

PENYIDIKAN VIRUS AVIAN INFLUENZA (AI) SUBTIPE H5 PADA *LIVE BIRD MARKETS* (LBM) DI PROVINSI JAWA BARAT TAHUN 2018

Isrok Malikus Sufi¹, Fitriani¹, Niken Respati Maharani¹

¹Laboratorium Bioteknologi, Balai Veteriner Subang, Kementerian Pertanian,
Jl. Terusan Garuda Blok Werasari Dangdeur, Subang 41212
E-mail : isrok.sufi@gmail.com

ABSTRAK

Live bird markets (LBM) memegang peranan penting dalam penyediaan produk unggas seperti daging ayam dan telur bagi masyarakat Indonesia. Keberadaan LBM membuka peluang terjadinya pasar unggas hidup dan penyebaran penyakit yang berdampak terhadap kesehatan masyarakat. Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa LBM merupakan tempat yang memiliki risiko tinggi dalam penyebaran virus Avian Influenza (AI).

Virus AI merupakan ancaman serius terhadap kehidupan masyarakat, baik dari segi ekonomis maupun dari aspek zoonosis. Penyakit ini disebabkan oleh kelompok virus Influenza A dari Famili *Orthomyxoviridae*. Virus Influenza A dibagi menjadi beberapa sub tipe berdasarkan kombinasi glikoprotein hemaglutinin (HA). Diantara 16 jenis HA yang diidentifikasi pada unggas, sub tipe H5 merupakan salah satu yang paling diwaspadai karena kemampuannya dalam menimbulkan wabah pada hewan dan manusia. Penelitian ini dilakukan yang bertujuan untuk mengidentifikasi distribusi virus H5 pada beberapa LBM di Jawa Barat pada tahun 2018 secara molekuler dengan metode uji *reverse-transcriptase quantitative Polymerase Chain Reaction* (RT-qPCR) pada sampel lingkungan.

Pengambilan sampel dilakukan di LBM di Jawa Barat, meliputi Kota Banjar, Kab. Ciamis, Kab. Indramayu, Kab. Karawang, Kota Bandung, Kota Sukabumi, Kota Tasikmalaya, Kab. Purwakarta dan Kab. Subang sepanjang tahun 2018. Sampel yang diambil adalah swab lingkungan. Sampel swab lingkungan diambil dari beberapa titik di lingkungan LBM dan dipool (digabungkan) maksimal 6 (enam) swab lingkungan (meja tempat ayam dipajang, keranjang tempat meletakkan potongan ayam, keranjang sampah, meja pemrosesan, kain lap basah, mesin pencabut bulu, dll) dalam satu *Viral Transport Media*. Sampel swab lingkungan diambil sekali untuk setiap LBM yang dikunjungi dimana jumlah sampel disesuaikan dengan situasi dan kondisi pada saat kunjungan. Sampel yang didapatkan kemudian diuji dengan metode qPCR untuk deteksi virus H5. Prevalensi total virus H5 di Jawa Barat adalah sebanyak 23 dari 392 sampel yang didapatkan (5.87%; Selang Kepercayaan (SK) 95%: 3.87%-8.19%), sedangkan prevalensi tertinggi virus H5 sebesar 100% terjadi di Kabupaten Indramayu.

Hasil uji RT-qPCR pada sampel swab lingkungan yang menunjukkan hasil positif menunjukkan adanya beberapa sampel yang positif dari lingkungan. Kontaminasi virus pada lingkungan diduga berasal dari pemotongan unggas, produk unggas serta peralatan yang tercemar sehingga perlu dilakukan perbaikan lingkungan LBM untuk mengurangi potensi zoonosis virus H5 dari hewan ke manusia.

Kata kunci: Avian Influenza, H5, Jawa Barat, LBM, PCR, unggas.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Virus Avian Influenza (AI) merupakan ancaman serius terhadap kehidupan masyarakat, baik dari segi ekonomis maupun dari aspek zoonosis. Penyakit ini disebabkan oleh kelompok virus Influenza A dari Famili *Orthomyxoviridae*. Virus Influenza A dibagi menjadi beberapa sub tipe berdasarkan kombinasi glikoprotein hemaglutinin (HA). Diantara 16 jenis HA yang diidentifikasi

pada unggas, subtipe H5 merupakan salah satu yang paling diwaspadai karena kemampuannya dalam menimbulkan wabah pada hewan dan manusia (Hartawan *et al.*, 2014).

Wabah penyakit *Highly Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) subtipe H5N1 di Indonesia diisolasi dan diidentifikasi pertama kali pada tahun 2003. Virus ini kemudian menyebar ke seluruh wilayah Indonesia kecuali daerah Maluku Utara dan telah menjadi endemis (Ratnawati *et al.*, 2015). Pada gelombang pertama wabah penyakit antara periode 2003-2004, virus-virus H5N1 di Indonesia masih menjadi satu kelompok yaitu Clade 2.1, akan tetapi pada akhir tahun 2012, virus H5N1 clade 2.3.2.1 berhasil diisolasi dan diidentifikasi sebagai agen penyebab kematian unggas air domestik, termasuk itik di Jawa Tengah, Jawa Timur dan Yogyakarta. Peristiwa ini terjadi akibat introduksi virus HPAI H5N1 baru ke Indonesia (Wibawa *et al.*, 2014).

Live bird markets (LBM) memegang peranan penting dalam penyediaan produk unggas seperti daging ayam dan telur bagi masyarakat Indonesia. Keberadaan LBM membuka peluang terjadinya pasar unggas hidup dan penyebaran penyakit yang berdampak terhadap kesehatan masyarakat (Rotinsulu *et al.*, 2017). LBM sebagai tempat bertemunya manusia dan unggas dapat menimbulkan risiko sebagai sumber penyebaran virus AI pada unggas serta dapat menular ke manusia sehingga perlu dilakukan pengendalian sirkulasi virus AI pada LBM (Hassan *et al.*, 2018).

Beberapa penelitian di Indonesia yang telah dilakukan menunjukkan bahwa LBM merupakan tempat yang memiliki risiko tinggi dalam penyebaran virus H5. Lingkungan LBM di Indonesia seperti meja pajangan, telenan, pisau pemotong dll dilaporkan telah terkontaminasi Virus H5 yang disebabkan oleh faktor kurangnya sanitasi dan higienitas lingkungan LBM (Indriani *et al.*, 2010).

Penelitian ini dilakukan yang bertujuan untuk mengidentifikasi distribusi virus H5 pada beberapa LBM di Jawa Barat pada tahun 2018 secara molekuler dengan metode uji *reverse-transcriptase quantitative Polymerase Chain Reaction* (RT-qPCR) pada sampel lingkungan. Informasi yang didapatkan dalam penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai keberadaan Virus H5 pada lingkungan LBM di Provinsi Jawa Barat serta sebagai bahan pengambilan kebijakan untuk pengendalian Virus H5 di Indonesia.

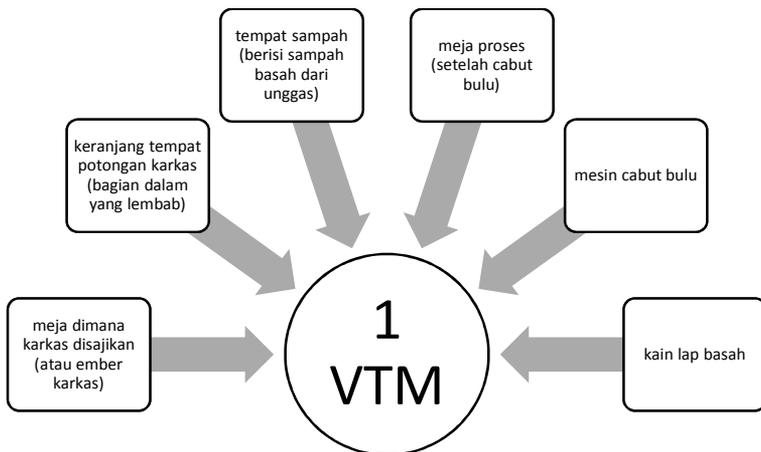
MATERI DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada 9 (sembilan) kota/kabupaten di Provinsi Jawa Barat yang meliputi Kota Banjar, Kab. Ciamis, Kab. Indramayu, Kab. Karawang, Kota Bandung, Kota Sukabumi, Kota Tasikmalaya, Kab. Purwakarta dan Kab. Subang sepanjang tahun 2018. Pengujian sampel swab lingkungan LBM terhadap Virus H5 dengan metode RT-qPCR dilakukan di Laboratorium Bioteknologi, Balai Veteriner Subang, Subang, Jawa Barat.

Pengambilan sampel

Pengambilan sampel swab lingkungan pada beberapa LBM di Propinsi Jawa Barat yang dilakukan di sembilan kabupaten/kota yaitu: Kota Banjar, Kab. Ciamis, Kab. Indramayu, Kab. Karawang, Kota Bandung, Kota Sukabumi, Kota Tasikmalaya, Kab. Purwakarta dan Kab. Subang yang dipilih secara acak. Sampel swab lingkungan diambil dari beberapa titik di lingkungan LBM dan dipool (digabungkan) maksimal 6 (enam) swab lingkungan. Sampel lingkungan yang diambil berupa meja tempat ayam dipajang, keranjang tempat meletakkan potongan ayam, keranjang sampah, meja pemrosesan, kain lap basah, mesin pencabut bulu, dll (Gambar 1). Pengambilan sampel swab lingkungan diambil sekali untuk setiap LBM. Sampel swab lingkungan yang telah didapatkan kemudian disimpan pada media BD™ *Universal Viral Transport* (Cat No.: REF 220221). Setelah itu, sampel swab lingkungan disimpan dalam *cool box* (4°C) dan dibawa ke Laboratorium Bioteknologi, Balai Veteriner Subang, Subang untuk dilakukan pengujian RT-qPCR AI H5.



Gambar 1. Lokasi swab yang diambil.

Identifikasi Virus AI Subtipe H5 dan H5 Clade 2.3.2.1 dengan Metode RT-qPCR

Identifikasi Virus H5 dengan metode Uji RT-qPCR memiliki tahapan prosedur pengujian sebagai berikut : sampel swab lingkungan dalam media BD™ *Universal Viral Transport* dilakukan ekstraksi RNA dengan menggunakan QIAmp® Viral RNA Mini Kit (50) (QIAGEN) (Cat No : REF 52904) sesuai dengan prosedur pengujian yang tertulis dalam manual kit. Sampel RNA yang didapatkan dari hasil ekstraksi kemudian di amplifikasi melalui uji RT-qPCR pada instrumen Stratagene Mx3005p (*Agilent Technologies*) dengan menggunakan dua pasangan primer dan probe H5 Duplex (generik H5) sebagai uji umum untuk mendeteksi subtipe H5 yang memiliki target dua region yang berbeda dari gen H5 HA (C-terminus dan N-terminus) (Heine *et al.*, 2015). Apabila uji RT-qPCR terhadap H5 menunjukkan hasil positif, pengujian dilanjutkan dengan deteksi H5 Clade 2.3.2.1 terhadap sampel tersebut. Sekuens primer dan probe yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Oligonukleotida Primer dan Probe untuk uji RT-qPCR yang digunakan dalam penelitian ini.

Assay/Oligo	Sequence (5' - 3')	Final conc. (µM)
H5 duplex		
IVA D148H5 Fwd	AAA CAG AGA GGA AAT AAG TGG AGT AAA ATT	20
IVA D204f Fwd	ATG GCT CCT CGG RAA CCC	20
IVA D149H5 Rev	AAA GAT AGA CCA GCT ACC ATG ATT GC	20
IVA D205r Rev	TTY TCC ACT ATG TAA GAC CAT TCC CG	20
IVA H5a Probe	FAM-TCA ACA GTG GCG AGT TCC CTA GCA-TAMRA	5
IVA D215P Probe	FAM-ATG TGT GAC GAA TTC MT-TAMRA	5
H5 2.3.2.1		
D-703 Fwd	GCT CCA GAA TAT GCA TAC AAA ATT GT	20
D-704 Rev	CTA TTG GAG TCT GAC ACC TGG TGT	20
D-705 Probe	FAM- CCA CTT CAC TTC TCA TGA TTG TGG AGT CTC CTT-TAMRA	5

Sumber : Heine *et al.* (2015) dan Wibawa *et al.* (2017)

Kit master mix yang digunakan adalah Applied Biosystems (AM1005) Ag-Path-ID™ One-Step RT-PCR Reagents. Komposisi *reagent* untuk total volume 25 µl terdiri dari *Nuclease-Free Water* sebanyak 0,1 µl, 2X RT-PCR Buffer sebanyak 12,5 µl, 25X RT PCR *Enzyme Mix* sebanyak 1 µl, Primer-Probe Mix sebanyak 6,4 µl dan templat RNA sebanyak 5 µl. Kondisi siklus/*cycling* yang digunakan adalah *reverse transcription* pada suhu 45°C selama 10

menit dan *polymerase activation* pada suhu 95°C selama 10 menit. Sedangkan amplifikasi gen H5 dilakukan sebanyak 45 siklus yang terdiri dari denaturasi (95°C selama 15 detik) serta annealing/ekstensi (60°C selama 45 detik) (Heine *et al.*, 2007; Heine *et al.*, 2015) (Manual diagnostik CSIRO *Australian Animal Health Laboratory*, tidak diterbitkan). Selanjutnya analisis hasil uji didapatkan dari interpretasi nilai Ct melalui hasil data *fluorescence* yang ditampilkan pada layar monitor instrument. Sampel yang diuji menunjukkan hasil positif apabila nilai Ct < 40, *indeterminate* apabila nilai Ct 40-45 dan negatif apabila nilai Ct >45 serta menggunakan nilai *threshold* sebesar 0,2 (Heine *et al.*, 2015).

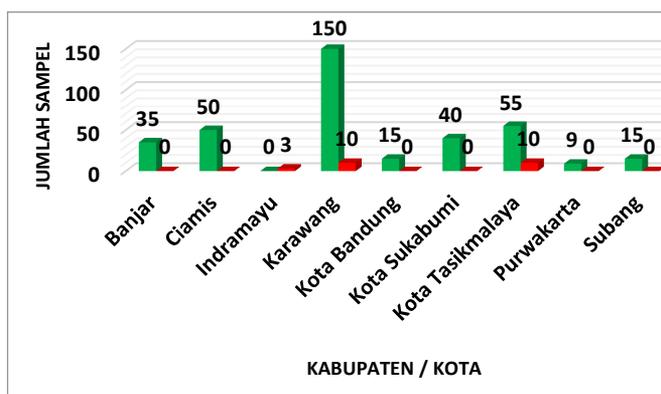
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, seluruh sampel diambil pada lingkungan LBM yang seluruhnya merupakan pedagang daging ayam broiler. Sampel swab lingkungan yang berhasil diperoleh adalah sebanyak 392 swab lingkungan dari beberapa LBM di 9 kabupaten/kota di Jawa Barat seperti pada Tabel 2.

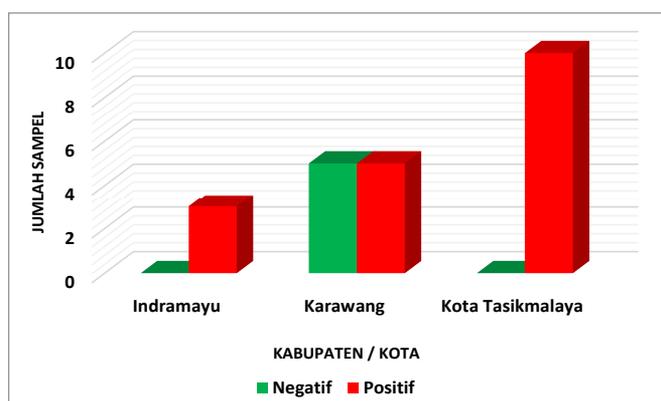
Tabel 2. Hasil uji RT-qPCR dari swab lingkungan di LBM pada 9 kabupaten/kota di Jawa Barat dengan menggunakan primer subtype H5 Duplex dan H5 Clade 2.3.2.1.

No.	Kabupaten/Kota	Hasil Uji RT-qPCR			
		H5		H5 Clade 2.3.2.1	
		Negatif	Positif	Negatif	Positif
1	Banjar	35	0	NT	NT
2	Ciamis	50	0	NT	NT
3	Indramayu	0	3	0	3
4	Karawang	150	10	5	5
5	Kota Bandung	15	0	NT	NT
6	Kota Sukabumi	40	0	NT	NT
7	Kota Tasikmalaya	55	10	0	10
8	Purwakarta	9	0	NT	NT
9	Subang	15	0	NT	NT
Jumlah Total		369	23	5	18

NT = *Not Tested* (Tidak diuji)



Gambar 2. Hasil uji RT-qPCR terhadap H5 pada LBM.



Gambar 3. Hasil uji lanjut RT-qPCR terhadap H5 Clade 2.3.2.1 pada LBM.

Hasil pengujian RT-qPCR terhadap 392 swab lingkungan LBM dengan primer H5 Duplex bahwa sebanyak 23 swab lingkungan menunjukkan hasil positif terkontaminasi virus AI subtipe H5 (Tabel 2; Gambar 2). Dari 23 sampel swab lingkungan dari 3 Kab/Kota di Jawa Barat yang positif tersebut kemudian diidentifikasi lebih lanjut dengan primer H5 Clade 2.3.2.1 dan hasilnya menunjukkan bahwa 18 sampel dari LBM di Kab. Indramayu, Kab. Karawang dan Kota Tasikmalaya positif terdeteksi adanya kontaminasi virus AI subtipe H5 Clade 2.3.2.1 (Tabel 2; Gambar 3).

Prevalensi Kejadian Kontaminasi Virus Subtipe H5 dan Virus Subtipe H5 Clade 2.3.2.1

Kontaminasi virus AI yang berperan sebagai reservoir virus tersebut di lingkungan LBM dilaporkan telah terjadi pada beberapa negara di Asia Tenggara (Biswas *et al.* 2015), sedangkan, beberapa penelitian di Indonesia

telah melaporkan tentang sirkulasi HPAI H5N1 pada LBM di Indonesia pada tahun yang berbeda (Indriani *et al.* 2010; Hartawan *et al.* 2014; Ratnawati *et al.* 2015). Pada penelitian ini menunjukkan bahwa prevalensi total virus subtipe H5 pada lingkungan LBM di Jawa Barat adalah sebanyak 23 dari 392 sampel yang didapatkan (5,87%; Selang Kepercayaan (SK) 95%: 3,87%-8,19%) (Tabel 2; Gambar 1), Selain itu, uji lanjut terhadap hasil sampel yang positif terhadap H5 yang kemudian dilanjutkan dengan uji H5 Clade 2.3.2.1 didapatkan hasil positif 18 sampel dari 23 sampel yang diperiksa (78,26%; SK 95%: 61,4%-95,12%) (Tabel 2; Gambar 3)

Prevalensi tertinggi virus subtipe H5 sebesar 100% terjadi di Kabupaten Indramayu dengan uji lanjutan H5 Clade 2.3.2.1 dengan hasil 3 sampel dari 3 sampel yang diperiksa seluruhnya positif (Tabel 2; Gambar 3). Identifikasi virus subtipe H5 menunjukkan hasil seluruhnya negatif pada 6 kabupaten/kota di Jawa Barat (Kab. Banjar, Kab. Ciamis, Kota Bandung, Kota Sukabumi, Kab. Purwakarta dan Kab. Subang). Menurut Fatima *et al.* (2016) yang menyatakan bahwa adanya prevalensi virus AI subtype (H5, H7 dan H9) pada unggas domestik dan komersial di lingkungan LBM merupakan hal yang harus dikendalikan dari segi kesehatan masyarakat veteriner.

Virus subtipe H5 yang mengkontaminasi di Lingkungan LBM juga telah dilaporkan oleh Biswa *et al.* (2017) yang menyatakan bahwa virus HPAI H5 telah terdeteksi pada lingkungan LBM di Bangladesh dengan uji RT-qPCR terhadap virus subtipe H5 menunjukkan hasil 5 sampel positif dari 31 sampel yang diperiksa nilai *incident rates* (IR) 0,031 (SK 95%; 0,013-0,075) per bulan dar LBM yang berisiko. Nilai IR 0,031 berarti bahwa tiap bulan pada 100 LBM berisiko yang diperiksa dapat ditemukan 3 sampel positif terhadap virus subtipe H5.

Kondisi lingkungan LBM yang belum tertata dengan baik, dapat menjadi sumber penyebaran virus H5 di lapangan. Hal ini disebabkan karena sulitnya menjamin unggas yang diperjualbelikan di LBM terbebas dari virus H5. Selain itu, LBM masih merupakan pusat perekonomian yang luas dalam hal jual beli barang-barang kebutuhan sehari-hari bagi sebagian besar masyarakat di Indonesia karena memiliki harga yang cenderung lebih murah dibandingkan dengan supermarket modern. Oleh karena itu, interaksi antara penjual dan pembeli serta unggas yang ada di lingkungan LBM dapat menjadi potensi penularan penyakit zoonosis termasuk virus AI (Webster, 2004). Laporan penelitian sebelumnya telah menyatakan bahwa beberapa kasus AI pada manusia disebabkan oleh penularan virus dari LBM (Wang *et al.* 2006; Dharmayanti *et al.* 2014).

Pada umumnya, jenis unggas yang dijual di LBM memiliki lebih dari satu jenis yang terdiri dari ayam broiler, ayam kampung, itik, dll. Unggas yang diperjualbelikan oleh pedagang di LBM dapat berupa unggas hidup dan daging unggas. Pada sebagian besar LBM, unggas yang belum terjual biasanya

ditempatkan pada kandang-kandang sementara. Unggas-unggas yang dijual berasal dari berbagai peternakan ataupun pengepul unggas dari berbagai daerah sehingga sulit untuk diketahui status kesehatan unggas tersebut terhadap berbagai macam penyakit termasuk virus AI (Ratnawati A *et al.* 2015).

Beberapa penelitian sebelumnya menyatakan bahwa LBM dapat berperan sebagai reservoir AI yang dapat menular baik ke unggas maupun manusia (Shortridge *et al.* 1998; Davidson *et al.* 1999). LBM juga bisa menjadi sumber penyebaran dan evolusi virus AI yang disebabkan karena unggas air bercampur dengan unggas lainnya pada waktu proses jual beli unggas (Ratnawati *et al.* 2015; Fatima *et al.* 2016). Selain itu, ekosistem pasar tradisional ternyata memberikan kondisi ideal untuk terjadinya proses *reassortment* beberapa strain virus influenza menjadi strain baru (Hartawan *et al.* 2014).

Beberapa sampel yang diuji pada 3 (tiga) kabupaten/kota di Jawa Barat juga menunjukkan positif di terhadap virus H5 clade 2.3.2.1 (Tabel 2; Gambar 3). Hal ini sesuai dengan penelitian Wibawa *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa pada akhir tahun 2012, virus H5 Clade 2.3.2.1 berhasil diisolasi dan diidentifikasi sebagai agen penyebab wabah kematian unggas air domestik di beberapa daerah di Indonesia. Hal ini terjadi akibat introduksi virus HPAI H5N1 baru ke Indonesia.

Peran penting LBM dalam perkembangan dinamika virus AI subtipe H5 perlu diperhatikan dengan cara perbaikan dan restrukturisasi LBM serta program pembersihan dan desinfeksi untuk meminimalisir dan mengeleminasi virus AI pada lingkungan LBM di Indonesia..

KESIMPULAN DAN SARAN

Prevalensi tertinggi virus subtipe H5 sebesar 100% terjadi di Kabupaten Indramayu dengan uji lanjutan H5 Clade 2.3.2.1 dengan hasil seluruh sampel yang diperiksa (3 sampel) menunjukkan hasil positif, sedangkan prevalensi total virus subtipe H5 pada lingkungan LBM di Jawa Barat adalah sebesar 5.87% (SK 95%: 3.87%-8.19%). Selain itu, uji lanjut terhadap hasil sampel yang positif terhadap H5 yang kemudian dilanjutkan dengan uji H5 Clade 2.3.2.1 adalah sebesar 78,26% (SK 95%: 61,4%-95,12%).

Kontaminasi virus pada lingkungan yang diduga berasal dari pemotongan unggas, produk unggas serta peralatan yang tercemar sehingga perlu dilakukan perbaikan lingkungan LBM untuk mengurangi potensi zoonosis virus H5 dari hewan ke manusia.

Untuk selanjutnya, perlu dilakukan surveilans AI pada LBM baik pada sampel unggas hidup maupun lingkungan. Selain itu, sebaiknya menerapkan sistem surveilans secara periodik agar mendapatkan gambaran dinamika penyakit AI subtype H5 secara lebih detail pada lingkungan LBM di Jawa Barat.

DAFTAR PUSTAKA

- Biswas PK, Giasuddin M, Nath BK, Islam MZ, Debnath C, Yamage M. 2015. Biosecurity and Circulation of Influenza A (H5N1) Virus in Live Bird Markets in Bangladesh, 2012. *Transboundary and Emerging Diseases*. 64 (2015):883–891. doi: <https://doi.org/10.1111/tbed.12454>.
- Biswas PK, Giasuddin, Chowdhury P, Barua H, Debnath NC, Yamage M. 2017. Incidence of contamination of live bird market in Bangladesh with influenza A virus and subtypes H5, H7 and H9. *Transbound Emerg Dis*. 2017:1-9. doi:10.1111/tbed.12788.
- Davidson A, Giligan D, Eckert TE, Ziegler AF, and Eckroade RJ. 1999. Economic analysis of an outbreak of avian influenza. *J Am Vet Med Assoc*. 214:1164-1167.
- Dharmayanti NLPI, Hartawan R, A Ratnawati, Indriani R. 2014. Genetic Characterization of H5N1 Avian Influenza Viruses Isolated from Pet Bird and Chickens from Live Bird Market in Bali and Bekasi (Indonesia), 2011. *Afr J of Microb Res*. 8(3):244-251. doi: 10.5897/AJMR2013.5609.
- Fatima Z, Khan MA, Ahmad MD, Muhammad K, Khwaja KN, Anwar, Ahad A, Mahmood A. 2016. Cross Sectional Survey of Live Bird Markets and Zoo Birds for Circulating Influenza Subtypes in Pakistan. *Pak Vet J* [Internet]. [diunduh 2019 Juni 11];2016:1-6. Tersedia pada: https://www.researchgate.net/publication/312122004_Cross_Sectional_Survey_of_Live_Bird_Markets_and_Zoo_Birds_for_Circulating_Influenza_Subtypes_in_Pakistan
- Hartawan R, Dharmayanti NLPI. 2014. Sirkulasi Virus Avian Influenza Subtype H5N1 di Pasar Tradisional di Jawa Timur Tahun 2012. *Berita Biologi*. 13(1):97-106. doi: <https://doi.org/10.14203/beritabiologi.v13i1.658>.
- Hassan MM, Hoque MA, Ujvari B, Klaassen M. 2018. Live bird markets in Bangladesh as a potentially important source for Avian Influenza Virus transmission. *J Pre Vet Med*. 156(2018):22-27. doi:<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2018.05.003>.
- Heine HG, Trinidad L, Selleck P, Lowther S. 2007. *Avian Diseases*. 51(2007):370-372. doi:<http://dx.doi.org/10.1637/7587-040206R.1>.

- Heine HG, Foord AJ, Wang J, Valdeter S, Walker S, Morrissy C, Wong FYK, Meehan B. 2015. Detection of highly pathogenic zoonotic influenza virus H5N6 by reverse-transcriptase quantitative polymerase chain reaction. *Virology J.* 12(18):01-04.doi:10.1186/s12985-015-0250-3.
- Indriani R, Samaan G, Gultom A, Loth L, Indryani S, Adjid RMA, Dharmayanti NLPI, Weaver J, Mumford E, Lokuge K, Kelly PM, Darminto. 2010. Environmental Sampling for Avian Influenza A (H5N1) in Live-Bird Markets, Indonesia. *Emerg Infect Dis.* 16(12):1889-1895.doi:10.3201/eid1612.100402.
- Ratnawati A, Dharmayanti NLPI. 2015. Deteksi Virus Avian Influenza Subtipe H5N1 di Beberapa Pasar Unggas Hidup Dalam Wilayah Propinsi Jawa Barat Sekitarnya. *JKed Hewan.* 9(1):14-19.doi:https://doi.org/10.21157/j.ked.hewan.v9i1.2778.
- Rotinsulu DA, Setyaningsih S, Siregar AA. 2017. Molecular detection of Avian Influenza virus from birds sold in a multi-species animal market at Jakarta-Indonesia. *Bali Med J.* 3(3):S75-S79.doi:10.15562/bmj.v3i3.729.
- Shortridge KF, Zhou NN, Guan Y, Gao P, Ito T, Kawaoka Y, Kodihali S, Krauss S, Markwell D, Murti KG, Noorwood M, Senne D, Sims L, Takada A, and Webster RG. 1998. Characterization of avian H5N1 influenza viruses from poultry in Hong Kong. *Virology.* 252(2):331-342.doi:https://doi.org/10.1006/viro.1998.9488
- Wang M, Di B, Zhou DH, Zheng BJ, Jing H, Lin YP, Liu YF, Wu XW, Qin PZ, Wang YL, Jian LY, Li XZ, Xu JX, Lu EJ, Li TG and Xu J. 2006. Food Markets with Live Birds as Source of Avian Influenza. *Emerg Inf Dis.* 12(11):1773-1775.doi: https://doi.org/10.3201/eid1211.060675.
- Webster RG. 2004. Wet Market – A Continuing Source of Severe Acute Respiratory Syndrome and Influenza?. *The Lancet.* 363 (9404):234-246. doi: https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)15329-9.
- Wibawa H, Dharmawan R, Irianingsih SH. 2014. Dinamika dan Evolusi Virus Highly Pathogenic Avian Influenza H5N1 di Indonesia, 2008-2014. *Buletin Lab Vet* [Internet]. [diunduh 2019 Juni 02];14(3):11-19. Tersedia pada: http://bbvetwates.ditjenpkh.pertanian.go.id/content/buletin/dinamika_virus_avian_influenza.
- Wibawa H, Foord A, Morrissy C. 2017. Pengembangan Metode Deteksi Virus Influenza Tipe A dan Diferensiasi Subtipe H5 Clade 2.1.3.2 dan Clade 2.3.2.1 dengan Teknik Realtime Polymerase Chain Reaction. *Buletin Lab Vet.* 17(3):9-16.