

Histopatologi Limpa Ayam Petelur Pascavaksinasi *Avian Influenza* H5N1 Isolat dari Bali

*(HISTOPATHOLOGY OF THE SPLEEN OF LAYING HENS POST-VACCINATION AVIAN
INFLUENZA H5N1 ISOLATE FROM BALI)*

**Putu Intan Kusuma Wardani¹, Gusti Ayu Yuniati Kencana^{2*},
Ida Bagus Oka Winaya³, I Ketut Eli Supartika⁴**

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

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

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

⁴Laboratorium Patologi Balai Besar Veteriner Denpasar, Jl. Raya Sesetan No.266 Denpasar,
Bali,

*Email: yuniati_kencana@unud.ac.id

Abstrak

Avian Influenza H5N1 termasuk ke dalam kelompok penyakit menular strategis dan bersifat zoonosis mematikan baik pada hewan maupun manusia yang terinfeksi. Salah satu strategi utama dalam pencegahan AI di Indonesia yaitu dengan vaksinasi. Efektivitas vaksin AI akan lebih baik apabila strain virus dalam vaksin yang digunakan homolog dengan strain virus yang ada di lapangan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui histopatologi limpa ayam petelur pascavaksinasi AI-H5N1 isolat dari Bali dengan parameter diameter folikel limfoid pulpa putih limpa. Sebanyak 36 ekor ayam petelur *strain Novogen Brown* digunakan untuk sampel penelitian. Sampel dibagi menjadi 2 kelompok yaitu P0/kelompok kontrol tanpa perlakuan dan P1 kelompok dengan perlakuan vaksinasi AI-H5N1 isolat dari Bali. Masing-masing kelompok terdiri dari 18 ekor ayam petelur. Ayam dipelihara sejak berusia 1 hari. Vaksinasi dilakukan setelah ayam berumur 5 minggu dan di *booster* pada umur 10 minggu dengan dosis vaksin 0,5 ml/ekor. Pengambilan sampel organ limpa dilakukan tiga minggu pascavaksinasi *booster* untuk pembuatan preparat histopatologi. Data hasil pemeriksaan preparat histopatologi limpa ayam petelur dianalisis dengan uji-t. Hasil penelitian pengukuran pada organ limpa, menunjukkan rerata diameter folikel limfoid pulpa putih limpa ayam petelur dengan perlakuan vaksinasi AI-H5N1 isolat dari Bali memiliki diameter lebih besar dibandingkan dengan kelompok ayam yang tidak divaksinasi. Simpulan dari penelitian ini adalah vaksinasi AI-H5N1 isolat Bali berpengaruh nyata terhadap penambahan diameter folikel limfoid pulpa putih limpa ayam petelur pascavaksinasi.

Kata kunci: *Avian Influenza*; vaksinasi; limpa; folikel limfoid

Abstract

Avian Influenza H5N1 belongs to a group of strategic infectious diseases and is a deadly zoonosis in both infected animals and humans. One of the main strategies for preventing AI in Indonesia is vaccination. The effectiveness of the AI vaccine will be better if the virus strain in the vaccine used is homologous to the viral strain in the field. This study aimed to determine the histopathology of the spleen of laying hens after AI-H5N1 vaccination isolates from Bali with the parameters of the diameter of the lymphoid follicles of the white pulp of the spleen. A total of 36 laying hens of the *Novogen Brown strain* were used for the research sample. The sample was divided into 2 groups, namely P0/control group without treatment and P1 group with AI-H5N1 vaccination treatment, isolate from Bali. Each group consisted of 18 laying hens. Chickens are reared since the age of 1 day.

Vaccination was carried out after the chickens were 5 weeks old and *boosted* at 10 weeks with a vaccine dose of 0.5 ml/bird. Sampling of the spleen was carried out three weeks after *booster* for histopathological preparations. Data from the histopathological examination of laying hens spleen were analyzed by t-test. The results of the measurement of the spleen organ showed that the average diameter of the spleen white pulp lymphoid follicles of laying hens treated with AI-H5N1 vaccination isolates from Bali had a larger diameter than the unvaccinated group of chickens. The conclusion from this study was that AI-H5N1 vaccination from Bali isolates had a significant effect on increasing the diameter of the white pulp lymphoid follicles of the spleen of laying hens after vaccination.

Keywords: *Avian Influenza*; vaccination; spleen; lymphoid follicle

PENDAHULUAN

Perkembangan ayam ras petelur di Indonesia sangat pesat. Banyak peternakan rakyat ataupun peternakan modern yang menjadikan ayam petelur sebagai komoditas yang menjanjikan dalam usaha peternakan (Purwaningsih, 2014). Ayam petelur berperan penting dalam menyediakan kebutuhan telur sebagai kebutuhan protein hewani masyarakat. Sejalan dengan peningkatan jumlah penduduk, permintaan terhadap telur juga meningkat (Sulaiman *et al.*, 2019). Peningkatan populasi ayam petelur belum diikuti dengan peningkatan produktivitasnya (Setiawati *et al.*, 2016). Faktor penyakit merupakan salah satu penyebab utama terjadinya penurunan produksi telur (Kencana *et al.*, 2018).

Penyakit *Avian Influenza* (AI) merupakan salah satu penyakit infeksius yang rentan menyerang ayam petelur (Bhakty *et al.*, 2018). Berdasarkan patogenitasnya virus *Avian Influenza* (AI) dapat dibedakan menjadi dua, yaitu *low pathogenic avian influenza* (LPAI) yang menyebabkan penyakit ringan dan *highly pathogenic avian influenza* (HPAI) yang menyebabkan penyakit ganas contohnya subtipe H5N1 (Kencana, 2017; Swayne and Swarez, 2000). Penyakit AI merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh virus genus influenza tipe A, subtipe H5N1. Virus AI merupakan famili dari *Orthomyxoviridae* yang terbagi menjadi tiga tipe yaitu tipe A, B dan C. Virus AI termasuk dalam kelompok virus RNA, memiliki kemampuan bermutasi dengan cepat (de Jong dan Hien, 2006;

Janovie *et al.*, 2014). Berdasarkan Surat Keputusan Menteri Pertanian Nomor 4026/Kpts/OT.140/2013, AI termasuk ke dalam kelompok penyakit menular strategis dan bersifat zoonosis mematikan baik pada hewan maupun manusia yang terinfeksi (Ditjenpkh, 2019; Kusumastuti *et al.*, 2015).

Kasus AI di Indonesia pertama kali dilaporkan terjadi pada beberapa peternakan ayam ras komersial di Jawa Barat dan Jawa Tengah, kemudian secara cepat menyebar ke berbagai daerah di Jawa, Lampung, Sumatra dan Kalimantan (Kandun *et al.*, 2006). Penyebaran wabah ini berlangsung sangat cepat. Menurut Pratiwi *et al.* (2020) virus AI masih endemis di Bali, dan bersirkulasi di pasar unggas. Pasar unggas merupakan salah satu tempat yang berperan penting dalam pelestarian, perbanyakan, dan penyebaran virus AI dari unggas ke unggas lain serta dari unggas ke manusia (Leung *et al.*, 2007; Dinh *et al.*, 2007).

Penularan penyakit AI dapat terjadi melalui kontak langsung dari unggas terinfeksi dan unggas peka melalui saluran pernapasan, konjungtiva, lendir dan feses; atau secara tidak langsung melalui debu, pakan, air minum, petugas, peralatan kandang, sepatu, baju dan kendaraan yang tercemar virus AI serta ayam hidup yang terinfeksi (Pudjiatmoko *et al.*, 2014). Gejala klinis yang muncul pada unggas beragam, dari kematian mendadak tanpa gejala klinis yang jelas, hingga presentasi klinis yang bervariasi termasuk tanda-tanda gangguan pernafasan, keluarnya cairan pada mata dan hidung, batuk, *snicking*, sesak nafas, pembengkakan sinus

dan/atau kepala, lesu, penurunan suara, asupan pakan dan air yang berkurang, sianosis pada kulit yang tidak berbulu, pial dan jengger, inkoordinasi dan tanda-tanda gugup dan diare (Swayne *et al.*, 2020). Pada unggas petelur, gejala klinis tambahan termasuk penurunan produksi telur yang signifikan, disertai dengan peningkatan jumlah telur berkualitas buruk (OIE, 2021).

Salah satu strategi pencegahan, pengendalian, dan pemberantasan AI yang tertuang dalam Kepdirjennak No: 17/Kpts/PD.640/F/02.04 tanggal 4 Februari 2004 yaitu dengan vaksinasi (Ditjennak, 2005). Vaksinasi dilakukan dengan tujuan untuk memproteksi unggas dari infeksi virus, mencegah, dan menekan kematian, serta menekan pengeluaran virus (*shedding* virus) ke lingkungan (Indriani *et al.*, 2011). Virus AI-H5N1 memiliki sifat mudah bermutasi dan cenderung dapat menimbulkan penyakit yang terbatas pada suatu kawasan. Sifat virus AI tersebut menyebabkan vaksinasi terhadap AI yang diberikan pada ayam tidak selalu dapat melindungi ayam dari serangan virus AI. Vaksin AI-H5N1 isolat dari Bali (A/Chicken/Bali9C/GAY/2019) merupakan isolat virus AI subtipe H5N1 lapangan asal Bali yang telah berhasil diisolasi dari ayam sakit dari Kabupaten Tabanan, Bali (Kencana *et al.*, 2020). Kencana *et al.* (2021^a) dan Kencana *et al.* (2021^b) menyatakan bahwa vaksin AI-H5N1 isolat dari Bali telah terbukti mampu merangsang respon imun protektif dan bersifat aman untuk vaksinasi ayam petelur karena tidak ditemukan adanya *shedding* virus pada swab kloaka ayam pascavaksinasi.

Keberhasilan vaksinasi AI dapat dipengaruhi oleh tingkat kecocokan antara strain virus AI lapangan dan vaksin yang digunakan, kualitas vaksin, program vaksinasi dan aplikasinya (Kencana *et al.*, 2014). Idealnya, vaksin yang efektif memiliki homologi genetik dan antigenik yang mendekati sempurna dengan virus yang beredar di wilayah yang

bersangkutan (Hewajuli dan Dharmayanti, 2012). Pemberian vaksin dapat menstimulasi sistem imun tubuh ayam, khususnya vaksinasi AI yang diharapkan mampu memberikan proteksi terhadap virus *Avian Influenza* (Yuniwati, 2015).

Limpa merupakan salah satu organ limfoid sekunder pada unggas (Liman dan Bayram, 2011). Peranan limpa dalam sistem pertahanan berkaitan dengan respon imun terhadap antigen yang berhasil mencapai sirkulasi darah guna menahan invasi organisme atau toksin sebelum menyebar luas di dalam tubuh. Selain itu, limpa juga berperan sebagai tempat pematangan sel penghasil antibodi (Hafizsha, 2016). Limpa melakukan pembentukan sel limfosit untuk membentuk antibodi apabila zat makanan mengandung toksik, zat antinutrisi maupun antigen. Adanya paparan antigen vaksin dapat menginduksi terjadinya proliferasi sel limfosit (Ulupi dan Ihwantoro, 2014). Peningkatan aktivitas sel imun tersebut pada limpa dapat diketahui dari ukuran pulpa putihnya. Penambahan ukuran diameter ini menunjukkan peningkatan aktivitas imun pada limpa (Makiyah *et al.*, 2014). Penelitian ini dilakukan untuk melihat potensi vaksin dengan parameter yang diamati yaitu ukuran diameter folikel limfoid pulpa putih limpa ayam petelur pascavaksinasi AI-H5N1 isolat dari Bali.

METODE PENELITIAN

Kelayakan Etik Hewan Coba

Semua prosedur pemakaian hewan coba telah mendapatkan persetujuan etik dari Komite Etik Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana dengan Sertifikat Persetujuan Etik Hewan Nomor: B/ 125 / UN 14.2.9/PT.01.04/2021.

Objek Penelitian

Penelitian ini digunakan sampel sebanyak 36 ekor ayam petelur *strain Novogen Brown* berumur 13 minggu. Ayam dipelihara sejak usia 1 hari di Peternakan Ayam komersial, Desa Perean, Kecamatan Baturiti, Kabupaten Tabanan.

Sampel dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok kontrol/tanpa perlakuan (P0) dan kelompok perlakuan dengan vaksinasi AI-H5N1 isolat dari Bali (P1).

Vaksinasi

Ayam petelur divaksinasi dengan vaksin inaktif AI-H5N1 isolat dari Bali pada umur 5 minggu dan diulang pada umur 10 minggu. Vaksinasi dilakukan dengan aplikasikan secara intramuskuler satu dosis vaksin AI-H5N1 isolat dari Bali (0,5ml/ekor dengan kandungan virus $10^{6,9}$ EID₅₀/ml).

Pengambilan Sampel Penelitian

Sampel organ limpa diambil ketika ayam berumur 13 minggu (minggu ketiga pascavaksinasi). Ayam petelur dieuthanasia dengan teknik emboli jantung, kemudian dinekropsi untuk mengambil organ limpa sebagai sampel organ untuk preparat histologi.

Pembuatan Preparat Histologi

Organ limpa setelah dinekropsi direndam dalam larutan *Neutral Buffer Formalin* (NBF) 10%. Sampel organ tersebut dibuat irisan tipis untuk disimpan dalam *tissue cassette* dan difiksasi dalam larutan NBF 10% selama 24 jam. Setelah sampel organ difiksasi, proses selanjutnya yaitu dehidrasi ke dalam alkohol 70%, 80%, 90%, 96%, dan alkohol absolut (100%) selama beberapa jam. Kemudian dilakukan *clearing* atau penjernihan dengan merendam potongan organ limpa dalam xylol, dan selanjutnya dilakukan impregnasi dengan paraffin cair. Sampel organ kemudian dilakukan *blocking* yaitu mencetak sampel di dalam paraffin cair agar mempermudah dalam pemotongan jaringan. Blok preparat kemudian dipotong dengan alat mikrotome dengan ketebalan 3,5 mikron. Terakhir, lakukan pewarnaan dengan pewarna *Hematoksilin Eosin* (HE) dan dilakukan *mounting*.

Pemeriksaan Preparat Histologi Limpa

Pemeriksaan preparat dilakukan dengan mengukur diameter folikel limfoid pulpa putih pada lima lapang pandang

mikroskopis menggunakan mikroskop *Olympus DP74*, dengan *software Olympus CellSens 1.17 Standard*, pada pembesaran 400x. Diameter folikel limfoid diukur sebagai salah satu indikator adanya peningkatan aktivitas sel pada limpa sesuai prosedur yang diacu dari teknik Voloshin *et al.* (2014).

Analisis Data

Data hasil pemeriksaan diameter folikel limfoid pulpa putih limpa dianalisis dengan uji-t untuk melihat perbandingan rata-rata diameter folikel limfoid pulpa putih limpa dari dua kelompok perlakuan yaitu kelompok P0 dan P1 dengan menggunakan *Statistical Product and Service Solution* (SPSS).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Hasil penelitian histopatologi limpa ayam petelur pascavaksinasi *Avian Influenza* H5N1 isolat dari Bali berdasarkan diameter folikel limfoid pulpa putih limpa ayam petelur menunjukkan adanya hiperplasia folikel limfoid yang menyebabkan terjadinya penambahan ukuran diameter folikel limfoid pulpa putih limpa pada kelompok P1 (perlakuan vaksinasi AI-H5N1 isolat dari Bali) dibandingkan dengan kelompok P0 (kontrol/tanpa perlakuan) (Gambar 1).

Berdasarkan hasil pengukuran rata-rata diameter folikel limfoid pulpa putih limpa ayam petelur didapatkan hasil yaitu P0 ($68,39 \pm 7,79$) dan P1 ($133,72 \pm 10,16$). Hasil uji *Independent T-test* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) pengaruh vaksinasi AI-H5N1 isolat dari Bali terhadap diameter folikel limfoid pulpa putih limpa ayam petelur. Hasil penelitian rata-rata pengaruh vaksinasi AI-H5N1 isolat dari Bali terhadap diameter folikel limfoid pulpa putih limpa disajikan pada Tabel 1.

Berdasarkan Tabel 2, nilai Sig. (2-tailed) atau *p-value* adalah 0,000 dapat disimpulkan bahwa ukuran diameter folikel limfoid pulpa putih limpa ayam

petelur kelompok P1 dengan perlakuan vaksinasi AI-H5N1 isolat dari Bali dibandingkan dengan kelompok P0/kontrol berbeda nyata ($p < 0,05$).

Pembahasan

Penyakit *Avian Influenza* merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh virus genus influenza tipe A, subtipe H5N1 (de Jong dan Hien, 2006). Sebagai salah satu strategi utama pencegahan AI di Indonesia maka dilakukan program vaksinasi (WHO, 2005). Vaksinasi merupakan proses pemberian antigen non virulen kepada individu dengan tujuan untuk meningkatkan derajat imunitas terhadap agen penyakit tertentu (Amer *et al.*, 2013).

Vaksinasi AI-H5N1 isolat dari Bali memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap ukuran diameter folikel limfoid pulpa putih limpa ayam petelur. Ayam petelur yang diberi perlakuan dengan vaksinasi AI-H5N1 memiliki rata-rata diameter folikel limfoid pulpa putih limpa yang lebih besar dibandingkan dengan kontrol. Hasil rata-rata diameter folikel limfoid tersebut menunjukkan adanya hiperplasia folikel limfoid pada ayam petelur yang diberikan vaksinasi AI-H5N1 isolat dari Bali. Hal ini menunjukkan bahwa vaksin inaktif AI-H5N1 isolat dari Bali memberikan respon terhadap folikel limfoid pulpa putih limpa.

Hasil rata-rata diameter folikel limfoid yang lebih besar pada kelompok perlakuan menunjukkan imunitas yang lebih baik. Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan diameter yang lebih besar akan membantu dalam menghasilkan sel B lebih maksimal sehingga imunitas mencapai optimal. Bertambahnya ukuran diameter folikel limfoid menandakan bahwa limpa semakin aktif dalam memproduksi sistem tanggap kebal, dalam hal ini yang paling dominan adalah limfosit B. Ukuran folikel limfoid dapat membesar disebabkan terjadi proliferasi sel B yang meningkat dalam folikel tersebut sebagai indikasi adanya respon imun humoral ayam terhadap vaksinasi

(Aristawati *et al.*, 2020). Proliferasi limfosit merupakan penanda adanya fase aktivasi dari respon imun tubuh (Ganong, 2003).

Sebagai organ limfoid, limpa akan memunculkan respon imun yang dipicu oleh masuknya antigen (termasuk antigen vaksin) ke dalam tubuh. Antigen akan dihadapi oleh sel makrofag yang selanjutnya akan berperan sebagai *antigen presenting cell* (APC) (Munasir, 2001). Makrofag yang telah memfragmentasi antigen kemudian fragmen antigen tersebut dipresentasikan kepada sel limfosit Th melalui MHC II yang terletak di permukaan makrofag. Sel Th berinteraksi dengan APC melalui CD4+ dan T cell receptor (TCR), kemudian sel Th teraktivasi dan berproliferasi serta mengeluarkan sitokin (IL-1) merangsang proliferasi dan diferensiasi sel B (Hewajuli dan Dharmayanti, 2015; Wahdini dan Kurniawan, 2010). Sel B yang telah teraktivasi akan berdiferensiasi menjadi sel plasma dan sel B memori yang berperan pada respon imun spesifik sekunder. Sel plasma inilah yang menghasilkan antibodi spesifik (Lestari dan Raveinal, 2020). Peningkatan proliferasi sel B akan menyebabkan bertambah besarnya diameter folikel limfoid pulpa putih limpa (Hong *et al.*, 2014).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa vaksinasi AI-H5N1 isolat dari Bali menyebabkan hiperplasia folikel limfoid sehingga dapat meningkatkan ukuran diameter folikel limfoid pulpa putih limpa dibandingkan dengan tanpa vaksinasi.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai jumlah limfosit dan parameter-parameter lainnya yang berfungsi untuk melihat potensi vaksin *Avian Influenza* H5N1 isolat dari Bali pada ayam petelur.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari Hibah Grup Riset Udayana 2022, dengan Kontrak No: B/78.167/UN14.4.A/PT.01.03/2022, untuk itu penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Rektor dan Ketua LPPM Universitas Udayana atas dana penelitian PNPB, Peternakan ayam petelur "Tubagus Oky Farm", Balai Besar Veteriner Denpasar dan semua pihak yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Amer MM, Sherein SA, dan Abeer AAE. 2013. Evaluation of some avian influenza vaccines on commercial layer chicks. The International Scientific Conference of Pathology Department, Sheraton Dreamland Conference Center, Sheraton Dream Land, Egypt., Pp. 60–78.
- Aristawati IDAAI, Adi AAAM, Berata IK. Pengimbuhan asam format menurunkan jumlah dan diameter folikel limfoid limpa, dan memperkecil diameter folikel limfoid bursa fabricius. *Indon. Med.Vet.* 9(2): 228-238.
- Bhakty ZW, Kencana GAY, Suartha IN. 2018. Titer antibodi ayam petelur pascavaksinasi avian influenza pada peternakan komersial di Desa Denbantas, Kecamatan Tabanan. *Indon. Med.Vet.* 7(2): 123-131.
- de Jong MM, Hien TT. 2006. Avian influenza A (H5N1). *J. Clin. Virol.* 35(1): 2- 13.
- Dinh PN, Long HT, Tien NTK, Hien NT, Mai LTQ, Phong H, Tuan LV, Tan HV, Nguyen NB, Tu PV, Phuong NTM. 2007. risk factor for human infection with avian influenza A H5N1, Vietnam. *Emerg. Infect. Dis.* 13(9).
- Ditjennak. 2005. Pedoman pengendalian penyakit hewan menular, seri penyakit Avian Influenza (AI) direktorat kesehatan hewan, dirjen peternakan, departemen pertanian jakarta.
- Ditjenpkh. 2019. Keputusan menteri pertanian nomor 4026 tahun 2013 tentang penetapan jenis penyakit hewan menular strategis. <http://keswan.ditjenpkh.pertanian.go.id/?p=2425>
- Ganong WF. 2003. Buku ajar fisiologi kedokteran (20 ed.). Jakarta: EGC.
- Hafizsha NL, Budiman H, Hamny H, Masyitha D, Iskandar CD, Balqis U, Jalaluddin M. 2017. The histological structure of teal duck (anas javanicus) spleen at different age. *J. Med. Vet.* 11(2): 118-123.
- Hewajuli DA, Dharmayanti NLPI. 2012. Hubungan AI dan unggas air dalam menciptakan keragaman genetik serta peran unggas air sebagai reservoir pada penyebaran virus AI. *Wartazoa.* 22(1): 12-23.
- Hewajuli DA, Dharmayanti NLPI. 2015. Peran sistem kekebalan non-spesifik dan spesifik pada unggas terhadap newcastle disease. *Wartazoa.* 25(3): 135-146.
- Hong SH, Kim SR, Choi HS, Ku JM, Seo HS, Shin YC. 2014. Effect of hyeonggaeyeongyo-tang in ovalbumin-induced allergic rhinitis model. *Mediators Inflamm.* 1-9.
- Indriani R, Dharmayanti NLPI, Aadjid R. 2011. Tingkat proteksi beberapa vaksin avian influenza unggas terhadap infeksi virus isolat lapang A/ck/WJ/Smi-Part/2006 dan A/ck/WJ/Smi-Mae/2008. *JITV.* 16(2):158-166.
- Janovie A, Rusdi, Atin S. 2014. Uji efektivitas vaksin flu burung subtype H5N1 pada ayam kampung di Legok, Tangerang, Banten. *BIOMA.* 10(2): 35-40.
- Kandun IN, Wibisono H, Sedyaningsih ER, Yusharmen, Hadisoedarsuno W, Purba W, Santoso H, Septiawati C, Tresnaningsih E, Heriyanto B, Yuwono D, Harun S, Soeroso S, Giriputra S, Blair PJ, Jeremijenko A, Kosasih H, Putnam SD, Samaan G, Silitonga M, Chan KH, Poon LLM, Lim W, Klimov

- A, Lindstrom S, Guan Y, Donis R, Katz J, Cox N, Peiris M, Uyeki TM. 2006. Three Indonesian clusters of H5N1 virus infection in 2005. *N Engl. J. Med.* 355: 2186- 2194.
- Kencana GAY, Suartha IN, Nurhandayani A, Ramadhan M. 2014. Kepekaan telur spesifik patogen free dan clean egg terhadap virus flu burung. *J. Vet.* 15(1): 87-93.
- Kencana GAY. 2017. Penyakit virus unggas. Penerbit Udayana University Press. Cetakan pertama. ISBN 978-602-7776- 01-2.
- Kencana GAY, Suartha N, Kardena IM, Dewi GAMK, Nurhandayani A, Syamsidar, Agustina KK. 2018 Potential and safety tests of egg drop syndrome candidate vaccine from Medan isolate, Indonesia. *Vet. World.* 11(11): 1637-1640.
- Kencana GAY, Suartha IN, Kardena IM, Nurhandayani A. 2020. Karakterisasi virus avian influenza sub tipe H5N1 isolat lapang asal Bali untuk kandidat vaksin. *J. Vet.* 21(4): 530-538.
- Kencana GAY, Sari TK, Suartha IN, Ramanda IKTC, Kendran AAS. 2021^a. Respons imun seluler ayam petelur pascavaksinasi avian influenza sub tipe H5N1 isolat dari Bali. *J. Sain Vet.* 39(3): 277-288.
- Kencana GAY, Sari TK, Wijaya DAM, Suartha IN, Kendran AAS. 2021^b. Shedding virus vaksin flu burung sub tipe (H5N1) isolat dari Bali tidak ditemukan pascavaksinasi ayam petelur. *Indon. Med.Vet.* 10(6): 830-841.
- Kusumastuti A, Syamsidar PA, Nurhandayani A, Kencana GAY. 2015. Identifikasi secara serologi galur virus flu burung sub tipe H5N1 Clade 2.1. 3 dan Clade 2.3. 2 pada ayam petelur. *J. Vet.* 16(3): 371-382.
- Lestari LD, Raveinal R. 2020. Travel vaccine. *Human Care J.* 5(3): 661-670.
- Leung YC, Zhang LJ, Chow CK, Tsang CL, Ng CF, Wong CK, Peiris JM. 2007. Poultry drinking water used for avian influenza surveillance. *Emerg. Infect. Dis.* 13(9): 1380.
- Liman N, Bayram GK. 2011. Structure of the quail (*coturnix coturnix japonica*) spleen during pre and post-hatching periods. *Revue Med. Vet.* 162(1): 25-33.
- Makiyah SNN, Iszamriach R, Nofariyandi A. 2014. Paparan ultraviolet C meningkatkan diameter pulpa alba limpa dan indeks mitotik epidermis kulit mencit. *J. Ked. Brawijaya.* 28(1): 17-21.
- Munasir Z. 2001. respons imun terhadap infeksi bakteri. *Sari Pediatri.* 2(4): 193 – 197.
- OIE (Office International des Epizooties). 2021. Avian influenza (including infection with high pathogenicity avian influenza viruses). [Avian influenza \(oie.int\)](http://www.oie.int).
- Pratiwi BI, Kencana GAY, Suartha IN. 2020. Seroprevalensi penyakit avian influenza sub tipe H5N1 pada ayam buras di Pasar Beringkit dan Galiran, Bali seroprevalence of avian influenza H5N1 subtype of free range chicken in Beringkit and galiran markets, Bali. *J. Sain Vet.* 38(3): 280-288.
- Pudjiatmoko M, Syibli S, Nurtanto N, Lubis, Syafrison S, Yulianti D, Kartika CK, Yohana E, Setianingsih, Nurhidayah D, Efendi, Saudah E. 2014. Manual penyakit unggas. Jakarta: Subdit Pengamatan Penyakit Hewan Direktorat Kesehatan Hewan Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian.
- Purwaningsih DL. 2014. Peternakan ayam ras petelur di Kota Singkawang. *J. Online Mahasiswa Arsitektur Univ. Tanjungpura.* 2(2): 74-88.
- Setiasih NLE, Suwiti NK, Suastika P, Piraksa IW, Susari NNW. 2011. Studi histopatologi limpa sapi bali. *Bul.Vet. Udayana.* 3(1): 9-15.
- Setiawati T, Afnan R, Ulupi N. 2016. Performa produksi dan kualitas telur ayam petelur pada sistem litter dan cage dengan suhu kandang berbeda. *J.*

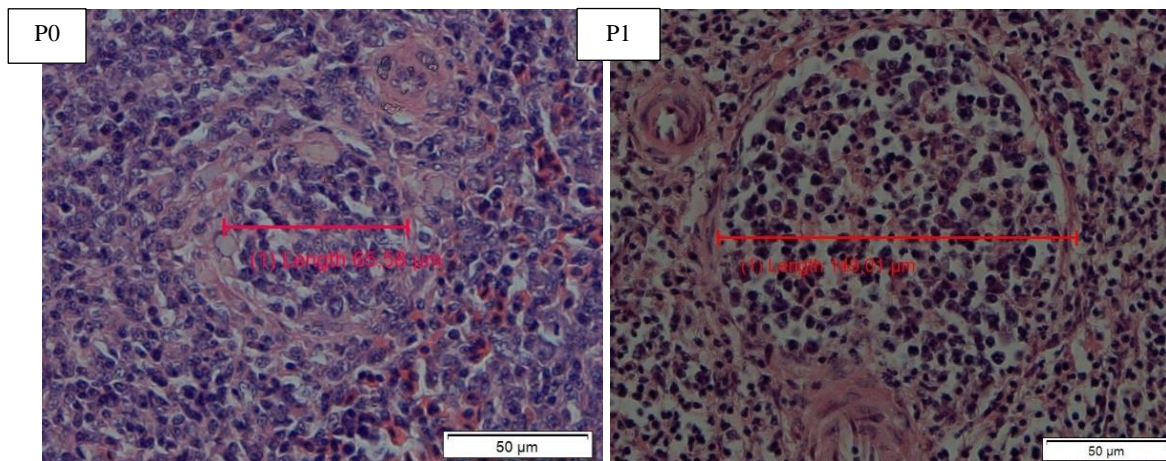
- Ilmu Produksi dan Teknol. Hasil Peternakan.* 4(1): 197-203.
- Sulaiman D, Irwani N, Maghfiroh K. 2019. Produktivitas ayam petelur strain isa brown pada umur 24-28 minggu. *PETERPAN J. Peternakan Terapan.* 1(2): 26-31.
- Swayne DE, Suarez DL. 2000. Highly pathogenic avian influenza. *Rev. Sci. Tech.* 19: 463-482.
- Swayne DE, Suarez DL, Sims LD. 2020. Influenza. In: *Diseases of Poultry, Fourteenth Edition.* Swayne D.E., Boulianne, M., Logue, C., McDougald L.R., Nair, V., & Suarez D.L., eds. Wiley Publishing, Ames, Iowa, USA, 210– 256.
- Ulupi N, Ihwantoro TT. 2014. Gambaran darah ayam kampung dan ayam petelur komersial pada kandang terbuka di daerah tropis. *J. Ilmu Produksi dan Teknol. Hasil Peternakan.* 2(1): 219-223.
- Wahdini S, Kurniawan A. 2010. Respons imun pada infeksi cryptosporidium. *Maj. Ked. UKI.* 27(3): 130-137.
- WHO (World Health Organization). 2012. Cumulative number of confirmed human cases for Avian influenza A (H5N1) reported to WHO 2012.
- Yuniwati EYW. 2015. Profil darah ayam broiler setelah vaksinasi AI dan pemberian berbagai kadar VCO. *Bul. Anatomi Fisiol.* 23(1): 38-46.

Tabel 1. Rataan diameter folikel limfoid pulpa putih limpa ayam petelur kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan pemberian vaksinasi AI-H5N1 isolat dari Bali

Perlakuan	Diameter Folikel Limfoid (μm) \pm SD
P0	68,39 \pm 7,79
P1	133,72 \pm 10,16

Tabel 2. Hasil *independent-Sample T Test* diameter folikel limfoid kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan pemberian vaksinasi AI-H5N1 isolat dari Bali

Independent Samples Test						
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
Diameter Folikel Limfoid (μm)	Equal variances assumed	2,901	0,098	-21,637	34	0,000
	Equal variances not assumed			-21,637	31,871	0,000



Gambar 1. Gambaran histopatologi diameter folikel limfoid limpa kelompok kontrol (P0) dan kelompok perlakuan dengan pemberian vaksinasi AI-H5N1 isolat dari Bali (P1). Pewarnaan HE pembesaran 400x.