

# PENGAJIAN MUTU VAKSIN AVIAN INFLUENZA (AI) PADA BEBERAPA PROVINSI DI INDONESIA

EMILIA, RAMLAH, RAHAJENG SETIAWATY, YATI SURYATI

Unit Uji Virologi

Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan, Gumungsindur-Bogor, Indonesia, 16340

## ABSTRAK

Telah dilakukan pengkajian mutu vaksin Avian Influenza (AI) di beberapa provinsi di Indonesia. Sampel vaksin diambil dari Dinas peternakan tingkat kabupaten/ kota sebanyak 16 sampel. Sampel-sampel vaksin yang berhasil diperoleh berasal dari dua produsen vaksin lokal yang ada di Indonesia dan selanjutnya disebut vaksin A dan vaksin B. Tujuan dari pengkajian ini adalah untuk mendapatkan informasi mengenai kualitas vaksin di lapang terhadap virus tantangan standar dan virus *clade* 2.3.2. Vaksin AI diuji kualitasnya dengan uji potensi. Pada uji ini 10 ekor ayam SPF umur 4 minggu diinjeksi dengan satu dosis vaksin AI inaktif dan 10 ekor ayam lainnya sebagai kelompok kontrol. Duapuluh satu hari pasca vaksinasi ayam diambil darahnya dan diuji dengan uji *Haemagglutination inhibition* (HI) dengan menggunakan dua virus yaitu A/ Chicken/ West Java-Subang/29/2007 (*clade* 2.1.2) dan A/duck/Sukoharjo/BBVW1428-9/2012 (*clade* 2.3.2). Hasil uji potensi menunjukkan bahwa dari 8 (delapan) sampel vaksin A yang diuji 7 (tujuh) sampel vaksin memenuhi syarat kelulusan uji potensi terhadap dua *clade* virus. Vaksin B hanya 3 (tiga) sampel vaksin yang memenuhi syarat kelulusan uji potensi sedangkan 5 (lima) sampel vaksin lainnya tidak memenuhi syarat terhadap dua *clade* virus yang diuji.

**Kata kunci :** vaksin Avian Influenza, pasca vaksinasi, virus A/ Chicken/ West Java- Subang/29/2007 (*clade* 2.1.2), A/duck/Sukoharjo/BBVW1428-9/2012 (*clade* 2.3.2).

## ABSTRACT

*Avian influenza (AI) vaccine quality assessment has been done in several provinces in Indonesia. Samples were taken from the Office of livestock vaccine district/city level as many as 16 samples. All vaccine samples were obtained from two local vaccine producers in Indonesia and coded as vaccine A and vaccine B. The purpose of this study is to obtain the information about the quality of vaccines in field against AI standard challenge virus (clade 2.1.2) and AI clade 2.3.2 virus. AI vaccine quality were tested quality with potency test. In this assays, 10 SPF chickens aged 4 weeks were injected with a single dose of inactivated AI vaccine and 10 other chickens as a control group. Twenty-one days post-vaccination, the serum of those chickens were tested by haemagglutination inhibition test (HI) by using two viruses which are A/ Chicken/ West Java-Subang/ 29/ 2007 (clade 2.1.2) and A/ duck/ Sukoharjo/ BBVW1428-9/ 2012 (clade 2.3.2). The potency test results from eight A vaccine samples showed that seven samples vaccine are qualified for passing vaccine potency test against two clade viruses. In vaccine B have shown only 3 out of 8 of the vaccines are qualified for passing potency test and another 5 are not qualified against two clade of tested virus*

**Keywords:** Avian influenza Vaccine, post vaccination, virus A/ Chicken/ West Java- Subang/ 29/ 2007 (*clade* 2.1.2), A/ duck/ Sukoharjo/BBVW1428-9/2012 (*clade* 2.3.2).

## PENDAHULUAN

Penyakit AI awalnya dikenali sebagai penyakit sistemik dan mematikan (disebut juga *highly pathogenic* atau *highly virulent* AI). Sejak akhir tahun 1870-an sampai 1981, HPAI dikenal dengan berbagai variasi nama antara lain *typhus exudatious gallinarium*, *Brunswick bird plague*, *Brunswick disease*, *fowl disease* dan *fowl* atau *bird gripe*. Pada Simposium International *Avian influenza* pertama yang diselenggarakan tahun 1981 diputuskan terminologi *highly pathogenic Avian influenza* sebagai sebutan resmi untuk bentuk AI *highly virulen* [1].

AI virus merupakan suatu virus RNA beruntai tunggal yang mempunyai *envelope* dengan delapan segmen, berpolaritas negatif dan berbentuk bulat atau filamen dengan diameter 50 - 120 nm x 200 - 300 nm. Virus ini termasuk ke dalam famili *Orthomyxoviridae*. Berdasarkan perbedaan antigen nukleoprotein dan matrik yang menyusunnya, virus ini diklasifikasikan menjadi tiga tipe yaitu virus Influenza tipe A, B dan C. Virus Influenza A ditemukan pada unggas, manusia, babi, kuda dan kadang-kadang pada mamalia lain, misalnya cerpelai, anjing laut dan ikan paus, sedangkan virus Influenza B dan C hanya ditemukan pada manusia [2].

Virus AI memiliki sifat alamiah mudah mengalami mutasi. Umumnya virus *High Pathology Avian Influenza* (HPAI) menginfeksi spesies unggas, tetapi juga kadang-kadang ditemukan pada mamalia dan manusia. Virus HPAI subtipe H5N1 mempunyai motif *multiple basic* asam amino (QRERRRKKR//G) pada daerah *cleavage site* (Smith *et al.* 2006). Virus ini mempunyai suatu *furin* pada *cleavage site* protein *hemagglutinin* dan biasanya penyakit yang ditimbulkannya bersifat akut dan sistemik. Penularan virus melalui kontak melalui ekskresi feses, lendir, bangkai dan barang tercemar [3].

Wabah penyakit AI subtipe H5N1 yang terjadi di berbagai negara telah menimbulkan kepanikan pada industri perunggasan karena menyebabkan kematian unggas yang sangat tinggi (mencapai 90%) dan kerugian ekonomi bagi peternak [4]. Penyakit ini merupakan penyakit eksotik yang termasuk dalam *list A Office International des Epizootic* dan harus dilaporkan (*notifiable*), penyebarannya sangat cepat dan melewati batas-batas negara [5].

Wabah HPAI pertama sekali terjadi di Indonesia pada bulan September-Oktober 2003 di Jawa Timur dan Jawa Barat yang menyerang ayam dengan mortalitas mencapai 100%. Wabah

ini kemudian segera diikuti dengan wabah serupa di Jawa Tengah, Daerah Istimewa Yogyakarta (DIY), Sumatera Barat, Lampung, Bengkulu, Bali, Kalimantan Selatan, Kalimantan Barat dan Sulawesi Tenggara [6]. Selanjutnya dalam waktu yang sangat cepat telah menyebar ke 31 dari 33 provinsi di Indonesia, kecuali provinsi Maluku Utara dan Gorontalo belum dilaporkan kasus AI, kemudian kasus AI pada unggas relatif terkendali sejak tahun 2008 sampai tahun 2012, meskipun secara sporadik terjadi di beberapa provinsi di Indonesia.

Pada akhir tahun 2012 penyakit ini mewabah lagi dan menyebabkan kematian lebih kurang 320.000 itik di Jawa Tengah, Jawa Barat, dan Jawa Timur. Strain virus AI yang menyerang itik lokal ini merupakan virus dari clade 2.3.2 atau subgrup virus flu burung yang baru pertama sekali ditemukan di Indonesia [7].

Upaya-upaya yang dapat dilakukan untuk mencegah penyebaran AI diantaranya adalah pengamanan biologis yang ketat, pelaksanaan aspek-aspek manajemen untuk menghilangkan sumber infeksi secara optimal serta vaksinasi. Dalam hal ini, pengamanan biologis merupakan upaya pertahanan yang paling utama. Mengingat bahwa virus AI di luar tubuh induk semang mempunyai sifat mudah dinaktivasi oleh deterjen, formalin, betapropiolakton, eter, hidroksilamin, ion-ion ammonium, panas, pH terlalu tinggi, kondisi non-isotonik dan kering. Sifat yang dimiliki virus ini juga merupakan salah satu faktor yang mendukung program pertahanan pada unggas melalui pengamanan biologis menjadi lebih efektif. Sedangkan upaya pertahanan melalui vaksinasi akan memperoleh hasil yang lebih efektif apabila diikuti dengan pengamanan biologis yang ketat [6].

Pedoman untuk pencegahan, pengendalian dan pemberantasan virus AI secara lengkap telah ditetapkan oleh *World Organization for Animal Health* (OIE) dan *World Health Organization* (WHO) yang digunakan sebagai acuan program pencegahan, pengendalian dan pemberantasan *Avian Influenza* di seluruh dunia. Pemerintah Indonesia melalui Dirjen Bina Produksi Peternakan mengeluarkan SK No.17/Kpts/PD.640/F/02.04 juga telah menetapkan langkah-langkah strategis untuk pencegahan, pengendalian dan pemberantasan virus AI di Indonesia. Langkah-langkah strategis itu meliputi peningkatan biosekuriti, depopulasi, vaksinasi, pengendalian lalu lintas, surveilan, *restocking*, peningkatan kesadaran masyarakat, monitoring dan evaluasi [6].

Penggunaan dan suplai vaksin AI di Indonesia cukup besar, akan tetapi kasus AI di sebagian besar wilayah Indonesia masih terjadi.

Oleh sebab itu diperlukan kajian lebih lanjut untuk melihat potensi vaksin AI yang beredar dilapang apakah secara antigenik masih sesuai dengan virus yang bersirkulasi di lapang. Terjadinya wabah pada itik juga menimbulkan pertanyaan apakah vaksin AI yang beredar dapat melindungi itik dalam melawan penyakit ini, karena *seed* vaksin virus yang digunakan adalah *seed* virus yang diisolasi dari ayam.

## MATERI DAN METODE

### Waktu dan Tempat Penelitian

Pengujian dilaksanakan di laboratorium unit Uji Virologi BBPM SOH dimulai dari bulan April sampai November 2013.

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan meliputi, larutan *phosphate buffered saline* (PBS) pH 7.2, antigen AI strain *A/Chicken/West Java-Subang/29/2007* (clade 2.1.2), *A/duck/Sukoharjo /BBVW1428-9/2012* (clade 2.3.2), antiserum positif AI, antiserum negatif AI, sel darah merah 1%, *alsever*, alkohol 70%, iodium, ayam *Specific Pathogen Free* (SPF) umur 4 minggu sebanyak 180 ekor, dan 16 sampel vaksin AI inaktif.

Peralatan yang digunakan antara lain vial 2 mL, kotak pendingin, kapas alkohol, *syringe* 3 mL (terumo), plat mikro 96 well *V-bottom* (Nunc), mikropipet 10-100  $\mu$ L, *single* pipet 25-100  $\mu$ L, tips 10-100  $\mu$ L, *pipet aids*, pipet volumetrik 1 mL, 2 mL, 5 mL, 10 mL, 20 mL, *biosafety cabinet* (BSC) (Fesco), *shaker*, masker, sarung tangan, baker plastik volume 2 L (*autoclavable*), jarum suntik 18 G X 1,5 mL.

### Metode Penelitian

#### Koleksi Sampel

Sebanyak 16 vaksin AI inaktif telah dikoleksi dari 10 provinsi di Indonesia yaitu provinsi Banten, Jawa Barat, Jawa Tengah, DI Yogyakarta, Jawa Timur, Bali, Lampung, Sulawesi Selatan, Kalimantan Barat, dan Sumatera Utara. Sampel vaksin yang diperoleh ditangani secara individual, dikemas, dan diberi kode berdasarkan asal, dan tanggal pengambilan sampel. Seluruh sampel ditransportasikan dalam rantai dingin (4-8°C) sebelum sampai ke laboratorium untuk dilakukan pengujian. Tahapan berikutnya sampel vaksin AI diuji potensinya berdasarkan metode Farmakope Obat Hewan Indonesia (FOHI) Jilid 1 Edisi 3 tahun 2007.

### Uji Potensi

Uji potensi dilaksanakan sesuai dengan FOHI Jilid 1 Edisi 3 tahun 2007. Prosedur ringkas untuk tiap uji potensi adalah sebagai berikut: 10 ekor ayam SPF divaksinasi vaksin AI inaktif sebanyak 1 dosis per ekor secara intramuskular sedangkan 10 ekor lainnya tidak divaksinasi sebagai kelompok kontrol.

Empat minggu pasca vaksinasi kelompok ayam perlakuan dan ayam kontrol diambil serumnya untuk uji HI dengan menggunakan dua antigen AI yang berbeda yaitu *A/Chicken/West-Java-Subang/29/2007* (clade 2.1.2) dan *A/duck/Sukoharjo/BBVW1428-9/2012* (clade 2.3.2). Interpretasi hasil: tidak kurang dari 90% ayam pasca vaksinasi memiliki titer antibodi  $\geq 16$ .

### Uji *Haemagglutination* (HA) pada plat mikro

Prosedur secara ringkas sebagai berikut: *Phosphat Buffer Saline* (PBS) sebanyak 0,025 mL dimasukkan ke dalam tiap sumuran plat mikrotiter (*V-bottomed wells*). Kemudian 0,025 mL suspensi virus dimasukkan pada sumuran pertama. Lalu dengan menggunakan mikropipet *multi-channel* dibuat pengenceran dua kali (dari 1:2 sampai pengenceran 1:2048) suspensi virus. Sel darah merah 1% sebanyak 0,025 mL dimasukkan ke setiap sumuran. Kemudian dilakukan *shaker* dengan hati-hati dan plat ditempatkan pada suhu 4°C atau suhu ruang (20-24°C). Hasil dapat dibaca setelah 30 menit (pada temperatur ruang) atau 40 menit pada suhu 4°C ketika sel darah merah kontrol sudah turun [3].

### Uji *Haemagglutination Inhibition* (HI)

PBS sebanyak 0,025 mL dimasukkan ke dalam tiap sumuran plat mikrotiter (*V-bottomed wells* atau *U-bottomed wells*). Kemudian 0,025 mL serum standar dimasukkan pada kolom sumuran pertama. Pipet *multi-channel* digunakan untuk membuat pengenceran dua kali. Lalu ditambahkan cairan alantoik yang mengandung 4 HAU ke setiap sumuran. Secara pelan digoyang dan plat ditempatkan pada suhu 4°C selama 40 menit atau suhu ruang selama 30 menit.

Suspensi sel darah merah 1% ditambahkan 0,025 mL ke semua sumuran dan digoyang secara perlahan dan ditempatkan pada suhu 4°C atau suhu ruang. Plat dibaca setelah 30-40 menit, ketika kontrol sel darah merah sudah turun. Interpretasi hasil: hasil positif antibodi jika titer HI  $\geq 16$ .

## ANALISIS DATA

Seluruh data yang diperoleh dari pengkajian ini dianalisa secara deskriptif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Uji Potensi Vaksin AI

Sebanyak 16 vaksin AI inaktif telah diambil dari 10 provinsi di Indonesia yaitu provinsi Banten (2 sampel), Jawa Barat (2 sampel), Jawa Tengah (1 sampel), Yogyakarta (2 sampel), Jawa Timur (1 sampel), Bali (2 sampel), Lampung (1 sampel), Sulawesi Selatan (2 sampel), Kalimantan Barat (1 sampel), Sumatera Utara (2 sampel). Sample vaksin AI yang berhasil didapat berasal dari dua produsen vaksin lokal di Indonesia. Vaksin-vaksin tersebut mengandung virus subtype H5N1 strain Purwakarta dari clade 2.1.3 dan selanjutnya vaksin tersebut diklasifikasi berdasarkan produsen pembuat yang kemudian disebut Vaksin A dan B. Uji yang dilaksanakan terhadap sampel vaksin yaitu uji potensi<sup>18)</sup>.

Serum pasca vaksinasi potensi kemudian diuji dengan uji HI dengan menggunakan dua antigen virus dari *clade* yang berbeda yaitu *A/Chicken/West Java-Subang/29/2007* yang merupakan strain virusantang AI standar yang diisolasi dari ayam (*clade* 2.1.2) sedangkan antigen *A/duck/Sukoharjo/BBVW1428-9/2012* adalah virus AI yang berasal dari wabah yang terjadi pada akhir tahun 2012 yang diisolasi dari itik (*clade* 2.3.2). Vaksin memenuhi syarat apabila tidak kurang dari 90% ayam pasca vaksinasi memiliki titer antibodi  $\geq 16$ . Hasil pengujian yang diperoleh tersaji pada Tabel 1.

Hasil uji potensi terhadap vaksin A menunjukkan bahwa dari 8 sampel vaksin yang diambil 7 vaksin diantaranya mempunyai persentase nilai titer HI  $\geq 16$  mencapai 90-100% terhadap antigen Subang dan Sukoharjo. Akan tetapi satu vaksin A yang berasal dari provinsi Lampung yang memperlihatkan hasil yang sedikit berbeda, yaitu ketika di uji dengan antigen Subang menunjukkan hasil 90% mempunyai persentase nilai titer HI  $\geq 16$  sedangkan menggunakan antigen Sukoharjo memperlihatkan hasil 80%. Dari hasil ini menunjukkan bahwa vaksin tersebut masih cukup mempunyai proteksi terhadap dua strain virus AI

dari *clade* yang berbeda.

Sedangkan hasil uji potensi terhadap vaksin B ketidaksesuaian secara antigenik terhadap antigen Sukoharjo yang berasal dari itik.

Faktor lain yang mempengaruhi potensi vaksin di lapangan adalah rantai dingin (*cold chain*). Distribusi dan penyimpanan vaksin yang tidak sesuai (2-8°C) akan menyebabkan penurunan potensi vaksin. Banyak ditemui di lapangan refrigerator tempat penyimpanan vaksin AI mempunyai kondisi yang kurang sesuai (suhu dibawah persyaratan yang sudah ditentukan), atau isi refrigerator yang terlalu padat.

## KESIMPULAN

1. Dari 8 sampel vaksin A yang didapatkan dari 10 provinsi di Indonesia sebanyak 7 sampel memenuhi syarat (MS) kelulusan uji potensi terhadap 2 jenis antigen AI yang diuji yaitu Strain Subang dan Sukoharjo dan 1 sampel vaksin lainnya hanya memenuhi syarat terhadap satu jenis antigen saja yaitu strain Subang sedangkan dengan virus AI strain Sukoharjo tidak memenuhi syarat kelulusan potensi.
2. Vaksin B dari 8 vaksin yang diperoleh 2 vaksin memenuhi syarat kelulusan terhadap 2 jenis antigen AI yaitu strain Subang dan Sukoharjo dan 1 sampel lainnya memenuhi syarat kelulusan terhadap strain Subang tetapi tidak terhadap strain Sukoharjo sedangkan 5 vaksin lainnya tidak memenuhi syarat kelulusan terhadap dua antigen AI strain Subang dan strain Sukoharjo.
3. Penanganan vaksin terutama rantai dingin di lapangan sangat menentukan mutu suatu vaksin.

Tabel 1 Hasil Uji Potensi Vaksin AI pada Sepuluh Provinsi di Indonesia Menggunakan Dua Antigen AI dari *Clade* yang berbeda

No	Provinsi	Kabupaten	Nama Vaksin	Antigen AI	Hasil HI										% nilai HI $\geq 16$	Status	
					1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
1	Banten	Kota Serang	VA K SIN A	Subang	64	64	32	32	16	32	32	32	128	32	100%	MS <sup>a</sup>	
			Sukoharjo	64	128	32	32	32	256	256	64	128	64	100%	MS <sup>a</sup>		
2	Bali	Kota Denpasar	VA K SIN B	Subang	8	4	32	16	32	16	32	16	32	8	32	64	TMS <sup>b</sup>
			Sukoharjo	8	16	8	16	8	16	128	8	16	16	16	60%	TMS <sup>b</sup>	
			VA K SIN A	128	128	32	64	64	128	64	64	64	64	64	100%	MS <sup>a</sup>	
			Sukoharjo	128	64	64	128	64	256	128	32	64	64	64	100%	MS <sup>a</sup>	
3	Jateng	Kab Sragen	VA K SIN B	Subang	16	16	16	16	32	32	32	64	16	32	32	60%	TMS <sup>b</sup>
			Sukoharjo	16	8	32	8	16	16	32	8	8	8	32	40%	TMS <sup>b</sup>	
			VA K SIN B	8	8	32	8	4	32	32	8	16	4	4	20%	TMS <sup>b</sup>	
			Sukoharjo	4	4	8	2	2	16	16	8	2	2	<2	20%	TMS <sup>b</sup>	
4	Kalbar	Kab Singkawang	VA K SIN B	Subang	4	32	64	32	8	16	32	64	4	32	70%	TMS <sup>b</sup>	
			Sukoharjo	16	16	64	16	8	32	16	<2	8	16	70%	TMS <sup>b</sup>		
			VA K SIN A	16	64	64	32	64	64	32	16	32	32	100%	MS <sup>a</sup>		
			Sukoharjo	32	16	64	32	64	128	32	16	32	16	100%	MS <sup>a</sup>		
6	Sulsel	Kota Parepare	VA K SIN A	Subang	32	16	64	32	64	64	64	64	128	128	100%	MS <sup>a</sup>	
			Sukoharjo	128	32	64	64	64	32	128	32	64	32	100%	MS <sup>a</sup>		
			VA K SIN B	32	32	64	32	8	32	128	32	64	32	90%	MS <sup>a</sup>		
			Sukoharjo	32	32	8	16	64	32	32	64	32	16	90%	MS <sup>a</sup>		
7	Jabar	Kab Cianjur	VA K SIN B	Subang	32	8	8	8	2	16	4	2	4	64	30%	TMS <sup>b</sup>	
			Sukoharjo	<2	2	2	<2	<2	<2	<2	<2	2	8	0%	TMS <sup>b</sup>		
			VA K SIN B	8	32	16	32	32	256	64	128	8	16	80%	TMS <sup>b</sup>		
			Sukoharjo	8	4	8	8	8	32	32	64	8	16	40%	TMS <sup>b</sup>		
8	Lampung	Lampung Selatan	VA K SIN A	Subang	32	32	4	16	32	64	256	64	128	256	90%	MS <sup>a</sup>	
			Sukoharjo	32	16	2	8	16	32	128	32	64	32	80%	TMS <sup>b</sup>		
			VA K SIN A	256	128	256	256	128	128	256	256	256	256	100%	MS <sup>a</sup>		
			Sukoharjo	64	64	256	256	128	128	256	128	128	64	100%	MS <sup>a</sup>		
9	Jogyakarta	Kab. Kulon progo	VA K SIN B	Subang	64	128	128	32	32	128	64	64	8	32	90%	MS <sup>a</sup>	
			Sukoharjo	64	32	16	16	16	16	64	32	<2	64	90%	MS <sup>a</sup>		
			VA K SIN A	256	128	256	256	128	128	256	256	256	256	100%	MS <sup>a</sup>		
			Sukoharjo	64	64	256	256	128	128	256	128	128	128	100%	MS <sup>a</sup>		
10	Sumut	Kab Binjai	VA K SIN A	Subang	256	128	256	64	128	128	256	128	256	128	100%	MS <sup>a</sup>	
			Sukoharjo	128	32	64	<2	64	32	128	128	128	128	90%	MS <sup>a</sup>		
			VA K SIN A	128	256	256	256	256	256	256	256	256	256	100%	MS <sup>a</sup>		
			Sukoharjo	64	128	256	256	128	128	128	128	64	64	100%	MS <sup>a</sup>		

<sup>a</sup>MS: Memenuhi Syarat, <sup>b</sup>TMS: Tidak Memenuhi Syarat

DAFTAR PUSTAKA

1. **Swayne DE, Havorson DA.** 2008. Influenza. Editor Saif YM dalam Disease of Poultry. Edisi 12. Blackwell Publishing. Hal: 153-184.
2. **[OIE] Office International Des Epizooties.** 2012. OIE Terrestrial Manual. Avian Influenza. [diunduh tanggal 13 Desember 2013].
3. **Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, Chambers TM and Kawaoka Y.** 1992. Evolution and Ecology of Influenza A Viruses. *Microbiol. Rev.* 56: 152 – 179.
4. **Suardana IBK, Dewi NMRK, Mahardika IGNK.** 2009. Respon Imun Itik Bali terhadap Berbagai Dosis Vaksin Avian Influenza. *J Veteriner.* 103) hal:150-155.
5. **Alexander DJ.** 1996. *Highly Pathogenic Avian Influenza. Manual of Standards for Diagnostic Test and Vaccines.* OIE. hal. 155-160.
6. **Hewajuli, Dharmayanti NLPi.** 2008. Karakterisasi dan Identifikasi Virus Avian Influenza AI. *Wartazoa* Vol. 18.
7. [<http://cetak.kompas.com/read/2012/12/11/03343016/320.000.bebek.mati.kena.virus.flu.hurung/>] [diunduh 13 Januari 2012].
8. **Anonim.** 2007. Farmakope Obat Hewan Indonesia Jilid 1 Edisi III. hal. 59-60