

RESPON ANTIBODI PENYAKIT NEWCASTLE DAN FLU BURUNG PADA PETERNAKAN KOMERSIAL AYAM ARAB DI KABUPATEN GRESIK, JAWA TIMUR

(NEWCASTLE DISEASE AND AVIAN INFLUENZA ANTIBODY RESPONSE IN ARABIC CHICKEN COMMERCIAL FARM IN GRESIK REGENCY, EAST JAVA)

Diana Nurjanah^{1*}, Teguh Suyatno¹, Risa Indriani¹, NLP Indi Dharmayanti²

¹Pusat Riset Veteriner, Organisasi Riset Kesehatan, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Cibinong, Indonesia, ²Organisasi Riset Kesehatan, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Cibinong, Indonesia

Email: diananurjanah@gmail.com

ABSTRAK

Penyakit Newcastle disease (NDV) dan Avian influenza (AIV) masih menjadi permasalahan serius peternak unggas di Indonesia. Kedua penyakit tersebut menyebabkan gejala klinis berupa penurunan produksi dan reproduksi hingga menyebabkan kematian pada unggas. Tujuan penelitian ini adalah untuk memonitoring titer antibodi terhadap virus AI dan ND pada ayam arab. Uji Hemagglutinati Inhibisi (HI) merupakan uji serologi yang digunakan untuk memonitoring kejadian penyakit pasca vaksinasi dan memantau titer antibodi pada unggas pasca vaksinasi. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental berbasis laboratorium dan hasil uji serologi akan dijelaskan secara deskriptif. Dalam penelitian ini, uji HI dilakukan untuk mengetahui profil titer antibodi terhadap virus ND dan AI pada peternakan komersial ayam arab di Kabupaten Gresik, Jawa Timur. Hasil uji HI menunjukkan ayam pada umur 1 bulan tidak memiliki titer antibodi terhadap virus AI, sedangkan rerata titer ND ditemukan sebesar 2^2 . Pada umur 3 bulan rerata titer antibodi mulai mengalami peningkatan baik terhadap virus AI sebesar $2^{0,17}$ dan virus ND $2^{7,54}$. Pada umur 4 bulan, rerata titer AI terus mengalami kenaikan namun rerata titer ND mengalami penurunan yaitu berturut-turut $2^{3,04}$ dan $2^{3,76}$, sedangkan pada umur 1.5 tahun kedua rerata titer AI dan ND mengalami peningkatan yang signifikan yaitu $2^{5,12}$ dan $2^{9,04}$, masing-masing. Dengan demikian, hasil ini menunjukkan bahwa rerata titer antibodi terhadap AI cenderung mengalami peningkatan dan bersifat protektif dengan rerata $\geq 2^4$ ditemukan pada kelompok umur 1.5 tahun, sedangkan rerata titer virus ND mulai menunjukkan titer $> 2^6$ pada kelompok umur 3 bulan dan 1.5 tahun. Penurunan rerata titer terhadap ND ditemukan pada kelompok umur 4 bulan yang mungkin diakibatkan oleh menurunnya respon imun dan diperlukannya booster vaksin ND yang dapat diberikan pada umur 17 minggu. Dalam penelitian ini titer antibody unggas terhadap virus AI dan ND cenderung mengalami peningkatan dari setiap rentang kelompok umur dari 1 bulan hingga 1.5 tahun. Monitoring titer antibodi perlu dilakukan secara rutin untuk memantau profil antibodi protektif unggas guna mencegah terjadinya infeksi penyakit.

Kata kunci: peternakan; unggas; penyakit, vaksin.

ABSTRACT

Newcastle disease (NDV) and Avian influenza (AIV) are still serious problems for poultry farmers in Indonesia. Both diseases cause clinical symptoms in the form of decreased production and reproduction to cause death in poultry. The purpose of this study is to monitor antibody titers against AI and ND

viruses in Arabian chickens. The Inhibition Hemagglutination (HI) test is a serological test used to monitor the incidence of post-vaccination diseases and monitor antibody titers in post-vaccination poultry. This research is laboratory-based experimental research, and the results of the serology test will be explained descriptively. In this study, the HI test was carried out to determine the antibody titer profile against ND and AI viruses in commercial Arabic chicken farms in Gresik Regency, East Java. The results of the HI test showed that chickens at the age of 1 month did not have antibody titers against the AI virus, while the average ND titer was found to be 2^2 . At the age of 3 months, the average antibody titer began to increase both against AI virus by $2^{0.17}$ and ND virus by $2^{7.54}$. At the age of 4 months, the average AI titer continues to increase but the average ND titer decreases, namely $2^{3.04}$ and $2^{3.76}$, respectively, while at the age of 1.5 years the average AI and ND titer has increased significantly, namely $2^{5.12}$ and $2^{9.04}$, respectively. Thus, these results show that the average antibody titer against AI tends to increase and is protective with an average of $\geq 2^4$ found in the 1.5-year age group, while the average ND virus titer begins to show a $>2^6$ titer in the 3 months and 1.5-years age group. The average decrease in the titer for ND was found in the 4-month age group which may be due to a decrease in the immune response and the need for a booster of the ND vaccine which can be given at 17 weeks of age. In this study, poultry antibody titers against AI and ND viruses tended to increase from each age group from 1 month to 1.5 years. Monitoring of antibody titers needs to be carried out regularly to monitor the protective antibody profile of poultry to prevent disease infection.

Keywords: livestock; poultry; disease, vaccines.

PENDAHULUAN

Virus Avian Influenza (AI) dan virus Newcastle Disease (ND) merupakan dua virus yang masih menjadi permasalahan utama peternak unggas di Indonesia (Dharmayanti et al., 2023). Virus AI merupakan virus influenza A yang termasuk ke dalam *family Orthomyxoviridae* dengan genom tersegmentasi sejumlah delapan segmen yang mengkode 10 protein virus (Suarez, 2008). Berdasarkan keganasan pada ayam, virus ini digolongkan menjadi virus dengan patogenitas tinggi (HPAI) dan virus dengan patogenitas rendah (LPAI) (Swayne and Sims, 2021). Perbedaan keduanya terletak pada kondisi penyakit yang disebabkan, di mana LPAI menyebabkan penyakit yang bersifat lokal sedangkan HPAI menyebabkan infeksi sistemik. Virus HPAI H5N1 Klade 2.1.3 dilaporkan pertama kali pada tahun 2003 dengan gejala klinis yang bersifat spesifik (Dharmayanti et al., 2004). Pada tahun 2012, virus HPAI H5N1 Klade 2.3.2 dilaporkan pertama kali di Indonesia yang menyebabkan kematian yang masif pada itik (Dharmayanti et al., 2013). Saat ini, virus reassortant HPAI dan LPAI, serta reassortant virus H5N1 Klade 2.1.3 dan Klade 2.3.2 dan virus reassortant lainnya telah dilaporkan (Dharmayanti et al., 2020a; Lestari et al., 2020; Novianti et al., 2019).

Penyakit Tetelo atau Newcastle Disease (ND) merupakan penyakit yang disebabkan oleh strain virulen avian Paramyxovirus serotipe tipe 1 (AMPV-1) virus Newcastle Disease (NDV)

yang termasuk ke dalam Family *Paramyxoviridae*, Subfamily *Paramyxovirinae*, Genus *Avulavirus* (Ganar et al., 2014). Wabah virus ND pertama kali di laporkan di Pulau Jawa, Indonesia pada tahun 1926 yang kemudian dilaporkan lebih lanjut di Newcastle-upon-Tyne, Inggris (Dharmayanti et al., 2024). Hingga saat ini, virus ND masih bersifat endemis di Indonesia, dengan wabah terjadi baik pada peternakan tradisional hingga peternakan komersial (Saputri et al., 2021).

Meskipun vaksin terhadap kedua jenis virus telah banyak digunakan, namun kejadian penyakit masih terus terjadi (Indriani and Dharmayanti, 2015; Indriani and Dharmayanti, 2016). Uji Hemagglutinasin Inhibisi (HI) merupakan uji serologi yang digunakan untuk memonitoring titer antibodi pasca infeksi dan memantau titer antibodi pada unggas pasca vaksinasi (Swayne and Sims, 2021). Monitoring titer antibodi perlu dilakukan secara rutin untuk memantau profil antibodi protektif unggas guna mencegah terjadinya infeksi penyakit. Dalam penelitian ini, uji HI digunakan untuk memonitoring titer antibodi terhadap virus AI dan ND pada peternakan ayam arab di Kabupaten Gresik, Jawa Timur. Tujuan penelitian ini adalah untuk memonitoring titer antibodi terhadap virus AI dan ND pada ayam arab.

METODE

Pengambilan dan Preparasi Sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada peternakan ayam arab di Kabupaten Gresik, Jawa Timur pada tahun 2021. Sebanyak 84 ekor ayam arab yang terbagi ke dalam empat kelompok umur berbeda yaitu satu bulan (10 ekor), tiga bulan (24 ekor), empat bulan (25 ekor) dan 1,5 tahun (25 ekor) diambil serum darahnya dan dilakukan uji HI. Pengambilan darah pada unggas dilakukan pada vena brachialis di bagian lengan sayap sebanyak 1 mL menggunakan spuit berukuran 3 mL. Pada ayam yang muda, jarum dengan ukuran 26Gx $\frac{1}{2}$ " digunakan. Darah yang telah diambil kemudian diletakkan pada posisi horizontal pada alas yang rata pada suhu 4°C. Untuk memisahkan serum dan darah, serum ditampung dalam tabung mikro sentrifus lalu disentrifugasi dengan kecepatan 1,000 rpm selama 10 menit. Untuk menghilangkan inhibitor spesifik, serum dilakukan inaktivasi sebelum digunakan. Inaktivasi dilakukan dengan waterbath selama satu jam pada suhu 56°C. Preparasi dan pengujian dilakukan di laboratorium virologi, Balai Besar Penelitian Veteriner, Bogor (BSIP VETERINER).

Uji Hambatan Hemaglutinasi (Hemagglutination Inhibisi/HI)

Untuk menghilangkan aglutinin non-spesifik pada serum yang menyebabkan aglutinasi non-spesifik sel darah merah ayam, serum yang telah didapatkan diabsorpsi dengan sel darah merah sebelum digunakan uji HI. Sebanyak 50 µl dari setiap serum ditambahkan 10% sel darah merah ayam sebanyak 50 µl, selanjutnya serum diinkubasi pada suhu 4°C selama 1 jam. Campuran serum dan darah disentrifugasi pada kecepatan 800 g selama 5 menit untuk memisahkan sel darah merah. Selanjutnya sebanyak 25 µl serum dipindahkan ke dalam cawan mikro pada lubang pertama yang telah berisi 25 µl PBS. Uji HI dilakukan dengan menggunakan 1% sel darah merah ayam dan menggunakan 4-unit hemaglutinasi (HAU). Antigen ND 4 hemaglutinasi unit (HAU) ditambahkan kedalam setiap lubang cawan mikro, dan plate cawan mikro digetarkan, kemudian diinkubasi pada suhu ruangan ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) selama 30 menit. Sebanyak 25 µl sel darah merah (SDM) ayam 1% ditambahkan ke dalam setiap lubang cawan mikro, dan plate cawan mikro digetarkan secara perlahan, kemudian diinkubasi pada suhu ruangan selama 45 menit. Titer serum dinyatakan pada pengenceran tertinggi yang memperlihatkan hambatan (100%) pada antigen 4 HAU (Indriani et al., 2017; OIE, 2021). Aglutinasi diuji dengan memiringkan cawan mikro. Lubang cawan mikro yang memperlihatkan terbentuknya aliran air mata dari sel darah merah (*tear drop*) sama dengan kontrol serum positif dianggap positif terhadap uji HI. Validasi hasil dibandingkan dengan kontrol serum negatif, yang tidak memberikan titer $> \frac{1}{4}$ ($> 2^2$ atau $2\log 2$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Virus Avian Influenza (AIV) dan Virus Newcastle Disease (NDV) adalah sindrom penyakit pernapasan yang masih banyak dilaporkan terdeteksi pada ternak yang divaksinasi sehingga menyebabkan kerugian finansial yang besar dalam industri peternakan ayam. Penggunaan vaksinasi untuk virus AI dan virus ND telah banyak digunakan, namun kejadian penyakit masih terus terjadi. Dalam hal ini, efektivitas dan keberhasilan vaksin pada suatu peternakan bergantung pada beberapa hal diantaranya adalah kesamaan genetik dan antigenik antara strain virus di lapangan dan yang digunakan dalam vaksinasi yang beredar di pasaran. Efikasi vaksin, salah satunya ditentukan oleh berkurangnya pelepasan dan penyebaran virus setelah infeksi (Azab et al., 2023). Selain itu, faktor maternal antibodi, kejadian imunosupresi,

dan faktor vaksin baik penyimpanan, aplikasi, jenis vaksin dan jadwal vaksinasi yang tidak tepat juga berperan terhadap keberhasilan vaksinasi.

Meskipun tidak ada jadwal vaksinasi virus ND secara universal untuk para peternak, secara umum diketahui bahwa dengan memberikan vaksin hidup yang dilemahkan kepada para peternak, diikuti dengan booster menggunakan vaksin yang tidak aktif untuk mencapai tingkat antibodi yang tinggi (Liu et al., 2023). Di sisi yang lain, vaksin inaktif virus AI, baik terhadap H5N1 dan H9N2 juga telah banyak digunakan. Terlebih, beberapa vaksin saat ini masih dalam proses pengembangan diantaranya adalah vaksin virus trivalent yang terdiri dari virus ND, virus AI H5N1, dan AI H9N2 (Dharmayanti et al., 2020b; Indriani and Dharmayanti, 2016). Dengan demikian, dengan sekali vaksinasi, diharapkan protektifitas terhadap virus ND dan AI H5N1 dan H9N2 dapat tercapai. Hal ini bertujuan untuk meningkatkan efisiensi pemberian vaksin dan menurunkan biaya vaksinasi serta menurunkan stress pada ayam yang divaksin karena pemberian vaksin yang berulang untuk setiap jenis penyakit.

Uji penghambatan hemaglutinasi (HI) adalah prosedur laboratorium klasik untuk klasifikasi atau sub tipe virus hemaglutinasi berbasis uji serologi yakni hubungan antara antibodi dan antigen. Keberadaan antibodi spesifik pada serum dapat terdeteksi dengan uji HI menggunakan antigen standar spesifik setelah tujuh hari paska infeksi atau vaksinasi (Pedersen, 2014). Titer antibodi ini harus mencapai batas nilai tertentu untuk dinyatakan sebagai antibodi spesifik yang bersifat protektif atau melindungi terhadap infeksi spesifik. Titer HI dinyatakan sebagai nilai timbal balik dari pengenceran tertinggi serum menyebabkan penghambatan lengkap aglutinasi dari 4 antigen HAU. Berdasarkan OIE, titer antibody protektif terhadap virus ND adalah $> 2^6$ sedangkan pada AI adalah $\geq 2^4$ (OIE, 2021). Hasil pengujian titer antibodi terhadap virus AI disajikan pada Tabel 1 dan pengujian titer antibodi terhadap virus ND disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Hasil pengujian titer antibodi terhadap virus AI

Umur	Titer antibodi Log 2												
	Negative/0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 bulan	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

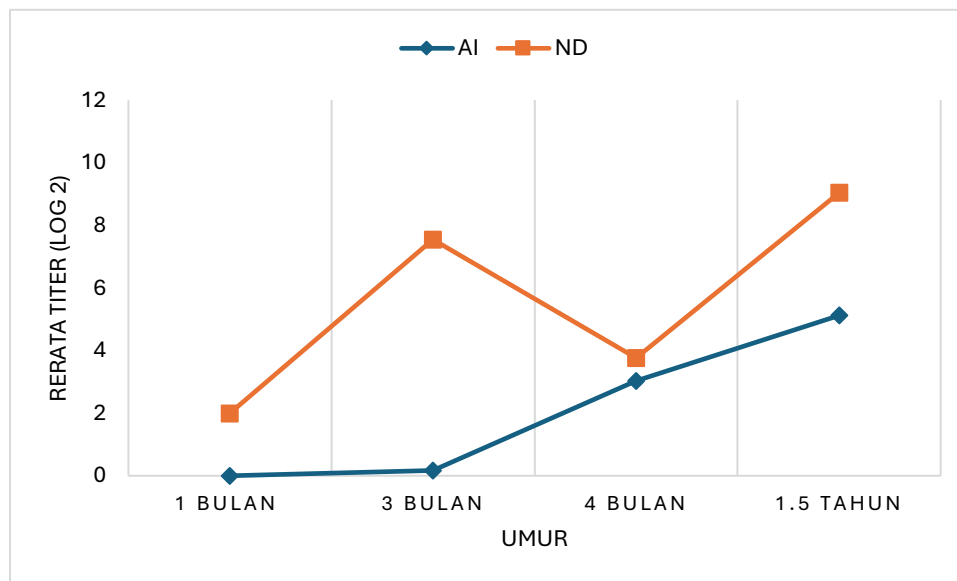
3 bulan	22	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4 bulan	4	2	3	5	3	7	1	0	0	0	0	0	0
1,5 tahun	0	0	0	1	3	10	7	3	0	0	0	0	0

Tabel 2. Hasil pengujian titer antibodi terhadap virus ND

Umur	Titer antibodi Log 2												
	Negative/0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 bulan	0	5	2	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
3 bulan	0	0	0	0	0	1	3	10	5	3	1	1	0
4 bulan	2	0	4	6	3	5	4	0	1	0	0	0	0
1,5 tahun	0	0	0	0	0	0	1	1	6	7	8	2	0

Hasil uji HI menunjukkan ayam pada umur 1 bulan tidak memiliki titer antibodi terhadap virus AI, sedangkan rerata titer ND ditemukan sebesar 2^2 , pada umur 3 bulan rerata titer antibodi mulai mengalami peningkatan baik terhadap virus AI sebesar $2^{0,17}$ dan virus ND $2^{7,54}$. Pada umur 4 bulan, rerata titer AI terus mengalami kenaikan namun rerata titer ND mengalami penurunan yaitu berturut-turut $2^{3,04}$ dan $2^{3,76}$, sedangkan pada umur 1.5 tahun kedua rerata titer AI dan ND mengalami peningkatan yang signifikan yaitu $2^{5,12}$ dan $2^{9,04}$, masing-masing. Rerata titer antibodi terhadap virus AI dan ND disajikan pada Gambar 1.

Berdasarkan OIE (OIE, 2021) titer antibody protektif terhadap virus ND adalah $>2^6$ sedangkan pada AI adalah $\geq 2^4$. Dengan demikian, hasil ini menunjukkan bahwa rerata titer antibodi terhadap AI cenderung mengalami peningkatan dan bersifat protektif dengan rerata $\geq 2^4$ ditemukan pada kelompok umur 1.5 tahun, sedangkan rerata titer virus ND mulai menunjukkan titer $>2^6$ pada kelompok umur 3 bulan dan 1.5 tahun. Menariknya, terjadi penurunan titer terhadap virus ND pada kelompok ayam umur 4 bulan. Penurunan rerata titer terhadap virus ND ini mungkin diakibatkan oleh menurunnya respon imun paska vaksinasi sehingga booster vaksin ND mungkin diperlukan. Booster vaksin ND yang dapat diberikan pada umur 17 minggu, dimana vaksinasi booster dapat dilakukan setiap 1-3 bulan menggunakan vaksin aktif atau setiap 3-6 bulan jika menggunakan vaksin inaktif. Sebuah studi melaporkan bahwa program vaksinasi yang menerapkan strategi progresif, yang melibatkan imunisasi booster berturut-turut dengan jenis virus yang semakin virulen, dapat memberikan perlindungan terhadap penyakit klinis dan kematian setelah infeksi penyakit yang mematikan. Hal ini dilakukan dengan syarat unggas yang divaksinasi dapat mempertahankan tingkat antibodi yang tinggi (Geletu and Robi, 2024).



Gambar 1. Rerata titer antibodi terhadap virus AI dan ND.

Selain dari vaksinasi yang diterapkan, dan monitoring antibodi yang dilakukan secara rutin untuk mengevaluasi respon titer antibody protektif unggas, penerapan biosecurity yang baik juga mampu mengurangi paparan unggas terhadap penyakit. Pencegahan infeksi di peternakan adalah pengendalian terbaik, yang dapat dilakukan dengan menjaga kebersihan, sanitasi, kontak dengan hewan lain, dan pengadaan unggas dari sumber yang bebas penyakit. Karena unggas yang sembuh merupakan sumber infeksi, unggas tersebut harus dipisahkan, atau jika memungkinkan dapat dikeluarkan dan dimusnahkan. Langkah-langkah biosekuriti yang telah direkomendasikan secara khusus untuk petani atau peternak tradisional terbagi dalam tiga kategori besar: (i) isolasi; (ii) pengaturan lalu lintas; dan (iii) sanitasi (Conan et al., 2012). Meskipun biosekuriti dan vaksinasi merupakan dua tindakan yang dilakukan untuk mengendalikan penyakit pada unggas, namun penerapannya pada peternakan tradisional cukup sulit karena keterbatasan sumber daya dan ekonomi.

Terlepas dari hasil studi yang diperoleh, penelitian ini terbatas pada rentang umur unggas dan keterbatasan informasi jadwal vaksinasi yang dilakukan pada peternakan. Dengan demikian, studi ini mungkin tidak memberikan pemahaman lengkap tentang efektivitas vaksin dalam jangka panjang dan korelasi yang jelas antara efikasi vaksin yang digunakan dengan titer antibodi yang diperoleh. Karena keterbatasan informasi vaksin yang digunakan, penelitian ini juga tidak mencakup evaluasi kemanjuran vaksin terhadap jenis sub tipe virus lainnya, sehingga membatasi penerapannya pada jenis virus yang berbeda. Meskipun penelitian ini memberikan

informasi terkait adanya peningkatan titer antibodi spesifik terhadap virus AI dan ND pada empat kelompok umur unggas, penelitian lebih lanjut agaknya diperlukan untuk memperluas cakupan umur unggas dan mengevaluasi secara komprehensif korelasi antara efikasi dan jadwal vaksin pada ayam petelur dan respon titer antibodi pada unggas.

SIMPULAN

Dalam penelitian ini titer antibody unggas terhadap virus AI dan ND cenderung mengalami peningkatan dari setiap rentang kelompok umur dari 1 bulan hingga 1.5 tahun. Karena keterbatasan rentang kelompok umur, informasi jadwal vaksinasi dan vaksin yang digunakan, studi ini mungkin tidak memberikan pemahaman lengkap tentang efektivitas vaksin dalam jangka panjang dan korelasi yang jelas antara efikasi vaksin yang digunakan dengan titer antibodi yang diperoleh. Dengan demikian, tidak diketahui dengan pasti apakah titer yang diperoleh adalah hasil dari vaksinasi atau infeksi alami. Penelitian lebih lanjut mungkin diperlukan dengan memperluas rentang umur unggas dan mengevaluasi korelasi antara efikasi dan jadwal vaksin pada ayam petelur dan respon titer antibodi spesifik pada unggas. Pengujian secara molekuler mungkin juga diperlukan untuk mengetahui adanya sirkulasi virus secara aktif pada peternakan, sehingga penguatan biosecurity dapat direkomendasikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Azab, A. A., N. Yehia, M. Makhareta, M. Samir, A. Shoukry, A. A. Elhalem Mohamed, S. K. Alhag, A. S. Alwabli, M. T. El-Saadony, K. A. El-Tarabily and M. A. Soliman. (2023). Evaluation of inactivated avian influenza virus and Newcastle disease virus bivalent vaccination program against newly circulated H5N8 and NDV strains. *Poult Sci.* 102(10): 102952.
- Conan, A., F. L. Goutard, S. Sorn and S. Vong. (2012). Biosecurity measures for backyard poultry in developing countries: a systematic review. *BMC Vet Res.* 8: 240.
- Dharmayanti, N., R. Damayanti, A. Wiyono, R. Indriani and D. Darminto. (2004). Identification of avian influenza virus of Indonesian isolates by reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) method. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner.* 9: 1–8.

- Dharmayanti, N., R. Hartawan, D. Hewajuli, H. Hardiman, H. Wibawa and P. Pudjiatmoko. (2013). Karakterisasi molekuler dan patogenesitas virus H5N1 clade 2.3.2 asal Indonesia. *JITV*. 18(2): 99-113.
- Dharmayanti, N., D. A. Hewajuli, A. Ratnawati and R. Hartawan. (2020a). Genetic diversity of the H5N1 viruses in live bird markets, Indonesia. *Journal of veterinary science*. 21(4): e56-e56.
- Dharmayanti, N., R. Indriani and D. Nurjanah. (2020b). Vaccine Efficacy on the Novel Reassortant H9N2 Virus in Indonesia. *Vaccines*. 8(3).
- Dharmayanti, N., S. W. Thor, N. Zanders, R. Hartawan, A. Ratnawati, Y. Jang, M. Rodriguez, D. L. Suarez, G. Samaan, Pudjiatmoko and C. T. Davis. (2018). Attenuation of highly pathogenic avian influenza A(H5N1) viruses in Indonesia following the reassortment and acquisition of genes from low pathogenicity avian influenza A virus progenitors. *Emerg Microbes Infect*. 7(1): 147.
- Dharmayanti, N. L. P. I., D. Nurjanah, H. Nuradji, T. Suyatno and R. Indriani. (2024). Newcastle disease virus: the past and current situation in Indonesia. *J Vet Sci*. 25(1).
- Dharmayanti, N. L. P. I., D. Nurjanah, T. Suyatno, H. Nuradji, S. Meisari and R. Indriani. (2023, 2023-02-28T17:00:00.000Z). *Avian Influenza Virus Endemicity During the Covid-19 Pandemic in Indonesia*, pp: 967-976.
- Ganar, K., M. Das, S. Sinha and S. Kumar. (2014). Newcastle disease virus: current status and our understanding. *Virus research*. 184: 71-81.
- Geletu, A. S. and D. T. Robi. (2024). Evaluation of the immune response of layer chickens to Newcastle disease virus vaccines using the new vaccination regimens. *Vet Med Sci*. 10(3): e1428.
- Indriani, R. and N. Dharmayanti. (2015). Tingkat Perlindungan Vaksin Komersial AI H5N1 Clade 2.1. 3 terhadap Virus AI H5N1 clade 2.3.2 Asal Itik pada Ayam SPF dalam Kondisi Laboratorium. *JITV*. 20(1): 65–71.
- Indriani, R. and N. Dharmayanti. (2016). Pengembangan Vaksin Inaktif Tetelo Genotipe VII Isolat Lokal pada Kondisi Laboratorium. (Development of Tetelo Inactivated Vaccine Genotype VII Local Isolate In Laboratory Condition). *Jurnal Veteriner*. 17(3): 322–330.

- Indriani, R., N. Dharmayanti and E. Martindah. (2017). Cross-reaction of duck and chicken sera against avian influenza H5N1 virus clades 2.1.3 and 2.3.2 antigens by hemagglutination inhibition test. *Jurnal Biologi Indonesia*. 13(2): 325-329.
- Lestari, H. Wibawa, E. P. Lubis, R. Dharmawan, R. A. Rahayu, H. Mulyawan, K. Charoenkul, C. Nasamran, B. Poermadjaja and A. Amonsin. (2020). Co-circulation and characterization of HPAI-H5N1 and LPAI-H9N2 recovered from a duck farm, Yogyakarta, Indonesia. *Transboundary and emerging diseases*. 67(2): 994-1007.
- Liu, M., X. Shen, Y. Yu, J. Li, J. Fan, X. Jia and Y. Dai. (2023). Effect of Different Levels of Maternally Derived Genotype VII Newcastle Disease Virus-Specific Hemagglutination Inhibition Antibodies on Protection against Virulent Challenge in Chicks. *Viruses*. 15(9).
- Novianti, A. N., K. Rahardjo, R. R. Prasetya, A. M. Natri, J. R. Dewantari, A. P. Rahardjo, A. T. S. Estoepangestie, Y. K. Shimizu, E. D. Poetranto, G. Soegiarto, Y. Mori and K. Shimizu. (2019). Whole-Genome Sequence of an Avian Influenza A/H9N2 Virus Isolated from an Apparently Healthy Chicken at a Live-Poultry Market in Indonesia. *Microbiol Resour Announc*. 8(17).
- OIE. 2021. Avian influenza (including infection with high pathogenicity avian influenza viruses). *In* OIE Terrestrial Manual. 1-26.
- Pedersen, J. C. (2014). Hemagglutination-inhibition assay for influenza virus subtype identification and the detection and quantitation of serum antibodies to influenza virus. *Methods Mol Biol*. 1161: 11-25.
- Saputri, M. E., O. N. Poetri and R. D. Soejoedono. (2021). Phylogenetic studies of Newcastle disease virus isolated from poultry flocks in South Sulawesi Province, Indonesia, in 2019. *J Adv Vet Anim Res*. 8(1): 129-137.
- Suarez, D. L. 2008. Influenza a Virus. *In* Avian Influenza. 1-22.
- Swayne, D. E. and L. D. Sims. 2021. Avian Influenza. *In* Veterinary Vaccines. 229-251.
- Triosanti, L. S., M. H. Wibowo and R. Widayanti. (2018). Molecular characterization of hemagglutinin-neuraminidase fragment gene of Newcastle disease virus isolated from periodically-vaccinated farms. *Vet World*. 11(5): 657-666.