

Hubungan yang Kuat antara Uji Hambatan Hemaglutinasi dengan Netralisasi untuk Melacak Titer Antibodi Penyakit Tetelo pada Ayam Petelur

(*STRONG CORRELATION BETWEEN HEMAGGLUTINATION INHIBITION AND
NEUTRALIZATION TESTS FOR TRACKING TETELO DISEASE ANTIBODY TITER
IN LAYING HENS*)

Olivia Okky Ardana¹,
Gusti Ayu Yuniati Kencana², I Nyoman Mantik Astawa³

¹Mahasiswa Sarjana Pendidikan Dokter Hewan,

²Laboratorium Virologi Veteriner,

³Laboratorium Imunologi Veteriner,

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana,
Jl. Sudirman, Sanglah, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234;
Tlp/Fax: (0361) 223791

Email: okky.ardana@student.unud.ac.id

ABSTRAK

Penyakit tetelo atau *Newcastle Disease* (ND) adalah penyakit yang menular pada unggas. Penyakit tetelo diakibatkan oleh *Avian Paramyxovirus serotype 1* dari genus *Paramyxovirus* dan *Familia Paramyxoviridae*. Penyakit tetelo memiliki tanda-tanda klinis awal seperti lesu, bulu kusam, edema, konjungtivitis, hingga infeksi parah yang dapat menyebabkan kematian. Nilai titer antibodi di atas (\geq) 16 (2^4) HI (hambatan hemaglutinasi) unit termasuk seropositif, sedangkan nilai di bawah ($<2^4$) HI unit termasuk seronegatif terhadap penyakit tetelo. Vaksinasi ulangan (*booster*) perlu diberikan agar ayam mempunyai imunitas yang baik dan dapat merangsang kembali respons imun terhadap penyakit tetelo. Titer antibodi setelah vaksinasi dapat diukur dengan beberapa uji serologis di antaranya uji HI dan netralisasi. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh vaksin *booster* terhadap penyakit tetelo, pengaruh pengambilan sampel pascavaksinasi terhadap peningkatan nilai titer antibodi penyakit tetelo, dan hubungan uji hambatan hemaglutinasi (HI) dengan uji netralisasi untuk mengetahui titer antibodi penyakit tetelo pada ayam petelur pascavaksinasi. Sampel yang digunakan sebanyak 50 sampel yang diambil secara acak setiap minggunya dari 100 ekor ayam petelur *strain isa brown* umur 22 minggu yang telah divaksinasi *booster* menggunakan vaksin inaktif ND-IB (*Newcastle Disease-Infectious Bronchitis*). Sampel diperoleh dari peternakan komersial di Desa Mangesta, Kecamatan Penebel, Kabupaten Tabanan. Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa vaksin *booster* dan waktu pengambilan sampel tidak berpengaruh nyata terhadap peningkatan nilai titer antibodi penyakit tetelo pada ayam petelur. Nilai koefisien korelasi sebesar 0,969 dengan nilai signifikansi sebesar 0,031 menunjukkan terdapat hubungan yang positif antara titer antibodi uji HI dengan netralisasi. Hubungan yang kuat dari kedua uji menandakan bahwa dengan uji HI saja sudah cukup untuk mendeteksi titer antibodi penyakit tetelo pada ayam petelur.

Kata-kata kunci: ayam petelur; hambatan hemaglutinasi; netralisasi; penyakit tetelo; titer antibodi

ABSTRACT

Tetelo or *Newcastle Disease* (ND) is an infectious disease of poultry. *Newcastle Disease* is caused by *Avian Paramyxovirus serotype 1* of the genus *Paramyxovirus* and family *Paramyxoviridae*. *Newcastle Disease* has early clinical signs such as lethargy, dull feathers, edema, and conjunctivitis to

severe infection that can cause death. Antibody titer values above (\geq) 16 (24) HI (hemagglutination inhibition) units are seropositive, while values below (<24) HI units are seronegative to tetelo disease. Repeat vaccination (booster) should be given so that chickens have good immunity and can re-stimulate the immune response to tetelo disease. Antibody titer after vaccination can be measured by several serological tests, including HI and neutralization tests. This study was conducted to determine the effect of booster vaccine against tetelo disease, the impact of post-vaccination sampling on the increase in tetelo disease antibody titer value, and the relationship of hemagglutination inhibition (HI) test with neutralization test to determine tetelo disease antibody titer in post-vaccination laying hens. The samples used were 50 samples taken randomly each week from 100 22-week-old *isa brown* strain laying hens that had been booster vaccinated using ND-IB (*Newcastle Disease-Infectious Bronchitis*) inactivated vaccine. Samples were obtained from a commercial farm in Mangesta Village, Penebel Subdistrict, Tabanan Regency. The analysis of variance showed that booster vaccine and sampling time did not significantly affect the increase in antibody titer value of tetelo disease in laying hens. The correlation coefficient value of 0.969 with a significance value of 0.031 indicates that there is a positive or substantial relationship between the antibody titer of the HI test and neutralization. The strong relationship between the two tests indicates that the HI test alone is sufficient to detect the antibody titer of *Newcastle Disease* in laying hens.

Keywords: antibody titer; hemagglutination inhibition; laying hens; neutralization; *newcastle disease*

PENDAHULUAN

Ternak ayam dapat mengalami penurunan produksi akibat terinfeksi virus penyakit tetelo (Napriila dan Prasetyo, 2022). Kerugian yang ditimbulkan akibat ternak terpapar virus tetelo sangat rentan terjadi khususnya dalam industri peternakan ayam saat musim penghujan. Penyakit tetelo merupakan penyakit yang sangat penting dan menular pada unggas. Penyakit ini disebabkan oleh *Avian Paramyxovirus serotype 1* (APMV-1) dari genus *Paramyxovirus* dan *Familia Paramyxoviridae*. Penyakit tetelo memiliki tingkat keparahan berbeda mulai dari tidak adanya tanda klinis sampai infeksi parah dengan tingkat kematian hingga 100% (Kencana *et al.*, 2015). Pencegahan penyakit tetelo dapat dilakukan dengan penerapan biosekuriti yang baik di lingkungan kandang dan vaksinasi. Program vaksinasi penyakit tetelo pada ayam petelur di lapangan dilakukan dengan memberikan lebih dari satu kali vaksinasi (*booster*). Pembentukan titer antibodi pada saat vaksinasi *booster* lebih cepat dibandingkan vaksinasi pertama, hal tersebut karena terbentuknya sel memori setelah vaksinasi pertama yang mempercepat respons antibodi pada vaksinasi ulangan (Kencana *et al.*, 2016). Pemberian vaksinasi *booster* sangat diperlukan agar ayam memiliki imunitas yang cukup serta merangsang kembali respons imun terhadap penyakit tetelo. Titer antibodi dengan nilai di atas (2^4) HI unit dapat dikatakan seropositif terhadap penyakit tetelo, sedangkan titer dengan nilai di bawah (2^4) HI unit dianggap seronegatif (OIE, 2012). Khare *et al.* (1976) menyatakan bahwa titer antibodi setelah vaksinasi dapat diukur dengan beberapa uji serologis diantaranya uji hambatan hemaglutinasi (HI) dan netralisasi.

Uji HI relatif mudah dilakukan di seluruh laboratorium dengan fasilitas sederhana, tetapi terbatas hanya untuk mendeteksi antibodi yang dihasilkan akibat paparan dari virus yang hanya memiliki hemaglutinin (Truelove *et al.*, 2016). Uji netralisasi biasanya memakai cara PRNT (*Plaque Reduction Neutralization Test*) yang merupakan uji netralisasi yang banyak digunakan untuk mengukur titer antibodi terhadap virus. PRNT 50 menunjukkan pengenceran serum tertinggi yang mampu mengurangi jumlah plak sebesar 50%. Uji PRNT memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi, tetapi memerlukan waktu yang lama, tenaga ahli, dan biaya yang besar. Uji HI memanfaatkan proses alami hemaglutinasi virus, sedangkan uji PRNT memanfaatkan kemampuan antibodi spesifik untuk menetralkan virus yang diamati dengan adanya pembentukan plak pada sel monolayer (Focosi dan Farrugia, 2020). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh vaksin *booster* dalam meningkatkan titer antibodi penyakit tetelo, pengaruh pengambilan sampel pascavaksinasi terhadap titer antibodi penyakit tetelo, dan hubungan uji HI dengan uji netralisasi pada ayam petelur pascavaksinasi.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini telah disetujui oleh Komite Etik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana dengan Nomor B/14/UN14.2.9/PT.01.04/2024. Desain penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Sampel yang digunakan sebanyak 50 sampel dari 100 ekor ayam petelur strain *isa brown* yang diambil secara acak sebanyak 10 ekor setiap minggu selama lima minggu. Sampel diperoleh dari peternakan komersial di Desa Mengesta, Kecamatan Penebel, Kabupaten Tabanan. Ayam petelur diberikan vaksin kombinasi ND-IB (*Newcastle Disease-Infectious Bronchitis*) inaktif pada umur 22 minggu yang diinjeksikan secara intramuskuler pada bagian otot paha (*musculus biceps femoris*) dengan satu dosis vaksin/ekor sebanyak 0,5 mL. Darah diambil melalui pembuluh darah pada vena *brachialis* sebanyak 2 mL. Sampel ditempatkan pada posisi horizontal agar darah menggumpal dan dimasukkan ke dalam *cool box*. Sampel darah yang telah diambil dipisahkan dan dimasukkan ke tabung *ependorf* 1,5 mL dan dilakukan sentrifugasi selama 10 menit. Pada propagasi virus penyakit tetelo, virus yang digunakan dikoleksi dari laboratorium virologi Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana. Isolat penyakit tetelo dipropagasi di telur ayam bertunas (TAB) umur 9-10 hari melalui ruang alantois (*allantoic cavity*). Isolat penyakit tetelo diinjeksikan ke dalam ruang alantois sebanyak 0,1 mL/butir telur, lubang bekas tusukan pada cangkang ditutup dengan kuteks dan TAB diinkubasikan pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan setiap hari

selama tiga hari. Cairan alantois dipanen dari telur embrio yang mati dan dilanjutkan dengan uji serologi (Rell *et al.*, 2015).

Uji hemaglutinasi (HA) dilakukan dengan teknik mikrotiter. Setiap sumuran plat mikrotiter ditambahkan 25 μ L PBS menggunakan pipet mikro. Selanjutnya tambahkan 25 μ L suspensi antigen ke sumuran pertama. Pengenceran berseri kelipatan dua dimulai dari sumuran ke-1 hingga ke-11. Tambahkan PBS sebanyak 25 μ L ke dalam setiap sumuran plat mikro. Selanjutnya tambahkan RBC 1% sebanyak 25 μ L ke dalam setiap sumuran plat mikro kemudian digoyangkan selama 15 detik menggunakan pengayak mikro. Plat mikro diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit dan diamati adanya hemaglutinasi (Kencana *et al.*, 2016). Titer yang telah diketahui dilakukan pengenceran menjadi 4 HA unit. Uji hambatan hemaglutinasi dilakukan dengan menambahkan PBS 25 μ L ke setiap lubang plat mikrotiter. Sumuran ke-1 dan ke-2 ditambahkan dengan serum yang selanjutnya diencerkan secara berseri kelipatan dua mulai dari sumuran ke-2 hingga ke-10. Suspensi antigen 4 HA sebanyak 25 μ L ditambahkan ke dalam sumuran pertama hingga ke-11, sedangkan sumuran ke-12 ditambahkan dengan 25 μ L PBS. *Shaker* plat mikro menggunakan *micro shaker* selama 30 detik dan diamkan selama 30 menit. Setelah itu plat mikro diinkubasikan selama 60 menit pada suhu kamar, lalu hasil dibaca setiap 15 menit hingga 30 menit (Kencana *et al.*, 2017).

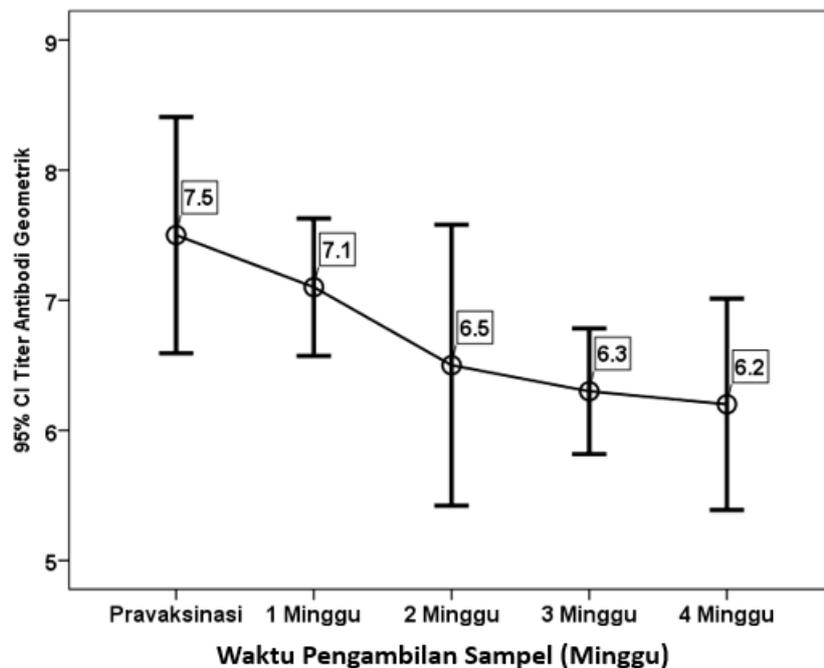
Pada uji PRNT 50, sebanyak 0,1 juta sel BHK-21 ditumbuhkan dalam setiap sumuran pada plat 24 sumuran. Sampel serum diencerkan secara seri berkelipatan dua kali dalam media MEM yang mengandung 2% FBS. Setiap pengenceran serum ditambahkan virus penyakit tetelo sebanyak 10 PFU (*Plaque Forming Units*) dan diinkubasikan selama satu jam pada suhu 37°C. Sel terinfeksi kemudian ditutup dengan media MEM semisolid yang mengandung 1% agarose, 3% FBS dan diinkubasikan selama 72 jam pada suhu 37°C. Monolayer diwarnai dengan *neutral red* dan jumlah plak di setiap sumuran dihitung dan sumuran tanpa serum dijadikan kontrol. Jumlah rata-rata plak yang sesuai dengan setiap pengenceran serum dinyatakan sebagai persentase dari jumlah plak di sumuran kontrol. Nilai kebalikan dari pengenceran yang mengurangi jumlah plak hingga 50% dari jumlah plak di sumur kontrol diambil sebagai PRNT 50.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada Gambar 1 terlihat jelas bahwa batas atas dan batas bawah dari grafik rerata titer antibodi saling berpotongan sehingga hasil menunjukkan tidak berbeda nyata ($P>0,05$). Waktu pengambilan sampel dilakukan pada pravaksinasi, 1 minggu pascavaksinasi, 2 minggu

pascavaksinasi, 3 minggu pascavaksinasi, dan 4 minggu pascavaksinasi yang mengalami penurunan yang tidak signifikan. Berdasarkan hasil analisis ragam menunjukkan bahwa pengaruh vaksin *booster* dan waktu pengambilan sampel tidak memberikan pengaruh yang nyata ($P>0,05$) terhadap peningkatan nilai titer antibodi penyakit tetelo pada ayam petelur.

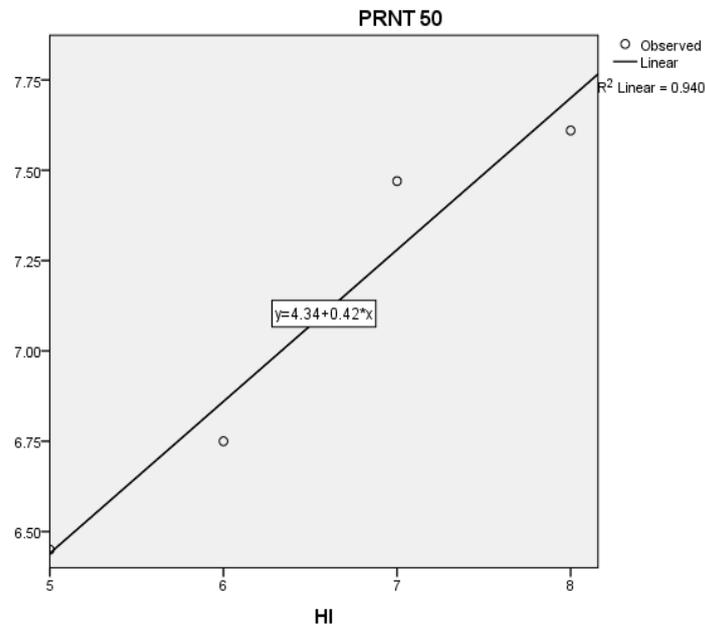
Uji PRNT (*Plaque Reduction Neutralization Test*) adalah uji serologi yang memanfaatkan kemampuan antibodi spesifik untuk menetralkan virus yang diamati dengan adanya pembentukan plak pada monolayer. Korelasi antara titer antibodi ND terhadap virus lapang memiliki nilai koefisien korelasi sebesar 0,969 dengan nilai signifikansi sebesar 0,031. Jika nilai signifikansi $P<0,05$ menyatakan terdapat hubungan yang signifikan pada hasil titer antibodi antara uji HI dengan uji PRNT 50. Berdasarkan pedoman nilai interpretasi korelasi menurut aturan Guilford bahwa nilai pada rentang 0,90-1,00 yang berarti tingkat hubungan nilai titer antibodi antara uji hambatan hemaglutinasi (HI) dengan uji PRNT 50 pada tingkat hubungan yang sangat erat. Tanda koefisien korelasi dari hasil analisis data ini bersifat positif sehinggamenunjukkan adanya hubungan yang searah.



Gambar 1. Grafik rata-rata titer antibodi pada ayam petelur pravaksinasi dan pascavaksinasi *booster* penyakit tetelo pada beberapa minggu

Berdasarkan grafik persamaan regresi linear, terlihat titik-titik plot data membentuk pola garis lurus dari kiri bawah naik ke kanan atas. Hal ini menunjukkan adanya hubungan yang linear dan positif antara titer antibodi HI dengan PRNT 50. Didapatkan persamaan $Y=$

$4,340 + 0,420X$. nilai Y merupakan variabel regresi yang menyatakan titer PRNT 50 dan X merupakan variabel regresi yang menyatakan titer antibodi HI.



Gambar 2. Grafik persamaan regresi linear antara titer antibodi dan PRNT 50

Titer antibodi penyakit tetelo pada ayam petelur pascavaksinasi *booster* yang terbentuk pada pravaksinasi, 1 minggu pascavaksinasi, 2 minggu pascavaksinasi, 3 minggu pascavaksinasi, dan 4 minggu pascavaksinasi menunjukkan bahwa vaksin *booster* dan waktu pengambilan sampel tidak memiliki pengaruh yang nyata ($P > 0,05$) terhadap peningkatan nilai titer antibodi penyakit tetelo pada ayam petelur. Hasil uji HI pascavaksinasi mulai 1-4 minggu memperlihatkan penurunan titer antibodi penyakit tetelo, hal tersebut tidak terlepas dari tingginya nilai titer antibodi pravaksinasi. Hal serupa juga dikemukakan oleh Hartaputera *et al.* (2023), Arnaya *et al.* (2023), dan Wisnantari *et al.* (2022) bahwa vaksinasi yang dilakukan pada saat titer antibodi tinggi akan menghasilkan titer antibodi yang lebih rendah dan antigen tidak mampu menggerakkan respons sel B untuk menghasilkan antibodi yang lebih tinggi. Titer antibodi yang tinggi pada saat divaksinasi akan dapat menetralkan antigen vaksin yang digunakan sehingga mengakibatkan berkurangnya respons terhadap vaksin yang diberikan dan dapat menyebabkan kegagalan vaksinasi (Kencana *et al.*, 2016). Hal ini membuktikan bahwa titer antibodi yang tinggi pada saat divaksinasi berkaitan dengan vaksin yang diberikan dan tidak bekerja dengan optimal sehingga menghasilkan titer antibodi lebih rendah.

Titer antibodi penyakit tetelo 1-4 minggu pascavaksinasi meskipun terus mengalami penurunan terpantau ayam tersebut memiliki kekebalan terhadap penyakit tetelo yang masih

seroprotektif. Menurut Kencana *et al.* (2015), nilai titer antibodi yang seroprotektif bagi ayam terhadap virus penyakit tetelo adalah 2^4 HI unit. Hal tersebut terlihat dari nilai rata-rata titer antibodi penyakit tetelo satu minggu pascavaksinasi 7,1 HI unit log 2, rata-rata titer antibodi penyakit tetelo dua minggu pascavaksinasi 6,5 HI unit log 2, rata-rata titer antibodi penyakit tetelo tiga minggu pascavaksinasi 6,3 HI unit log 2, dan rata-rata titer antibodi penyakit tetelo empat minggu pascavaksinasi 6,2 HI unit log 2. Agar pembentukan titer antibodi bisa mencapai optimal maka pelaksanaan vaksinasi harus dilakukan secara tepat (Sutrisna, 2014). Menurut Nurhayati (2004), waktu pemberian vaksin *booster* yang kurang tepat dapat memengaruhi terjadinya perubahan titer antibodi dan tidak akan memberikan efek yang optimal.

Pemeriksaan titer antibodi bertujuan untuk mengkonfirmasi tingkat titer antibodi untuk mencegah vaksinasi dilakukan pada saat titer antibodi tinggi yang dikhawatirkan akan terjadi netralisasi antibodi sehingga respons kekebalan yang dihasilkan tidak optimal. Gambaran titer antibodi yang terbentuk akan membantu pengambilan keputusan di lapangan, apakah ayam perlu dilakukan vaksinasi *booster* atau tidak, agar ayam dapat bertahan dari infeksi penyakit tetelo yang ada di lapangan (Agustin dan Ningtyas, 2021).

Gambar 2 menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang positif antara titer antibodi uji HI dengan PRNT 50 pada tingkat hubungan yang kuat. Hal tersebut berarti semakin tinggi nilai titer antibodi HI akan diikuti dengan semakin tingginya nilai titer antibodi PRNT 50, begitupun sebaliknya. Hubungan positif mencerminkan korelasi antara dua uji dalam mengukur titer antibodi penyakit tetelo. Titer antibodi penting untuk mengetahui tingkat kekebalan pada ayam terhadap virus penyakit tetelo setelah dilakukan vaksinasi. Titer antibodi HI ditentukan dengan melihat pengenceran serum tertinggi yang masih mampu menghambat aglutinasi eritrosit 1%. Sedangkan titer antibodi PRNT 50 ditentukan oleh pengenceran serum tertinggi dengan 50% pengurangan jumlah *plaque* yang dibandingkan dengan kontrol negatif (Focosi dan Farrugia, 2020). Selain uji HI, PRNT juga merupakan salah satu metode yang digunakan untuk menghitung titer virus.

Prinsip uji HI yaitu menghambat reaksi aglutinasi sel darah merah menggunakan antiserum. Antiserum bereaksi dengan virus mengikat epitope virus yang berfungsi untuk melakukan hemaglutinasi. Epitop virus telah berikatan dengan antiserum menyebabkan epitop tidak dapat mengikat sel darah merah (Capua dan Terregino, 2009). Apabila antiserum tidak sesuai atau tidak spesifik dengan virus, maka hemaglutinasi tidak akan terjadi. Sedangkan Uji PRNT didasarkan pada prinsip interaksi virus dan antibodi, yang mengakibatkan inaktivasi

virus sehingga tidak lagi dapat menginfeksi dan bereplikasi di dalam kultur sel BHK-21 (Wowor, 2011). *Plaque* yang terbentuk pada uji PRNT menandakan kematian atau kerusakan sel akibat terinfeksi virus (Mentari *et al.*, 2020). Hubungan positif dari kedua uji menandakan bahwa dengan uji HI saja sudah cukup untuk mendeteksi titer antibodi penyakit tetelo pada ayam petelur.

SIMPULAN

Tingginya nilai titer antibodi pravaksinasi dapat menyebabkan kegagalan vaksinasi. Pengambilan sampel dengan selang waktu satu minggu tidak berpengaruh terhadap peningkatan titer antibodi penyakit tetelo pada ayam petelur. Terdapat hubungan yang kuat titer antibodi uji hambatan hemaglutinasi (HI) dengan netralisasi.

SARAN

Diharapkan peternak melakukan pemeriksaan titer antibodi sebelum dilakukan vaksinasi agar dapat menentukan jadwal vaksinasi yang tepat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Peternakan PT. Cahya Adi Surya Indonesia yang telah menyediakan tempat untuk melakukan penelitian dan staf Laboratorium Virologi dan Imunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustin ALD, Ningtyas NSII. 2021. Titer Antibodi Newcastle Disease pada Ayam Layer di Kecamatan Narmada, Kabupaten Lombok Barat. *Jurnal Medik Veteriner* 4(1): 98-103.
- Arnaya KAAB, Suardana IBK, Nindhia TS. 2023. Deteksi Titer Antibodi Newcastle Disease pada Broiler yang Divaksinasi di Pembibitan Umur Satu Hari. *Buletin Veteriner Udayana* 15(1): 128-134.
- Capua I, Terregino C. 2009. Clinical Traits and Pathology of *Newcastle Disease Infection and Guidelines for Farm Visit and Differential Diagnosis*. (Ed) *Avian influenza and Newcastle Disease*. Milan, Italia. Springer. Hlm. 45-71.
- Focosi D, Farrugia A. 2020. The Art of the Possible in Approaching Efficacy Trials for COVID19 Convalescent Plasma. *International Journal of Infectious Disease* 102: 244-246.
- Hartaputera INST, Suardana IBK, Nindhia TS. 2023. Perbedaan Titer Antibodi Penyakit Tetelo pada Ayam Pedaging yang Divaksinasi Umur Satu Hari dan 14 Hari. *Indonesia Medicus Veterinus* 12(1): 1-11.

- Kencana GAY, Suartha IN, Nainggolan DRB, Tobing ASL. 2017. Respons imun ayam petelur pascavaksinasi *newcastle disease* dan *egg drop syndrome*. *Jurnal Sain Veteriner* 35(1): 81-90.
- Kencana GAY, Suartha IN, Paramita NMAS, Handayani AN. 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.
- Kencana GAY, Suartha N, Simbolon MP, Handayani AN, Ong S, Syamsidar KA. 2015. Respons Antibodi terhadap Penyakit Tetelo pada Ayam yang Divaksin Tetelo dan Tetelo-Flu Burung. *Jurnal Veteriner* 16(2): 283-290.
- Khare ML, Kumar S, Grun J. 1976. Immunoglobulins of the Chicken Antibody to Newcastle Disease Virus (Mukteswar and F strain). *Poultry Science* 55(1): 152-159.
- Mentari D, Widada J, Wibawa T, Wijayanti, N. 2020. Penghambatan *Cytopathic Effect* (CPE) pada Sel BHK-21 yang Terinfeksi Virus Dengue Serotipe (DENV-4) dengan Pemberian Ekstrak N-Heksan *Streptomyces Sp. GMR22*. *Jurnal Biologi Makassar* 5(2): 151-160.
- Naprila ZH, Prasetyo D. 2022. Profil Titer Antibodi Newcastle Disease dan Patologi Anatomi Ayam Layer Di Peternakan Ayam Perseorangan, Kambingan, Malang, Jawa Timur. *Asosiasi Rumah Sakit Hewan Indonesia Veterinary Letters* 6(3): 51-52.
- Nurhayati APD. 2004. Pengaruh Intervak *Booster* Terhadap Produksi Antibodi pada Lele Dumbo (*Claris gariepinus*) yang Divaksin Debris *Aeromonas hydrophilia*. (Thesis). Yogyakarta. Universitas Gadjah Mada.
- [OIE] Office International des Epizooties. 2012. *Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines*. 7th ed. Paris. Office International des Epizooties. Hlm. 436-452.
- Rell F, Adi AAM, Mahardika IGN. 2015. Virulensi Virus Newcastle Disease Isolat Lapang Berdasarkan Analisis Bioinformatika Gen Protein Hemagglutinin-Neuraminidase. *Jurnal Ilmu Kesehatan Hewan* 3(1): 17-28.
- Sutrisna R. 2014. Isolat Bakteri Asam Laktat sebagai Probiotik dengan Vaksinasi AI dan ND dalam Pembentukan Titer Antibodi dan Bobot Badan Ayam Jantan Tipe Medium. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan* 14(2): 124-133.
- Truelove S, Zhu H, Lessler J, Riley S, Read J M, Wang S, Kwok KO, Guan Y, Jiang CQ, Cummings DA. 2016. A Comparison of Hemagglutination Inhibition and Neutralization Assays for Characterizing Immunity to Seasonal Influenza A. *Influenza and Other Respiratory Viruses* 10(6): 518-524.
- Wisnantari NMS, Suardana IBK, Nindhia TS. 2022. Titer Antibodi Newcastle Disease pada Broiler yang Divaksin Umur Satu hari dan Dibooster Umur 15 hari. *Buletin Veteriner Udayana* 14(6): 652-658.
- Wowor MF. 2011. Deteksi Dini Demam Berdarah Dengue dengan Pemeriksaan Antigen NS1. *Jurnal Biomedik* 3(1): 1-9.