

ISSN. 0216-14864

DIAGNOSA VETERINER



BULETIN

Volume 23 Nomor 2 Tahun 2024

Alamat Redaksi:

Balai Besar Veteriner Maros
Jl. DR. Ratulangi, Maros, Sulawesi Selatan 90514

Website:

<https://bbvetmaros.ditjenpkh.pertanian.go.id/>

Chat Center: 085156438764



BULETIN
Volume 23 Nomor 1 Tahun 2024

BALAI BESAR VETERINER MAROS | Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan | Kementerian Pertanian

Diagnosa
Veteriner

Vol. 23

No. 02

Hal. 1-113

Maros
Des 2024

ISSN.
0216-1486

Dewan Redaksi

Pembina	:	Kepala Balai Besar Veteriner Maros.
Pengarah	:	Dr. drh. Muflihanah, M.Si.
Penanggung Jawab	:	drh. Hadi Purmana Wirawan, M.Kes.
Ketua Dewan Redaksi	:	drh. Wiwik Dariani, M.Sc.
Anggota Dewan Redaksi	:	drh. Dinar Hadi Wahyu H., M.Sc. drh. Titis Furi Djatmikowati
Ketua Sekretariat	:	drh. M. Gustav Satriadistfa S.
Anggota Sekretariat	:	Suryani Gesha Utami, AMd. Ramlan, AMd. I Putu Sudarma A. S., S.Kom

Periode Terbit: 2 kali setahun (Juni dan Desember)

Terbit Pertama Kali: April 2002

Jurnal Teknisa terbit pertama kali pada bulan Mei 2000. Bulletin Diagnosa Veteriner merupakan jurnal ilmiah berkala yang diterbitkan dua kali setahun oleh Tim Kerja Informasi Veteriner, Balai Besar Veteriner Maros, Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan, yang berisi artikel-artikel bidang investigasi veteriner, pengujian dan diagnosa penyakit hewan, kesehatan masyarakat veteriner, kajian epidemiologis, pengembangan teknik diagnose penyakit hewan, review ilmiah dan artikel ilmiah populer di bidang veteriner. Buletin Diagnosa Veteriner difokuskan pada artikel-artikel yang berasal dari hasil-hasil surveilans epidemiologis, penelitian laboratoris, telaah ilmiah, dan kajian pustaka yang ditambah dengan pemikiran penerapan pada kasus-kasus tertentu.

Pengantar Redaksi

Puji dan syukur kita panjatkan ke hadirat Allah Subhanahu Wata'ala, atas segala nikmat dan hidayah yang diberikan kepada kita sehingga Buletin Diagnosa Veteriner dapat kembali terbit. Penerbitan bulletin diagnose veteriner volume 23 Nomor 02 tahun 2024 kali ini menyajikan 6 tulisan ilmiah. Tulisan ilmiah yang tersaji merupakan hasil kajian surveilans, pengujian, dan review yang telah dilakukan oleh pegawai Balai Besar Veteriner Maros.

Dewan redaksi mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari para pembaca demi perbaikan bulletin ini kedepannya. Akhir kata, semoga tulisan yang tersaji pada bulletin ini dapat bermanfaat bagi para pembacanya.

Salam hangat kami,

Dewan Redaksi

DAFTAR ISI

Hasil Survei Classical Swine Fever di Wilayah Kerja Balai Besar Veteriner Maros Tahun 2023	1
Analisis Persentase seropositif <i>Toxoplasma gondii</i> pada Kambing di Makassar dan Jeneponto: Studi Serologi dengan Uji <i>ELISA</i>	29
Hasil Survei <i>African Swine Fever</i> di Wilayah Kerja Balai Besar Veteriner Maros Tahun 2023.....	42
Pengendalian Limbah Laboratorium yang Ramah Lingkungan Sesuai dengan ISO 14001:2015	57
<i>Schistosomiasis</i> pada Hewan di Sulawesi Tengah Tahun 2018-2023	67
Analisis Filogenetik Gen Hemagglutinin Virus <i>Influenza A Subtype H5N1</i> Isolat Ayam Petelur di Maros, Sulawesi Selatan, 2021	83
Manajemen Limbah di Laboratorium Bioteknologi dan Virologi Balai Besar Veteriner Maros	98
Deteksi <i>Jembrana Disease Virus</i> (JDV) pada Spesies Sapi Selain Sapi Bali (<i>Bos javanicus</i>) di Wilayah Kerja Balai Besar Veteriner Maros Tahun 2022 – Desember 2024	107

Analisis Filogenetik Gen Hemagglutinin Virus Influenza A Subtype H5N1 Isolat Ayam Petelur di Maros, Sulawesi Selatan, 2021

Dewi Mutisari^{1*}, Muflihanah¹, Lestari²

¹Balai Besar Veteriner Maros, Jl. Dr. Ratulangi, Maros, 90514, Sulawesi Selatan

²Balai Besar Veteriner Wates, Jl Wates-Yogyakarta Km.27, 55602, Daerah Istimewa Yogyakarta,

Email: dewimutisari@pertanian.go.id

Intisari

Avian Influenza (AI) adalah penyakit infeksius yang disebabkan oleh virus influenza tipe A. Infeksi *Avian Influenza Virus* (AIV) telah menyebabkan kerugian ekonomi di bidang industri peternakan dan masalah kesehatan masyarakat yang serius. Wabah HPAI H5N1 di Indonesia terjadi sejak tahun 2003. Berbagai upaya pencegahan dan pengendalian telah dilakukan, namun outbreak AIV masih terjadi hingga sekarang. Penelitian ini melakukan *whole-genome sequencing* (WGS) dengan teknik *next generation sequencing* (NGS) (Illumina) terhadap isolat ayam petelur yang berasal dari Kabupaten Maros, Sulawesi Selatan tahun 2021. Analisis molekuler dilakukan dengan melakukan *multiple alignment* dan prediksi asam amino menggunakan program MEGA 11. Pohon filogenetik dihasilkan melalui metode Neighbor-Joining dengan nilai *bootstrap* dihitung dari 1000 ulangan. Patogenesitas virus salah satunya dapat dilihat dari susunan asam amino *cleavage site* pada gen hemagglutinin (HA). Dari penelitian ini kami menyimpulkan bahwa isolat AIV ayam petelur dari Maros, Sulawesi Selatan tahun 2021 memiliki susunan asam amino PQRERRRK-GLF pada daerah *cleavage site* gen HA. Hal tersebut mengindikasikan bahwa isolat AIV tersebut merupakan virus AI yang bersifat patogen atau *high pathogenic avian influenza* (HPAI). Sedangkan berdasarkan analisis *clade* isolat AIV tersebut termasuk dalam virus H5N1 *clade* 2.3.2.1c.

Kata Kunci: *filogenetik, virus, influenza A, isolat, ayam petelur*

I. Pendahuluan

Virus influenza termasuk dalam family *Orthomyxoviridae* dan diklasifikasikan sebagai influenza tipe A. Virus influenza A dibagi menjadi sub tipe berdasarkan antigenesitas dua glikoprotein permukaan, hemagglutinin (HA) dan neuraminidase (NA) (Harimoto dan Kawaoka, 2001), yang sampai saat ini telah diidentifikasi 18 HA (H1-H18) dan 11 NA (N1-N11) (Mostafa *et al.*, 2018; Tong *et al.*, 2013). Virus AI terdiri dari 8 segmen gen yang mengkode 10 jenis protein yang berbeda yaitu delapan protein struktural (PB1, PB2, PA, HA, NP, NA, M1, dan M2) dan dua protein non struktural (NS1 dan NS2). Protein hemagglutinin

(HA) merupakan protein yang dikode oleh segmen 4 (Mostafa *et al.*, 2018) salah satu perannya adalah menentukan patogenesis virus AI (Asmara, 2007; Li *et al.*, 2011). Marka molekuler pada hemagglutinin yang sering dihubungkan karakter patogenesis virus adalah motif asam amino *polybasic* pada bagian *cleavage site*.

Virus influenza A pada unggas, manusia maupun spesies lain merupakan virus RNA yang mudah mengalami mutasi karena tidak mampu melakukan *proof reading* pada proses replikasi (Boyce *et al.*, 2009). Hemagglutinin merupakan pusat yang berperan dalam *antigenic drift* (Takano *et al.*, 2009). Perubahan struktur genetik virus influenza pada manusia dapat disebabkan karena peranan virus AI unggas. Reassortment genetik dan *antigenic drift* mengakibatkan 5 pandemi influenza yang terdokumentasi sejak tahun 1900 dan menjadi penyakit epidemik musiman yang masing-masing berulang setiap tahun (Urbaniak & Markowska-daniel, 2014).

Wabah AI pertama kali terjadi pada angsa di Goangdong tahun 1996 yang menyebabkan kerugian ekonomi pada industri perunggasan dan masalah serius pada kesehatan masyarakat (Swayne *et al.*, 2020). Sedangkan wabah avian influenza (AI) H5N1 di Indonesia awalnya terdeteksi di peternakan unggas pada Desember 2003 (Lam *et al.*, 2008). Selain pada unggas, virus AI dapat pula menyerang mamalia termasuk manusia (Subbarao *et al.*, 1998). Sampai sekarang wabah HPAI H5N1 masih ada dan tersebar di berbagai wilayah di Indonesia (Karo-Karo *et al.*, 2019; Wibawa *et al.*, 2018). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui patogenesis serta untuk melakukan klasifikasi *clade* dalam rangka mengidentifikasi kemungkinan adanya virus AI *clade* 2.3.4.4b isolat virus yang bersirkulasi

di Sulawesi pada tahun 2021. Dengan adanya data tersebut diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu acuan dalam pengendalian dan pemberantasan virus AI di Indonesia.

II. Materi dan Metode

Isolasi dan Identifikasi AIV

Penelitian ini menggunakan 40 sampel yang terdiri dari swab orofaring, swab kloaka, swab lingkungan dan organ dari surveilans penyakit AI oleh BBVet Maros di Kabupaten Maros, Sulawesi Selatan. Sampel-sampel dari lapangan disimpan dalam kondisi dingin di tabung berisi *viral transport medium* berupa *Dulbecco's Modified Eagle Medium* sampai diuji di laboratorium virologi BBVet Maros. Kemudian sampel diinokulasi dalam telur ayam berembrio *specific antibody negative* dan teridentifikasi 3 sampel positif AIV H5 berdasarkan prosedur OIE (OIE, 2021). 3 sampel positif tersebut yaitu 2 sampel merupakan swab kloaka ayam petelur dan 1 sampel swab lingkungan dari pasar unggas hidup. Sampel yang positif ini kemudian disimpan dalam freezer -80°C. Salah satu isolat yang selanjutnya disebut A/chicken/Maros/A07210044-6/2021 dipilih berdasarkan titer tertinggi dan dilakukan sekuensing.

Sekuensing dan Analisis Molekuler

Isolat A/chicken/Maros/A07210044-6/2021 yang sudah dikoleksi kemudian dikirim dan disekuensing di laboratorium rujukan nasional untuk penyakit AI, yaitu Balai Besar Veteriner Wates (BBVet Wates), Yogyakarta. Sekuensing dilakukan dengan teknik *next generation sequencing* (NGS) untuk dilakukan sekuensing keseluruhan genom atau *whole-genome sequencing* (WGS). Metode WGS yang digunakan sama seperti metode yang telah dilakukan oleh Lestari et al. (Lestari *et al.*, 2020). WGS dapat digunakan untuk mengurutkan

susunan nukleotida berbagai subtype virus influenza A manusia maupun hewan. WGS virus AI dilakukan dengan berbasis metode *multisegment* RT-PCR (mRT-PCR), yaitu mengamplifikasi delapan segemen gen virus AI secara bersamaan (Zhou *et al.*, 2009). Validasi dan penyusunan sekuen nukleotida dilakukan dengan CLC Genomic Workbench. Selanjutnya dilakukan assembly dengan teknik *de-novo assembly*. *Contiq* dari hasil *assembly* kemudian di BLAST pada *database* di NCBI (NCBI/ www.ncbi.nlm.nih.gov). Sekuen yang dipotong kemudian dipetakan ke referensi yang dipilih dan diekstrak menjadi FASTA. FASTA file gen HA selanjutnya dilakukan analisis nukleotida dan asam amino.

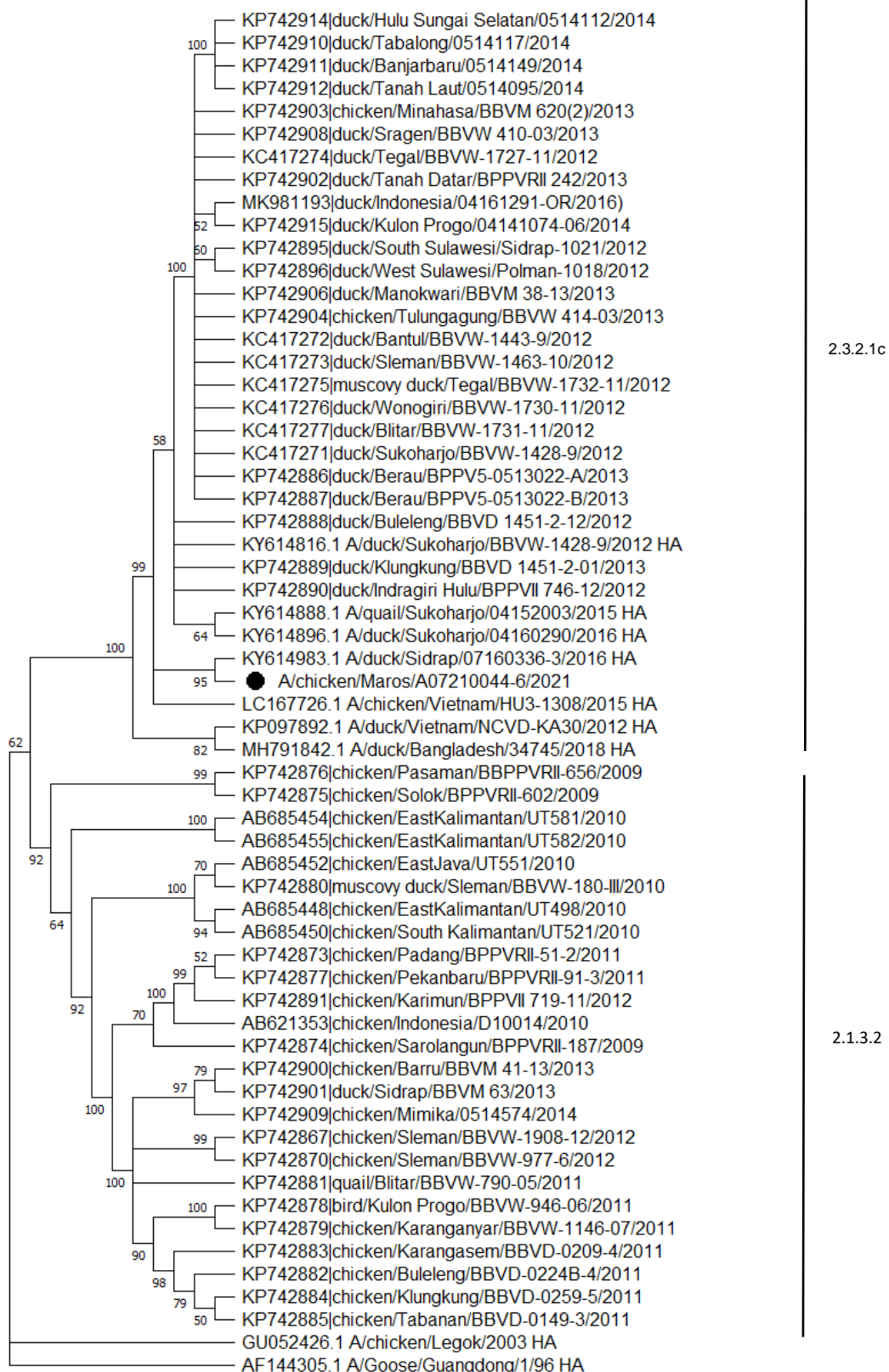
Analisis hasil sequencing dilakukan menggunakan *software* MEGA 11 (<http://www.megasoftware.net>) dengan melakukan *multiple alignment* dan prediksi asam amino. Pohon filogenetik dihasilkan melalui metode Neighbor-Joining dengan nilai *bootstrap* dihitung dari 1000 ulangan. Isolat virus pada penelitian ini dibandingkan dengan data gen virus AI H5N1 yang lebih dulu ditemukan dan diambil dari sekuen isolat virus AI yang ada di *National Center for Biotechnology Information* ([ncbi/www.ncbi.nlm.nih.gov](http://ncbi.nlm.nih.gov)).

III. Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan tingkat infeksi virus AI, maka virus tersebut dapat dikelompokkan atas dua tingkatan infeksi yaitu *highly pathogenic avian influenza* (HPAI) dan *low pathogenic avian influenza* (LPAI). OIE *Terrestrial Animal Health Code (Terrestrial Code)* mendefinisikan AI sebagai infeksi pada unggas yang disebabkan oleh virus influenza A dengan patogenisitas tinggi (HPAI) dan patogenisitas rendah subtype H5 dan H7 (H5/H7 LPAI) (OIE, 2021). Patogenisitas virus AI dapat ditentukan berdasarkan susunan asam amino pada gen HA (Asmara, 2007; Li *et al.*, 2011). Glikoprotein ini dikode oleh segmen 4 dan mempunyai

panjang sekitar 566 peptida atau sekitar 1778 basa (Pleska, 2013). Marka molekuler pada hemagglutinin yang sering dihubungkan karakter patogenesitas virus adalah susunan asam amino pada bagian *cleavage site*.

Hemagglutinin (HA0) terbagi menjadi dua domain yaitu HA1 dan HA2 yang dipisahkan oleh daerah *cleavage site* yang dapat dipotong oleh enzim protease (Suarez, 2016), yang secara normal dikode oleh asam amino monobasik (biasanya arginin) (Puthavathana *et al.*, 2005). Pada virus HPAI susunan asam amino pada daerah pembelahan HA mengalami perubahan yang mempengaruhi replikasi virus (Boyce *et al.*, 2009). Pada daerah pembelahan gen HA jika diisi asam amino basa tunggal akan dipecah oleh protease inang secara terbatas sehingga infeksi tidak parah atau asimtomatik, sebaliknya gen HA dengan asam amino *multiple basic* akan dipecah oleh ubiquitos protease sel inang yang menyebabkan infeksi parah atau sistemik (Li *et al.*, 2011). Diantara virus AI yang menyebabkan penyakit serius pada unggas terutama adalah yang mempunyai hemagglutinin H5, H7, dan kadang-kadang H9 (Asmara, 2007).



Gambar 1. Pohon filogenetik gen hemaglutinin virus influenza A H5N1. Sampel dalam penelitian ditandai dengan titik bulat dan berada pada kelompok *clade* 2.3.2.1c

Pada HPAI akan ditemukan adanya daerah asam amino polibasik. Ciri tersebut mengandung 5 (lima) arginin dan 2 (dua) lisin. Susunan asam amino yang menyusun *regio* tersebut adalah Arg (arginin), Glu (glutamine), Arg (arginin), Arg (arginin), Lys (lisin), Lys (lisin) dan Arg (arginin) (PQRERRRKKRGLF) (Asmara, 2007; Nidom, 2005). Perubahan patogenesis virus AI dapat terjadi karena perubahan pada daerah pembelahan proteolitik hemaglutinin, termasuk 1) substitusi asam amino *non-basic* dengan asam amino *basic* (arginin atau lisin), 2) insersi asam amino *basic*, 3) rekombinasi dengan penambahan dari segmen gen lain sehingga memperpanjang daerah pembelahan, 4) hilangnya penahan situs glikosilasi pada residu-13 disertai asam amino *multiple basic* pada daerah pembelahan (OIE, 2021).

Tabel 1. Susunan asam amino pada daerah *cleavage site* gen HA virus HPAI H5N1 isolat Maros tahun 2021

No	Isolat	Asam Amino Cleavage Site gen HA
1.	A/goose/Guangdong/1/1996(H5N1)	PQRERRRKKRGLF
2.	A/chicken/Legok/2003(H5N1)	PQRERRRKKRGLF
3.	A/duck/Vietnam/NCDV-KA30/2012	PQRERRRK-RGLF
4.	A/duck/Sukoharjo/BBVW-1428-9/2012	PQRERRRK-RGLF
5.	A/quail/Sukoharjo/04152003/2015	PQRERRRK-RGLF
6.	A/duck/Sukoharjo/04160290/2016	PQRERRRK-RGLF
7.	A/chicken/Vietnam/HU3-1308/2015	PQRERRRK-RGLF
8.	A/duck/Sidrap/07160336-3/2016	PQRERRRK-RGLF
9.	A/duck/Bangladesh/34745/2018	PQRERRRK-RGLF
10.	A/chicken/Maros/A07210044-6/2021*	PQRERRRK-RGLF

Catatan: “ - “ = delesi

Analisis pensejajaran ganda (*multiple alignment*) asam amino gen HA pada daerah pembelahan isolat yang diteliti memiliki perubahan pada susunan asam amino cleavage site dibandingkan dengan ancestor dan isolat Legok. Pada penelitian ini susunan asam amino daerah pembelahan sampel penelitian dan pembandingnya dapat dilihat pada Gambar 1.

Susunan asam amino pada daerah daerah pembelahan ke-3 isolat sampel menunjukkan pola susunan asam amino PQRERRRK-RG. Pada isolat2 tersebut terjadi delesi pada asam amino ke-329 yaitu delesi asam amino lisin (K). Daerah pembelahan merupakan salah satu indikator patogenesitas bagi virus. Daerah pembelahan tersebut tersusun oleh asam amino polibasik berupa arginin (R) dan lisin (K). Hal ini menandakan bahwa virus-virus tersebut masih termasuk dalam virus HPAI (Suarez, 2016).

Hal ini sesuai dengan laporan (Li *et al.*, 2011) yang menjelaskan bahwa motif PQRERRRK-RG pada daerah daerah pembelahan enzim protease (*ptoteolitic cleavage site*) merupakan ciri virus AI sub-sub-*clade* 2.3.2 dan termasuk dalam kategori HPAI. Hasil analisis molekuler pada itik di Indonesia menunjukkan bahwa residu asam-asam amino polibasic (RERRRKR/G and REKRRKR/G) ditemukan pada daerah pembelahan protein HA dari virus-virus H5N1 *clade* 2.3.2.1c (Lestari *et al.*, 2020; Wibawa *et al.*, 2018). (Hewajuli & Dharmayanti, 2012) melaporkan bahwa di Indonesia terdapat 3 motif urutan asam amino di daerah daerah pembelahan yaitu PQRERRRKKRG, PQRESRRKKRG, dan PQREGRRKRG. (Wibowo *et al.*, 2013) melaporkan bahwa terdapat lima motif asam amino pada daerah daerah pembelahan virus AI di Indonesia yaitu PQRERRRKKRG, PQRE-RRKKRG, PQRESRRKKRG, PQRESRRKRRG, dan PQRE-RRRKR. Sampel isolat itik dari Sidenreng Rappang pada tahun 2018 juga menunjukkan motif asam amino PQRERRRK-RG (Mutisari *et al.*, 2021).

Virus AI diklasifikasikan dalam suatu nomenklatur berdasarkan homologi gen HA yang disebut dengan *clade*. Hampir satu dekade dari 2003-2012 virus AI H5N1 *clade* 2.1 dan turunannya adalah satu-satunya kelompok virus HPAI yang ditemukan di Indonesia, baik

pada unggas maupun pada manusia (Wibawa, 2016). Pada tahun 2012 sebuah virus baru diklasifikasikan sebagai *clade* 2.3.2.1 terdeteksi dari itik, disebut sebagai serangan baru virus HPAI H5N1 di Indonesia dari Asia Tenggara (Dharmayanti *et al.*, 2014; Smith & Donis, 2015). Pada penelitian yang dilakukan oleh (Karo-karo *et al.*, 2019) terhadap sampel-sampel outbreak AI H5N1 di Provinsi Jawa Barat pada tahun 2015-2016 merupakan virus AI H5N1 yang termasuk dalam sub-sub-sub-*clade* 2.3.2.1c. Lebih lanjut (Wibawa *et al.*, 2018) menjelaskan bahwa pada sampel-sampel yang diperoleh dari unggas yang sakit atau mati dari berbagai wilayah di Indonesia pada tahun 2016 merupakan virus AI H5N1 *clade* 2.3.2.1c.

Berdasarkan gambaran pohon filogenetik diperoleh hasil bahwa sampel isolat ayam petelur asal Maros, Sulawesi Selatan tahun 2021 termasuk dalam *clade* 2.3.2.1c seperti terlihat pada gambar 1. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa isolat tersebut masih merupakan AI H5N1 yang saat ini dominan tersebar di Indonesia dan bukan merupakan AI H5N1 *clade* 2.3.4.4b.

IV. Kesimpulan

Dari penelitian ini kami menyimpulkan bahwa, berdasarkan analisis gen HA pada virus yang diisolasi dari Maros, Sulawesi Selatan tahun 2021 daerah *cleavage site* memiliki susunan asam amino PQRERRRK-GLF yang merupakan virus AI yang bersifat pathogen atau HPAI H5N1 dan termasuk dalam *clade* 2.3.2.1c.

Daftar Pustaka

- Asmara, W. 2007. Peran Biologi Molekuler dalam Pengendalian *Avian Influenza dan Flu Burung*. <http://www.komnasfpi.go.id>
- Boyce, W. M., Sandrock, C., Kreuder-Johnson, C., Kelly, T., & Cardona, C. 2009. Avian influenza viruses in wild birds: A moving target. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 32(4), 275–286. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2008.01.002>

- Dharmayanti, N. L. P. I., Hartawan, R., Pudjiatmoko, Wibawa, H., Hardiman, Balish, A., Donis, R., Davis, C. T., Samaan, & Gina. 2014. Genetic Characterization of Clade 2.3.2.1 Avian Influenza A(H5N1) Viruses, Indonesia, 2012. *Emerging Infectious Diseases*, 20(4). www.cdc.gov/eid
- Hewajuli, D. A., & Dharmayanti, N. L. P. I. 2012. Sirkulasi Virus Flu Burung Subtipe H5 pada Unggas di Jawa Barat , Banten , dan Jawa Timur Sepanjang Tahun 2008-2009. *Jurnal Veteriner*, 13(3), 293-302.
- Karo-Karo, D., Bodewes, R., Wibawa, H., Artika, I. M., Pribadi, E. S., Diyantoro, D., Pratomo, W., Sugama, A., Hendrayani, N., Indasari, I., Wibowo, M. H., Muljono, D. H., Stegeman, J. A., & Koch, G. 2019. Reassortments among avian influenza A(H5N1) viruses circulating in Indonesia, 2015-2016. *Emerging Infectious Diseases*, 25(3), 465-472. <https://doi.org/10.3201/eid2503.180167>
- Karo-karo, D., Pribadi, E. S., Sudirman, F. X., Kurniasih, S. W., Indasari, I., Muljono, D. H., & Koch, G. 2019. *Highly Pathogenic Avian Influenza A (H5N1) Outbreaks in West Java Indonesia 2015 - 2016 : Clinical Manifestation and Associated Risk Factors*.
- Lam, T. T. Y., Hon, C. C., Pybus, O. G., Kosakovsky Pond, S. L., Wong, R. T. Y., Yip, C. W., Zeng, F., & Leung, F. C. C. 2008. Evolutionary and transmission dynamics of reassortant H5N1 influenza virus in Indonesia. *PLoS Pathogens*, 4(8). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000130>
- Lestari, Wibawa, H., Lubis, E. P., Dharmawan, R., Rahayu, R. A., Mulyawan, H., Charoenkul, K., Nasamran, C., Poermadjaja, B., & Amonsing, A. 2020. Co-circulation and characterization of HPAI-H5N1 and LPAI-H9N2 recovered from a duck farm, Yogyakarta, Indonesia. *Transboundary and Emerging Diseases*, 67(2), 994-1007. <https://doi.org/10.1111/tbed.13434>
- Li, Z., Liu, Z., Ma, C., Zhang, L., Su, Y., Gao, G. F., Li, Z., Cui, L., & We, W. 2011. Identification of amino acids in highly pathogenic avian influenza H5N1 virus hemagglutinin that determine avian influenza species specificity. *Arc Virol*, 156, 1803-1812. <https://doi.org/10.1007/s00705-011-1056-2>.
- Mostafa, A., Abdelwhab, E. M., Mettenleiter, T. C., & Pleschka, S. 2018. Zoonotic potential of influenza A viruses: A comprehensive overview. *Viruses*, 10(9), 1-38. <https://doi.org/10.3390/v10090497>
- Mutisari D, Muflihanah M, Wibawa H, Hendrawati F, Putra HH, Sulistyono KP, Ahmad A, Sjahril R, Mubin RH, Sari DK, Massi MN. 2021. Phylogenetic analysis of HPAI H5N1 virus from duck swab specimens in Indonesia. *J Adv Vet Anim Res*. 8(2):346-354.
- Nidom, C. A. 2005. *Analisis molekuler genome virus avian influenza H5N1 di Indonesia*. Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
- OIE. 2021. Avian Influenza (Infection with Avian Influenza Virus). In *OIE Terrestrial Manual*.

- Pleska, S. 2013. Overview of influenza viruses. *Current Top. Microbiol. Immunol.*, 370, 1–20.
- Puthavathana, P., Auewarakul, P., Charoenying, P. C., Sangsiriwut, K., Pooruk, P., Boonnak, K., Khanyok, R., Thawachsupa, P., & Kijphati, R. 2005. Molecular characterization of the complete genome of human influenza H5N1 virus isolates from Thailand Printed in Great Britain. *Journal of General*, 86, 423–433. <https://doi.org/10.1099/vir.0.80368-0>
- Smith, G. J. D., & Donis, R. O. 2015. Nomenclature updates resulting from the evolution of avian influenza A(H5) virus clades 2.1.3.2a, 2.2.1, and 2.3.4 during 2013-2014. *Influenza and Other Respiratory Viruses*, 9(5), 271–276. <https://doi.org/10.1111/irv.12324>
- Suarez, D. L. 2016. Influenza A Virus. In: Swayne DE (Eds). In *Animal Influenza* (Second, pp. 3–30). A John Wiley & Sons, Inc.
- Subbarao, K., Klimov, A., Katz, J., Regnery, H., Lim, W., Hall, H., Perdue, M., Swayne, D., Bender, C., Huang, J., Hemphill, M., Rowe, T., Shaw, M., Xu, X., Fukuda, K., & Cox, N. 1998. Characterization of an Avian Influenza A (H5N1) Virus Isolated from a Child with a Fatal Respiratory Illness. *Science*, 279(January), 393–396. www.sciencemag.org
- Swayne, D. E., Suarez, D. L., & Sims, L. 2020. Influenza. In S. D. E., Swayne, M., Boulianne, C., Logue, L. D., McDougald, V. Nair, and D. L. (Ed.), *Diseases of Poultry* (pp. 210–256). Ames: Wiley.
- Takano, R., Nidom, C. A., Kiso, M., Muramoto, Y., Yamada, S., Sakai-Tagawa, Y., Macken, C., & Kawaoka, Y. 2009. Phylogenetic characterization of H5N1 avian influenza viruses isolated in Indonesia from 2003-2007. *Virology*, 390(1), 13–21. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2009.04.024>
- 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., ... Donis, R. O. 2013. New World Bats Harbor Diverse Influenza A Viruses. *PLoS Pathogens*, 9(10). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003657>
- Urbaniak, K., & Markowska-daniel, I. 2014. In vivo reassortment of influenza viruses. *Acta Biochimica Polonica*, 61(3), 427–431.
- Wibawa, H. 2016. Dinamika Virus avian influenza H5N1 di Indonesia. *Trobas Livestock, May*, 56–59.
- Wibawa, H., Dharmawan, R., Mulyawan, H., & Mahawan, T. 2018. Deteksi dan identifikasi virus-virus reassortant highly pathogenic avian influenza H5N1 clade 2 . 3 . 2 . 1c dengan teknik next generation sequencing. *Buletin Laboratorium Veteriner*, 18(1), 1–13.
- Wibowo, M. H., Srihanto, E. A., Putri, K., Asmara, W., & Tabbu, C. R. 2013. The Development of Pathogenicity of Avian Influenza Virus Isolated from Indonesia. *Indonesian Journal of Biotechnology*, 18(2), 133–143. <https://doi.org/10.22146/ijbiotech.7876>

Zhou, B., Donnelly, M. E., Scholes, D. T., St. George, K., Hatta, M., Kawaoka, Y., & Wentworth, D. E. 2009. Single-Reaction Genomic Amplification Accelerates Sequencing and Vaccine Production for Classical and Swine Origin Human Influenza A Viruses. *Journal of Virology*, 83(19), 10309-10313. <https://doi.org/10.1128/jvi.01109-09>