

**Penyebaran Virus Vaksin ND Pada Sekelompok Ayam  
Pedaging Yang Tidak Divaksinasi dan dipelihara bersama  
ayam yang divaksinasi**

*(CONTACT TRANSMISSIBILITY ACTIVE LENTOGENIC ND VACCINE  
UNVACCINATED CHICKENS REARED AMONG  
CHICKENS VACCINATED CHICKENS)*

**Gusti Ayu Yuniati Kencana<sup>1</sup>, Nyoman Mantik Astawa<sup>1</sup>, I Gusti Ngurah Kade  
Mahardika<sup>1</sup>, dan I Wayan Gorda<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorium Virologi, <sup>2</sup> Laboratorium Bedah

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jln. PB Sudirman, Denpasar

Email: [yuniatikencana@gmail.com](mailto:yuniatikencana@gmail.com)

**ABSTRAK**

Telah dilakukan penelitian untuk mengetahui daya sebar vaksin ND aktif galur lentogenik (La Sota) dan respons immune ayam yang tidak divaksin yang dipelihara bersama ayam yang divaksin secara intramuskuler. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap pola berjenjang (*split time*) dengan faktor utama perlakuan vaksinasi (TO: 0% divaksin dan 100% tidak divaksin, T1: divaksin 50% dan 50% tidak divaksin dan T2: divaksin 75% dan 25% tidak divaksin) dengan sembilan kali ulangan. Faktor tambahan adalah waktu pengambilan serum (minggu ke-0, ke-1, ke-2 dan ke-3) sehingga jumlah sampel adalah  $3 \times 9 \times 4 = 108$  sampel serum. Ayam umur 3 hari divaksinasi ND secara tetes mata kemudian dilakukan vaksinasi intramuskuler pada umur 21 hari sesuai perlakuan. Titer antibodi ND pada ayam perlakuan diuji dengan uji hambatan hemaglutinasi/*hemagglutination inhibition* (HI) satu hari sebelum vaksinasi, serta satu minggu, dua minggu, dan tiga minggu setelah vaksinasi. Data tentang titer antibodi (GMT-HI) terhadap ND ditransformasi dengan akar  $X+1$ , dianalisis dengan sidik ragam dan dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa titer antibodi terhadap ND pada ayam yang tidak divaksin dipengaruhi oleh persentase ayam yang divaksin. Antibodi HI unit terhadap virus ND pada ayam yang tidak divaksinasi mulai teramati pada minggu ke-2 dan ke-3 setelah vaksinasi. Titer antibodi ayam yang tidak divaksinasi pada kelompok ayam yang hanya divaksin 75% mempunyai titer antibodi yang nyata lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok ayam yang divaksin 50% dan kontrol ( $P < 0,05$ ). Pada kelompok ayam yang divaksin 50%, titer antibody ND pada ayam yang tidak divaksin secara statistik berbeda tidak nyata dibandingkan dengan kelompok yang divaksin 0% ( $P > 0,05$ ). Pada minggu ke tiga, titer antibody ND ayam yang tidak divaksinasi pada kelompok ayam yang divaksin 75% nyata lebih tinggi dibandingkan dengan pada kelompok ayam yang divaksin 50% ( $P < 0,05$ ). Vaksin ND aktif lentogenik La Sota dapat menyebar dari ayam yang divaksin secara intramuskuler ke ayam yang tidak divaksin.

**Kata kunci:** daya sebar, virus, vaksin ND, LaSota

## ABSTRACT

A study to determine contact transmissibility and immune response of unvaccinated chickens reared among chickens vaccinated with active lentogenic (La Sota) Newcastle disease (ND) vaccine was carried out. Experimental design used in this study was completely randomized split in time design with 3 main treatments (TO: 0% vaccinated and 100% unvaccinated, T1: 50 % vaccinated and 50% unvaccinated and T2: 75% vaccinated and 25% unvaccinated). Four sub-treatments were time after vaccination (week-0, week-1, week-2 and week-3). A total of 108 three day-old chicks were firstly eye-dropps vaccinated and they were then allocated according to the treatment group. Intramuscular vaccination was conducted when the chickens were at the age of 21 days. Sera samples were collected at one day before vaccination and 1, 2 and 3 weeks post-vaccination. Antibody titer against ND virus was determined by *hemagglutination inhibition* (HI) test. Geometric mean antibody titers obtained were then analysed by analysis of variance (Anova) and were proceeded by Duncan Multiple range test. The results showed that antibody titer against ND virus in unvaccinated chickens were detected at week-2 and week-3 post treatment. Geometric mean titer (GMT) of ND antibody of unvaccinated chickens in 75% vaccinated groups (T2) was significantly higher than in 50% vaccinated groups and in 0 vaccinated groups. No significant different was observed on the antibody titer of unvaccinated chickens in 50% and 0% vaccinated groups. At third week, the antibody titer in 75% vaccinated group was significantly higher than in 50% vaccinated group. Active lentogenic ND vaccine can be transmitted from intramuscularly vaccinated chickens to unvaccinated chickens.

**Key words:** contact transmissibility, Virus, ND Vaccine, daya sebar, virus, LaSota

## PENDAHULUAN

Penyakit *Newcastle disease* (ND) yang di Indonesia lebih dikenal dengan nama penyakit Tetelo masih bersifat endemik pada peternakan ayam, meskipun vaksinasi telah dilakukan secara teratur (Zainudin dan Wibawan, 2009). *Newcastle disease* merupakan penyakit menular yang bersifat akut sampai kronis pada berbagai unggas dan ditandai dengan gejala gangguan pernafasan, pencernaan dan syaraf. Penyakit ini disebabkan oleh *Avian Paramyxovirus type-1* (APMV-1), genus *Avulavirus* dari familia *Paramyxoviridae* dengan genom RNA serat tunggal (*single stranded/ss*) dan berpolaritas negatif. Virion biasanya berbentuk bulat dengan diameter 100-500 nm atau berbentuk filament, dan beramplop. Pada amplop

virus terdapat protein hemagglutinin, neuraminidase dan *fusion protein* (Aldous dan Alexander, 2001; Alexander, 2001). Ada sembilan serotipe dari *avian Paramyxovirus* yaitu APMV-1 sampai APMV-9 (OIE, 2012).

Pada ayam, keganasan virus ND tergantung pada virulensi dan predileksi galur virus. Berdasarkan atas virulensinya, virus ND dikelompokkan menjadi tiga patotipe yaitu *velogenik* (bersifat sangat ganas), *mesogenik* (keganasannya sedang), dan *lentogenik* (keganasannya rendah). Berdasarkan atas organ predileksinya, virus ND *velogenik* dibedakan menjadi bentuk *neurotropik* yang ditandai dengan gejala gangguan syaraf, *pneumotropik* yang ditandai dengan kelainan pada sistim pernafasan, dan bentuk *viscerotropik* yang ditandai

dengan gangguan pada sistima pencernaan (Aldous dan Alexander, 2001).

Di Indonesia, virus ND yang ada adalah galur *velogenik-viscerotropik* (Adi *et al*, 2010). Sampai sekarang, penyakit ini masih ditemukan secara periodik pada ayam buras (Kencana *et al*, 2012) dengan gejala klinis berupa diare, gangguan pernafasan, dan gejala syaraf. Lesi-lesi yang sering ditemukan pada penyakit ND di antaranya perdarahan petekie pada proventrikulus, ventrikulus, sekal-tonsil dan nekrosis pada usus. Beberapa lesi juga ditemukan pada organ saluran pernafasan seperti perdarahan pada trakea, paru-paru bahkan juga pada otak. Tanda-tanda seperti itu merupakan gambaran klinik dan patologik yang umum ditemukan pada kasus ND di seluruh dunia (Alexander, 2001; Kencana dan Kardenia, 2010).

Di daerah enzootik, pengendalian ND dilakukan dengan cara kombinasi antara sanitasi lingkungan dengan vaksinasi yang teratur (Zainudin dan Wibawan 2009). Jenis vaksin ND yang telah dipasarkan adalah vaksin aktif-lentogenik (misalnya galur F, B1, dan La Sota), vaksin aktif-mesogenik (misalnya Komarov dan Roakin) dan vaksin inaktif (OIE, 2012). Di antara vaksin-vaksin tersebut, vaksin aktif-lentogenik adalah jenis vaksin yang paling umum digunakan. Imunogenitas vaksin ND ternyata tidak dipengaruhi oleh virulensinya terutama virulensi yang diukur berdasarkan atas *Intracerebeal pathogenicity index* (Orsi *et al*, 2009).

Vaksinasi ND dapat dilakukan dengan berbagai cara, yaitu bersama air minum, dicampur dengan pakan, melalui

tetes mata/hidung, injeksi intramuskuler, dan melalui aerosol dengan spraying (FAO, 2002; Ausvetplan, 2010). Salah satu sifat vaksin aktif adalah mampu bereplikasi di dalam tubuh unggas yang divaksin serta dapat dikeluarkan melalui tinja dan sekreta lainnya. Daya sebar virus vaksin ini merupakan kelemahan dari vaksin aktif apabila menggunakan virus yang dilemahkan (atenuasi) karena dapat menjadi ganas kembali (Miller, 2009). Sebagai akibatnya adalah virus vaksin ini dapat disebarkan dari unggas yang divaksin ke unggas yang tidak divaksin setelah terjadinya kontak antar unggas. Namun, apabila menggunakan virus aktif-lentogenik (avirulen) sebagai antigen vaksin, kelemahan tersebut dapat diabaikan dan bahkan mungkin menguntungkan karena dapat meningkatkan kekebalan kelompok.

Daya sebar virus vaksin ND aktiflentogenik telah dilaporkan oleh peneliti terdahulu. Dugaan adanya penyebaran vaksin virus ND dari burung unta yang di vaksin ND ke burung unta yang tidak divaksin juga telah dilaporkan di Jepang. Dalam hal ini sekelompok peternakan burung unta yang sebagian tidak divaksin dipelihara bersama dengan burung unta yang divaksin ternyata terbukti positif mengandung antibodi netralisasi terhadap virus ND (Ruenphet *et al*, 2012). Peneliti lain menyebutkan bahwa pada burung merpati (*Columba livia*), virus vaksin ND aktif dapat diekresikan melalui tinja mulai 5 sampai 25 hari pasca vaksinasi (Carrasco *et al*, 2008). Salah satu kelemahan vaksin ND aktif pada ayam yang divaksinasi adalah kemampuannya untuk menyebar dari ayam yang divaksin kepada ayam yang

tidak divaksin (Adward dan Lakesova, 2008).

Untuk mengetahui potensi daya sebar vaksin ND aktif galur lentogenik (La Sota) dari ayam yang divaksin secara intramuskuler kepada ayam yang tidak divaksin dalam kelompok yang sama perlu dilakukan suatu penelitian. Besarnya daya sebar vaksin tersebut ditunjukkan dari sero-konversi antibodi terhadap ND. Hasil penelitian ini diharapkan dapat mengungkapkan potensi daya sebar virus vaksin ND aktif di lapangan yang selanjutnya dapat dijadikan dasar bagi studi-studi lanjutan tentang pemanfaatan potensi tersebut. Manfaat lebih lanjut adalah sebagai alternatif baru dalam upaya meningkatkan efektivitas dan efisiensi program vaksinasi ND pada peternakan ayam.

## MATERI DAN METODE

### Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan 252 ekor ayam pedaging yang dipelihara dalam peternakan di Desa Mumbul, Kecamatan Kuta, Kabupaten Badung. Lokasi peternakan relatif terpisah dari lingkungan penduduk serta populasi ayam. Ayam dipelihara dalam kandang yang telah dibersihkan serta disucihamakan serta dikosongkan selama tiga bulan. Seluruh ayam percobaan dipelihara dalam satu kandang *starter* sejak umur satu hari sampai dipindahkan lagi ke kandang penelitian pada umur 18 hari.

### Rancangan Penelitian

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap pola berjenjang (*split time*) dengan faktor utama adalah

perlakuan vaksinasi yaitu T0, T1, T2 dengan sembilan kali ulangan. Jumlah ayam yang digunakan dalam penelitian ini adalah  $3 \times 9 = 27$  ekor. Seluruh ayam percobaan divaksinasi ND dengan cara tetes mata pada umur tiga hari. Pada hari ke-18 dilakukan pengambilan sera secara acak, lalu dikelompokkan dalam kandang yang terpisah menjadi tiga kelompok sesuai dengan perlakuan. Kelompok 1 adalah: kelompok ayam yang tidak divaksin (T0), kelompok 2 adalah kelompok ayam yang divaksin sebanyak 50 % (T1), kelompok 3 adalah kelompok ayam yang divaksin sebanyak 75% (T2).

### Perlakuan Vaksinasi dan Pengambilan Sampel sera

Ayam divaksin secara intramuskuler dengan vaksin ND aktif strain lentogenik (La Sota). Tiga ekor ayam yang tidak divaksinasi dari setiap kelompok ditandai dengan *wing band*. Sebagai faktor tambahan adalah waktu pengambilan serum (minggu ke-0, ke-1, ke-2 dan ke-3) sehingga jumlah sampel yang digunakan adalah  $3 \times 9 \times 4 = 108$  sampel. Pemeriksaan titer antibodi pada kelompok ayam yang tidak divaksinasi dilakukan satu hari sebelum vaksinasi, satu minggu, dua minggu, dan tiga minggu setelah vaksinasi melalui vena brachialis. Pengambilan darah dengan menggunakan *venoject* dan ditampung pada tabung steril tanpa antikoagulan. Serum dipisahkan dari bekuan darah, ditempatkan dalam tabung steril selanjutnya dihangatkan pada temperature  $56^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit dalam penangas air kemudian disimpan pada temperatur  $-20^{\circ}\text{C}$  sampai digunakan.

### Tolok Ukur

Variabel yang diamati adalah titer antibodi terhadap ND dari ayam yang tidak divaksinasi. Antibodi tersebut ditentukan dengan uji hambatan hemaglutinasi (*hemagglutination inhibition/HI*) dengan teknik mikrotiter prosedur beta menggunakan antigen ND 4 HA unit sesuai dengan prosedur baku (OIE, 2012). Data titer antibodi terhadap ND pada setiap individu dalam satu kelompok dirata-ratakan secara geometrik (*geometric mean titre/GMT*).

### Analisis Data

Data yang diperoleh ditransformasi dengan transformasi akar  $X+1$  dan

dianalisis dengan sidik ragam (analisis varian) terhadap titer antibodi pada masing-masing perlakuan (T0, T1, T2) pada minggu ke-0, ke-1, ke-2 dan ke-3. Apabila terdapat perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan (Steel dan Torrie, 1984).

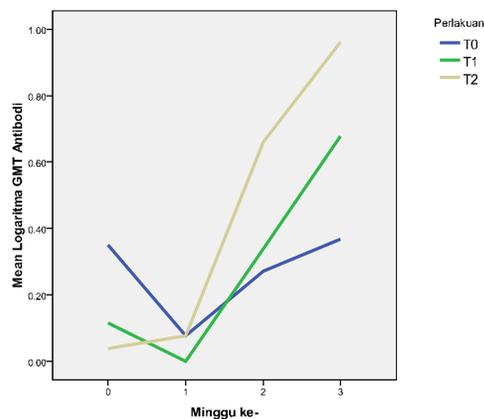
### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis titer antibodi ND pada ayam yang tidak divaksin namun dipelihara bersama dengan ayam divaksin sesuai dengan kelompok perlakuan (T0, T1 dan T2) selama 3 minggu dimuat pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel 1. Rerata titer antibody ayam yang tidak divaksinasi dan dipelihara bersama ayam yang divaksinasi 0%, 50% dan 75%

Minggu ke-	Perlakuan	Mean GMT Antibodi	Mean GMT Antibodi (transformasi Akar X+1)	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
0	T0	0.3511 a	1.156	1.085	1.226
	T1	0.1156 a	1.051	.981	1.121
	T2	0.0389 a	1.018	.948	1.088
1	T0	0.0778 a	1.036	.966	1.106
	T1	0.0000 a	1.000	.930	1.070
	T2	0.0767 a	1.033	.963	1.103
2	T0	0.2722 a	1.119	1.049	1.189
	T1	0.3400 ab	1.147	1.077	1.217
	T2	0.6611 b	1.282	1.212	1.352
3	T0	0.3689 a	1.165	1.095	1.235
	T1	0.6789 ab	1.290	1.220	1.360
	T2	0.9611 b	1.396	1.326	1.466

Keterangan: Nilai dengan huruf yang sama ke arah kolom pada minggu ke-0, ke-1, ke-2 dan ke-3 menunjukkan tidak berbeda nyata ( $P>0,05$ ), sebaliknya nilai dengan huruf yang berbeda menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $P<0,05$ ).



Gambar 1. Grafik perbedaan titer antibodi GMT antara T0, T1 dan T2 pada minggu ke-0, ke-1, ke-2 dan ke-3 perlakuan.

Vaksin ND La Sota yang digunakan pada penelitian ini digolongkan sebagai vaksin aktif yang mengandung virus lentogenik. Virus vaksin tersebut dapat diekresikan oleh ayam yang divaksin bersama udara pernafasan dan feses, selanjutnya virus vaksin tersebut secara alami menyebar pada kelompok ayam disekitarnya dan menimbulkan kekebalan yang cukup baik. Salah satu sifat vaksin aktif adalah mampu bereplikasi di dalam tubuh unggas yang divaksin serta dapat dikeluarkan melalui tinja dan sekreta lainnya. Daya sebar vaksin ini merupakan kelemahan dari vaksin aktif dengan virus yang dilemahkan (atenuasi) karena dapat kembali menjadi ganas (Miller *et al*, 2009a). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa vaksin La Sota disebarkan pada kelompok ayam yang kontak dengan ayam yang divaksin. Hal tersebut dapat dilihat dari peningkatan titer antibodi terhadap ND pada ayam yang kontak. Pada burung merpati (*Columba livia*), virus vaksin ND aktif dapat diekresikan melalui tinja mulai 5 sampai 25 hari pasca vaksinasi (Carrasco *et al*, 2008). Menurut Partadiredja dan Soejoeno (1988) serokonversi pada ayam yang divaksin secara intramuscular sudah dapat diketahui sejak satu minggu setelah vaksinasi. Hasil penelitian ini menunjukkan serokonversi pada ayam yang tidak divaksin tampak pada dua minggu setelah kontak dengan ayam yang divaksin.

Adanya antibodi terhadap virus ND pada ayam yang tidak divaksin menunjukkan bahwa ayam tersebut pernah terinfeksi virus ND. Infeksi virus ND berasal dari virus vaksin yang bereplikasi pada ayam yang divaksin dan kemudian menyebar pada ayam yang tidak divaksin. Munculnya antibodi sebagai indikator infeksi virus ND telah dilaporkan oleh beberapa peneliti. Wambura (2010) melaporkan bahwa adanya infeksi virus ND pada berbagai burung liar dengan mengukur titer antibodi, hasilnya adalah titer antibodi HI terhadap virus ND terdeteksi pada 10 sampai 75% sampel yang diperiksa. Pada penelitian ini serokonversi mulai terjadi pada minggu ke-2 pasca vaksinasi dan meningkat pada minggu ke-3 pasca vaksinasi ND. Dengan demikian tampak bahwa antibodi akibat virus vaksin yang disebarkan oleh ayam yang divaksin memerlukan waktu yang lebih lama untuk dapat dideteksi pada ayam yang kontak.

Hasil ini sesuai dengan pendapat Li *et al* (2009) bahwa serokonversi terjadi pada ayam yang tidak divaksin namun dipelihara bersama ayam yang telah divaksin secara aerosol. Menurut Spalatin *et al* (1986) bahwa serokonversi pada ayam yang kontak mulai terlihat dua minggu setelah vaksinasi Penyebabnya adalah diperlukan waktu yang lebih lama sebelum respon imun dapat dideteksi pada ayam yang kontak. Virus vaksin perlu waktu untuk bereplikasi di dalam tubuh ayam yang divaksin sebelum diekresikan dan akhirnya memperbanyak diri pada ayam yang kontak sebelum merangsang pembentukan antibodi.

Titer antibodi pada ayam yang kontak dipengaruhi oleh persentase ayam yang divaksin pada kelompok bersangkutan. Kelompok ayam yang divaksin 75% memiliki titer antibodi yang nyata lebih tinggi dibandingkan dengan ayam kontak dari kelompok yang divaksin 50% saja. Perbedaan nyata tersebut terjadi pada minggu ke-2 dan ke-3, sedangkan titer antibodi pada kedua perlakuan ini pada minggu pertama setelah vaksinasi belum menunjukkan perbedaan yang nyata.

Salah satu faktor yang mempengaruhi titer antibodi yang

terbentuk adalah dosis antigen atau kandungan virus yang secara langsung merangsang system kekebalan tubuh unggas (Kapczynski *et al*, 2006). Dengan demikian prosentase ayam yang divaksin akan mempengaruhi titer antibodi yang terbentuk akibat penyebaran virus vaksin pada ayam yang kontak. Semakin tinggi prosentase ayam yang divaksin pada suatu kelompok maka semakin besar peluang dan titer virus yang disebarkan pada ayam yang kontak.

Analisis hasil penelitian menunjukkan bahwa pada minggu ke-0 dan ke-1 hasilnya tidak berbeda nyata ( $P>0,05$ ) antar perlakuan. Pada minggu ke-2 dan ke-3 titer antibodi HI terhadap ND pada perlakuan T0 dengan T2 ada perbedaan yang nyata ( $P<0,05$ ), sedangkan T1 dengan T2 dan T1 dengan T0 tidak berbeda nyata ( $P>0,05$ ). Titer antibodi tersebut makin tinggi sejalan dengan waktu pengamatan. Hal ini sejalan dengan bertambahnya waktu maka semakin banyak ayam yang tidak divaksin kontak dengan virus vaksin. Titer antibodi tertinggi dalam penelitian ini adalah 40 HI unit sedangkan sebagian besar titer antibodi yang dideteksi antara 10 sampai 20 HI unit (data tidak ditunjukkan). Allan *et al*. (1978) menyebutkan bahwa titer antibodi terendah yang masih protektif adalah 30 HI unit. Ayam yang kontak dengan kelompok ayam yang divaksin pada penelitian ini sebagian besar memiliki titer antibodi yang tidak protektif.

Kontak antigen ND secara langsung pada saluran pernafasan akan merangsang kekebalan lokal pada area tersebut (Kapczynski *et al*, 2006). Antibodi lokal ini berperan penting dalam mencegah terjadinya infeksi, namun seberapa besar peranan antibodi lokal dalam mencegah infeksi ND perlu diteliti lebih lanjut. Oleh karena itu perlindungan kekebalan yang dihasilkan oleh penyebaran virus vaksin ND lentogenik juga perlu dikaji lebih mendalam karena berpotensi untuk dikembangkan dalam upaya meningkatkan efisiensi dan efektifitas program vaksinasi ND pada peternakan unggas bersekala besar.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Titer antibodi terhadap ND pada ayam yang tidak divaksin dalam satu kelompok dipengaruhi oleh prosentase ayam yang divaksin dan titer antibodi (HI unit) terhadap ND mulai teramati pada minggu ke-2 dan ke-3 setelah vaksinasi. Kelompok ayam yang divaksin 75% mempunyai titer antibodi yang nyata lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok ayam yang divaksin 50% dan kontrol ( $P<0,05$ ). Titer antibodi kelompok ayam yang divaksin 50% berbeda tidak nyata dibandingkan dengan kelompok kontrol ( $P>0,05$ ). Pada minggu ke-3, kelompok ayam yang divaksin 75% mempunyai titer antibodi yang nyata lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok ayam yang divaksin 50% ( $P<0,05$ ). Titer antibodi kelompok ayam yang mendapat prosentase vaksinasi lebih rendah tersebut juga nyata lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol ( $P<0,05$ ).

### Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang daya sebar vaksin ND aktif lentogenik (La Sota) baik di laboratorium maupun di lapangan sebelum dapat diterapkan dalam upaya meningkatkan efisiensi dan efektifitas program vaksinasi ND yang bersekala besar.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adi, A.A.A., Astawa, M., N.M., Putra, K.S.A., Hayashi dan Matsumoto, Y. 2010. Isolation and characterization of a pathogenic Newcastle disease virus from a natural case in Indonesia. *J. Vet. Med. Sci.*, 72 (3):313–319.
- Adward T, Lukesova D. 2008. Evaluation of thermostable vaccine against Newcastle disease in village chicken use in tropics and subtropics. *Agricultura Tropica et Subtropica* 41 (2): 74-79.

- Allan WH, Lancaster, JE dan Toth B. 1978. Newcastle disease vaccine: Their production and use. FAO Animal Prod. And Health Series 10, FAO, Roma.
- Aldous EW, Alexander DJ. 2001. Detection and differentiation of Newcastle disease virus (avian paramyxovirus type1). *Avian Pathol.*, 30: 117–128.
- Alexander DJ. 2001. Newcastle Disease. The Gordon Memorial Lecture. *Br. Poult. Sci.* 42, 5–22.
- Ausvetplan. 2010. Disease Strategy. Newscastle Disease. Version 3.2. Australian Veterinary Emergency Plan.
- Carrasco AOT, Seki MC, Raso TF, Paulillo AC, Pinto AA. 2008. Experimental infection of Newcastle disease virus in pigeons (*Columba livia*): Humoral antibody response, contact transmission and viral genome shedding. *Veterinary Microbiology* 129: 89–96.
- FAO (2002). Laboratory Manual for the Small-Scale Production and Testing of I-2 Newcastle Disease Vaccine RAP publication (2002/22); ISBN 974-7946-26-2.
- Kapczynski DR, Wise MG, King DJ. 2006. Susceptibility and protection of Naïve and vaccinated racing pigeon (*Culomba livia*) against exotic Newcastle disease virus from the California 2002-2003 outbreak. *Av. Disease* 50: 336-341.
- Kencana dan Kardena 2011. Gross pathological observation of acute Newcastle Disease in domestic chicken. Disampaikan pada Seminar Internasional Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia (PERMI) dan International Union of Microbiological Societies (IUMS) di Denpasar, 22-24 Juni 2011.
- Kencana GAY, Kardena IM, Mahardika IGNK. 2012. Peneguhan diagnosis Penyakit Newcastle lapang pada ayam buras di Bali menggunakan teknik RT-PCR. *Jurnal Kedokteran Hewan* 6 (1): 28-31.
- Li X, Chai T, Wang Z, Song C, Cao H, Liu J, Zhang X, Wang W, Yao M, Miao Z. 2009. Occurrence and transmission of Newcastle disease virus aerosol originating from infected chickens under experimental conditions. *Vet. Microbiol.* 136(34): 226-232.
- Miller PJ, Estevez C, Suarez DL, King DJ. 2009a. comparison of viral shedding using inactivated and live Newcastle disease vaccines formulated with wild-type and recombinant viruses. *Avian Dis.* 53, 39-49.
- OIE. Terrestrial Manual. 2012. Chapter 2.3.14. Newcastle Disease. Pp. 1-19.
- Orsi MA, doretto Jr L, Reischak D, da Silva LHA, Spiki FR, Buzinaro MG, Arns CW. 2009. Newcastle Disease virus vaccine strains: Immunogenicity is not influenced by ICPI. *Brazilian Journal of Poultry Science* 11 (2): 129-133.
- Partadiredja M, dan Soejoeno RD. 1988. Perbandingan daya guna tiga cara aplikasi vaksin Newcastle disease. *Hemerazoa* 73: 19-24.
- Ruenphet S, Jahangir A, Shoham D, Takehara K. 2012. Sitation of serum antibodies against Newcastle disease virus in slaughter-age ostriches after vaccination campaign in Japan. *J.Vet. Med. Sci.* 74 (4): 477-460.

- Santhia K, 2003. Strategi diagnosa dan penanggulangan Newcastle Disease, disampaikan pada Seminar Regional Perunggasan, 6 Oktober 2003, Universitas Udayana, Denpasar.
- Spalatin J, Turner AJ, dan Benson RP. 1976. Observations on transibility of lentogenik strains of Newcastle disease virus: Significance of variables. *Avian Diseases* 26: 361- 368.
- Steel RGD dan Torrie JH. 1984. Principles and Procedures of Statistics. A Biometrical Approach. Int. Student ed. 4th Print. Mc Graw Hill Int. Book Co. Singapore.
- Wambura PN. 2010. Detection of antibody to Newcastle disease virus in semidomesticated free-range birds (*Numida meleagris* and *Columba livia domestica*) and the risk of transmission of Newcastle disease to village chickens-short communication. *Veterinaski Arhiv* 80 (1): 129-134.
- Zainudin D, dan Wibawan IWT. 2009. Biosekuriti dan manajemen penyakit ayam lokal. Available at <http://www.scribd.com/doc/16985320/biosekuriti-ayam-lokal> Accessed 20 Sep 2011.