

TITER ANTIBODI *NEWCASTLE DISEASE* (ND) DAN *AVIAN INFLUENZA* (AI) PADA AYAM KAMPUNG UNGGUL BALITBANGTAN (KUB) JANTAN YANG DIBERI EKSTRAK MIMBA (*Azadirachta indica*) MELALUI AIR MINUM

Skripsi

Neva Anggraeni
2254141008



**JURUSAN PETERNAKAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
2026**

ABSTRAK

TITER ANTIBODI *NEWCASTLE DISEASE* (ND) DAN *AVIAN INFLUENZA* (AI) PADA AYAM KAMPUNG UNGGUL BALITBANGTAN (KUB) JANTAN YANG DIBERI EKSTRAK MIMBA (*Azadirachta indica*) MELALUI AIR MINUM

Oleh

Neva Anggraeni

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak mimba (*Azadirachta indica*) dengan dosis yang berbeda dalam air minum terhadap titer antibodi ND dan AI pada ayam kampung unggul balitbangtan (KUB) jantan. Penelitian ini dilaksanakan pada November 2025 --Desember 2025 di Kandang Ayam Laboratorium Lapang Terpadu Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan, setiap perlakuan terdiri atas 3 ekor ayam. Perlakuan yang diberikan pada penelitian ini yaitu P0: air minum tanpa ekstrak mimba, P1: air minum dengan 2,5 mg ekstrak mimba /kg BB/hari, P2: air minum dengan 5 mg ekstrak mimba /kg BB/hari, P3: air minum dengan 10 mg ekstrak mimba /kg BB/hari, dan P4: air minum dengan 20 mg ekstrak mimba /kg BB/hari. Pemeriksaan titer antibodi AI dan ND dilakukan di Laboratorium PT. Medion Farma Jaya, Bandar Lampung. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif. Hasil dari penelitian menunjukkan pemberian 2,5 mg ekstrak mimba /kg BB/ hari menunjukkan titer antibodi ND tertinggi yaitu PI 458,67 dan titer antibodi AI tertinggi yaitu P1 50,00. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu dosis yang paling efektif digunakan untuk meningkatkan titer antibodi ND dan AI ayam kampung unggul balitbangtan (KUB) jantan pada perlakuan P1 yaitu 2,5 mg ekstrak mimba /kg bobot badan (BB)/hari.

Kata kunci: Ayam KUB, Ekstrak Mimba, Titer Antibodi *Avian Infeunza*, Titer Antibodi *Newcastle Disease*

ABSTRACT

NEWCASTLE DISEASE (ND) AND AVIAN INFLUENZA (AI) ANTIBODY TITERS IN MALE BALITBANGTAN NATIVE CHICKENS (KUB) GIVEN NEEM (*AZADIRACHTA INDICA*) EXTRACT IN DRINKING WATER

By

Neva Anggraeni

The objective of this study was to determine the effect of using neem (*Azadirachta indica*) extract at different dosages in drinking water on ND and AI antibody titers in male Balitbangtan Native Chicken (KUB). This study was conducted from November to December 2025 at the Chicken Housing Facility of the Integrated Field Laboratory, Faculty of Agriculture, University of Lampung. The research employed an experimental method with five treatments and three replications, with each replicate consisting of three chickens. The treatments applied were P0: drinking water without neem extract, P1: drinking water with 2.5 mg neem extract/kg body weight/day, P2: drinking water with 5 mg neem extract/kg body weight/day, P3: drinking water with 10 mg neem extract/kg body weight/day, and P4: drinking water with 20 mg neem extract/kg body weight/day. Examination of AI and ND antibody titers was conducted at PT. Medion Farma Jaya Laboratory, Bandar Lampung. The obtained data were analyzed descriptively. The results showed that the highest average ND antibody titer was observed in treatment P1 458.67, while the highest average AI antibody titer was also found in treatment P1 50.00. The conclusion of this study is that the most effective dosage for increasing ND and AI antibody titers in male Balitbangtan native chickens (KUB) was treatment P1, namely 2.5 mg neem extract/kg body weight/day.

Keywords: *Avian Influenza Antibody Titer, Balitbangtan Native Chicken, Neem Extract, Newcastle Disease Antibody Titer*

TITER ANTIBODI *NEWCASTLE DISEASE* (ND) DAN *AVIAN INFLUENZA* (AI) PADA AYAM KAMPUNG UNGGUL BALITBANGTAN (KUB) JANTAN YANG DIBERI EKSTRAK MIMBA (*Azadirachta indica*) MELALUI AIR MINUM

Oleh

NEVA ANGGRAENI

Skripsi

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

pada

**Jurusan Peternakan
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**JURUSAN PETERNAKAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
2026**

LEMBAR PENGESAHAN

Judul : Titer Antibodi Newcastle Disease (ND) dan Avian Influenza (AI) pada Ayam Kampung Unggul Balitbangtan (KUB) Jantan yang Diberi Ekstrak Mimba (*Azadirachta indica*) Melalui Air Minum

Nama : Neva Anggraeni

NPM : 2254141008

Jurusan : Peternakan

Fakultas : Pertanian

Universitas : Universitas Lampung



MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

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

Etha 'Azizah Hasiib, S.Pt., M.Sc.
NIP. 19930418 202203 2 013

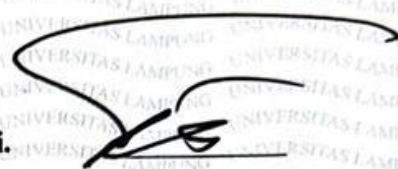
2. Ketua Jurusan Peternakan

Dr. Ir. Arif Qisthon, M.Si., IPU.
NIP. 19670603 199303 1 002

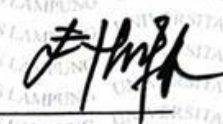
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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



Sekretaris : Etha Azizah Hasib, S.Pt., M.Sc.



Pengujii : drh. Madi Hartono, M.P.



2. Dekan Fakultas Pertanian



Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.

NIP. 19641118 198902 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 22 April 2026

HALAMAN PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Neva Anggraeni
NPM : 2254141008
Program Studi : Peternakan
Jurusan : Peternakan
Fakultas : Pertanian

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul “Titer Antibodi *Newcastle Disease* (ND) dan *Avian Influenza* (AI) pada Ayam Kampung Unggul Balitbangtan (KUB) Jantan yang Diberi Ekstrak Mimba (*Azadirachta indica*) Melalui Air Minum” tersebut adalah hasil penelitian saya kecuali bagian-bagian tertentu yang dirujuk dari sumbernya dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Demikian pernyataan ini saya buat dan apabila dikemudian hari ternyata pernyataan ini tidak benar, maka saya sanggup dituntut berdasarkan undang-undang dan peraturan yang berlaku.

Bandar Lampung, 22 Januari 2026

Yang membuat pernyataan,



Neva Anggraeni
NPM 2254141008

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama lengkap Neva Anggraeni, lahir di Baktirasa, Lampung Selatan, 12 Agustus 2005 sebagai anak ketiga dari enam bersaudara, putri pasangan Bapak Johani dan Ibu Neneng. Penulis menyelesaikan pendidikan taman kanak-kanak di TK Aisyah Bustanul Atfal Lampung Tengah pada 2009, pendidikan sekolah dasar di SDN 1 Sukapura pada 2011 hingga 2017, sekolah menengah pertama di SMPN 2 Sragi pada 2017 hingga 2020, dan sekolah menengah atas di SMAN 2 Kalianda pada 2020 hingga 2022 sebagai siswa akselerasi.

Penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur SBMPTN Barat pada 2022. Selama masa studi penulis cukup aktif sebagai anggota bidang pelatihan dan pendidikan di Organisasi Himpunan Mahasiswa Peternakan (HIMAPET). Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Maja Kecamatan Kalianda, Kabupaten Lampung Selatan pada Januari sampai Februari 2025. Penulis melaksanakan Magang Mandiri di CV. Dwi Putra Laksana, Desa Bangun Rejo, Kecamatan Ketapang, Kabupaten Lampung Selatan pada Juli 2024 dan Praktik Umum di UPT PT dan HMP Batu, Kecamatan Singosari, Kabupaten Malang, Jawa Timur pada Juni sampai Agustus 2025.

MOTTO

“Dan bersabarlah kamu, sesungguhnya janji Allah adalah benar”

(Q.S Ar-Rum: 60)

“Pada akhirnya, ini semua hanyalah permulaan”

(Nadin Amizah)

“Apa pun yang terjadi dalam hidupku, aku hanya ingin menjadi manusia sebaik-baiknya. Bahkan saat berada di titik terendah, keinginanku tetap sama yaitu menjadi bermanfaat bagi banyak orang”

(Neva Anggraeni)

PERSEMBAHAN

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang senantiasa memberikan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga skripsi ini bisa diselesaikan.

Dengan segala ketulusan serta rendah hati, kupersembahkan sebuah karya sederhana dengan penuh perjuangan kepada kedua orang tua tercinta Ayah Johan dan Mamah Neneng yang telah melahirkan dan membesarkan, memberi kasih sayang tulus, senantiasa mendoakan, membimbing dengan penuh kesabaran dan selalu memberikan segalanya baik finansial maupun fisik untukku. Untuk kakak-kakak, adik-adikku tercinta yang senantiasa memberi dukungan, semangat, dan doa untuk keberhasilanku.

Seluruh keluarga besar, sahabat, teman-teman, serta orang-orang baik yang senantiasa mendoakan, memberikan dukungan, dan menemani setiap langkah perjalanan hidup saya.

Seluruh dosen dan civitas akademik, ku ucapkan terimakasih untuk segala ilmu berharga yang telah diberikan sebagai wawasan dan pengalaman, sehingga terselesaikannya skripsi ini

Serta

Almamater Tercinta
Universitas Lampung

SANWACANA

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini tepat pada waktunya. Shalawat serta salam senantiasa tercurah kepada Nabi Muhammad SAW sebagai suri teladan dan pemberi syafaat di akhir kelak. Aamiin. Skripsi ini berjudul **“Titer Antibodi *Newcastle Disease* (ND) dan *Avian Influenza* (AI) pada Ayam Kampung Unggul Balitbangtan (KUB) Jantan yang Diberi Ekstrak Mimba (*Azadirachta indica*) Melalui Air Minum”**

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.--selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung--atas izin yang telah diberikan;
2. Bapak Dr. Ir. Arif Qisthon, M.Si., IPU.--selaku Ketua Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung--atas persetujuan, saran, arahan, dan bimbingan yang diberikan kepada penulis;
3. Ibu Sri Suharyati, S.Pt., M.P.--selaku Ketua Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, sekaligus Pembahas--atas saran, kritikan, bimbingannya dalam pengoreksian skripsi;
4. Bapak drh. Purnama Edy Santosa, M.Si.--selaku Pembimbing Utama--atas kesabaran, kebaikan, saran, arahan, bimbingan dan motivasi yang diberikan, sehingga penulis dapat memperbaiki kesalahan dan kekurangan pada skripsi ini;
5. Ibu Etha ‘Azizah Hasiib, S.Pt., M.Sc.--selaku Pembimbing Anggota--saran, arahan, bimbingan yang diberikan kepada penulis;
6. Bapak drh. Madi Hartono, M.P.--selaku Dosen Pembahas --atas motivasi, ide, nasihat, saran, kritikan, dan bimbingannya dalam pengoreksian skripsi ini;

7. Bapak drh. Purnama Edy Santosa, M.Si.--selaku dosen Pembimbing Akademik--atas bimbingan dan nasihatnya selama menjalani perkuliahan;
8. Bapak dan ibu dosen Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung atas bimbingannya, dan ilmu yang telah diberikan kepada penulis;
9. Staff Laboratirium Lapang Terpadu, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung yang telah membantu penulis dalam melaksanakan penelitian dan memfasilitasi tempat dan segala sesuatu yang berkaitan dengan penelitian hingga penulis menyelesaikan penelitian;
10. Teristimewa penulis ucapkan terimakasih kepada kedua orang tua saya yang sangat hebat Ayah dan Mamah tercinta. Terimakasih atas setiap tetes keringat dalam setiap langkah pengorbanan dan kerja keras yang dilakukan untuk memberikan yang terbaik kepada penulis, mengusahakan segala kebutuhan penulis, mendidik, membimbing, dan selalu memberikan kasih sayang yang sangat amat tulus. Terimakasih untuk selalu berada di sisi penulis dan menjadi alasan bagi penulis dalam menyelesaikan skripsi ini hingga memperoleh gelar Sarjana Peternakan. Mustahil penulis mampu melewati semua permasalahan yang penulis alami jika tanpa campur tangan doa dan ridha Ayah dan Mamah. Ayah, mamah, gadismu siap melanjutkan mimpi yang lebih tinggi itu;
11. Kepada kakak Andi, kakak Deni, mba Puput, kakak Lisa, adek Thania, adek, Syahira, adek Syaqi, terimakasih atas segala dukungan, doa, dan kasih sayang kepada penulis;
12. Keluarga besar yang sudah memberikan dukungan dan doa selama penulis menempuh pendidikan;
13. Teman sejati Yulian Catur Nugroho, yang selalu memberikan kasih sayang, dukungan, motivasi, kritik, saran dan selalu membuat penulis bahagia atas canda tawa yang diberikan kepada penulis;
14. Keluarga tanpa KK Shrika Mardia dan keluarga, yang telah mengisi hari-hari penulis dari maba hingga sekarang, serta dukungan, perhatian, dan kasih sayang kepada penulis;

15. Sahabat di perkuliahan Shalsa, Rahayu, Abel, Elvina, Adila, Alvina, Clarisa, Elisa, Mak Nopi, Heppy, Daniel atas semua pertolongan, bantuan canda, tawa, dan kisah-kisah seru yang kalian berikan, terimakasih sudah selalu membantu dan memberikan semangat kepada penulis.
16. Teman-teman penelitian Mimba, Yulian, M. Khoirul Anwar, Nazalul Alpin, Adithia Revin Damara, Sandika Pramana, Eli Widayang Sari, dan Anindya Layli atas perjuangan, kerjasama, dan dukungan selama penelitian dan penyusunan skripsi;
17. Sahabat kecil Nazwa Amalia dan Lilis Suryani yang setia menemani penulis dalam suka duka, selalu menghibur, men- support, dan memberikan doa kepada penulis;
18. Mba Zulfa, Mba Rima, dan Bang Anam yang telah membantu, memberi saran, dan memberi dukungan selalu kepada penulis;
19. Seluruh mahasiswa peternakan angkatan 2022 yang telah memberikan bantuan, motivasi, kritik dan saran serta kesan mendalam kepada penulis selama menjadi mahasiswa;
20. Semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu, terimakasih atas doa, bantuan serta dukungan yang diberikan kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa dalam skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari pembaca demi perbaikan penulisan di masa yang akan datang. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang memerlukannya.

Bandar Lampung, 22 Januari 2026
Penulis,

Neva Anggraeni

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang dan Masalah	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	5
1.3 Manfaat Penelitian.....	5
1.4 Kerangka Pemikiran	5
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Ayam KUB	10
2.2 Daun Mimba (<i>Azadirachta indica</i>).....	12
2.3 <i>Avian Influenza (AI)</i>	16
2.4 <i>Newcastle Disease (ND)</i>	18
2.5 Sistem Imun Tubuh.....	20
2.6 Titer Antibodi.....	22
III. METODE PENELITIAN	25
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	25
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	25
3.2.1 Bahan penelitian	25
3.2.2 Alat penelitian	26
3.3 Rancangan Perlakuan.....	27
3.4 Rancangan Percobaan	27
3.5 Peubah yang Diamati	28
3.6 Pelaksanaan Penelitian.....	28
3.6.1 Persiapan kandang.....	28

3.6.2 Kegiatan pemeliharaan	29
3.6.3 Teknis pemberian ekstrak mimba.....	29
3.6.4 Pengambilan sampel darah	30
3.6.5 Pengujian titer antibodi <i>Newcastle Disease</i> (ND) dan <i>Avian Influenza</i> (AI)	31
3.7 Analisis Data	34
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1 Titer Antibodi <i>Newcastle Disease</i> (ND) pada Ayam Kampung Unggul Balitbangtan (KUB) Jantan yang Diberi Ekstrak Mimba (<i>Azadirachta indica</i>) Melalui Air Minum.....	35
4.2 Titer Antibodi <i>Avian Influenza</i> (AI) pada Ayam Kampung Unggul Balitbangtan (KUB) Jantan yang Diberi Ekstrak Mimba (<i>Azadirachta indica</i>) Melalui air Minum.....	40
V. KESIMPULAN DAN SARAN	47
5.1 Kesimpulan	47
5.2 Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan nutrisi ransum BR-1.....	26
2. Kandungan nutrisi ransum HDBR1-161.....	26
3. Rataan titer antibodi ND pada ayam KUB jantan.....	35
4. Rataan titer antibodi AI pada ayam KUB jantan	40
5. Data rata-rata penambahan bobot tubuh (PBT) ayam KUB jantan umur 1--14.....	57
6. Data konsumsi ransum ayam KUB jantan	57
7. Data suhu kandang	57
8. Data rata-rata penambahan bobot tubuh (PBT) per perlakuan ayam umur 15--54 hari sampai dengan panen	59
9. Rataan PBT ayam kampung jantan umur 15--54 hari.....	60

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ayam kampung	11
2. Daun mimba.....	13
3. Tata letak kandang penelitian.....	28
4. Grafik titer antibodi ND	36
5. Grafik titer antibodi AI	41
6. Hasil uji serologi AI.....	60
7. Hasil uji serologi ND	61

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Masalah

Pertambahan jumlah penduduk yang berlangsung secara cepat menyebabkan peningkatan permintaan terhadap protein hewani. Unggas berperan penting sebagai salah satu sumber utama protein hewani dalam memenuhi kebutuhan nasional, dengan kontribusi sekitar 60% dari total produksi daging di Indonesia. Ayam kampung termasuk salah satu pilihan unggas yang sangat sesuai untuk dikembangkan di Indonesia sebagai sumber utama protein hewani (Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Banten, 2016).

Ayam kampung termasuk jenis ternak yang populer di kalangan masyarakat Indonesia sebagai sumber protein hewani karena dagingnya memiliki rasa yang unik dan khas. Selain itu, ayam kampung juga memiliki kelebihan dalam hal kemampuan beradaptasi dengan berbagai kondisi lingkungan secara baik (Mubarak *et al.*, 2018). Untuk mempertahankan keunggulan ayam kampung, penting dilakukan upaya peningkatan produktivitas agar hasil produksinya tetap optimal dan tidak mengalami penurunan. Salah satu aspek yang sangat berpengaruh terhadap produktivitas tersebut adalah pemeliharaan kesehatan ternak secara baik dan teratur (Ulfah *et al.*, 2023).

Ayam Kampung Unggul Balitbangtan (Ayam KUB) merupakan hasil pemuliaan ayam lokal Indonesia yang dikembangkan oleh Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian dengan tujuan meningkatkan produktivitas ayam kampung tanpa menghilangkan keunggulan adaptifnya terhadap lingkungan tropis. Ayam KUB memiliki beberapa kelebihan dibandingkan ayam kampung

biasa, antara lain laju pertumbuhan yang lebih baik, efisiensi pakan yang relatif tinggi, serta daya adaptasi yang baik terhadap lingkungan tropis dan sistem pemeliharaan tradisional hingga semi-intensif. Oleh karena itu, ayam KUB berpotensi besar sebagai sumber protein hewani sekaligus sebagai penggerak ekonomi masyarakat pedesaan (Sartika *et al.*, 2016).

Ayam jantan memiliki performa pertumbuhan yang lebih tinggi dibandingkan ayam betina, yang ditunjukkan oleh bobot badan, panjang tubuh, dan ukuran karkas yang lebih besar. Hal ini menunjukkan bahwa ayam jantan umumnya memiliki laju pertumbuhan yang lebih cepat dan bobot badan yang lebih tinggi. Oleh karena itu, penggunaan ayam jantan dalam penelitian performa pertumbuhan dapat menghasilkan data yang lebih beragam serta mengurangi variasi biologis yang berkaitan dengan aktivitas fisiologis reproduksi pada ayam betina (Yuan *et al.*, 2024).

Dua penyakit utama yang sering menyerang ayam kampung adalah *Newcastle Disease* (ND) dan *Avian Influenza* (AI). Kedua penyakit ini bersifat endemik di Indonesia dan menjadi penyebab utama tingginya angka kematian unggas secara massal. Dampak ekonomi yang ditimbulkan dari serangan ND dan AI tidak hanya dirasakan oleh peternak, tetapi juga berpotensi mengganggu stabilitas pasokan protein hewani masyarakat. Oleh karena itu, upaya pengendalian dan pencegahan penyakit ini merupakan hal yang sangat penting dalam sistem budidaya ayam kampung (Suryana *et al.*, 2020).

Newcastle Disease (ND) dan *Avian Influenza* (AI) merupakan dua penyakit viral yang sangat menular dan menjadi tantangan utama dalam industri peternakan unggas, baik skala besar maupun kecil. Penyakit ND disebabkan oleh virus dari genus *Avulavirus*, sedangkan AI disebabkan oleh virus influenza tipe A dari famili *Orthomyxoviridae*. Penyakit ND dan AI menyerang sistem pernapasan, pencernaan, dan saraf, serta dapat menyebabkan kematian dalam waktu singkat setelah infeksi. Tingginya tingkat morbiditas dan mortalitas akibat ND dan AI berdampak langsung pada kerugian ekonomi yang besar, penurunan produktivitas ternak, dan gangguan pada distribusi pangan hewani. Oleh karena itu,

pengendalian penyakit ini menjadi prioritas dalam sistem kesehatan unggas nasional (Prasetyo *et al.*, 2019).

Salah satu upaya penting dalam mencegah penyakit AI dan ND adalah melalui program vaksinasi. Vaksin yang digunakan umumnya berupa virus yang dilemahkan sehingga sangat sensitif terhadap kondisi penyimpanan. Stabilitas vaksin dipengaruhi oleh kualitas produk serta rantai dingin (*cold chain*) selama distribusi. Penelitian Osman *et al.* (2021) menunjukkan bahwa vaksin ND komersial mengalami penurunan potensi ketika disimpan pada suhu tinggi, sehingga efektivitasnya menurun secara signifikan. Hal ini menegaskan bahwa penyimpanan vaksin pada suhu rendah yang sesuai merupakan syarat mutlak agar potensi vaksin tetap terjaga dan dapat memberikan perlindungan optimal pada unggas.

Vaksinasi bertujuan untuk merangsang sistem imun adaptif sehingga tubuh menghasilkan antibodi sebagai respons terhadap antigen. Antibodi merupakan protein spesifik yang diproduksi oleh sel imun untuk mengenali dan menetralkan antigen. Tingkat respons imun humoral dapat dievaluasi melalui titer antibodi, yang menunjukkan konsentrasi antibodi dalam serum sebagai indikator kekuatan respons imun terhadap antigen (Abbas *et al.*, 2018).

Tanaman mimba (*Azadirachta indica*) menjadi salah satu kandidat menjanjikan sebagai imunostimulan alami dalam peternakan unggas. Ekstrak daun mimba kaya akan komponen aktif seperti azadirachtin, nimbin, salannin, flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, terpenoid, dan limonoid yang memiliki sifat antimikroba, antiinflamasi, serta efek imunomodulator sehingga mampu mengaktifkan limfosit dan makrofag serta meningkatkan produksi antibodi terhadap antigen (Sutradhar *et al.*, 2025). Hal ini menjadikan mimba sebagai alternatif potensial dalam meningkatkan sistem pertahanan tubuh unggas secara alami.

Senyawa-senyawa aktif ekstrak daun mimba bekerja dengan merangsang aktivitas limfosit dan makrofag, meningkatkan sekresi antibodi, serta memperkuat respons imun tubuh terhadap antigen asing. Penelitian Vikash *et al.* (2016) menyatakan bahwa suplementasi 10% ekstrak daun mimba dalam air minum pada ayam broiler

yang diinfeksi *E. Coli* secara buatan dapat mengurangi tingkat keparahan lesi pada limpa dan bursa, yang menunjukkan adanya peran protektif NLE dalam membatasi penurunan jumlah limfosit. Selain itu, suplementasi ini juga meningkatkan respons imun seluler maupun humoral, sehingga menunjukkan efek imunomodulatornya.

Suplementasi ekstrak tanaman obat melalui air minum mampu memperbaiki kondisi mikroflora usus serta meningkatkan respon imun humoral pada ayam broiler, yang ditunjukkan oleh peningkatan titer antibodi. Peningkatan respon imun tersebut berkaitan dengan aktivitas senyawa bioaktif tanaman yang bersifat imunomodulator, seperti polisakarida, flavonoid, dan senyawa fenolik, yang mampu menstimulasi aktivitas sel-sel imun. Oleh karena itu, pemberian ekstrak tanaman obat melalui air minum berpotensi digunakan sebagai alternatif alami pengganti antibiotik sintetis dalam sistem pemeliharaan unggas (Shokraneh *et al.*, 2016)

Ekstrak daun mimba metanolik diberikan melalui air minum selama lima hari dengan dosis 500 dan 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ BB, yang secara signifikan menurunkan morbiditas serta mortalitas, sekaligus memperbaiki skor lesi makroskopis dan mikroskopis pada semua organ dibandingkan kelompok terinfeksi tanpa perlakuan (kelompok B). Penurunan tersebut menandakan infeksi lebih terkendali, sehingga ayam lebih mampu mengembangkan respons imun adaptif dan meningkatkan titer antibodi terhadap *Newcastle Disease Virus* (NDV) (Elbasuni *et al.*, 2023).

Penelitian Hegazy *et al.* (2023) memperkuat temuan tersebut dengan menggunakan ekstrak daun mimba (8% *aqueous neem leaf extract*). Pemberian ekstrak tersebut diberikan melalui air minum dengan dosis 50 mL per liter air, yang diaplikasikan 2 hari sebelum dan 2 hari setelah vaksinasi. Perlakuan ini terbukti meningkatkan titer antibodi secara signifikan, menekan replikasi virus, serta mencegah terjadinya virus shedding, sehingga kombinasi vaksinasi bivalen dan ekstrak mimba 8% mampu memberikan proteksi penuh terhadap infeksi *Avian Influenza* (H5N8) pada ayam.

Saat ini, penelitian tentang pemanfaatan ekstrak mimba (*Azadirachta indica*) sebagai imunostimulan alami pada unggas lokal melalui air minum semakin berkembang. Potensi ekstrak mimba dievaluasi melalui pengukuran titer antibodi ND dan AI sebagai indikator respon imun humoral. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan bukti ilmiah mengenai efektivitas pemberian ekstrak mimba melalui air minum dalam meningkatkan daya tahan tubuh ayam serta mendukung pengembangan produk fitogenik berbasis herbal lokal bagi peternakan rakyat.

1.2 Tujuan penelitian

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun Mimba (*Azadirachta indica*) dengan dosis yang berbeda dalam air minum terhadap titer antibodi *Avian Influenza* (AI) dan *Newcastle Disease* (ND) pada ayam kampung unggul balitbangtan (KUB) jantan.

1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi kepada masyarakat khususnya bagi peternak ayam kampung unggul balitbangtan (KUB), praktisi dan peneliti mengenai efektivitas pemberian ekstrak mimba terhadap titer antibodi *Avian Influenza* (AI) dan *Newcastle Disease* (ND) pada ayam KUB yang dapat menunjang kesehatan dan pertumbuhan yang akan berpengaruh pada produktivitas ayam KUB tersebut serta menambah wawasan dan ilmu pengetahuan bagi peneliti.

1.4 Kerangka Pemikiran

Ayam kampung unggul balitbangtan (KUB) merupakan salah satu galur ayam lokal unggul yang telah dikembangkan melalui seleksi genetik untuk meningkatkan performa produksi, termasuk pertumbuhan tubuh, efisiensi pakan, dan adaptasi terhadap lingkungan tropis. Penelitian pada ayam KUB menunjukkan bahwa performa ayam KUB tetap stabil baik saat diberi pakan

berbasis bahan lokal maupun pakan komersial, yang mencerminkan kemampuan adaptasinya serta potensi produktivitas yang dapat dimanfaatkan dalam usaha peternakan skala kecil dan menengah (Hadrawi *et al.*, 2023).

Meskipun demikian, pola pemeliharaan ayam kampung hingga kini masih belum optimal, sehingga hasil produksinya belum mampu mencukupi permintaan pasar. Rendahnya produktivitas ini umumnya disebabkan oleh manajemen pemeliharaan yang kurang baik, khususnya dari segi kesehatan. Hal ini karena sebagian besar dipelihara secara tradisional, ayam kampung kerap terserang penyakit menular, terutama yang disebabkan oleh virus seperti *Avian Influenza* dan *Newcastle Disease* (Edowai *et al.*, 2019).

Avian Influenza dan *Newcastle Disease* terkadang dapat menyerang unggas secara bersamaan, dengan karakteristik yang mirip dalam menimbulkan kematian. Kedua penyakit ini berdampak serius pada ayam kampung karena menyebabkan tingginya angka kesakitan dan kematian, serta penurunan produktivitas. Oleh karena itu, upaya pencegahan sangat penting dilakukan, salah satunya melalui program vaksinasi (Agustin dan Ningtyas, 2021).

Parameter keberhasilan vaksinasi dilihat dari hitungan titer antibodi yang dapat diukur melalui uji laboratorium. Keberhasilan vaksinasi serta potensi vaksin kombinasi ND-AI dalam memicu terbentuknya titer antibodi protektif terhadap ND dideteksi dengan uji hemaglutinasi atau HI. Titer antibodi protektif AI adalah $>\log 2^4$ atau >16 melalui uji HI (OIE, 2012). Titer antibodi protektif ND apabila memiliki nilai uji HI $\geq \log 2^5$ atau ≥ 32 (OIE, 2008).

Titer antibodi yang tinggi menunjukkan bahwa antibodi di dalam tubuh ayam kampung dapat melindungi ayam tersebut, sebaliknya jika titer antibodi rendah maka antibodi di dalam tubuh ayam tidak dapat melindungi tubuh ayam kampung dari infeksi virus. Tindakan yang dilakukan untuk meningkatkan titer antibodi AI dan ND adalah dengan cara memberikan senyawa herbal sebagai imunomodulator, untuk memberikan efek pada sistem kekebalan tubuh (Dhama *et al.*, 2015).

Daun mimba memiliki potensi besar sebagai imunomodulator alami yang dapat meningkatkan titer antibodi pada ayam. Hal ini karena daun mimba mengandung berbagai senyawa bioaktif penting. Daun mimba diketahui kaya akan metabolit sekunder seperti azadirachtin, nimbin, salannin, flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, terpenoid, dan limonoid (Sutradhar *et al.*, 2025). Kandungan senyawa tersebut tidak hanya berfungsi sebagai antioksidan, tetapi juga memiliki peran sebagai bagian dari respon imun humoral, serta menunjukkan potensinya sebagai imunomodulator alami (Ikpendu *et al.*, 2023). Aktivitas antibakteri dan antimikroba dari ekstrak daun mimba mampu menghambat pertumbuhan mikroba patogen sehingga mendukung kesehatan, pertumbuhan, dan produktivitas ternak (Garba *et al.*, 2018).

Keberadaan senyawa alkaloid dalam ekstrak mimba turut berkontribusi terhadap peningkatan respons imun. Alkaloid merupakan metabolit sekunder yang menunjukkan berbagai aktivitas bioaktif, termasuk kemampuan untuk memodulasi aktivitas sel imun dan produksi sitokin sehingga respons humoral terhadap antigen menjadi lebih efektif. Beberapa alkaloid seperti berberine dilaporkan memiliki efek imunomodulator yang didukung oleh mekanisme farmakologis yang kompleks pada sistem imun adaptif dan peradangan tubuh (Qin *et al.*, 2024). Alkaloid juga memiliki aktivitas antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen melalui berbagai mekanisme, seperti gangguan sintesis dinding sel dan peningkatan permeabilitas membran. Aktivitas antimikroba alkaloid ini berperan dalam menjaga kestabilan kondisi fisiologis tubuh serta mendukung terbentuknya respons imun yang optimal (Yan *et al.*, 2021).

Selain alkaloid, daun mimba juga mengandung flavonoid yang merupakan senyawa polifenol tanaman yang memiliki efek imunomodulator, termasuk kemampuan untuk memengaruhi komponen sistem kekebalan seperti aktivasi sel imun, sekresi sitokin, dan modulasi respons imun baik bawaan maupun adaptif. Penelitian Hosseinzadeh (2019) menunjukkan bahwa flavonoid dapat memengaruhi produksi dan sekresi sitokin pro-inflamasi serta fungsi sel imun melalui pengaturan berbagai jalur sinyal imun, sehingga berperan dalam meningkatkan respon imun secara keseluruhan.

Saponin dikenal sebagai imunoadjuvan alami yang mampu meningkatkan respon antibodi terhadap antigen atau vaksin. Mekanisme ini dibuktikan pada penelitian di ayam broiler yang menunjukkan bahwa suplementasi ekstrak daun mimba dapat meningkatkan titer antibodi spesifik terhadap *Escherichia coli* dan memperbaiki respon seluler (Vikash *et al.*, 2016). Penelitian lain juga melaporkan bahwa ekstrak mimba mampu meningkatkan kadar IFN- γ dan IL-2 pada sel T, sekaligus memperkuat proteksi pascavaksinasi terhadap infeksi *Avian Influenza* (H5N8) dengan menurunkan viral shedding (Hegazy *et al.*, 2023). Kombinasi senyawa aktif dalam ekstrak mimba bekerja secara sinergis melalui mekanisme antibakteri langsung, yaitu merusak membran serta menghambat aktivitas enzim dan metabolisme bakteri, serta melalui mekanisme imunomodulasi tidak langsung, yaitu meningkatkan produksi sitokin, memperkuat aktivitas fagositosis, dan meningkatkan titer antibodi. Aktivitas tersebut menjadikan ekstrak mimba berpotensi sebagai alternatif atau pendukung terapi sintetis dalam pemeliharaan kesehatan unggas.

Penelitian Paul *et al.* (2020) menyatakan bahwa pemberian ekstrak daun mimba dalam pakan broiler tidak hanya mampu meningkatkan pertambahan bobot badan dan efisiensi pakan, tetapi juga berperan dalam memperbaiki status kesehatan ayam melalui penguatan sistem imun. Mekanisme kerja ekstrak mimba dikaitkan dengan kandungan metabolit sekundernya, seperti flavonoid, saponin, dan alkaloid, yang berfungsi sebagai antioksidan, antibakteri, serta imunomodulator. Pemberian ekstrak ini terbukti mendukung respon imun humoral maupun seluler sehingga ayam lebih tahan terhadap serangan penyakit. Penggunaan daun mimba sebagai bahan aditif pakan berpotensi menjadi alternatif alami dalam meningkatkan performa produksi sekaligus ketahanan tubuh unggas melalui efek imunostimulasinya.

Penggunaan ayam jantan dalam penelitian bertujuan untuk meminimalkan variasi biologis, karena perbedaan jenis kelamin diketahui memengaruhi performa pertumbuhan dan keseragaman flock. Ayam jantan cenderung menunjukkan pertumbuhan yang lebih cepat dan seragam dibandingkan ayam betina, sehingga

lebih sesuai digunakan untuk memperoleh data penelitian yang konsisten dan objektif (England *et al.*, 2023).

Berdasarkan uraian di atas diharapkan penelitian tentang pemberian ekstrak mimba pada ayam KUB jantan dapat menjaga keseimbangan sistem imun serta dapat meningkatkan titer antibodi ayam kampung, sehingga terhindar dari penyakit AI maupun ND dan dapat meningkatkan produktivitas ayam kampung.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ayam KUB

Ayam Kampung Unggul Balitbangtan (Ayam KUB) merupakan unggas lokal Indonesia hasil pemuliaan selektif yang dikembangkan oleh Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian sebagai upaya peningkatan produktivitas ayam kampung tanpa menghilangkan kemampuan adaptasinya terhadap lingkungan tropis. Ayam KUB berasal dari ayam kampung lokal yang telah diseleksi secara genetik untuk memperbaiki sifat produksi, khususnya pertumbuhan dan produksi telur, namun tetap mempertahankan daya tahan dan kemampuan beradaptasi pada sistem pemeliharaan tradisional hingga semi-intensif (Sartika *et al.*, 2016).

Ayam kampung paling umum dan banyak dipelihara oleh masyarakat, dengan preferensi terhadap pemanfaatannya antara lain sebagai bahan pangan sumber protein, ternak niaga atau tabungan waktu paceklik, ternak kesayangan, atau merupakan salah satu pelengkap dalam upacara tradisional dan keagamaan (Kartika *et al.*, 2016).

Ayam KUB juga menunjukkan variasi fenotipe yang khas, misalnya pada bentuk jengger dan warna bulu yang berbeda antar individu populasi ayam KUB. Fenotipe tersebut tidak hanya mencerminkan keragaman bentuk fisik tetapi juga dapat berhubungan dengan karakter fisiologis tertentu, seperti kualitas semen pada ayam jantan, yang menunjukkan adanya perbedaan fenotipik dalam galur ayam KUB hasil seleksi ini (Magfira *et al.*, 2023). Gambar fisik ayam KUB yang menjadi objek dalam penelitian ini disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Ayam kampung

Sumber : <https://www.majalahinforet.com/2020/03/kata-siapa-ayam-kampung-kebal-flu-burung.html>

Klasifikasi ayam kampung secara *zoologis* menurut Herdiyanto dan Wawan (2019) yaitu:

Kingdom : *Animalia*
 Phylum : *Chordata*
 Class : *Aves*
 Ordo : *Galliformes*
 Famili : *Phasianidae*
 Genus : *Gallus*
 Spesies : *Gallus gallus*

Secara morfologis dan performa produksi, Ayam KUB memiliki ukuran tubuh yang lebih seragam, laju pertumbuhan yang lebih baik, serta efisiensi pemanfaatan pakan yang lebih tinggi dibandingkan ayam kampung biasa, meskipun masih berada di bawah ayam ras komersial. Ayam KUB juga menunjukkan perilaku yang relatif aktif namun lebih tenang dan mudah dikelola, serta mampu beradaptasi dengan baik pada lingkungan tropis dan sistem pemeliharaan berbasis pakan lokal tanpa penurunan performa produksi yang signifikan. Karakteristik tersebut merupakan hasil dari program seleksi genetik yang terarah, sehingga ayam KUB mampu mengatasi keterbatasan produktivitas ayam kampung tradisional tanpa menghilangkan sifat adaptifnya, dan sesuai dikembangkan pada sistem peternakan rakyat skala kecil hingga menengah (Hadrawi *et al.*, 2023).

Secara organoleptik, daging Ayam KUB memperlihatkan karakteristik sensoris yang diterima baik oleh konsumen, seperti aroma, warna, keempukan, dan rasa, yang tidak berbeda signifikan meskipun diberi variasi pakan, sehingga menggambarkan bahwa kualitas daging ayam KUB tetap sesuai dengan preferensi masyarakat terhadap ayam lokal unggul (Anggraeni *et al.*, 2022).

Kandungan gizi pada daging ayam kampung juga menunjukkan profil yang baik, terutama kadar protein dan asam lemak esensial. Ayam kampung juga memiliki ketahanan yang relatif lebih baik terhadap penyakit karena sistem kekebalan tubuhnya berkembang secara alami di lingkungan yang beragam. Namun demikian, dalam menghadapi penyakit viral seperti ND dan AI, ayam kampung tetap memerlukan strategi preventif yang tepat seperti vaksinasi dan dukungan penguatan sistem imun agar tidak terjadi penurunan performa dan kerugian ekonomi pada peternak (Wibowo dan Agustin, 2021).

2.2 Daun Mimba

Daun mimba merupakan bagian dari tanaman mimba (*Azadirachta indica*), pohon tropis yang berasal dari India dan termasuk dalam famili *Meliaceae*. Tanaman ini dikenal luas di berbagai wilayah tropis seperti Asia Tenggara, Afrika, dan Amerika Selatan, serta telah lama dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional karena mengandung berbagai senyawa bioaktif yang bersifat farmakologis (Isman, 2020).

Mimba adalah tumbuhan berkayu yang dapat tumbuh hingga 15--20 meter dengan tajuk yang lebat. Daunnya tersusun majemuk menyirip ganjil dengan helaian daun berbentuk lonjong, tepi bergerigi, dan berwarna hijau tua. Daun mimba mengandung sejumlah senyawa bioaktif seperti azadirachtin, nimbin, nimbidin, salannin, dan quercetin yang memiliki aktivitas biologis tinggi (Alzohairy, 2016). Ekstrak daun mimba mengandung berbagai senyawa bioaktif, seperti flavonoid, terpenoid, dan limonoid, yang berperan sebagai imunomodulator alami. Senyawa-

senyawa tersebut dilaporkan mampu meningkatkan respons imun humoral dan seluler pada ayam, yang ditunjukkan melalui peningkatan titer antibodi serta perbaikan parameter imun dan kesehatan unggas secara umum (Islam *et al.*, 2025). Gambar Fisik tanaman Mimba yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Gambar 2.

Tanaman mimba juga memiliki klasifikasi ilmiah sebagai berikut (Abderrezzak *et al.*, 2025):

Divisio : *Magnoliophyta*
Kelas : *Magnoliopsida*
Ordo : *Sapindales*
Familia : *Meliaceae*
Genus : *Azadirachta*
Spesies : *Azadirachta indica*



Gambar 2. Daun mimba

Sumber: <https://health.grid.id/read/352831907/daun-mimba-pengobatan-rumahan-untuk-kadar-gula-darah?page=all>

Daun mimba menunjukkan beragam aktivitas farmakologis yang signifikan termasuk antibakteri, antifungi, antiviral, anti inflamasi, serta efek imunomodulator. Penelitian Abderrezzak *et al.* (2025) menyatakan bahwa ekstrak daun mimba mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti flavonoid, terpenoid dan limonoid yang mampu memberikan aktivitas antibakteri dan antifungi terhadap berbagai patogen, serta menunjukkan efek anti inflamasi dan meningkatkan respon imun, sehingga mendukung penggunaannya tradisional dalam mengatasi infeksi dan meningkatkan kesehatan tubuh. Temuan ini

memperkuat klaim bahwa daun mimba memiliki potensi terapeutik luas sebagai agen alami untuk menghambat pertumbuhan mikroba dan mendukung sistem imun.

Daun mimba mengandung sejumlah senyawa aktif penting, di antaranya nimbin, nimbidin, nimbolide, dan quercetin. Senyawa-senyawa ini diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis, termasuk antibakteri dan antiinflamasi, serta berpotensi dimanfaatkan dalam pencegahan maupun pengobatan berbagai penyakit (Alzohairy, 2016). Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa daun mimba mengandung berbagai metabolit sekunder, antara lain flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, terpenoid, dan limonoid. Keberadaan senyawa-senyawa tersebut menegaskan bahwa ekstrak daun mimba kaya komponen bioaktif yang berperan sebagai antioksidan alami dalam menangkal radikal bebas (Ousman *et al.*, 2025).

Flavonoid merupakan senyawa polifenol dengan kerangka dasar C₆-C₃-C₆ (dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh rantai tiga karbon). Struktur ini memungkinkan flavonoid bertindak sebagai donor elektron untuk menetralkan radikal bebas. Secara biologis, flavonoid berfungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan antibakteri. Flavonoid dalam konteks imun ternak mampu menjaga integritas sel imun dari kerusakan oksidatif, mendukung proliferasi limfosit, serta memperkuat respons humoral. Peran flavonoid tersebut menjadikannya sebagai kontributor penting dalam peningkatan titer antibodi pada unggas yang divaksinasi (Ishaq *et al.*, 2022).

Saponin adalah glikosida yang tersusun dari inti aglikon triterpenoid atau steroid yang terikat dengan rantai gula. Sifat amfipatiknya memungkinkan saponin berinteraksi dengan membran sel dan menurunkan tegangan permukaan. Secara biologis, saponin berperan sebagai imunostimulan dan adjuvan alami, yang mampu meningkatkan respon imun baik seluler maupun humoral. Selain itu, saponin juga dapat meningkatkan produksi antibodi pada hewan, sehingga mendukung efektivitas vaksin dan meningkatkan titer antibodi terhadap antigen tertentu (Chen, 2023).

Alkaloid adalah senyawa basa yang mengandung atom nitrogen dalam cincin heterosiklik. Struktur ini membuat alkaloid mampu berinteraksi dengan reseptor biologis. Fungsi biologisnya meliputi antimikroba, analgesik, dan antiinflamasi. Pada ternak, alkaloid lebih berperan sebagai agen protektif terhadap infeksi melalui aktivitas antimikroba, serta mendukung daya tahan tubuh. Namun, kontribusi alkaloid terhadap peningkatan titer antibodi tidak sekuat flavonoid atau saponin, melainkan lebih bersifat sebagai pelindung pendukung sistem imun (Andersa *et al.*, 2024).

Senyawa terpenoid memiliki kemampuan antibakteri yang efektif. Mekanisme penghambatan terpenoid terhadap bakteri terjadi melalui interaksi dengan membran sel, di mana senyawa lipofilik ini menembus bilayer lipid dan mengganggu integritas membran. Gangguan ini menyebabkan perubahan permeabilitas membran, keluarnya komponen intraseluler, serta terganggunya keseimbangan ion sel, sehingga nutrisi tidak dapat diserap dengan optimal dan pertumbuhan bakteri menjadi terhambat atau sel bakteri mengalami kematian (Liu *et al.*, 2024).

Tanin yang terdapat pada daun mimba termasuk metabolit sekunder dengan kemampuan mengikat protein sehingga menimbulkan sifat astringen. Senyawa ini diketahui memiliki aktivitas antimikroba, antioksidan, serta antiparasit. Pada unggas, konsumsi tanin dalam jumlah rendah dapat bermanfaat bagi kesehatan saluran pencernaan dan membantu menekan infeksi mikroba. Namun demikian, jika diberikan dalam dosis tinggi, tanin justru dapat menghambat pemanfaatan protein sehingga berpotensi menurunkan performa ternak (Islas *et al.*, 2020).

Limonoid merupakan kelompok senyawa tetranortriterpenoid khas dari famili *Meliaceae*, termasuk pada tanaman mimba. Beberapa limonoid penting yang ditemukan antara lain nimbin, nimbidin, dan nimbolide. Senyawa-senyawa ini diketahui memiliki aktivitas biologis luas, mulai dari insektisida alami, antimalaria, antibakteri, hingga antiinflamasi. Penelitian Alzohairy, (2016) menunjukkan bahwa nimbidin mampu menekan aktivitas makrofag dan neutrofil, sehingga berperan dalam pengendalian peradangan. Sementara itu, nimbolide

terbukti menghambat jalur transduksi sinyal seperti NF- κ B dan Wnt serta menginduksi apoptosis, yang mendukung sifatnya sebagai agen imunomodulator. Walaupun aktivitasnya dalam merangsang antibodi tidak sekuat saponin, keberadaan limonoid tetap penting dalam menjaga keseimbangan sistem imun dan membantu tubuh merespons antigen secara lebih terkontrol.

2.3 *Avian Influenza (AI)*

Avian Influenza atau flu burung merupakan penyakit infeksius yang disebabkan oleh virus Influenza A subtipe H5N1 yang menyerang berbagai jenis unggas. Penelitian di Indonesia menunjukkan bahwa virus AI subtipe H5N1 dapat terdeteksi pada unggas dan lingkungan pasar, yang menunjukkan peran lokasi penjualan unggas sebagai sumber penularan antar unggas, dan menegaskan karakteristik virus AI yang highly pathogenic serta mampu menyebar secara luas dalam populasi unggas domestik (Dharmayanti *et.al.*, 2025). Virus ini menunjukkan kemampuan tinggi untuk bermutasi dan mengalami rekombinasi genetik, sehingga berpotensi menghasilkan varian baru dengan virulensi dan daya tular yang meningkat. Virus AI terutama disebabkan oleh subtipe *Influenza A* H5 dan H7 yang dapat berubah menjadi bentuk *highly pathogenic Avian Influenza* (HPAI), dan subtipe H5N1 merupakan strain paling mematikan bagi ayam dan juga berisiko zoonosis tinggi (CDC, 2023).

Virus *Avian Influenza* termasuk dalam famili *Orthomyxoviridae*, genus *Influenzavirus A*, dan memiliki materi genetik berupa RNA untai tunggal (single-stranded RNA) berpolaritas negatif. Virus ini terdiri atas delapan segmen genomik yang menyandi protein struktural dan non-struktural. Subtipe AI diklasifikasikan berdasarkan dua jenis glikoprotein permukaan, yaitu hemagglutinin (HA) dan neuraminidase (NA), dengan jumlah kombinasi subtipe mencapai 18 HA (H1–H18) dan 11 NA (N1–N11) (OIE, 2021). Virus *Influenza A* subtipe H5 dan H7 memiliki potensi evolusi menjadi virus dengan patogenesis tinggi (HPAI) melalui akumulasi motif polibasis pada situs pemotongan hemagglutinin, yang memungkinkan virus berkembang dari bentuk *low pathogenic* menjadi bentuk

highly pathogenic. Perubahan genetik ini memfasilitasi replikasi sistemik di unggas dan dikaitkan dengan peningkatan virulensi dan mortalitas tinggi pada unggas domestik, sehingga subtipe H5 dan H7 tetap menjadi ancaman serius bagi kesehatan hewan dan industri peternakan global (El-Bidawy *et al.*, 2025).

Titer antibodi AI dinyatakan bersifat protektif apabila memiliki nilai $> \log 2^4$ atau setara dengan > 16 berdasarkan uji hemagglutination inhibition (HI) (OIE, 2012). Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Habiah (2023) yang melaporkan bahwa nilai titer antibodi AI pada ayam berada pada kisaran $\log 14,44-255,22$, menunjukkan bahwa sebagian besar respons imun yang terbentuk telah mencapai bahkan melampaui ambang batas protektif.

Penularan AI dapat terjadi secara langsung maupun tidak langsung. Penularan langsung melibatkan kontak antara unggas sehat dengan unggas sakit atau produk terinfeksi, seperti feses, lendir saluran pernapasan, atau sekret mata. Penularan tidak langsung dapat terjadi melalui udara, pakan, air minum, alat, kendaraan, dan manusia yang menjadi vektor mekanis (Mardipour *et al.*, 2021). Infeksi HPAI subtipe H5N1 pada ayam yang ditantang secara eksperimental menunjukkan perubahan histopatologis dan klinis yang serius, termasuk ulserasi dan kerusakan epitel tenggorokan, edema interstisial, serta infiltrasi leukosit di paru-paru, yang mencerminkan manifestasi penyakit HPAI yang berat pada unggas. Ayam yang diinokulasi dengan virus H5N1 menunjukkan distress pernapasan yang parah, lethargy (apatis), berkurangnya nafsu makan, dan mortalitas mencapai 100% dalam beberapa hari pascainokulasi, menunjukkan virulensi tinggi virus terhadap ayam setelah tantangan virus. Temuan ini menegaskan bahwa gejala klinis yang muncul sangat tergantung pada virulensi strain virus dan respons imun ayam, dengan lesi histopatologis yang khas pada sistem pernapasan yang menjadi ciri infeksi HPAI H5N1 (Mahmoud *et al.*, 2025).

Langkah pengendalian AI yang paling efektif hingga saat ini adalah melalui penerapan vaksinasi yang tepat dan ketatnya penerapan biosekuriti. Vaksinasi

terhadap AI di Indonesia telah dilakukan menggunakan vaksin inaktif berbasis strain H5N1 *clade* 2.1 dan 2.3, dengan tujuan untuk menurunkan tingkat infeksi dan penyebaran virus di lapangan (Wibawa *et al.*, 2017). Meskipun vaksinasi efektif dalam menurunkan angka kematian, keberhasilannya sangat dipengaruhi oleh kualitas vaksin, jadwal pemberian, serta status imun individu ayam. Oleh karena itu, dibutuhkan pendekatan tambahan seperti pemberian imunostimulan untuk meningkatkan respons imun pascavaksinasi (Younan *et al.*, 2022).

Infeksi AI dapat mengakibatkan kematian mendadak pada ayam tanpa gejala yang jelas sebelumnya, namun pada beberapa kasus gejala yang muncul antara lain meliputi gangguan pernapasan (seperti ngorok, bersin, batuk), penurunan produksi telur, pembengkakan di kepala, sianosis pada jengger dan pial, serta gejala neurologis seperti tremor dan tortikolis. Selain itu, dijumpai pula lesi internal seperti perdarahan pada trakea, proventrikulus, dan organ limfoid (Swayne *et al.*, 2013). Penelitian epidemiologis dan model transmisi AI menunjukkan bahwa masa inkubasi pada unggas sangat bervariasi tergantung pada virulensi strain, di mana periode laten dan onset tanda klinis bisa terjadi dalam beberapa hari pertama setelah infeksi, dengan *latent period* untuk sejumlah strain HPAI umumnya kurang dari dua hari sementara LPAI menunjukkan variasi yang lebih luas sebelum tanda klinis tampak, mencerminkan perbedaan waktu munculnya gejala antara virus dengan virulensi berbeda (Lambert *et al.*, 2023)

Penularan virus AI pada unggas terjadi melalui sejumlah jalur, termasuk kontak langsung dengan unggas yang terinfeksi, serta kontak tidak langsung melalui lingkungan yang tercemar seperti peralatan kandang, kendaraan, pakaian, air, atau permukaan yang terkontaminasi virus, yang semuanya berkontribusi terhadap penyebaran virus di antara unggas domestik dan meningkatkan risiko infeksi di peternakan dan pasar unggas (Li *et al.*, 2025).

2.4 Newcastle Disease (ND)

Penyakit *Newcastle Disease* atau yang lebih dikenal dengan sebutan tetelo di Indonesia merupakan penyakit viral yang sangat merugikan pada unggas.

Penyakit ini dapat bersifat perakut, akut hingga kronis, dan mampu menyerang hampir semua jenis unggas, terutama ayam ras maupun ayam lokal. Tingkat kematian (mortalitas) dan kesakitan (morbiditas) akibat infeksi virus sangat bervariasi tergantung virulensi strain, di mana strain velogenik dapat menyebabkan kerugian hingga mendekati 100% pada populasi yang peka, sedangkan strain mesogenik dan lentogenik menyebabkan kasus dengan tingkat kematian lebih rendah (Dharmayanti *et al.*, 2024).

Penyakit ND disebabkan oleh *Newcastle Disease Virus* (NDV) yang termasuk dalam genus *Orthoavulavirus* dan famili *Paramyxoviridae*. Virus ini memiliki genom RNA untai tunggal (*single stranded RNA/ssRNA*) berpolaritas negatif serta bersifat pleomorfik, biasanya berbentuk bulat dengan diameter 100–500 nm, meskipun bentuk filamen juga ditemukan, dan dilengkapi dengan selubung (*envelope*). Hingga kini telah diidentifikasi beberapa serotipe *avian avulavirus*, di antaranya AOA-1 hingga AOA-20 (Dimitrov *et al.*, 2019).

Penularan penyakit ND dipengaruhi oleh galur virus yang dikelompokkan menjadi 4 patotipe, yaitu *non-virulent*, *lentogenik*, *mesogenik*, dan *velogenik*. Pengelompokkan ini didasarkan atas kecepatan virulensi virus ND, seperti *lentogenik* (virulensi rendah), *mesogenik* (virulensi sedang), dan *velogenik* (virulensi sangat ganas) (Putri *et al.*, 2021). Penularan penyakit ND terjadi secara inhali melalui udara tercemar, dimana virus dari unggas sakit menyebar ke unggas sehat yang ada disekitarnya, dan dapat pula melalui bangkai penderita atau secara tidak langsung melalui daging yang tercemar oleh virus (Yulianti *et al.*, 2020).

Newcastle Disease virus memiliki virulensi yang berbeda-beda lentogenik (ringan), mesogenik (sedang), dan velogenik (sangat ganas) yang memengaruhi periode inkubasi dan gejala klinisnya: strain lentogenik biasanya hanya menyebabkan infeksi subklinis atau gangguan pernapasan ringan, mesogenik menyebabkan penyakit pernapasan sedang dengan kemungkinan gejala

saraf ringan, sedangkan strain velogenik menghasilkan penyakit berat dengan tanda respirasi, neurologis, diare hijau serta mortalitas tinggi yang dapat mencapai hampir 100%, dan periode inkubasi umumnya berkisar antara 2--15 hari tergantung pada kondisi ayam dan strain virusnya (Alexander, 2016).

Hingga saat ini belum ditemukan metode pengobatan yang benar-benar efektif untuk penyakit ND. Upaya yang dapat ditempuh dalam pencegahan adalah dengan penerapan vaksinasi serta manajemen biosekuriti yang ketat (Kencana *et al.*, 2017). Jenis vaksin ND yang beredar saat ini tidak hanya dalam bentuk tunggal, tetapi juga tersedia dalam kombinasi dengan agen penyakit lain, misalnya virus AI. Vaksin ND di Indonesia dikelompokkan menjadi dua tipe utama, yaitu vaksin aktif dan vaksin inaktif. Vaksin inaktif lebih banyak direkomendasikan karena dinilai lebih sesuai dengan karakteristik virus strain velogenik genotipe VII yang saat ini lebih dominan dibandingkan strain lainnya (Kurnianingtyas *et al.*, 2017).

Titer antibodi ND dikatakan bersifat protektif apabila memiliki nilai uji hemagglutination inhibition (HI) $\geq \log 2^5$ atau setara dengan ≥ 32 (OIE, 2008). Sejalan dengan hal tersebut, Da Costa *et al.* (2022) melaporkan bahwa nilai titer antibodi ND pada ayam kampung pascavaksinasi berada pada kisaran $\log 24$ -- 211 , yang menunjukkan bahwa respons imun yang terbentuk setelah vaksinasi umumnya telah mencapai bahkan melampaui batas protektif yang ditetapkan.

2.5 Sistem Imun Tubuh

Sistem imun pada ayam berfungsi sebagai pertahanan utama terhadap serangan bakteri, virus, maupun parasit yang berpotensi menurunkan kesehatan dan produktivitas. Secara garis besar, sistem imun terbagi menjadi dua komponen, yaitu imun bawaan (*innate immunity*) dan imun adaptif (*adaptive immunity*). Imun bawaan melibatkan sel-sel seperti makrofag dan *natural killer* (NK) *cells* yang memberikan perlindungan cepat terhadap agen infeksi, sementara imun adaptif

diaitkan dengan aktivasi limfosit T dan B serta produksi antibodi yang spesifik terhadap patogen. Keduanya saling melengkapi untuk menjaga keseimbangan dan ketahanan tubuh ayam dalam menghadapi infeksi di lingkungan peternakan (Meijerink *et al.*, 2021).

Komponen imun bawaan pada ayam mencakup penghalang fisik seperti kulit dan mukosa serta berbagai sel fagosit dan efektor non spesifik seperti makrofag, heterofil (analog neutrofil pada unggas), dan sel natural killer (NK) yang merespons cepat terhadap patogen tanpa membutuhkan pengenalan antigen spesifik, serta turut mengaktifkan respons imun adaptif melalui pengenalan pola molekuler patogen (PAMPs) oleh reseptor pengenalan pola (pattern recognition receptors) (Mehrzhad *et al.*, 2024). Selain itu, sistem ini juga melibatkan protein komplemen, interferon, dan berbagai sitokin proinflamasi yang memperkuat respons imun awal. Meskipun bersifat cepat, sistem ini tidak memiliki memori imunologis sehingga respon terhadap infeksi berulang akan tetap sama (Byrne *et al.*, 2020).

Sistem imun adaptif bekerja lebih lambat dibandingkan sistem imun bawaan, namun jauh lebih spesifik dan efektif karena mampu mengenali antigen tertentu. Limfosit B akan berdiferensiasi menjadi sel plasma yang memproduksi antibodi spesifik untuk menetralkan antigen (imunitas humoral), sedangkan limfosit T berperan dalam imunitas seluler dengan menghancurkan sel yang terinfeksi serta mengaktifkan dan mengkoordinasikan respon imun lainnya (Bella dan Mustakim, 2025).

Ayam memperoleh kekebalan pasif dari induknya melalui transfer antibodi maternal (immunoglobulin Y atau IgY) yang disimpan dalam kuning telur. Antibodi ini akan diserap oleh embrio selama masa inkubasi dan memberikan perlindungan sementara pada fase awal kehidupan ayam. Namun, kadar antibodi maternal akan menurun secara signifikan setelah usia 7--10 hari, sehingga ayam menjadi lebih rentan terhadap infeksi. Hal ini didukung dengan penelitian yang menyatakan nilai antibodi ayam pada minggu ke 2 menurun hingga 22 (Putra *et al.*, 2020). Maka untuk pencegahannya dilakukan tindakan vaksinasi agar ayam

terhindar dari penyakit jika antibodi maternal sudah tidak ada. Untuk mengetahui keberadaan antibodi pada ayam pedaging, dilakukan uji serologi titer antibodi yaitu uji *haemagglutination assay* (HA) atau *haemagglutination inhibition* (HI) (Khodijah, 2023). Oleh karena itu, strategi vaksinasi sangat penting untuk memicu respons imun aktif yang menghasilkan antibodi spesifik terhadap antigen target serta membentuk memori imunologis yang memberikan perlindungan jangka panjang terhadap infeksi tertentu, karena vaksinasi mengaktifkan sel B dan T dalam sistem imun adaptif sehingga tubuh dapat merespons infeksi dengan lebih cepat dan efektif pada paparan ulang antigen (Louis, 2024).

Berdasarkan hasil penelitian Al-Rasheed *et al.* (2021), pemberian vaksin hidup melalui rute tetes mata pada umur 1 hari terbukti mampu menstimulasi sistem kekebalan mukosal di saluran pernapasan bagian atas, karena antigen dari vaksin secara langsung berinteraksi dengan sel-sel imun lokal dan merangsang produksi imunoglobulin A (IgA) sebagai pertahanan awal. Penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa ketika vaksinasi diulang pada umur 21 hari, terjadi peningkatan signifikan pada kadar antibodi mukosal (IgA) maupun sistemik (IgG), yang menandakan terjadinya respon imun sekunder atau *anamnestic response*. Hal ini membuktikan bahwa vaksinasi berurutan antara umur 1 hari dan 21 hari menghasilkan kekebalan yang lebih kuat dan bertahan lebih lama dibandingkan vaksinasi tunggal. Sementara itu, menurut Dimitrov *et al.* (2017), vaksin inaktif sebaiknya diberikan melalui jalur subkutan atau intramuskular karena metode tersebut dapat memicu respon antibodi sistemik yang tinggi dan tahan lama. Penulis juga menekankan bahwa vaksin hidup perlu diberikan setelah antibodi maternal menurun, sebab keberadaan antibodi bawaan dapat menghambat replikasi antigen vaksin dan mengurangi pembentukan kekebalan aktif.

2.6 Titer Antibodi

Titer antibodi merupakan indikator kuantitatif dari jumlah antibodi dalam serum darah yang mencerminkan tingkat kekebalan tubuh terhadap suatu patogen tertentu. Pemeriksaan titer antibodi menjadi salah satu metode penting dalam

mengevaluasi keberhasilan vaksinasi dan status imunologis hewan, khususnya unggas seperti ayam. Antibodi merupakan protein imunoglobulin yang diproduksi oleh limfosit B sebagai respons terhadap keberadaan antigen dalam tubuh (Tizard, 2018).

Salah satu metode serologis yang paling banyak digunakan untuk mengukur titer antibodi terhadap virus *Avian Influenza*(AI) dan *Newcastle Disease* (ND) adalah Haemagglutination Inhibition (HI) test. Uji HI didasarkan pada kemampuan antibodi spesifik dalam serum untuk menghambat aglutinasi sel darah merah yang dimediasi oleh antigen virus. Ketika antibodi mengenali protein virus seperti haemagglutinin, interaksi antara virus dan eritrosit akan terhalang, sehingga hemagglutinasi tidak terjadi. Metode ini tetap menjadi standar utama dalam penilaian respons imun humoral pasca-paparan atau vaksinasi terhadap AI dan ND karena kesederhanaan prosedur, sensitivitas tinggi, dan spesifisitas yang baik dalam mendeteksi antibodi spesifik terhadap patogen tersebut (Poetri *et al.*, 2025). Nilai titer antibodi protektif terhadap virus AI subtipe H5 ditetapkan $\geq 2^4$ (16 HI unit), sementara terhadap virus ND adalah $\geq 2^5$ (32 HI unit) (WOAH, 2021).

Titer antibodi terhadap antigen virus pada umumnya mengalami peningkatan pada fase awal setelah pelaksanaan vaksinasi sebagai bagian dari proses pembentukan respons imun humoral. Pada periode ini, aktivasi sel limfosit B akan berlangsung lebih intensif sehingga terjadi diferensiasi menjadi sel plasma yang memproduksi antibodi spesifik. Pola dinamika tersebut juga dilaporkan pada ayam yang divaksin *avian influenza* subtipe H9N2, di mana pengamatan pada minggu pertama hingga minggu ketiga pascavaksinasi menunjukkan adanya peningkatan titer antibodi dibandingkan sebelum vaksinasi, yang menandakan terbentuknya respons imun protektif pada unggas (Kencana dan Suartha, 2023).

Tingginya titer antibodi pada respon imun sekunder juga disebabkan oleh kemampuan sel memori untuk segera bertransformasi dan berdiferensiasi menjadi sel penghasil antibodi dengan afinitas yang lebih tinggi dibandingkan respon imun primer (Bhakty *et al.*, 2018). Keberadaan sel memori memungkinkan tubuh memberikan respon imun yang lebih cepat dan lebih kuat saat terjadi paparan

antigen yang sama, sehingga efektivitas perlindungan imun menjadi lebih optimal (Abbas *et al.*, 2018).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada November 2025 sampai Desember 2025 di kandang ayam Laboratorium Lapang Terpadu, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Analisis sampel darah dilaksanakan di Laboratirum PT. Medion Farma Jaya, Bandar Lampung.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Bahan penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *day old chick* (DOC) ayam Kampung Unggul Balitbangtan (KUB) jantan sebanyak 45 ekor yang dipelihara selama 55 hari, ransum komersil BR-1 untuk ayam berumur 1 hari sampai dengan 14 hari dari PT. Japfa Comfeed Indonesia Tbk, dan ransum komersil HDBR1-161 untuk ayam berumur 15 hari sampai dengan 55 hari dari PT. Haida Technology Indonesia, air minum yang diberikan secara *ad libitum*, ekstrak mimba (*Acadirachta Indica*) dengan konsentrasi 100 g per 1 liter air dari PT. Medion Farma Jaya, vaksin *Newcastle Disease* (ND) *live*, vaksin *Infectious Bronchitis* (IB) *live*, vaksin *Infectious Bursal Disease* (IBD) *live*, vaksin kombinasi *Newcastle Disease* (ND) dan *Avian Influenza* (AI) *kill* dari PT. Medion Farma Jaya. Bahan yang digunakan untuk pengujian titer antibodi dengan metode *Hemoglution Inhibittion* (HI) meliputi *isotonis* PBS pH 7,0--7,4, antisera AI dan ND, serta *RBC* 1%. Kandungan nutrien ransum BR-1 disajikan pada Tabel 1 dan kandungan nutrien HDBR-161 disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Kandungan nutrisi ransum BR-1

Kandungan Nutrien	Nilai
Kadar Protein Kasar (%)	Min. 21
Kadar Air (%)	Maks. 12
Kadar Lemak (%)	Min. 5
Kadar Serat Kasar (%)	Maks. 5
Kadar Abu (%)	Maks. 7
Kalsium (%)	0,8-1,1
Phospor (%)	Min. 0,50
Enzym (FTU/kg)	Min. Fitase \geq 400
Aflatoksin ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Maks. 50
Asam Amino	
• Lisin (%)	Min. 1,20
• Metionin (%)	Min. 0,45
• Metionin +Sistein (%)	Min. 0,80
• Triptofin (%)	Min. 0,19
• Treonin(%)	Min. 0,75

Sumber: PT. Japfa Comfeed Indonesia Tbk (2025)

Tabel 2. Kandungan nutrisi ransum HDBR1-161

Kandungan Nutrien	Nilai
Kadar Protein Kasar (%)	Min. 21
Kadar Air (%)	Maks. 13
Kadar Lemak (%)	Min. 4
Kadar Serat Kasar (%)	Maks. 5
Kadar Abu (%)	Maks.9
Kalsium (%)	0,70-1.20,
Phospor (%)	Min. 0,50
Enzym (FTU/kg)	Min. Fitase \geq 400
Aflatoksin ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Maks. 50
Asam Amino	
• Lisin (%)	Min. 1,20
• Metionin (%)	Min. 0,45

Sumber: PT. Haida Technology Indonesia (2025)

3.2.2 Alat penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu :

1. peralatan yang digunakan di kandang penelitian yaitu kandang, sekat kawat untuk membuat 15 petak kandang, *sprayer* untuk desinfeksi kandang, *fogger*, sekam, plastik terpal untuk tirai dan pembatas, gas, area brooding, tempat

- pakan ayam *baby chick feeder* (BCF) 15 buah, tempat minum (gantung) 15 buah, timbangan analitik, timbangan gantung, *thermohygrometer*, ember 1 buah, gelas ukur, lampu bohlam 25 *watt* sebagai sumber pemanas, alat kebersihan (sapu, sikat), ember, dan alat tulis, peralatan yang digunakan saat pengambilan sampel darah yaitu spuit 3 ml, dan *cooler box* untuk menyimpan sampel darah;
2. peralatan yang digunakan dalam pengujian titer antibodi AI dan ND yaitu, *disposable srynge* 3 ml untuk mengambil sampel darah ayam, tabung *Eppendorf* sebagai wadah serum darah, alat uji titer antibodi AI dan ND yaitu *micromixer microplate* bentuk V, *micropipermultichannel*, gunting, pisau.

3.3 Rancangan Perlakuan

Perlakuan yang diberikan dalam penelitian ini yaitu pemberian ekstrak mimba. Dosis perlakuan yang digunakan sebagai berikut :

- P0: Air minum tanpa ekstrak mimba (*Azadirachta indica*) (kontrol);
P1: Air minum dengan 2,5 mg ekstrak mimba /kg bobot badan (BB)/hari;
P2: Air minum dengan 5 mg ekstrak mimba /kg bobot badan (BB)/hari;
P3: Air minum dengan 10 mg ekstrak mimba /kg bobot badan (BB)/hari;
P4: Air minum dengan 20 mg ekstrak mimba /kg bobot badan (BB)/hari.

Pemberian ekstrak mimba ditambahkan ke dalam air minum dengan dosis yang berbeda sesuai dengan bobot badan pada 45 ekor ayam KUB dimulai pada ayam umur 15 hari sampai dengan umur 55 hari pemeliharaan.

3.4 Rancangan Percobaan

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan serta pada setiap satuan percobaan terdiri atas 3 ekor ayam KUB jantan.

Pemberian ekstrak mimba ditambahkan ke dalam air minum dengan dosis yang berbeda sesuai dengan bobot badan pada 45 ekor ayam KUB dimulai pada saat ayam berumur 15 hari sampai dengan umur 55 hari pemeliharaan. Tata letak kandang penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.

P1U2	P0U1	P2U3	P4U1	P0U3	P3U3	P4U2	P2U1
P0U2	P3U2	P4U3	P1U3	P2U2	P3U1	P1U1	

Gambar 3. Tata letak kandang penelitian

Keterangan

P: Perlakuan

U : Ulangan

3.5 Peubah yang Diamati

Peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah titer antibodi *Avian Influenza* (AI) dan titer antibodi *Newcastle Disease* (ND) pada ayam kampung unggul balitbangtan jantan yang telah diberi ekstrak mimba.

3.6 Pelaksanaan Penelitian

3.6.1 Persiapan kandang

Persiapan kandang dilakukan 1 sampai 2 minggu sebelum *chick in* yang terdiri dari :

1. membersihkan kandang dan area kandang dari rumput dan gulma;
2. membersihkan alat- alat kandang seperti tempat pakan *baby chick feeder* (BCF) dan tempat air minum;
3. menyiapkan dua kandang brooding untuk pemeliharaan DOC hingga umur 14 hari;
4. memasang kardus pada lantai dua petak kandang brooding;
5. menyiapkan petak kandang dengan ukuran 1 x 1 m dengan tinggi 1 m sebanyak 15 petak untuk 5 perlakuan dan 3 ulangan setiap petak berisi 3 ekor ayam KUB jantan umur 14 hari;
6. menaburkan sekam pada lantai kandang;
7. menyemprotkan desinfektan diseluruh area kandang;
8. menyiapkan tempat pakan *baby chick feeder* (BCF) dan tempat minum;
9. melakukan pengasapan (*fogging*) untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen, kemudian kandang didiamkan selama tiga hari agar steril.

3.6.2 Kegiatan pemeliharaan

Pemeliharaan ayam KUB jantan pada penelitian ini yaitu :

1. melakukan pemeliharaan sampai ayam KUB berumur 55 hari;
2. melakukan penimbangan bobot awal ayam KUB;
3. melakukan pemeliharaan DOC selama 14 hari di kandang brooding;
4. sebanyak 3 ekor ayam jantan berumur 14 hari dipisahkan dan ditempatkan pada setiap petak kandang yang telah disiapkan;
5. ayam diberi ransum komersil secara *ad libitum*, kemudian bobot badannya ditimbang untuk menentukan jumlah ekstrak mimba yang diberikan, serta dilakukan penimbangan sisa pakan setiap hari;
6. pemberian ekstrak mimba sesuai perlakuan di pagi hari, setelah air minum habis dikonsumsi dilanjutkan pemberian air minum secara *ad libitum*;
7. mengukur suhu dan kelembaban kandang setiap hari pada pukul 06.00, 14.00, dan 22.00 WIB;
8. melakukan pencucian peralatan (tempat pakan dan minum) dan membersihkan kandang serta lingkungan kandang setiap hari.
9. vaksinasi dilakukan sesuai dengan umur ayam. Pada umur 1 hari, ayam diberi vaksin *Newcastle Disease* (ND) dan *Infectious Bronchitis* (IB) *live* melalui tetes mata. Selanjutnya, pada umur 14 hari dilakukan pemberian vaksin *Newcastle Disease* (ND) dan *Avian Influenza* (AI) *kill* melalui subkutan, serta vaksin *Infectious Bursal Disease* (IBD) *live* dengan melalui cekok mulut. Pada umur 34 hari dilakukan vaksin ulangan *Newcastle Disease* (ND) dan *Infectious Bronchitis* (IB) *live* melalui tetes mata.

3.6.3 Teknis pemberian ekstrak mimba

Pemberian ekstrak mimba sebagai berikut:

1. pemberian ekstrak mimba dilakukan sesuai dosis perlakuan mulai saat ayam kampung unggul balitbangtan jantan berumur 15 hari dan diberikan setiap pagi hingga ayam mencapai umur 55 hari pemeliharaan;

2. menimbangan bobot badan ayam KUB jantan dilakukan setiap hari pada pukul 07.00 WIB. Bobot badan harian tersebut digunakan sebagai dasar dalam menentukan dosis ekstrak mimba yang diberikan kepada ayam KUB jantan;
3. pemberian ekstrak mimba (*Azadirachta indica*) pada ayam dilakukan berdasarkan dosis per kilogram bobot badan per hari, yaitu P1 sebesar 2,5 mg/kg BB/hari, P2 5 mg/kg BB/hari, P3 10 mg/kg BB/hari, dan P4 20 mg/kg BB/hari. Ekstrak mimba memiliki konsentrasi 100 g per liter air, sehingga volume yang diberikan masing-masing adalah 0,025 ml/kg BB/hari (P1), 0,05 ml/kg BB/hari (P2), 0,1 ml/kg BB/hari (P3), dan 0,2 ml/kg BB/hari (P4). Karena volume tersebut relatif kecil, ekstrak mimba terlebih dahulu diencerkan dengan 10 cc air sebelum diberikan kepada ayam sesuai dengan perlakuan.
4. ayam KUB jantan dipuasakan air minum selama 1 jam sebelum pemberian ekstrak mimba, yaitu mulai pukul 06.00 WIB. Ekstrak mimba dengan dosis berbeda diberikan kepada ayam KUB jantan pada pukul 07.00 WIB melalui air minum, disesuaikan dengan kebutuhan konsumsi selama 2 jam atau sampai air minum perlakuan habis. Setelah itu, ayam kembali diberi air minum tanpa penambahan ekstrak mimba secara *ad libitum*;

3.6.4 Pengambilam sampel darah

Pengambilan sampel darah dilakukan pada 3 ekor ayam KUB jantan dari setiap petak kandang, sehingga diperoleh total 45 sampel serum darah. Sampel darah diambil saat ayam KUB jantan berumur 55 hari pemeliharaan.

Tahapan pengambilan sampel darah ayam KUB jantan sebagai berikut:

1. memposisikan ayam berbaring dan dalam kondisi tenang;
2. membersihkan bagian kulit yang (berada di atas *vena brachialis*) menggunakan alkohol. Darah diambil menggunakan *disposable syringe* 3 ml melalui *vena brachialis*;
3. memasukkan darah ke dalam tabung serum kuning, lalu disimpan di dalam *cooler box* sampai dilakukan analisis;
4. hasil sampel darah dikirim ke Laboratorium PT. Medion Lampung untuk dianalisis titer antibodi *avian influenza* (AI) dan *newcastle disease* (ND).

3.6.5 Pengujian titer antibodi *Avian Influenza (AI)* dan *Newcastle Disease (ND)*

Pengujian titer antibodi AI dilakukan dengan metode uji HI. Cara pengujian titer antibodi dengan uji HA dan HI menurut PT. Medion Farma Jaya yaitu :

1. Pembuatan antigen 4 HAU (HA Test awal antigen):
 - a. mengisi pengencer ke dalam *microplate* sejumlah 25 $\mu\text{L}/\text{well}$ sejumlah 3 *well* x 12 kolom;
 - b. mengambil pengencer 1 ml menggunakan *pipettor* atau *syringe* 3 ml;
 - c. memasukkan pengencer ke dalam vial antigen;
 - d. mengocok antigen dengan *minishaker* hingga larut;
 - e. *setting* volume *single/multichannel pipettor* 25 μL ;
 - f. memasang satu buah pipet tip;
 - g. membuka prop karet antigen, ambil antigen 25 μL , isikan ke dalam *well* kolom pertama sejumlah 3 *well* (triplo);
 - h. memasang *micoplate* pada *microshaker*, kocok agar antigen homogen;
 - i. mengambil *multichannel pipettor*, *setting* volumenya 25 μL , pasang 3 buah pipet tip dengan posisi berurutan;
 - j. mengambil cairan dari kolom pertama sejumlah 25 μL , pindahkan ke kolom ke-2, kocok;
 - k. mengulang langkah di atas dari kolom ke-2 ke kolom berikutnya, lakukan hingga kolom ke-11, buang cairan yang tersisa di *multichannel pipettor* setelah mengambil cairan dari kolom ke-11.
 - l. menambahkan pengencer 25 $\mu\text{L}/\text{well}$ dari kolom ke-1 hingga ke-12 pada semua *well* yang sudah terisi;
 - m. menambahkan *RBC* 1% 25 $\mu\text{L}/\text{well}$;
 - n. menghomogenkan dengan menggoyang *microplate* membentuk angka delapan;
 - o. menginkubasi selama 40 menit pada suhu ruang (20--25°C) atau 60 menit pada suhu 4°C;
 - p. membaca hasil, contohnya ada skema 1, aglutinasi terakhir terjadi pada kolom ke-6, sehingga titer dibaca 2⁶;

- q. menghitung kebutuhan jumlah antigen;
 - r. mengambil sejumlah antigen dari hasil perhitungan, lalu encerkan seperti langkah di atas;
 - s. bila diperlukan lebih dari 1 vial antigen, campurkan masing-masing vial antigen yang telah dilarutkan ke dalam vial kosong;
 - t. mengisi pengencer dalam botol sejumlah hasil perhitungan;
 - u. memasukkan antigen ke dalam pengencer, homogenkan.
2. HA Test antigen 4 HAU:
- a. melakukan seperti HA Test awal antigen;
 - b. jika hasil aglutinasi terakhir pada kolom ke-2 (hasil 2^2) pada ketiga *well* maka antigen siap digunakan;
 - c. jika hasil aglutinasi terakhir pada kolom ke-2 tetapi hanya pada 2 *well* maka HA Test pemastian antigen 4 HAU harus diulang;
 - d. jika aglutinasi terakhir pada kolom ke-3 (hasil 2^2) maka lakukan pengenceran antigen 2 x (1 bagian antigen 4 HAU : 1 bagian pengencer);
 - e. jika aglutinasi terakhir pada kolom ke-1 maka lakukan penambahan antigen 1 bagian sesuai pengenceran awal;
 - f. melakukan HA Test ulang pemastian 4 HAU setelah dilakukan koreksi antigen 4 HAU.
3. HI Test:
- a. mengisi pengencer 25 μ L/ *well* dari kolom ke-1 hingga terakhir menggunakan *multichannel pipetor* yang sesuai;
 - b. mengisi sejumlah *microplate* sesuai kebutuhan. contoh: 40 sampel diuji *single, well* yang diisi dari baris ke-2 hingga ke-8 (untuk 8 sampel/*microplate*), dibutuhkan 5 buah *microplate*;
 - c. memberi kode nomor *microplate* dengan spidol atau label;
 - d. mengisi sampel 25 μ L pada kolom ke-1 berurutan dari sampel pertama hingga sampel terakhir (8 sampel/*plate* untuk diuji *single*);

- e. mencatat identitas sampel pada form pengujian HI test;
- f. menyetting volume multichannel pipettor 25 μL .

4. Titrasi Sampel

- a. *menyetting* volume multichannel pipettor 25 μL ;
- b. memasang *microplate* pada *microshaker*, kocok agar sampel homogen;
- c. memasang pipet tip sejumlah kebutuhan;
- d. mengambil cairan pada kolom ke-1, pindahkan ke kolom ke-2, kocok, pindah ke kolom berikutnya, dan seterusnya hingga kolom terakhir sebelum kontrol. Contoh: jika menggunakan 12 kolom, kolom ke-12 sebagai kontrol aglutinasi dan kolom pengendapan, maka titrasi hingga kolom ke-11;
- e. membuang sisa cairan yang tersisa di pipet tip;
- f. melepaskan *microplate* dari *microshaker*;
- g. melanjutkan *microplate* selanjutnya hingga *microplate* terakhir;
- h. mengatur tumpukan *microplate* sesuai urutan kode sampel.

5. Pengisian antigen 4 HAU:

- a. mengisi antigen sejumlah 25 $\mu\text{L}/\text{well}$ pada kolom ke-1 hingga kolom ke- 11;
- b. mengisi antigen 25 $\mu\text{L}/\text{well}$ pada kolom ke-12 sebanyak minimal 3 *well* sebagai kontrol aglutinasi;
- c. menyisakan minimal 3 *well* di kolom ke-12 yang tidak diisi antigen sebagai kontrol pengendapan, tambahkan pengencer 25 $\mu\text{L}/\text{well}$;
- d. menghomogenkan dengan menggoyang *microplate* membentuk seperti angka delapan;
- e. menginkubasi pertama selama 30 menit pada suhu ruang (20--25°C);
- f. mengurutkan *microplate* saat pengisian RBC 1% sesuai urutan *microplate* saat pengisian antigen;
- g. mengisi RBC 1% 25 $\mu\text{L}/\text{well}$ pada semua *well* yang digunakan;
- h. menghomogenkan dengan menggoyang *microplate* membentuk seperti angka delapan;
- i. menginkubasi kedua selama 40--60 menit pada suhu ruang (20--25°C);
- j. mengurutkan *microplate* saat baca hasil sesuai urutan *microplate* saat pengisian RBC 1%;

- k. pembacaan titer antibodi = 2^6 , pengendapan terakhir pada *well* ke-6,
maka titer antibodinya : $2^6 = 64$.

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari masing- masing perlakuan dibuat dalam bentuk tabulasi dan histogram serta dianalisis secara deskriptif serta dibandingkan dengan nilai standar (Nazir, 2011).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa

1. pemberian ekstrak mimba (*Azadirachta indica*) pada seluruh dosis perlakuan mampu menghasilkan titer antibodi *Newcastle Disease* dan *Avian Influenza* berada di atas standar protektif, hal ini menunjukkan bahwa seluruh perlakuan memiliki kemampuan dalam meningkatkan respon imun ayam.
2. perlakuan P1 dengan dosis 2,5 mg/kg bobot badan/hari menunjukkan hasil yang paling efektif dalam meningkatkan titer antibodi, serta menunjukkan efektivitas tertinggi sebagai dosis optimal.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, saran bagi peternak jika ingin menggunakan ekstrak mimba (*Azadirachta indica*) untuk meningkatkan titer antibodi *Newcastle Disease* (ND) dan *Avian Influenza* (AI) disarankan menggunakan dosis (P1) yaitu 2,5 mg ekstrak mimba /kg bobot badan (BB)/hari.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A. K., Lichman, A. H., & Pillai, S. (2018). *Cellular and Molecular Immunology* (9th ed.). Elsevier Health Sciences.
- Abderrezzak, H., Ahmed, B., & Fatima, L. (2025). *Azadirachta indica* Leaf Extract: Phytochemical Composition and Antioxidant, Antibacterial, and Antifungal Activities. *International Journal of Secondary Metabolite*, 12(3), 615–629.
- Agustin, A. L. D., & Ningtyas, N. S. I. (2021). Titer Antibodi *Newcastle Disease* pada Ayam Layer di Kecamatan Narmada, Kabupaten Lombok Barat. *Jurnal Medik Veteriner*, 4(1), 98–109.
- Alabi, T., & Adedokun, S. (2025). Amino Acid Nutrition In Poultry. *Animals*, 15(22), 1-15.
- Alexander, D. J. (2016). *Newcastle Disease* and Other Avian Paramyxoviruses. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, 35(2), 495–512.
- Alzohairy, M. A. (2016). Therapeutics Role of *Azadirachta indica* (Neem) and Their Active Constituents in Diseases Prevention and Treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23(4), 453–458.
- Al-Rasheed, M., Ball, C., & Ganapathy, K. (2021). Route of *Infectious Bronchitis Virus Vaccination* Determines the Type and Magnitude of Immune Responses. *Avian Pathology*, 50(4), 382–392.
- Andersa, K. N., Tamiru, M., Teka, T. A., Ali, I. M., Chane, K. T., Regasa, T. K., & Ahmed, E. H. (2024). Proximate Composition, Some Phytochemical Constituents, Potential Uses, and Safety of Neem Leaf Flour. *Food Science and Nutrition*, 12(10), 6929–6937.
- Anggraeni, A., Wahyuni, D., & Cahya, I. (2022). Karakteristik Sensoris Daging Ayam Kampung Unggul Balitnak (KUB) yang Diberi Tepung Daun Katuk (*Sauropus androgynus*) dalam Ransum. *Jurnal Agripet*, 22(2), 223–228.
- Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP) Banten. 2016. *Ayam Kampung Unggul Balitbangtan (KUB)*. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Banten, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Kementerian Pertanian, Banten.

- Bella, S., & Mustakim, A. (2025). Peran dan Mekanisme Kerja Limfosit dalam Imunitas Adaptif. *Jurnal Ilmiah Multidisiplin Terpadu*, 9(1), 15-22.
- Beski, S. S. M., Swick, R. A., & Iji, P. A. (2015). Specialized Protein Products in Broiler Chicken Nutrition. *Animal Nutrition*, 5(3), 47–53.
- Bhakty, Z. W., Kencana, G. A. Y., & Suartha, I. N. (2018). Titer Antibodi Ayam Petelur Pascavaksinasi *Avian Influenza* pada Peternakan Komersial di Desa Denbantas, Kecamatan Tabanan. *Indonesia Medicus Veterinus*, 7(2), 39–47.
- Byrne, K. A., Loving, C. L., & McGill, J. L. (2020). Innate Immunomodulation in Food Animals: Evidence for Trained Immunity. *Frontiers in Immunology*, 11(6), 1-14.
- Chen, K., Wang, N., Zhang, X., Wang, M., Liu, Y., & Shi, Y. (2023). Potentials of Saponins Based Adjuvants for Nasal Vaccines. *Frontiers in Immunology*, 14(7), 1-13.
- Centers for Disease Control and Prevention. (2023). *Avian Influenza A Virus Infections in Humans*. <https://www.cdc.gov/flu/avianflu/avian-in-humans.html>
- Da Costa, A. A. P., Astawa, I. N. M., & Adi, A. A. A. M. (2022). Seroprevalensi dan Profil Antibodi Anti-Virus *Newcastle Disease* Pasca Vaksinasi pada Ayam Kampung di Kabupaten Bobonaro Timor-Leste. *Buletin Veteriner Udayana*, 14(4), 425–432
- Dhama, K., Latheef, S. K., Mani, S., Samad, H. A., Karthik, K., Tiwari, R., Khan, R. U., Alagawany, M., Farag, M. R., Alam, G. M., Laudadio, V., & Tufarelli, V. (2015). Multiple Beneficial Applications and Modes of Action of Herbs In Poultry Health and Production. *International Journal of Pharmacology*, 11(3), 152–176.
- Dharmayanti, N. L. P. I., Hewajuli, D. A., Ratnawati, A., & Hartawan, R. (2020). Genetic Diversity of the H5N1 Viruses in Live Bird Markets, Indonesia. *Journal of Veterinary Science*, 21(4), 44-56.
- Dharmayanti, Nurjanah, D., Nuradji, H., Suyatno, T., & Indriani, R. (2024). *Newcastle Disease Virus: The Past and Current Situation In Indonesia*. *Journal of Veterinary Science*, 25(1), 1–20.
- Dimitrov, K. M., Abolnik, C., Afonso, C. L., Albina, E., Bahl, J., Berg, M., Briand, F. X., Brown, I. H., Choi, K. S., Chvala, I., Diel, D. G., Durr, P. A., Ferreira, H. L., Fusaro, A., Gil, P., Goujgoulova, G. V., Grund, C., Hicks, J. T., Joannis, T. M., & Wong, F. Y. K. (2019). Updated Unified Phylogenetic Classification System and Revised Nomenclature For *Newcastle Disease Virus*. *Infection, Genetics and Evolution*, 75(9), 1-14.
- Edowai, E., Tumbal, E. L. S., & Maker, F. M. (2019). Penampilan Sifat Kualitatif dan Kuantitatif Ayam Kampung di Distrik Nabire Kabupaten Nabire. *Jurnal Pertanian dan Peternakan*, 4(1), 50–57.

- Elbasuni, S., Osman, M., Soliman, R., Magdy, Y., Abdalla, E. H., & Fathy, R. (2023). An Alternative Antiviral Therapy of *Newcastle Disease* in Broiler Chickens: a Clinical Study of Methanolic Neem Leaves Extract. *Slovenian Veterinary Research*, 60(25), 271–280.
- El-Bidawy, M. H., Mohammad, I., Ansari, M. R., Hajelbashir, M. I., Khan, M. S., Poyil, M. M., Bari, M. N., Arafah, A. M. R., Kamal, M. A., & Ahsan, S. T. M. (2025). Highly Pathogenic *Avian Influenza*: Tracking the Progression From IAV (H5N1) to IAV (H7N9) and Preparing for Emerging Challenges. *Microorganisms*, 14(1), 1-12.
- England, A., Gharib-Naseri, K., Kheravii, S. K., & Wu, S.-B. (2023). Influence of Sex and Rearing Method on Performance and Flock Uniformity in Broilers: Implications for Research Settings. *Animal Nutrition*, 12(1), 276–283.
- Garba, S., Mera, U., Musa, U., Onifade, K., Jibrin, M., Mshelia, P., Rambo, U., Mungadi, H., Shehu, Z., Ahmad, U., & Jimoh, A. (2018). Effects of Neem (*Azadirachta indica*) Leaf Aqueous Extracts on Haematological Parameters of Cockerels Experimentally Infected with *Infectious Bursal Disease Virus*. *International Journal of Biochemistry Research & Review*, 20(3), 1–8.
- Ghosh, D., Mahapatra, B., & Mukhopadhyay, R. (2024). *Azadirachta indica*: A Source of Potential Antibacterial Activity Against Various Bacterial Strains. *International Journal of Advanced Biochemistry Research*, 8(4), 48–50.
- Habiahhan, R. E. (2023). *Efektivitas Suplementasi Jintan Hitam (Nigella sativa) terhadap Titer Antibodi Avian Influenza (AI) dan Newcastle Disease (ND) pada Ayam Ulu Betina*. Skripsi. Universitas Lampung.
- Hegazy, A. M., Hassanin, O., Hemele, M. A. M., Momenah, M. A., Al-Saeed, F. A., Shakak, A. O., El-Tarabily, K. A., El-Saadony, M. T., & Tolba, H. M. N. (2023). Evaluation of The Immuno-Stimulatory Effect of Aqueous Neem (*Azadirachta indica*) Leaf Extract Against Highly Pathogenic *Avian Influenza* (H5N8) In Experimental Chickens. *Poultry Science*, 102(11), 1–11.
- Herdianto, & Wawan. (2019). *Panduan Beternak dan Berbisnis Ayam Kampung. Cetakan Pertama*. Laksana. Yogyakarta.
- Hosseinzadeh, A., Sadeghi, O., Naghdipour Biregani, A., Soukhtehzari, S., Brandt, G. S., & Esmailzadeh, A. (2019). Immunomodulatory Effects of Flavonoids: Possible Induction of T CD4+ Regulatory Cells Through Suppression of mTOR Pathway Signaling Activity. *Frontiers in Immunology*, 10(51), 1–15.
- Ikpendu, C. N., Ndiana, L. A., Ezeifeke, G. O., Ukwueze, J. I., & Ukwuoma, C. C. (2023). Immunomodulatory Effects of Aqueous Extracts of *Azadirachta Indica* and Piper Guineense on *Newcastle Disease* Vaccination in Cockerels. *Journal of Sustainable Veterinary & Allied Sciences*, 4(2), 151–154.

- Ishaq, R., Chand, N., Khan, R. U., Saeed, M., Laudadio, V., & Tufarelli, V. (2022). Methanolic Extract of Neem (*Azadirachta indica*) Leaves Mitigates Experimentally Induced Coccidiosis Challenge In Japanese Quails. *Journal of Applied Animal Research*, 50(1), 498–503.
- Islam, M. S., Parvez, M. A. R., Hasan, M. T. (2025). Bioactive Components of *Azadirachta indica* (Neem) Leaf Extract Enhance Immunity, Health, and Production Parameters in Broilers. *Research in Veterinary Science*, 200(3), 1-10.
- Islas, J. F., Acosta, E., G-Buentello, Z., Delgado-Gallegos, J. L., Moreno-Treviño, M. G., Escalante, B., & Moreno-Cuevas, J. E. (2020). An Overview of Neem (*Azadirachta indica*) and its Potential Impact On Health. *Journal of Functional Foods*, 74(4), 1-9.
- Isman, M. B. (2020). A Renaissance for Botanical Insecticides. *Pest Management Science*, 76(6), 2071–2077.
- Kencana, G. A., Suartha, I. N., Nainggolan, D. R. B., & Tobing, A. S. L. (2017). Respons Imun Ayam Petelur Pascavaksinasi *Newcastle Disease* dan Egg Drop Syndrome. *Jurnal Sain Veteriner*, 35(1), 81-90.
- Kencana, Y., & Suartha, I. N. (2023). Imunitas Ayam Petelur Pascavaksinasi dengan Vaksin Flu Burung Subtipe H9N2. *Jurnal Veteriner*, 24(2), 194–200.
- Khodijah, N. N. (2023). *Deteksi Antibodi terhadap Virus Newcastle Disease pada Ayam Kampung Pedaging (Gallus domesticus linnaeus) di Peternakan Bekasi Dengan Uji HA-HI. Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Syarif Hidayatullah.
- Kidd, M. T., Maynard, C. W., & Mullenix, G. J. (2021). Progress of Amino Acid Nutrition for Diet Protein Reduction in Poultry. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 12(3), 40-45.
- Kikiyani, N., Edy Santosa, P., & Hartono, M. (2020). The Effect of Giving Immunomodulator of Black Jintan (*Nigella sativa L.*) in Dinking Water on Antibody Titter of *Avian Influenza* (AI) and *Newcastle Disease* (ND) in Female Broilers. *Jurnal Riset dan Inovasi Peternakan*, 4(3), 2598–3067.
- Kogut, M. H. 2017. Role of Nutrition in Poultry Immune Function. *Journal of Applied Poultry Research*, 26(4), 1–8.
- Kurnianingtyas, E., Setiyaningsih, S., dan Indrawati, A. (2017). Penentuan Patotipe Molekuler Virus *Newcastle Disease*: Isolat Lapang di Tiga Wilayah Kabupaten Jawa Timur. *Acta Veterinaria Indonesiana*, 5(1), 8–15.
- Kwawukume, A. A., Sackey, A. K. B., Tekdek, L. B., & Okaiyeto, S. O. (2013). Effect of Neem (*Azadirachta indica*) Leaf Extract on Immune Response of Broilers Vaccinated Against *Newcastle Disease*. *International Journal of Current Science*, 10(2), 127–132.

- Lambert, S., Bauzile, B., Mugnier, A., Durand, B., Vergne, T., & Paul, M. C. (2023). A Systematic Review of Mechanistic Models Used to Study Avian Influenza Virus Transmission and Control. *Veterinary Research*, 54(96), 2–23.
- Li, H., Ren, R., Bai, W., Li, Z., Zhang, J., Liu, Y., Sun, R., Wang, F., Li, D., Li, C., Shi, G., & Zhou, L. (2025). A Review of Avian Influenza Virus Exposure Patterns and Risks Among Occupational Populations. *Veterinary Sciences*, 12(8), 704.
- Li, P., Yin, Y. L., Li, D., Kim, S. W., & Wu, G. (2021). Amino Acids and Immune Function in Animals. *British Journal of Nutrition*, 126(2), 1–12.
- Liu, X., Xin, J., Sun, Y., Zhao, F., Niu, C., & Liu, S. (2024). Terpenoids From Marine Sources: A Promising Avenue for New Antimicrobial Drugs. *Marine Drugs*, 22(8), 338-347.
- Louis, J. (2024). Role of Adaptive Immunity in Long-Term Disease Protection and Vaccination. *Journal of Molecular Pathology and Biochemistry*, 5(2), 192-198.
- Magfira, Karja, N. W. K., Arifiantini, R. I., & Sartika, T. (2023). Korelasi Konsentrasi Testosteron Darah Terhadap Kualitas Semen Segar Ayam Kampung Unggul Balitbangtan (KUB) Dengan Fenotip Berbeda. *Jurnal Sain Veteriner*, 41(3), 384-394.
- Mahmoud, S. H. (2025). Pathogenicity of Highly Pathogenic Avian Influenza A/H5Nx Viruses in Avian Species. *Pathogens*, 14(2), 139-149.
- Makiyah, A., Husin, U. A., & Sadeli, R. (2016). Efek Immunostimulasi Ekstrak Etanol Umbi Iles-iles Terhadap Aktivitas Fagositosis Sel Makrofag pada Tikus Putih Strain Wistar yang Diinokulasi *Staphylococcus aureus*. *Majalah Kedokteran Bandung*, 48(2), 68–77.
- Mardipour, A., Hemmatzadeh, F., & Bahmaninejad, M. A. (2021). Transmission Routes and Control Strategies of Avian Influenza In Poultry Farms. *Avian Pathology*, 50(2), 95–103.
- Meijerink, N., van den Biggelaar, R. H. G. A., van Haarlem, D. A., Stegeman, J. A., Rutten, V. P. M. G., & Jansen, C. A. (2021). A Detailed Analysis of Innate and Adaptive Immune Responsiveness Upon Infection With Salmonella Enterica Serotype Enteritidis In Young Broiler Chickens. *Veterinary Research*, 52(1), 100-109.
- Mehrzad, J., Shojaei, S., Keivan, F., Forouzanpour, D., Sepahvand, H., Kordi, A., & Houshmand, P. (2024). Avian Innate and Adaptive Immune Components. *Journal of Poultry Sciences and Avian Diseases*, 2(3), 73–96.
- Mubarak, A., Suprijatna, E., & Wahyuni, H. I. 2018. Performa Ayam Kampung pada Berbagai Sistem Pemeliharaan. *Jurnal Peternakan Indonesia*, 20(2), 123–130.
- Nazir, M. (2011). *Metode Penelitian* (6th ed.). Ghalia Indonesia.

- Office International Epizoot. (2021). *Avian Influenza (Infection with Avian Influenza Viruses). Terrestrial Manual*.
- Office International Epizoot. (2012). *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Chapter: Avian Influenza.
- Office International Epizootic. (2008). *Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals (Mammals, Birds, And Bees)*. Office International Epizootic.
- Osman, N., Goovaerts, D., Sultan, S., Salt, J., & Grund, C. (2021). Vaccine Quality is A Key Factor to Determine Thermal Stability of Commercial Newcastle Disease (ND) Vaccines. *Vaccines*, 9(4), 1–10.
- Ousman, B. M., Mennane, Z., Boussaoudi, I., Otchom, B. B., & Saoud, Y. (2025). First Investigation of Phytochemical Screening, HPLC-MS Characterization, and Antibacterial Activity of *Azadirachta indica* A. Juss (Mim or Neem) Leaf Extracts, Grown in the Republic of Chad. *Natural Product Communications*, 20(2), 4-15.
- Paul, K., T., Hasan, M., M., Haque, A., M., Talukder, S., Sarker, A., Y., Sikder, H., M., Khan, A., M. A. H. N., Sakib, N., M., & Kumar, A. (2020). Dietary Supplementation of Neem (*Azadirachta indica*) Leaf Extracts Improved Growth Performance and Reduced Production Cost In Broilers. *Veterinary World*, 13(6), 1050–1055.
- Poetri, O. N., Salsabila, S., & Pebriana, N. A. (2025). Preparation of Avian Influenza H5N1 and Newcastle Disease Antigens for Hemagglutination Inhibition Assay Applications. *Current Biomedicine*, 4(1), 8–13.
- Prasetyo, L. H., Santosa, S., & Nurcahyo, H. (2019). Variabilitas Genetik Ayam Kampung Indonesia dan Prospeknya sebagai Sumber Daya Hayati Lokal. *Jurnal Biologi Indonesia*, 15(3), 123–132.
- Putri, N., Wulandari, I., Ernawati, R., & Abdul Rantam, F. (2021). Multi-Epitope Peptide Vaccine Prediction Against Newcastle Disease Virus Using Immuno-Informatics Approaches. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 24(1), 136–143.
- Qin, Z., Tang, R., Liang, J., Jia, X.(2024). Berberine, A Natural Alkaloid: Advances in its Pharmacological Effects and Mechanisms. *International Immunopharmacology*, 10(3),1–20.
- Remontara, A. A. N., Kencana, G. A. Y., & Suartha, I. N. (2022). Titer Antibodi Sekunder Sebagai Respons Setelah Vaksinasi Aktif Penyakit Tetelo pada Ayam Petelur di Peraan, Tabanan, Bali. *Indonesia Medicus Veterinus*, 11(1), 1–10.
- Sartika, T., Iskandar, S., & Zainuddin, D. (2016). *Ayam Kampung Unggul Balitbangtan (KUB): Karakteristik dan potensi pengembangannya*. IAARD Press, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Kementerian Pertanian, Jakarta.

- Santosa, A., & Ermawati, R. (2024). Pengaruh Suplementasi Vitamin E, Selenium, dan Zinc Melalui Air Minum Terhadap Titer Antibodi Pascavaksinasi *Newcastle Disease* dan *Avian Influenza* pada Ayam Broiler. *Jurnal Veteriner & Ilmu Ternak*, 12(3), 145–152.
- Shen, L., Luo, H., Fan, L., Tian, X., Tang, A., Wu, X., Dong, K., & Su, Z. (2023). Potential Immunoregulatory Mechanism of Plant Saponins. *Molecules*, 29(1), 137-145.
- Shokraneh, M., Ghalamkari, G., Toghyani, M., & Landy, N. (2016). Influence of Drinking Water Containing Aloe Vera (*Aloe barbadensis miller*) Gel on Growth Performance, Intestinal Microflora, and Humoral Immune Responses of Broilers. *Veterinary World*, 9(11), 1197–1203.
- Standar Nasional Indonesia. (2022). SNI 7783.120222 *Kumpulan SNI Pakan*. Jakarta.
- Suryana, I. K., Hartono, T. S., & Nugroho, A. W. (2020). Epidemiologi dan Penanganan Penyakit *Avian Influenza* pada Unggas di Indonesia: Tinjauan literatur. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 25(4), 195–205.
- Sutradhar, S. K., Chatterjee, J. K., & Chakraborty, P. S. (2025). Effect of Neem Leaves (*Azadirachta indica*) as a Growth Promoter in Broiler Chickens. *International Journal of Bio-Resource and Stress Management*, 16(7), 01–08.
- Swayne, D. E., Suarez, D. L., & Sims, L. D. (2013). *Influenza BT - Diseases of Poultry* (13th ed.) (pp. 181–218). Wiley-Blackwell.
- Tizard, I. R. (2018). *Veterinary Immunology: An Introduction* (10th ed.). Saunders Elsevier.
- Hadrawi, J., Ummul, M., & Aswin. (2023). Performance of KUB (Ayam Kampung Balitbangtan) Chicken Fed Local and Commercial Feed. *Jurnal Riset Veteriner Indonesia*, 7(1), 42–46
- Vikash, S., K., K. J., & Dahiya, S. (2016). Immuno-Pathological Studies on Broiler Chicken Experimentally Infected With *Escherichia Coli* and Supplemented With Neem (*Azadirachta indica*) Leaf Extract. *Veterinary World*, 9(7), 735–741.
- Wasti, S., Sah, N., & Mishra, B. (2020). Impact of Heat Stress on Poultry Health and Performance, and Potential Mitigation Strategies. *Animals*, 10(8), 1266.
- Wibawa, H., Prijono, W. B., & Irianingsih, S. H. (2017). Evaluasi vaksin AI *clade* 2.3.2 Pada Ayam Broiler Terhadap Serangan Virus Lokal. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 22(3), 137–145.
- Wibowo, A., & Agustin, M. (2021). Strategi Pengendalian Penyakit Unggas pada Sistem Peternakan Rakyat. *Buletin Peternakan Indonesia*, 45(2), 89–98.
- World Organisation for Animal Health. (2021). Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals: *Avian Influenza and Newcastle Disease*.

- Yan, Y., Li, X., Zhang, C., Lv, L., Gao, B., & Li, M. (2021). Research Progress on Antibacterial Activities and Mechanisms of Natural Alkaloids. *Antibiotics*, *10*(3), 1-30.
- Younan, M., Dawood, A., & El-Husseiny, M. (2022). Enhancement of *Avian Influenza* Vaccine Efficacy Through Herbal Immunostimulants. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*, *14*(1), 12–21.
- Yuan, C., Jiang, Y., Wang, Z., Chen, G., Chang, G., & Bai, H. (2024). Effects of Sex on Growth Performance, Carcass Traits, Blood Biochemical Parameters, and Meat Quality of XueShan Chickens. *Animals*, *14*(11), 1556.
- Yulianti, V., Suardana, I. B. K., & Sukada, I. M. (2020). Seroprevalensi Penyakit Tetelo pada Ayam Kampung yang Disembelih di Rumah Potong Unggas di Kota Denpasar. *Indonesia Medicus Veterinus*, *9*(3), 392–400.