

KAJIAN RESPON IMUN AYAM PETELUR PASCAVAKSINASI AVIAN INFLUENZA (AI) DI DELAPAN PROVINSI DI INDONESIA TAHUN 2022

Ramlah, Nur Khusni Hidayanto, Sri Suryanti, Yati Suryati

Unit Uji Virologi

Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat hewan, Gunungsindur-Bogor, 16340

Email: ramlahfg@gmail.com

ABSTRAK

Penyakit *Avian Influenza* (AI) disebabkan oleh virus influenza tipe A, diantaranya adalah virus AI subtipe H5, merupakan salah satu yang paling diwaspadai karena kemampuannya dalam menimbulkan wabah pada hewan maupun manusia (*zoonosis*). Tujuan kajian ini untuk menganalisis status kekebalan pascavaksinasi AI pada ayam petelur di delapan provinsi di Indonesia, yaitu Sumatera Selatan, Banten, Jawa tengah, Bali, Jawa Barat, Sumatera Utara, Lampung dan Kalimantan Barat. Sampel sebanyak 550 serum disampling dari peternakan ayam petelur pascavaksinasi AI tiga sampai enam minggu. Riwayat vaksinasi peternakan ayam petelur diperoleh dari data kuesioner. Sampel serum di uji *Haemagglutination Inhibition* (HI) terhadap antigen AI subtipe H5N1 strain A/Chicken/Semarang/04141225-07/2014 (Clade 2.3.2) dan antigen AI subtipe H9N2 strain A/chicken/Sidrap/07170094-440/2017. Hasil menunjukkan vaksinasi AI dengan titer protektif 70 % terhadap AI subtipe H5N1 yaitu Provinsi Banten, Jawa Tengah, Bali, Jawa Barat, Sumatera Utara, Lampung dan Kalimantan Barat. Vaksinasi AI yang berhasil menimbulkan titer antibodi positif terhadap virus AI subtipe H9N2 yaitu yang dilaksanakan di Provinsi Banten, Jawa Tengah, Bali, Jawa Barat, dan Sumatera Utara.

Kata Kunci: *Avian Influenza*, uji *Haemagglutination Inhibition*, AI Subtipe H5N1, AI Subtipe H9N2

ABSTRACT

Avian Influenza (AI) disease is caused by type A influenza viruses, including the AI subtype H5 virus, which is one of the most alert because of its ability to cause epidemics in animals and humans (zoonosis). The purpose of this study was to analyze post-vaccination AI immune status in laying in eight provinces in Indonesia, namely South Sumatra, Banten, Central Java, Bali, West Java, North Sumatra, Lampung and West Kalimantan. A sample of 550 sera was obtained from laying hens after three to six weeks of AI vaccination. Vaccination history of laying was gained from questionnaire data. Serum samples were tested for Haemagglutination Inhibition (HI) against AI antigen subtype H5N1 strain A/Chicken/Semarang/04141225-07/2014 (Clade 2.3.2) and AI antigen subtype H9N2 strain A/chicken/Sidrap/07170094-440/2017. The results showed AI vaccination with a protective titer of 70% against AI subtype H5N1, namely the Provinces of Banten, Central Java, Bali, West Java, North Sumatra, Lampung and West Kalimantan. AI vaccinations that have resulted in positive antibody titres against AI virus subtype H9N2 were carried out in the provinces of Banten, Central Java, Bali, West Java and North Sumatra.

Keywords: *Avian Influenza*, *Haemagglutination Inhibition test*, AI Subtype H5N1, AI Subtype H9N2

PENDAHULUAN

Penyakit *Avian Influenza* (AI) disebabkan oleh virus influenza tipe A yang dibagi menjadi beberapa subtipe berdasarkan kombinasi glikoprotein hemagglutinin (HA) dan neuraminidase (NA). Terdapat 16 jenis HA dan sembilan jenis NA yang diidentifikasi pada unggas (OIE 2021). Berdasarkan patogenitasnya virus AI 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 (Alexander, 2000; Harimoto and Kawaoka, 2001). Virus AI yang sangat patogenik sampai saat ini ditimbulkan oleh subtipe H5 dan H7 (Wasito *et al.*, 2014).

Virus AI subtipe H5 merupakan salah satu yang paling diwaspadai karena kemampuannya dalam menimbulkan wabah pada hewan maupun manusia (*zoonosis*). Kejadian penyakit AI subtipe H5N1 yang terjadi di berbagai negara telah menimbulkan kerugian pada industri perunggasan karena menyebabkan kematian unggas yang sangat tinggi (mencapai 90%) dan kerugian ekonomi bagi peternak. Penyakit ini merupakan penyakit eksotik yang termasuk dalam *list A Office International des Epizootic* (OIE) dan harus dilaporkan, penyebarannya sangat cepat dan menyebar hampir keseluruhan negara (OIE 2021). Penyakit AI subtipe H5N1 yang mewabah dan endemik di Indonesia sejak 2003 telah menyebabkan kerugian ekonomi dan korban jiwa manusia yang signifikan (Hartawan dan Dharmayanti 2012). Virus AI subtipe H5N1 pada tahun 2014 hingga tahun 2019 yang berhasil diisolasi di *live bird market* (LBM), di beberapa provinsi di Indonesia adalah kelompok *Clade* 2.1.3.2 dan *Clade* 2.3.2.1, serta beberapa telah mengalami *reassortment*

dari kedua *Clade* tersebut (Dharmayanti *et al.* 2020).

Salah satu subtipe virus LPAI adalah H9N2 (Bano *et al.*, 2003). Virus *Avian Influenza* subtipe H9N2 telah menjadi perhatian bagi kesehatan unggas dalam 20 tahun terakhir (Pusch dan Suarez, 2018). Virus AI subtipe H9N2 menyebabkan kerugian ekonomi yang besar pada industri perunggasan (Thuy *et al.*, 2016). Mayoritas ayam yang terinfeksi virus AI subtipe H9N2 menunjukkan gangguan pernapasan dan penurunan produksi telur (Kim, 2018). Virus AI subtipe H9N2 muncul pada unggas domestik pada pertengahan tahun 1990-an (Fusaro *et al.*, 2011). Pada akhir tahun 2016 dilaporkan terjadinya kasus penurunan produksi telur pada peternakan ayam petelur di beberapa provinsi di Indonesia yang disebabkan oleh virus AI subtipe H9N2 (Natih *et al.*, 2020) Virus AI subtipe H9N2 telah menyebar di berbagai provinsi di Indonesia diantaranya Sumatera Utara, Sumatera Selatan, Jawa Timur dan Bali (Jonas *et al.*, 2018). Berdasarkan sifat *zoonosis* dan besarnya dampak kerugian ekonomi yang ditimbulkan, maka pada Keputusan Menteri Pertanian Nomor 4026/Kpts/OT.140/3/2013 penyakit AI ditetapkan sebagai salah satu Penyakit Hewan Menular Strategis (PHMS) prioritas.

Salah satu tugas pokok dan fungsi BBPMSOH yang diamanatkan melalui Keputusan Menteri Pertanian Nomor 53/Permentan/OT.140/5/2013 tentang Organisasi dan Tata Kerja Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan adalah melakukan pengkajian obat hewan dalam rangka pengawasan konsistensi mutu obat hewan yang telah diregistrasi yang beredar di Indonesia. Kegiatan yang mendukung pengkajian obat hewan maka dilakukan pengujian terhadap serum pascavaksinasi AI di beberapa provinsi di Indonesia. Tujuannya untuk menganalisis

status kekebalan pascavaksinasi AI pada ayam petelur di delapan provinsi di Indonesia, yaitu Sumatera Selatan, Banten, Jawa tengah, Bali, Jawa Barat, Sumatera Utara, Lampung dan Kalimantan Barat.

MATERI DAN METODE

MATERI

Materi Sampling

Bahan dan alat pada saat pengambilan sampel diantaranya *cooler box*, *ice packs*, *thermometer*, spuit 3 ml, kapas alkohol, tabung 1.8 ml, kotak serum, alat pelindung diri (APD), *marker*, label dan parafilm.

Materi Pengujian

Bahan dan alat uji hambatan aglutinasi yaitu antigen AI subtipe H5N1 (strain A/Chicken/Semarang/04141225-07/2014 (Clade 2.3.2) dan AI subtipe H9N2 A/chicken/Sidrap/07170094-440/2017 (Pusvetma), serum positif AI, serum negatif AI, sampel serum hasil vaksinasi, *Phosphate Buffer Saline/PBS* (Gibco), *Red Blood Cell* (RBC) 1 %, larutan *Alsever*, alkohol 70%, iodine, *microplate 96 well V-bottom* (Nunc), *multichannel* 10-100 μ l, *single channel* 25-100 μ l, *tips* 10-200 μ l, *pipet aids*, *pipet measure* 1, ml, 10 ml, 20 ml, *Biosafety Cabinet* (BSC) tipe 2A, *shaker*, *sentrifus*, *reservoir*, *chamber*, masker, sarung tangan, dan *baker* plastik volume 2 l (*autoclavable*).

METODE

Metode Sampling

Pemilihan lokasi ditentukan berdasarkan peta kasus penyakit AI (iSIKHNAS, 2021) dan populasi ternak pada tahun 2021 (BPS, 2021). Besaran sampel serum tiap provinsi ditentukan dari populasi dan *prevalensi* yang diperoleh dari pengkajian tahun 2020 sebesar 80% dengan tingkat kepercayaan 90%, *presisi* 10% dan *recovery rate* 10%. Sampel serum ayam petelur pascavaksinasi AI diambil dari delapan provinsi di Indonesia, terdiri dari Sumatera Selatan, Banten, Jawa Tengah, Bali, Jawa Barat,

Sumatera Utara, Lampung dan Kalimantan Barat (Tabel 1). Sampel darah diambil melalui vena *brachialis*

Metode Pengujian

Tahapan pengujian *Haemagglutination (HA)* dan *Haemagglutination Inhibitor (HI)* sesuai dengan metode standar (OIE 2021).

Uji Haemagglutination (HA)

Larutan PBS dimasukkan ke dalam 12 sumur *microplate* sebanyak 25 μ l kemudian ditambahkan 25 μ l suspensi antigen ke dalam sumur pertama *microplate* dan dihomogenasi sebanyak 10 kali, kemudian dilakukan pengenceran kelipatan dua dengan volume 25 μ l dari sumuran ke-1 sampai sumuran ke-11 dan buang sisa cairan tersebut. Larutan PBS ditambahkan kembali sebanyak 25 μ l pada sumur ke-1 sampai 12, kemudian ditambahkan 25 μ l RBC 1% ke dalam 12 sumur. Selanjutnya dihomogenasi menggunakan *microplate shaker* dan diinkubasi selama 40 menit pada suhu ruang. Pengamatan dilakukan dengan cara memiringkan *microplate* 45° agar terlihat ada tidaknya aliran RBC. Titer HA ditentukan dari pengenceran tertinggi dimana memberikan komplim haemagglutinasi. Antigen dianggap positif jika sel darah merah terjadi aglutinasi.

Uji Back Titration

Larutan PBS dimasukkan ke dalam 7 sumur *microplate* sebanyak 25 μ l kemudian ditambahkan 25 μ l suspensi antigen ke dalam sumur pertama dan kedua *microplate* dan sumur kedua dihomogenasi sebanyak 10 kali. Pengenceran kelipatan dua dengan volume 25 μ l dari sumuran ke-2 sampai sumuran ke-6 dan buang sisa cairan tersebut. Larutan PBS ditambahkan kembali sebanyak 25 μ l pada sumur ke-2 sampai ke-7, kemudian ditambahkan 25 μ l RBC 1% ke dalam 7 sumur. Pengujian dilakukan tiga kali (*triplo*) pengulangan pada sumur *microplate*. Selanjutnya dihomogenasi menggunakan *microplate shaker* dan diinkubasi

selama 40 menit pada suhu ruang. Pengamatan dilakukan dengan cara memiringkan *microplate* 45° agar terlihat ada tidaknya aliran RBC. Titer HA ditentukan dari pengenceran tertinggi dimana memberikan komplit haemagglutinas. Antigen dianggap positif jika sel darah merah terjadi aglutinasi.

Uji Haemagglutination Inhibitor (HI)

Larutan PBS 25 µl dimasukkan pada setiap sumur *microplate*, kemudian ditambahkan dengan 25 µl setiap sampel serum ke dalam setiap sumuran pertama dan dilakukan pengenceran seri hingga sumur terakhir. Antigen AI 4 HAU ditambahkan sebanyak 25 µl pada setiap sumur. Setelah itu *microplate* dihomogenasi menggunakan *microplate shaker*, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Sebanyak 25 µl RBC 1% ditambahkan ke dalam setiap sumur. *Microplate* kemudian *dishaker* dan diinkubasikan selama 40 menit pada suhu ruang. Hasil dibaca dengan memiringkan *microplate* agar terlihat ada tidaknya aliran RBC. Titer antibodi dibawah 2⁴

atau 16 HI unit diinterpretasikan sebagai hasil negatif sedangkan titer $\geq 2^4$ dihitung sebagai hasil positif (OIE 2021).

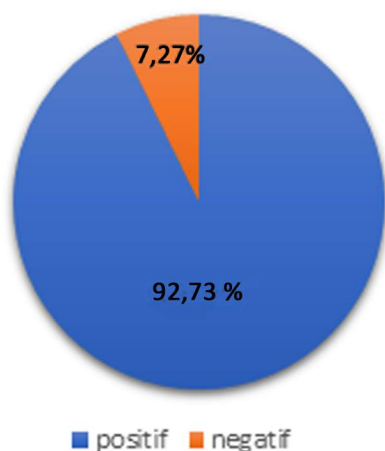
HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel serum pascavaksinasi AI H5N1 dan H9N2 sebanyak 550 berasal dari ayam petelur dengan umur 19 sampai dengan 25 minggu. Sampel serum berasal dari peternakan dari delapan provinsi di Indonesia. Sampel serum diambil dari ayam petelur yang telah divaksinasi AI minimal tiga sampai dengan enam minggu. Sampel serum diuji dengan uji hambatan aglutinasi untuk mengukur titer antibodi terhadap virus AI (OIE, 2021). Antigen yang digunakan yaitu antigen AI subtipe H5N1 dan antigen AI subtipe H9N2. Titer antibodi terhadap AI subtipe H5N1 dinyatakan positif jika mempunyai titer minimal 16 (Ditjennak 2007; OIE 2021). Titer antibodi terhadap AI subtipe H9N2 dinyatakan positif jika mempunyai titer minimal 128 (≥ 128) dan mampu mengurangi *shedding* virus AI (Ditjennak, 2018; OIE 2021).

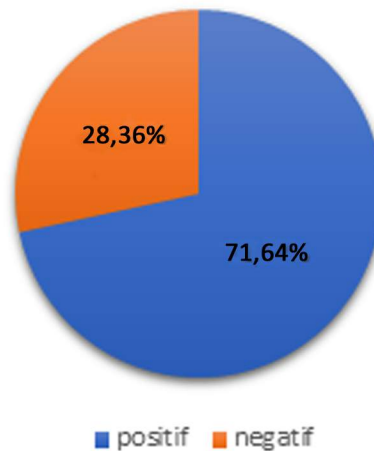
Tabel 1 Data Lokasi dan Besaran Sampel Serum Pascavaksinasi AI

No	Provinsi	Kabupaten/Kota	Jumlah sampel
1	Sumatera Selatan	Banyuasin	50
2	Banten	Tangerang	50
3	Jawa Tengah	Sukoharjo	100
4	Bali	Bangli	50
5	Jawa Barat	Cianjur	100
6	Sumatera Utara	Binjai	100
7	Lampung	Pringsewu	50
8	Kalimantan Barat	Singkawang Selatan	50
Total			550

Titer Antibodi AI Subtipe H5N1



Titer Antibodi AI Subtipe H9N2



Gambar 1 Titer Antibodi AI Subtipe H5N1 dan Titer Antibodi Subtipe H9N2

Hasil pengujian titer antibodi terhadap antigen AI subtipe H5N1 strain A/Chicken/Semarang/04141225-07/2014 (Clade 2.3.2) dari 550 sampel menunjukkan, sebanyak 510 serum (92,73%) positif memiliki antibodi AI diatas 16 (≥ 16) dan 40 serum (7,27%) menunjukkan hasil yang negatif. Selain itu, hasil pengujian titer antibodi terhadap antigen AI subtipe H9N2 strain dari 550 sampel menunjukkan sebanyak 394 serum (71,64%) positif diatas 128 (≥ 128) dan 156 serum (28,36%) menunjukkan hasil yang negatif (Gambar 1 dan Tabel 2).

Pada Tabel 2 dapat dilihat titer antibodi pascavaksinasi AI berdasarkan pengujian titer antibodi terhadap virus AI subtipe H5N1 dan subtipe H9N2. Vaksinasi AI dinyatakan protektif terhadap flock apabila lebih dari 70% mempunyai titer lebih besar dari 16 (> 16)⁽⁸⁾. Vaksinasi AI yang berhasil menimbulkan titer antibodi positif terhadap virus AI H5N1 lebih dari 70% pada flock yaitu yang dilaksanakan di Provinsi Banten, Jawa Tengah, Bali, Jawa Barat, Sumatera Utara, Lampung dan Kalimantan Barat. Sedangkan di Provinsi Sumatera Selatan diperoleh presentase titer antibodi sebesar 52%. Vaksinasi AI yang berhasil menimbulkan titer antibodi positif terhadap virus AI H9N2 yaitu yang dilaksanakan

di Provinsi Banten, Jawa Tengah, Bali, Jawa Barat, dan Sumatera Utara. Sedangkan di Provinsi Sumatera Selatan, dan Lampung diperoleh presentase titer antibodi sebesar 62% dan 22%. Pada Provinsi Kalimantan Barat sampel serum tidak memiliki titer antibodi terhadap H9N2 dikarenakan kandungan vaksin yang digunakan tidak mengandung AI Subtipe H9N2.

Berdasarkan data kuesioner dari peternakan ayam petelur di provinsi tersebut diantaranya vaksinasi AI pada ayam petelur dilakukan sebanyak 1 kali hingga 3 kali selama periode pemeliharaan. Pelaksanaan vaksinasi AI dilakukan oleh *technical services* dari distributor vaksin AI, dan beberapa juga dilakukan oleh pegawai dari peternakan tersebut. Pelaksanaan kebersihan kandang meliputi pengambilan kotoran ayam yang dilakukan rata-rata 1 kali seminggu bahkan masih ada yang dilakukan 2 kali dalam setahun, pembersihan kandang telah menggunakan desinfektan, namun pencucian alat makan ayam layer masih ada yang menggunakan air kran.

Keberhasilan program vaksinasi dapat dipengaruhi berbagai faktor diantaranya tata laksana vaksinasi diantaranya, tata laksana

peternakan serta pelaksanaan biosekuriti lingkungan yang memadai. Kegagalan suatu vaksinasi dapat disebabkan karena program vaksinasi yang tidak sesuai dengan usia, putus rantai dingin pada penanganan dan penyimpanan vaksin, aplikasi vaksin yang tidak *lege artis*, tingkat stres yang tinggi pada unggas, manajemen kandang yang buruk, kualitas vaksin yang buruk, jenis *serotipe* vaksin yang tidak sesuai dengan virus yang bersirkulasi di lapangan dan keberadaan antibodi asal induk (Motjaba *et al.*, 2012; Swayne *et al.*, 2015).

Negara yang terinfeksi endemik AI, disarankan tetap melakukan surveilans virus

AI dan seromonitoring, dan pelaksanaan biosekuriti, untuk mengidentifikasi dan mengurangi kegagalan vaksinasi AI (Capua dan Alexander, 2004; OIE, 2019). Identifikasi secara serologi adalah suatu cara surveilans untuk mengetahui pola penyebaran penyakit AI di lapangan (Kusumastuti *et al.*, 2015). Penyebaran virus dalam suatu daerah dapat dilakukan dengan cara surveilans keterpaparan virus pada hewan dan secara alami keterpaparan virus pada hewan akan merangsang respon kekebalan humoral dalam tubuh yang membentuk antibodi (Darmawi *et al.*, 2012).

Tabel 2 Data Hasil Titer Antibodi AI Subtipe H5N1 dan Titer Antibodi AI Subtipe H9N2

No	Provinsi	Strain Vaksin	Jumlah sampel	Titer Antibodi AI H5N1			Titer Antibodi AI H9N2	
				<16 (Negatif)	16 - <32 (Positif)	≥32 (Protektif)	<128 (Negatif)	≥128 (Positif)
1	Sumatera Selatan	H5N1+H9N2	50	17 (34%)	7 (14%)	26 (52%)	19 (38%)	31 (62%)
2	Banten	H5N1+H9N2	50	0 (0%)	1 (2%)	49 (98%)	9 (18%)	41 (82%)
3	Jawa Tengah	H5N1+H9N2	100	0 (0%)	2 (2%)	98 (98%)	15 (15%)	85 (85%)
4	Bali	H5N1+H9N2	50	1 (2%)	4 (8%)	45 (90%)	2 (4%)	48 (96%)
5	Jawa Barat	H5N1+H9N2	100	0 (0%)	11 (11%)	89 (89%)	1 (1%)	99 (99%)
6	Sumatera Utara	H5N1+H9N2	100	13 (13%)	17 (17%)	70 (70%)	21 (21%)	79 (79%)
7	Lampung	H5N1+H9N2	50	2 (4%)	5 (10%)	43 (86%)	39 (78%)	11 (22%)
8	Kalbar	H5N1	50	7 (14%)	2 (4%)	41 (82%)	50 (100%)	0 (0%)
TOTAL			550	40/550 (7,27%)	49/550 (8,91%)	461/550 (83,82%)	156/550 (28,36%)	394/550 (71,64%)

KESIMPULAN

Hasil pengujian sampel serum ayam petelur pascavaksinasi AI dari delapan provinsi diperoleh gambaran bahwa vaksinasi AI yang berhasil menimbulkan titer antibodi positif terhadap virus AI subtipe H5N1 dengan nilai persentase 70% yaitu yang dilaksanakan di Provinsi Banten, Jawa Tengah, Bali, Jawa Barat, Sumatera Utara, Lampung dan Kalimantan

Barat, sedangkan vaksinasi AI yang berhasil menimbulkan titer antibodi positif terhadap virus AI subtipe H9N2 yaitu yang dilaksanakan di Provinsi Banten, Jawa Tengah, Bali, Jawa Barat, dan Sumatera Utara.

SARAN

Peningkatkan tingkat keberhasilan program vaksinasi perlu dilakukan evaluasi pelaksanaan

vaksinasi AI di lapangan antara lain aplikasi vaksin, penerapan rantai dingin dan sumber daya manusia. Monitoring pascavaksinasi perlu peran aktif dinas agar sampel yang diuji mewakili kondisi nyata di lapangan melalui pasif servis (pelayanan Kiriman Daerah/KD). Perlu diberikan *booster* vaksin AI subtipe H5N1 dan H9N2, lebih dari 2x dalam satu periode pemeliharaan ayam layer dan perlu dilakukan *booster* pada ayam yang lebih dari 30-40 minggu. Pelaksanaan vaksinasi ayam layer juga diberikan vitamin untuk mengurangi tingkat stres ayam. Peternakan dan produsen vaksin perlu melakukan pengecekan titer antibodi secara periodik untuk menentukan waktu yang tepat untuk melakukan *booster* vaksin AI selama periode pemeliharaan

DAFTAR PUSATAKA

- Alexander DJ. 2000. A Review of Avian influenza in Defferent Bird Species. *Vet. Microbiol.* 74: 3-13.
- Bano SK, Naemm SA, Mail. 2003. Evaluation Evaluation of pathogenic potential of Avian Influenza virus serotype H9N2 in chickens. *Avian Dis* 47: 817-822.
- [BPS] Badan Pusat Statistik. Terdapat pada <https://www.bps.go.id/indicator/24/477/1/populasi-ayam-ras-petelur-menurut-provinsi.html>. [diunduh pada 05 Januari 2021]
- Capua I, Alexander DJ. 2004. Avian influenza: Recent developments. *Avian Pathol.* 33(4):393-404. doi:10.1080/03079450410001724085.
- Darmawi, Manaf ZH, Darniati, Fakhurrazi, Abrar M, Erina. 2012. Deteksi Antibodi Serum Terhadap Virus Avian influenza pada Ayam Buras. *Agripet* 12 (1): 23-27.
- Dharmayanti NLPI, Hewajuli DA, Ratnawati A. 2020. Genetic Diversity Of The H5N1 Viruses In Live Bird Markets , Indonesia. 21(4):1-13. *J Vet Sci.* 2020 Jul;21(4):e56 <https://doi.org/10.4142/jvs.2020.21.e56>
- [Ditjennak]. Direktorat Jenderal Peternakan. 2007. Farmakope Obat Hewan Indonesia. Jilid 1. Edisi 3.
- [Ditjennak]. Direktorat Jenderal Peternakan. 2008. Peraturan Menteri Pertanian Nomor 18/Permentan/OT.140/5/2008. Tentang Pedoman Penataan Kompartemen dan Penataan Zona Usaha Perunggasan. [Ditjennak]. Direktorat Jenderal Peternakan. 2018. Farmakope Obat Hewan Indonesia. Jilid 1. Edisi 5.
- Fusaro A, Monne I, Salviato A, Valastro V, Schivo A, Amarin NM, Gonzales C, Ismail MM, Al-Ankari A, Al-Blowi MH, Khan OA, Ali ASM, Hedayati A, Garcia JG, Ziay GM, Shouahtari A, Al-Qahtani KN, Capua I, Holmes EC, Cattoli G. 2011. Phylogeography and Evolutionary History of Reassortant H9N2 Viruses with Potential Human Health Implications. *Journal Of Virology* 85(16): 8413-8421.
- Harimoto T and Kawaoka Y. 2001. Pandemic Threat Posed by Avian Influenza A viruses. *Clin. Microbiol. Rev.* 14: 129-149.
- Hartawan R. dan Dharmayanti NLPI. 2014. Sirkulasi Virus Avian Influenza Subtipe H5N1 di Pasar Tradisional di Jawa Timur Tahun 2012. *Berita Biologi* 13(1).
- [iSIKHNAS] Sistem Informasi Kesehatan Hewan nasional. Terdapat pada <https://www.isikhnas.com/id>. [diunduh pada 05 Januari 2021].
- Jonas M, Sahestia A, Murwijatia T, Lestariningsiha CL, Irinea I, Ayesdaa CS, Prihartinia W, Mahardika GN. 2018. Identifikasi avian influenza virus subtype H9N2 in chicken farms in Indonesia. *Preventive Veterinary Medicine* 159: 99-105
- Kim SH. 2018. Challenge for One Health: CoCirculation of Zoonotic H5N1 and H9N2 Avian Influenza Viruses in Egypt. *Viruses* 10:121. doi: 10.3390/v10030121.
- Kusumastuti A, Syamsidar, Paderi AZ, Nurhandayani A, Kencana GAY. 2015. Identifikasi Secara Serologi Galur Virus Flu Burung Subtipe H5N1 *Clade* 2.1.3 dan *Clade* 2.3.2 pada Ayam Layer. *Jurnal Veteriner.* 16 (3) : 371-382.
- Mojtaba Y, Gary D Butcher AN, Miles RD, Ali R. 2012. The Culprits Of Vaccination Failures. *World Poultry - Elsevier.* 2 (18) :8.
- Natih KKN, Hidayanto NK, Setiawaty R, Suryati Y. 2020. Buletin Pengujian Obat Hewan-BBPM SOH. No.29. ISSN : 0852-9612.
- [OIE] Office International Des Epizooties/ World Organization for Animal Health. 2019. Infection With Avian Influenza. Chapter 10.4
- [OIE] Office International Des Epizooties/ World Organization for Animal Health. 2021. OIE Terrestrial Manual. Avian Influenza. https://www.woah.org/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/3.03.04_AI.pdf

- Pusch EA, Suarez DL. 2018. Review: The Multifaceted Zoonotic Risk of H9N2 Avian Influenza. *Vet Sci* 5: 82.
- Thuy DM, Peacock TP, Bich VTN, Fabrizio T, Hoang DN, Tho ND, Diep NT, Nguyen M, Hoa LNM, Trang HTT, Choisy M, Inui K, Newman S, Trung NV, Doorn RV, To TL, Iqbal M, Bryant JE. 2016. Prevalence and diversity of H9N2 avian influenza in chickens of Northern Vietnam. *Infect of Northern Evol.* 44: 530–540. Doi: 10.1016/j.meegid.2016.06.038.
- Swayne DE, Suarez DL, Spackman E, Jadhao S, Dauphin G, Kim-Torchetti M, McGrane J, Weaver J, Daniels P, Wong F, et al. 2015. Antibody Titer Has Positive Predictive Value for Vaccine Protection against Challenge with Natural Antigenic-Drift Variants of H5N1 High-Pathogenicity Avian Influenza Viruses from Indonesia. *J Virol.* 89 (7) : 3746–3762. doi:10.1128/jvi.00025-15
- Wasito R, Wuryastuti H, Tjahyowati G, Irianingsih SH, Tyasasmaya T. 2014. Detection and Differentiation of Pathogenic H5 and H7 Influenza A Virus Subtypes in Indonesia Poultry by Multiplex Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction. *Net. J.* 2: 27-31.