

## Identifikasi Avian Influenza Subtipe H5N1 Asal Itik Pasar Hewan Bali secara Serologi dan Molekuler

<sup>1</sup>Derisna Sawitri Ungsyani, <sup>\*2</sup>Gusti Ayu Yuniati Kencana, <sup>1</sup>Ni Wayan Intan Martinez, <sup>2</sup>I Wayan Masa Tenaya, <sup>2</sup>I Nyoman Suartha

<sup>1</sup>Mahasiswa Program Magister Kedokteran Hewan, Universitas Udayana

<sup>2</sup>Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana

Kota Denpasar, Bali

\*Penulis koresponden: yuniati\_kencana@unud.ac.id

**Abstrak.** Avian Influenza merupakan penyakit zoonosis disebabkan oleh virus Avian Influenza (AI) subtipe H5N1, yang mengancam industri perunggasan, kesehatan manusia, dan sejumlah spesies burung liar. Itik adalah unggas air yang merupakan inang alami virus AI. Pasar hewan berperan penting dalam penyebaran virus AI dari unggas ke unggas, serta dari unggas ke manusia. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui keberadaan virus AI pada itik di Pasar Hewan. Sampel penelitian diambil dari Pasar Hewan Beringkit dan Pasar Galiran, Bali. Identifikasi virus dilakukan secara serologi dan molekuler. Sebanyak 120 sampel serum, swab kloaka dan trakea itik diambil untuk sampel penelitian. Sampel itik diambil dari itik yang tidak divaksinasi dan berumur lebih dari 3 bulan. Isolasi virus dilakukan pada telur ayam bertunas (TAB) berumur sembilan hari. Carian allantois dipanen dan dilanjutkan dengan diuji serologis hemaglutinasi (HA/HI) dan uji *Reverse Transkriptase Polymerase Chain Reaction*. Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan seroprevalensi AI subtipe H5N1 di Pasar Hewan Beringkit sebesar 20,0%, sedangkan di Pasar Hewan Galiran sebesar 23,3 %. Uji RT-PCR menunjukkan masing-masing satu sampel positif virus AI subtipe H5N1 dari setiap pasar dengan proporsi positif di kedua pasar sebesar 1,7% (2/120). Data ini mengindikasikan bahwa virus AI subtipe H5N1 masih bersirkulasi di Pasar Hewan Beringkit dan Galiran. Surveilans, monitoring dan tindakan vaksinasi secara berkala perlu dilakukan untuk mencegah penyebaran penyakit AI H5N1 di pasar hewan.

**Kata Kunci.** Avian influenza H5N1, Itik, Pasar Hewan RT-PCR, Seroprevalensi.

### I. PENDAHULUAN

Avian Influenza (AI) merupakan salah satu penyakit bersifat zoonosis pada unggas dan manusia yang dapat mengakibatkan kerugian yang tinggi [1]. Wabah AI di Asia dimulai sekitar tahun 90-an di Hongkong yang selanjutnya menyebar ke beberapa negara yaitu Muangthai, Malaysia, Tiongkok, Kamboja, Jepang, Vietnam [2], hingga menjadi wabah di Indonesia pada tahun 2003 [3]. Hampir di seluruh wilayah Indonesia kecuali Maluku bersirkulasi virus AI subtipe H5N1, sedangkan Bali merupakan daerah endemik AI [4]. Virus Avian influenza (AI), khususnya kelompok *Highly Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) hingga kini masih mengancam industri perunggasan, kesehatan manusia, dan sejumlah spesies burung liar. Sejak kasus emergensi HPAI subtipe H5N1 pada unggas di Cina tahun 1996, virus ini terus menimbulkan wabah pada usaha perunggasan. Wabah ini diduga kuat menyebabkan infeksi AI subtipe H5N1 pertama pada manusia dan menularkan virus ke burung liar.

Reservoir alami dan inang virus influenza A adalah unggas air terutama *Anseriformes* (itik, entok dan angsa) yang keberadaannya tersebar di dunia [5]. Virus AI subtipe H5N1 ditemukan dapat menginfeksi hewan peliharaan dan unggas di Bali dengan seroprevalensi lebih tinggi pada itik dan unggas air dibandingkan ayam kampung [6]. Penyebaran virus AI oleh unggas air terjadi secara cepat dan meluas melalui jalur lalu lintas perdagangan unggas, pola pemeliharaan itik secara ekstensif yang tidak dikandangkan dan digembalakan di area persawahan pascapanen, dan pasar unggas tradisional berkontribusi tinggi dalam penyebaran virus AI [7]. Pasar hewan memiliki peran penting dalam perbanyakannya dan penyebaran virus AI dari unggas ke unggas serta ke manusia [8].

Pasar Hewan Beringkit di Kabupaten Badung dan Pasar Galiran di Kabupaten Klungkung Bali, merupakan dua pasar terbesar di Bali. Lebih dari 42% pedagang menjual itik di Pasar Hewan Beringkit [7]. Pasar Hewan Beringkit mendapat suplai unggas dari Kabupaten Badung, Bangli, Buleleng, Denpasar, Gianyar, Jembrana, Klungkung, Karangasem dan Tabanan. Selain itu, Pasar Hewan Beringkit bisa dijadikan pasar indeks untuk pemantauan AI di seluruh Bali [9]. Hasil surveilans oleh [10] menyebutkan bahwa seroprevalensi AI pada itik di Pasar Hewan Beringkit sebesar 90,5%, sedangkan menurut [11] seroprevalensi AI di Pasar Hewan Galiran sebesar 76,2%. Berdasarkan laporan tahunan Balai Besar Veteriner (BBVet) tahun 2017 proporsi positif terhadap virus AI pada itik di Provinsi

Bali 6,6% dari 890 sampel. Tujuan penelitian ini adalah untuk identifikasi sirkulasi virus AI secara serologi dan molekuler pada itik di Pasar Hewan Beringkit dan Pasar Galiran, Bali.

## II. METODE DAN PROSEDUR

Penelitian ini menggunakan 120 sampel serum dan 120 sampel swab trakea dan kloaka itik. Sampel yang diambil berasal dari pedagang di Pasar Hewan Beringkit dan Pasar Galiran, Bali. Pengambilan sampel dilakukan sebanyak empat kali dengan interval waktu dua minggu, selama 3 bulan mulai Desember 2019 sampai Februari 2020. Sampel swab itik di setiap pasar diambil secara acak (*simple random sampling*). Sampel itik yang digunakan berumur di atas tiga bulan (90 hari) serta tidak divaksinasi.

### Koleksi sampel

Sampel darah diambil melalui vena brachialis sebanyak 0,5-1 ml menggunakan *disposable* spuit. Kemudian sampel darah dibuat serum sesuai panduan OIE [2]. Sampel swab kloaka dan trakea itik dikoleksi dengan menggunakan cotton swab steril, kemudian dimasukkan ke dalam tabung mikro yang telah berisi transport medium. Sampel swab kloaka dan trakea digabung (*pooling*) berdasarkan pedagang itik. Selanjutnya sampel swab trakea dan kloaka diisolasi pada telur ayam berembrio (TAB) berumur sembilan hari dan diinkubasikan selama empat hari. Cairan allantois ditampung dalam tabung steril untuk diuji antigennya.

### Uji Serologi Hemaglutinasi / Hambatan Hemaglutinasi (HA/HI)

Sampel yang digunakan untuk uji HA/HI dari 1) serum itik dan 2) antigen yang berasal dari cairan allantois telur ayam bertunas (TAB) diencerkan dengan Phospat Buffer Saline (PBS) dengan pengenceran seri kelipatan dua. Uji Hemaglutinasi (HA) digunakan teknik mikrotiter. Metode pengerjaannya, sesuai prosedur dari Laboratorium Virologi BB-Vet Denpasar hingga menghasilkan 4 Hemagglutinin Unit (4HAU) untuk digunakan pada uji HI. Uji Hambatan Hemaglutinasi (HI) dengan teknik mikrotiter sesuai prosedur OIE [2], untuk titer antibodi HI ditentukan dari pengenceran serum tertinggi yang masih mampu menghambat aglutinasi eritrosit 1%. Terjadinya hambatan hemaglutinasi menunjukkan adanya virus AI subtype H5.

### Uji Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

*Ekstraksi RNA.* Uji RT-PCR dilakukan untuk sampel yang positif pada uji HI. Ekstraksi RNA virus AI dari cairan allantois menggunakan QIAmp Viral RNA/DNA MiniKit (Qiagen, Germany), sesuai dengan prosedur produsen kit. Hasil ekstrak RNA digunakan sebagai template RT-PCR.

### Amplifikasi Gen M dan Gen H5.

Deteksi virus AI dengan RT-PCR untuk mengetahui tipe dan subtype menggunakan QIAGEN OneStep RT-PCR kit master mix reagent kit. Prosedur dilakukan dengan mencampurkan ke dalam tabung PCR *2x Reaction mix* 25  $\mu$ L, template RNA 5  $\mu$ L, *Primer F* (20M) 0,5  $\mu$ L, *Primer R* (20M) 0,5  $\mu$ L, *Probe* (10 M) 0,5  $\mu$ L, ditambahkan *Rnase free water* (dH<sub>2</sub>O) sebanyak 20  $\mu$ L. Kemudian tabung PCR tersebut dimasukan ke mesin realtime PCR Rotor-Gene Q (Qiagen, Germany), yang telah diprogram dengan kondisi suhu: 1) Sintesis cDNA 45°C selama 10 menit, 2) Pre-denaturasi 95°C selama 10 menit sebanyak 45 kali siklus program dengan kondisi denaturasi 95°C selama 15 detik, *annealing* 60°C selama 45 detik, dan *extension/elongasi* 72°C selama satu menit. Hasil amplifikasi dibaca dan ditampilkan dalam bentuk pola grafik.

### Interpretasi Hasil

Seroprevalensi dihitung dengan rumus jumlah seropositif dibagi jumlah sampel dikalikan 100%. Hasil RT-PCR dilakukan dengan melihat result yang menampilkan data detektor dan *Cycle threshold* (Ct). Uji RT-PCR dinyatakan valid, jika Ct *value* kontrol positif kurang dari 40 dan control negatif tidak memiliki karakter *curve* yang sama dengan kontrol positif. Bila Ct *value* dari sampel yang diuji bernilai kurang dari 25, dinyatakan positif kuat [2].

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

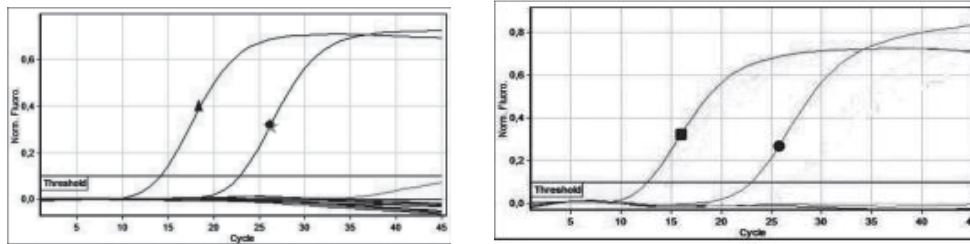
Hasil pemeriksaan 120 sampel serum darah itik yang berasal dari Pasar Hewan Beringkit, Kabupaten Badung dan Pasar Hewan Galiran, Kabupaten Klungkung dengan uji HI ditabulasi pada Tabel 1. Sedangkan 120 sampel swab kloaka dan trakea itik ditemukan dua sampel positif (1,7%) dari 120 sampel yang diuji virus AI subtype H5N1.

Tabel 1. Seroprevalensi virus AI subtype H5N1 pada empat kali pengambilan yang berbeda di Pasar Hewan Berigkit dan Galiran

Waktu Pengambilan Sampel	Jumlah Sampel	Pasar Hewan Beringkit		Pasar Hewan Galiran	
		Seropositif	Seroprevalensi	Seropositif	Seroprevalensi
1	15	6	40,0%	3	20,0%
2	15	3	23,3%	4	26,7%
3	15	1	6,7%	3	20,0%
4	15	2	13,3%	4	26,7%
<b>Total</b>	60	12	20,0%	14	23,3%

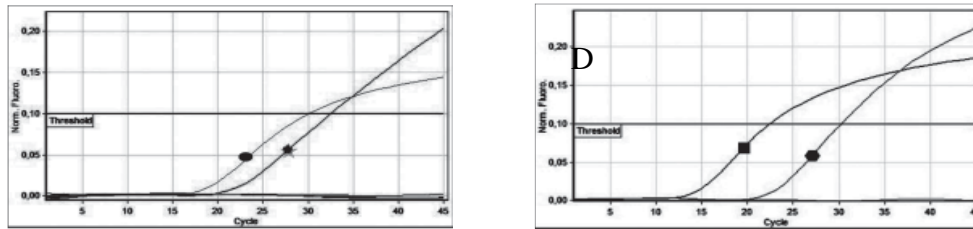
Menurut OIE [2], titer HI dianggap positif yakni 1:16 atau 24 terhadap 4 HAU (Hemagglutination Unit). Pada penelitian saat ini, seroprevalensi AI subtype H5N1 pada itik di Pasar Hewan Galiran sebesar 23,3% (14/60). Pada penelitian terdahulu [11], didapatkan bahwa seroprevalensi AI pada itik di pasar yang sama (Pasar Hewan Galiran) adalah sebesar 76,2%. Demikian juga halnya seroprevalensi AI subtype H5N1, saat ini di Pasar Hewan Beringkit sebesar 20,0% (19/60), sedangkan pada penelitian [10], dilaporkan bahwa seroprevalensi AI pada itik di Pasar Hewan Beringkit adalah 90,5%. Bervariasinya angka seroprevalensi karena fluktuasi aktivitas virus yang tidak selalu sama di suatu wilayah pada periode yang berbeda. Seroprevalensi mengalami perubahan signifikan ditunjukkan di Pasar Hewan Beringkit dengan tingkat tertinggi pada pengambilan sampel pertama (40,0%) di bulan Desember 2019 dan terendah pada pengambilan sampel ketiga (6,7%) di bulan Januari 2020. Hal ini berbeda dengan yang terdapat di Pasar Hewan Galiran, yang menunjukkan tidak terjadinya perubahan signifikan. Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi perbedaan seroprevalensi AI yakni musim, migrasi burung liar, perbedaan manajemen peternakan, lingkungan yang berpotensi kontak dengan unggas lainnya, daya tahan tubuh unggas, dan populasi ternak di pasar dan peternakan [12]. Perbedaan seroprevalensi AI subtype H5N1 pada penelitian ini diduga dipengaruhi oleh penurunan permintaan pasar atau pembeli itik di kedua pasar akibat tidak adanya upacara keagamaan pada waktu pengambilan sampel. Antibodi yang terbentuk diduga kuat berasal dari infeksi alami. Bervariasinya hasil titer antibodi dipengaruhi beberapa faktor diantaranya jumlah antigen yang masuk ke dalam tubuh dan daya tahan tubuh unggas [13], atau karena infeksi yang sudah lama terjadi akan menurunkan titer [14].

Berdasarkan hasil pengamatan isolasi virus pada telur ayam berembrio (TAB) ditemukan bahwa waktu kematian embrio bervariasi antara 2-3 hari pascainokulasi. Kematian embrio ini disebabkan infeksi sistemik oleh virus HPAI yang ditandai dengan perdarahan pada embrio. Isolasi virus pada TAB digunakan sebagai gold standart untuk diagnosis VAI [15]. Isolasi pada TAB dapat meningkatkan titer virus sehingga dapat meningkatkan sensitifitas terhadap uji HA/HI maupun Uji RT-PCR [16]. Amplifikasi dilakukan dengan metode one-step RT-PCR dan menggunakan satu pasang primer yang spesifik terhadap virus influenza tipe A. Hasil amplifikasi gen matriks disajikan pada Gambar 1. Hasil positif amplifikasi terhadap Tipe A (Gen M) dilanjutkan dengan amplifikasi dengan primer spesifik terhadap H5N1 dengan Ct value masing-masing 14,15 (Gambar 1A) dan 12,66 (Gambar 1B) hal tersebut menurut [17] menunjukkan hasil positif kuat (<25). Hasil amplifikasi terhadap H5N1 disajikan pada Gambar 2. Amplifikasi terhadap Gen H5 spesifik H5N1 menunjukkan hasil positif terhadap kedua sampel dengan Ct value 30,15 (positif) pada Gambar 2A dan 22,47 (positif kuat) pada Gambar 2D. Hasil Ct value dapat mengindikasikan titer virus, semakin rendah Ct value semakin tinggi titer virus yang ada, hal ini karena semakin sedikit siklus yang dibutuhkan untuk menunjukkan akumulasi fluoresen pada grafik hasil PCR [18].



Keterangan: ★ Kontrol Positif, ▲ Sampel beringkit minggu pertama (A)  
● Kontrol positif, ■ Sampel Galiran minggu keempat (B).

Gambar 1. Amplifikasi gen matriks dengan primer spesifik AI tipe A. A) Sampel minggu pertama pasar Beringkit, B) Sampel minggu keempat pasar Galiran.



Keterangan: ★ Kontrol positif, ● Sampel beringkit minggu pertama (C)  
● Kontrol Positif, ■ Sampel beringkit minggu pertama (D).

Gambar 2. Amplifikasi H5N1 dengan primer spesifik AI H5N1. C) Sampel minggu pertama pasar Beringkit, D) Sampel minggu keempat pasar Galiran.

Pada penelitian ini itik yang teridentifikasi virus AI subtipe H5N1 secara klinis terlihat sehat dan tidak menunjukkan gejala, sesuai dengan penelitian [19] yang menunjukkan tidak terlihatnya gejala pada itik yang terinfeksi AI H5N1 di pasar tradisional di Kota Semarang. Sehingga itik yang terinfeksi dapat bertindak sebagai reservoir dan membawa virus lebih lama [20]. Terdeteksinya antibodi pada penelitian ini menandakan bahwa: pertama, virus AI di Bali masih bersifat endemis [4]. Kedua, masih bersirkulasinya virus AI subtipe H5N1 pada itik yang dijual di Pasar Hewan Beringkit dan Pasar Hewan Galiran, yang dapat berperan sebagai sumber penularan virus ke unggas lainnya atau lingkungan.

Pasar hewan telah menjadi reservoir potensial untuk berbagai jenis termasuk HPAI H5N1 [21]. Berbagai jenis unggas dijual di Pasar Hewan Beringkit dan Pasar Galiran terutama itik. Keragaman jenis unggas menyebabkan tidak bisa dilakukan kontrol terhadap kondisi itik yang diperjual-belikan di pasar. Jumlah dan jenis ternak yang beragam memungkinkan sirkulasi virus AI subtipe H5 berkelanjutan. Sirkulasi virus AI subtipe H5N1 di pasar dapat berpotensi menyebarkan virus keluar pasar setelah dibeli oleh masyarakat dan dibawa ke daerah domisili pembeli. Virus AI dapat menyebar dari Pasar Hewan Beringkit ke semua kabupaten di Bali melalui perantara pembeli unggas yang membawa unggas dari pasar ke daerah domisili pembeli. Perpindahan unggas hidup yang terinfeksi dan penularan secara mekanik melalui mobilitas manusia merupakan faktor utama dalam penyebaran AI.

Terdeteksinya antibodi pada penelitian ini menandakan bahwa: pertama, virus AI di Bali masih bersifat endemis [4]. Kedua, masih bersirkulasinya virus AI subtipe H5N1 pada itik yang dijual di Pasar Hewan Beringkit dan Pasar Hewan Galiran, yang dapat berperan sebagai sumber penularan virus ke unggas lainnya atau lingkungan. Pasar hewan sangat berpotensi sebagai tempat penularan virus AI didukung oleh beberapa faktor diantaranya populasi unggas yang padat, unggas dengan genetik seragam, dan unggas yang datang dari berbagai daerah untuk dijual di pasar hewan [22]. Ketiga, adanya lalu lintas ternak dan asal ternak yang berasal dari berbagai daerah. Pasar Hewan Beringkit mendapat suplai unggas dari Kabupaten Badung, Tabanan, Denpasar, dan sebagian dari Buleleng, sedangkan Pasar Hewan Galiran mendapat suplai unggas dari Kabupaten Klungkung, Gianyar, Bangli, dan Karangasem.

#### IV. KESIMPULAN

Pada penelitian ini, terdeteksinya virus AI subtipe H5N1 pada itik di Pasar Hewan Beringkit dan Pasar Galiran secara serologi dan molekuler menandakan masih bersirkulasinya virus AI di kedua pasar hewan tersebut. Hal ini menjadi peringatan kepada pemerintah, pedagang, dan masyarakat akan pentingnya melakukan tindakan pencegahan,

monitoring, dan penanggulangan dan pencegahan secara berkala terhadap penyakit AI di Pasar Hewan Beringkit dan Pasar Galiran.

## Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih atas kerjasama riset Balai Besar Veteriner Denpasar dengan Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana.

## Daftar Pustaka

- [1] Kencana GAY, Suartha N, Kardena M. 2018. Avian Influenza Virus-H5N1 Is Circulating Among Backyard Chicken in MargaDistrict, Tabanan Regency, Bali. Proc. of the 20th FAVA CONGRESS & The 15th KIVNAS PDHI: 122-123.
- [2] Office International des Epizooties (OIE). 2018. Avian Influenza (Infection with Avian Influenza Virus). Chapter 3.3.4. [https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/3.03.04\\_AI.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.04_AI.pdf).
- [3] Elfidasari D, Frisa A, Edwinata, Soejoedono RD, Murtini S, Solihin DD. 2015. Mekanisme Penyebaran Virus Avian Influenza Subtipe H5N1 pada Burung Air Liar dan Unggas Peliharaan di Kawasan Cagar Alam Pulau Dua Serang. Jurnal Ilmiah Ilmu Biologi 1(2): 93-97.
- [4] Roche SE, Cogger N, Garner G, Putra AAG, Toribio JALML. 2014. Assessing the Risk of Highly Pathogenic Avian Influenza H5N1 Transmission Through Poultry Movements in Bali, Indonesia. Preventive Veterinary Medicine 113 (4): 599-607
- [5] Hewajuli DW, Dharmayanti NLPI. 2012. Hubungan AI dan Unggas Air dalam Menciptakan Keragaman Genetik. Wartazoa 22: 12-23.
- [6] Mahardika GN, Adi AAAM, Besung NK, Dharmawan NS, Kencana GAY, Rompis ALT, Sampurna P, Setiasih LE, Suardana W, Suardana IBK, Suarjana GK, Suartha N, Suartini GAA, Suwiti NK, Utama IH. 2018. Surveillance of Avian Influenza Virus of H5N1 Subtype in Backyard Animals and Its Introduction in Bali, Indonesia. Pakistan Veterinary Journal 38 (1): 7-12
- [7] Suartha N, Antara MS, Wiryana KS, Sukada M, Wirata W, Dewi NMRK, Mahardika GNM. 2010. Peranan Pedagang Unggas dalam Penyebaran Virus Avian Influenza. Jurnal Veteriner 11 (4): 220-225
- [8] Leung YHC, Zhang LJ, Chow CK, Tsang CL, Chi-Fung NG, Wong CK, Guan Y, Peiris JSM. 2007. Poultry Drinking Water Used for Avian Influenza Surveillance. Emerging Infectious Diseases Volume 13 (9): 1380-1382
- [9] Mahardika IGK. 2010. Pengembangan Virologi Molekuler Sebagai Basis Pengendalian, Pencegahan, dan Pemberantasan Penyakit Virus. Orasi Guru Besar. Badung. Universitas Udayana.
- [10] Siahaan LL, Suartha N, Mahardika GNK. 2014. Seroprevalensi Avian Influenza Pada Itik Di Pasar Hewan Beringkit Dan Peternakan Di Badung. Indonesia Medicus Veterinus 3 (2): 147-154
- [11] Damanik EG, Kencana AYK, Mahardika GNK. 2013. Seroprevalensi Penyakit Avian Influenza Pada Itik Di Kabupaten Klungkung. Buletin Veteriner Udayana 5 (2): 139-146
- [12] Saif MC. 2006. Avian Influenza. An Internal Report for The Collage of Food Agricultural and Enviromental Science.
- [13] Darmawi, Darniati, Dewi, M, Fahrurrazi, Abrar, M, Erina. 2013. Seroprevalensi AI H5N1 Pada Unggas di Kabupaten Aceh Utara. Jurnal Agripet 13 (2): 21-25
- [14] Yuliantari IAM, Kencana GAY, Kardena M. 2018. Seroprevalensi Penyakit Flu Burung (Avian Influenza) pada Ayam Kampung di Kerta, Payangan, Gianyar, Bali. Indonesia Medicus Veterinus 7 (6): 689-698
- [15] Office International des Epizooties (OIE). 2016. Highly Pathogenic Avian Influenza Update 2006-2016.
- [16] Haryanto A, Andinita D, Irianingsih SR, Yudianingtyas DW. 2012. Diagnosa cepat virus Avian influenza tipe A subtipe H5 dari spesimen lapangan dengan metode one step simplex RT-PCR. Jurnal Kedokteran Hewan 6: 6-10.
- [17] OIE Office International Epizootic. 2018. Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals. Paris: Office International Des Epizooties.
- [18] Fajardo TVM, Vanni MF, Nickel O. 2017. Absolute quantification of viruses by TaqMan real-time RT-PCR. Ciênciã Rural, Santa Maria. 47: 06. E-ISSN: 1678-4596
- [19] Ulum F, Susanti R, Bintari SH. 2013. Isolasi dan Identifikasi Virus Avian Influenza Subtipe H5N1 pada Unggas di Pasar tradisional Semarang. Biosaintifika Journal of Biology & Biology Education 5(2).
- [20] Kang HM, Lee EK, Song BM, Heo GB, Jung J, Jang I, Lee YJ. 2017. Experimental infection of mandarin duck with highly pathogenic avian influenza A (H5N8 and H5N1) viruses. Veterinary Microbiology 198: 59-63
- [21] Turner JCM, Feeroz MM, Hasan MK, Akhtar A, Walker D, Seiler P, Barman S, Franks J, Jones-Engel L, McKenzie P, Krauss S, Webby RJ, Kayali G, Webster RG. 2017. Insight into live bird markets of Bangladesh: an overview of the dynamics of transmission of H5N1 and H9N2 avian influenza viruses. Emerging Microbes & Infections 6: 142
- [22] Putra GNN, Dewi NMRK, Suartha N, Mahardika GNK. 2013. Dinamika Seroprevalensi Virus Avian Influenza H5 pada Itik di Pasar Unggas Beringkit dan Galiran. Jurnal Ilmu dan Kesehatan Hewan 1 (2): 70-75