serius pada ayam sehubungan dengan banyak varian yang timbul akibat mutasi dari virus IB (Dharmayanti & Indriyani, 2017). *Newcastle Disease* bersifat endemik di Indonesia dan ditemukan di berbagai daerah (Kencana et al., 2016; Saepulloh & Darminto, 2005), tidak terkecuali di Bali. Data yang diperoleh (Kurnianingtyas et al., 2017) tentang kejadian ND di Bali pada tahun 2007 sekitar 1.500 hingga 8.000 ekor ayam terinfeksi ND setiap bulannya.

Pencegahan terhadap penyakit ND-IB dilakukan dengan cara vaksinasi dan menjaga *biosecurity* lingkungan dengan baik. Berbagai macam vaksin telah beredar di pasar, baik vaksin aktif, vaksin inaktif maupun vaksin rekombinan (Alexander, 2001). Vaksinasi pada ayam petelur bertujuan untuk memproduksi kekebalan spesifik yang protektif guna menghadapi penyakit virus di lapangan (Kencana et al., 2017). Respons imun awal ditandai dengan terjadinya peningkatan sel darah putih atau leukosit dalam darah yang muncul setelah vaksinasi (Amer et al., 2013). Butcher dan Gary (2015) menyatakan sel darah putih dalam darah ayam akan kembali normal pada tiga sampai lima minggu setelah vaksinasi, dengan demikian gambaran darah yang lain juga akan kembali ke keadaan semula.

Leukosit adalah sel darah putih yang memiliki peran dalam sistem pertahanan tubuh, terdiri dari granulosit (heterofil, eosinofil, dan basofil) dan agranulosit (limfosit dan monosit). Respons imun dibedakan menjadi dua yaitu non spesifik dan spesifik, baik secara seluler maupun humoral (Kencana et al., 2021). Respons kekebalan non spesifik (alamiah) terdiri dari faktor-faktor yang sudah ada sejak lahir atau sebelum tubuh terinfeksi mikroorganisme. Respons kekebalan ini bersifat cepat dan paling awal dalam pertahanan terhadap infeksi mikroorganisme (Hewajuli & Dharmayanti, 2015).

Respons imun yang spesifik diperankan oleh sel limfosit sedangkan respons imun non spesifik diperankan oleh heterofil, eosinofil, basofil, dan monosit/makrofag. Pada respons imun spesifik, limfosit T bersifat seluler dan limfosit B bersifat humoral (Baratawidjaja & Rengganis, 2010). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respons imun ayam petelur terhadap vaksin ND-IB. Monitoring terhadap hasil vaksinasi dilakukan untuk mengetahui total dan diferensial leukosit pascavaksinasi guna mencegah terjadinya kerugian peternak akibat kegagalan vaksinasi.

METODE PENELITIAN

Kelaikan etik hewan coba

Sertifikat persetujuan etik hewan nomor: B/22/UN14.2.9/PT.01.04/2024.

Objek Penelitian

Objek penelitian yang digunakan adalah 40 ekor ayam petelur strain *Lohmann Brown* berumur 30 minggu yang telah di vaksin. Vaksin yang digunakan adalah vaksin kombinasi ND-IB aktif yang mengandung virus ND galur LaSota dan virus IB galur H120 kering beku. Sampel penelitian adalah darah ayam petelur yang diambil secara *intravena* (IV) pada vena *brachialis* yang terletak di bagian bawah sayap sebanyak 1 ml. Sampel darah tersebut dilakukan perhitungan total leukosit dengan alat hemositometer dan metode apusan darah untuk mengetahui jumlah diferensial leukosit.

Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *purposive sampling* menggunakan sampel darah ayam petelur strain *Lohmann Brown* yang berumur 30 minggu dengan periode pengambilan darah sebagai ulangan. Sampel darah diambil pada 2 hari pra vaksinasi dan 7, 14, serta 21 hari pascavaksinasi dari vena *brachialis*. Pada penelitian ini menggunakan 10 ayam petelur per pengulangan, sehingga jumlah keseluruhan ayam petelur dalam penelitian ini adalah 40 ekor. Pengelompokan dilakukan secara acak atau random pada 4 pengulangan.

Variabel Penelitian

Variabel bebas dari penelitian ini adalah vaksin aktif ND-IB dan waktu pengambilan sampel yang dilakukan pada ayam petelur. Variabel terikat adalah total dan diferensial sel darah putih (*Leukosit*). Variabel kendali pada penelitian ini yaitu strain, umur, dosis vaksin, sistem pemeliharaan, dan lokasi pengambilan sampel.

Metode Koleksi Data

Vaksinasi

Vaksinasi yang dilakukan adalah vaksin booster pada ayam petelur umur 30 minggu menggunakan vaksin kombinasi ND-IB, vaksin aktif *Newcastle Disease* strain LaSota dan *Infectious Bronchitis* strain H120 kering beku. Vaksin ini diberikan secara intramuskular (IM) sebanyak 0,3 ml/ekor. Vaksinasi dilakukan oleh dokter hewan dan vaksinator setempat.

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan sebanyak 4 kali, yaitu 2 hari sebelum dilakukan vaksinasi dan 7, 14, serta 21 hari pascavaksin. Pengambilan sampel darah dilakukan secara acak. Pengambilan darah dilakukan pada vena sayap (vena *brachialis*) sebanyak 1 ml dengan menggunakan spuit 3 ml. Pada daerah vena *brachialis* disterilisasi menggunakan alkohol 70%, lalu diambil secara *intravena* (IV) dengan perlahan dan berhati-hati agar tidak hematoma. Kemudian, darah tersebut dimasukkan ke dalam tabung *Ethylenediaminetetraacetic* (EDTA) yang mengandung antikoagulan.

Perhitungan Total Leukosit

Total leukosit diperiksa secara manual dengan menggunakan hemositometer. Pemeriksaan dimulai dengan mengambil darah dari tabung EDTA menggunakan pipet thoma leukosit hingga skala 0,5, hapus sisa darah pada bagian ujung dan pinggir pipet menggunakan tisu. Selanjutnya pipet tersebut dimasukkan ke dalam larutan Turk dengan sudut 45° dan ambil larutan Turk sampai garis tanda 11 dengan hati-hati jangan sampai terjadi gelembung udara. Tutup ujung pipet dengan tangan dan lepaskan karet penghisap. Homogenkan sampel darah dan larutan Turk pada pipet thoma selama 30-60 detik. Setelah homogen, buang 3-4 tetes awal cairan tersebut dan sentuhkan ujung pipet ke permukaan kamar hitung dengan menyinggung pinggir kaca penutup. Biarkan kamar hitung terisi cairan dengan daya kapilaritasnya, serta diamkan selama 2-3 menit supaya leukosit mengendap dan sel-sel lainnya dilisiskan.

Total leukosit didapatkan dengan cara menghitung jumlah sel pada setiap bidang dibagi dengan volume kamar hitung dan dikali dengan pengenceran. Luas seluruh bidang pada kamar hitung leukosit adalah 4 mm^2 dan tinggi kamar hitung yaitu $0,1 \text{ mm}$, sehingga volume kamar hitung adalah $0,4 \text{ mm}^3$. Pengenceran yang digunakan adalah 20 karena perbandingan darah (tanpa pengenceran) dengan pengencernya adalah 1:20. Rumus yang didapatkan berdasarkan penjelasan diatas adalah $\frac{N}{0,4} \times 20$ atau $N \times 50$ dengan N adalah jumlah leukosit pada setiap bidang. Untuk mengetahui parameter diferensial leukosit dilakukan dengan metode apusan darah.

Perhitungan Diferensial Leukosit

Pemeriksaan dengan metode apusan darah dimulai dari menyiapkan gelas objek yang sudah dibersihkan dengan alkohol. Teteskan sampel darah ke atas gelas objek. Kemudian gelas objek lainnya ditempatkan pada bagian sampel tadi dengan membentuk sudut 30° - 45° dan didorong sepanjang gelas objek sampai membentuk apusan darah yang tipis. Ulasan darah dikeringkan di udara, kemudian difiksasi dengan metanol selama 5 menit. Selanjutnya keringkan di udara, lalu tuang campuran pewarna giemsa dan larutan buffer dengan perbandingan 1:4 ml ke apusan yang telah difiksasi selama 25-30 menit. Selanjutnya, cuci dengan air mengalir dan dikeringkan di udara. Preparat ulas darah diperiksa di bawah mikroskop. Pengamatan dilakukan berdasarkan lapang pandang. Pemeriksaan diferensial leukosit dilakukan di bawah mikroskop dengan lensa objektif 100x menggunakan minyak imersi. Catat setiap jenis sel darah putih dalam setiap lapang pandang hingga dapat 100 sel leukosit terhitung. Hitung masing masing jenis (diferensial) leukosit dengan membagi 100 dan dikalikan 100% untuk mendapatkan nilai relatif. Hasil nilai relatif akan diubah menjadi nilai absolut dengan mengalikan nilai dalam persen dengan jumlah leukosit pada konsentrasi dan dari pemeriksaan yang bersangkutan lalu kemudian dibagi dengan 100. Hal ini dilakukan untuk mengetahui jumlah tiap komponen sel darah putih yang sebenarnya. Kemudian hasil analisis dijelaskan secara deskriptif

Analisis data

Data yang diperoleh dari perhitungan total dan diferensial leukosit dianalisis dengan sidik ragam atau ANOVA, apabila ditemukan perbedaan yang signifikan dilanjutkan dengan uji Duncan. Data disajikan dalam bentuk tabel dan grafik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Hasil pemeriksaan rerata total leukosit ayam petelur pascavaksinasi ND-IB disajikan dalam Tabel 1. Berdasarkan Tabel 1 menunjukkan bahwa rerata total leukosit ($\times 10^3 / \mu\text{L}$) tertinggi terjadi pada minggu ke-0 (pravaksinasi) yaitu sebesar $72,39 \pm 7,30$. Pada minggu pertama pascavaksinasi mengalami penurunan terendah rerata total leukosit, yaitu $62,26 \pm 6,59$. Grafik rerata total leukosit ayam petelur terhadap waktu pengambilan sampel dimuat pada Grafik 1.

Berdasarkan Tabel 2 rerata nilai absolut sel-sel leukosit ($\times 10^2 / \mu\text{L}$) minggu ke-0 (pravaksinasi), yaitu heterofil $24,60 \pm 12,36$, eosinofil $1,91 \pm 1,99$, basofil $0 \pm 0,00$, limfosit $42,51 \pm 8,43$, dan monosit $3,38 \pm 1,51$. Rerata jumlah sel heterofil tertinggi sebesar $32,75 \pm 6,93$ dan rerata terendah $16,85 \pm 5,11$. Rerata jumlah sel eosinofil tertinggi sebesar $4,66 \pm 2,13$ dan rerata terendah $1,91 \pm 1,99$. Rerata jumlah sel basofil setiap minggunya adalah $0 \pm 0,00$. Rerata jumlah sel limfosit tertinggi sebesar $42,51 \pm 8,43$ dan rerata terendah $26,27 \pm 6,39$. Rerata jumlah sel monosit tertinggi sebesar $4,96 \pm 2,23$ dan rerata terendah $3,38 \pm 1,51$. Grafik rerata nilai absolut heterofil, eosinofil, basofil, limfosit, dan monosit ayam petelur setiap minggu pengambilan sampel dimuat pada Grafik 2.

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam diatas, terbukti bahwa vaksinasi ND-IB dan perbedaan

waktu pengambilan sampel dapat mempengaruhi rerata total dan jenis leukosit pascavaksinasi. Oleh karena itu, dilakukan analisis regresi untuk mengetahui hubungan antara pengaruh perbedaan waktu pengambilan terhadap hasil rerata total dan jenis leukosit ayam petelur pascavaksinasi. Hasil uji regresi ditampilkan pada Grafik 3, Grafik 4, Grafik 5, Grafik 6, dan Grafik 7. Perubahan rerata total leukosit (Grafik 3) dan rerata sel heterofil (Grafik 4) mengalami penurunan pada minggu keempat pascavaksinasi. Perubahan rerata sel eosinofil (Grafik 5) dan rerata sel limfosit (Grafik 6) mengalami kenaikan pada minggu keempat pascavaksinasi. Namun, rerata sel monosit (Grafik 7) mengalami kenaikan pada minggu kelima pascavaksinasi. Kenaikan rerata limfosit dan monosit pada minggu keempat dan kelima pascavaksinasi berdasarkan hasil analisis regresi yang dilakukan memiliki hubungan erat dengan pembentukan antibodi.

Pembahasan

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa total leukosit dan nilai absolut sel heterofil, eosinofil, dan limfosit pascavaksinasi *Newcastle Disease-Infectious Bronchitis* berpengaruh nyata ($P < 0,05$), tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap nilai absolut sel monosit dan basofil. Pada penelitian ini sel basofil tidak ditemukan. Weiss dan Wardrop (2010) menyatakan bahwa sel basofil jarang ditemukan pada kondisi ayam normal. Basofil berperan dalam reaksi alergi serta penghambat proses pembekuan darah (Ulupi & Ihwantoro, 2014).

Rerata total leukosit minggu ke-0 (pascavaksinasi) adalah sebesar $72,39 \times 10^2 / \mu\text{L}$ dan merupakan rerata terbesar dari setiap pengulangan. Pada minggu pertama pascavaksinasi rerata total leukosit sebesar $62,26 \times 10^2 / \mu\text{L}$ yang menandakan terjadinya penurunan yang signifikan dari minggu sebelumnya, namun tidak signifikan pada minggu selanjutnya. Menurut Dharmawan (2002) fluktuasi (tinggi rendahnya) jumlah leukosit pada tiap individu cukup besar pada kondisi tertentu, seperti cekaman atau stres panas, aktivitas fisiologi, gizi, umur, dan lain-lain. Berdasarkan pernyataan tersebut menunjukkan bahwa aktivitas fisiologis meliputi proses vaksinasi dan pengambilan sampel memberikan pengaruh terhadap jumlah leukosit. Serta, suhu lingkungan yang tinggi dapat menyebabkan ayam petelur menjadi stres sehingga jumlah sel darah putih dapat terganggu. Minggu kedua pascavaksinasi rerata total leukosit mengalami peningkatan sebesar $65,78 \times 10^2 / \mu\text{L}$. Peningkatan total leukosit dapat diakibatkan oleh stress lingkungan yang pada akhirnya mempengaruhi proses fisiologis menjadi abnormal dan mempengaruhi keseimbangan hormonal pada tubuh ayam. Peningkatan total leukosit dapat disebabkan oleh stres lingkungan yang meningkatkan produksi kortikosteroid dan glukokortikoid yang berpengaruh buruk terhadap kesehatan ayam dan menurunkan sistem pertahanan tubuh (Falahudin et al., 2016).

Rerata nilai absolut sel limfosit mengalami penurunan secara signifikan pada minggu pertama pascavaksinasi, sebesar $31,56 \times 10^2 / \mu\text{L}$. Penurunan rerata nilai absolut sel limfosit terjadi karena reaksi netralisasi yang terjadi pada ayam. Menurut Klasse (2014) reaksi netralisasi merupakan pengurangan infeksi virus dengan pengikatan antibodi ke permukaan partikel virus (virion), dengan demikian memblokir langkah dalam siklus replikasi virus yang mendahului transkripsi atau sintesis yang dikodekan oleh virus. VanBlargan *et al.*, (2016) menyatakan bahwa antibodi memiliki kemampuan untuk memblokir infeksi virus pada sejumlah langkah dalam proses masuknya virus. Langkah-langkah ini termasuk perlekatan virus pada permukaan sel, interaksi virus dengan reseptor atau koreseptor, fusi dengan membran inang (untuk virus berselubung), penetrasi membran atau injeksi genom (untuk virus yang tidak berselubung), atau pelepasan genom virus. Beban maksimum juga menyebabkan penurunan produksi antibodi dan penurunan fungsi limfosit secara umum (Prasasti et al., 2023). Achiron *et al.*, (2021) menjelaskan, terdapat korelasi antara jumlah antibodi dengan jumlah limfosit 1 bulan setelah vaksinasi dosis kedua. Hal tersebut terjadi karena pentingnya peran limfosit dalam pembentukan respon imun dan

secara spesifik merupakan instrumen penting dalam pembentukan antibodi (Herzog Tzarfati et al., 2021). Selain itu, menurunnya rerata sel limfosit juga bisa disebabkan karena lemahnya kemampuan beradaptasi ayam petelur pada suhu lingkungan yang pada saat pengambilan sampel kisaran suhu di atas 27° C. Menurut Charles (1981), suhu nyaman ayam berkisar antara 20 – 24° C. Lingkungan yang panas akan memicu sekresi hormon kortikosteroid yang tinggi. Tingginya hormon tersebut di dalam darah, dapat menghambat pembentukan limfosit (Davis et al., 2008).

Pada minggu ketiga pascavaksinasi, rerata nilai absolut limfosit mengalami kenaikan secara signifikan dari minggu sebelumnya sebesar $39,49 \times 10^2 /\mu\text{L}$. Menurut Siswanto *et al.*, (2016) menyatakan bahwa dalam upaya tubuh membentuk zat kebal akibat vaksinasi, sel darah putih (leukosit) akan mengalami proliferasi, sehingga pada gilirannya akan terbentuk sel plasma yang akan memproduksi antibodi. Oleh karena itu, peningkatan sel leukosit dalam darah pada penelitian ini, terjadi karena adanya proses proliferasi leukosit akibat vaksinasi. Komponen virus yang masuk kedalam tubuh melalui vaksinasi akan ditangkap oleh *Antigen Presenting Cell* (APC) yaitu makrofag. Pemrosesan antigen dalam makrofag menyebabkan peptida kecil ditampilkan di permukaan sel pada alur *Major Histocompatibility Complex* (MHC) kelas I dan kelas II. Sel T sitotoksik (CD8+) mengenali kompleks peptida MHC kelas I dan berdiferensiasi menjadi sel efektor sitotoksik yang kemudian menghasilkan *perforin*, *lymphotoxin* dan TNF- α yang mampu membunuh sel atau patogen yang terinfeksi, selain berdiferensiasi menjadi sel efektor, sel T sitotoksik juga sebagian akan menjadi sel T memori. Sel T *helper* (CD4+) mengenali kompleks peptida MHC kelas II yang selanjutnya akan mengaktifasi sel B yang kemudian akan mengalami proliferasi dan diferensiasi menjadi sel plasma (yang akan menghasilkan antibodi) dan sel B memori. Antibodi yang dihasilkan oleh sel plasma sebagai repon terhadap vaksin dapat berupa *neutralizing antibodies* dan juga dapat bersifat *non-neutralizing antibodies*. Sel B memori yang terbentuk dapat mempercepat pembentukan antibodi jika terjadi paparan selanjutnya (Colbert et al., 2020).

Rerata jumlah sel heterofil mengalami kenaikan signifikan pada minggu kedua sebesar $32,75 \times 10^2 /\mu\text{L}$. Heterofil juga memiliki berbagai peranan yaitu sebagai penghancur benda asing melalui fagositosis. Fagositosis merupakan suatu proses pemakanan oleh sel yang mencakup kemotaksis, pelekatan, penelanan dan pencernaan partikel (Playfair & Chain, 2009). Meningkatnya jumlah sel heterofil dalam darah tidak selalu diasumsikan bahwa hewan sedang terinfeksi penyakit. Hal tersebut dapat menunjukkan bahwa meningkatnya respons imun nonspesifik seluler dari agen penyakit (Kencana et al., 2021). Respons imun nonspesifik umumnya merupakan imunitas bawaan yakni respons terhadap bahan asing yang dapat terjadi walaupun tubuh sebelumnya tidak pernah terpapar oleh bahan tersebut. Penurunan rerata sel heterofil yang signifikan pada minggu ketiga, sebesar $16,85 \times 10^2 /\mu\text{L}$ selaras dengan meningkatnya rerata sel limfosit yang terjadi berdasarkan efek semu dari hasil perhitungan presentase jenis-jenis leukosit karena perhitungan berdasarkan 100 %. Menurut Kencana *et al.*, (2018) menyatakan bahwa terdapat beberapa faktor yang kemungkinan dapat memengaruhi penurunan total leukosit dan heterofil adalah obat-obatan, infeksi mikroba, pemberian hormon, dan akibat stress. Menurut Puvadolpirod dan Thaxton (2000) faktor-faktor pendukung terhadap tinggi rendahnya heterofil diantaranya adalah kondisi lingkungan, tingkat stress, genetik, dan kecukupan nutrisi pakan.

Rerata sel eosinofil mengalami kenaikan yang signifikan pada minggu ketiga pascavaksinasi sebesar $4,66 \times 10^2 /\mu\text{L}$. Eosinofil berperan aktif dalam mengatur proses alergi akut dan proses pembersihan, mengatur infestasi parasit, dan memfagositosis bakteri, antigen-antibodi kompleks, mikoplasma, dan ragi (Dharmawan, 2002). Faktor yang dapat mempengaruhi tinggi rendahnya eosinofil yaitu reaksi dalam tubuh ayam yang berlebihan atau hipersensitivitas respon imun terhadap alergi dan parasit serta tingkat peradangan (Suriansyah et al., 2016). Tingginya jumlah

sel eosinofil dalam darah belum dapat diasumsikan bahwa ayam berada pada kondisi sakit. Tingginya produksi eosinofil juga dapat menunjukkan berfungsinya sistem pertahanan tubuh dalam menghadapi agen penyakit (Purnomo et al., 2015).

Pada penelitian ini, rerata sel monosit tidak mengalami perubahan yang signifikan dari minggu ke-0 (pravaksinasi) sebesar $3,38 \times 10^2$ / μ L hingga minggu ketiga pascavaksinasi sebesar $4,10 \times 10^2$ / μ L. Monosit dalam melaksanakan fungsi sistem imun berperan sebagai makrofag yakni menelan dan menghancurkan sel, mikroorganisme dan benda asing yang bersifat patogen (Isroli et al., 2009). Vaksinasi ND-IB terhadap ayam petelur pada penelitian ini memberikan pengaruh nyata terhadap terbentuknya sel heterofil, limfosit, dan eosinofil pascavaksinasi. Rerata sel heterofil dan eosinofil tidak memiliki kaitan secara langsung dengan respon tubuh ayam petelur terhadap vaksinasi yang dilakukan, dimana fungsi utama heterofil adalah untuk membunuh bakteri melalui proses fagositosis (Redmond et al., 2011) dan eosinofil berfungsi untuk menghadapi infeksi parasitik dan alergi (Purnomo et al., 2015). Sel monosit dan limfosit memiliki keterkaitan dengan vaksinasi, dimana fungsi monosit atau makrofag adalah sebagai *antigen presenting cells* (APC) yang menstimulasi pematangan sel limfosit yang berperan sebagai cikal bakal terbentuknya antibodi (Kencana et al., 2021). Berdasarkan hasil uji sidik ragam diketahui bahwa pada minggu ketiga pascavaksinasi terjadi puncak peningkatan limfosit dan berdasarkan hasil analisis regresi, diprediksi akan naik hingga minggu keempat pascavaksinasi. Peningkatan limfosit terjadi karena adanya antigen yang masuk ke dalam tubuh dalam rangka membentuk antibodi. Fungsi utama antibodi sebagai pertahanan terhadap infeksi ekstraselular, virus dan bakteri serta menetralkan toksinnya (Baratawidjaja & Rengganis, 2010).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan vaksinasi ND-IB berpengaruh terhadap total leukosit dan nilai heterofil yang menurun pada minggu ketiga, nilai limfosit dan eosinofil yang meningkat pada minggu ketiga, serta nilai monosit dan basofil yang tidak berpengaruh nyata pascavaksinasi. Waktu pengambilan sampel berpengaruh terhadap total leukosit, limfosit, heterofil, dan eosinofil ayam petelur pascavaksinasi ND-IB, namun tidak berpengaruh terhadap monosit dan basofil.

Saran

Perlu dilakukan penelitian dengan memperhatikan kondisi lingkungan sebagai variabel kendali, karena hal tersebut dapat mempengaruhi hasil yang diperoleh. Menambah sampel kontrol pengulangan untuk mengetahui pembandingan normal pada setiap pengulangan dan melakukan uji titer antibodi sebagai pendukung dari hasil penelitian.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih dosen pembimbing, dosen penguji, serta kepada Peternakan UD. Sari Boga dan Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana yang telah memfasilitasi penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Achiron, A., Mandel, M., Dreyer-Alster, S., Harari, G., Magalashvili, D., Sonis, P., Dolev, M., Menascu, S., Flechter, S., Falb, R., & Gurevich, M. (2021). Humoral immune response to COVID-19 mRNA vaccine in patients with multiple sclerosis treated with high-efficacy disease-modifying therapies. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*, 14, 1–8. <https://doi.org/10.1177/17562864211012835>

- Alexander, D. J. (2001). Gordon Memorial Lecture. Newcastle disease. *British Poultry Science*, 42(1), 5–22. <https://doi.org/10.1080/713655022>
- Amer, M. M., Sherein, S., & Abeer, A. (2013). *Evaluation of Some Avian Influenza Vaccines on Commercial Layer Chicks*. 60, 60–78.
- Baratawidjaja, K. G., & Rengganis, I. (2010). Immunologi Dasar Edisi ke-9. In *Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia*.
- Butcher, D. G dan Gary D. 2015. Diagnostic and Monitoring Serology in Commercial Poultry. *Poultry Health Management Journal*. Veterinary Medicine-Large. Animal Clinical Sciences. <https://edis.ifas.ufl.edu/publication/VM102>
- Charles, D. R. (1981). *Practical Ventilation and Temperature Control for Poultry, In Environmental Aspects of Housing for Animal Production*, by J. A. Clark, University of Nottingham.
- Colbert, J. D., Cruz, F. M., & Rock, K. L. (2020). Cross-presentation of exogenous antigens on MHC I molecules. *Current Opinion in Immunology*, 64, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2019.12.005>
- Davis, A. K., Maney, D. L., & Maerz, J. C. (2008). The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: A review for ecologists. *Functional Ecology*, 22(5), 760–772. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01467.x>
- Dharmawan, N. S. (2002). *Pengantar Patologi Klinik Veteriner Hematologi Klinik* (Cetakan II). Denpasar: Pelawa Sari.
- Dharmayanti, N. L. P. I., & Indriyani, R. (2017). Identification and Characterization of Infectious Bronchitis Virus (IBV) in Indonesia. *Jurnal Biologi Indonesia*, 13(1), 53–60. <https://doi.org/10.47349/jbi/13012017/53>
- Falahudin, I., Pane, E. R., & Sugiaty. (2016). The effectiveness of temulawak solution (Curcuma xanthorrhiza Roxb.) against an increase in the number of leukocytes of broiler chickens (Gallus gallus Domestica sp.). *Biota Journal*, 2(1), 68.
- Herzog Tzarfati, K., Gutwein, O., Apel, A., Rahimi-Levene, N., Sadovnik, M., Harel, L., Benveniste-Levkovitz, P., Bar Chaim, A., & Koren-Michowitz, M. (2021). BNT162b2 COVID-19 vaccine is significantly less effective in patients with hematologic malignancies. *American Journal of Hematology*, 96(10), 1195–1203. <https://doi.org/10.1002/ajh.26284>
- Hewajuli, D. A., & Dharmayanti, N. L. P. I. (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>
- Isroli, Susanti, S., Widiastuti, Yudiarti, T., & Sugiharto. (2009). Observasi Beberapa Variabel Hematologis Ayam Kedu Pada Pemeliharaan Intensif. *Seminar Nasional Kebangkitan Peternakan*, 548–557.
- 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. <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. <https://doi.org/10.22146/jsv.66086>
- Kencana, G. A. Y., Suartha, I. N., Nainggolan, D. R. B., & Tobing, A. S. L. (2017). Respons Imun Ayam Petelur Pascavaksinasi Newcastle Disease dan Egg Drop Syndrome. *Jurnal Sain*

Veteriner, 35(1), 81. <https://doi.org/10.22146/jsv.29295>

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. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2016.17.2.257>

Klasse, P. J. (2014). Neutralization of Virus Infectivity by Antibodies: Old Problems in New Perspectives. *Advances in Biology*, 2014, 1–24. <https://doi.org/10.1155/2014/157895>

Kurnianingtyas, E., Setiyaningsih, S., & Indrawati, A. (2017). Penentuan Patotipe Molekuler Virus Newcastle Disease: Isolat Lapang di Tiga Wilayah Kabupaten Jawa Timur. *Acta Veterinaria Indonesiana*, 5(1), 8–15. <https://doi.org/10.29244/avi.5.1.8-15>

Orsi, M. A., Doretto, L. J., Camillo, S. C. A., Reischak, D., Ribeiro, S. A. M., Ramazzoti, A., Mendonça, 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. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41(2), 349–357. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822010000200014>

Playfair, J. H. L., & Chain, B. M. (2009). *Organ Lymfoid Sekunder dan Lalu lintas Limfosit dalam At a Glance Immunologi* (Edisi 9). Erlangga. Jakarta.

Prasasti, A. G., Woelansari, E. D., Suhariyadi, & Anggraini, A. D. (2023). Lymphocyte Cell Expressions and SARS-COV-2 Antibody Titers in Healthy Donors' Blood at an Indonesian Blood Transfusion Center (UTD PMI Surabaya). *Folia Medica Indonesiana*, 59(4), 335–340. <https://doi.org/10.20473/fmi.v59i4.38954>

Purnomo, D., Sugiharto, & Isroli. (2015). Total leukosit dan diferensial leukosit darah ayam broiler akibat penggunaan tepung onggok fermentasi *rhizopus oryzae* pada ransum. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 25(3), 59–68. <https://doi.org/10.21776/ub.jiip.2015.025.03.08>

Redmond, S. B., Chuammitri, P., Andreasen, C. B., Palić, D., & Lamont, S. J. (2011). Genetic control of chicken heterophil function in advanced intercross lines: Associations with novel and with known *Salmonella* resistance loci and a likely mechanism for cell death in extracellular trap production. *Immunogenetics*, 63(7), 449–458. <https://doi.org/10.1007/s00251-011-0523-y>

Saepulloh, M., & Darminto. (2005). Kaman Newcastle Disease Pada Itik Dan Upaya. *Wartazoa*, 15(2), 84–94.

Siswanto, Sulabda, I. N., & Soma, I. G. (2016). Titer Antibodi Dan Hitung Jenis Leukosit Ayam Potong Jantan Pasca Vaksinasi Virus Newcastle Disease. *Indonesia Medicus Veterinus*, 5(1), 89–95.

Suriansyah., Ardana, I. B. K., Anthara, M. S., & Anggreni, L. D. (2016). Leukosit Ayam Pedaging setelah Diberikan Paracetamol. *Indonesia Medicus Veterinus*. <http://ojs.unud.ac.id/index.php/imv>

Thaxton, J. P., & Puvadolpirod, S. (2000). Model of physiological stress in chickens 5. Quantitative evaluation. *Poultry Science*, 79(3), 391–395. <https://doi.org/10.1093/ps/79.3.391>

Ulupi, N., & Ihwantoro, T. T. (2014). *Gambaran Darah Ayam Kampung Dan Ayam Petelur Komersial Pada*. 02(1), 219–223.

VanBlargan, L. A., Goo, L., & Pierson, T. C. (2016). Deconstructing the Antiviral Neutralizing-Antibody Response: Implications for Vaccine Development and Immunity. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(4), 989–1010. <https://doi.org/10.1128/mmb.00024-15>

Weiss, D. J. dan Wardrop, K. J. 2010. Schalm’s Veterinary Hematology. 6th Ed. Wiley-Blackwell, Singapore.

Tabel

Tabel 1. Rerata Total Leukosit Ayam Petelur Pascavaksinasi ND-IB.

Waktu Pengambilan Sampel (Minggu)	Total Leukosit (x 10 ³ /μL)	N (Jumlah Ayam)
0	72,39 ± 7,30 ^b	10
1	62,26 ± 6,59 ^a	10
2	65,78 ± 5,86 ^a	10
3	65,11 ± 6,24 ^a	10

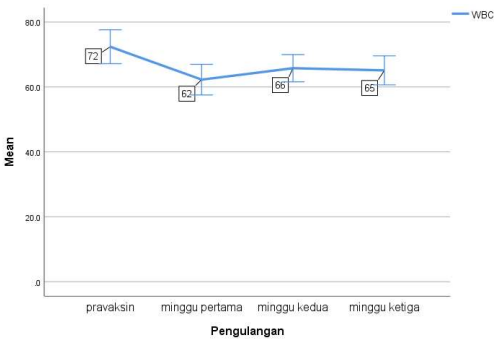
Keterangan: Huruf (superskrip) yang sama menunjukkan tidak beda nyata (p>0,05) dan superskip dengan huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata (P<0,05).

Tabel 2. Rerata Nilai Absolut Heterofil, Eosinofil, Basofil, Limfosit, dan Monosit Ayam Petelur Pascavaksinasi ND-IB.

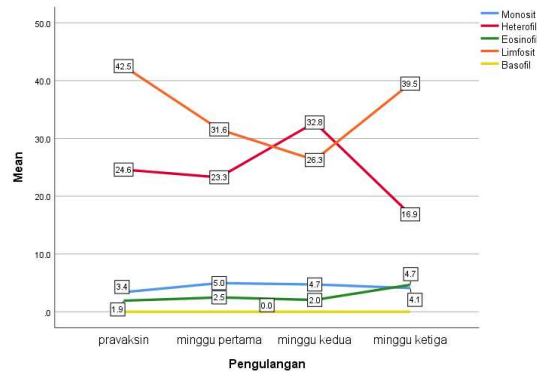
Waktu Minggu	Sel sel Leukosit (x 10 ² /μL)				
	Heterofil	Eosinofil	Basofil	Limfosit	Monosit
0	24,60 ± 12,36 ^a	1,91 ± 1,99 ^a	0 ± 0,00 ^a	42,51 ± 8,43 ^b	3,38 ± 1,51 ^a
1	23,26 ± 6,12 ^a	2,48 ± 2,41 ^a	0 ± 0,00 ^a	31,56 ± 4,76 ^a	4,96 ± 2,23 ^a
2	32,75 ± 6,93 ^b	2,04 ± 1,46 ^a	0 ± 0,00 ^a	26,27 ± 6,39 ^a	4,72 ± 2,45 ^a
3	16,85 ± 5,11 ^a	4,66 ± 2,13 ^b	0 ± 0,00 ^a	39,49 ± 9,01 ^b	4,10 ± 2,36 ^a

Keterangan: Huruf (superskrip) yang sama menunjukkan tidak beda nyata (p>0,05) dan superskip dengan huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata (P<0,05).

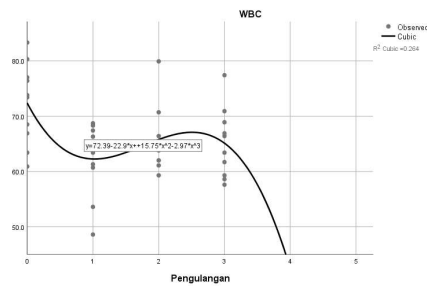
Grafik



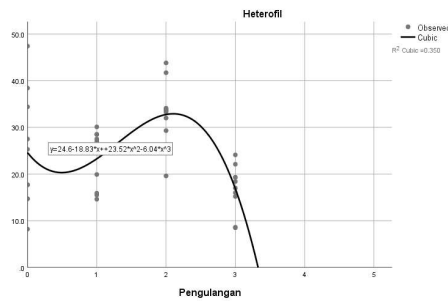
Grafik 1. Grafik Rerata Total Leukosit Ayam Petelur Pascavaksinasi ND-IB.



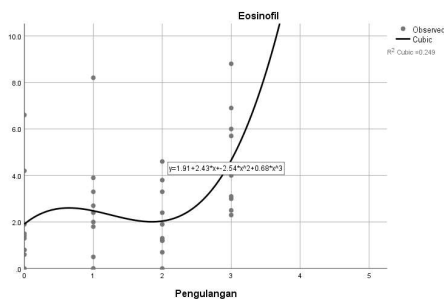
Grafik 2. Grafik Rerata Nilai Absolut Heterofil, Eosinofil, Basofil, Limfosit, dan Monosit Ayam Petelur Pascavaksinasi ND-IB.



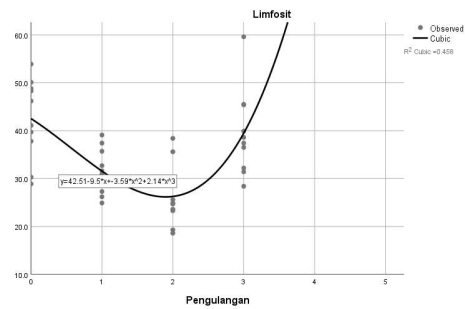
Grafik 3. Grafik Analisis Regresi Total Leukosit Ayam Petelur Pascavaksinasi ND-IB.



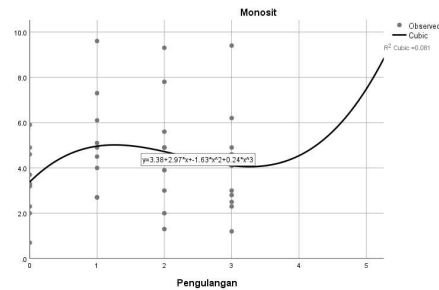
Grafik 4. Grafik Analisis Regresi Heterofil Ayam Petelur Pascavaksinasi ND-IB.



Grafik 5. Grafik Analisis Regresi Eosinofil Ayam Petelur Pascavaksinasi ND-IB.



Grafik 6. Grafik Analisis Regresi Limfosit Ayam Petelur Pascavaksinasi ND-IB.



Grafik 7. Grafik Analisis Regresi Monosit Ayam Petelur Pascavaksinasi ND-IB.