

**UJI EFEKTIVITAS *ECHINACEA PURPUREA (RADIX)* SEBAGAI
IMUNOMODULATOR TERHADAP TITER ANTIBODI
AI (*AVIAN INFLUENZA*) DAN ND (*NEWCASTLE DISEASE*)
PADA BROILER JANTAN**

(Skripsi)

Oleh

LUSIA KOMALA WIDIASTUTI



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

ABSTRAK

UJI EFEKTIVITAS *ECHINACEA PURPUREA (RADIX)* SEBAGAI IMUNOMODULATOR TERHADAP TITER ANTIBODI AI (*AVIAN INFLUENZA*) DAN ND (*NEWCASTLE DISEASE*) PADA BROILER JANTAN

Oleh

Lusia Komala Widiastuti

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas *E. purpurea* sebagai imunomodulator terhadap titer antibodi AI dan ND pada broiler jantan, dan dilaksanakan pada Desember 2018–Januari 2019 di Laboratorium Lapang Terpadu, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Analisis titer antibodi dilakukan di Laboratorium Virologi Balai Veteriner Lampung. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dan tiga ulangan yaitu air minum tanpa *E. purpurea* (P0), air minum dengan 3 mg/kg BB/hari *E. purpurea* (P1), air minum dengan 6 mg/kg BB/hari *E. purpurea* (P2), dan air minum dengan 9 mg/kg BB/hari *E. purpurea* (P3). *E. purpurea (Radix)* efektif dalam meningkatkan titer antibodi *Avian Influenza* dan tidak efektif dalam meningkatkan titer antibodi *Newcastle Disease* pada broiler jantan. Pemberian *E. purpurea* dengan dosis 6 mg/kg BB/hari dapat meningkatkan titer antibodi *Avian Influenza* pada broiler jantan.

Kata kunci: *E. purpurea*, Imunomodulator, Titer antibodi, *Avian Influenza*, *Newcastle Disease*, Broiler jantan

ABSTRACT

EFFECTIVENESS TEST OF *ECHINACEA PURPUREA (RADIX)* AS AN IMMUNOMODULATOR AGAINST AVIAN INFLUENZA (AI) AND NEWCASTLE DISEASE (ND) ANTIBODY TITER OF MALE BROILER

By

Lusia Komala Widiastuti

These study intended to know the effectiveness of *E. purpurea* as an immunomodulator against AI and ND antibody titer in male broilers, and conducted in December 2018 until January 2019 at Lapang Terpadu Laboratory, Faculty of Agriculture, University of Lampung. Antibody titer analysis was done in Virology Laboratory of Balai Veteriner Lampung. These research used Completely Randomized Design (CRD) with four treatments and three repetitions, drinks without *E. purpurea* (P0), drinks with 3 mg/kg BW/day *E. purpurea* (P1), drinks with 6 mg/kg BW/day *E. purpurea* (P2), and drinks with 9 mg/kg BW/day *E. purpurea* (P3). Antibody titer of AI analyzed by the Haemagglutination Inhibition (HI) method of 60 samples showed results that were not significantly different (P > 0.05). *E. purpurea (Radix)* is effective to increase AI antibody titer and is not effective to increase ND antibody titer in male broiler. *E. purpurea (Radix)* at a dose of 6 mg/kg BW/day can increase AI antibody titer in male broiler.

Keywords: *E. purpurea*, Immunomodulator, Antibody titer, Avian Influenza, Newcastle Disease, Male broiler

**UJI EFEKTIVITAS *ECHINACEA PURPUREA (RADIX)* SEBAGAI
IMUNOMODULATOR TERHADAP TITER ANTIBODI
AI (*AVIAN INFLUENZA*) DAN ND (*NEWCASTLE DISEASE*)
PADA BROILER JANTAN**

(Skripsi)

Oleh

Lusia Komala Widiastuti

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA PETERNAKAN**

Pada

**Jurusan Peternakan
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

Judul Penelitian : **UJI EFEKTIVITAS *ECHINACEA PURPUREA* (*RADIX*) SEBAGAI IMUNOMODULATOR TERHADAP TITER ANTIBODI *AVIAN INFLUENZA* (AI) DAN *NEWCASTLE DISEASE* (ND) PADA BROILER JANTAN**

Nama Mahasiswa : **Lusia Komala Widiastuti**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1514141010


Jurusan : Peternakan


Fakultas : Pertanian

MENYETUJUI,
Komisi Pembimbing

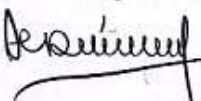
Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota


drh. Purnama Edy Santosa, M. Si.
NIP 19700324 199703 1 005


Siswanto, S. Pt., M. Si.
NIP 19770423 200912 1 002

MENGETAHUI,
Ketua Jurusan Peternakan
Fakultas Pertanian


Sri Suharyati, S. Pt., M. P.
NIP 19680728 199402 2 002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

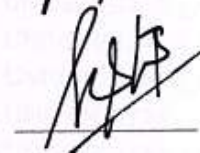
Ketua : drh. Purnama Edy Santosa, M. Si.



Sekretaris : Siswanto, S. Pt., M. Si.



**Penguji
Bukan Pembimbing : drh. Madi Hartono, M. P.**



2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M. Si.
NIP 19611020 198603 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 29 Mei 2019

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Gunung Sugih Besar pada 1 Desember 1997, anak pertama dari dua bersaudara dari pasangan Bapak Drs. H. Edy Pandoyo dan Ibu Hj. Sripin. Penulis menyelesaikan pendidikan taman kanak-kanak di TK ABA Bustanul Athfal Pugung Raharjo pada 2003, sekolah dasar di SD Negeri 1 Pugung Raharjo pada 2009, sekolah menengah pertama di SMP Negeri 1 Sekampung Udik pada 2012, sekolah menengah atas di SMA Negeri 1 Bandar Sribhawono pada 2015. Pada 2015, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) pada Januari–Februari 2018 di Pekon Talang Jawa, Kecamatan Pulau Panggung, Kabupaten Tanggamus dan penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) pada Juli–Agustus 2018 di Unit Pelaksana Teknis Daerah Balai Pengembangan Bibit, Pakan Ternak, dan Diagnostik Kehewanan (UPTD BPBPTDK) Dinas Pertanian Daerah Istimewa Yogyakarta. Selama masa studi perkuliahan, penulis pernah menjadi Sekretaris Bidang Informasi dan Komunikasi dan Anggota Bidang Informasi dan Komunikasi Himpunan Mahasiswa Peternakan (HIMAPET) Fakultas Pertanian, serta menjadi Anggota Aktif di Forum Studi Islam (FOSI) Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

Long Life Learning

Sejatinya, manusia itu belajar sejak ia masih dalam kandungan sampai ia meninggal.

Maka, nikmatilah proses belajarmu, habiskanlah jatah gagalmu di masa muda, karena setiap orang punya jatah gagal dan pasti punya jalan kesuksesan masing-masing.

~ Lusia Komala Widiastuti ~

Life is the most difficult exam.

Many people fail because they try to copy others, not realizing that everyone has a different question paper.

Many people regret when it's too late.

~ Anonymous ~

Hidup ini seperti sepeda. Agar tetap seimbang, kau harus terus bergerak

~ Albert Einstein ~

Barangsiapa hanya berleha-leha, maka tidak akan pernah mendapatkan sesuatu yang besar

~ Edy Pandoyo ~

SANWACANA

Alhamdulillah hirobbila'lamin. Rasa syukur yang dalam penulis ucapkan kepada Allah *Subhanallahu Wata'ala*, karena berkat rahmat dan hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini tanpa halangan yang berarti. Skripsi ini disusun berdasarkan penelitian yang dilaksanakan pada Desember 2018–Januari 2019 di Laboratorium Lapang Terpadu dan Laboratorium Virologi Balai Veteriner Lampung. Penulis melakukan penelitian mengenai uji efektivitas *E. purpurea* (*Radix*) sebagai imunomodulator terhadap titer antibodi AI dan ND pada broiler jantan.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M. Si.–selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung–atas izin;
2. Ibu Sri Suharyati, S.Pt, M. P.–selaku Ketua Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung–atas persetujuan kepada penulis dalam melaksanakan penelitian serta senantiasa memberikan dukungan, motivasi, dan pemahaman;
3. Bapak Dr. Kusuma Adhianto, S. Pt., M. P.–selaku Pembimbing Akademik penulis dan Sekretaris Jurusan Peternakan–atas bimbingan, dukungan, dan nasihat kepada penulis;

4. Bapak drh. Purnama Edy Santosa, M. Si–selaku Dosen Pembimbing Utama– yang senantiasa memberikan waktu, dukungan, motivasi, dan pemahaman;
5. Bapak Siswanto, S. Pt, M. Si–selaku Dosen Pembimbing Anggota– yang senantiasa memberikan waktu, dukungan, motivasi, dan pemahaman;
6. Bapak drh. Madi Hartono, M. P.–selaku Dosen Penguji– yang senantiasa memberikan waktu, dukungan, motivasi, dan pemahaman;
7. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Peternakan–yang telah memberikan pembelajaran dan pemahaman yang berharga;
8. Bapak, Mama, Adik, serta semua keluarga–atas do’a, dukungan, dan kasih sayang yang selalu diberikan dengan tulus;
9. Reandy Ilham Andriyono–atas do’a dan dukungan yang diberikan;
10. Arinda Kusuma Wardani, Bahari Yuslian Ramadhan, Dahlia, dan Fitri Wahyuni–selaku rekan tim penelitian;
11. Sahabat-sahabatku Apri Angesti Purnawati, Eewi Maulina Raninda, Eni Kurniawati, Erry Novita Sari, Miftahul Hasanah, M. Ali Thasim, M. Syarifudin, Putri Mayangsari, Wahyu Puji Santoso, dan Yuswan Jaya–atas do’a, dukungan, dan kasih sayang yang selalu diberikan dengan tulus;
12. Sahabat-sahabatku baik yang berada di lingkup jurusan Peternakan maupun di luar Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung–atas do’a, dukungan, dan kasih sayang yang selalu diberikan dengan tulus;
13. Teman seperjuangan sekaligus keluarga besar Jurusan Peternakan angkatan 2015, terima kasih atas pertemanan dan dukungan selama perkuliahan sampai saat ini, semoga sukses selalu bersama kita semua, *Aamiin*;

14. Kakanda dan Ayunda Angkatan 2013 dan 2014, serta adik-adik Angkatan 2016, 2017, dan 2018 Jurusan Peternakan yang telah memberikan semangat, saran, dan motivasi;
15. Seluruh pihak yang ikut terlibat selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan, akan tetapi penulis berharap skripsi yang sederhana ini dapat dimanfaatkan dengan sebaik-baiknya. Semoga seluruh bantuan yang telah diberikan kepada penulis mendapat pahala dan ridho dari Allah *Subhanallahu Wata'ala* dan semoga skripsi ini bermanfaat bagi pembaca.

Bandar Lampung, April 2019
Penulis,

Lusia Komala Widiastuti

DAFTAR ISI

	Halaman
SANWACANA	ix
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang dan Masalah.....	1
B. Tujuan Penelitian	4
C. Manfaat Penelitian	4
D. Kerangka Pemikiran.....	4
E. Hipotesis	7
II. TINJAUAN PUSTAKA	8
A. Broiler	9
B. <i>Echinacea purpurea</i>	12
C. <i>Avian Influenza (AI)</i>	15
D. <i>Newcastle Disease (ND)</i>	17
E. Sistem Kekebalan Tubuh Broiler.....	20
F. Titer Antibodi.....	22
G. Imunomodulator.....	25

III. METODE PENELITIAN	27
A. Waktu dan Tempat Penelitian	27
B. Alat dan Bahan Penelitian.....	27
B.1 Alat.....	27
B.2 Bahan	28
C. Rancangan Penelitian.....	29
D. Pelaksanaan Penelitian.....	31
D.1 Persiapan kandang	31
D.2 Pemeliharaan.....	31
D.3 Prosedur pengujian	32
D.3.1 Pengambilan sampel darah dan isolasi serum	32
D.3.2 Pengujian titer antibodi AI dan ND.....	33
a) Uji HA	33
b) Uji HI.....	34
E. Peubah yang Diamati	34
F. Analisis Data.....	35
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	36
A. Efektivitas <i>E. purpurea (Radix)</i> terhadap Titer Antibodi <i>Avian Influenza (AI)</i> pada Broiler Jantan	36
B. Efektivitas <i>E. purpurea (Radix)</i> terhadap Titer Antibodi <i>Newcastle Disease (ND)</i> pada Broiler Jantan.....	47
V. KESIMPULAN DAN SARAN	54
A. Kesimpulan	54
B. Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil uji HI titer antibodi <i>Avian Influenza</i> pada broiler jantan dengan pemberian <i>E. purpurea (Radix)</i>	36
2. Hasil uji HI titer antibodi <i>Newcastle Disease</i> pada broiler jantan dengan pemberian <i>E. purpurea (Radix)</i>	47
3. Analisis ragam pengaruh perlakuan terhadap titer antibodi AI	62
4. Analisis ragam pengaruh perlakuan terhadap titer antibodi ND.....	64
5. Hasil pemeriksaan titer antibodi pada broiler jantan (dalam log)....	65
6. Suhu dan kelembaban kandang penelitian	66

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>E. purpurea</i> (a) dan ekstrak <i>E. purpurea</i> (b).....	12
2. Morfologi virus <i>Avian Influenza</i>	16
3. Skematis virus <i>Newcastle Disease</i>	18
4. Sistem kekebalan tubuh broiler	20
5. Tata letak rancangan penelitian.....	30
6. Rataan titer antibodi <i>Avian Influenza</i> broiler jantan	45
7. Rataan titer antibodi <i>Newcastle Disease</i> broiler jantan	50

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang dan Masalah

Unggas merupakan salah satu bagian dunia peternakan yang tidak pernah sepi peminat dan terus melonjak seiring bertambahnya kesadaran masyarakat akan pentingnya protein hewani. Sektor dari dunia perunggasan saat ini banyak diminati oleh *stakeholder*, salah satunya adalah budidaya broiler. Peternakan broiler merupakan salah satu sektor usaha peternakan yang berkembang pesat. Pada 2017, populasi broiler di Indonesia mencapai 1,69 miliar ekor (BPS, 2017). Broiler merupakan strain ayam hasil budidaya teknologi yang memiliki karakteristik ekonomis dengan ciri khas pertumbuhan yang cepat, konversi pakan yang baik, dan dapat dipotong pada usia yang relatif muda sehingga pemeliharaannya menjadi lebih cepat.

Broiler juga memiliki kelemahan, salah satunya yaitu rentan terhadap penyakit. Pencegahan penyakit menjadi salah satu faktor penting yang harus diperhatikan dalam pemeliharaan broiler karena banyak kasus penyakit yang disebabkan oleh virus seperti *Avian Influenza (AI)* dan *Newcastle Disease (ND)*.

Kasus penyakit yang disebabkan oleh virus dapat dicegah dengan cara meningkatkan titer antibodi broiler. Antibodi merupakan protein yang terbentuk sebagai respon terhadap antigen yang masuk ke tubuh melalui vaksinasi dan bereaksi secara spesifik dengan antigen tersebut. Namun, tidak semua vaksin dapat menghasilkan titer antibodi yang tinggi, salah satunya akibat tertekannya sistem imun (imunopresif). Kondisi tersebut mengakibatkan ayam memerlukan penggerak sistem imun atau imunomodulator.

Penelitian berkaitan pengganti produk kimiawi yang digunakan dalam pemeliharaan broiler sedang marak dilakukan. Produk herbal menjadi salah satu alternatif karena berasal dari bahan alami asal tumbuhan. Saat ini, produk herbal banyak digunakan di kalangan peternak, salah satunya adalah penggunaan imunomodulator yang ditambahkan ke dalam pakan atau air minum ternak. Horton *et al.* (1991) menyatakan bahwa keuntungan dari pemberian produk herbal pada ternak yaitu mampu mengaktifasi respon imun dan bersifat antibakterial, antiviral, dan antioksidan karena beragam kandungan yang ada di dalam produk herbal. Salah satu tanaman herbal yang diketahui mengandung senyawa imunomodulator adalah *E. purpurea*.

Sampai saat ini di Indonesia, belum ada penelitian tentang efektivitas pemberian *E. purpurea*, khususnya bagian akarnya terhadap titer antibodi AI dan ND pada broiler jantan. Penggunaan broiler jantan dalam penelitian ini dilakukan karena adanya perbedaan antara broiler jantan dan betina dari sisi morfologi dan fisiologinya. Ayam jantan (*rooster*) dari sisi morfologi lebih atraktif, berukuran

lebih besar sehingga perdagangan lebih banyak, dan bulu ekornya panjang menjuntai. Selain morfologinya, terdapat pula perbedaan dari sisi fisiologis yang diatur oleh sistem hormon (Suhardi, 2014).

Pertumbuhan organ limfoid broiler jantan lebih cepat dibandingkan dengan broiler betina sehingga proses pembentukan antibodi broiler jantan juga lebih cepat. Ternak yang memiliki bobot limfoid besar cenderung tahan terhadap berbagai penyakit (Sturkie, 2000). Rohyati (2002) menyatakan bahwa perkembangan bursa *Fabricius* ayam jantan sangat terhambat oleh hormon testosteron, sedangkan hormon estrogen pada ayam betina tidak menghambat perkembangan bursa *Fabricius*. Bursa *Fabricius* merupakan organ limfoid yang hanya dimiliki oleh unggas dan berfungsi sebagai penghasil dan tempat pendewasaan limfosit serta berisi makrofag dan sel plasma.

Oleh karena adanya beberapa perbedaan antara jantan dan betina, penulis menggunakan broiler jantan sebagai objek untuk mengetahui efektivitas *E. purpurea* (*Radix*) dengan dosis pemberian yang berbeda sebagai imunomodulator terhadap titer antibodi AI dan ND. Dalam penelitian ini, sediaan ekstrak *E. purpurea* dalam bentuk bubuk ditambahkan dalam air minum broiler dengan dosis yang sudah disesuaikan dengan perhitungan mg dosis yang dikonsumsi per hari dibagi dengan rata-rata bobot badan manusia dewasa, sehingga perhitungan dosis yang dianjurkan yaitu 6 mg/kg BB/hari. Maka, diujicobakan juga pada dosis yang lebih rendah dan lebih tinggi dari dosis yang dianjurkan dengan perbandingan yang sama. Dosis yang digunakan yaitu 0 mg/kg BB/hari pada kelompok kontrol,

3 mg/kg BB/hari, 6 mg/kg BB/hari, dan 9 mg/kg BB/hari pada kelompok perlakuan.

B. Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas pemberian *E. purpurea (Radix)* sebagai imunomodulator serta mengetahui dosis *E. purpurea (Radix)* yang terbaik terhadap titer antibodi AI dan ND pada broiler jantan

C. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai efektivitas pemberian *E. purpurea (Radix)* sebagai imunomodulator terhadap titer antibodi AI dan ND broiler jantan apabila hasil yang didapatkan berbeda nyata, serta menghasilkan bukti ilmiah dan berguna untuk peternak dalam mempertimbangkan penggunaan *E. purpurea* sebagai imunomodulator.

D. Kerangka Pemikiran

Broiler merupakan ayam pedaging hasil budidaya teknologi yang memiliki karakteristik ekonomis dengan ciri khas yaitu pertumbuhan yang cepat, konversi pakan yang baik, dan dapat dipotong pada usia yang relatif muda karena broiler merupakan hasil budidaya yang menggunakan teknologi maju, sehingga memiliki sifat ekonomi yang menguntungkan (Murtidjo, 1992).

Broiler juga memiliki kelemahan, yaitu rentan terhadap serangan penyakit, terutama penyakit yang disebabkan oleh virus dapat menyebabkan mortalitas hingga 100% pada ayam yang peka dan titer antibodinya rendah (Darminto dan Ronohardjo, 1996). Cara pencegahan dan pengendalian yang dapat diterapkan yaitu vaksinasi, sanitasi, dan menjaga kebersihan kandang (Akoso, 1993).

Kekebalan ternak terhadap suatu penyakit tertentu dapat diketahui dengan pengujian titer antibodi. Titer antibodi yang tinggi menandakan tingkat antibodi dalam tubuh dapat melindungi broiler dari virus, begitu juga sebaliknya. Apabila titer antibodi rendah, maka antibodi dalam tubuh broiler tidak protektif terhadap virus tertentu. Potensi vaksin AI dan ND diukur dengan uji *Haemagglutination Inhibition* (HI). Berdasarkan standar OIE (2002), titer antibodi protektif terhadap virus AI adalah $\log 2^4$, sedangkan pada virus ND sebesar $\log 2^5$.

Salah satu tindakan yang dapat dilakukan untuk meningkatkan titer antibodi ND dan AI broiler yaitu memberikan bahan herbal yang mengandung senyawa imunomodulator. Imunomodulator bekerja dengan beberapa cara, pertama, meningkatkan proses *maturity* (pematangan) sel yang berperan dalam respon imun. Kedua, meningkatkan proses proliferasi sel, terutama sel-sel makrofag (memfagosit antigen dan menghancurkan antigen dalam sel), dan limfosit (pembentukan antibodi dan membunuh antigen dalam sel), sehingga jumlahnya menjadi lebih banyak dalam waktu yang relatif singkat. Dengan demikian, jumlah antigen yang dapat diproses meningkat lebih banyak dan titer antibodi

yang dihasilkan menjadi lebih tinggi. Ketiga, mengaktifkan komplemen sehingga eliminasi antigen dalam sel menjadi lebih efektif (Kurniawan, 2007).

Salah satu bahan yang mengandung senyawa imunomodulator adalah *E. purpurea*. Penelitian Dehkordi *et al.* (2011) di Iran dengan 600 ekor broiler *Ross* yang menggunakan ekstrak akar *E. purpurea* yang ditambahkan ke dalam pakan menunjukkan bahwa *E. purpurea* meningkatkan aktivitas non spesifik dari sistem kekebalan tubuh. Dalam penelitian tersebut, *E. purpurea* memiliki efek terhadap status kesehatan dan kekebalan tubuh non spesifik karena mampu meningkatkan jumlah leukosit dan heterofilnya, namun belum diketahui efek yang ditimbulkan terhadap titer antibodinya.

Dengan adanya penelitian yang mengungkapkan efektivitas dari pemberian *E. purpurea* pada broiler *Ross*, maka diharapkan penggunaan sediaan yang berisi ekstrak kering akar *E. purpurea* juga efektif untuk meningkatkan titer antibodi AI dan ND pada broiler jantan strain *Lohmann*.

E. Hipotesis

1. Pemberian imunomodulator *E. purpurea* (*Radix*) dengan dosis yang berbeda efektif terhadap peningkatan titer antibodi AI dan ND pada broiler jantan.
2. Adanya salah satu dosis pemberian *E. purpurea* (*Radix*) yang terbaik terhadap titer antibodi AI dan ND broiler jantan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Broiler

Broiler adalah ayam tipe pedaging yang dihasilkan dari hasil seleksi sistematis sehingga dapat tumbuh dan mencapai bobot badan tertentu dalam waktu relatif singkat (Murwani, 2010). Keunggulan broiler adalah pertumbuhannya yang sangat cepat, sehingga dapat dijual sebelum usia 5 minggu dengan bobot rata-rata 1,5 kg. Broiler sangat efisien dalam merubah pakan menjadi daging (Situmorang *et al.*, 2013). Hirarki klasifikasi ayam menurut Rose (2001) adalah:

Kingdom : *Animalia*
Phylum : *Chordata*
Subphylum : *Vertebrata*
Divisi : *Carinathae*
Class : *Aves*
Ordo : *Galliformes*
Family : *Phasianidae*
Genus : *Gallus*
Species : *Gallus gallus domestica sp.*

Broiler memiliki kelebihan dan kelemahan. Kelebihannya adalah dagingnya empuk, ukuran badan besar, bentuk dada lebar, padat dan berisi, efisiensi terhadap pakan cukup tinggi, dan penambahan bobot badan sangat cepat. Kelemahannya adalah diperlukan pemeliharaan secara intensif dan cermat, relatif lebih peka terhadap suatu infeksi penyakit, dan sulit beradaptasi dengan lingkungan (Murtidjo, 1992).

Rasyaf (2004) menyatakan bahwa broiler mempunyai pertumbuhan yang cepat serta mempunyai dada yang lebar dengan timbunan daging yang baik dan banyak. Pertumbuhan broiler sangat signifikan sejak umur 1–5 minggu. Pada umur 4–5 minggu, ternak biasanya sudah dapat dipanen.

Ayam jantan dan betina memiliki perbedaan dari sisi morfologi dan fisiologisnya. Sisi morfologinya yaitu ayam jantan (*rooster*) lebih atraktif, berukuran lebih besar sehingga perdagingan lebih banyak, dan bulu ekornya panjang menjuntai. Ayam betina (*hen*) relatif lebih kecil, jalu pendek atau nyaris tidak kelihatan, berjengger kecil, dan bulu ekornya pendek. Sisi fisiologisnya yaitu perkelaminan ayam yang diatur oleh sistem hormon (Suhardi, 2014).

Bursa *Fabricius* merupakan organ limfoid yang hanya dimiliki oleh unggas dan berfungsi sebagai penghasil dan tempat pendewasaan limfosit serta berisi makrofag dan sel plasma. Bursa *Fabricius* mencapai ukuran maksimum dari tiap galur dan jenis kelamin ayam. Pada ayam jantan perkembangan bursa *Fabricius*

sangat terhambat oleh hormon testosteron, sedangkan hormon estrogen pada ayam betina tidak menghambat perkembangan bursa *Fabricius* (Rohyati, 2002).

Hormon seks mengatur fungsi kekebalan tubuh bawaan dari monosit, sel dendritik, makrofag, sekresi interferon, dan produksi sitokin. Broiler jantan memiliki hormon testosteron, sedangkan broiler betina memiliki hormon estrogen. Kehadiran estrogen dan testosteron juga dapat berdampak secara tidak langsung pada sel-sel kekebalan (Klein *et al.*, 2014).

Testosteron dan hormon seks lainnya memainkan peran dalam imunitas dan berdampak pada aktivitas sel B unggas dewasa. Pada betina, estrogen telah terbukti berdampak pada perkembangan, maturasi, dan pembentukan sel memori karena estrogen memiliki reseptor yaitu ER A dan ER B, yang memungkinkan senyawa yang berhubungan dengan estrogen untuk langsung memodulasi fungsi limfosit. Senyawa yang berhubungan dengan estrogen ini meningkatkan jumlah molekul sel B *antiapoptotic* penting untuk aktivitas dan perkembangan sel B serta sel B memori, peningkatan produksi antibodi, dan hipermutasi somatik.

Testosteron juga memiliki reseptor, namun tidak berfungsi untuk memodulasi sel B dan justru menurunkan jumlah molekul sel B serta tidak memiliki pengaruh terhadap sel B seperti estrogen (Klein *et al.*, 2014; Voigt *et al.*, 2019).

Steege *et al.* (2016) mengungkapkan penelitiannya pada manusia bahwa kadar testosteron yang lebih tinggi berkorelasi dengan respon antibodi yang lebih rendah terhadap vaksin influenza. Furman *et al.* (2013) mengungkapkan mengenai

kemungkinan gen yang terletak pada kromosom X dan Y juga memengaruhi respon terhadap vaksinasi. Polimorfisme gen pada kromosom X untuk protein imunologis dapat mempengaruhi kekebalan tubuh tanggapan terhadap vaksin. *Toll-like receptor 7* yang terletak pada kromosom X, dapat lolos dari inaktivasi X dan menghasilkan respon yang lebih tinggi pada betina daripada jantan. Spach (2009) menyatakan bahwa kromosom Y gen juga telah terbukti memengaruhi kerentanan yang bergantung pada jenis kelamin untuk penyakit autoimun dan mungkin untuk fungsi kekebalan tubuh lainnya.

Testosteron bersifat immunosupresif pada vaksin tertentu seperti influenza. Testosteron bertindak langsung pada sel-sel kekebalan dengan menekan faktor transkripsi yang terlibat dalam aktivasi kekebalan. Faktor-faktor transkripsi ini akan menekan ekspresi gen yang terlibat dalam metabolisme lipid dengan aktivitas immunosupresif dan membuat mekanisme umpan balik negatif. Efek immunosupresif testosteron dapat bermanfaat sebagai homeostatis yang memungkinkan mekanisme untuk menurunkan respon imun (Furman *et al.*, 2013)

B. *Echinacea purpurea*



(a)

(b)

Gambar 1. *E. purpurea* (a) dan ekstrak *E. purpurea* (b)
(Sumber: Scott, 2018)

Nama latin : *Echinacea purpurea*, *Echinacea angustifolia*, *Echinacea pallida*

Nama lain : *Echinacea*, *Purple Coneflower*, *Coneflower*, *American Coneflower*

Kingdom : *Plantae*

Subkingdom : *Traceobionta*

Division : *Magnoliyopita*

Class : *Magnoliopsida*

Subclass : *Asteridae*

Family : *Asteraceae*

Genus : *Echinaceae Moench*

Species : *Echinacea purpurea* (L.) Moench (USDA, 2018).

E. purpurea (Gambar 1) tergolong famili *Asteraceae* yang banyak ditemukan tumbuh liar di Amerika Utara dan dikenal sebagai tanaman yang berkhasiat meningkatkan ketahanan tubuh, dan telah diuji untuk terapi kanker, AIDS, dan mengatasi kelelahan kronis (Rahardjo, 2004).

Ciri-ciri tanaman *E. purpurea* adalah tinggi tanaman mencapai 82 cm, batang hijau keunguan, daun berbentuk bulat telur memanjang, tepi daun bergerigi jarang, rasio panjang lebar daun 5:1, dan bunga tepi berjumlah 18–21 buah berwarna merah muda dengan bentuk bulat telur memanjang. Warna bunga saat kuncup adalah merah (Subositi, 2011).

E. purpurea dapat memacu aktivitas limfosit, meningkatkan fagositosis, dan menginduksi produksi interferon. *Echinacea* memiliki sembilan spesies, namun hanya *E. purpurea* yang direkomendasikan secara luas sebagai imunomodulator (Tyler, 1993; Craig, 1999). Komponen karakteristik sebagai parameter *E. purpurea* adalah fruktofuranosida dan alkilamida (Karnen *et al.*, 2003). Tanaman *E. purpurea* mengandung tujuh komponen kimia yaitu polisakarida, flavonoid, asam kafeat, minyak atsiri, poliasetilen, dan alkilamida. Komponen fruktofuranosida dapat menstimulasi sistem kekebalan tubuh dan regenerasi jaringan yang rusak serta meningkatkan jumlah sel fagosit dan makrofag (Burick *et al.*, 1997). Aktivitas imunostimulan dari *E. purpurea* disebabkan adanya komponen polisakarida, derivat polar asam kafeat, dan lipofilik alkamida (Perry *et al.*, 2000)

Komponen kimia yang terdapat pada *E. purpurea* meliputi:

- a) Karbohidrat : polisakarida (*arabinogalactan, xyloglycan, echinacein*),
inulin;
- b) Glikosida : asam kafeat dan derivatnya (*chiroic acid, echinacoside*),
cynarin, aquicin acid;

- c) Alkaloid : *isotussilagine, tussilagine;*
- d) Alkilamid : *echinacein;*
- e) Isobutilamid : *pentadecadienses, hexadecadienes;*
- f) Poliasetilen : *germacrene sesquiterpene;*
- g) Lain-lain : asam lemak, minyak esensial (*humulene, caryophyllene, phytosterol*).

(Schumacher *et al.*, 1994).

Asam kafeat, *cynarin*, polisakarida, dan glikoprotein bersifat polar sedangkan alkilamid dan poliasetilen bersifat lipofilik. Efek yang muncul karena adanya interaksi di antara komponen tersebut, tetapi hal ini belum dievaluasi secara formal (Bartram, 1998).

Akar dari *E. purpurea* mengandung arabinogalaktan, glikoprotein, dan flavonoid yang berfungsi untuk meningkatkan respon imun. Fraksi polimer berfungsi menstimulasi produksi antibodi dan makrofag untuk produksi interleukin secara *in vitro*, selain itu *E. purpurea* bersifat antiviral (Bodinet dan Beuscher, 1991).

E. purpurea dapat memacu makrofag untuk menghasilkan sitokin yang akan membantu regulasi sistem imun. Kultur makrofag yang mendapat stimulasi *E. purpurea* menunjukkan efek antiviral dibandingkan dengan yang tidak distimulasi (Burger *et al.*, 1997). Aktivasi makrofag yang berhubungan dengan aktivasi limfosit T akan meningkatkan produksi IFN dan merangsang proliferasi sel-sel T sitotoksik (Mishima *et al.*, 2004).

Ekstrak *E. purpurea* mengandung senyawa atau kombinasi dari senyawa dengan kemampuan untuk berinteraksi secara khusus dengan virus dan mikroba. Selain itu, *E. purpurea* dapat mempengaruhi berbagai jalur sinyal sel epitel dan menghambat virus/bakteri yang disebabkan sekresi sitokin/kemokin dan mediator inflamasi lainnya, termasuk sel-sel kekebalan tubuh yang memberikan efek menguntungkan secara keseluruhan karena kombinasi senyawa tertentu bekerja secara sinergis dan ada kemungkinan bahwa *E. purpurea* juga menampilkan sinergisme (Hudson, 2012).

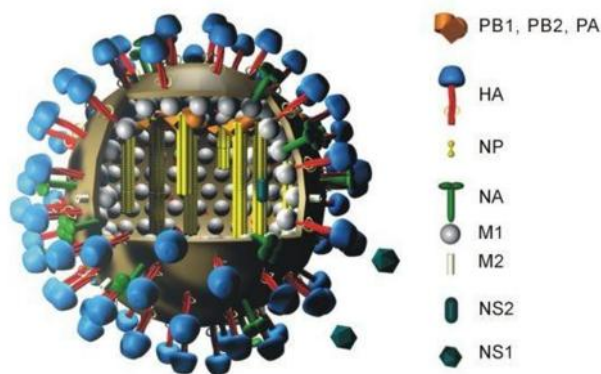
Salah satu respon imunitas broiler adalah terbentuknya antibodi jika ada infeksi penyakit tertentu. Menurut Blumenthal *et al.* (1989), *press juice* dari tanaman segar yang sedang berbunga telah dikenal sebagai komponen aktif *E. purpurea* yang mempunyai nilai terapeutik, termasuk akar *E. purpurea*, *E. pallida*, dan *E. angustifolia*. Pemberian turunan *E. purpurea* yang berlebihan dapat menyebabkan penekanan sistem imun karena stimulasi yang berlebihan sehingga direkomendasikan pemberian imunomodulator *E. purpurea* secara bertahap dan interval (Jurcic *et al.*, 1989).

C. Avian Influenza (AI)

Ada tiga tipe virus influenza, yaitu tipe A, B, dan C. Ketiganya dapat menyerang manusia, virus tipe A pada umumnya menyerang hewan tingkat rendah dan unggas. Virus influenza tipe A ini terdiri dari 16 subtipe dan semuanya dapat menyerang unggas. Virus AI disebut juga *Fowl Plaque Virus* (FPV). Virus ini masuk dalam golongan virus Influenza tipe A, famili *Orthomyxoviridae*, genus

Influenza virus (Rott dan Klenk, 1985; Malole dan Pramono, 1989). Antigenesitas dari virus ini ditentukan dari permukaan glikoproteinnya yaitu haemaglutinin (H) dan Neuraminidase (N) dan terdapat 16 varian dari hemaglutinin dan 9 varian Neuraminidase (N). H5N1 bermutasi secara cepat dan mempunyai kecenderungan mengandung gen dari virus yang terinfeksi dari spesies hewan lain.

Secara umum, virus *Orthomyxoviridae* ukurannya kira-kira 80–120 nm, peka terhadap eter, rusak oleh asam, mengandung RNA serabut tunggal, bersimetri *helix*, dan memiliki amplop di sekeliling nukleokapsidnya (dapat dilihat pada Gambar 2). Virus mengalami pematangan di dekat membran sel. Pada permukaan partikel virus terdapat penonjolan yang terdiri dari haemaglutinin dan neuraminidase.



Gambar 2. Morfologi virus *Avian Influenza*
(Sumber: Google Images)

Menurut Rott and Klenk (1985), secara umum, genom virus Influenza A terdiri atas 8 RNA tunggal yang terpisah dengan polaritas negatif. Tiga gen terbesar

virus dan gen ke-5 berperan dalam pembentukan komponen internal virus. Gen ke 4 dan 6 mengkode sintesis glikoprotein, haemaglutinin, dan neuraminidase. Konsekuensi yang timbul dari keadaan ini adalah terjadinya perubahan antigenisitas dan patogenisitas, sehingga sulit diproduksi vaksin yang ideal.

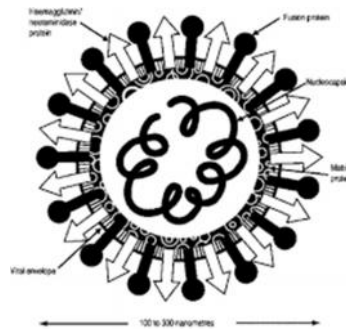
Gejala klinis pada unggas yang dapat diamati berupa bersin, batuk, serta produksi air mata yang berlebihan. Namun, beberapa strain AI seperti H9N2 dapat beradaptasi pada unggas dan dapat menimbulkan gejala yang lebih nyata dan juga mengakibatkan kematian (Li *et al.*, 2004). Infeksi AI H7N1 pada 1999 di Italia yang menyerang peternakan kalkun menimbulkan gejala klinis seperti batuk, bersin, kebengkakan pada sinus infraorbitalis, menurunnya produksi telur (30–80%) serta kematian 5–20% dari populasi (Capua dan Terregino, 2009). Dunn *et al.* (2003) menambahkan bahwa sebagian besar subtipe virus AI termasuk dalam kategori AI yang apabila berjangkit pada ayam akan menimbulkan gejala ringan.

D. Newcastle Disease (ND)

ND merupakan penyakit viral bersifat kompleks yang disebabkan oleh *Avian paramyxovirus* tipe-1 yang tergolong ke dalam genus *Rubulavirus* dan family *paramyxovirus*. Famili ini tergolong ke dalam virus RNA yang memiliki *envelope* serta memiliki sel target berupa sel epitel mukosa saluran pernapasan atau pencernaan (Fadilah dan Polana, 2004).

Secara umum, virus ini mempunyai ukuran besar, beramplop, dan berbentuk pleomorfik dengan diameter 150–300 nm seperti pada Gambar 3. Virion

terdiri dari susunan nukleokapsid *helix* yang berisi asam inti RNA rantai tunggal (ssRNA), dikelilingi membran tipis yang terdiri dari lipid bilayer, lapisan protein, dan glikoprotein yang berbentuk paku menonjol pada permukaan partikel (Fenner dan Fransk, 1995).



Gambar 3. Skematis virus *Newcastle Disease*
(Sumber: Google Images)

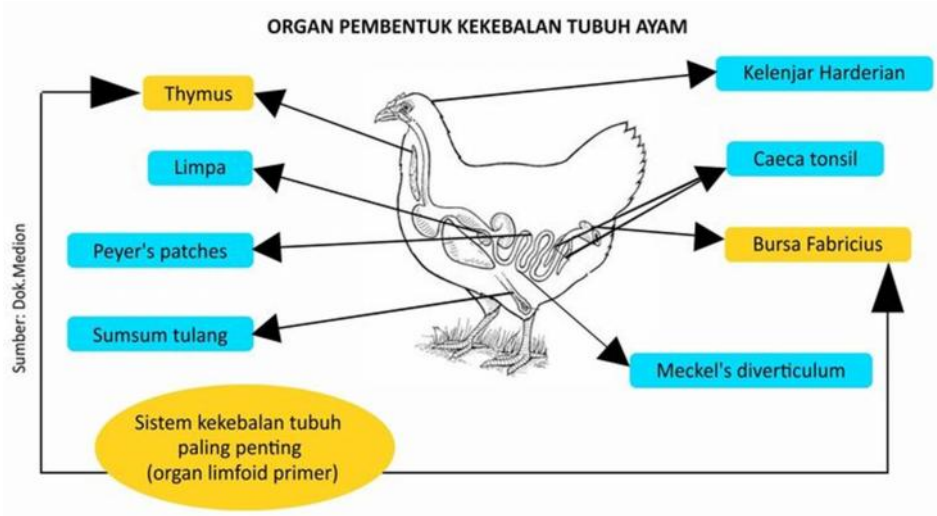
ND terbagi atas 5 fenotipe berdasarkan gejala klinisnya, yakni *Viscerotropic Velogenic Newcastle Disease* (VVND), *Neurotropic Velogenic Newcastle Disease* (NVND), *Mesogenic, Lentogenic Respiratory*, dan *Asymptomatic Enteric*. VVND merupakan bentuk akut yang menimbulkan mortalitas tinggi pada unggas semua umur. Tipe ini juga dikenal dengan bentuk *doyle*, yaitu dicirikan dengan adanya lesio perdarahan pada saluran pencernaan. Gejala klinis yang muncul antara lain unggas terlihat lesu, pembengkakan di daerah sekitar mata, diare dengan feses berwarna hijau atau putih dapat bercampur dengan darah, tortikolis, tremor otot, serta paralisis kaki dan sayap (Herenda dan Franco, 1996),

NVND dikenal dengan bentuk *beach* menimbulkan gejala klinis pada saluran pernapasan dan saraf yang dapat menyebabkan mortalitas sampai 50% pada unggas dewasa dan sebesar 90% pada unggas muda. Gejala klinis yang sering timbul adalah sesak napas, ngorok, paralisis, dan tortikolis. Virus ND galur mesogenik hanya menyebabkan kematian pada unggas muda yang dikenal dengan bentuk *beaudette*. Tingkat virulensi bentuk ini kurang ganas dibandingkan bentuk *beach*. Virus ND galur lentogenik memiliki gejala klinis yang bersifat ringan, tidak menimbulkan kematian pada unggas dewasa, dan biasanya banyak digunakan sebagai vaksin. *Assymptomatic enteric* merupakan bentuk yang tidak menunjukkan gejala klinis dan gambaran patologis, tetapi ditandai dengan infeksi usus oleh virus galur lentogenik yang tidak menyebabkan penyakit (Alexander dan Senne, 2008).

Masa inkubasi penyakit ini beragam antara 2–15 hari, tergantung dari jenis virus yang menginfeksi, umur, dan status kekebalan unggas, infeksi dengan organisme lain, kondisi lingkungan, dan jalur penularan (Fadilah dan Polana, 2004). Unggas yang terinfeksi mempunyai peranan penting dalam penyebaran penyakit dan sebagai sumber infeksi. Pada mulanya, virus bereplikasi pada epitel mukosa dari saluran pernapasan bagian atas dan saluran pencernaan. Sesaat setelah infeksi, virus menyebar lewat aliran darah ke ginjal dan sumsum tulang yang menyebabkan viremia sekunder, kesulitan bernapas akibat penyumbatan pada paru-paru dan kerusakan pada pusat pernapasan di otak. Perubahan pascamati meliputi pendarahan pada laring, trakea, esofagus, dan di sepanjang usus (Fenner dan Fransk, 1995).

E. Sistem Kekebalan Tubuh Broiler

Sistem kekebalan merupakan bentuk adaptasi dari sistem pertahanan pada vertebrata sebagai pelindung terhadap serangan mikroorganisme patogen dan kanker. Sistem ini dapat membangkitkan beberapa macam sel dan molekul yang secara spesifik mampu mengenali dan mengeliminasi benda asing (Decker, 2000). Sistem kekebalan unggas (dapat dilihat pada Gambar 4) dibagi menjadi sistem kekebalan spesifik dan non spesifik (Carpenter, 2004). Mekanisme kedua sistem kekebalan tersebut tidak dapat dipisahkan satu sama lainnya, keduanya saling meningkatkan efektivitasnya dan terjadi interaksi sehingga menghasilkan suatu aktivitas biologik yang seirama dan serasi (Fenner dan Fransk, 1995).



Gambar 4. Sistem kekebalan tubuh broiler
(Sumber: Medion, 2018)

Sistem kekebalan nonspesifik merupakan sistem kekebalan yang secara alami diperoleh tubuh dan proteksi yang diberikannya tidak terlalu kuat. Semua agen penyakit yang masuk ke dalam tubuh akan dihancurkan oleh sistem kekebalan

tersebut sehingga proteksi yang diberikannya tidak spesifik terhadap penyakit tertentu (Butcher dan Miles, 2003).

Respon imun yang terbentuk pascavaksinasi pertama disebut respon imun primer. Respon imun primer adalah peristiwa pengenalan awal terhadap suatu imunogen (Suardana *et al.*, 2009). Respon imun ayam dengan vaksin *killed* lebih lambat jika dibandingkan dengan menggunakan vaksin *live* (Harini *et al.*, 2013). Apabila kelak mendapat paparan antigen yang sama, maka dapat memberikan respon yang lebih kuat dan lebih cepat (Banu *et al.*, 2009).

Sistem kekebalan berupa pertahanan fisik, mekanik, dan kimiawi yang berespon pada awal paparan. Kekebalan fisik-mekanik terdiri dari kulit dan selaput lendir yang merupakan bagian permukaan tubuh paling luar untuk mencegah masuknya benda asing. Faktor lain yang berperan dalam sistem pertahanan non spesifik adalah makrofag melalui proses fagositosis dengan membunuh, menghancurkan, dan mengeliminasi antigen dari tubuh. Sel makrofag ini meliputi sel *langerhans* di kulit, sel *kupffer* di hati, sel debu di paru-paru, sel histiosit di jaringan, dan astrosit di sel syaraf. Sel makrofag meliputi sel neutrofil, basofil, dan eosinofil (Wibawan *et al.*, 2003).

Peningkatan nilai titer antibodi terjadi karena peningkatan aktivitas sel T yang menstimulasi sel B untuk pembentukan antibodi. Sel limfosit yang berperan penting dalam sistem kekebalan terbagi menjadi dua, yaitu sel B dan sel T. Sel B di dalam tubuh mamalia secara umum matang dan berdiferensiasi dalam sumsum

tulang, sedangkan dalam tubuh unggas sel B matang dan berdiferensiasi dalam bursa *Fabricsius*. Sel T di dalam tubuh mamalia dan unggas matang dan berdiferensiasi pada kelenjar timus. Sel B merupakan bagian dari imunitas humoral (*antibody mediated immunity*) karena sel B akan memproduksi antibodi yang bersirkulasi dalam saluran darah dan limfa. Antibodi tersebut akan menempel pada antigen asing yang memberi tanda agar dapat dihancurkan oleh sel sistem imun (Darmono, 2006).

Antibodi induk yang ditransfer secara pasif kepada anaknya berfungsi sebagai pertahanan terhadap benda asing karena sistem imun anak belum sempurna. Pemaparan antigen ke dalam tubuh induk akan menghasilkan antibodi di dalam telur dengan spesifitas antibodi yang tinggi terhadap antigen yang telah disuntik (Rollier *et al.*, 2000).

F. Titer Antibodi

Titer antibodi merupakan ukuran jumlah unit antibodi per unit volume serum. Pemeriksaan titer antibodi dilakukan untuk mengetahui kemampuan protein serum yang mengandung antibodi untuk menggumpalkan dan menghancurkan antigen yang masuk ke dalam tubuh (Subowo, 2009). Titer antibodi biasanya dinyatakan sebagai hasil perbandingan terbalik dengan pengenceran serum pada tabung reaksi terakhir pada seri pengenceran yang meningkat yang menunjukkan proses penggumpalan. Proses penggumpalan dan penghancuran yang dilakukan oleh serum merupakan respon kekebalan humoral dan dinyatakan dalam satuan *Serum Agglutination Unit* (SAU) (Suriasih *et al.*, 2015).

Ayam yang diberi vaksinasi awal (*priming*) vaksin *live* bersamaan dengan vaksin *killed* memberi proteksi lebih tinggi dibanding ayam yang diberi *priming* vaksin *live* saja karena vaksin *killed* diberikan pada DOC dan tidak dipengaruhi oleh antibodi dari induk atau maternal antibodi, sedangkan vaksin *live* yang diberikan pada hari pertama kemungkinan terjadi netralisasi oleh maternal antibodi atau antibodi induk sehingga kekebalan yang terbentuk tidak mencapai maksimal (Tabbu, 2000).

Zat haemaglutinin yang terdapat dalam tubuh virus atau bakteri tersebut bersifat antigenik yang dapat merangsang terbentuknya antibodi spesifik. Antibodi yang terbentuk tersebut memiliki kemampuan menghambat terjadinya aglutinasi darah yang disebabkan oleh haemaglutinin dari virus atau bakteri. HI *test* merupakan metode uji serologis yang mudah dilakukan dan hasilnya dapat diketahui dengan cepat yang menggunakan reaksi hambatan haemaglutinasi tersebut untuk membantu menentukan diagnosa penyakit secara laboratorium dan mengetahui status kekebalan tubuh. Prinsip kerja dari HI *test* ialah mereaksikan antigen dan serum dengan pengenceran tertentu sehingga dapat diketahui sampai pengenceran berapa antibodi yang terkandung dalam serum dapat menghambat terjadinya aglutinasi eritrosit (Sutrisna dan Santosa, 2014).

Rendahnya hasil titer antibodi disebabkan broiler mengalami stres, stres tersebut dapat merangsang menurunnya hormon tiroksin dan menyebabkan metabolisme menjadi tidak maksimal sehingga vaksin yang telah diberikan tidak dapat berperan untuk menggerak produksi antibodi broiler (Saputro *et al.*, 2013).

Titer antibodi dikatakan protektif terhadap ND jika memiliki titer antibodi minimal $\log 2^5$ dan titer antibodi AI setinggi $\log 2^4$ (OIE, 2002). Nilai titer antibodi ND maternal akan berangsur turun pada hari ke-7 dan hilang pada hari ke-14 (Hamal *et al.*, 2006).

Ranuh (2008) menjelaskan bahwa maternal antibodi termasuk ke dalam imunitas pasif dan hanya berlangsung selama beberapa hari atau beberapa minggu saja (12–14 hari) (Tizard, 2000). Maternal antibodi diturunkan dari induk ayam kepada keturunannya dalam kuning telur (*Gamma Globulin*) yang dikenal juga dengan nama IgY (*Yolk Immunoglobulin*) dan berguna untuk ketahanan tubuh ternak terhadap infeksi pada tahap awal (Warr *et al.*, 1995). Adanya maternal antibodi dalam tubuh ternak biasanya akan menetralkan antigen yang masuk akibat perlakuan vaksinasi, dan menghasilkan *breakthrough titer*. *Breakthrough titer* merupakan kondisi jumlah titer/maternal antibodi yang tidak menetralkan vaksin AI (Rahardjo, 2004). Titer antibodi ND yang rendah setelah vaksinasi diduga karena pemberian vaksin aktif melalui air minum tidak cukup menggerakkan kekebalan humoral, karena vaksin aktif terutama menggerakkan kekebalan lokal mukosal dan kekebalan seluler (Kurnianto, 2015).

Broiler memiliki suhu nyaman agar menunjang produktivitasnya dengan baik, yaitu berkisar antara 18–22°C (Charles, 2002). Adanya stres akan berpengaruh terhadap imunitas tubuh melalui stimulasi sekresi kortisol dan adrenalin dari korteks dan medula adrenal serta berpengaruh terhadap pelepasan noradrenalin dari *postganglion* simpatis terminal saraf di pembuluh darah dan organ limfoid.

Stres akan memicu terjadinya immunosupresif di dalam tubuh dan merubah respon fisiologis broiler menjadi abnormal. Perubahan respon fisiologis ini berpengaruh pada keseimbangan hormonal dalam tubuh broiler. Stres akan menstimulir syaraf pada hipotalamus untuk aktif mengeluarkan *Corticotropic Relasing Hormone* (CRH). CRH akan mengaktifkan sekresi *Adrenocorticotropic Hormone* (ACTH) dalam jumlah banyak. ACTH yang meningkat akan merangsang korteks adrenal untuk aktif mengeluarkan kortikosteroid serta menyebabkan peningkatan pada sekresi glukokortikoid (Naseem *et al.*, 2005).

G. Imunomodulator

Imunomodulator adalah zat alami atau sintetis yang membantu mengatur atau menormalkan sistem kekebalan tubuh. Imunomodulator memperbaiki sistem kekebalan tubuh yang tidak seimbang dan mengurangi peradangan dalam saluran pencernaan. Ada dua jenis imunomodulator yaitu immunosupresan dan immunostimulan. Immunosupresan adalah agen yang menekan sistem kekebalan tubuh dan digunakan untuk mengontrol respon imun patologis pada penyakit autoimun. Immunostimulan adalah agen yang digunakan untuk meningkatkan ketahanan tubuh terhadap infeksi. Agen ini dapat meningkatkan tingkat basal dari respon imun, dan pada individu dengan penurunan respon imun sebagai agen *immunotherapeutic*. Beberapa gangguan seperti imunodefisiensi, penyakit autoimun, kanker, dan infeksi virus dapat diobati dengan obat-obatan immunostimulan (Patil *et al.*, 2012).

Imunomodulator bekerja dengan berbagai cara, yaitu meningkatkan jumlah dan aktivitas sel T, sel NK, dan makrofag serta mensekresikan interferon dan interleukin untuk meningkatkan pertahanan seluler (Tjay dan Rahardja, 2007). Menurut Block dan Mead (2003), sifat imunomodulator dibagi menjadi tiga, yaitu imunostimulan (meningkatkan sistem imun), imunorestorasi (memperbaiki sistem imun), dan imunosupresan (menurunkan sistem imun). Suatu zat kebal terbentuk secara spesifik untuk menghadapi antigen tertentu (Roitt, 1990).

Subowo (1993) menyatakan bahwa apabila dosis minimal suatu antigen telah dilampaui, maka semakin tinggi dosisnya, semakin meningkat pula respon imunnya secara sebanding. Oppenheim *et al.* (1987) menyatakan bahwa dosis tinggi cenderung menekan respon imun, sedangkan dosis rendah malah meningkatkan respon imun. Tizard (1988) menambahkan bahwa sifat yang timbul dari bahan imunogenik pada dosis yang sesuai mampu memicu peningkatan total leukosit yang lebih tinggi pada hewan yang diberi zat imunomodulasi sehingga terjadi peningkatan kekebalan tubuh yang berujung pada pembentukan titer antibodi.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Desember 2018–Januari 2019 di unit kandang Laboratorium Lapang Terpadu Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

Analisis titer antibodi AI dan ND dilaksanakan di Laboratorium Virologi Balai Veteriner Lampung, Bandar Lampung.

B. Alat dan Bahan Penelitian

B.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain:

1. kandang broiler;
2. bambu untuk membuat 12 petak kandang;
3. sekam dan koran bekas sebagai *litter*;
4. plastik terpal untuk tirai;
5. lampu pijar sebagai sumber pemanas;
6. *chick feeder tray*, 12 buah;
7. tempat minum manual, 12 buah;
8. nampan air *dipping*, 1 buah;
9. ember, 1 buah;

10. *hand sprayer*, 1 buah;
11. timbangan Vietnam kapasitas 10 kg, 1 buah;
12. timbangan digital, 1 buah;
13. termohigrometer, 1 buah;
14. karung dan plastik;
15. *soccorex*, 1 buah;
16. *disposable syringe* 5 ml, 12 buah;
17. tabung *eppendorf*, 12 buah;
18. peralatan pengujian titer antibodi ND dan AI dengan metode *Haemagglutination Inhibition* (HI), meliputi *micromixer*, *microplate* tipe V, *micropipet multichannel*, dan *micropipet single*;
19. alat tulis, kertas, dan kamera.

B.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain:

1. DOC broiler jantan *Lohmann* yang sudah divaksin sebanyak 60 ekor dengan pemeliharaan hingga umur 28 hari;
2. ransum broiler komersial berupa Gold BR 1 yang diberikan secara *ad libitum*;
3. sediaan ekstrak *E. purpurea* (*Radix*) dalam bentuk kapsul;
4. bahan untuk pengujian titer antibodi dengan metode HI (*Haemagglutination Inhibition*) meliputi isotonis PBS (*Phosphat Buffer Saline*) pH 7,4, cairan *chorion allantois*, antigen ND dan AI, serta RBC (*Red Blood Cell*) 1%;
5. air minum sesuai perlakuan dan air minum yang diberikan secara *ad libitum*.
Air minum sesuai perlakuan terdiri dari empat macam yaitu P0: air minum

tanpa *E. purpurea*, P1: air minum dengan 3 mg/kg BB/hari *E. purpurea*, P2: air minum dengan 6 mg/kg BB/hari *E. purpurea*, dan P3: air minum dengan 9 mg/kg BB/hari *E. purpurea*.

C. Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dan tiga ulangan. Setiap ulangan terdiri dari lima ekor broiler. Perlakuan yang diberikan dalam penelitian ini adalah pemberian *E. purpurea* yang ditambahkan ke air minum dengan dosis yang berbeda pada 60 ekor broiler jantan *Lohmann* yang terbagi menjadi:

- P0 : air minum tanpa *E. purpurea* (kontrol);
- P1 : air minum dengan 3 mg/kg BB/hari *E. purpurea*;
- P2 : air minum dengan 6 mg/kg BB/hari *E. purpurea*, dan;
- P3 : air minum dengan 9 mg/kg BB/hari *E. purpurea*.

Perhitungan dosis didasarkan pada mg ekstrak bahan kering pada setiap kapsul sediaan *E. purpurea* dan jumlah yang dikonsumsi dengan perhitungan sebagai berikut:

- Kandungan setiap kapsul sediaan = 100 mg *E. purpurea* (*Radix*)
- Dosis manusia dewasa = 3 kali sehari
- Berat badan rata-rata manusia dewasa = 50 kg

Sehingga perhitungannya yaitu:

- mg yang dikonsumsi = 100 mg x 3 kali sehari
= 300 mg/hari
- dosis sediaan = 300 mg/hari : 50 kg BB
= 6 mg/kg BB/hari (P2)

Berdasarkan perhitungan dosis sediaan *E. purpurea (Radix)* yang tertera pada label, didapatkan hasil 6 mg/kg BB untuk dosis yang dianjurkan. P1 dan P3 diujicobakan di atas dan di bawah dosis yang dianjurkan. Tata letak rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 5.

P3U1	P2U2	P1U3
P1U2	P3U2	P3U3
P0U3	P0U2	P2U3
P0U1	P2U1	P1U1

Gambar 5. Tata letak rancangan penelitian

Keterangan:

P : Perlakuan

U : Ulangan

Pemberian air minum dilakukan secara *ad libitum* dan pemberian *E. purpurea* dengan dosis yang berbeda diberikan ke broiler pada pagi hari berikutnya setelah DOC tiba (hari kedua). *E. purpurea* dilarutkan ke dalam air minum broiler dengan jumlah pelarut 1/5 dari kebutuhan air minum per ekor ayam, dan dipuasakan minum selama 1 jam sebelumnya yaitu mulai pukul 06.00–07.00 WIB untuk memastikan sediaan *E. purpurea* habis dikonsumsi dalam sekali pemberian. Selanjutnya pada pukul 08.00 WIB, ditambahkan air minum biasa tanpa tambahan *E. purpurea* secara *ad libitum*.

D. Pelaksanaan Penelitian

D.1 Persiapan kandang

Persiapan kandang dilakukan minimal satu minggu sebelum DOC datang (*chick in*), meliputi:

1. menyekat 12 petak kandang dengan bambu dengan ukuran 0,75 x 0,85 m untuk setiap petak yang berisi 5 ekor ayam;
2. mencuci lantai kandang dengan menggunakan air dan disikat dengan sabun;
3. mencuci peralatan kandang seperti *feed tray* dan tempat minum dengan sabun dan direndam menggunakan desinfektan;
4. memasang tirai kandang;
5. mengapur dinding, tiang, dan lantai kandang;
6. menaburi lantai kandang dengan sekam setebal 5–10 cm saat kandang sudah kering;
7. memasang lampu sebagai pemanas dan penerangan pada kandang;
8. menyemprot kandang dengan desinfektan;
9. menyiapkan tempat minum dan tempat pakan;
10. melakukan pengasapan (*fogging*) pada kandang, lalu kandang didiamkan selama 3 hari.

D.2 Pemeliharaan

1. melakukan pemeliharaan selama 28 hari;
2. memisahkan broiler ke dalam petak-petak kandang sejak umur 1 hari dan setiap petak kandang terdiri dari 5 ekor ayam;

3. menghidupkan lampu penerangan mulai pukul 17.00 sampai 06.00 WIB;
4. memberikan ransum secara *ad libitum*;
5. menimbang bobot tubuh broiler jantan secara acak setiap harinya untuk penentuan dosis;
6. mengukur suhu dan kelembaban kandang setiap hari, yaitu pada pukul 07.00, 12.00, dan 17.00 WIB dengan menggunakan termohigrometer yang diletakkan pada bagian tengah kandang;
7. melakukan program vaksinasi agar ayam tidak terserang penyakit. Vaksin yang diberikan terdiri dari vaksin AI dan ND. Vaksin ND diberikan saat ayam berumur 6 hari melalui tetes mata (*ND live*), dan umur 19 hari melalui air minum (*ND live*). Vaksin AI (*killed*) diberikan saat ayam berumur 6 hari melalui subkutan pada leher.

D.3 Prosedur pengujian

D.3.1 Pengambilan sampel darah dan isolasi serum

Pengambilan sampel darah dilakukan ketika broiler berumur 28 hari yaitu saat akhir pemeliharaan. Sampel darah diambil sebanyak 1 ekor dari setiap petak percobaan (60 sampel). Sampel darah diambil menggunakan *disposable syringe* 5 ml melalui *vena brachialis* sebanyak 1–1,5 ml. Sampel darah yang telah diambil didiamkan tetap berada di dalam *disposable syringe* dan didiamkan sampai terjadi pemisahan antara darah dengan serumnya. Serum darah kemudian dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* dan diberi label sesuai dengan perlakuan.

Serum dikirim ke Laboratorium Virologi Balai Veteriner Lampung untuk analisis titer antibodi AI dan ND.

D.3.2 Pengujian titer antibodi AI dan ND

Pengujian titer antibodi AI dan ND dilakukan dengan menggunakan metode uji HA-HI sesuai dengan prosedur pengujian Laboratorium Virologi Balai Veteriner Lampung (2019), yaitu:

a) Uji HA

1. menyiapkan *microplate* tipe V dan meneteskan PBS pada semua lubang dengan volume 25 μ l, kecuali lubang A1, B1, dan C1;
2. memberikan antigen virus dengan pengenceran 10x pada lubang A1, B1, dan C1;
3. membuat pengenceran kelipatan dua ke arah kanan dari lubang ke-2 dengan memindahkan larutan sebanyak 25 μ l;
4. menambahkan PBS ke semua lubang dengan volume 25 μ l;
5. mencampur larutan di dalam *microplate* menggunakan *micromixer* selama 10 detik;
6. menambahkan RBC 1% ke seluruh lubang dengan volume 50 μ l dan mencampurkannya lagi menggunakan *micromixer* selama 10 detik;
7. menginkubasikan pada suhu kamar selama 30 menit;
8. menentukan nilai 1 unit yaitu pengenceran tertinggi yang masih memperlihatkan haemaglutinasi sempurna dan membuat pengenceran 4 unit sesuai nilai 1 unit yang diperoleh;

9. melakukan pengujian AST (*Antigen Secondary Test*) sebelum melakukan uji HI;

b) Uji HI

1. menyiapkan *microplate* tipe V dan meneteskan PBS pada semua lubang dengan volume 25 μ l;
2. menambahkan serum uji dengan volume 25 μ l pada baris sesuai nomor serum yang diuji;
3. melakukan pengenceran kelipatan 2 dengan menggunakan diluter 25 μ l;
4. menambahkan antigen 4 unit ke semua lubang kecuali baris kontrol;
5. mencampur larutan di dalam *microplate* menggunakan *micromixer*;
6. menginkubasikan pada suhu kamar selama 30 menit;
7. menambahkan RBC 1% ke seluruh lubang dengan volume 50 μ l dan mencampurkannya lagi menggunakan *micromixer*;
8. menginkubasikan pada suhu kamar selama 30 menit;
9. mengamati hasilnya.

E. Peubah yang Diamati

Peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah jumlah titer antibodi AI dan ND broiler jantan dengan pemberian imunomodulator *E. purpurea* dengan dosis yang berbeda.

F. Analisis Data

Data titer antibodi dari masing-masing perlakuan dan kontrol disusun dalam bentuk tabulasi sederhana sehingga akan tersedia data untuk diolah dengan menggunakan analisis ragam dengan taraf signifikansi 5% dan data akan ditampilkan dalam bentuk histogram. Apabila hasil yang didapatkan berbeda nyata, maka akan dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk analisis lanjut.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. *E. purpurea (Radix)* efektif dalam meningkatkan titer antibodi *Avian Influenza* dan tidak efektif dalam meningkatkan titer antibodi *Newcastle Disease* pada broiler jantan.
2. Pemberian *E. purpurea (Radix)* dengan dosis 6 mg/kg BB/hari dapat meningkatkan titer antibodi *Avian Influenza* pada broiler jantan.

B. Saran

Berdasarkan penelitian ini, saran yang perlu disampaikan yaitu:

1. Penelitian dilakukan dengan pemberian dosis *E. purpurea (Radix)* yang lebih tinggi untuk meningkatkan titer antibodi AI.
2. Pengambilan sampel darah serta pengecekan titer antibodi AI dan ND dilakukan pada saat pembentukan titer antibodi mencapai titik puncak.

DAFTAR PUSTAKA

- Akoso, B. T. 1993. Manual Kesehatan Unggas. Kanisius. Yogyakarta
- Alexander, D. J. and D. A. Senne. 2008. Newcastle Disease, Other Avian Paramyxovirus and Pneumovirus Infectious. In: Disease of Poultry. Blackwell Publishing. Iowa
- Badan Pusat Statistik. 2017. Populasi Broiler di Indonesia. www.bps.go.id. Diakses pada 1 Oktober 2018
- Balai Veteriner Lampung. 2019. Prosedur pengujian titer antibodi dengan metode HA-HI. Buku Petunjuk Kerja Balai Veteriner Lampung. Bandar Lampung
- Banu, N. A., M. S. Islam, and M. M. H. Chowdhury. 2009. Determination of immune response of Newcastle Disease virus. *J. Bangladesh Agri University*. 7: 329–334
- Bartram, T. 1998. Bartram's Encyclopedia of Herbal Medicine. Robinson Publishing Ltd. London
- Block, K. I. and M. N. Mead. 2003. Immune system effects of *Echinacea*, Ginseng, and Astragalus. *J. Integrative Cancer Therapies*. 2: 247–267
- Blumenthal, Busse, Goldberg, Gruenwald, Hall, Klein, Riggins, and Rister. 1989. The Complete German Commission E Monographs: Therapeutic Guide to Herbal Medicines. The American Botanical Council. Germany
- Bodinet, C. I. W. and N. Beuscher. 1991. Antiviral and immunological activity of glycoproteins from *Echinacea purpurea* radix. *J. Plant Med*. 57: 33–34
- Burger, R., A. Torres, R. Warren, V. Caldwell, and B. Hughes. 1997. *Echinacea* induced cytokine production by human macrophages. *Int. J. Immunopharma*. 19: 371–379
- Burick, J., H. Quick, and T. Wilson. 1997. Medicinal Attributes of *Echinacea* sp. Coneflowers. <http://www.interme.com/iom/team/nimmune.html>. Diakses pada 2 Oktober 2018
- Butcher, G. D. and R. D. Miles. 2003. The Avian Immune System. Institute of Food and Agricultural Sciences. University of Florida. <http://edis.ifas.ufl.edu>. Diakses pada 26 April 2019

- Capua, I. and C. Terregino. 2009. Clinical Traits and Pathology of Avian Influenza Infections, Guidelines for Farm Visit and Differential Diagnosis Avian Influenza and Newcastle Disease. Springer Publishing. Italia
- Carpenter, S. 2004. Avian Immune System.
<http://www.l1olisticbird.comhbn04/sprinn04/immunesvstem.htm>. Diakses pada 11 Oktober 2018
- Charles, D. R. 2002. Responses to the Thermal Environment. In Poultry Environment Problem, A Guide to Solution. Nottingham University Press. Nottingham
- Craig, W. J., 1999. Health promoting properties of common herbs. J of Clinic Nut. 70: 491–499
- Darminto dan P. Ronohardjo. 1996. Newcastle Disease pada Unggas di Indonesia Situasi Terakhir dan Relevansinya Terhadap Pengendalian Penyakit. Balai Penelitian Veteriner Bogor. Bogor
- Darmono. 2006. Sistem Kekebalan Tubuh. Artikel.
<http://www.geocities.comkuliahfarm/imunologi/Sistem-kekebalan.doc>. Diakses pada 11 Oktober 2018
- Decker, J. M. 2000. Introduction to Immunology. Blackwell Science Inc. United States
- Dehkordi, S. H., V. Fallah, and S. H. Dehkordi. 2011. Enhancement of broiler performance and immune response by *Echinacea purpurea* supplemented in diet. African J. of Biotech. 10: 11280–11286
- Dunn, P. A., E. A. Wallner, H. Lu, D. P. Shaw, and D. Kradel. 2003. The 5th International Symposium on Avian Influenza. University of Georgia. Athens
- Fadilah, R. dan A. Polana. 2004. Aneka Penyakit pada Ayam dan Cara Mengatasinya. Agromedia Pustaka. Jakarta
- Fenner, J. dan Fransk. 1995. Virologi Veteriner. Edisi kedua. Diterjemahkan oleh: P. Harya. IKIP Semarang Press. Semarang.
- Furman, D., B. P. Hejblum, N. Simon, V. Jovic, C. L. Dekker, R. Thiebaut, R. J. Tibshirani, and M. M. Davis. 2013. Systems analysis of sex differences reveals an immunosuppressive role for testosterone in the response to influenza vaccination. J. of Stanford University. 111: 869–874
- Hamal, K. R., S. C. Burgess, I. Y. Pevzner, and G. F. Erf. 2006. Maternal antibody transfer from dams to their egg yolks, egg whites, and chicks in meat lines of chickens. J. of Poult Sci. 85: 1364–1372

- Harini, A. P., H. G. A. Kumar, G. P. Kumar, and N. Shivakumar. 2013. An overview of immunologic adjuvants. *A Review of J. Vaccines Vaccine*. 4: 1–4
- Herenda, D. C. and D. A. Franco. 1996. *Poultry Disease and Meat Hygiene: A Color Atlas*. Iowa State University Press. Iowa
- Horton, G. M. J., M. J. Fennel, and B. M. Prasad. 1991. Effect of dietary garlic (*Allium sativum*) on performance, carcass composition and blood chemistry changes in broiler chickens. *J of Anim Sci*. 71: 939–942
- Hudson, J. B. 2012. Applications of the phytochemistry *Echinacea purpurea* (Purple Coneflower) in infectious diseases. *J. of Biomed and Biotech*. 16: 683–691
- Jurcic, K., D. Melchart, M. Holzmann, P. I. Martin, R. Bauer, H. Doenecke, and H. Wagner. 1989. Two clinical studies to stimulate the Granulozyten phagozytose by *Echinacea* extract containing preparations. *J. Zoo Phytother*. 10: 67–70
- Karnen, G. B., S. Djauzi., T. Y. Aditama., W. Heru, dan S. Cartellieri. 2003. Peranan *Echinacea* sebagai imunomodulator dalam infeksi virus dan bakteri. *J. Kedokteran dan Farm. Med*. 29: 389–391
- Klein, S. L., I. Marriott, and E. N. Fish. 2014. Sex-based differences in immune function and responses to vaccination. *J. of Trop Med and Hygiene*. 109: 10–15
- Kurnianto, A. B. 2015. Respon Antibodi Sekunder Newcastle Disease pada Ayam Petelur Pasca Vaksinasi Ulangan dengan Vaksin ND Aktif. Thesis. Universitas Udayana
- Kurniawan, I. 2007. Gambaran Titer Antibodi Avian Influenza dengan Metode HA-HI pada Ayam Bangkok yang Dilalulintaskan Masuk ke Wilayah Provinsi Bengkulu. Stasiun Karantina Pertanian Kelas I Bengkulu. Bengkulu
- Li, K. S., Y. Guan, J. Wang, G. J. Smith, K. M. Xu, L. Duan, A. P. Rahardjo, P. Puthavathana, C. Buranathai, T. D. Nguyen, A. T. Estoepangestie, A. Chaisingh, P. Auewarakul, H. T. Long, N. T. Hanh, R. J. Webby, L. L. Poon, H. Chen, K. F. Shortdritge, K. Y. Yuen, R. G. Webster and J. S. Peiris. 2004. Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in Eastern Asia. *Int J. of Sci*. 430: 209–213
- Malole, M. B. M. dan C. S. Pramono. 1989. Penggunaan Hewan-hewan Percobaan Laboratorium. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat AntarUniversitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. Bogor

- Medion. 2018. Sistem Kekebalan Tubuh Broiler. www.medion.co.id. Diakses pada 22 Januari 2019
- Mishima, S., K. Saito, H. Maruyama, M. Inoue, T. Yamashita, T. Ishida, and Y. Gu. 2004. Antioxidant and immuno-enhancing effects of *Echinacea purpurea*. *J. Bio Pharm Bull.* 27: 1004–1009
- Murtidjo, B. A. 1992. Pedoman Beternak Ayam Broiler. Kanisius. Yogyakarta
- _____. 2003. Pedoman Meramu Pakan Unggas. Kanisius. Yogyakarta
- Murwani. 2010. Broiler Modern. CV Widya Karya. Semarang
- Naseem, M. T., S. Naseem, M. Younus, I. C. H. Zafar, G. H. Aamir, A. Asim, and S. Akhter. 2005. Effect of potassium chloride and sodium bicarbonate supplementation on thermotolerance of broilers exposed to heat stress. *Int J. Poult Sci.* 4: 891–895
- Office International Epizootic. 2002. Animal Disease Data. www.oie.int. Diakses pada 12 Oktober 2018
- Oppenheim, J. J., F. W. Ruscetti, and C. R. Faltynek. 1987. Interleukin and Interferon. Appleton and Lange Norwalk. California
- Patil, U. S., A.V. Jaydeokar, and D. D. Bandawane. 2012. Immunomodulators: a pharmacological review. *Int J. of Pharm Sci.* 4: 30–36
- Perry, N. B., J. W. V. Klink., E. J. Burges, and G. A. Parmenter. 2000. Alkamide levels in *Echinacea purpurea*: effects of processing, drying and storage. *J. Plant Med.* 66: 54–56
- Rahardjo, Y. 2004. Avian Influenza, Pencegahan, Pengendalian dan Pemberantasannya: Hasil Investigasi Kasus Lapangan. Edisi I. PT Gallus Indonesia Utama. Jakarta
- Ranuh, I. G. N. 2008. Pedoman Imunisasi di Indoneia. Edisi Ketiga. Badan Penerbit Ikatan Dokter Anak di Indonesia. Jakarta
- Rasyaf. 2004. Makanan Ayam Broiler. Penebar Swadaya. Jakarta
- Rohyati, N. 2002. Pengaruh Pemberian Probiotik B-Mix dan Infeksi *Salmonella Enteriditis* terhadap Gambaran Mikroskopis Bursa Fabricius pada Ayam Broiler. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Roitt, M. I. 1990. Pokok-pokok Ilmu Kekebalan. Diterjemahkan oleh: G. Bonang. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta

- Rollier, C., Charollois, C., Jamrd, C., Trepo, C. and Cova, L., 2000. Maternally transferred antibodies from DNA immunized avians protect of spring against hepadnavirus infection. *J. of Virology*. 74: 4908–4911
- Rose, S. P. 2001. *Principles of Poultry Science*. CAB International. United States
- Rott, R. and H. D. Klenk. 1985. Virus Determined Differences in the Pathogenicity of Avian Influenza Viruses. *Veterinary Viral Diseases: Their Significance in Southeast Asia and the Western Pasific*. Academic Press Australia. Australia
- Saputro, B., P. E. Santosa, dan T. Kurtini. 2013. Pengaruh cara pemberian vaksin ND live pada broiler terhadap titer antibodi, jumlah sel darah merah, dan sel darah putih. *J. Ilmiah Peternakan Terpadu*. 3: 43–48
- Schumacher, H. M., K. A. Malik, and F. V. Iren. 1994. Simple storage of plant cell cultures in liquid media. UNESCO/WFCC-Education Committee. United States
- Scott, A. 2018. The Scott Arboretum of Swarthmore College. <https://www.scottarboretum.org/>. Diakses pada 5 Oktober 2018
- Situmorang, N. A., L. D. Mahfudz, dan U. Atmomarsono. 2013. Pengaruh pemberian tepung rumput laut (*Gracilaria verrucosa*) dalam ransum terhadap efisiensi penggunaan protein ayam broiler. *J. Anim Agri*. 2: 49–56
- Spach, K. M. 2009. Cutting edge: The Y chromosome controls the age-dependent experimental allergic encephalomyelitis sexual dimorphism in SJL/J mice. *J. Immuno*. 182: 1789–1793
- Steeg, L. G. V., M. S. Vermillion, O. J. Hall, O. Alam, R. McFarland, H. Chen, B. Zirkin, and S. L. Klein. 2016. Age and testosterone mediate influenza pathogenesis in male mice. *J. Physiol Lung Cell Molecule Phys*. 311: 1234–1244
- Sturkie, P. D. 2000. *Avian Physiology*. 4th edition. Springer Verlag. New York
- Suardana, I. B. K., I. M. R. K. Dewi, dan I. G. N. K. Mahardika. 2009. Respon imun Itik Bali terhadap berbagai dosis vaksin Avian Influenza H5N1. *J. Vet*. 10: 150–155.
- Subositi, D. 2011. Standarisasi Tanaman *Echinacea purpurea (L.) Moench* Sebagai Bahan Baku Immunomodulator. Balai Besar Penelitian Tanaman Obat dan Pengembangan Obat Tradisional. Surakarta
- Subowo. 1993. *Imunobiologi*. Penerbit Angkasa. Bandung
- _____. 2009. *Immunobiologi Edisi 2*. Sagung Seto. Jakarta

- Suhardi. 2014. Ternak Unggas.
<https://hardiyanimalscience.files.wordpress.com/2014/05/unggas/pdf>.
Diakses pada 11 Maret 2019
- Suriasih, K., N. Sucipta, dan M. Hartawan. 2015. Potensi dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat (BAL) Isolat Kefir dan Biji Kefir Sebagai Immunomodulator pada Hewan Coba. Udayana University Press. Bali
- Sutrisna, R. dan P. E. Santosa. 2014. Isolat bakteri asam laktat sebagai probiotik dengan vaksinasi AI dan ND dalam pembentukan titer antibodi dan bobot badan ayam jantan tipe medium. J. Penelitian Pertanian Terapan. 14: 124–133
- Tabbu, C. R. 2000. Penyakit Ayam dan Penanggulangannya. Volume 1. Penerbit Kanisius. Yogyakarta
- Tjay, T. H. dan K. Rahardja. 2007. Obat-obat Penting. Elex Media Komputindo. Jakarta
- Tizard, I. R. 1988. Pengantar Immunologi Veteriner. Ed 2. Diterjemahkan oleh: M. Partodirejo. Penerbit Universitas Airlangga. Surabaya
- _____. 2000. Veterinary Immunology an Introduction. Ed 6th. Diterjemahkan oleh: P. Masduki dan S. Hardjosworo. WB Saunders Company. Philadelphia
- Tyler, V. E. 1993. The Honest Herbal. A Sensible Guide to The Use of Herbs and Related Remedies. Third Edition. Pharmaceutical Products Press. Australia
- United States Departement of Agriculture. 2018. *Echinacea purpurea* Classification. United State Departement of Agriculture. United States
- Voigt, E. A., I. G. Ovsyannikova, R. B. Kennedy, D. E. Grill, K. M. Goergen, D. J. Schaid, and G. A. Poland. 2019. Sex differences in older adults immune responses to seasonal influenza vaccination. J. Frontiers of Immuno. 10: 345–348
- Warr, G. W., K. E. Magor, and D. A. Higgins. 1995. IgY clues to the origins of modern antibodies. J. Immuno Today. 16: 392–398
- Wibawan, I. W. T., T. Djannatun, dan L. S. Halimah. 2003. Pengujian Teknik Koaglutinasi Tidak Langsung untuk Deteksi Penyakit Unggas. Hibah Bersaing XI 2003–2004. Institut Pertanian Bogor. Bogor