

## Titer Antibodi *Newcastle Disease* dan *Avian Influenza* Pada Ayam Kampung Jantan yang Diberi Ekstrak Mimba (*Azadirachta Indica*) Melalui Air Minum

Neva Anggraeni<sup>1</sup>, Purnama Edy Santosa<sup>1</sup>, Etha' Azizah Hasiib<sup>2</sup>, Mardi Hartono<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung

<sup>2</sup>Prgram Studi Nutrisi dan Teknologi Pakan Ternak, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung

\*Email: [nevaanggraeni08@gmail.com](mailto:nevaanggraeni08@gmail.com)

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak mimba (*Azadirachta indica*) dengan dosis yang berbeda dalam air minum terhadap titer antibodi ND dan AI pada ayam kampung 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, di mana setiap perlakuan terdiri atas 3 ekor ayam. Perlakuan yang diberikan 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 penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan P1 menghasilkan rata-rata titer antibodi ND tertinggi sebesar 458,67 dan titer antibodi AI sebesar 50,00. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu dosis 2,5 mg ekstrak mimba/kg BB/hari pada perlakuan P1 cenderung menghasilkan titer antibodi ND dan AI yang lebih tinggi pada ayam kampung jantan.

**Kata Kunci:** Ayam Kampung Jantan, Ekstrak Mimba, Titer Antibodi *Avian Influenza*, Titer Antibodi *Newcastle Disease*

Dikirim: 10 April 2026, Diperbaiki: 19 April 2026, Diterima: 22 April 2026, Terbit: 24 Agustus 2026

### 1. Pendahuluan

Pertambahan jumlah penduduk yang pesat menyebabkan meningkatnya kebutuhan protein hewani, di mana unggas berkontribusi sekitar 60% terhadap total produksi daging nasional. Ayam kampung menjadi salah satu sumber protein hewani yang potensial karena memiliki cita rasa khas serta kemampuan adaptasi yang baik terhadap berbagai kondisi lingkungan (Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Banten, 2016; Mubarak *et al.*, 2018). Salah satu inovasi yang dikembangkan adalah Ayam Kampung Unggul Balitbangtan (KUB), yang memiliki keunggulan dalam laju pertumbuhan, efisiensi pakan,

serta daya adaptasi tinggi dibandingkan ayam kampung biasa (Sartika *et al.*, 2016). Selain itu, ayam jantan memiliki performa pertumbuhan lebih tinggi sehingga lebih representatif digunakan dalam penelitian (Yuan *et al.*, 2024).

Produktivitas ayam kampung masih menghadapi kendala utama berupa penyakit menular seperti ND dan AI yang bersifat endemik di Indonesia dan menyebabkan kerugian ekonomi besar (Suryana *et al.*, 2020; Prasetyo *et al.*, 2019). Upaya pencegahan melalui vaksinasi sering terkendala oleh stabilitas vaksin yang sensitif terhadap suhu penyimpanan (Osman *et al.*, 2021), sehingga diperlukan alternatif

pendukung seperti imunostimulan alami. Tanaman mimba (*Azadirachta indica*) mengandung senyawa bioaktif yang bersifat imunomodulator dan mampu meningkatkan aktivitas sel imun serta produksi antibodi (Sutradhar *et al.*, 2025). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa suplementasi ekstrak daun mimba melalui air minum dapat meningkatkan respons imun humoral serta titer antibodi pada unggas (Hegazy *et al.*, 2023; Elbasuni *et al.*, 2023). Penelitian terkait efektivitas ekstrak mimba terhadap titer antibodi ND dan AI pada ayam kampung jantan sampai saat ini masih terbatas. Dengan demikian penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas ekstrak mimba terhadap titer antibodi terhadap virus ND dan AI pada ayam kampung jantan.

## 2. Materi dan Metode

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

### 2.1. Materi

Peralatan yang digunakan selama penelitian terdiri atas kandang bersekat kawat sebanyak 15 petak, sprayer dan fogger untuk keperluan desinfeksi, sekam sebagai litter, plastik terpal sebagai tirai, gas beserta area brooding, serta tempat pakan berupa *baby chick feeder* (BCF), tempat minum, timbangan analitik dan timbangan gantung, *thermohygrometer*, ember, gelas ukur, lampu bohlam 25 watt, alat kebersihan, *sput/disposable syringe* 3 ml, *cooler box*, tabung *Eppendorf*, *micromixer microplate* bentuk V, *micropipermultichannel*, gunting, dan pisau. Bahan yang digunakan yaitu 45 ekor DOC ayam kampung jantan yang

dipelihara selama 55 hari, ransum komersial BR-1 dari PT. Japfa Comfeed Indonesia Tbk, ransum HDBR1-161 dari PT. Haida Technology Indonesia, air minum *ad libitum*, ekstrak mimba (*Azadirachta indica*) konsentrasi 100 g/L dari PT. Medion Farma Jaya, vaksin ND *live*, IB *live*, IBD *live*, vaksin kombinasi ND-AI *kill* dari PT. Medion Farma Jaya, PBS pH 7,0–7,4, antisera AI dan ND, dan RBC 1%.

### 2.2. Metode

#### 2.2.1. Rancangan penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen yang terdiri atas 5 perlakuan dengan 3 ulangan. Setiap unit percobaan diisi oleh 3 ekor ayam KUB jantan.

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 /hari;
- P2: Air minum dengan 5 mg ekstrak mimba /kg bobot badan /hari;
- P3: Air minum dengan 10 mg ekstrak mimba /kg bobot badan /hari;
- P4: Air minum dengan 20 mg ekstrak mimba /kg bobot badan /hari.

#### 2.2.2. Prosedur penelitian

Pelaksanaan penelitian diawali dengan persiapan kandang yang dilakukan 1–2 minggu sebelum *chick in*, meliputi pembersihan kandang dan peralatan, penyiapan kandang brooding dan petak perlakuan, pemberian *litter* sekam, serta desinfeksi dan *fogging*. Pemeliharaan ayam kampung jantan dilakukan hingga umur 55 hari, diawali pemeliharaan DOC selama 14 hari di kandang *brooding*, kemudian dipindahkan ke kandang perlakuan, dengan pemberian pakan dan air minum secara *ad libitum* serta pemantauan bobot badan, suhu, dan kelembaban

secara rutin. Program vaksinasi diberikan secara seragam pada seluruh ayam, yaitu pada umur 1 hari menggunakan vaksin ND dan IB *live* melalui tetes mata, pada umur 14 hari diberikan vaksin ND dan AI *kill* melalui suntikan subkutan serta vaksin IBD *live* melalui cekok mulut, dan vaksin ulangan ND dan IB *live* diberikan kembali pada umur 34 hari melalui tetes mata. Ekstrak mimba diberikan mulai umur 15 hingga 55 hari berdasarkan dosis per kilogram bobot badan per hari, dengan volume pemberian yang ditentukan berdasarkan konsentrasi hasil pengenceran, serta didahului puasa air minum selama 1 jam sebelum pemberian. Sampel darah diambil pada umur 55 hari melalui *vena brachialis*, kemudian dianalisis di laboratorium untuk menentukan titer antibodi AI dan ND menggunakan metode HA dan HI.

#### 2.2.3. Peubah yang diamati

Peubah yang diamati dalam penelitian ini meliputi titer antibodi terhadap *Newcastle Disease* (ND) dan *Avian Influenza* (AI).

#### 2.2.4. Analisis data

Data yang diperoleh dari setiap perlakuan dan kontrol disajikan dalam bentuk tabel dan histogram, kemudian dianalisis secara deskriptif serta dibandingkan dengan nilai standar (Nazir, 2011).

### 3. Hasil dan Pembahasan

#### 3.1. Titer Antibodi *Newcastle Disease* pada Ayam Kampung Unggul Balitbangtan

Jantan yang Diberi Ekstrak Mimba Melalui Air Minum

Pengaruh pemberian ekstrak mimba (*Azadirachta indica*) terhadap rata-rata titer antibodi ND pada ayam kampung jantan disajikan pada Tabel 1 dan Grafik 4.

Tabel 1. Rataan titer antibodi ND pada ayam kampung jantan

| Ulangan   | Perlakuan |         |         |         |         |
|-----------|-----------|---------|---------|---------|---------|
|           | P0        | P1      | P2      | P3      | P4      |
| 1         | 74,67     | 448,00  | 810,67  | 43,33   | 704,00  |
| 2         | 117,33    | 138,67  | 128,00  | 373,33  | 74,67   |
| 3         | 128,00    | 789,33  | 117,33  | 128,00  | 213,33  |
| Rata-rata | 106,67□   | 458,67□ | 352,00□ | 181,55□ | 330,67□ |
| sd        | 28,22     | 325,46  | 101,07  | 171,39  | 330,67  |

Keterangan :

P0 : Air minum tanpa ekstrak mimba (kontrol);

P1 : Air minum dengan 2,5 mg ekstrak mimba /kg bobot badan /hari;

P2 : Air minum dengan 5 mg ekstrak mimba /kg bobot badan /hari;

P3 : Air minum dengan 10 mg ekstrak mimba /kg bobot badan /hari;

P4 : Air minum dengan 20 mg ekstrak mimba /kg bobot badan /hari.

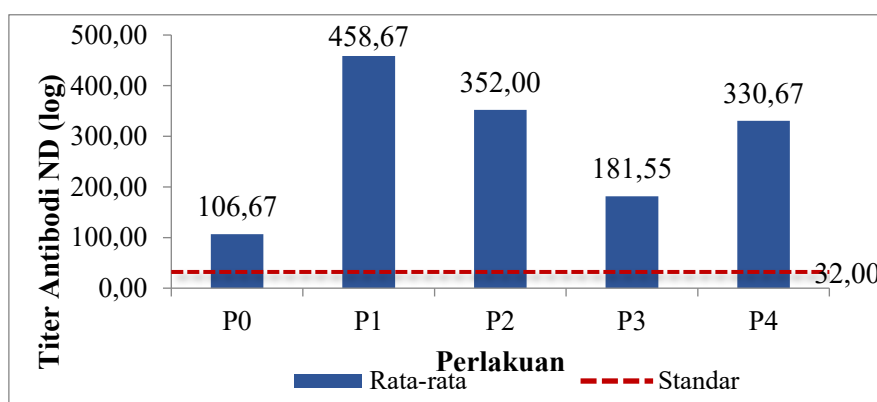
Berdasarkan Tabel 1, Pemberian ekstrak mimba dengan dosis 2,5 mg/kg bobot badan per hari mampu meningkatkan titer antibodi *Newcastle Disease* (ND) tertinggi pada ayam kampung jantan. Rataan titer antibodi pada ayam kampung jantan yang diberi perlakuan tersebut cenderung lebih

tinggi dibandingkan perlakuan P0, P2, P3, dan P4. Di sisi lain, nilai rata-rata titer antibodi ND pada seluruh kelompok perlakuan (P0–P4) telah berada di atas ambang protektif. Hal ini menandakan bahwa respons imun ayam terhadap vaksin ND tergolong baik pada semua perlakuan. Menurut OIE (2008), titer

antibodi terhadap ND dinyatakan protektif apabila nilai uji HI mencapai  $\geq \log_2^5$  atau setara dengan  $\geq 32$ .

Berdasarkan hasil penelitian, seluruh perlakuan mampu menghasilkan titer antibodi ND di atas ambang protektif, sesuai dengan laporan Da Costa *et al.* (2022) mengenai kisaran titer antibodi pascavaksinasi pada ayam kampung. Pemberian ekstrak daun

mimba juga terbukti mampu meningkatkan respons imun, sebagaimana dilaporkan oleh Elbasuni *et al.* (2023) bahwa suplementasi ekstrak mimba melalui air minum dapat menurunkan morbiditas dan mortalitas serta memperbaiki kondisi organ, sehingga infeksi lebih terkendali dan respons imun adaptif meningkat.



Gambar 1. Grafik rata-rata titer antibodi ND

Pemenuhan kebutuhan protein dalam ransum menjadi salah satu faktor penting yang mendukung tingginya titer antibodi pada seluruh perlakuan. Pakan fase *starter* dan *grower* mengandung protein kasar minimal 21%, yang telah melebihi standar kebutuhan ayam kampung sebesar 19% (SNI, 2022). Protein dan asam amino esensial berperan dalam sintesis imunoglobulin dan sel imun, sehingga berkontribusi terhadap peningkatan respons imun humoral (Alabi dan Adedokun, 2025). Kecukupan protein ini memungkinkan ayam, termasuk kelompok kontrol, tetap mampu menghasilkan titer antibodi yang bersifat protektif.

Tubuh ayam mencerna protein menjadi asam amino di saluran pencernaan, kemudian menyerap dan memanfaatkannya untuk sintesis protein, termasuk komponen sistem imun. Asam amino mendukung proliferasi dan diferensiasi limfosit B menjadi sel

plasma penghasil antibodi, sehingga meningkatkan titer antibodi (Kogut, 2017). Protein juga berperan dalam pembentukan enzim, hormon, dan sitokin yang mengatur respons imun melalui aktivasi dan komunikasi antar sel imun (Li *et al.*, 2020).

Program vaksinasi yang diberikan turut berperan dalam tingginya titer antibodi. Vaksinasi merangsang sistem imun melalui pembentukan respons imun primer yang menghasilkan antibodi dan sel memori, kemudian diperkuat oleh vaksinasi ulangan yang memicu respons imun sekunder yang lebih cepat dan kuat (Tizard, 2018; Abbas *et al.*, 2021). Pemberian vaksin hidup melalui rute tetes mata juga mampu menstimulasi imunitas mukosal dan meningkatkan produksi imunoglobulin (Al-Rasheed *et al.*, 2021), sehingga meningkatkan efektivitas perlindungan terhadap infeksi.

Perlakuan P1 menghasilkan titer antibodi ND tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya, sehingga pemberian ekstrak mimba dengan dosis 2,5 mg/kg bobot badan per hari cenderung memberikan respon terbaik dalam meningkatkan respons imun. Efektivitas ini diduga berkaitan dengan kandungan senyawa bioaktif seperti flavonoid, saponin, dan alkaloid dalam ekstrak mimba yang berperan sebagai imunomodulator. Flavonoid diketahui mampu meningkatkan aktivasi sel imun serta produksi sitokin (Hosseinzadeh, 2019), sedangkan saponin berperan dalam merangsang proliferasi limfosit dan meningkatkan pembentukan antibodi (Kwawukume *et al.*, 2013). Selain itu, alkaloid turut berkontribusi melalui mekanisme modulasi aktivitas sel imun dan peningkatan efektivitas respons humoral (Qin *et al.*, 2024; Yan *et al.*, 2021). Sinergi ketiga senyawa tersebut memungkinkan sistem imun bekerja lebih optimal dalam merespons antigen. Hasil ini sesuai dengan penelitian Elbasuni *et al.* (2023) dan Hegazy *et al.* (2023) yang melaporkan bahwa pemberian ekstrak mimba mampu meningkatkan titer antibodi pada unggas.

Perlakuan P2, P3, dan P4 menunjukkan penurunan titer antibodi meskipun dosis ekstrak mimba yang diberikan lebih tinggi dibandingkan P1. Kondisi ini mengindikasikan bahwa pemberian imunomodulator harus berada pada rentang dosis yang optimal, karena dosis yang berlebihan tidak selalu meningkatkan respons imun dan bahkan dapat menimbulkan efek immunosupresif. Pada konsentrasi tinggi, senyawa bioaktif seperti flavonoid dan alkaloid dapat menghambat proliferasi limfosit serta diferensiasi sel plasma, sehingga produksi antibodi menjadi menurun (Abbas *et al.*, 2018). Selain itu, dosis yang terlalu tinggi berpotensi memicu

stres fisiologis yang ditandai dengan peningkatan hormon kortikosteron, yang berperan dalam menekan sistem kekebalan tubuh (Kikiyani *et al.*, 2020). Oleh karena itu, dosis 2,5 mg/kg bobot badan per hari pada perlakuan P1 dapat dianggap sebagai dosis paling efektif karena mampu memberikan stimulasi imun yang optimal tanpa menimbulkan efek negatif terhadap sistem imun ayam kampung jantan.

### 3.2. Titer Antibodi *Avian Influenza* pada Ayam Kampung Unggul Balitbangtan Jantan yang Diberi Ekstrak Mimba Melalui Air Minum

Pengaruh pemberian ekstrak mimba (*Azadirachta indica*) terhadap rata-rata titer antibodi AI pada ayam kampung jantan disajikan pada Tabel 2 dan Grafik 2.

Berdasarkan Tabel 2, perlakuan P1 dengan dosis ekstrak mimba 2,5 mg/kg bobot badan per hari menghasilkan titer antibodi AI tertinggi pada ayam kampung jantan dibandingkan perlakuan lainnya. Seluruh perlakuan (P0, P1, P2, P3, dan P4) menunjukkan titer antibodi di atas ambang protektif, sehingga respons imun terhadap AI tergolong baik. Menurut OIE (2012), titer antibodi AI dinyatakan protektif apabila  $>\log_2^4$  atau  $>16$  melalui uji HI.

Data hasil penelitian menunjukkan bahwa titer antibodi AI dihasilkan pada seluruh perlakuan di atas ambang protektif, sesuai dengan laporan Habiah (2023) yang menyatakan kisaran titer antibodi AI berada pada level protektif. Pemberian ekstrak mimba juga terbukti mampu meningkatkan titer antibodi, sebagaimana dilaporkan oleh Hegazy *et al.* (2023) bahwa pemberian ekstrak mimba 8% melalui air minum sebelum dan setelah vaksinasi dapat meningkatkan respons imun serta

menekan replikasi virus. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi vaksinasi dan imunostimulan alami

efektif dalam meningkatkan perlindungan terhadap infeksi *Avian Influenza*.

Tabel 2. Rataan titer antibodi AI pada ayam kampung jantan

| Ulangan   | Perlakuan |        |       |       |       |
|-----------|-----------|--------|-------|-------|-------|
|           | P0        | P1     | P2    | P3    | P4    |
| 1         | 8,33      | 21,33  | 8,33  | 64,33 | 48,33 |
| 2         | 11,33     | 117,33 | 37,33 | 46,00 | 7,00  |
| 3         | 58,67     | 11,33  | 69,33 | 32,33 | 48,33 |
| Rata-rata | 26,11     | 50,00  | 38,33 | 47,55 | 34,55 |
| sd        | 28,24     | 58,53  | 30,51 | 16,06 | 23,86 |

Keterangan :

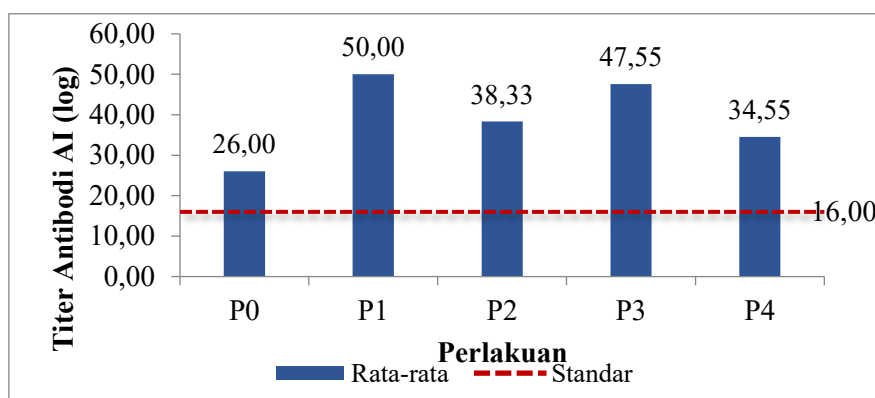
P0 : Air minum tanpa ekstrak mimba (kontrol);

P1 : Air minum dengan 2,5 mg ekstrak mimba /kg bobot badan /hari;

P2 : Air minum dengan 5 mg ekstrak mimba /kg bobot badan /hari;

P3 : Air minum dengan 10 mg ekstrak mimba /kg bobot badan /hari;

P4 : Air minum dengan 20 mg ekstrak mimba /kg bobot badan /hari.



Gambar 2. Grafik rata-rata titer antibodi AI

Pemenuhan kebutuhan protein dalam pakan menjadi faktor penting yang mendukung tingginya titer antibodi pada seluruh perlakuan. Kandungan protein kasar pakan sebesar minimal 21% pada fase *starter* dan *grower* telah melebihi standar kebutuhan ayam kampung sebesar 19% (SNI, 2022). Protein berperan dalam pembentukan sel imun, imunoglobulin, serta komponen penting lainnya dalam sistem kekebalan. Kecukupan protein juga mendukung perkembangan organ limfoid serta proliferasi dan diferensiasi limfosit, sehingga meningkatkan respons imun

humoral (Beski *et al.*, 2015; Kidd *et al.*, 2021).

Ayam pada perlakuan kontrol (P0) tetap menunjukkan titer antibodi protektif, yang mengindikasikan bahwa tanpa pemberian ekstrak mimba pun ayam mampu membentuk respons imun yang baik. Kondisi ini didukung oleh kualitas ransum dan manajemen pemeliharaan, termasuk program vaksinasi yang efektif. Vaksinasi berperan dalam merangsang sistem imun adaptif melalui pembentukan antibodi spesifik dan sel memori, sehingga respons imun terhadap antigen menjadi

lebih cepat dan kuat pada paparan berikutnya (Louis, 2024).

Perlakuan P1 menghasilkan titer antibodi AI tertinggi, yang menunjukkan bahwa dosis ekstrak mimba 2,5 mg/kg bobot badan per hari merupakan dosis optimal. Efektivitas ini dipengaruhi oleh kandungan senyawa bioaktif seperti flavonoid, saponin, dan alkaloid yang berperan sebagai imunomodulator. Flavonoid meningkatkan aktivitas dan diferensiasi limfosit serta produksi sitokin (Ishaq *et al.*, 2022), saponin berperan sebagai imunostimulan dan adjuvan alami yang meningkatkan interaksi antigen dengan sel imun (Chen, 2023), sedangkan alkaloid membantu menjaga kondisi fisiologis tubuh agar respons imun berlangsung optimal (Andersa *et al.*, 2024). Sinergi senyawa tersebut meningkatkan proliferasi limfosit dan produksi antibodi.

Perlakuan P2, P3, dan P4 menunjukkan penurunan titer antibodi meskipun dosis ekstrak mimba lebih tinggi. Kondisi ini menunjukkan bahwa pemberian imunomodulator harus berada pada dosis paling sesuai, karena dosis berlebih dapat menimbulkan efek immunosupresif. Senyawa bioaktif pada konsentrasi tinggi dapat menghambat proliferasi limfosit dan menurunkan kemampuan sel B dalam menghasilkan antibodi. Selain itu, saponin pada dosis tinggi berpotensi menyebabkan efek toksik seperti hemolisis akibat kerusakan membran sel (Shen *et al.*, 2023). Oleh karena itu, penentuan dosis yang tepat sangat penting agar ekstrak mimba dapat memberikan efek imunostimulan secara maksimal tanpa menimbulkan dampak negatif.

#### 4. Kesimpulan dan Saran

##### 4.1. Kesimpulan

Mengacu pada hasil penelitian yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa dosis 2,5 mg ekstrak mimba/kg

BB/hari pada perlakuan P1 cenderung menghasilkan titer antibodi ND dan AI yang lebih tinggi pada ayam kampung jantan.

##### 4.2. Saran

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

#### DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A. K., Lichman, A. H., & Pillai, S. (2018). *Cellular and Molecular Immunology* (9<sup>th</sup> ed.). Elsevier Health Sciences.
- Alabi, T., & Adedokun, S. (2025). Amino Acid Nutrition In Poultry. *Animals*, 15(22), 1-15.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Mubarak, A., Suprijatna, E., & Wahyuni, H. I. 2018. Performa Ayam Kampung pada Berbagai Sistem Pemeliharaan. *Jurnal Peternakan Indonesia*, 20(2), 123–130.
- 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.

- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Tizard, I. R. (2018). *Veterinary Immunology: An Introduction* (10<sup>th</sup> ed.). Saunders Elsevier.
- 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.
- 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.