



**ANALISIS PERKEMBANGAN TITER ANTIBODI
HASIL VAKSINASI *INFECTIOUS BRONCHITIS*
PADA AYAM PETELUR STRAIN HISEX BROWN**

Skripsi

disusun sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
Program Studi Biologi

oleh

Yenni Tyas Wulandari K. E
4411414013

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG**

2018

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi yang berjudul “Analisis Perkembangan Titer Antibodi Hasil Vaksinasi *Infectious Bronchitis* pada Ayam Petelur Strain Hisex Brown” merupakan hasil penelitian saya dengan arahan dosen pembimbing. Sumber informasi atau kutipan dari karya yang diterbitkan telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka dibagian akhir skripsi ini. Skripsi ini belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar dalam program sejenis diperguruan tinggi manapun.

Semarang, 8 Oktober 2018



Yenni Tyas Wulandari K. E
NIM. 4411414013

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul

Analisis Perkembangan Titer Antibodi Hasil Vaksinasi *Infectious Bronchitis* pada Ayam Petelur Strain Hisex Brown

disusun oleh

Yenni Tyas Wulandari K. E

4411414013

telah dipertahankan di hadapan sidang Panitia Ujian Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang pada tanggal 15 Oktober 2018.

Panitia Ujian



Ketua

Prof. Dr. Sudarmin, M.Si.
NIP. 196601231992031003

Sekretaris

Dra. Endah Peniati, M.Si.
NIP. 196511161991032001

Penguji Utama

Dr. Lisdiana, M.Si.
NIP. 195911191986032001

Anggota Penguji/
Pembimbing I

Dr. drh. R. Susanti, M.P.
NIP. 196903231997032001

Anggota Penguji/
Pembimbing II

Dr. Dra. Siti Harnina Bintari, M.S.
NIP. 196008141987102001

KATA PENGANTAR

Puji syukur atas rahmat Allah SWT yang telah memberikan ridho, kemudahan dan kelancaran sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi berjudul “Analisis Perkembangan Titer Antibodi Hasil Vaksinasi *Infectious Bronchitis* pada Ayam Petelur Strain Hisex Brown”. Skripsi ini tidak mungkin terselesaikan dengan baik tanpa bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Rektor Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menyelesaikan studi di Universitas ini.
2. Dekan FMIPA Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan izin penelitian sehingga dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.
3. Ketua Jurusan Biologi yang telah memberikan kemudahan dan kelancaran dalam penyusunan skripsi
4. Dr. drh. R. Susanti, M.P. sebagai dosen pembimbing pertama yang telah memberikan bimbingan, arahan, masukan, dan motivasi dengan penuh kesabaran kepada penulis.
5. Dr. Dra. Siti Harnina Bintari, M.S. sebagai dosen pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, arahan, masukan, dan motivasi dengan penuh kesabaran kepada penulis.
6. Dr. Lisdiana, M.Si. selaku dosen penguji yang memeberikan masukan dan motivasi kepada penulis
7. Seluruh pegawai Laboratorium Kesehatan Hewan Type B Surakarta yang telah memberikan izin menjadi tempat penelitian dan membimbing serta mengarahkan selama penelitian.
8. Bapak Sukadi pemilik peternakan ayam yang telah mengizinkan dan membantu terlaksananya penelitian.
9. Bapak/Ibu dosen dan karyawan FMIPA khususnya jurusan Biologi atas segala bantuan yang diberikan.
10. Keluarga dan sahabat yang selalu mendukung, mendo'akan dan memberi motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

11. Semua pihak yang telah membantu selama penelitian dan penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Semarang, 8 Oktober 2018

Penulis

ABSTRAK

Yenni Tyas Wulandari K.E. 2018. Analisis Perkembangan Titer Antibodi Hasil Vaksinasi *Infectious Bronchitis* pada Ayam Petelur Strain Hisex Brown. R.Susanti. Siti Harnina Bintari

Penyakit IB adalah penyakit yang menyerang sistem pernafasan ayam yang disebabkan oleh *infectious bronchitis virus*. Pencegahan penyakit IB dapat dilakukan dengan cara vaksinasi. Untuk mengetahui keberhasilan program vaksinasi dilakukan monitoring titer antibodi menggunakan uji serologis. ELISA adalah salah satu uji serologis yang dapat digunakan untuk mengukur antigen/antibodi. Penelitian ini bertujuan menganalisis perkembangan titer antibodi ayam pada periode tertentu setelah vaksinasi menggunakan ELISA. Penelitian ini mengambil periode waktu pada 7, 14, dan 21 hari setelah vaksinasi. Penelitian ini memiliki alur penelitian: pengambilan serum darah, isolasi serum sampel, dan pengujian ELISA tipe indirect. Rerata hasil titer antibodi pada setiap periode waktu berturut-turut pada 7, 14, dan 21 hari setelah vaksinasi yaitu 1695, 4207, dan 5978. Hasil uji t menunjukkan pada setiap periode waktu pengambilan sampel yaitu 7 dpi, 14 dpi, dan 21 dpi mempunyai perbedaan yang signifikan. Kesimpulan yang diperoleh bahwa antibodi mengalami peningkatan pada setiap periode waktu pengambilan setelah vaksinasi.

Kata kunci : *Infectious bronchitis*, strain Hisex Brown, titer antibodi, vaksin IB

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	ii
PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Penegasan Istilah	3
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Ayam	5
2.2 Penyakit <i>Infectioun Bronchitis</i>	7
2.3 Vaksinasi IBV	9
2.4 ELISA	9
2.5 Antibodi	12
2.6 Kerangka Berpikir	15
2.7 Hipotesis	15
BAB 3 METODE PENELITIAN	
3.1 Tempat dan waktu Penelitian	16
3.2 Jenis Penelitian	16
3.3 Variabel Penelitian	16
3.4 Subjek Penelitian	16
3.5 Alat dan Bahan	16
3.6 Prosedur Penelitian	17

3.7 Teknik Analisis Data	19
3.8 Metode Pengumpulan Data	20
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil Penelitian	21
4.2 Pembahasan	22
BAB 5 PENUTUP	
5.1 Simpulan	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN-LAMPIRAN	32

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2. 1. Perbedaan Teknik ELISA	11
2. 2. Daftar Bahan dan Kegunaan	16
2. 3. Daftar Alat dan Kegunaan	17
3. 1. Interpretasi hasil uji ELISA	19
3. 2. Nilai Serapan Titer Antibodi	20
4. 1. Nilai Titer Antibodi	21

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Anak ayam yang terserang IBV mengalami gangguan pernafasan	8
2.2 Perbandingan telur normal (di atas, kiri) dengan shell-kurang telur (di atas, kanan), telur kasar dikupas (tengah), dan telur cacat (bawah) diletakkan oleh ayam selama wabah IB	8
2.3 Perbandingan embrio ayam normal dan embrio ayam yang terkena IBV	8
2.4 Infeksi organ dalam pada ayam yang terkena IBV	8
2.5 Oksidasi 3,3', 5,5'- <i>tetramethylbenzidine</i> (TMB) sampai 3,3', 5,5'- <i>tetramethylbenzidine diimine</i>	10
2.6 Interaksi sel T dengan sel penyaji antigen	13
2.7 Kerangka Berpikir Penelitian	15
4.1 Mikroplate hasil pengujian ELISA	22

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Surat Keterangan Dosen Pembimbing	33
2. Surat Izin Penelitian	34
3. Lembar Hasil Pengujian	35
4. Dokumentasi Penelitian	38
5. Perhitungan Hasil Penelitian	39

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Produk daging, telur, dan susu adalah komoditas yang mengalami peningkatan. Hal tersebut seiring dengan pertumbuhan penduduk dan peningkatan konsumsi telur. Peningkatan tersebut menjadi kesempatan bagi peternak untuk meningkatkan produksi. Ayam merupakan industri peternakan sebagai penghasil telur dan daging. Daging ayam mengandung sumber protein hewani penting bagi konsumen dengan kandungan asam amino (Rodriguez *et al.*, 2016) dan nutrisi dengan kualitas tinggi protein (Mutryn *et al.*, 2015).

Kabupaten Karanganyar merupakan salah satu kabupaten dengan peternakan yang cukup banyak tersebar di berbagai wilayah. Beberapa lokasi peternakan berada jauh dari pemukiman dan di lingkungan rumah. Data terakhir dari Badan Pusat Statistik Dinas Peternakan dan Perikanan Kabupaten Karanganyar pada tahun 2015, jenis ternak terbanyak di Kabupaten Karanganyar yaitu ayam ras sebanyak 1.830.060 ekor dan 918.961 ekor ayam buras (BPS, 2017). Namun, usaha peternakan ayam sering terkendala oleh berbagai penyakit menular. Kasus penyakit ND (*Newcastle Disease*) dan AI (*Avian Influenza*) mempunyai gejala klinis yang tidak dapat diduga dan sangat sulit dibedakan. Penyakit *Infectious Bronchitis* (IB) juga sering muncul dan menjadi permasalahan pada peternakan ayam (Kencana *et al.*, 2015).

Penyakit IB adalah penyakit yang menyerang sistem pernafasan ayam. IB merupakan salah satu penyakit menular yang menyerang ayam di peternakan dan berdampak pada kerugian ekonomi (Fellahi *et al.*, 2015)., Penyakit IB di Indonesia masih menjadi masalah serius pada ayam sehubungan dengan banyak varian yang timbul akibat mutasi dari virus IB (Dharmayanti *et al.*, 2017) Gejala penyakit IB pada ayam hampir sama dengan ND, sehingga masyarakat lebih sering melakukan monitoring terhadap ND daripada IB.

Menurut Kencana *et al.*, (2015), penularan IB dapat terjadi secara langsung dan tidak langsung. Penularan penyakit secara langsung berasal dari ayam satu ke ayam yang lain dalam satu kandang, sedangkan penularan penyakit secara tidak langsung melalui petugas dan peralatan kandang yang tercemar virus. Ada beberapa cara untuk mencegah penularan penyakit salah satunya yaitu vaksinasi.

Vaksinasi adalah salah satu tindakan pencegahan dan pengendalian penyakit (Sasipreeyajan *et al.*, 2012). Vaksinasi yang tepat dan teratur dapat menurunkan kerentanan terhadap infeksi virus. Namun, vaksinasi yang dilakukan dapat pula mengalami kegagalan. Menurut Putri *et al.*, (2012), banyak faktor penyebab respon vaksinasi yang dihasilkan tidak sesuai dengan yang diharapkan yaitu jenis vaksin, dosis vaksin, aplikasi vaksin, serta program vaksinasi yang dilakukan.

Frekuensi kejadian IB di Indonesia lebih sering terjadi pada ayam petelur dibanding ayam pedaging. Kasus IB masih sering muncul meskipun vaksinasi sudah diterapkan. Program vaksinasi terhadap IB adalah salah satu faktor pendukung kejadian penyakit di Indonesia (Direktorat Kesehatan Hewan, 2014). Program vaksinasi yang dilakukan tidak sesuai dengan kondisi setiap ayam sehingga menyebabkan respon imun ayam berbeda. Program vaksinasi memerlukan penjagaan dan kontrol agar penyebaran virus dapat dicegah (Bande *et al.*, 2016). Selain itu, menurut Sattler *et al.*, (2014), deteksi serologi terhadap antibodi adalah salah satu metode yang efektif untuk mengetahui keberhasilan vaksinasi.

Uji serologis yang biasa digunakan adalah *Agar Gel Precipitation Test* (AGPT), *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), dan uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI) (Adji *et al.*, 2015). ELISA dapat digunakan untuk mendeteksi titer antibodi terhadap seluruh lapisan IBV (Strain M41) (Cao *et al.*, 2012). Berdasarkan latar belakang tersebut, maka penelitian untuk menganalisis perkembangan titer antibodi pada setiap periode waktu sangat diperlukan sebagai upaya monitoring terhadap kondisi titer antibodi dari program vaksinasi yang dilakukan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, rumusan masalah penelitian ini adalah apakah ada perbedaan titer antibodi ayam pada hari ke 7, 14, dan 21 setelah vaksinasi?

1.3 Penegasan Istilah

1. *Infectious bronchitis* adalah penyakit pada ayam yang sangat menular dan serius yang disebabkan oleh virus *Infectious bronchitis* (IBV), yang merupakan anggota dari family *Coronaviridae* (Order *Nidovirales*) dan genus *Coronavirus* (Ding *et al.*, 2015). Pada penelitian ini, *Infectious bronchitis* adalah penyakit pada ayam yang akan dimonitoring kondisi titer antibodinya setelah vaksinasi dengan diukur menggunakan ELISA.
2. Titer antibodi adalah derajat kandungan antibodi yang diukur dengan metode titrasi (Elfidasari, 2013). Pada penelitian ini, titer antibodi adalah jumlah antibodi yang akan diukur menggunakan ELISA untuk mengetahui kondisi kekebalan tubuh ayam yang telah divaksin.
3. ELISA adalah teknik serologis yang digunakan untuk mendeteksi antibodi terhadap virus (Sendow, 2015). Pada penelitian ini, ELISA yang digunakan adalah tipe ELISA *indirect*.
4. Vaksin IB adalah vaksin yang umumnya digunakan untuk ayam petelur dan *broiler* yang terdiri atas virus IB serotip Massachusetts (Mass) dan sebagian kecil berisi serotip Connecticut (Conn) (Dharmayanti *et al.*, 2017). Pada penelitian ini, vaksin IB yang digunakan adalah merk Medivac.
5. Ayam adalah salah satu hewan ternak yang memiliki peran penting untuk kebutuhan pangan (Pradana *et al.*, 2015). Pada penelitian ini, ayam yang digunakan adalah ayam petelur betina strain *Hisex Brown*.

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan titer antibodi ayam pada hari ke 7, 14, dan 21 setelah vaksinasi.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai bagaimana perkembangan respon imun pada ayam yang terbentuk setelah vaksinasi.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ayam

Ayam merupakan salah satu unggas yang diternakkan untuk diambil daging dan telurnya. Ayam ras terdiri atas 2 macam yaitu ras petelur dan ras pedaging. Ayam ras pedaging adalah ayam yang lebih optimal menghasilkan daging. Karakteristik ayam pedaging bersifat tenang, bentuk tubuh besar, pertumbuhan tubuh cepat, bulu merapat ke tubuh, kulit putih, dan produksi telur rendah. Beberapa kelas dari ayam ras pedaging adalah *Sussex*, *Cornish*, *Orpington*, *Australop* dan *Dorking*. Contoh strain dari ayam pedaging adalah *Arbor Arces*, *Ross*, *Hubbard*, *Cobb*, *Lohman* dan *Hybro* (Susilorini *et al.*, 2008).

Penelitian yang terkait deteksi antibodi menggunakan beberapa jenis ayam yang digunakan dengan umur ayam yang berbeda sesuai dengan program vaksinasi. Penelitian mengenai respon antibodi terhadap virus IB berumur satu hari dilakukan oleh Cao *et al.* (2012) menggunakan ayam petelur putih dan ayam pedaging strain *Ross* pada Smialek *et al.*, (2017). Ayam petelur adalah ayam yang dibudidayakan khusus untuk menghasilkan telur secara komersial. Ayam petelur dipelihara untuk diambil telurnya hingga umur afkir atau sekitar 72 minggu. Masa produktif ayam petelur dimulai sejak ayam berumur 16 – 22 minggu. Ada 2 kelompok ayam petelur yaitu tipe ayam medium (berkerabang coklat) dan tipe ringan (kerabang putih) (Setiawati *et al.*, 2016).

Strain ayam petelur yang beredar di Indonesia yaitu *Dekalb warden*, *Hyline*, *Hubbard golden comet*, *Hisex*, *Hypeco*, *Isa Brown*, *Enya*, *Rosella*, *Kimber Brown*, *Harco*, dan *Shaver*. Pada penelitian Kencana *et al.*, (2017) menggunakan ayam petelur strain *Isa Brown* umur 14 minggu sesuai program vaksinasi. Ayam petelur memiliki sifat nervous (mudah terkejut), bentuk tubuh ramping, cuping telinga berwarna putih, produksi telur tinggi (200

butir/ekor/tahun), efisien dalam penggunaan ransum untuk membentuk telur, tidak memiliki sifat mengerami anaknya (Sudarmono, 2003).

Penyakit yang menyerang ayam biasanya dapat disebabkan oleh bakteri, virus, ektoparasit dan endoparasit. Sebagian besar penyakit pada ayam karena virus, diantara *Avian Influenza*, *Newcastle Disease*, *Infectious bronchitis*, *Infectious Bursal Disease*, dan yang lainnya. Penyakit *Avian Influenza* dikategorikan sebagai kelompok penyakit zoonosis berbahaya karena dapat menyerang unggas dan hewan mamalia serta menulari manusia, bahkan bersifat mematikan baik pada hewan maupun manusia yang terinfeksi (Kencana *et al.*, 2015).

Penyakit *Newcastle Disease* (ND), penyakit *Egg Drop Syndrome* (EDS), dan penyakit *Infectious bronchitis* merupakan kelompok penyakit virus menular yang dapat mengakibatkan penurunan produksi telur. Penyakit ND disebabkan oleh *Avian Paramyxovirus* tipe 1 (APMV-1) familia *Paramyxoviridae*. *Infectious bronchitis* berasal dari virus *infectious bronchitis* (IBV) dari family *Coronaviridae* (Order *Nidovirales*). Agen penyebab penyakit EDS adalah *Duck Adenovirus* familia *Adenoviridae*. Ketiga penyakit tersebut berdampak terhadap kerugian ekonomi pada peternakan ayam (Kencana *et al.*, 2017).

Manajemen pemeliharaan ayam, nutrisi dan strategi vaksinasi merupakan faktor utama keberhasilan produksi ayam. Hewan dapat mengalami stres ketika sistem pemeliharaan tersebut tidak nyaman. Berdasarkan penelitian Setiawati *et al.*, (2016), ayam petelur memiliki produksi yang baik pada kandang bertingkat dengan suhu 18°C. Abnormalitas, bentuk telur, keutuhan kerabang, dan kebersihan kerabang tidak dipengaruhi oleh suhu tetapi lebih dipengaruhi oleh genetik dan sistem perkandangan. Syarat kesehatan untuk kandang ayam antara lain tidak terlalu sempit, cukup mendapatkan cahaya matahari, dapat melindungi ayam dari terik matahari, hujan, kencangnya angin malam, dan di kandang tersedia alat perlengkapan seperti tempat minum, tempat makan, tempat bertengger, serta sarang untuk bertelur bagi ayam (Sarwono, 2003).

2.2 Penyakit *Infectious Bronchitis*

Penyakit pada ayam yang sangat menular dan serius yang disebabkan oleh virus *infectious bronchitis* (IBV), yang merupakan anggota dari famili *Coronaviridae* (Order *Nidovirales*) dan genus *Coronavirus* (Ding *et al.*, 2015). *Coronavirus* dapat menginfeksi manusia serta binatang lain seperti sapi, babi, dan tikus. *Coronavirus* menyebabkan infeksi pernafasan, usus, dan bermacam-macam gangguan neurologis lainnya (Cao *et al.*, 2012). *Coronavirus* termasuk virus RNA rantai tunggal, dengan panjang genom kira-kira 25-37 kb, terutama menyandi struktur protein spike (S), selubung (E), membran (M), dan nukleokapsid (N), serta beberapa protein yang akan berinteraksi dengan protein non struktural (Caron, 2010).

Berdasarkan Fellahi *et al.*, (2015), infeksi IB didiagnosis antara Januari 2010 dan Desember 2013 di daerah selatan dan tengah Maroko. Virus IB menyebar melalui jalur pernapasan dalam tetesan yang dikeluarkan saat batuk atau bersin oleh ayam yang terinfeksi sehingga ayam mengalami gangguan pernafasan seperti pada Gambar 1. Penyebaran penyakit melalui populasi sangat cepat, penularan dapat terjadi dari peternakan ke peternakan berkaitan dengan pergerakan orang, peralatan, dan kendaraan yang terkontaminasi. Ayam yang telah terinfeksi tetap sebagai pembawa dan menyebarkan virus selama beberapa minggu (Butcher *et al.*, 2014).

Tanda klinis penyakit IB berdasarkan hasil penelitian Reddy *et al.*, (2015) pada ayam yang disuntik nefropatogenik IBV menunjukkan gejala depresi, berkerumun, terengah-engah, batuk, bersin, dan keluar suara dengan sungau dari hari ke 2 sampai 10 setelah diinokulasi. Ayam betina yang terinfeksi IBV dapat menurunkan produksi dan kualitas telur (Zhang *et al.*, 2012). Penurunan kualitas telur dapat dilihat pada Gambar 2 yang menunjukkan perbandingan telur normal dengan shell-kurang telur, telur kasar dikupas, dan telur cacat. IB dengan strain nefropatiogen dapat menyebabkan pembengkakan pada ginjal ayam yang terkena dampak akan pucat dan bengkak seperti pada Gambar 3. Tanda klinis pada ayam petelur bisa terjadi pada calon kuning telur yang mengalami perdarahan atau pecah di rongga perut. dan perkembangan kuning telur di ovarium menjadi

lembek. Embrio ayam akan mengalami abnormal, pada Gambar 4 menunjukkan perbandingan embrio ayam normal dan embrio ayam yang terkena IBV. Infeksi anak ayam yang sangat muda dapat menyebabkan perkembangan saluran telur kistik (Butcher *et al.*, 2014).



Gambar 1. Anak ayam yang terserang IBV mengalami gangguan pernafasan (Sumber: Poultry Med)



Gambar 2. Perbandingan telur normal (di atas, kiri) dengan shell-kurang telur (di atas, kanan), telur kasar dikupas (tengah), dan telur cacat (bawah) diletakkan oleh ayam selama wabah IB (Sumber:Poultry Med)



Gambar 3. Organ dalam pada ayam dewasa yang terinfeksi IB (Sumber: Poultry Med)



Gambar 4. Perbandingan embrio ayam normal dan embrio ayam yang terkena IBV (Sumber: Poultry Med)

Strain GD adalah strain IBV yang ditemukan di provinsi Guangdong, China. Hasil urutan identitas untuk gen S1, strain TW menunjukkan identitas tertinggi dari strain lainnya. Hasil penelitian Xu *et al.*, (2016) menunjukkan kemunculan peningkatan prevalensi strain TW di China. Hal tersebut menekankan pentingnya pemantauan dan strategi vaksin baru mengingat

strain yang beredar semakin meningkat sehingga menjadi upaya pencegahan dan pengendalian IBV.

2.3 Vaksinasi IBV

Status infeksi dan kuatnya penyakit erat hubungannya dengan imunitas individu, kondisi imun penting untuk mengendalikan penyakit (Zhao *et al.*, 2014). Vaksinasi IB dapat menggunakan vaksin aktif dan vaksin tidak aktif. Vaksin yang tidak aktif merangsang tingkat antibodi yang lebih tinggi daripada vaksin aktif dan akan berpengaruh dalam program peternak yang memerlukan antibodi induk. Namun, vaksin aktif yang dimodifikasi memberikan stimulasi mediasi sel yang lebih baik (sistem sel T) dan mendapatkan respons antibodi lokal superior (IgA) sebagai akibat infeksi mukosa lokal dan dengan demikian akan lebih melindungi ayam petelur (Butcher *et al.*, 2014). Hasil penelitian Kencana *et al.*, (2017) menunjukkan bahwa vaksin inaktif kombinasi ND-EDS-IB dapat merangsang terbentuknya antibodi protektif dan aman digunakan dilapangan untuk vaksinasi ayam petelur.

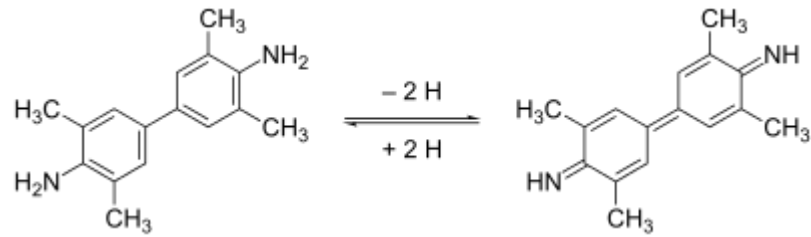
Penetapan vaksin yang efektif sesuai jadwal sulit dilakukan karena tingkatan antigen yang bervariasi, tetapi ada juga yang dapat menstimulasi perlindungan terhadap tipe IBV yang heterogen (Smialek *et al.*, 2017). Pemeriksaan serum setelah vaksinasi adalah untuk mengetahui respons imun ayam yang divaksinasi (Kencana *et al.*, 2015). Pada penelitian Siswanto, (2016), vaksinasi juga mempengaruhi leukosit. Hasil uji sidik ragam diketahui bahwa pada hari ke 14 setelah vaksinasi terjadi puncak peningkatan limfosit. Peningkatan limfosit terjadi karena adanya antigen yang masuk ke dalam tubuh dalam rangka membentuk antibodi. Upaya tubuh membentuk antibodi akibat vaksinasi yaitu sel darah putih (leukosit) akan mengalami proliferasi, sehingga akan terbentuk sel plasma yang akan memproduksi antibodi. Vaksin IBV juga diberikan pada burung, seperti pada penelitian Hamzic *et al.*, (2016) dan Jensen *et al.*, (2013) menggunakan burung umur 3 minggu yang mampu menunjukkan respon imun setelah vaksinasi.

2.4 ELISA

Hasil produksi antibodi dalam tubuh tidak dapat secara langsung dilihat keberadaannya. Cara untuk mengidentifikasi keberadaan antibodi salah satunya adalah imunoserologi. Imunoserologi adalah cara mengidentifikasi terbentuknya antibodi yang diproduksi oleh sel darah putih sebagai respon terhadap masuknya antigen. Imunoserologi memiliki banyak manfaat antara lain dapat digunakan untuk menentukan status kekebalan tubuh. Salah satu metode yang digunakan yaitu *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) (Elfidasari, 2013).

ELISA adalah metode immunoenzymatic yang digunakan untuk deteksi titer antibodi dalam sejumlah besar sampel serum. Batasan penting dari protokol standar ELISA adalah waktu yang diperlukan untuk mengikat antigen target untuk acuan yang kuat (biasanya dinding sumur-sumur dalam lapisan mikrotiter polystyrene) dan tahap pencucian yang berganda dibutuhkan untuk menghilangkan antibodi yang tidak terikat dari bagian dinding mikrotiter (Jiang *et al.*, 2014). Pada ELISA menggunakan *conjugate* yang merupakan antibodi yang terkait dengan enzim. *Conjugate* berupa anti-Ig yang akan berikatan pada daerah Fc pada antibodi yang spesifik. Pada penelitian Smialek *et al.*, (2017), *conjugate* yang digunakan antigenik terhadap IgG ayam sehingga *conjugate* hanya akan berikatan dengan IgG ayam. Reagen *conjugate* biasa menggunakan horseradish peroksidase (HRP) dan enzim alkalin fosfatase (AP) yang diencerkan dengan PBS (*Phospat Buffer Saline*).

Pada penelitian Odekerken *et al.*, (2015), TMB (*tetramethylbenzidine*) merupakan substrat kromogen untuk memungkinkan deteksi kromogenik antibodi sekunder yang terikat. TMB adalah bubuk kristal putih yang membentuk cairan biru-hijau pucat dalam larutan dengan etil asetat. *Diimine* yang dihasilkan menyebabkan warna biru yang dapat dibaca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 650 nm.



Gambar 5. Oksidasi 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) sampai 3,3',5,5'- tetramethylbenzidine diimine

Teknik ELISA dibedakan menjadi dua jenis yaitu teknik ELISA kompetitif merupakan teknik yang menggunakan *conjugate* antigen-enzim atau konjugat antibodi-enzim, sedangkan teknik ELISA nonkompetitif yang menggunakan dua antibodi (primer dan sekunder).

Berikut ini adalah perbedaan beberapa macam teknik ELISA yang sering digunakan, antara lain :

Tabel 1. Perbedaan Teknik ELISA

Pembeda	ELISA <i>Direct</i>	ELISA <i>Indirect</i>	ELISA Sandwich	ELISA kompetitif
Tujuan	Untuk mendeteksi dan mengukur konsentrasi antigen pada sampel (Putuamijaya, 2011).	Untuk mendeteksi keberadaan antibodi yang diinginkan pada sampel (Sendow <i>et al.</i> , 2015)	Untuk mengetahui konsentrasi antigen (Doel <i>et al.</i> , 2015)	Untuk mendeteksi keberadaan antibodi (Rachmawati <i>et al.</i> , 2004).
Prinsip kerja	Menggunakan suatu antibodi spesifik (Smialek <i>et al.</i> , 2017)	Menggunakan antibodi monoklonal serta antibodi sekunder spesifik tertaut enzim (Sendow <i>et al.</i> , 2015)	Antibodi kedua dikonjugasi dengan enzim sebagai indikator (Jensen <i>et al.</i> , 2013)	Mengkonjugasikan antigen dengan enzim (<i>Horse Raddish Peroxidase-HRPO</i>) (Rachmawati <i>et al.</i> , 2004)
Kelebihan	Dapat diaplikasikan menggunakan monoklonal antibodi (Sendow <i>et al.</i> , 2015)	Mempunyai spesifitas yang baik dalam mengevaluasi vaksin (Ding <i>et al.</i> , 2015)	Memiliki tingkat sensitifitas yang relatif lebih tinggi (Jensen <i>et al.</i> , 2013)	Dapat mendeteksi konsentrasi antibodi terendah (Rachmawati <i>et al.</i> , 2004)

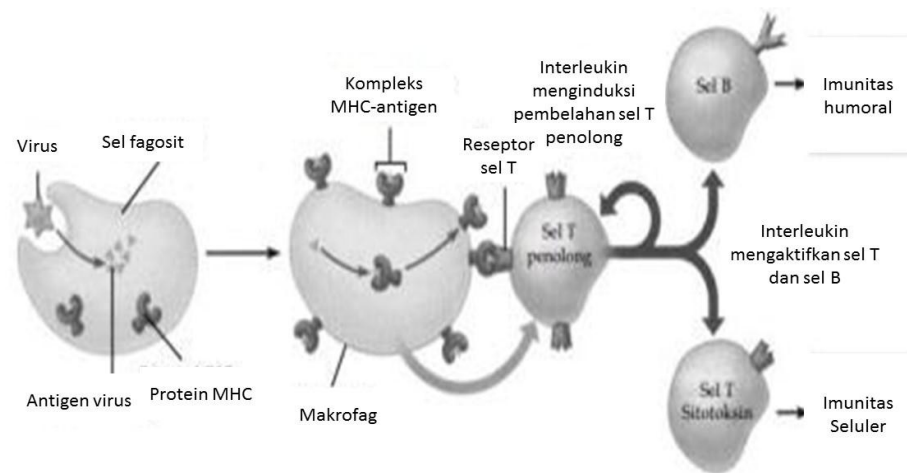
ELISA dilakukan dalam berbagai bentuk tergantung pada tipe antigen dan reagen yang digunakan saat melakukan tes (Setiawan, 2007). Hasil penelitian Cao *et al.*, (2012) terhadap virus IB menggunakan ELISA menunjukkan bahwa antibodi muncul pada 7 hari setelah vaksinasi dan serokonversi terjadi setelah 14 hari setelah vaksinasi. Penelitian yang dilakukan Doel *et al.*, (2015) ELISA digunakan untuk mendeteksi antibodi pada gajah di Asia dan menunjukkan peningkatan titer antibodi hingga minggu ke 8. Hasil penelitian Sattler *et al.*, (2014) mengenai serokonversi pada babi menunjukkan bahwa antibodi muncul pada hari ke 9 sampai 15 setelah vaksinasi.

2.5 Antibodi

Antibodi merupakan senyawa alam yang terdapat di dalam tubuh sebagai bagian dari sistem pertahanan tubuh. Fungsi antibodi ada dua, yaitu mengenali dan mengikat target spesifik dari bakteri (antigen), dan mengundang sistem pertahanan lain untuk menghancurkan bakteri, misalnya makrofag dan komplemen (Widyastuti, 2007). Ada 5 jenis utama antibodi yaitu IgA ditemukan di sekitar tubuh pertemuan antara bagian luar dan dalam tubuh, seperti mata, telinga, hidung, dan vagina. IgA melindungi dari zat asing yang berusaha masuk. IgG adalah antibodi yang ditemukan dalam semua cairan tubuh. IgG membantu untuk melawan bakteri dan virus. IgM adalah yang terbesar dalam ukuran. IgM ditemukan dalam cairan limfe dan darah. IgM adalah antibodi pertama melawan zat asing dalam tubuh. IgE ditemukan di paru-paru, kulit, dan selaput lendir. IgE meningkat pada reaksi alergi. Antibodi IgD pada sel B berfungsi menginisiasi respon imun.

Proses pembentukan antibodi yang dilakukan oleh sel B yaitu makrofag menelan patogen yang masuk ke dalam tubuh. Fragmen antigen dari patogen yang dicerna sebagian lalu membentuk kompleks dengan protein MHC kelas II. Komplek ini kemudian diangkut ke permukaan sel, tempat kompleks tersebut disajikan ke sel-sel lain milik sistem kekebalan. Sel T helper dengan reseptor yang spesifik untuk antigen yang disajikan itu berinteraksi dengan makrofag dengan cara berikatan dengan kompleks MHC dan antigen.

Sel T helper yang diaktifkan kemudian berinteraksi dengan sel B yang telah menghancurkan antigen dengan cara endositosis dan memperlihatkan fragmen antigen bersama dengan protein MHC kelas II. Sel T helper mensekresikan IL-2 dan sitokin lain yang mengaktifkan sel B. Sel B lalu membelah secara berulang-ulang dan berdiferensiasi menjadi sel B memori dan sel plasma, yang merupakan sel efektor yang mensekresi antibodi pada kekebalan humoral (Campbell *et al.*, 2004).



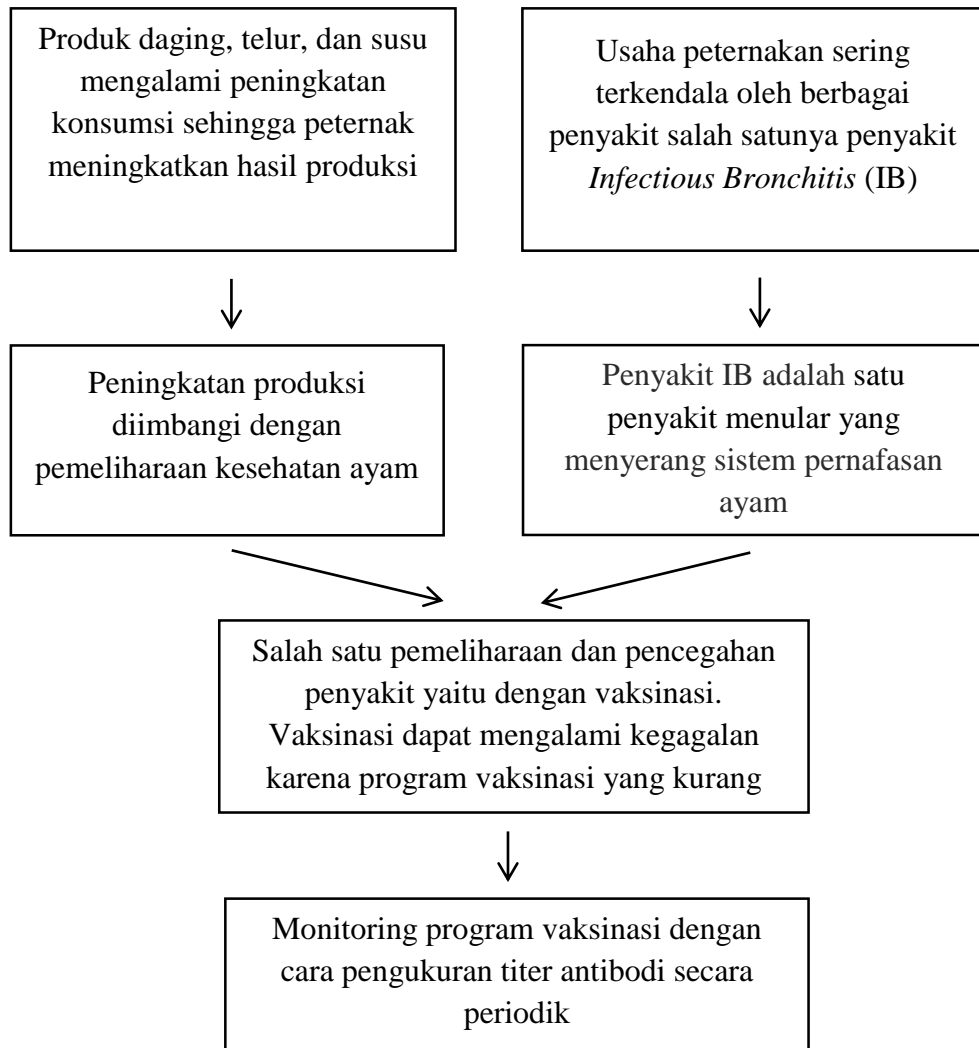
Gambar 6. Interaksi sel T dengan sel penyaji antigen (Campbell *et al.*, 2004)

Titer antibodi hasil vaksinasi dapat diukur dengan menggunakan berbagai metode diantaranya, uji hambatan hemaglutinasi yang dapat dipakai untuk *serotyping* virus. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) dapat digunakan untuk mengukur titer antibodi. ELISA mempunyai tingkat sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan uji netralisasi serum (Untari, 2004). Uji serologi pengukuran titer antibodi dapat dilakukan menggunakan uji hemaglutinasi teknik mikrotiter (Kencana *et al.*, 2017). Pemeriksaan serum darah ayam setelah vaksinasi adalah untuk mengetahui respons imun ayam yang divaksinasi.

Kencana *et al.*, (2017) menjelaskan bahwa penelitian terhadap titer antibodi setelah vaksinasi sangat diperlukan untuk mengetahui potensi vaksin dalam memicu kekebalan protektif pada ayam petelur di lapangan. Hasil penelitian Kencana *et al.*, (2015) mengenai respon antibodi dengan vaksin

kombinasi menunjukkan titer antibodi pada minggu ke-2 dan ke-3 mengalami peningkatan. Hal tersebut menunjukkan bahwa agen virus dalam vaksin yang diberikan dapat merangsang diferensiasi sel B menjadi sel plasma dan sel memori. Sel plasma akan membentuk immunoglobulin yang bertahan selama 3-6 hari, sedangkan sel memori dapat hidup berbulan-bulan lamanya hingga tahunan. Vaksin kombinasi mampu memicu kekebalan protektif, tetapi efektif sampai minggu ke-3 setelah vaksinasi. Berdasarkan penelitian Kencana *et al.*, (2016), pada minggu ke-4 pasca vaksinasi mulai mengalami penurunan yang disebabkan oleh adanya waktu paruh antibodi yakni waktu yang dibutuhkan titer antibodi untuk berkurang setengahnya dari titer antibodi awal. Selain penurunan secara alami, penurunan titer antibodi juga terjadi akibat tantangan agen penyakit di lapangan (ayam terinfeksi secara alami). Pada penelitian Smialek *et al.*,(2017) dan Khataby *et al.*, (2016) menunjukkan pada 14 hari setelah vaksinasi menunjukkan respon imun yang lebih baik.

2.6 Kerangka Berpikir



Gambar 8. Kerangka berpikir penelitian tentang analisis perkembangan titer antibodi hasil vaksinasi *Infectious bronchitis* pada ayam petelur strain Hisex Brown

2.7 Hipotesis

Ada perbedaan titer antibodi ayam pada hari ke 7, 14, dan 21 setelah vaksinasi.

BAB 5

PENUTUP

5.1 Simpulan

Nilai rata-rata titer antibodi hasil vaksinasi *Infectious bronchitis* pada 7, 14, dan 21 hari setelah vaksinasi yaitu 1695, 4207, dan 5978. Hasil uji t menunjukkan pada setiap periode waktu pengambilan sampel yaitu 7 dpi, 14 dpi, dan 21 dpi mempunyai perbedaan yang signifikan. Jumlah titer antibodi IgG terhadap virus IBV semakin meningkat dengan semakin lamanya jarak vaksinasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Adji R.S., I Wayan T.W., Denny W.L., & Setiyaningsih. 2015. Pengembangan Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Paratuberkulosis dengan Antigen Protoplasmik Mycobacterium avium Subspecies Paratuberculosis Isolat Lapang. *Jurnal Veteriner*, 16 (2): 159-166.
- Akonor M., Kwasi O., Paa T., & Holly S. 2018. Widespread exposure to infectious bronchitis virus and Mycoplasma gallisepticum in chickens in the Ga-East district of Accra, Ghana. *Coagent Food & Agriculture* (4) 1439260:1-11.
- Badan Pusat Statistik. 2017. Dinas Peternakan dan Perikanan Kabupaten Karanganyar. <http://karanganyarkab.bps.go.id/LinkTableStatis> [diakses tanggal 26 Oktober 2017]
- Bande F., Siti S.A., Abdul R.O., Mohd H.B, Muhammad.S.A., & Yusuf A. 2016. Pathogenesis and Diagnostic Approaches of Avian Infectious Bronchitis. *Advances in Virology*, 11:1-11.
- Butcher D.G., David P.S., & Rhicard D.M. 2014. Infectiuos Bronchitis Virus: Klasik dan Variant Strain. UF/IFAS Extension
- Campbell N.A., Jane B.R., Lisa G. M., Michael L.C., Steven A.W., Peter V.M., & Robert B.J. 2004. Biologi: Edisi kelima Jakarta: Erlangga.
- Cao Z., Zongxi H., Yuhao S., Xiaoli L., Junfeng S., Demin Y., Xiangang K., & Shengwang L. 2012. Proteomics Analysis of Differentially Expressed Proteins in Chicken Trachea and Kidney After Infection with the Highly Virulent and Attenuated Coronavirus Infectious Bronchitis Virus in Vivo . *Proteomo Science*, 24(10): 1-19.
- Caron F.L. 2010. Etiologi dan Imunologi of Infectious Bronchitis Virus. *Caixa Postal* 12(2): 115-119
- Dharmayanti N.L.P.I., & Risa I. 2017. Identification and Characterization of Infectious Bronchitis Virus (IBV) in Indonesia (Identifikasi dan Karakterisasi Virus Infectious Bronchitis (IBV) di Indonesia). *Jurnal Biologi Indonesia* 13(1): 53-59.
- Ding M., Hong W., Hai C., Wen F., Bing M., Peng X., An Z., & Xin Y. 2015. Development of A Multi-Epitope Antigen of S Protein-Based ELISA for Antibodies Detection Against Infectious Bronchitis Virus. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 79 (8):1287-1295.
- Direktorat Kesehatan Hewan. 2014. Manual Penyakit Unggas. Jakarta: Bingkai Pertanian

- Doel P.B., Victor R.P., Sarah E.R., Willem S., Erin L., Lauren.H., Sarah C., Nic M., Albert D.M.E.O., Paul D.L., Akbar D., & Byron M. 2015. A Novel Antigen Capture ELISA for the Specific Detection of IgG Antibodies to Elephant Endotheliotropic Herpes Virus. *BMC Veterinary Research* 11 (203): 2-10.
- Elfidasari D & Riris L.P. 2013. Analisa Cross-Infection Virus AI Subtipe H5N1 berdasarkan Imunoserologi pada Burung Air di Cagar Alam Pulau Dua. *Jurnal Al Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi*, 2(2): 120-128.
- Fellahi S., Mehdi E.H., Mariette D., Chafiq L., Saad S.K., Jens H.K., Slimane K., Mohammed E.H., & My M.E. 2015. Phylogenetic Analysis of Avian Infectious Bronchitis Virus S1 Glycoprotein Regions Reveals Emergence of A New Genotype in Moroccan Broiler Chicken Flocks. *Virology Journal*, 12(116):2-8.
- Ghadakchi., Dadras H., Pourbakhsh S.A., & Hosseini S. 2005. Standardization of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of Infectious Bronchitis Virus Antibody. *Arch Razi Ins* (59) 75-83.
- Hamzic E., Rike B.K., Nuria M., Guilietta M., Francesco S., Valentina G., John LW., Jun C., Eva W., Bart B., Helle R.M., & Tina S.D. 2016. RNA Sequencing-Based Analysis of the Spleen Transcriptome Following Infectious Bronchitis Virus Infection of Chickens Selected for Different Mannose- Binding Lectin Serum Concentrations. *BMC Genomics*, 17(82): 1-13.
- Hasnita, Dian M., & Hamdani B. 2017. Gambaran Histologis Bursa Fabricius Ayam Kampung (*Gallus gallus domesticus*) pada Umur Berbeda. *JIMVET*,01(3): 398-403
- Indriani, R & Ni Luh P.I.D. 2013. Studi Efikasi Vaksin Bivalen AI Isolat Lokal terhadap Beberapa Karakter Genetik Virus AI subtipe H5N1. *Jurnal Biologi Indonesia* 9(1): 21-30
- Jensen H.T., Gitte A., Kurt J.H., Marek J.S., Vivien J.C., Martine C., Veronique J., Peter L., & Poul H.J. 2013. An Enzyme- Linked Immunosorbent Assay for Detection of Avian Influenza Virus Subtypes H5 and H7 Antibodies. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 55 (84): 2-10.
- Jiang W., Sarah C., Julian N.R., George A.O., Bradley J.S.O., & Donald P.W. 2014. A Rapid Live-Cell ELISA for Characterizing Antibodies Against Cell Surface Antigens of *Chlamydomonas Reinhardtii* and Its Use in Isolating Algae from Natural Environments with Related Cell Wall Components. *BMC Plant Biology*, 14 (244): 1-12.
- Kencana G.A.Y., Nyoman M.A., I Gusti N.K.M., & I Wayan G. 2012. Penyebaran Virus Vaksin ND pada Sekelompok Ayam Pedaging yang

Tidak Divaksinasi dan Dipelihara bersama Ayam yang Divaksinasi. *Buletin Veteriner Udayana*, 4(2):109-117.

Kencana G.A.Y., Nyoman S., Mesakh P.S., Arini N.H, Steffi O., Syamsidar, & Aprillia K. 2015. Respons Antibodi terhadap Penyakit Tetelo pada Ayam yang Divaksin Tetelo dan Tetelo-Flu Burung. *Jurnal Veteriner*, 16(2):289-290

Kencana G.A.Y., Nyoman S., Ni Made A.S.P, & Arini.N.H. 2016. Vaksin Kombinasi Newcastle Disease dengan Avian Influenza Memicu Imunitas Protektif pada Ayam Petelur terhadap Penyakit Tetelo dan Flu Burung. *Jurnal Veteriner*, 17 (2): 257-264.

Kencana G.A.Y., Nyoman S., Daniel R.B.N, & Agatha S.L.T. 2017. Respons Imun Ayam Petelur Pascavaksinasi Newcastle Disease dan Egg Drop Syndrom. *Jurnal Sain Veteriner*, 35 (1): 81-90

Khataby K., Faouzi K., Chafiq L., & My M.E. 2016. Assessment of Pathogenicity and Tissue Distribution of Infectious Bronchitis Virus Strains (Italy 02 Genotype) Isolated from Moroccan Broiler Chickens. *BMC Veterinary Research*, 12(94): 1-10.

KPL. 2013. Technical Guide for ELISA. *Sera Care Life Science* hal: 10.

Lougovskaia N., Andrei A., Yuri A.B., Galina V.B., Natalia S.M., Vlamidir V.D., Alexander V.B., Vladimir V.B., & Anatoly A.G. 2010. Deteksi dan Estimasi Antigen Virus Bronkitis Menular Burung dengan Fase Liquid Tidak Langsung Novel Memblokir Enzim-Linked Immunosorbent Assay Menggunakan Ayam dan Kelinci Afinitas Immunoglobulin Dimurnikan. *Avian Patologi*(31)549-557.

Mutryn M.F., Erin M.B., Weixuan Fu, William R.L., & Behnam A. 2015. Characterization of A Novel Chicken Muscle Disorder Through Differential Gene Expression and Pathway Analysis Using RNA-Sequencing. *BMC Genomics*, 16(399): 2-19.

Odekerken J.C., Dorien M.L., Loubna A.J.J.C.A., Geert H.W., & Tim J.W. 2015. ELISA-Based Detection of Gentamicin and Vancomycin in Protein-Containing Samples. *Springerplus*, 4(614): 2-8.

Putri D. D., Agung A.C., & Zairiful. 2012. Waktu Vaksinasi *Avian Influenza (AI)* yang Tepat untuk Menghasilkan Respon Immunologis Protektif pada Ayam Ras Pedaging. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 12(3):150-155.

Reddy V.R.A., Ivan T., Lowlese M.D., Yewel L., Sebastian T., & Hans J.N. 2015. Productive Replication of Nephropathogenic Infectious Bronchitis Virus in Peripheral Blood Monocytic Cells, A Strategy For Viral Dissemination and Kidney Infection in Chickens. *VetRes*, 47(70): 2-19.

- Rodriguez I., Salinas C., Montaho G., Manriquez N., Gonzalez V., Guevara F., & Ramirez L.L. 2016. Effect of Diets with Different Energy Concentrations on Growth Performance, Carcass Characteristics and Meat Chemical Composition of Broiler Chickens in Dry Tropics. *SpringerPlus*, 5 (1937): 2-6.
- Sarwono B. 2003. *Beternak Ayam Buras*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Suryadi Y., Ifa M., & Machmud. 2009. Potensi Pemanfaatan Perangkat Diagnostik ELISA serta Variannya untuk Deteksi Patogen Tanaman. *Jurnal Agrobiogen* 5(1)39-48.
- Sasipreeyajan J, Pohuang T, dan Sirikobkul N. 2012. *Efficacy of Different Vaccination Programs against Thai QX-like Infectious Bronchitis Virus*. *Vet Med* 42 (1): 73-79.
- Sattler T., Eveline W, Sandra R.F., & Friedrich S. 2014. Comparison of Different Commercial Elisas for Detection of Antibodies Against Porcine Respiratory and Reproductive Syndrome Virus in Serum. *BMC Veterinary Research*, 10(300): 2-6.
- Sendow I, R.M.A Adjid, A. Ratnawati, & M. Saepulloh. 2015. Pengembangan Teknik Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) menggunakan Antibodi Monoklonal Untuk Mendeteksi Antibodi Penyakit Bovine Ephemeral Fever. *Jurnal Kedokteran Hewan* 9(1): 5-8.
- Setiawan I.M. 2007. Pemeriksaan Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) untuk Diagnosis Leptospirosis. *EBERS POPYRUS* 13(3):125-136.
- Setiawati T., Afnan R., & Ulupi N. 2016. Performa Produksi dan Kualitas Telur Ayam Petelur pada Sistem Litter dan Cage dengan Suhu Kandang Berbeda. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*, 4 (1): 197-203.
- Siswanto I., Nyoman S., & I Gede S. 2016. Titer Antibodi dan Hitung Jenis Leukosit Ayam Potong Jantan pasca Vaksinasi Virus Newcastle Disease. *Indonesia Medicus Veterinus*, 5(1): 89-95.
- Smialek M., Bartłomiej T., Daria D., Tomasz S., & Andrzej K. 2017. Immunological Aspects of the Efficiency of Protective Vaccination Strategy Against Chicken Infectious Bronchitis. *BMC Veterinary Research*, 13(44): 2-7.
- Sudarmono, A.S., 2003. *Pedoman Pemeliharaan Ayam Petelur*. Kanisius. Yogyakarta

- Suryadi Y, I. Manzila, &M. Machmud. 2009. Potensi Pemanfaatan Perangkat Diagnostik ELISA serta Variannya untuk Deteksi Patogen Tanaman. *Jurnal AgroBiogen* 5(1): 39-48.
- Susilorini E. Tri, M.E. Sawitri, & Muharliem. 2008. *Budidaya 22 Ternak Potensial*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Tizard IR. 1987. *Pengantar Immunologi Veteriner Edisi ke-2*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Widyastuti. 2007. Radiofarmaka Berbasis Antibodi. *Jurnal Radioisotop dan Radiofarmaka*, 10: 37-46.
- Yuan Y., Zhi-Peng Z., Yi-Ning H., Wen-Sheng F., Zhi Hua D., Li-Hua Z., Xin-Kuan S., Li-Li S., Tian-Chao W., Mei-Lan M., & Ping W. 2018. Protection against Virulent Infectious Bronchitis Virus Challenge Conferred by a Recombinant Baculovirus Co-Expressing S1 and N Proteins. *Viruses* (10): 347.
- Zhang X., Yantou W., Yezhen H., & Xiufan L. 2012. Protection Conferred by A Recombinant Marek's Disease Virus that Expresses the Spike Protein from Infectious Bronchitis Virus in Specific Pathogen-Free Chicken. *Virology Journal*, 9(85): 2-10.