

Efek Viroterapi Virus *Newcastle Disease* Terhadap Histopatologi Paru-Paru Tikus Penderita Fibrosarkoma

(THE EFFECTS OF NEWCASTLE DISEASE VIRUS AS VIROTHERAPY
ON LUNG HISTOPATHOLOGY OF RATS WITH FIBROSARCOMA)

Nadia Eprillia Sary Darma Ni Komang¹,
Anak Agung Ayu Mirah Adi², Ida Bagus Oka Winaya²

¹Mahasiswa Sarjana Pendidikan Dokter Hewan

²Laboratorium Patologi Veteriner,

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana,

Jl. Sudirman, Sanglah, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234,

Telp/Fax: (0361)223791

e-mail: nadiaeprillia@gmail.com

ABSTRAK

Viroterapi adalah pemanfaatan virus onkolitik untuk pengobatan kanker. Virus *Newcastle Disease* (ND) merupakan salah satu virus onkolitik, yakni virus yang mampu bereplikasi dan membunuh sel tumor tanpa menimbulkan kerusakan pada sel sehat. Virus ini dikatakan mampu bereplikasi hingga 10.000 kali lebih cepat pada sel kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran histopatologi (HP) paru-paru tikus penderita fibrosarkoma yang tidak diviroterapi dan tikus penderita fibrosarkoma yang diviroterapi dengan virus ND isolat Tabanan-1/ARP/2017. Penelitian ini menggunakan tiga perlakuan dengan tiga ulangan disetiap perlakuan. Perlakuan P₀ (kontrol negatif) adalah tikus yang tidak menderita fibrosarkoma, P₁ (non-viroterapi) adalah tikus penderita fibrosarkoma yang tidak diviroterapi, dan P₂ (viroterapi) adalah virus penderita fibrosarkoma yang diviroterapi menggunakan virus ND dengan dosis 0,5 mL/2⁹ HA Unit. Variabel gambaran HP paru-paru yang diamati untuk membandingkan antara ketiga perlakuan adalah hemoragi, kongesti dan edema. Data hasil pengamatan terhadap masing-masing variabel dilakukan skoring sesuai dengan tingkat keparahan lesinya, lalu dianalisis menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan jika berbeda nyata dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Dari hasil penelitian ini didapatkan bahwa tidak ada lesi ditemukan pada paru-paru tikus P₀. Gambaran histopatologi paru-paru pada P₁ menunjukkan adanya lesi hemoragi, kongesti dan edema yang dominan, sedangkan pada P₂ hanya lesi kongesti yang dominan tanpa adanya hemoragi. Hasil pengamatan menunjukkan, viroterapi menggunakan virus ND efektif untuk mengurangi lesi hemoragi namun kurang efektif untuk lesi kongesti. Secara keseluruhan, lesi pada kelompok viroterapi menggunakan virus ND lebih ringan jika dibandingkan dengan tikus yang tidak di viroterapi.

Kata-kata kunci: fibrosarkoma; histopatologi; *newcastle disease*; paru-paru; viroterapi

ABSTRACT

Virotherapy is the use of oncolytic viruses for treat cancer. Newcastle disease virus is one of the oncolytic viruses, which is a virus that is able to replicate and kill tumor cells without causing damage to healthy cells. Newcastle disease virus be able to replicate up to 10,000 times faster in cancer cells. This study aims to determine the histopathological (HP) features of the lungs of rats with fibrosarcoma treated with placebo and using Newcastle Disease virus Tabanan-1/ARP/2017 isolate. This study used three treatments with three replications in each treatment. P₀ (negative control) is a rats without fibrosarcoma, P₁ (non-virotherapy) is rats with fibrosarcoma without virotherapy, and P₂ (virotherapy) is a rats with fibrosarcoma and treated with Newcastle disease virus at a dose of 0.5 ml/2⁹ HA Unit. The variables observed for histopatological features of the lungs to compare between treatments were hemorrhage, congestion and edema. Data from the observations of each variable were

scored according to the severity of the lesions, then analyzed using the Kruskal-Wallis and if significantly different continued with the Mann-Whitney test. From the results of this study, it was found that no lesions were found in the lungs of P₀ rats. The histopathological features of the lungs in P₁ show the presence of dominant hemorrhagic lesions, congestion and edema, whereas in P₂ only congestive lesions are dominant without hemorrhage. The results showed that virotherapy using the Newcastle disease virus was effective in reducing hemorrhagic lesions but less effective for congestive lesions. Overall, the lesions in the virotherapy group using the Newcastle disease virus were milder when compared to the non-virotherapy rats.

Keywords: virotherapy; newcastle disease; fibrosarcoma; histopathology; lungs

PENDAHULUAN

Virus onkolitik merupakan pilihan pengobatan kanker yang memanfaatkan virus sebagai agen viroterapi untuk menghancurkan sel-sel kanker. Beberapa tahun terakhir banyak penelitian yang dilakukan untuk menguji tingkat keamanan pengobatan menggunakan virus onkolitik. Hal mendasar dalam pengembangan viroterapi adalah dikarenakan virus lebih dominan menyerang sel kanker dibandingkan sel sehat, sehingga jaringan yang sehat tidak akan rusak selama masa pengobatan. Terdapat sejumlah virus yang secara alami dapat bereplikasi selektif terhadap tumor sehingga dapat dimodifikasi secara khusus untuk menghilangkan sel tumor namun tidak merusak jaringan yang sehat. Parato *et al.* (2005) mengemukakan bahwa virus onkolitik yang digunakan sebagai viroterapi harus memiliki sifat yang dapat menginfeksi, merangsang sistem imun antitumoral, siklus replikasi virus berlangsung cepat, bereplikasi spesifik pada sel tumor, serta menimbulkan efek samping minim terhadap sel normal. Dikatakan juga bahwa virus tersebut tidaklah bersifat patogenik terhadap inang yang akan diterapi.

Karakteristik dan mekanisme kerja virus tersebut harus diketahui dengan baik. Efek samping viroterapi menggunakan virus onkolitik dapat bervariasi, bisa dipengaruhi oleh lokasi dan jenis kanker serta kondisi kesehatan pasien secara keseluruhan karena potensinya menstimulasi kekebalan tubuh, mungkin saja menyebabkan sistem kekebalan menyerang sel sehat sehingga menimbulkan infeksi. Efek samping umum yang mungkin dirasakan adalah menggigil, kelelahan, gejala flu, mual dan demam. *Newcastle Disease* (ND) atau di Indonesia dikenal dengan istilah tetelo adalah penyakit yang bersifat patogen pada unggas sehingga menyebabkan gangguan yang berat pada sistem pernafasan, saraf dan pencernaan pada ayam (Adi *et al.*, 2010; Hewajuli *et al.*, 2011). Virus ND atau *Avian paramyxovirus-1* adalah penyebab penyakit pernafasan akut pada unggas yang dapat menyebabkan kerugian ekonomi bagi industri peternakan unggas karena penurunan produksi unggas. Hal ini sekaligus menjadi

ancaman serius bagi industri peternakan unggas di Indonesia. Infeksi yang berasal dari virus ND virulen ditandai dengan tingkat mortalitas yang tinggi pada peternakan ayam. Virus ini berasal dari famili *paramyxoviridae*, beramplop, tidak bersegmen dan merupakan genom RNA untai tunggal yang mengkode enam protein. Brar *et al.* (2017) menyatakan bahwa infeksi virus ND pada unggas menyebabkan lesi histopatologi berupa kongesti, hemoragi serta peradangan yang ditandai dengan infiltrasi sel-sel radang.

Dibalik patogenitasnya terhadap unggas, virus ND memiliki potensi sebagai agen viroterapi pada mamalia karena efek onkolitik yang dimilikinya. Pada mamalia, virus ND dapat membunuh sel kanker tanpa merusak sel yang sehat (Kalyanasundram *et al.*, 2018). Keuntungan menggunakan virus ND sebagai agen viroterapi sel kanker yakni kemampuan virus ND melakukan perlekatan dengan permukaan sel kanker melalui glikoprotein di permukaan virus, virus bereplikasi pada sel kanker menyebabkan peningkatan ekspresi antigen virus pada permukaan sel kanker, kemampuan virus untuk menginduksi sintesis sitokin, menstimulasi sistem imun yang menyebabkan peningkatan kemampuan sel imun, aktivitas onkolitik, virus yang tumbuh dengan pesat pada sel kanker dan yang paling penting, virus ini tidak bersifat patogen pada mamalia/manusia (Kalyanasundram *et al.*, 2018). Efek selektif disebabkan oleh pembatasan protein V inang dan sitokin yang diinduksi virus (IFN- γ dan TNF- α). Virus ND dapat bereplikasi hingga 10.000 kali lebih cepat pada sel kanker dibandingkan pada sel manusia yang normal. (Kalyanasundram *et al.*, 2018).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian virus ND isolat lokal Tabanan-1/ARP/2017 (Adi *et al.*, 2019; Sewoyo *et al.*, 2021b) sebagai agen viroterapi terhadap histopatologi paru-paru tikus putih jantan galur *Sprague Dawley* yang memiliki fibrosarkoma pasca diinduksi dengan benzo(a)piren. Lesi yang dijumpai pada histopatologi paru-paru tikus dalam setiap perlakuan yang berbeda menjadi indikator untuk menunjukkan tingkat keparahan lesi yang ditimbulkan virus ND sebagai agen viroterapi pada tikus penderita fibrosarkoma jika dibandingkan dengan tikus penderita fibrosarkoma yang tidak diviroterapi.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawley*. Tikus dikelompokkan sesuai dengan jenis perlakuan. Tiga ekor tikus P₀ sebagai kontrol negatif adalah tikus normal yang tidak diberi perlakuan selama percobaan. Perlakuan P₁ terdiri dari tiga ekor tikus fibrosarkoma akibat induksi benzo(a)piren (Sewoyo *et al.*, 2021a; Sewoyo *et al.*, 2021b). Setelah muncul tumor, tikus diinjeksi *phosphate buffer saline* (PBS) dengan dosis

0,5 mL diinjeksi secara intratumoral 4 kali secara bertahap 4 hari berturut-turut. Perlakuan P₂ merupakan tiga ekor tikus dengan fibrosarkoma yang diterapi menggunakan dengan virus *Newcastle Disease* dengan cara menginjeksi virus secara intratumoral selama 4 hari berturut-turut seperti yang telah dilakukan oleh Yurchenko *et al.* (2018) dengan dosis 0,5 ml/2⁹ HA Unit (Sewoyo *et al.*, 2021b).

Tabel 1. Skor penilaian derajat kerusakan histopatologi paru-paru (Hansel dan Barnes, 2004)

Tingkat Perubahan	Keterangan	Skor
Normal	Tidak terjadi perubahan struktur histologi	0
Fokal (<i>mild</i>)	Kerusakan kurang dari sepertiga seluruh lapang pandang	1
Multifokal (<i>moderate</i>)	Kerusakan sepertiga hingga dua pertiga seluruh lapang pandang	2
Difusa (<i>severe</i>)	Kerusakan lebih dari dua pertiga seluruh lapang pandang	3

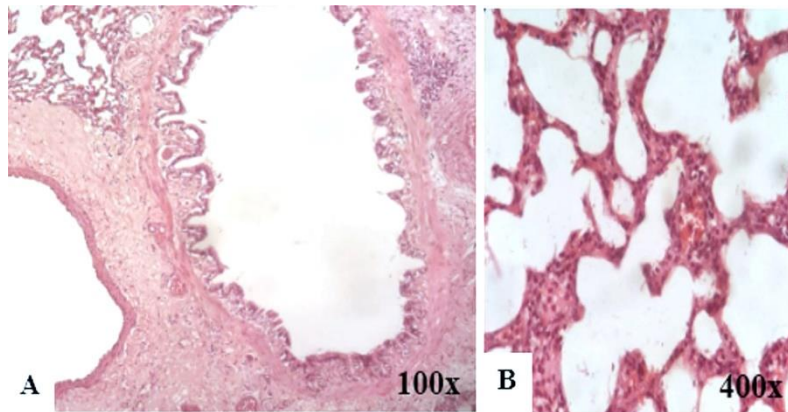
Tikus yang sudah diberi perlakuan, dilakukan *euthanasia* untuk mengambil sampel organ paru-paru. Nekropsi dilakukan dengan membuka thoraks, lalu sampel yang diambil dimasukkan dalam pot kecil sesegera mungkin dan direndam dalam larutan *neutral buffered formalin* (NBF) 10%. Pengambilan sampel dilakukan di Laboratorium Patologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana. Jaringan yang telah diambil, diproses di Laboratorium Patologi Balai Besar Veteriner Denpasar untuk dibuat preparat histopatologi. Preparat histopatologi selanjutnya diamati menggunakan mikroskop cahaya di Laboratorium Patologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana.

Variabel yang diamati berupa hemoragi, kongesti dan edema dinilai secara kualitatif berdasarkan skor kerusakan (Tabel 1). Hasil skoring dianalisis menggunakan metode *Kruskal-Wallis*. Jika setelah pengujian didapatkan hasil $P < 0,05$ (berbeda nyata), maka dapat dilanjutkan dengan uji non-parametrik *Mann-Whitney*. Sedangkan kerusakan lain yang teramati pada paru-paru tikus diluar pada variabel yang telah disebutkan akan dijelaskan secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan histopatologi pada paru-paru tikus dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 100 kali dan 400 kali. Data yang didapatkan merupakan hasil interpretasi yang mengacu pada beberapa variabel. Hasil penelitian berupa gambaran histopatologi paru-paru tikus putih yang diinduksi dengan benzo(a)piren sehingga muncul

fibrosarkoma kemudian diterapi menggunakan virus ND, lalu dilakukan perbandingan dengan tikus yang tidak diviroterapi dan tikus kontrol.



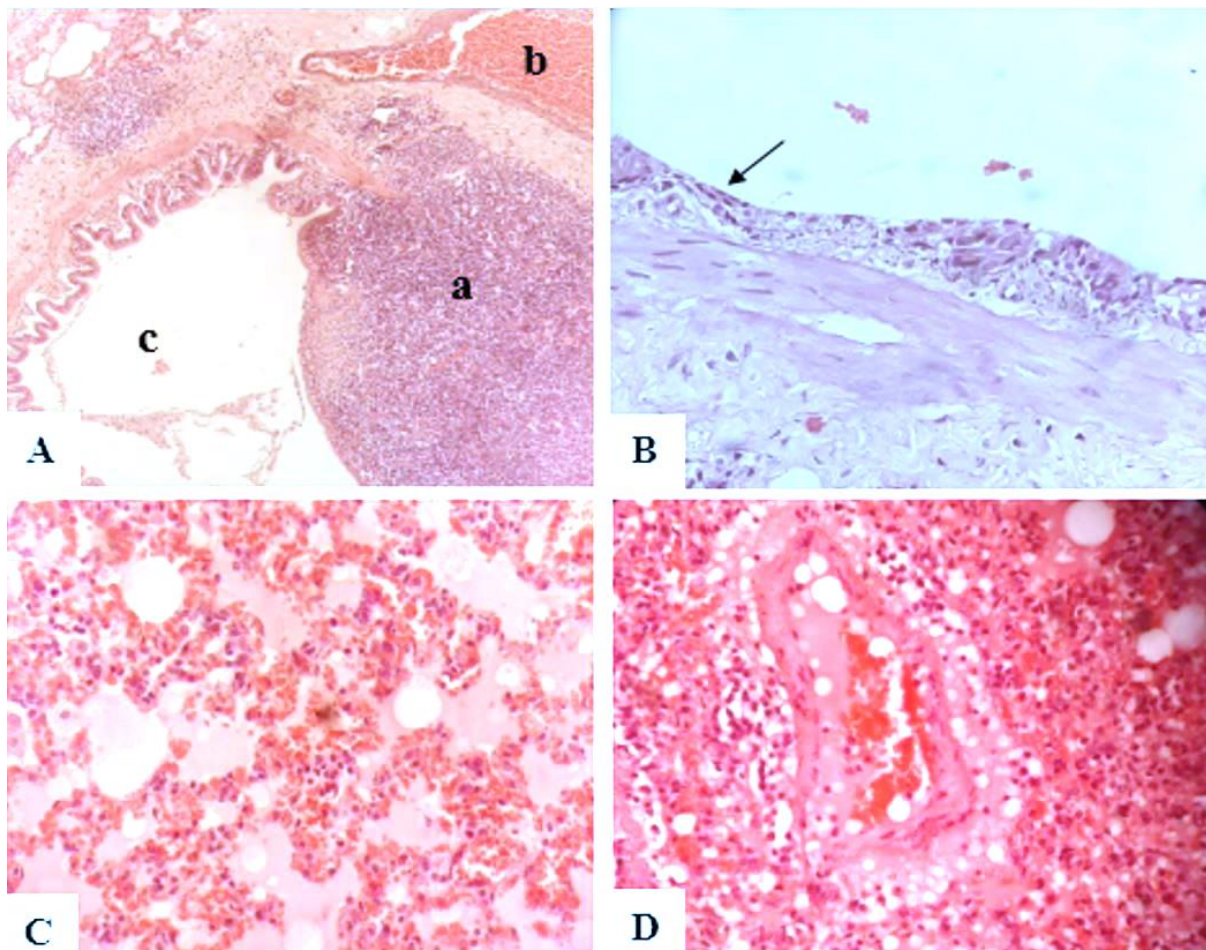
Gambar 1. (A) Struktur histologis bronkus. (B) Struktur parenkim paru-paru tikus P₀ (HE, 100 kali dan 400 kali)

Data analisis menggunakan uji *Kruskal-Wallis* pada Tabel 2 memperlihatkan rerata derajat kerusakan histopatologi paru-paru tikus yang diperoleh dari pengamatan secara mikroskopik terhadap lima lapang pandang yang berbeda pada seluruh kelompok perlakuan. Berdasarkan Tabel 2, rerata derajat kerusakan lesi hemoragi pada P₀, P₁ dan P₂ masing-masing sebesar 3,50, 8,00 dan 3,50. Adapun perubahan edema pada P₀, P₁ dan P₂ masing-masing sebesar 3,50, 6,83 dan 4,67, sedangkan rata-rata kerusakan kongesti pada P₀, P₁ dan P₂ masing-masing sebesar 3,00, 6,00 dan 6,00. Hal ini menunjukkan bahwa viroterapi menggunakan virus ND isolat lokal Tabanan-1/ARP/2017 kurang efektif untuk mengurangi kerusakan kongesti.

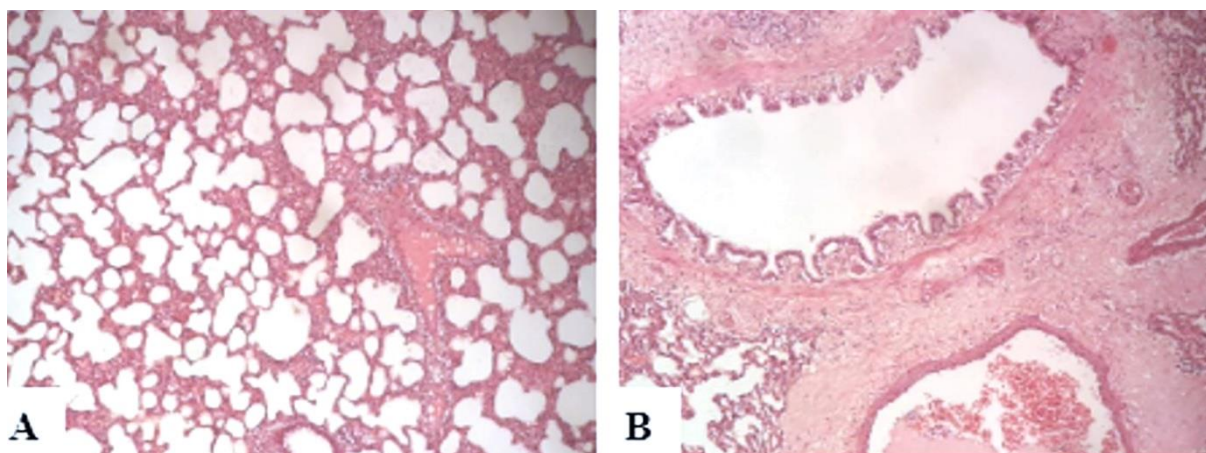
Tabel 2. Nilai rerata skor gambaran histopatologi paru-paru tikus

Kerusakan	Kelompok Perlakuan	n	Rerata
Kongesti	P ₀	3	3,00
	P ₁	3	6,00
	P ₂	3	6,00
Hemoragi	P ₀	3	3,50
	P ₁	3	8,00
	P ₂	3	3,50*
Edema	P ₀	3	3,50
	P ₁	3	6,83
	P ₂	3	4,67*

Keterangan: *P<0,05, berbeda nyata.



Gambar 2. Struktur histologis paru-paru tikus non viroterapi (P_1). (A) Adanya hiperplasia BALT (a), kongesti (b), serta eksudat dengan fibrin pada bronkus (c). (HE, 100 kali) (B) Adanya metaplasia epitel brokus. (C) Terdapat edema pada alveoli tikus serta hemoragi. (D) Gambaran trombus dan adanya infiltrasi sel radang dan debris pada ruang alveolus. (HE, 400 kali)



Gambar 3. Struktur histologis paru-paru tikus terapi NDV (P_2). (A) Dinding septa alveoli tampak tegas membatasi tiap alveoli. (B) Epitel bronkus utuh serta dijumpai kongesti di beberapa pembuluh darah. (HE, 100 kali)

Tabel 3. Data hasil analisis uji Mann-Whitney skor hemoragi

	P ₀	P ₁	P ₂
	Signifikansi (p)		
P ₀			
P ₁	0.034*		
P ₂	1.000	0.034*	

Keterangan: *Berbeda nyata ($p < 0,05$)

Data analisis menggunakan uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan skor histopatologi untuk kongesti ($P > 0,05$), hemoragi ($P < 0,05$) dan edema ($P > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa lesi hemoragi pada uji *Kruskal-Wallis* antar perlakuan berbeda nyata, sehingga dilanjutkan menggunakan uji *Mann-Whitney*.

Hasil uji *Mann-Whitney* yang tersaji pada Tabel 3 terhadap hemoragi, P₀ dibandingkan dengan P₁ ($P = 0,034$) berbeda nyata, kemudian pada P₁ dengan P₂ ($P = 0,034$) berbeda nyata. Sedangkan pada P₀ dengan P₁ ($P = 1,000$) tidak memiliki perbedaan nyata. Pada hemoragi parenkim paru-paru, P₀ dengan P₁ berbeda nyata dikarenakan P₀ adalah kontrol negatif dan P₁ merupakan tikus yang diinduksi dengan benzo(a)piren dan PBS. Pada P₁ dengan P₂ berbeda nyata karena P₁ adalah tikus yang diinduksi dengan benzo(a)piren dan PBS, sedangkan P₂ adalah tikus yang diterapi menggunakan virus ND isolat lokal Tabanan-1/ARP/2017, sehingga virus tersebut sebagai agen viroterapi efektif dalam mengurangi kerusakan hemoragi.

Hasil interpretasi pengamatan preparat histopatologi paru-paru tikus pada kontrol negatif (P₀) terdapat kerusakan ringan paru-paru (Gambar 1). Kerusakan ini disebabkan oleh adanya variabel luar yang tidak dapat dikendalikan. Faktor lingkungan yang gaduh, polusi dan lainnya juga dapat mempengaruhi psikologis tikus serta dapat memicu terjadinya stres oksidatif. Zat patogen tersebut kemudian merangsang reaksi hipersensitivitas dan imunitas tikus sehingga ditemukan adanya sel-sel radang, namun secara garis besar parenkimal paru-paru masih tampak normal dan utuh. Dinding antar alveolus tampak jelas membatasi antara satu alveolus dengan yang lainnya.

Pada tikus yang tidak diviroterapi (P₁), yakni tikus yang diinjeksi benzo(a)piren dan PBS, ditunjukkan adanya kerusakan paru-paru berupa kongesti, hemoragi, edema, pembentukan fibrin, atelektasis serta adanya temuan metaplasia pada epitel bronkus (Gambar 2). Kongesti adalah penimbunan darah dalam vena akibat melambatnya aliran darah atau bahkan berhenti pada pembuluh darah tersebut. Greaves (2000) menyatakan, kongesti merupakan peningkatan cairan pada suatu lokasi yang terjadi karena proses pasif sehingga aliran cairan gagal untuk keluar, misalnya saja pada kerusakan vena.

Alveolus pada tikus yang tidak diviroterapi (P₁) mengalami atelektasis atau penyempitan rongga udara. Atelektasis disebabkan oleh tekanan pada paru-paru sehingga udara pada paru-paru keluar sehingga alveoli tidak berisi udara dan kolaps. Jika kondisi tersebut berlangsung kronis, maka terjadi gangguan sirkulasi darah yang menimbulkan edema (Adi, 2014). Selain itu dijumpai infiltrasi sel-sel radang mononuklear pada parenkim paru-paru serta tepi pembuluh darah.

Peradangan fibrinosa dijumpai bersama eksudat pada lumen bronkus. Peradangan fibrinosa ditandai dengan adanya eksudasi plasma kaya fibrinogen (Harrigan *et al.*, 2006). Rusaknya dinding pembuluh darah menyebabkan peningkatan permeabilitas vaskuler, sehingga cairan dan plasma darah keluar dari pembuluh darah melalui celah antar endotel. Setelah keluar, fibrinogen kemudian mengalami polimerisasi menjadi fibrin. Selain itu pada histopatologi paru-paru tikus tersebut dijumpai hiperplasia BALT (Gambar 2).

BALT (*Bronchus-associated Lymphatic Tissue*) adalah jaringan limfoid pada lamina propria trakea, bronkus dan bronkiolus (Adi, 2014), komponen ini berperan penting dalam sistem imun. Hiperplasia adalah adaptasi seluler yang ditandai dengan meningkatnya jumlah limfosit dalam suatu jaringan ataupun organ (Kumar *et al.*, 2005). Senyawa toksik benzo(a)piren adalah penyebab dari kerusakan jaringan paru-paru. Selain itu, dijumpai adanya metaplasia pada epitel bronkus yang semula merupakan epitel silindris bersilia menjadi epitel pipih dua lapis. Akibat dari induksi zat karsinogen benzo(a)piren yang menyebabkan metaplasia epitel bronkus.

Pada tikus viroterapi menggunakan virus ND (P₂) tidak menunjukkan adanya hiperplasia BALT dan pada alveoli tidak dijumpai infiltrasi sel radang. Epitel bronkus tikus terapi tampak normal dan tidak dijumpai ruptur, serta pada lumennya tidak terdapat sel-sel radang ataupun eritrosit (Gambar 3).

Kemampuan virus ND untuk menyebabkan perdarahan hebat pada paru-paru unggas ternyata memberikan hasil yang berbeda pada paru-paru tikus. Hasil pengamatan paru-paru tikus yang diterapi menggunakan virus ND, tampak lesi hemoragi yang jauh membaik. Hal ini menunjukkan bahwa viroterapi menggunakan virus ND efektif untuk mengurangi hemoragi pada paru-paru tikus penderita fibrosarkoma, namun viroterapi pada tikus penderita fibrosarkoma menggunakan virus ND tampaknya kurang efektif untuk mengatasi lesi kongesti.

Hasil pengamatan pada histopatologi paru-paru tikus yang diinjeksi menggunakan virus ND, tidak ditemui perubahan pada sel yang normal. Ketidakmampuan virus ND untuk bereplikasi pada sel normal paru-paru dikarenakan adanya respon interferon. Interferon

merupakan pertahanan pertama untuk membatasi replikasi virus dan memberikan sinyal adanya patogen virus kepada lengan adaptif respon imun (Grandvaux *et al.*, 2002), sehingga virus ND yang diinjeksikan pada tikus akan menginduksi onkolisis hanya pada sel tumor.

Secara keseluruhan, virus ND adalah virus yang cukup aman untuk pengobatan tumor pada manusia, genom RNANYA stabil, dan kekebalan yang sudah ada sebelumnya terhadap virus tidak ada pada manusia. Selain itu, virus ND memberikan aktivitas onkolitik yang efisien pada tumor yang resisten terhadap obat sitotoksik (Tayeb *et al.*, 2015). Pada penelitian Yaacov *et al.* (2008) menyatakan bahwa viroterapi menggunakan virus ND mampu untuk mencegah metastasis pada tumor paru-paru.

Studi untuk mengeksplorasi kemampuan virus ND sebagai agen viroterapi kini sedang dilakukan oleh beberapa peneliti, baik di dalam maupun luar negeri. Masih perlu dilakukan evaluasi lebih lanjut untuk melihat keamanan dan efektivitas virus ND sebagai agen viroterapi, sebelum diterapkan secara langsung untuk pengobatan tumor pada hewan mamalia ataupun manusia.

SIMPULAN

Berdasarkan pada hasil penelitian serta pengamatan histopatologi yang telah dilakukan, lesi pada paru-paru tikus penderita fibrosarkoma yang diterapi menggunakan virus *Newcastle Disease* isolat lokal Tabanan-1/ARP/2017 lebih ringan jika dibandingkan dengan tikus yang tidak diviroterapi.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat efek samping yang dapat ditimbulkan dari viroterapi menggunakan virus *Newcastle Disease* isolat lokal Tabanan-1/ARP/2017 dengan mempertimbangkan untuk menambah dosis dan memperpanjang durasi terapi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Patologi Veteriner FKH Universitas Udayana yang telah bersedia membantu dalam kelancaran penelitian ini, serta semua pihak yang turut serta membantu dalam penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adi AAAM, Astawa NM, Putra KSA, Hayashi Y, Matsumoto Y. 2010. Isolation and characterization of a pathogenic Newcastle disease virus from a natural case in Indonesia. *The Journal of Veterinary Medical Science* 72(3): 313-319
- Adi AAAM. 2014. *Patologi Sistemik Veteriner: Sistema Pernafasan*. Denpasar. Swasta Nulus. Hlm. 13-44
- Adi AAAM, Astawa NM, Putra IGAAP. 2019. The Efficacy of Binary Ethylenimine-inactivated Vaccines of Gianyar-1/AK/2014 Virulent Strain in Protecting Chickens Against Tabanan-1/ARP/2017 Virulent Newcastle Disease Virus Isolates. *Veterinary World* 12(4): 758-764.
- Brar RS, Geeta D, Leishangthem, Gadhave ND. 2017. Diagnosis of Newcastle Disease in Broiler by Histopathology and Immunohistochemistry. *Indian Journal Veterinary Pathology* 41(1): 60-62.
- Grandvaux N, Tenoever BE, Servant MJ, Hiscott J. 2002. The Interferon Antiviral Response: from Viral Invasion to Evasion. *Current Opinion in Infectious Diseases* 15(3): 67-259
- Greaves P. 2000. *Histopathology of Preclinical Toxicity Studies Interpretation and Relevance in Drug Safety Evaluation*. 2nd ed. Amsterdam. Elsevier. Hlm. 372-380.
- Harrigan JA, McGarrigle BP, Sutter TR, Olson JR. 2006. Tissue Specific Induction of Cytochrome P450 (CYP) 1A1 1B1 in Rat Liver and Lung Following in Vitro (tissue slice) an in Vivo Exposure to Benzo(α)pyrene. *Toxicologi in Vitro* 20(4): 426-438.
- Hewajuli DA, Dharmayanti NLPI. 2011. Patogenitas Virus Newcastle Disease pada Ayam. *Wartazoa*. 21(2): 72-80.
- Kalyanasundram J, Hamid A, Yusoff K, Chia SL. 2018. Newcastle Disease Virus Strain AF2240 as an Oncolytic Virus: A Review. *Acta Tropica* 183: 26-133.
- Kumar V, Abul KA, Nelson F. 2005. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 7th ed. Philadelphia. USA. Elsevier Saunders. Hlm. 300.
- Parato KA, Senger D, Forsyth PAJ, Bell JC. 2005. Recent Progress in the Battle Between Oncolytic Viruses and Tumours. *Nature Reviews Cancer* 5: 965-976
- Sewoyo PS, Adi AAAM, Winaya IBO. 2021a. Profil Bobot Badan dan Tingkat Mortalitas Tikus Jantan Galur Sprague Dawley Selama Pembentukan Fibrosarkoma yang Dipicu oleh Benzo(a)piren. *Indonesia Medicus Veterinus* 10(1): 1-11.
- Sewoyo PS, Adi AAAM, Winaya IBO, Sampurna IP, Bramardipa AAB. 2021b. The Potency of Virulent Newcastle Disease Virus Tabanan-1/ARP/2017 as Virotherapy Agents in Rat Fibrosarcoma Models. *Journal of Advanced Veterinary Research* 11(2): 64-68.
- Tayeb S, Ronas ZZ, Panet A. 2015. Therapeutic Potential of Oncolytic Newcastle Disease Virus: A Critical Review. *Dovepress* 4: 49-62.
- Yaacov B, Eliahoo E, Lazar I. 2008. Selective Oncolytic Effect of an Sttenuated Newcastle Disease Virus (NDV-HUJ) in Lung Tumors. *Cancer Gene Therapy* 15(12):795–807.
- Yurchenko KS, Zhou P, Kovner AV, Zavjalov EL, Shestopalova LV, Shestopalov AM. 2018. Oncolytic Effect of Wild-type Newcastle Disease Virus Isolates in Cancer Cell Lines in Vitro and in Vivo on Xenograft Model. *PLoS ONE* 13(4): 1-19.