

**PENGARUH PEMBERIAN IMUNOMODULATOR *Echinacea purpurea (radix)*
TERHADAP TITER ANTIBODI AVIAN INFLUENZA (AI) DAN NEWCASTLE
DISEASE (ND) PADA BROILER BETINA**

***The Effect of Echinacea purpurea (Radix) Immunomodulatory on Avian Influenza (AI)
and Newcastle Disease (ND) Titer Antibody in Female Broiler***

Dahlia, Purnama Edy Santosa, Siswanto, dan Madi Hartono

Department of Animal Husbandry, Faculty of Agriculture, University of Lampung
Soemantri Brojonegoro No.1 Gedung Meneng Bandar Lampung 35145
e-mail : dahliaptk15@gmail.com

ABSTRACT

This research was intended to determine the level of antibody to AI and ND in female broilers given drinking water with the addition of *E. purpurea (radix)* at different doses. This research was conducted in December 2018-January 2019 in the Cage of an Integrated Field Laboratory, Faculty of Agriculture, Lampung University and antibody titer analysis carried out at the Hall Veterinary of Lampung. This research used completely randomized design (CRD) with four treatments and three repetition, drinking water without *E. purpurea (radix)* (control) (P0), drinking water with 3 mg / kg BW / day *E. purpurea (radix)* (P1), drinking water with 6 mg / kg BW / day *E. purpurea (radix)* (P2), and drinking water with 9 mg / kg BW / day *E. purpurea (Radix)* (P3). The results of this research showed that the AI antibody titer was not significantly different and had an antibody titer below the standard (not protective). Antibody titer of ND showed that all treatments were not significantly different, but the treatment of P3 had the highest antibody titer.

Keywords: Immunomodulatory, *E. purpurea*, Antibody titer, Avian influenza, Newcastle disease, Female broiler

PENDAHULUAN

Broiler merupakan ayam pedaging unggul yang memiliki peran besar dalam pemenuhan kebutuhan protein hewani. Daging broiler sangat digemari oleh masyarakat karena mempunyai rasa yang enak dan kandungan zat gizi yang tinggi. Broiler sendiri merupakan jenis ayam hasil dari budidaya teknologi peternakan yang memiliki ciri khas pertumbuhan yang cepat, sebagai penghasil daging dengan konversi pakan yang rendah (Rasyaf, 1997).

Selain keunggulan tersebut, broiler memiliki kelemahan yaitu rentan sekali terhadap serangan penyakit, terutama penyakit yang disebabkan oleh virus seperti ND dan AI. Pencegahan untuk penyakit yang disebabkan oleh virus dapat dilakukan dengan vaksinasi.

Hasil titer antibodi pasca vaksinasi biasanya bervariasi antara tiap individu. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan kinerja organ limfoid dalam menghasilkan antibodi. Kinerja organ limfoid dapat ditingkatkan melalui penambahan suatu senyawa yang dapat

berfungsi sebagai penggerak sistem imun atau yang biasa dikenal sebagai imunomodulator. Salah satu senyawa yang berfungsi sebagai imunomodulator adalah *E. purpurea (Radix)*.

Echinacea adalah nama genus tanaman asli Amerika Utara. Tumbuhan ini termasuk kelompok aster (*asteraceae*) dan umumnya dikenal sebagai *the purple coneflowers*. Ada 9 spesies *Echinacea* tetapi yang sering digunakan dalam sediaan adalah *Echinacea purpurea (purple cone flower)*. Manfaat *Echinacea* dalam penyakit infeksi disebabkan kemampuannya untuk berperan sebagai anti inflamasi dan imunostimulan. *Echinacea* dapat memacu aktifitas limfosit, meningkatkan fagositosis dan menginduksi produksi interferon (Baratawidjaja, 2004).

Penggunaan broiler betina dalam penelitian ini dilakukan karena pertumbuhan organ limfoid broiler betina lebih lambat dan ukurannya lebih kecil dibandingkan dengan broiler jantan sehingga proses pembentukan antibodi broiler betina juga lebih lambat dan rendah. Ternak yang memiliki bobot limfoid

yang besar, cenderung tahan terhadap berbagai penyakit (Sturkie, 2000). Pemberian ekstrak *E. purpurea* (*Radix*) yang dilarutkan ke dalam air minum diharapkan dapat menjaga keseimbangan sistem imun dan dapat meningkatkan titer antibodi broiler betina.

Sampai saat ini di Indonesia, belum ada data tentang pengaruh pemberian *E. purpurea* terhadap titer antibodi *Avian Influenza* dan *Newcastle Disease*. Oleh sebab itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui titer antibodi broiler betina yang dihasilkan dari pemberian *E. purpurea* (*Radix*) sebagai imunomodulator.

MATERI DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada Desember 2018—Januari 2019 di unit kandang Laboratorium Lapang Terpadu, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung dan Balai Veteriner Lampung, Bandar Lampung.

Materi

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bambu, sekam, koran, plastik terpal, lampu, *chick feeder tray*, tempat minum, *hand sprayer*, timbangan kapasitas 10 kg, timbangan elektrik, *thermohyrometer*, karung dan plastik, *disposable syringe*, tabung *ependorf*, gunting dan pisau, *micromixer*, *microplate* bentuk V, dan *micropipe multichannel*, alat tulis dan kertas.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu DOC broiler betina, ransum broiler (BR 1), sediaan *E. purpurea*, *isotonis* PBS pH 7,0–7,4, cairan *chorion allantois*, antisera ND dan AI, serta RBC 1%, dan air minum.

Metode Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan yang diterapkan yaitu:

P0: air minum tanpa *E. purpurea* (*radix*)

P1: air minum dengan 3 mg/kg BB/hari *E. purpurea* (*radix*)

P2: air minum dengan 6 mg/kg BB/hari *E. purpurea* (*radix*)

P3: air minum dengan 9 mg/kg BB/hari *E. purpurea* (*radix*)

Pembuatan air minum untuk perlakuan dilakukan dengan cara melarutkan ekstrak *E. purpurea* ke dalam 1/5 kebutuhan air minum.

Perlakuan ini diberikan selama 28 hari. Waktu pemberian air minum dengan perlakuan dilakukan satu hari setelah DOC tiba (hari berikutnya) pada pukul 07.00 WIB yang sebelumnya broiler dipuaskan terlebih dahulu. Setelah air minum dengan perlakuan habis, air minum diberikan secara *ad libitum*.

Vaksin yang diberikan terdiri dari vaksin ND dan AI. Vaksin ND diberikan saat broiler berumur 6 hari melalui tetes mata dan umur 19 hari melalui air minum. Vaksin AI diberikan saat broiler berumur 6 hari melalui injeksi subkutan leher (Nurkholis et al., 2013).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Perlakuan Terhadap Titer Antibodi *Avian Influenza* (AI)

Rataan titer antibodi AI pada kelompok P0; P1; P2; dan P3 berturut-turut sebesar log 13,33; 3,33; 4,67; dan 6,00 (Tabel 1). Hasil penelitian menunjukkan bahwa baik pada kelompok yang tidak diberi *E. purpurea* (*Radix*) (P0) maupun kelompok perlakuan yang diberi tambahan *E. purpurea* (*Radix*) (P1, P2, P3) titer antibodinya masih rendah karena semua nilainya masih di bawah log 16 (2⁴). Menurut Office International Epizootic (OIE) (2008) titer antibodi protektif AI adalah >log 2⁴. Titer antibodi yang rendah menunjukkan bahwa antibodi yang ada di dalam tubuh broiler betina belum dapat melindungi tubuh broiler dari infeksi virus AI. Analisis ragam menunjukkan bahwa semua perlakuan (P0, P1, P2, dan P3) tidak berpengaruh secara nyata (P<0,05) terhadap titer antibodi AI pada broiler betina.

Tabel 1. Hasil uji HI titer antibodi *Avian Influenza*

Ulangan	Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
	------(log 2)-----			
1	32	0	4	8
2	8	8	8	8
3	0	2	2	2
Jumlah	40	10	14	18
Rata-rata	13,33	3,33	4,67	6,00

Keterangan:

P0: air minum tanpa *E. purpurea* (*Radix*);

P1: air minum dengan 3 mg/kg BB/hari *Radix*;

P2: air minum dengan 6 mg/kg BB/hari *Radix*;

P3: air minum dengan 9 mg/kg BB/hari *Radix*

Penelitian ini menunjukkan bahwa pada perlakuan tanpa penambahan *E. purpurea*

(*Radix*) memiliki titer antibodi yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan dengan penambahan *E. purpurea* (*Radix*) (P1, P2, dan P3). Hal ini diduga karena imunomodulator *E. purpurea* tidak bekerja secara maksimal terhadap antigen AI untuk meningkatkan titer antibodi AI. Sama halnya seperti obat, imunomodulator juga hanya bekerja secara optimal terhadap antigen tertentu. Roitt (1990) menyatakan bahwa suatu zat kebal terbentuk secara spesifik untuk menghadapi sejenis antigen tertentu. Antigen yang sama sekali tidak memiliki persamaan permukaan dengan antigen tertentu tidak akan menghasilkan antibodi.

Selain itu, titer antibodi yang lebih tinggi pada P0 dibandingkan dengan perlakuan lainnya (P1, P2, dan P3) diduga karena *E. purpurea* (*Radix*) yang digunakan sebagai imunomodulator tidak bertindak sebagai imunostimulan melainkan sebagai immunosupresan sehingga menurunkan titer antibodi AI pada broiler betina tersebut. Hal ini sesuai dengan pendapat Block dan Mead (2003) yang menyatakan bahwa sifat imunomodulator dibagi menjadi 3 yaitu imunostimulator yang berfungsi untuk meningkatkan fungsi dan aktivitas sistem imun, immunoregulator atau immunorestorasi yang dapat meregulasi sistem imun, dan immunosupresor yang dapat menghambat atau menekan aktivitas sistem imun.

Baratawidjaja (2006) menyatakan immunosupresi menekan aktivitas sistem imun dengan cara interaksi di berbagai titik dari sistem tersebut. Titik kerjanya dalam proses imun dapat berupa penghambatan transkripsi dari sitokin, sehingga rantai penting dalam sistem imun diperlemah khususnya IL-2. IL-2 esensial bagi perbanyakan dan diferensial limfosit, yang dapat dihambat oleh efek sitostatis langsung. Brooks *et al.* (2005) menambahkan bahwa efek immunosupresi dapat dicapai dengan salah satu cara seperti menghambat proses fagositosis dan pengolahan Ag menjadi Ag imunogenik oleh makrofag, menghambat pengenalan Ag oleh sel limfoid, merusak sel limfoid, menekan diferensiasi dan proliferasi sel imunokompeten sehingga tidak terbentuk sel plasma penghasil antibodi atau sel T yang tersensitisasi untuk respon imun seluler, dan menghentikan produksi antibodi oleh sel plasma serta melenyapkan sel T tersensitisasi yang telah terbentuk.

Meskipun titer antibodi yang terbentuk pada P0 lebih tinggi, namun tetap saja titer antibodi tersebut masih berada di bawah standar (tidak protektif). Hasil analisis

titer antibodi AI yang rendah pada semua perlakuan tersebut kemungkinan dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti penggunaan vaksin inaktif/*killed vaccine*. Pemberian vaksin inaktif umumnya menghasilkan respons imun yang lambat. Respons imun yang terbentuk pada vaksin inaktif lebih lambat jika dibandingkan dengan menggunakan vaksin aktif. Hal ini disebabkan karena vaksin inaktif mengandung *oil adjuvant* yang berfungsi sebagai *depo* antigen sehingga antigen vaksin akan dilepaskan secara perlahan-lahan (Aiyer *et al.*, 2013).

Titer Antibodi AI tidak protektif yang terbentuk pada setiap perlakuan juga dapat disebabkan oleh suhu lingkungan. Rata-rata suhu kandang dalam penelitian ini yaitu 29,6 °C dengan kelembaban 70%. Helmi (2008) menyatakan bahwa suhu lingkungan yang optimum untuk broiler umur 22-35 hari sekitar 26°C dengan kelembaban 60%. Tingginya suhu dan kelembaban yang ada di lingkungan kandang menyebabkan broiler mengalami cekaman panas/*heat stress* sehingga mempengaruhi kondisi fisiologis dan kesehatan broiler. Kasus *heat stress* lebih banyak terjadi pada ayam dewasa karena telah memiliki bulu yang sempurna sehingga sulit untuk membuang panas dari tubuhnya, selain itu, ukuran tubuh yang besar pula memproduksi lebih banyak panas.

Naseem *et al* (2005) menyatakan bahwa stres akan memicu terjadinya immunosupresif di dalam tubuh. Stres akan menstimulir syaraf pada hipotalamus untuk aktif mengeluarkan *Corticotropic Relasing Hormone* (CRH). CRH akan mengaktifkan sekresi *Adrenocorticotropic Hormone* (ACTH) dalam jumlah banyak. Meningkatnya ACTH akan merangsang korteks adrenal untuk aktif mengeluarkan kortikosteroid serta menyebabkan peningkatan pada sekresi glukokortikoid. Peningkatan kadar kortikosteroid dan glukokortikoid berpengaruh buruk terhadap kesehatan broiler karena menimbulkan immunosupresif yang dapat menyebabkan sel darah putih dan sistem pertahanan tubuh menjadi terganggu.

Heat stress juga akan menyebabkan pengeluaran hormon adrenalin yang tinggi dapat berakibat mempercepat kekejangan arteri koroner, sehingga suplai aliran darah ke otot jantung menjadi terganggu (Cooper dan Payne, 1988). Keadaan tersebut menyebabkan terhambatnya pembentukan antibodi pada ternak karena aliran darah dan pergerakan makrofag terganggu sehingga antigen yang

akan diuraikan menjadi lebih sedikit akibatnya pembentukan antibodi semakin rendah.

Selain memicu terjadinya immunosupresif, stres juga menstimulir syaraf pada hipotalamus untuk menghambat pengeluaran *Thyrotropin Relasing Hormone* (TRH). Terhambatnya pengeluaran TRH akan mengurangi jumlah sekresi *Thyroid Stimulating Hormone* (TSH). Penurunan TSH akan merangsang kelenjar tiroid untuk mengurangi sekresi hormon tiroksin. Penurunan hormon tiroksin dalam tubuh berpengaruh buruk terhadap kondisi fisiologis broiler (Naseem et al., 2005). Farrel (1979) berpendapat bahwa fungsi utama hormon tiroksin yaitu meningkatkan metabolisme dan penyerapan zat-zat nutrisi di saluran pencernaan. Menurunnya hormon tiroksin menyebabkan metabolisme senyawa-senyawa yang ada dalam pakan seperti protein yang dapat digunakan untuk pembentukan antibodi menjadi kurang maksimal sehingga tidak dapat memproduksi antibodi pada broiler betina.

Pengaruh Perlakuan Terhadap Titer Antibodi Newcastle Disease (ND)

Hasil rata-rata titer antibodi ND pada kelompok P0; P1; P2; dan P3 berturut-turut sebesar log 13,33; 8; 14; dan 28,00 (Tabel 2). Analisis ragam (Tabel 4) menunjukkan bahwa semua perlakuan (P0, P1, P2, dan P3) tidak berpengaruh secara nyata ($P < 0,05$) terhadap titer antibodi ND pada broiler betina.

Tabel 2. Hasil uji HI titer antibodi *Newcastle Disease*

Ulangan	Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
	------(log 2)-----			
1	4	8	8	64
2	4	8	2	4
3	32	8	32	16
Jumlah	40	24	42	84
Rata-rata	13,33	8,00	14,00	28,00

Keterangan:

P0: air minum tanpa *E. purpurea* (*Radix*);

P1: air minum dengan 3 mg/kg BB/hari *Radix*;

P2: air minum dengan 6 mg/kg BB/hari *Radix*;

P3: air minum dengan 9 mg/kg BB/hari *Radix*.

Berdasarkan Tabel 2 dapat diketahui bahwa titer antibodi ND pada broiler betina yang diberi air minum dengan penambahan *E. purpurea* (*Radix*) sebanyak 9 mg/kg BB/hari (P3) menunjukkan rata-rata titer antibodi paling

tinggi. Rataan titer antibodi yang diperoleh pada P3 sebesar log 28 ($> 2^4$). Office International Epizootic (OIE) (2008) menyatakan bahwa titer antibodi ND dikatakan protektif apabila memiliki nilai uji HI $> \log 2^5$. Titer antibodi yang tidak protektif tersebut menunjukkan bahwa antibodi yang ada di dalam tubuh broiler betina belum dapat melindungi tubuh broiler dari infeksi virus ND.

Meskipun dosis yang sesuai dengan perhitungan terdapat pada perlakuan P2 (6 mg/kg BB/hari), namun dengan pemberian dosis yang lebih tinggi pada P3 (9 mg/kg BB/hari) ternyata titer antibodi yang dihasilkan justru lebih tinggi. Hal ini dikarenakan semakin tinggi dosis maka semakin banyak pula senyawa-senyawa yang ada di *E. purpurea* yang terserap.

Pertumbuhan organ limfoid broiler betina lebih lambat dan ukurannya lebih kecil sehingga proses pembentukan antibodi broiler betina juga lebih lambat dan titer yang dihasilkan lebih rendah (Sturkie, 2000). Sasmito (2017) menyatakan imunomodulator akan bekerja lebih efektif bila diberikan kepada hewan yang memiliki sistem imun yang rendah dibandingkan dengan hewan yang sistem imunnya sudah baik. Oleh karena itu, dalam penelitian ini pada perlakuan P3 *E. purpurea* dapat bekerja lebih efektif dan menghasilkan titer antibodi yang lebih tinggi daripada perlakuan P2. Titer antibodi yang diperoleh pada P3 menunjukkan bahwa *E. purpurea* dapat digunakan sebagai imunomodulator terhadap titer antibodi ND.

Echinacea dapat meningkatkan imunitas tubuh dengan cara mengaktifkan fagositosis oleh makrofag, menstimulasi sel-sel fibroblas, meningkatkan aktivitas respirasi, dan meningkatkan mobilitas leukosit (James dan Hudson, 2012). Bergner (1997) menambahkan bahwa *Echinacea* dapat memacu makrofag untuk menghasilkan sitokin yang akan membantu regulasi sistem imun. Pada hasil kultur makrofag yang mendapat stimulasi *Echinacea* menunjukkan peningkatan produksi sitokin dibandingkan dengan yang tidak distimulasi.

Kandungan senyawa flavonoid dan *chichoric acid* yang terdapat pada *Echinacea* dapat meningkatkan proliferasi dan diferensiasi limfosit sel T, sel B, sel NK serta menunjukkan kemampuan dalam memberikan efek imunostimulan pada manusia dan hewan (meningkatkan produksi sel interferon dan aktivitas sel NK) (Cushnie dan Lamb, 2005). Interferon dapat membantu dalam presentasi antigen dan memiliki peranan dalam imunitas

humoral. Peran imunoregulasi dari interferon adalah kemampuannya dalam mempromosi fase induktif dari respon imun (Gupta *et al.*, 2011). Bergner (1997) menyatakan bahwa komponen lemak yang larut pada *E. purpurea* seperti isobutilamid berfungsi merangsang fagositosis sel granulosit.

Arabinogalactan yang terdapat dalam *Echinacea* dapat memacu produksi sitokin tertentu (TNF-g, IL-1, Interferon- γ), makrofag dan memiliki sifat toksis pada pertumbuhan beberapa jenis tumor (parasit intraseluler) (Giles *et al.*, 2000 ; Goel *et al.*, 2002). Suhirman dan Winarti (2009) menambahkan bahwa kandungan polisakarida berupa fruktofuranosida dalam *E. purpurea* dapat menstimulasi sistem kekebalan tubuh dan regenerasi jaringan yang rusak serta meningkatkan jumlah sel fagosit dan makrofag sehingga dapat merangsang pembentukan monosit. Selain itu, menurut Kumar dan Ramaiah (2011) kandungan alkamides pada *E. purpurea* dapat menstimulasi fagositosis dan pembentukan netrofil.

Selain itu, titer antibodi ND yang lebih tinggi dibandingkan dengan titer antibodi AI disebabkan karena vaksinasi ND telah dilakukan sebanyak dua kali dengan menggunakan vaksin aktif yaitu pada hari ke-6 dan 19. Tizard (1988) menyatakan bahwa umumnya vaksin *lived* lebih baik daripada vaksin *killed*, karena vaksin *lived* dapat memberikan respon kekebalan yang lebih cepat, dapat diberi tanpa penambahan adjuvant dan dapat merangsang produksi interferon. Respon imun yang terbentuk pasca vaksinasi kedua disebut respons imun sekunder. Respon imun sekunder adalah peristiwa pengenalan kembali terhadap imunogen yang sama (Suardana *et al.*, 2009).

Vaksinasi kedua dilakukan agar terbentuk antibodi sekunder dalam tubuh broiler. Antibodi sekunder biasanya memiliki titer antibodi dan afinitas yang lebih tinggi serta fase *lag* yang lebih pendek dibanding respon imun primer. Hal tersebut disebabkan sel memori yang terbentuk pada respon imun primer, akan cepat mengalami transformasi dan diferensiasi menjadi sel penghasil antibodi. Apabila kelak mendapat paparan antigen yang sama dapat memberikan respon yang lebih kuat dan lebih cepat (Banu *et al.*, 2009). Hal ini juga sesuai dengan pendapat Tizard (1982) yang menyatakan bahwa sistem pembentukan antibodi memiliki kemampuan untuk mengingat keterpaparan dengan suatu antigen sebelumnya. Titer antibodi akan mencapai tingkat yang lebih tinggi pada vaksinasi kedua

karena tubuh sudah mengenal antigen yang masuk ke dalam tubuhnya sehingga respon kekebalan tubuh menjadi lebih tinggi.

Proses pembentukan antibodi dapat terjadi apabila ada benda asing/antigen yang masuk ke dalam tubuh broiler. Antigen yang berhasil masuk akan melewati sistem pertahanan tubuh alami yang bersifat non-spesifik. Sistem pertahanan tubuh alami merupakan pertahanan pertama terhadap serangan antigen (bakteri, virus, mikroba). Jika respon imun alami tidak mampu mempertahankan tubuh terhadap paparan senyawa asing tersebut, maka pertahanan akan dilanjutkan oleh sistem pertahanan tubuh perolehan. Selanjutnya antigen tersebut akan mengalami pemrosesan oleh sel-sel fagositik (netrofil, eosinofil, dan basofil), lalu antigen akan difagositosis oleh makrofag. Selain berfungsi melakukan fagositosis, makrofag juga berfungsi sebagai *Antigen Presenting Cells* (APC) yang dikenal juga sebagai sel penyaji atau sel penadah yang akan menghancurkan antigen sedemikian rupa sehingga seluruh komponennya dapat berinteraksi dengan sistem imun spesifik atau antibodi. Makrofag yang berfungsi sebagai APC ini akan memfragmentasikan dan mempersembahkan antigen tersebut kepada sel limfosit T-helper (Th) melalui molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC) yang terletak di permukaan makrofag sehingga kemudian timbul respon imun spesifik berupa antibodi (Abbas *et al.*, 2015).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan :

1. pemberian *E. purpurea (Radix)* tidak berpengaruh nyata terhadap titer antibodi *Avian Influenza* dan *Newcastle Disease* pada broiler betina;
2. pemberian *E. purpurea (Radix)* sebanyak 9 mg/kg BB/ hari dapat meningkatkan titer antibodi *Newcastle Disease* pada broiler betina

Saran

Berdasarkan penelitian ini, saran yang perlu disampaikan yaitu diharapkan dapat dilakukan penelitian dengan dosis *E. purpurea* yang lebih tinggi serta pengambilan sampel darah dan pengecekan titer antibodi dilakukan pada saat pembentukan titer antobodi mencapai titik puncak.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A. K., A. H. Lichtman, dan S. Pillai. 2015. Cellular and Molecular Immunology. 8th Edition. Elsevier, Saunders. Philadelphia
- Aiyer, H. P., H. G. Ashok, G. P. Kumar, dan N. Shivakumar. 2013. An overview of immunologic adjuvants. J. Vaccines 4: 1-4
- Banu, N. A., M. S. Islam., dan M. M. H. Chowdhury. 2009. Determination of immune response of newcastle disease virus. J. Bangladesh. 7: 329--334
- Baratawidjaja, K. G. 2004. Immunologi Dasar edisi 6. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta
- Baratawidjaja, K. G. 2006. Immunologi Dasar edisi 7. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta
- Bergner, P. 1997. The Healing Power of Echinacea and Goldenseal. Prima Publishing. California
- Block, K. I. dan M. N. Mead. 2003. Immune System Effects of Echinacea, Gingseng, and Astragalus. A Review. Integratif Cancer Therapies
- Brooks., G. F., J. S. Butel, dan S. A. Morse. 2005. Mikrobiologi Kedokteran Edisi 21. Salemba Medika. Jakarta
- Cooper. C. L., dan R. Payne. 1988. Causes, Coping and Consequences of Stress at work. Wiley. New York
- Cushnie, T. P. dan A. J. Lamb. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. Int J. of Antimicro Agents. 26: 343–356
- Farrel, D. J. 1979. Pengaruh dari Suhu Tinggi terhadap Kemampuan Biologis dari Unggas. Laporan Seminar Ilmu dan Industri Perunggasan. Pusat Penelitian dan Pengembangan Ternak. Ciawi. Bogor
- Gupta, S., S. Chavan, dan K. K. Sawan. 2011. Self-nanoemulsifying drug delivery system for adefovir dipivoxil : Design Characterization in Vitro and ex Vivo Evaluation Colloids and Surfaces. Physicochemical and Engineering Aspect. 392 : 145-155
- Giles, J. T., C. T. Palat, C. H. Susan, Z. G. Chang, dan D. T. Kennedy. 2000. Evaluation of Echinacea for treatment of the common cold. J. of Pharma. 20: 690—7
- Goel, V., C. Chang, J. Slama, R. Barton, R. Bauer, R. Gahler, dan T. Basu. 2002. Echinacea stimulates macrophage function in lung and spleen of normal rats. J. Nutr Biochem. 13: 487
- Helmi. 2008. Broiler Breeder Guide Principles. Charoen Pokhpand Indonesia. Jakarta
- James, B. dan Hudson. 2012. Applications of the phytomedicine *Echinacea purpurea* (purple coneflower) in infectious diseases. J. of Biomedic and Biotech
- Kumar, K. M. dan S. Ramaiah. 2011. Pharmacological importance of echinacea purpurea. Int J. of Pharma and Bio Sci. 2: 304—314
- Naseem, M. T., S. Naseem, M. Yunus, Z. Iqbal, A. Ghafoor, A. Aslam, dan S. Akhter. 2005. Effect of pottasium choride and sodium bicarbonate supplementation on thermotolerance of broiler exposed to heat stress. Int. J. of Poult Sci. 4: 891—895
- Nurcholis, D. Hastuti, dan B. Sutiono. 2009. Tatalaksana Pemeliharaan Ayam Ras Petelur Periode Layer di Populer Farm Desa Kuncen Kecamatan Mijen Kota Semarang. JIIP. 5: 38-49
- Office International Epizootic. 2008. Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals (Mammals, Birds, And Bees). 6th Edition. Paris
- Rasyaf, M . 1997. Beternak Ayam Petelur. Edisi ke X. Penebar Swadaya. Jakarta
- Roitt, M. I. 1990. Pokok-Pokok Ilmu Kekebalan. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Sasmito, E. 2017. Imunomodulator Bahan Alami. Rapha Publishing. Yogyakarta
- Sturkie, P. D. 2000. Avian Physiology. 3th ed. Springer-Verlag. New York. 533-537
- Suardana I. B. K., I. M. R. K. Dewi., dan I. G. N. K. Mahardika. 2009. Respons imun itik bali terhadap berbagai dosis vaksin Avian Influenza H5N1. Jurnal Veteriner. 10: 150-155
- Suhirman, S. dan C. Winarti. 2009. Prospek dan Fungsi Tanaman Obat Sebagai Imunomodulator. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian
- Tizard, I. R. 1982. An Introduction to Veterinary Immunology. 2nd Edition. W.B. Saunders Company. USA

Tizard, I. R. 1988. Pengantar Immunologi
Veteriner. Airlangga University Press.
Surabaya