

Teknik Deteksi Cemaran Avian Influenza Virus (AIV) Pada Daging Unggas Yang Diperdagangkan Di Pasar Tradisional Di Indonesia: Mini Review

Ni Made Wagi Ambakesari¹ dan Putu Angga Wiradana²

^{1,2}GruP Riset Biologi Kesehatan, Program Studi Biologi, Fakultas Kesehatan dan Sains, Universitas Dhyana Pura, Jl. Raya Padang Luwih Tegaljaya Dalung Kuta Utara, Bali, Indonesia

Email : 20121301019@undhirabali.ac.id

ABSTRAK

Penyakit flu burung (*Avian influenza/AI*) merupakan penyakit yang disebabkan oleh virus *Avian influenza* dari famili Orthomyxoviridae, yang bersifat zoonosis dan mempunyai material genetik berupa RNA berpolaritas negatif, dengan diameter 120 nm dan strukturnya berfilamen. Secara klinis, ungas yang telah terinfeksi virus *AI* menunjukkan gejala gangguan sistem neurologis seperti tortikolis, tremor, kesulitan berdiri, kehilangan keseimbangan, dan hingga kematian ungas. *Polymerase Chain Reaction (PCR)* merupakan salah satu metode enzimatis untuk melipatgandakan (*amplification*) secara eksponensial suatu sekuen nukleotida tertentu secara *in vitro*. Teknik PCR sangat umum digunakan dalam deteksi keberadaan virus *AI* secara dini dan waktu yang relatif singkat. Namun, masih terdapat teknik lainnya yang dikembangkan untuk mempermudah pelacakan virus ini terutama pada lingkungan pasar tradisional yang masih terbatas dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui metode deteksi virus flu burung beserta subtipenya pada daging ungas yang dijual di pasar tradisional di Indonesia. Telaah singkat ini akan mengungkapkan penelitian-penelitian terkait mengenai sebaran virus flu burung dan metode deteksi yang digunakan terutama pada daging ungas yang telah dijual di pasar tradisional. Pengumpulan data diakses pada *Google Scholar*, *PubMed*, *Scopus*, *Web of Science (WoS)*, dan Lembaga pengindeks nasional/internasional lainnya yang diterbitkan dalam kurun waktu 10 tahun terakhir. Telaah singkat ini sangat penting dilakukan untuk memberikan informasi yang komprehensif mengenai teknik yang umum digunakan dalam upaya deteksi penyebaran virus *AI*, terutama pada daging ungas yang dijual di pasar tradisional serta meningkatkan kewaspadaan melalui deteksi dini terhadap penyebaran virus *AI* di masa mendatang.

Kata Kunci: Ungas; Virus Avian Influenza, Hemaglutinasi, *Polymerase Chain Reaction (PCR)*.

1. Pendahuluan

Penyakit flu burung (*Avian influenza*) merupakan penyakit yang disebabkan oleh virus *Avian influenza* subtipen H5N1 dari famili Orthomyxoviridae, yang bersifat zoonosis dan mempunyai material genetik berupa RNA berpolaritas negatif, dengan diameter 120 nm dan strukturnya berfilamen (OIE, 2021). Penyakit ini termasuk kelompok penyakit menular strategis di Indonesia (Kencana *et al.*, 2014). Virus *Avian influenza* dilaporkan pertama kali pada tahun 1878 oleh Perrocinto di Italia (WHO, 2016). Wabah *Avian influenza* di Asia mulai merebak sekitar tahun 90-an di Hongkong yang selanjutnya menyebar ke beberapa Negara yaitu Muangthai, Malaysia, Tiongkok, Kamboja, Jepang, Vietnam dan Indonesia (OIE, 2021). Menurut Roche *et al.* (2014) Bali merupakan daerah endemik Virus *Avian influenza*. Virus *Avian influenza* memberikan dampak yang cukup luas pada sektor peternakan karena tingkat mortalitas maupun morbiditas yang tinggi (Ilham and Yusdja, 2010; Kurniawan *et al.*, 2022). Pola kasus virus *Avian influenza* biasanya meningkat pada

musim hujan dan masih menjadi ancaman peternakan unggas di Indonesia sampai saat ini (Hewajuli *et al.*, 2018).

Virus *Avian influenza* mulai mewabah di Indonesia pada tahun 2003 (Martinez *et al.*, 2021). Virus AI dapat menginfeksi hewan peliharaan dan unggas di Bali (Mahardika *et al.*, 2018). Secara klinis unggas yang terinfeksi virus *Avian influenza* menunjukkan gejala saraf seperti tortikolis, tremor, kesulitan berdiri, kehilangan keseimbangan, dan pada kasus parah disertai kematian (Martinez *et al.*, 2021; Wibawa *et al.*, 2012).

Berdasarkan patogenisitasnya, Virus *Avian influenza* dibedakan menjadi *highly pathogenic avian influenza* (HPAI) menyebabkan morbiditas dan mortalitas yang tinggi dan sering menimbulkan wabah dan *Low Pathogenic Avian Influenza* (LPAI) menyebabkan gejala ringan atau tidak memiliki gejala pada unggas yang terinfeksi (Isnawati *et al.*, 2019). Virus flu burung, khususnya kelompok *Highly Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) hingga kini masih mengancam industri perunggasan, kesehatan manusia, dan sejumlah spesies burung liar. Virus HPAI telah mewabah pada unggas hampir di seluruh belahan dunia pada tahun 1959 (Frisa and Elfidasari, 2018). Sejak kasus emergensi HPAI pada unggas di Cina tahun 1996, virus ini terus menimbulkan wabah pada usaha perunggasan. Wabah ini diduga kuat menyebabkan infeksi *Avian influenza* (AI) pertama pada manusia dan menularkan virus ke burung liar (Ungsyani *et al.*, 2021). Sehingga review ini penting dilakukan untuk mendeteksi keberadaan virus *Avian Influenza* pada unggas melalui Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) atau reaksi berantai polimerase adalah metode enzimatis untuk melipatgandakan (*amplification*) secara eksponensial suatu sekuen nukleotida tertentu secara *in vitro* (Kurniawati *et al.*, 2019). Metode ini dapat diperoleh pelipatgandaan suatu sekuen DNA dalam genom virus yang mana hanya dengan mencampurkan kulturnya di dalam tabung *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Kurniawati *et al.*, 2019). Prinsip dari *Real-Time PCR* adalah RNA virus disintesis menjadi *complementary DNA* (cDNA) dengan menggunakan enzim *reverse transcriptase*. *Complementary DNA* digunakan sebagai template untuk PCR yang akan menghasilkan *double strand DNA* (dsDNA) yang dihasilkan melalui siklus denaturasi, annealing dan ekstensi yang didukung dengan adanya primer forward, primer reverse spesifik dan *thermal stable Taq Polymerase*. (Suryanaga *et al.*, 2018).

Real-Time PCR adalah teknik yang digunakan untuk memonitor progress reaksi PCR pada waktu yang sama (Kurniawati *et al.*, 2019). *Real-Time PCR* juga dikenal sebagai *quantitative PCR* (qPCR). Jumlah produk PCR (DNA, cDNA atau RNA) yang relatif sedikit, dapat dihitung secara kuantitatif (Buski, 2018). *Real-Time PCR* dilakukan secara *real time* menggunakan enzim *Reverse Transcriptase* secara langsung pada waktu yang bersamaan. *Real-Time PCR* memiliki tambahan siklus *Reverse Transcription* yang memacu perubahan molekul DNA dari molekul RNA. *Real-Time PCR* diperlukan karena RNA kurang stabil dibandingkan dengan DNA (Kurniawati *et al.*, 2019).

Beberapa referensi yang berhubungan dengan deteksi virus *Avian Influenza* pada unggas dengan metode *Real-Time PCR* menyebutkan bahwa virus flu burung pada unggas mampu memberikan penularan ke manusia yang melakukan kontak dengan unggas yang telah terinfeksi sebelumnya hingga melalui lingkungan pemeliharaan serta virus *Avian Influenza* memiliki masa inkubasi yang relatif lama di lingkungan

termasuk pada daging ayam yang telah di jual dipasar sehingga perlu dikaji lebih lanjut mengenai unggas yang dikomersilkan menggunakan *Real-Time PCR* terhadap keberadaan virus *Avian Influenza* di lingkungan pasar tradisional. Diharapkan dari penjelasan dalam review ini, dapat memberikan diferensiasi dalam bentuk literatur khususnya pada bidang biologi molekuler serta meningkatkan kegiatan monitoring terhadap unggas yang dikomersilkan menggunakan *Real-Time PCR* terhadap keberadaan virus *Avian Influenza* di lingkungan pasar tradisional.

2. Metode

Metode yang digunakan adalah *narrative literature review* dengan cara meninjau jurnal-jurnal ilmiah terkait yang berasal dari Lembaga pengindeks Google Scholar, Scopus, Pubmed, Web of Science (WoS) yang diterbitkan dalam kurun waktu 10 tahun terakhir.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Avian Influenza Virus (AIV)

3.1.1 Subtipe

Secara taksonomi, virus *Avian influenza* memiliki delapan genus yaitu Influenza tipe A, B, C, D, Isavirus, Thogotovirus, Quaranfilvirus dan Wellfleet Bay (Allison *et al.*, 2015; Collin *et al.*, 2015). Influenza A diklasifikasikan menjadi beberapa subtipe berdasarkan pada kombinasi glikoprotein permukaan yaitu hemagglutinin (HA/H) dan neuraminidase (NA/N). Saat ini terdapat 18 jenis hemagglutinin (H1-18) dan 11 jenis neuraminidase (N1-11) yang telah teridentifikasi (Tong *et al.*, 2013). Subtipe H1-H16 mempunyai induk semang utama pada unggas sedangkan sebaran induk semang pada mamalia sangat terbatas (Suarez, 2016). Virus influenza tipe A dapat ditularkan dari reservoir ke unggas lain dan mamalia termasuk manusia yang dapat menyebabkan wabah penyakit sangat parah atau mematikan (Martinez *et al.*, 2021).

3.1.2 Epidemiologi Umum

Penularan VAI dapat terjadi secara langsung dengan adanya kontak antara unggas yang peka dengan unggas yang terinfeksi virus AI melalui pernafasan (kontak dekat) serta secara tidak langsung dapat terjadi secara oral melalui pakan dan air minum yang tercemar oleh virus tersebut, (Soejoedono and Handharyani, 2005; Helmi *et al.*, 2015)

3.1.3 Epidemiologi Khusus di Pasar Tradisional

Penyebaran VAI oleh unggas di pasar tradisional dapat melalui jalur lalu lintas perdagangan unggas, pola pemeliharaan unggas secara ekstensif yang tidak dikandangkan, digembalaan di area persawahan pascapanen, serta kebiasaan menggunakan kembali peralatan pemotongan yang tercemar dengan feses, darah dan sisa pakan yang tidak dibersihkan dan tidak didisinfeksi terlebih dahulu, sehingga dapat mengakibatkan terjadinya penularan penyakit pada unggas yang sehat. (Suartha *et al.*, 2010; Helmi *et al.*, 2015)

3.2 Gejala-gejala klinis

Gejala-gejala klinis unggas yang terinfeksi virus *Avian Influenza* berupa jengger, pial, serta kulit perut yang tidak ditumbuhi bulu berwarna biru keunguan (sianosis), terdapat cairan dari mata dan hidung, pembengkakan di daerah bagian muka dan kepala, pendarahan di bawah kulit (sub kutan), Pendarahan titik (ptechie) pada daerah dada, kaki dan telapak kaki serta unggas mengalami diare

dan kematian tinggi (Pertanian, 2014).

3.3 Metode deteksi AIV di Pasar Tradisional di Beberapa Wilayah di Indonesia

Hasil dari deteksi virus *Avian influenza* menggunakan *Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) terhadap daging unggas yang diperdagangkan di pasar tradisional terbanyak berupa virus *Avian influenza* subtipenya H5N1.

Tabel 1. Deteksi Virus Avian Influenza dan Subtipenya Pada Daging Uggas di Pasar Tradisional

No	Jenis unggas	Metode Deteksi	Subtipenya Virus	Lokasi Penelitian	Referensi
1	Itik	Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)	H5N1	Jawa Tengah, Jawa Timur, Jawa Barat, Banten	(Hewajuli et al.,2017)
2	Itik	Reverese Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)	H5N1	Pasar Beringkit dan Pasar Umum Galiran, Bali	(Martinez et al.,2021)
3	Ayam kampung	Reverese Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)	H5N1	Kabupaten Tabanan	(Kencana et al.,2021)
4	Itik	Reverese Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)	H5N1	Pasar Lambaro, Aceh	(Helmi et al., 2015)
5	Ayam pedaging	Reverese Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)	H5N1	Pasar Lambaro, Aceh	(Helmi et al., 2015)
6	Itik	Reverese Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)	H5N1	Provinsi Jawa Tengah, Jawa Timur, DI Yogyakarta	(Wibawa et al.,2012)
7	Itik	Reverese	H5N1	Pasar Hewan	(Ungsyani)

		Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)		Beringkit dan Pasar Umum Galiran, Bali	et al.,2021)
8	Ayam kampung	Reverese Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)	H5N1	Pasar Hewan Beringkit dan Pasar Umum Galiran, Bali	(Musdalifa et al.,2020)

Tabel 1 menunjukkan bahwa terdeteksinya keberadaan virus *Avian Influenza* pada pasar tradisional di Indonesia dengan masih adanya sirkulasi virus *Avian Influenza* khususnya subtipenya H5N1. Identifikasi virus *Avian Influenza* menggunakan RT-PCR sangat penting dilakukan untuk mengetahui adanya mutasi genetik erutama yang dapat menyebabkan epidemi tahunan atau bahkan pandemi (Shao et al., 2017). Selain itu, dampak mutasi virus *Avian Influenza* dapat menimbulkan kerugian ekonomi karena tingginya angka morbiditas dan mortalitas baik pada unggas maupun manusia (El-Shesheny et al.,2014).

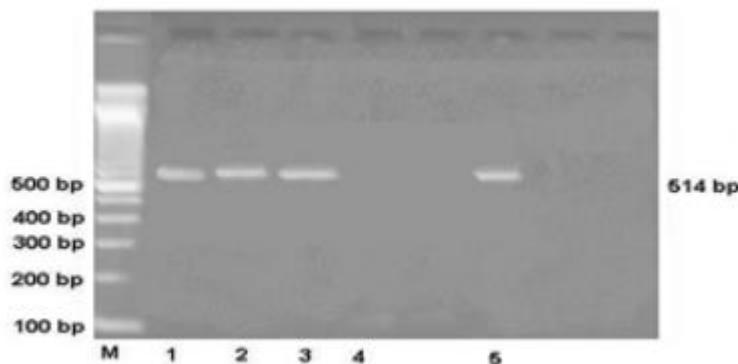
Tabel 2. Hasil Pengujian RT-PCR Sampel Swab Kloaka dan Trakea Terhadap Virus Avian Influenza

Sample origin	Number of samples	AI-H5N1 (+)	AI-H9N2 (+)
District	Penebel	240	3
	Kediri	270	2
	Marga	288	5
	Tabanan	144	1
	Baturiti	288	0
	Kerambitan	168	0
Total	1.398	11	0

Pada penelitian yang dilakukan oleh Kencana et al. (2021) sampel diambil secara acak pada 6 titik lokasi sampling yaitu Kediri, Penebel, Baturiti, Marga, Kerambitan dan Tabanan. Sampel berasal dari serum, swab kloaka dan trachea ayam yang belum tervaksinasi AI. Antigen yang digunakan pada penelitian ini berasal dari Pusvetma Surabaya. Metode deteksi menggunakan Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) dengan urutan Primer yang digunakan adalah H5-1B: 5'GCCATTCCACAAACATACACCC-3', H5-3B: 5'-CTCCCCCTGCTCATTGCTATG-3', N1Fwd:5'-TAGACTGCATGAGGCCTTGCTTCTG-3', dan N1-Rev: 5'-CACCGTCTGGCCAAGACCAACCTA-3' berdasarkan hasil penelitian menggunakan RT-PCR didapatkan hasil berupa 11 sampel positif virus AI subtipen H5N1 di empat kecamatan dan 1 sampel positif di Kabupaten Tabanan. Hal ini menunjukkan bahwa virus Avian influenza subtipen H5N1 masih beredar di peternakan dan pasar tradisional kabupaten Tabanan.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Helmi et al. (2015) sampel diambil di 4 pasar tradisional yang berada di kabupaten Aceh Besar dan kota Banda Aceh di Provinsi Aceh yaitu pasar Lambaro, Ketapang, Ulekareng, dan Peunayong. Sampel diambil secara acak dari 50% jumlah pedagang di masing-masing pasar. Sampel

yang diambil berupa swab trakea dari ayam, itik, entok hidup, kandang penampungan, swab meja pemotongan, dan swab yang berasal dari karkas yang berjumlah 37 sampel. Sampel kemudian di pooling berdasarkan pedagang, dan jenis unggas. Metode deteksi menggunakan *Reverese Transcriptase Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) Primer yang digunakan adalah primer yang spesifik terhadap gen Matriks (M), H5 dan N1. Primer yang digunakan adalah H5 : F-H5-AI dan R-H5-AI (545 bp) (Lee et al., 2001) dan primer matrik: Fmatrik- AI; R-Matrik AI (220 bp) (AAHL, 2004)



Gambar 1. Hasil elektroforesis gen N1 pada 514 bp. M. Marker, 1. Sampel swab trachea itik asal Lambaro, 2. Sampel swab trachea itik asal Lambaro, 3. Sampel swab trachea broiler asal Lambaro, 4. Kontrol Negatif, 5. Kontrol Positif

Hasil gambar tersebut dapat diketahui bahwa 7 sampel swab positif virus AI. Hal ini membuktikan bahwa virus *Avian Influenza* yang bersirkulasi di Kabupaten Aceh Besar saat ini adalah virus AI tipe A sub tipe H5N1. Hasil dari penelitian sesuai dengan laporan penelitian sebelumnya, bahwa semua virus AI yang mewabah dari tahun 2006-2008 di Provinsi Aceh termasuk ke dalam subtipe H5N1 (Helmi, 2014).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Musdalifa *et al.* (2020) sampel diambil di 2 pasar tradisional yang berada di kabupaten Badung dan Klungkung yaitu pasar Hewan Beringkit dan Pasar Umum Galiran. Sampel diambil secara terencana dengan pertimbangan tertentu yaitu ayam kampung umur tiga bulan dan tidak divaksinasi Avian Influenza di masing-masing pasar. Sampel yang diambil berjumlah 120 sampel berupa swab kloaka dan trachea dari ayam kampung dengan jumlah masing-masing 60 sampel di tiap pasar. Metode deteksi menggunakan *Reverese Transcriptase Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) Primer yang digunakan adalah (Primer: 5'-AGATGAGYCTCCTAACCGAGGTCG dan Probe: Probe Influenza/ 6158014- 1/C6), H5 (Primer H5 Fwd 5'-TTGGTTACCATGCAAACAYT-3', Primer H5 Rev 5'- TRCTTGGGCRTGTGTAACA-3' dan Probe H5: 5'-FAMCAGGTTGACACAATAATGGAAAAGBHQ3-3') (Tan *et al.*, 2010) serta N1 (Primer NIF2 : GTTGAGTCTGTTGCTTGGTC, Primer NIR1: TGATAGTGTCTGTTATTATGCC, Probe N1: TTGTATTCAATACAGCCAC) (Payungporn *et al.*, 2006). Berdasarkan hasil penelitian menggunakan RT-PCR didapatkan hasil berupa virus *Avian Influenza* terdeteksi pada ayam kampung di Pasar Hewan Beringkit sebanyak 5% dan Pasar Umum Galiran, Bali sebanyak 6,7% sehingga virus AI masih bersirkulasi pada daerah asal peternakan dan penyakit AI masih mewabah di Bali.

3.4 Rekomendasi

4. Simpulan dan Saran

4.1 Simpulan

Berdasarkan hasil mini review ini maka dapat disimpulkan bahwa virus *Avian Influenza* khususnya subtipe H5N1 masih bersirkulasi pada pasar-pasar tradisional di Indonesia yang dibuktikan dengan hasil uji swab kloaka dan trachea unggas yang menunjukkan hasil positif virus *Avian Influenza* subtipe H5N1 sehingga penyakit flu burung masih menjadi wabah di Indonesia.

4.2 Saran

Tingginya permintaan pasar dan mobilitas masyarakat untuk membeli dan menjual unggas sedangkan virus *Avian Influenza* ini bersifat zoonosis yang dapat ditularkan ke manusia, hendaknya dilakukan surveilans dan monitoring secara berkala pada perdagangan unggas hidup maupun dagingnya untuk mendeteksi penyebaran virus *Avian Influenza* di pasar hewan maupun di peternakan yang terdapat di Indonesia khususnya Provinsi Bali. Sehingga perlu adanya tindakan vaksinasi virus *Avian Influenza* dan meningkatkan *biosecurity* pada unggas di pasar maupun di peternakan di Indonesia.

5. Daftar Rujukan

- Allison, A.B., Ballard, J.R., Tesh, R.B., Brown, J.D., Ruder, M.G., Keel, M.K., Munk, B.A., Mickley, R.M., Gibbs, S.E.J., Travassos da Rosa, A.P.A., Ellis, J.C., Ip, H.S., Shearn-Bochsler, V.I., Rogers, M.B., Ghedin, E., Holmes, E.C., Parrish, C.R., Dwyer, C., 2015. Cyclic Avian Mass Mortality in the Northeastern United States Is Associated with a Novel Orthomyxovirus. *J. Virol.* 89, 1389–1403.
- Collin, E.A., Sheng, Z., Lang, Y., Ma, W., Hause, B.M., Li, F., 2015. Cocirculation of Two Distinct Genetic and Antigenic Lineages of Proposed Influenza D Virus in Cattle. *J. Virol.* 89, 1036–1042.
- El-Shesheny, R., Kandeil, A., Bagato, O., Maatouq, A.M., Moatasim, Y., Rubrum, A., Song, M.S., Webby, R.J., Ali, M.A. and Kayali, G., 2014. Molecular characterization of avian influenza H5N1
- Frisa, A., Elfidasari, D., 2018. Seroprevalensi Virus Avian Influenza SubTipe H5N1 Pada Unggas Domestik Peliharaan Masyarakat di Kawasan Cagar Alam Pulau Dua Serang Provinsi Banten. *J. AI-AZHAR Indones. SERI SAINS DAN TEKNOLOGI*. 4, 74.
- Hewajuli, D.A., Dharmayanti, N.L.P.I., Wibawan, I.W.T., 2018. Deteksi, Isolasi, dan Identifikasi Avian influenza Subtipe H5N1 pada Uggas di Pulau Jawa, Indonesia Tahun 2016 (Detection, Isolation and Identification of H5N1 Subtype Avian Influenza in Poultry in Java Island, Indonesia, 2016). *j. vet.* 18, 496.
- Helmi, T.Z., Yulisma, R., Panjaitan, B., Tabbu, C.R. and Haryanto, A., 2015. Deteksi dan Identifikasi Cemaran Virus Avian Influenza Pada Pasar Tradisional di Kabupaten Aceh Besar dan Kota Banda Aceh. *Jurnal Sain Veteriner*, 33(2).
- Ilham, N., Yusdja, Y., 2010. Dampak Flu Burung Terhadap Produksi Uggas Pendapatan Peternak Skala Kecil Di Indonesia The Impact of AI on Poultry Production and the Contribution of Poultry Business on Small-Scale Farmer's

- Income in Indonesia. J. Agro Ekon. 28, 39–68.
- Isnawati, R., Wuryastuti, H., Wasito, R., 2019. Peneguhan Diagnosis Avian Influenza pada Ayam Petelur yang Mengalami Gejala Penurunan Produksi. J. Sain vet. 37, 1.
- Kencana, G.A.Y., Suartha, I.N., Nurhandayani, A., Ramadhan, M., 2014. Kepekaan Telur Spesific Pathogen Free dan Clean Egg Terhadap Virus Flu Burung. J. Vet. 15, 87–93.
- Kencana, G.A.Y., Suartha, I.N., Kardena, I.M. and Agustina, K.K., 2021. Seroprevalence and detection of H5N1 avian influenza virus in local chickens in Tabanan Regency, Bali, Indonesia. *Acta VETERINARIA Indonesiana*, 9(3), pp.223-229.
- Kurniawan, F.R., Arsana, I.N., Adiputra, I.G.K., 2022. Titer Hemagglutinasi dan Kematian Embrio pada Telur Spesific Antibody Negative (SAN) dengan Usia yang Berbeda Saat Inokulasi Virus Avian Influenza. J. Peternak. 19, 49.
- Kurniawati, M.D., Sumaryam, S., Hayati, N., 2019. Aplikasi Polymerase Chain Reaction (Pcr) Konvensional Dan Real Time- Pcr Untuk Deteksi Virus VNN (Viral Nervous Necrosis) Pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). Techno-Fish 3, 19–30.
- Mahardika, G.N., Adi, A.A.A.M., Besung, N.K., Dharmawan, N.S., Kencana, G.A.Y., Rompis, A.L.T., Sampurna, P., Setiasih, L.E., Suardana, W., Suardana, I.B.K., Suarjana, G.K., Suartha, N., Suartini, G.A.A., Suwiti, N.K., Utama, I.H., 2018. Surveillance of avian influenza virus of H5N1 subtype in backyard animals and its introduction in Bali, Indonesia. Pak. Vet. J. 38, 7–12.
- Martinez, N.W.I., Kencana, G.A.Y., Dibia, I.N., 2021. Deteksi Virus Avian Influenza Subtipe H5N1 pada Itik di Pasar Hewan Beringkit dan Pasar Galiran, Bali. J. Vet. 22, 442–449.
- OIE, 2021. OIE updates on Avian Influenza - 2021.
- Suarez, D.L., 2016. Common Aspects of Animal Influenza 1 Influenza A virus. Anim. Influ. 1–29.
- Suryanaga, U., Soejoedono, R.D., Mayasari, N.L.P.I., 2018. Perbandingan Dua Desinfektan Dalam Mengeliminasi Virus Avian Influenza H5N1 pada Telur Tetas. J. Sain Vet. 36, 66.
- Shao, W., Li, X., Goraya, M.U., Wang, S. and Chen, J.L., 2017. Evolution of Influenza a Virus by Mutation and Re-assortment. *International journal of molecular sciences*, 18(8), p.1650.
- Tong, S., Zhu, X., Li, Y., Shi, M., Zhang, J., Bourgeois, M., Yang, H., Chen, X., Recuenco, S., Gomez, J., Chen, L.M., Johnson, A., Tao, Y., Dreyfus, C., Yu, W., McBride, R., Carney, P.J., Gilbert, A.T., Chang, J., Guo, Z., Davis, C.T., Paulson, J.C., Stevens, J., Rupprecht, C.E., Holmes, E.C., Wilson, I.A., Donis, R.O., 2013. New World Bats Harbor Diverse Influenza A Viruses. *PLoS Pathog.* 9.
- Ungsyani, D.S., Kencana, G.A.Y., Tenaya, I.W.M., 2021. Seroprevalensi Flu Burung Subtipe H5N1 pada Itik Bali di Pasar Hewan Beringkit dan Pasar Umum Galiran, di Bali. J. Vet. Maret 22, 86–92.
- Wibawa, H., Prijono, W.B., Dharmayanti, N., 2012. Investigasi Wabah Penyakit Pada Itik di Jawa Tengah, Yogyakarta dan Jawa Timur: Identifikasi Sebuah Clade Baru Virus Avian Influenza subtipe H5N1 di Veteriner. Balai Besar 2–9.