

Vaksin Gumboro Menyebabkan Imunosupresif pada Respons Primer Vaksin Penyakit Tetelo Ayam Pedaging

(GUMBORO VACCINES CAUSE IMMUNOSUPPRESSIVE EFFECTS ON PRIMARY IMMUNE RESPONSE OF BROILER CHICKENS VACCINATED AGAINST NEWCASTLE DISEASE)

Gusti Ayu Yuniati Kencana¹, Anak Agung Ayu Mirah Adi²,
Ida Bagus Komang Ardana³, Gusti Ngurah Kade Mahardika¹

¹Laboratorium Virologi, ²Laboratorium Patologi, ³Laboratorium Patologi Klinik
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana
Jln. P.B. Sudirman-Denpasar, Tlp. 62-0361-223791
Email: yuniatikencana@gmail.com

ABSTRAK

Berbagai macam jenis vaksin gumboro yang beredar di Indonesia diantaranya vaksin dengan virus strain kuat/hot, intermediate dan strain kurang ganas/mild. Sifat imunosupresif dari strain tersebut belum banyak diungkap. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh imunosupresif vaksin gumboro pada respon primer vaksinasi penyakit tetelo pada ayam pedaging. Sebanyak enam puluh ekor ayam pedaging digunakan sebagai sampel penelitian yang dibagi menjadi lima kelompok (V1, V2, V3, V4 dan K). Vaksinasi dilakukan pada umur 7 hari menggunakan vaksin gumboro aktif strain hot (V1), strain intermediate (V2), strain mild (V3) dan pada kelompok V4 dan K tidak dilakukan vaksinasi gumboro. Pada umur 14 hari, kelompok V1, V2 dan V3 dan V4 divaksinasi dengan vaksin tetelo, sedangkan kelompok K tidak mendapatkan vaksinasi ND maupun Gumboro dan digunakan sebagai kontrol negatif. Pemeriksaan serum dilakukan pada hari ke 0, 7, 14 dan 21 hari pasca vaksinasi tetelo menggunakan uji hambatan hemaglutinasi teknik mikrotiter. Data titer antibodi dianalisis dengan analisis varian dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan. Kesimpulannya, ketiga vaksin gumboro yang digunakan pada penelitian ini menyebabkan penekanan respon imun (imunosupresif) terhadap respon primer/humoral vaksinasi tetelo pada ayam pedaging. Rataan titer antibodi Geometrik (GMT) terhadap vaksinasi tetelo pada kelompok V4 (kelompok yang tidak divaksin gumboro) secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok V1, V2 dan V3 (kelompok yang divaksin gumboro) pada minggu pertama dan minggu kedua setelah vaksinasi tetelo ($p < 0,05$). Perlu dilakukam penelitian lanjutan untuk mengungkap perbedaan pengaruh imunosupresif dari vaksin gumboro.

Kata kunci: vaksin gumboro, pengaruh imonosupresif, respon imun, vaksinasi ND.

ABSTRACT

The variety of Gumboro live vaccine strains (hot, intermediate, and mild) are available in Indonesia. The immunosuppressive effect of these vaccines under field conditions is not known. This research was conducted to determine this devastating effect of such vaccine strains on the immune response of chickens vaccinated against Newcastle disease (ND). Sixty chickens were kept separately in five groups (i.e. V1, V2, V3, V4, and K). At the age of seven days, group V1, V2, and V3 were given hot, intermediate, and mild strains of Gumboro live vaccine respectively while the other two groups recieved no Gumboro vaccine (V4 and K). At the age of 14 days, all groups, except group K which were kept as a negative control, were vaccinated against ND. The level of antibody produced in response to ND vaccination was measured in sera collected at day 0, 7, 14, and 21 post ND vaccination using a standard micro-haemagglutination inhibition test. Data of the antibody titers were analyzed using analysis of variance followed by Duncan's multiple range test. The results showed that all Gumboro vaccine strains still retain its immunosuppressive nature on humoral immune response in chickens that later vaccinated against ND. The geometric mean titer (GMT) of anti-NDV antibody of group V4 (unvaccinated against Gumboro) was significantly higher than that of group V1, V2, and V3, i.e. groups of chickens that had been given variety strains of Gumboro vaccines, at the first and second week after ND vaccination ($p < 0.05$). The difference of this immunosuppressiveness among variety of Gumboro vaccine strains need further clarification.

Key words : Gumboro vaccines, immunosuppressive effect, immune response, ND vaccine, broiler chickens

PENDAHULUAN

Penyakit gumboro dikenal pula dengan sebutan penyakit bursitis menular (*Infectious bursal disease* /), merupakan penyakit sistemik yang bersifat akut disertai dengan penekanan respon imun humoral dengan cara perusakan pada organ bursa fabrisius (BF) (Becht, 1980). Penyakit tersebut merupakan ancaman penting bagi industri peternakan ayam karena menyebabkan kerugian besar pada peternakan ayam di seluruh dunia (Mueller, 2003) termasuk juga di Indonesia (Partadiredja *et al.*, 1993; Parede *et al.*, 1995; Kencana *et al.*, 1995; Soejodono *et al.*, 1995). Virus IBD strain ganas (*very virulent strains of IBD virus/vvIBD virus*) telah ditemukan di Asia termasuk juga di Indonesia (Rudd *et al.*, 2002; Parede *et al.*, 2003; Mahardika dan Parede 2009), strain itu menyebabkan penyakit secara akut dengan angka kematian tinggi yaitu 5-40 % pada ayam petelur dan 3-5 % pada ayam pedaging (van den Berg *et al.*, 2000). Di Australia virus gumboro yang sangat ganas menyebabkan kematian tinggi, yaitu sebesar 5-25 % pada ayam pedaging dan 30-70 % pada ayam petelur (Ignjatovic, 2004).

Virus penyakit gumboro tergolong ke dalam familia *Birnaviridae* yang mempunyai asam inti RNA serat ganda (Lukert dan Saif, 2003). Preferensi virus gumboro terutama pada sel calon pembentuk antibodi yaitu organ bursa fabrisius (Kaeufer dan Weis, 1980). Lingkungan mikro pada bursa Fabrisius yang mendukung berpengaruh positif bagi replikasi virus karena tersedianya sel-sel yang permisif dalam jumlah besar. Tropisma yang khas pada bursa fabrisius ini menyebabkan adanya pengaruh umur ayam terhadap kepekaan infeksi gumboro. Infeksi letal biasanya terjadi pada ayam umur 3-8 minggu pada saat bursa fabrisius mencapai perkembangan maksimum. Ayam pedaging umur empat minggu lebih peka terhadap penyakit gumboro dibandingkan dengan ayam umur tiga dan lima minggu, sedangkan pada anak ayam umur dua minggu infeksi virus penyakit gumboro bersifat subklinis (Khan *et al.*, 2009).

Replikasi virus pada bursa fabrisius menyebabkan kerusakan sel-sel calon pembentuk antibodi. Fenomena tersebut menyebabkan penekanan respons imun humoral primer yang berat baik pada ayam yang terinfeksi klinis maupun subklinis. Pengaruh imunosupresi tersebut menyebabkan ayam lebih peka terhadap berbagai infeksi dan kurang

memberikan respons terhadap vaksinasi (Lukert dan Hitchner, 1984; Rosenberger *et al.*, 1993). Pengaruh imunosupresi ini juga dilaporkan pada penggunaan vaksin gumboro aktif. Hal itu disebabkan atenuasi secara sempurna virus penyakit gumboro sangat sulit dilakukan (Lukert dan Hitchner, 1984; Rosenberger *et al.*, 1993).

Virus penyakit gumboro tahan terhadap lingkungan: bersifat sangat stabil, tahan terhadap desinfektan, serta pH 2-11, dan inaktif pada pH 12 (Etterdossi dan Saif, 2008). Cara yang paling efektif untuk mengendalikan penyakit gumboro adalah melalui vaksinasi. Program vaksinasi yang ditawarkan kepada peternak tidak seragam dan tergantung pada produsen vaksin. Contoh program vaksinasi pada perusahaan pembibitan ayam pedaging adalah vaksinasi pertama umur 1 hari dan/atau 2-3 minggu dengan vaksin aktif yang diatenuasikan yang diikuti dengan vaksinasi *booster* pada umur 16-18 minggu untuk memberikan perlindungan pada anak ayam yang diproduksi dengan menggunakan vaksin inaktif (Etterdossi dan Saif, 2008).

Vaksinasi satu kali pada *day old chick*/DOC ayam pedaging dengan vaksin intermediate dapat merangsang respons imun terhadap penyakit gumboro namun tidak protektif (Bejo *et al.*, 2004a), sedangkan vaksinasi pada ayam *broiler* umur 14 hari menghasilkan antibodi yang protektif (Bejo *et al.*, 2004b). Pemberian vaksin *intermediate* secara per-oral (melalui air minum) menghasilkan titer antibodi yang paling tinggi dibandingkan dengan cara aplikasi yang lain. Titer antibodi protektif dengan tingkat mortalitas rendah dan derajat kerusakan bursa fabrisius yang paling ringan dihasilkan melalui cara ini (Babiker *et al.*, 2004). Perlu diwaspadai bahwa program vaksinasi dengan menggunakan vaksin virus ganas (vv IBD virus) dapat berakibat terjadinya penyebaran virus vaksin pada kelompok ayam sekandang akibat dari replikasi virus melalui ekskreta (Kabell *et al.*, 2005).

Program vaksinasi gumboro menggunakan berbagai jenis vaksin baik vaksin aktif yang mengandung virus relatif masih kuat (dikenal dengan sebutan vaksin hot), vaksin aktif dengan kandungan virus lemah (atau vaksin mild), vaksin aktif dengan virus sedang (vaksin intermediate) dan vaksin inaktif (Etterdossi dan Saif, 2008; Rosenberg *et al.*, 1993). Vaksin aktif telah dilaporkan masih mempunyai sifat imunosupresif apabila diberikan pada ayam.

Perbandingan langsung sifat immunosupresif tersebut perlu dikaji secara mendalam. Apakah penyakit gumboro menyebabkan penekan respon imun secara temporer atau permanen juga belum diungkap. Sifat immunosupresif merupakan faktor yang merugikan pada peternak karena vaksinasi penyakit gumboro dapat mengurangi daya guna vaksinasi penyakit-penyakit menular lain seperti penyakit Newcastle (*Newcastle disease/ND*).

Penyakit tetelo disebabkan oleh *Avian Paramyxovirus type-1* (APMV-1), genus *Avulavirus*, familia *Paramyxoviridae*. Berdasarkan atas virulensinya, virus tetelo (NDV) dikelompokkan menjadi tiga *pathotype* yaitu: lentogenik adalah strain virus yang kurang virulen, mesogenik merupakan strain virus dengan virulensi sedang sedangkan velogenik adalah strain virus yang sangat ganas. Kerugian yang ditimbulkan akibat penyakit tetelo karena angka sakit (morbiditas) maupun kematian (mortalitas) pada ternak unggas yang sangat tinggi. Mortalitas dan morbiditas dapat mencapai 100 % pada kelompok ayam yang peka. Patogenisitas virus tetelo dipengaruhi oleh galur virus, rute infeksi, umur ayam, lingkungan. Selama ayam sakit mengeluarkan virus tetelo dalam jumlah besar melalui feses. Pencegahan penyakit tetelo dilakukan dengan vaksinasi baik dengan vaksin aktif maupun vaksin inaktif (Alexander, 2001). Vaksinasi tetelo seringkali mengalami kegagalan akibat terjadi immunosupresi yang disebabkan oleh infeksi gumboro (Boudaoud dan Alloui, 2008).

Di lapangan, terdapat berbagai jenis vaksin gumboro aktif, baik yang mengandung virus lemah, sedang, dan virus yang relatif masih kuat (Etterdossi dan Saif, 2008; Rosenberger *et al.*, 1993). Vaksin-vaksin aktif tersebut umumnya bersifat immunosupresif sehingga dapat merugikan peternak dalam upaya vaksinasi terhadap penyakit unggas yang lain, termasuk penyakit yang penting yaitu penyakit tetelo. Berapa besar pengaruh immunosupresi vaksin gumboro yang dipasarkan di Indonesia belum dipelajari. Berdasarkan tingkat virulensinya, tampaknya vaksin-vaksin gumboro mempunyai tingkat immunosupresif mulai dari tingkat lemah, sedang dan kuat berturut-turut pada vaksin lemah, sedang dan kuat.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji dampak immunosupresif berbagai vaksin gumboro terhadap vaksinasi tetelo pada ayam pedaging pada tingkat respons imun primer. Hasil

penelitian ini diharapkan dapat menjadi informasi dasar tentang sifat immunosupresif vaksin gumboro yang dipasarkan di Indonesia. Pengetahuan tersebut sangat bermanfaat bagi peternak dalam pemilihan jenis vaksin yang lebih tepat.

METODE PENELITIAN

Sampel penelitian sebanyak 60 ekor ayam pedaging strain CP707 umur sehari (DOC) dipelihara pada kandang terisolasi dalam lima petak yang terpisah, masing-masing berisi 12 ekor ayam. Anak-anak ayam tersebut diberikan ransum komersial sesuai dengan tahapan pertumbuhannya. Air minum diberikan secara *ad-libitum*. Anak-anak ayam juga diberikan obat cacing, antibiotik, vitamin, dan koksidiostat.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola *split plot* dengan faktor utama jenis vaksin dan faktor tambahan waktu pengambilan serum. Umur tujuh hari anak ayam tersebut divaksinasi dengan berbagai jenis vaksin gumboro (V1=kelompok ayam yang divaksin dengan vaksin gumboro kuat, V2= kelompok ayam yang divaksin dengan vaksin gumboro sedang, V3= kelompok ayam yang divaksin dengan vaksin gumboro lemah, V4 dan K= kelompok ayam yang tidak divaksinasi gumboro. Satu minggu setelah vaksinasi gumboro (umur 14 hari) seluruh ayam percobaan divaksinasi dengan vaksin tetelo aktif (V1, V2, V3, dan V4). Satu kelompok (K) tidak mendapatkan vaksinasi digunakan sebagai kontrol.

Pengamatan untuk mengetahui status kekebalan maternal terhadap tetelo pada semua kelompok ayam percobaan dilakukan dengan pengambilan sera secara acak pada 30 ekor ayam umur 7 hari. Pengambilan darah ayam percobaan dilakukan pada hari ke 0, 7, 14 dan 21 pasca vaksinasi tetelo dengan venojek melalui vena brachialis dan ditampung dengan tabung reaksi steril tanpa antikoagulan. Serum yang diperoleh kemudian diuji titer antibodinya terhadap tetelo dengan teknik hambatan hemaglutinasi mikro baku (OIE, 2010).

Data titer antibodi terhadap tetelo yang diperoleh dari masing-masing anggota kelompok pada hari ke 0, 7, 14 dan 21 pasca vaksinasi tetelo dianalisis dengan analisis varian, dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan menggunakan program komputer SPSS 17.0

HASIL DAN PEMBAHASAN

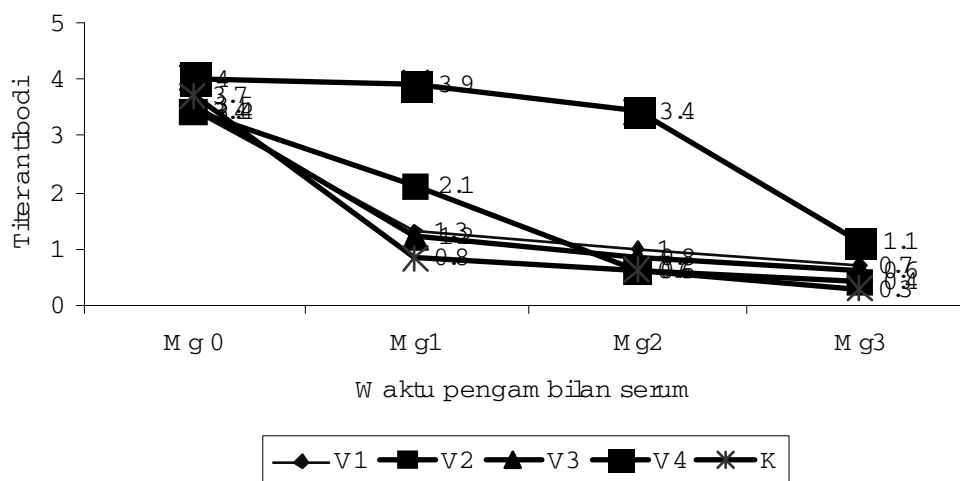
Hasil pengujian antibodi maternal dari 30 sampel serum ayam percobaan yang diambil pada umur enam hari menunjukkan bahwa kondisi antibodi maternal seluruh ayam percobaan adalah homogen. Pada umur tersebut seluruh sampel serum mempunyai antibodi maternal terhadap tetelo dengan kisaran 2^4 - 2^7 unit HI dengan rata-rata $2^{6,06}$ unit HI dan galat baku 0,88.

Rataan titer antibodi terhadap tetelo disajikan pada Gambar 1, pada kelompok ayam yang divaksinasi dengan vaksin gumboro kuat (V1), vaksin gumboro sedang (V2), dan vaksin gumboro lemah (V3) mempunyai gambaran yang sama dengan ayam kontrol, yaitu menurun sejalan dengan waktu pengamatan. Meskipun demikian, pada minggu pertama tampak bahwa rata-rata titer antibodi pada kelompok-kelompok tersebut (V1,V2,V3) sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol (K). Satu kelompok ayam yang hanya diberikan vaksin tetelo (V4), pada minggu ke-1, dan ke-2 mempunyai antibodi terhadap tetelo kurang lebih sama dengan sebelum divaksinasi, dan akhirnya menurun pada minggu ke-3.

Analisis varian dari titer antibodi terhadap tetelo menunjukkan bahwa terdapat pengaruh nyata dari pemberian berbagai jenis vaksin

gumboro dan waktu pengamatan (data tidak ditampilkan).

Pengujian lebih lanjutan terhadap nilai tengah pada setiap minggu (Tabel 1) menunjukkan bahwa pada minggu ke-1, dan ke-2 titer antibodi terhadap tetelo pada kelompok ayam yang hanya divaksinasi dengan vaksin tetelo saja nyata lebih tinggi ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok lainnya. Keadaan tersebut bertahan sampai minggu ke-3 walaupun secara statistika tidak berbeda nyata dengan kelompok yang mendapatkan vaksin gumboro kuat dan lemah ($p > 0,05$). Pada minggu ke-1, kelompok yang divaksinasi gumboro sebelum vaksinasi (V1,V2, dan V3) mempunyai titer antibodi sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol (K). Perbedaan dengan kelompok kontrol tersebut secara statistik tampak nyata pada kelompok V2. Antibodi yang masih dapat dideteksi pada kelompok kontrol dapat diasumsikan sebagai antibodi maternal. Dengan demikian antibodi yang terdeteksi pada kelompok perlakuan (V1,V2, V3 dan V4) merupakan jumlah total respons kebal terhadap vaksin dan sisa antibodi maternal. Uraian tersebut menunjukkan bahwa ayam yang divaksinasi gumboro hanya mampu memberikan respon kebal humoral terhadap vaksin tetelo yang minimum.



Gambar 1. Rataan titer antibodi Geometrik (GMT) terhadap vaksinasi tetelo

Keterangan: V1 = kelompok vaksin kuat, V2= kelompok vaksin sedang, V3= kelompok vaksin lemah, V4= kelompok yang tidak divaksin gumboro, hanya divaksin tetelo saja, K= kelompok kontrol tidak divaksinasi. Mg = minggu.

Tabel 1. Hasil uji jarak berganda Duncan terhadap titer antibodi tetelo pada ayam yang divaksinasi dengan berbagai jenis vaksin gumboro, tidak divaksin, dan kelompok kontrol pada minggu ke-0, 1, 2, dan 3 pascavaksinasi tetelo.

	Minggu ke-0	Minggu ke-1	Minggu ke-2	Minggu ke-3
Vaksin kuat (V1)	3.4 (a)	1.3 (ab)	1.0 (a)	0.7 (ab)
Vaksin sedang (V2)	3.4 (a)	2.1 (b)	0.6 (a)	0.4 (a)
Vaksin lemah (V3)	3.5 (a)	1.2 (ab)	0.8 (a)	0.6 (ab)
Tidak divaksin (V4)	4.0 (a)	3.9 (c)	3.4 (b)	1.1 (b)
Kontrol (K)	3.7 (a)	0.8 (a)	0.6 (a)	0.3 (a)

Keterangan: Huruf yang sama kearah kolom menunjukkan berbeda tidak nyata (p>0,05)

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semua vaksin gumboro yang digunakan masih menyebabkan penekanan respon imun terhadap respons primer (humoral) ayam pedaging terhadap vaksin tetelo. Hasil serupa juga dilaporkan di Perancis (Boudaoud dan Alloui, 2008). Peneliti tersebut mengungkapkan bahwa vaksin gumboro menyebabkan kerusakan bursa fabrisius dengan derajat yang bervariasi. Perbedaan sifat immunosupresif dari berbagai vaksin tersebut tidak dapat ditunjukkan pada penelitian ini. Hal ini terjadi karena vaksinasi tetelo dilakukan pada saat titer antibodi maternal pada ayam percobaan masih tinggi. Dengan demikian, untuk mengetahui apakah sifat immunosupresif vaksin gumboro aktif bersifat sementara atau permanen perlu dilakukan penelitian serupa setelah ayam divaksinasi yang kedua kalinya sehingga dapat diungkapkan pengaruhnya pada respons sekunder. Adanya residu sifat immunosupresif ini, penelitian tentang penggunaan vaksin gumboro rekombinan yang tidak mempunyai tropisme pada bursa fabrisius perlu dikembangkan, seperti yang dilakukan oleh Darteil *et al.*, (1995)

SIMPULAN

Vaksin gumboro yang digunakan pada penelitian ini menyebabkan penekanan respon imun (immunosupresif) terhadap respons primer vaksinasi tetelo pada ayam pedaging. Titer antibodi terhadap vaksinasi tetelo pada ayam yang tidak divaksin gumboro lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok yang divaksin gumboro pada minggu pertama dan minggu kedua setelah vaksinasi tetelo.

SARAN

Vaksinasi Gumboro menggunakan vaksin aktif supaya dilakukan dengan hati-hati agar dampak immunosupresif yang masih tersisa tidak merugikan peternak akibat terjadinya wabah oleh penyakit lain. Disamping itu perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui perbedaan sifat immunosupresif dari vaksin Gumboro.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dikti yang telah mendanai penelitian ini, dan semua pihak yang telah terlibat dalam penelitian maupun penulisannya.

DAFTAR PUSTAKA

Alexander DJ, 2001. Newcastle Disease. *Br Poult Sci.* 42: 5-22.
 Babiker MAA and Tawfeeg E. 2004. Role of Administration Routes of Anti Infectious Bursal Disease Virus (Gumboro) Vaccine on Immunization of Chicken. *International Journal of Poultry Science* 7 (3): 279-282.
 Bejo MH, Ng M.K, Ng H.Y. 2004^a. Day Old Vaccination Against Infectious Bursal Disease in Broiler Chickens. *International Journal of Poultry Science* 3 (2): 124-128
 Bejo MH, Chan KK, Wong CC. 2004^b. Feed Based Infectious Bursal Disease Vaccination in Broiler Chickens. *J Animal and Veterinary Advances.* 3 (2): 107-111.
 Boudaoud A, Alloui N. 2008. Evaluation of the safety of live attenuated vaccine viruses against infectious bursal disease (Gumboro disease) in conventional broiler chicks. *Rev Sci Tech.* 2008 Dec;27(3):793-802.

- Darteil R, Bublot M, Laplace E, Bouquet JF, Audonnet JC, Rivière M, 1995. Herpesvirus of turkey recombinant viruses expressing infectious bursal disease virus (IBDV) VP2 immunogen induce protection against an IBDV virulent challenge in chickens. *Virology*. 1995 Aug 20;211(2): 481-90.
- Etterdossi N dan Saif YM. 2008. Infectious Bursal Disease In: *Diseases of Poultry* 14th ed. YM Saif, AM Fadly, JR Glisson, LR McDougald, LK Nolan, DE Swayne (Eds), Iowa State. Press, Ames, Iowa, 161-179.
- Ignjatovic J. 2004. Australian and New Zealand Standard Diagnostic Procedures 1-14.
- Kabell S, Handberg KJ, Li Y, Kusk M and Bisgaard M. 2005. Detection of vvIBDV in Vaccinated SPF chickens. *Acta Veterinaria Scandinavica* 46: 219-227.
- Kencana GAY, Sarjono B, Asmara W. 1995. Kekebalan Ayam Pedaging yang Divaksinasi dengan Berbagai Macam Program Vaksinasi Penyakit Gumboro terhadap Tantangan Virus Penyakit Gumboro Isolat Karanganyar. *BPPS UGM*, 8 (4B): 505-515.
- Khan RW, Khan FA, Farid K, Khan I, Tariq M. 2009. Prevalence of Infectious Bursal Disease in Broiler in District Peshawar. Asian Research Publishing Netwok (ARPN) *Journal of Agricultural and Biological Science* 4 (1): 1-5.
- Mahardika IGNK dan Parede, L. 2008. Analisis filogenetik sekuens nukleotida bagian hipervariabel protein VP2 virus Gumboro isolat Indonesia. *J. Vet* , 9 (2): 60-64.
- OIE. 2010. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2010. www.oie.int. Akses tanggal 11 Mei 2011.
- Parede L. Ronohardjo P, Hamid H, Indriani R, Sudarisman, Salihin I, dan Kusmaedi 1994. Isolasi dan karakterisasi virus IBD dari kejadian akut wabah penyakit Gumboro. *Penyakit Hewan* 47: 20-24.
- Parede LHS, Sapats G, Gould M, Rudd S, Lowther, and Ignjatovic J. 2003. Characterization of infectious bursal disease virus isolates form Indonesia indicates the existence of very virulent strains with unique genetic changes. *Avian Pathol* 32 (5): 511-518.
- Partadiredja M, Rumawas W, Suharyanto I. 1993. Penyakit Gumboro di Indonesia serta akibatnya bagi peternak ayam. *Hemera Zoa*, 71: 29-38.
- Rosenberger J.K, Cloud SS, and Metz A. 1993. Use of infectious bursal disease virus variant vaccines in broiler breeders. Proc.56th Western Poultry Disease Conference, March 3-5. 1987. Davis California, pp. 105-109.
- Rudd MF, Heine HG, Sapats S I, Parede L, Ignjatovic J. 2002. Characterization of an Indonesian very virulent strain of infectious bursal disease virus. *Arch Virol* 147: 1303-1322.
- Soejoedono R, M Partadiredja, and CS Leksmono 1995. Sifat serologik sejumlah isolat virus Gumboro yang berasal dari wilayah padat ternak ayam di Indonesia. *Hemera Zoa*. 77: 106-110.
- van den Berg TP. 2000. Acute Infectious Bursal Disease in Poultry: a review. *Avian Pathol* 29: 175-194.