

Potensi Unggas Air Sebagai Reservoir Virus *High Pathogenic Avian Influenza* Subtipe H5N1

R. SUSANTI¹, R.D. SOEJOEDONO², I-G.N.K. MAHARDIKA³, I-W.T. WIBAWAN² dan M.T. SUHARTONO⁴

¹Laboratorium Biologi, Fakultas MIPA
Universitas Negeri Semarang, Indonesia

²Laboratorium Imunologi, Fakultas Kedokteran Hewan
Institut Pertanian Bogor, Indonesia

³Laboratorium Biomedik, Fakultas Kedokteran Hewan,
Universitas Udayana, Indonesia

⁴Laboratorium Mikrobiologi dan Biokimia PAU,
Institut Pertanian Bogor, Indonesia

(Diterima dewan redaksi 20 April 2007)

ABSTRACT

SUSANTI, R, R.D SOEJOEDONO, I.G.N.K MAHARDIKA, I.W.T.WIBAWAN and M.T. SUHARTONO. 2007. Waterfowl potential as reservoirs of *high pathogenic avian influenza* H5N1 viruses. *JITV* 12(2): 160-166.

The high population of waterfowl subsequently with the high case fatality of poultry and people in West Java regency caused by HPAI H5N1 can raise possibility that waterfowl was a natural reservoir. This research aimed to prove that waterfowl in West Java served as reservoir of AI virus (primarily H5N1) and also identify the virus pathotype based on cleavage site of amino acid sequence. Cloacal swab sample was obtained from healthy and unvaccinated waterfowl from Sukabumi and Bogor Regency. Cloacal swab was propagated in 9 days old embryonic chicken eggs. Allantoic fluid was harvested at the 4th day of incubation and then tested for hemagglutination, and positive isolate continued with virus sub-typing using PCR method. H5 gene from H5N1 isolate then sequenced using dideoxy termination method. Multiple alignment of nucleotide sequences were analysed using MEGA-3.1 program. Sub-typing using PCR method indicated the existence of 25 strain H5N1, 16 strain HxN1, 4 strain H5Nx and 9 virus ND. Characterization of cleavage site amino acid sequence indicated that all H5N1 sample were pathogenic with sequence QRERRRKKR (23 sample) and QRESRRKKR (2 sample). Waterfowl was HPAI H5N1 virus reservoir. Asymptomatic infection in waterfowl, but the virus shedding gradually occurred and therefore it became potential source of H5N1 virus infection. Our findings suggest that immediate action is needed to prevent the transmission of highly pathogenic avian influenza viruses from the apparently healthy waterfowl into terrestrial poultry or human.

Key Words: HPAI, H5N1, Reservoir, Water Fowl

ABSTRAK

SUSANTI, R, R.D SOEJOEDONO, I.G.N.K MAHARDIKA, I.W.T.WIBAWAN dan M.T. SUHARTONO. 2007. Potensi unggas air sebagai reservoir virus *high pathogenic avian influenza* subtipe H5N1. *JITV* 12(2): 160-166.

Tingginya populasi unggas air diikuti tingginya tingkat kematian unggas dan manusia di Jawa Barat akibat H5N1 memperkuat dugaan bahwa unggas air berperan sebagai reservoir virus H5N1. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi unggas air (itik, entok, angsa) di Jawa Barat sebagai reservoir virus AI (khususnya H5N1), serta mengidentifikasi patotipe virus berdasarkan sekuen *cleavage site*. Sampel usap kloaka diambil dari unggas air sehat dan belum divaksin di Kabupaten Sukabumi dan Bogor. Sampel usap kloaka ditumbuhkan pada TAB SPF umur 9 hari. Cairan alantois yang dipanen pada umur inkubasi 4 hari selanjutnya diuji hemaglutinasi, dan isolat yang positif dilanjutkan subtipping virus dengan metode PCR. Gen H5 dari isolat H5N1 selanjutnya disekuensing dengan metode dideoksi. Multipel alignment sekuen nukleotida dianalisa dengan program MEGA 3.1. Subtipping dengan metode PCR menunjukkan adanya 25 isolat H5N1, 16 isolat HxN1, 4 isolat H5Nx, dan 9 isolat ND. Semua isolat H5N1 termasuk HPAI dengan karakteristik sekuen asam amino *cleavage site* QRERRRKKR (23 isolat) dan QRESRRKKR (2 isolat). Unggas air merupakan reservoir virus HPAI H5N1. Pada unggas air tidak menyebabkan gejala klinis, namun *shedding* virus terjadi terus menerus sehingga berpotensi menyebarkan virus yang bersifat patogenik. Dari hasil penelitian ini, perlu segera dilakukan tindakan untuk mencegah transmisi virus HPAI dari unggas air yang sehat ke unggas darat dan manusia.

Kata Kunci: HPAI, H5N1, Reservoir, Unggas Air

PENDAHULUAN

Outbreak virus *high pathogenic avian influenza* (HPAI) H5N1 pertama kali dilaporkan di Cina Selatan tahun 1996-1997, yang kemudian menyebabkan kematian unggas di Vietnam, Thailand, Indonesia dan Negara Asia timur sejak awal tahun 2004 (SMITH *et al.*, 2006). Data terakhir menunjukkan bahwa virus HPAI H5N1 dinyatakan endemik di 30 dari 33 propinsi di Indonesia. Transmisi zoonotik dari unggas ke manusia terus menerus terjadi sejak pertengahan tahun 2005. Sampai saat ini, kematian manusia akibat H5N1 tercatat paling tinggi di dunia dengan jumlah kematian 79 orang dari 99 orang positif terinfeksi. Kematian manusia paling banyak terjadi di Jawa Barat (23 orang) diikuti DKI Jakarta (22 orang) dan Banten (10 orang) (DEPKES 2007). Semakin banyaknya kasus transmisi zoonotik ke manusia, semakin meningkatkan potensi terjadinya pandemi. Pandemi terjadi melalui adaptasi virus AI untuk efisiensi transmisi antar manusia atau melalui *reassortment* dengan virus influenza strain manusia (SMITH *et al.*, 2006).

Virus H5N1 sangat patogen pada ayam dan manusia, sementara kasus klinis dan kematian pada unggas air (itik, entok dan angsa) tidak tampak secara signifikan. Efektivitas penularan virus H5N1 dari ayam ke ayam tidak diragukan lagi. Namun, informasi tentang sumber penularan H5N1 ke ayam dan ke manusia sampai saat ini belum diketahui secara jelas. Salah satu reservoir yang patut diperhitungkan adalah peran unggas air sebagai sumber penularan virus AI. Unggas air merupakan inang alami virus influenza A, dimana pada inang ini virus berada dalam keadaan seimbang dan tidak menimbulkan penyakit. Strain patogenik H5N1 hanya menyebabkan gejala klinis ringan pada itik, tetapi secara "*silently*" *shedding* virus terjadi terus menerus sehingga berpotensi menyebarkan virus yang bersifat patogenik bagi unggas lain bahkan pada manusia (HULSE-POST *et al.*, 2005). Itik dianggap sebagai sumber virus H5N1 pada *outbreak* di Cina tahun 2000-2004 (LI *et al.*, 2004; CHEN *et al.*, 2004). Outbreak H5N1 di Hongkong tahun 2001 juga berasal dari reservoir itik dan angsa yang mengalami *reassortment* dengan virus AI lainnya sehingga muncul virus yang bersifat patogenik pada unggas darat (STURM-RAMIREZ *et al.*, 2004). Sistem penggembalaan itik secara bebas, terutama pada saat panen padi dilaporkan juga merupakan faktor yang berperan pada penyebaran HPAI H5N1 (GILBERT *et al.*, 2006). Penelitian menunjukkan bahwa 15% itik dan 2% angsa merupakan reservoir virus AI. Selain unggas air, burung liar juga dilaporkan sebagai reservoir virus AI (KHAWAJA *et al.*, 2005). Prevalensi virus HPAI H5, H7

dan H9 pada unggas air mencapai 21,5%, sementara H3, H4 dan H6 mencapai 63,8% (WEAVER, 2005).

Patogenesitas virus AI antara lain ditentukan oleh sekuen asam amino pada *cleavage site* glikoprotein hemaglutinin (HA) dan distribusi protease sel hospes (HULSE *et al.*, 2004). Setiap monomer HA awalnya merupakan prekursor polipeptida tunggal (HA₀) kemudian dipotong menjadi 2 subunit yaitu HA₁ dan HA₂. Proteolisis HA pada *cleavage site* sangat diperlukan untuk infektivitas virus (CROOS *et al.*, 2001). *Cleavage site* HA tergantung pada keberadaan asam amino *basic* (arginin: R). Kebanyakan AI non-virulen atau *low pathogenic* mempunyai *monobasic cleavage site* (contoh: HA₁-PSIQVR-GL-HA₂), namun strain *highly pathogenic* mempunyai *polybasic cleavage site* (contoh: HA₁-KKREKR-GL-HA₂). *Cleavage site* bersifat spesifik dan spesifitas jenis protease membatasi distribusi jaringan yang dapat diinfeksi virus ini (MUNCH *et al.*, 2001). *Monobasic cleavage site* hanya dapat dipotong oleh enzim *trypsin* Clara yang dihasilkan sel Clara pada epitel traktus respirasi. Sekuen HA dengan *polybasic cleavage site* memungkinkan proses proteolitik oleh protease lain seperti furin yang terdapat di aparatus Golgi semua sel. Subtipe AI dengan *polybasic cleavage site* mempunyai jaringan distribusi yang tidak terbatas dan menyebabkan infeksi sistemik yang fatal (WHITTAKER, 2001).

Kematian manusia dan ayam akibat H5N1 paling banyak terjadi di Jawa Barat (DEPKES, 2007; DISNAK JABAR, 2007), sementara tidak ada data kematian unggas air akibat H5N1. Populasi unggas air di Jawa Barat tercatat paling tinggi di Indonesia, dan meningkat dari tahun ke tahun (DEPTAN, 2006). Tingginya populasi unggas air diikuti tingginya tingkat kematian unggas dan manusia di Jawa Barat akibat H5N1 memperkuat dugaan bahwa unggas air berperan sebagai reservoir virus H5N1. Sistem penggembalaan unggas air secara bebas juga turut memperbesar potensi unggas air sebagai sumber penularan virus avian influenza khususnya strain H5N1. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi unggas air (itik, entok, angsa) di Jawa Barat sebagai *reservoir* virus AI (khususnya H5N1), serta mengidentifikasi patotipe virus berdasarkan sekuen *cleavage site*.

MATERI DAN METODE

Sampel

Sampel usap kloaka diambil dari unggas air (itik, entok dan angsa) sehat dan belum divaksinasi serta ayam yang hidup di sekitar unggas air di Kabupaten Sukabumi dan Bogor (Tabel 1).

Tabel 1. Sampel usap kloaka dari setiap kecamatan berdasarkan jenis hewan

Kabupaten	Kecamatan	Jenis Hewan					Jumlah
		Itik	Entok	Angsa	Ayam	Bangau	
Sukabumi	Cibadak	33	3	1	5	-	42
	Cucurug	18	5	12	14	1	50
	Cidahu	22	10	7	6	-	45
	Nagrak	37	4	-	11	-	52
	Bojonggenteng	35	13	-	4	-	52
Bogor	Cibinong	11	36	13	9	-	69
	Ciseeng	27	7	6	7	-	47
	Cileungsi	20	17	-	7	-	44
	Darmaga	32	3	6	9	-	50
	Klapanunggal	20	10	6	6	-	42
	Parung	25	6	1	6	-	38
	Leuwiliang	22	7	6	11	-	46
Total		302	121	58	79	1	561

Propagasi virus dari usap kloaka

Sampel usap kloaka selanjutnya dimasukkan dalam tabung berisi media transport PBS gliserol (WHO, 2003). Setiap 2-3 sampel usap kloaka di-polling menjadi satu berdasarkan spesies dan pemilik, sehingga didapatkan 101 inokulum dari Sukabumi dan 123 inokulum dari Bogor. Inokulum dibuat dengan memasukkan 100 µl dari setiap sampel usap kloaka ke dalam tabung yang telah berisi 10 µl PBS-Penstrep (WHO, 2003). Setelah diinkubasi 30 menit pada suhu kamar, inokulum diinokulasikan pada ruang alantois TAB SPF umur 9 hari. Semua telur diinkubasi pada suhu 37°C dan diamati setiap hari selama 4 hari. Embrio yang mati pada hari pertama setelah inokulasi dibuang, kemungkinan karena penyebab non spesifik. Embrio yang hidup atau mati pada hari kedua sampai keempat, dipanen cairan alantoisnya untuk diuji kemampuannya mengaglutinasi sel darah merah (SDM) (uji hemaglutinasi) dan diidentifikasi sub tipe virusnya.

Identifikasi virus influenza dengan uji haemaglutinasi

Sebelum uji hemaglutinasi secara mikro, dilakukan uji hemaglutinasi cepat dengan mencampur cairan alantois dan SDM ayam 5% (1 : 1). Keberadaan virus ditunjukkan adanya aglutinasi dalam waktu 15 detik setelah dicampur. Cairan alantois yang positif pada uji hemaglutinasi cepat, dilanjutkan uji hemaglutinasi secara mikro menggunakan plat mikrotiter berbentuk U

(Nunc). Sebanyak 50 µl PBS pH 7,2 dimasukkan pada 12 sumur, dan pada sumur pertama diberi 50 µl cairan alantois. Setelah diencerkan bertingkat sampai sumur ke-11 (sumur ke-12 sebagai kontrol negatif), semua sumur diberi 50 µl larutan SDM 0,5%. Selanjutnya, plat digoyang-goyang sebentar kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Aglutinasi diamati pada bagian bawah plat. Titer HA dihitung berdasarkan pengenceran tertinggi cairan alantois yang dapat mengaglutinasi SDM.

Isolasi RNA

Cairan alantois yang positif berdasarkan uji HA diisolasi RNA-nya menggunakan *Trizol reagent* (Invitrogen) sesuai dengan manual.

Pembentukan cDNA (reverse transcription)

Reverse transcription (RT) adalah pembuatan cDNA yang bersifat komplementer dengan RNA viral, menggunakan enzim *reverse transcriptase*. Pembentukan cDNA dalam penelitian ini menggunakan First-Strand RT-PCR kit (Invitrogen) sesuai manual.

Identifikasi sub tipe virus AI dengan metode polymerase chain reaction (PCR)

PCR merupakan alternatif metode untuk mengidentifikasi virus AI, meskipun virus hanya terdapat dalam jumlah sedikit (WHO 2003

Tabel 2. Sekuen basa primer serta besaran produk yang diharapkan

Sekuen Basa Nukleotida Primer	Gen	Produk (bp)
H5-1 : 5'GCC ATT CCA CAA CAT ACA CCC'3	H5	219
H5-3 : 5'CTC CCC TGC TCA TTG CTA TG'3		
CU-NIF : 5'GTTTGAGTCTGTTGCTTGGTC'3	N1	131
CU-NIR : 5'TGATAGTGTCTGTTATTATGCC'3		
NDVF : 5'GGTGAGTCTATCCGGARGATACAAG'3	ND	202
NDVR : 5'TCATTGGTTGCRGCAATGCTCT'3		

PAYUNGORN *et al.*, 2004). PCR dilakukan dengan menggunakan *second-strand PCR kit* (Invitrogen). Reaksi PCR dibuat sebanyak 50 ml dengan komposisi 45 ul PCR mix, 1 ul primer forward (10 mM), 1 ul primer reverse (10 mM) dan 3 ul sampel RNA. Program PCR untuk primer H5 dan N1 adalah predenaturasi 95°C 5 menit, 35 siklus terdiri dari denaturasi 95°C 30 detik, aneling 55°C 30 detik, ekstensi 72°C 40 detik, dan post ekstensi 72°C 10 menit (WHO, 2005; PAYUNGORN *et al.*, 2004). Isolat yang positif berdasarkan uji hemaglutinasi, namun negatif H5 dan N1 dilakukan PCR menggunakan primer ND dengan aneling 48°C (CREELAN *et al.*, 2002). Sekuen basa penyusun primer H5, N1 dan ND serta besaran produk PCR yang diharapkan terlihat pada Tabel 2. Adanya pita DNA spesifik hasil PCR diidentifikasi dengan elektroforesis pada gel agarose 1,5%.

Sekuensing

Isolat yang positif H5N1 berdasarkan hasil PCR, selanjutnya dilakukan sekuensing gen H5 dengan primer H5-1 dan H5-3 (produk 219 bp). Sekuensing dilakukan di 1stBASE Malaysia dengan metode dideoksi menggunakan *automatic sequenser* (ABI, Applied Biosystem) Runutan nukleotida hasil sekuensing setiap gen disepadankan dengan program ClustalW dengan model Kimura 2-parameter yang diimplementasikan dalam program MEGA 3.1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji hemaglutinasi terhadap 224 cairan alantois menunjukkan bahwa 29 isolat dari Kabupaten Sukabumi dan 25 isolat dari Kabupaten Bogor bereaksi positif dengan titer 2²-2¹⁰. Subtyping dengan metode PCR menunjukkan bahwa 25 isolat H5N1, 16 isolat HxN1, 4 isolat H5Nx, dan 9 isolat HxNx. PCR dengan primer ND pada isolat HxNx menunjukkan bahwa semua isolat positif ND. Hal ini menunjukkan bahwa unggas air di Sukabumi dan Bogor merupakan reservoir

virus AI (dan ND). Unggas air secara natural merupakan reservoir semua subtype virus influenza A (PEREZ *et al.*, 2003; SRURM-RAMIREZ *et al.*, 2004). Virus bereplikasi di gastrointestinal unggas air, sehingga *shedding* virus bersama feses ditransmisikan ke unggas atau mamalia lain melalui *fecal-oral* (SRURM-RAMIREZ *et al.*, 2004). Sistem pemeliharaan unggas air yang berdekatan dengan ayam dan atau penggembalaan secara bebas yang dilakukan sebagian besar peternak di Indonesia (khususnya di Jawa Barat) semakin memperbesar potensi unggas air menularkan virus ke unggas darat bahkan manusia. Hal ini menuntut perlunya pembenahan manajemen pemeliharaan unggas air.

Target dari primer H5-1 dan H5-3 adalah nukleotida 915-1033 dengan produk sebesar 219 bp. Sekuen ini terutama untuk mengetahui patotipe virus AI, karena pada sekuen ini terdapat *cleavage site (CS)* yang menentukan suatu virus tersebut HPAI atau LPAI. Sekuen asam amino 25 isolat terlihat pada Gambar 1. Semua isolat H5N1 termasuk HPAI dengan karakteristik sekuen asam amino *cleavage site* QRERRRKKR (23 isolat) dan QRESRRKKR (2 isolat). Sekuen *cleavage site* QRERRRKKR ini khas pada virus H5N1 penyebab kematian unggas di Indonesia dan Vietnam (SMITH *et al.*, 2006). Kesamaan ini menunjukkan besarnya kemungkinan H5N1 penyebab kematian jutaan unggas darat (ayam) bersumber dari unggas air. *Cleavage site* QRESRRKKR yang ditemukan pada isolat ayam (RS.SCG19) dan itik (RS.SB22) adalah sekuen khas *cleavage site* virus H5N1 penyebab kematian manusia di Indonesia (CDC, 2007). Sebanyak 3 isolat dari 25 isolat HPAI H5N1 dalam penelitian ini diisolasi dari ayam sehat yang hidup berdampingan dengan unggas air. Hal ini menunjukkan bahwa kemungkinan virus mulai beradaptasi pada hospes ayam sehingga tidak menimbulkan gejala klinis. Semua isolat H5N1 yang bersifat patogenik dalam penelitian ini menunjukkan bahwa unggas air berperan sebagai "*Trojan horse*" bagi virus HPAI H5N1. Pada unggas air ini tidak menyebabkan gejala klinis (subklinis), tetap

				Cleavage site	Fusion peptide	
RS.BL7_(Itik)	-----	IGECPKYVKS	NRLVLATGLRNTP	QRERRRKKR	GLFGAIAGFIEGGWQGMVDGWYG	YHHSN EQGR
RS.BL2_(Angsa)	-----	-----	-----	-----	-----	-----
RS.BCS9_(Entok)	-----	-----	-----	-----	-----	-----
RS.BK1_(Entok)	-----	-----	-----	-----	-----	-----
RS.BL8_(Itik)	-----	-----	-----	-----	-----	-----
RS.BP1_(angsa)	-PFHNIHPLT	-----	-----	-----	-----	-----
RS.SB6_(Angsa)	-PFHNIHPLT	-----	-----	S	-----	-----
RS.SCG19_(Ayam)	-PFHNIHPLT	-----	-----	S	S	-----
RS.BCS17_(itik)	-----	-----	-----	-----	-----	-----
RS.BCL6_(entok)	-----	-----	-----	-----	-----	-----
RS.BCL4_(ayam)	-----	-----	-----	-----	-----	-----
RS.BK_14_(Itik)	-----	-----	-----	-----	-----	-----
RS.BL_12_(itik)	-----	-----	-----	-----	-----	-----
RS.B1_10_(ayam)	-----	-----	-----	-----	-----	-----
RS.BCS_16_(itik)	-----	-----	-----	-----	-----	-----
RS.SN_21_(itik)	-PFHNIHPLT	-----	-----	S	-----	-----
RS.SCD10(entok)	-PFHNIHPLT	-----	-----	S	-----	P-----
RS.SB22_(itik)	-PFHNIHPLT	-----	-----	S	S	-----
RS.BP6_(itik)	-PFHNIHPLT	-----	-----	-----	-----	-----
RS.BCL11_(itik)	-PFHNIHPLT	-----	-----	-----	-----	-----
RS.BP3_(entok)	-----	-----R....L.....	-----R.....	-----
RS.BP9_(itik)	-PFHNIHPLT	-----	-----	S	-----	-----
RS.BK5_(angsa)	-PFHNIHPLT	-----	-----	S	-----	P-----
RS.SCG16(bangau)	-PFHNIHPLT	-----	-----	S	-----	-----
RS.BC12_(entok)	-PFHNIHPLT	-----	-----	S	-----	P-----

Gambar 1. Sekuen asam amino cleavage site dan fusion peptide virus HPAI H5N1 yang diisolasi di Jawa Barat

shedding virus terjadi terus menerus sehingga berpotensi menyebarkan virus yang bersifat patogenik ke unggas lain dan manusia (HULSE-POST *et al.*, 2005).

Transmisi zoonotik virus H5N1 ke manusia sehingga menyebabkan kematian manusia di Indonesia, kemungkinan melalui transmisi intermedier ayam (unggas darat). Virus H5N1 yang berasal dari unggas air ditransmisikan ke unggas darat dan mengalami adaptasi, kemudian ditransmisikan ke manusia. Strain patogenik H5N1 hanya menyebabkan gejala klinis ringan pada itik, tetapi secara "silently" dapat mempropagasi virus pada unggas lain (SRURM-RAMIREZ *et al.*, 2005; KISHIDA *et al.*, 2005). Penelitian yang dilakukan Li *et al.* (2005) juga menunjukkan bahwa isolat H5N1 dari itik sehat secara progresif dapat bereplikasi dan menyebabkan berbagai penyakit pada tikus (mamalia). Strain H5N1 yang high pathogenic pada unggas darat, menjadi low pathogenic jika disuntikkan pada itik. Meskipun pada itik tidak menyebabkan gejala klinis (subklinis) tetapi shedding virus dari itik terjadi terus menerus sehingga berpotensi menyebarkan virus yang bersifat patogenik bagi unggas

lain bahkan pada manusia (HULSE-POST *et al.*, 2005). Outbreak H5N1 di Hongkong akhir tahun 2002 menyebabkan kematian pada burung migran dan unggas air domestik termasuk itik, merupakan laporan pertama setelah tahun 1961, dimana infeksi AI bersifat letal pada unggas air (STURM-RAMIREZ *et al.*, 2004).

Selain cleavage site, sekuen nukleotida yang dapat ditangkap dengan primer H5-1 dan H5-3 adalah nukleotida penyandi asam amino fusion peptide, yaitu peptida yang berfungsi untuk fusi membran pada saat infeksi virus ke dalam sel hospes. Fusion peptide terdapat di ujung C dari HA2, bersifat konserv pada semua influenza A, terdiri dari 23 asam amino hidrofobik kaya Glisin (G). Sekuen asam amino fusion peptide mempunyai 8 asam amino G dengan sekuen GLFGAIAGFIEGGWQGMVDGWYG (24 isolat). Satu isolat RS.BP3 (entok) mengalami substitusi Gly8Arg. Jika dibandingkan dengan fusion peptide virus penyebab pandemi flu di Hongkong tahun 1968 (sekuen:GLFGAIAGFIENGWE GMIDGWYG), fusion peptide H5N1 unggas air dalam penelitian ini hanya mengalami substitusi 3 asam amino selama hampir 40

tahun. Hidrofobisitas asam amino pada *fusion peptide* sangat diperlukan untuk destabilisasi membran, sehingga fusi membran virus dapat dilakukan dengan mudah (CROSS *et al.*, 2001).

KESIMPULAN

Unggas air merupakan reservoir virus HPAI H5N1. Pada unggas air tidak menyebabkan gejala klinis, namun tetapi *shedding* virus terjadi terus menerus sehingga berpotensi menyebarkan virus yang bersifat patogenik. Perlu pembenahan manajemen pemeliharaan unggas air untuk mencegah penularan virus H5N1 ke unggas lain maupun manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- CDC (Contagious Diseases Center). 2007. Avian Influenza Infection in Humans. <http://www.cdc.gov/> (30 Mei 2007).
- CHEN, H., G. DENG, Z. LI, G. TIAN, Y. LI, P. JIAO, L. ZHANG, Z. LIU, R.G. WEBSTER and K. YU. 2004. The evolution of H5N1 influenza viruses in ducks in southern China. *PNAS* 101: 10452-10457.
- CREELAN, J.L., D.A. GRAHAM and S.J. MCCULLOUGH. 2002. Detection and Differentiation of pathogenicity of avian Paramixovirus Serotype 1 from Field Cases Using One-Step Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction. *Avian Pathol.* 31: 493-499.
- CROSS, K.J., S.A. WHARTON, J.J. SHEKEL, D.C. WILEY and D.A. STEINHAEUER. 2001b. Studies on influenza haemagglutinin fusion peptide mutants generated by Reverse genetics. *EMBO J.* 20: 4432-4442.
- DEPARTEMEN PERTANIAN. 2006. Populasi itik menurut propinsi. <http://www.deptan.go.id/>. [15 Jul 2006]
- DEPARTEMEN KESEHATAN. 2007. Sudah 79 Orang Meninggal Dunia Akibat Flu Burung. <http://www.ppmpplp.depkes.go.id/>. [4 Juni 2007]
- DINAS PETERNAKAN PROPINSI JAWA BARAT. 2007. 7000 Ribu Unggas Mati Akibat Flu Burung di Indonesia 2007. <http://www.gis.deptan.go.id/nominasi/> (6 Juni 2007)
- GILBERT, M., P. CHAITAWEEUSUB, T. PARAKAMAWONGSA, S. PREMASHHIRA, T. TIENSIN, W. KALPRAVIDH, H. WAGNER and J. SLINGENBERG. 2006. Free-grazing ducks and highly pathogenic avian influenza, Thailand. *EID CDC* 12: 56-62.
- HULSE, D.J., R.G. WEBSTER, R.J. RUSSELL and D.R. PEREZ. 2004. Molecular determinants within the surface proteins involved in the pathogenicity of h5n1 influenza viruses in chickens. *J. Virol.* 78: 9954-9964.
- HULSE-POST, D.J., K.M. STRURM-RAMIREZ, J. HUMBERD, P. SEILER, E.A. GOVORKOVA, S. KRAUSS, C. SCHOLTISSEK, P. PUTHAVATHANA, C. BURANATHAI, T.D. NGUYEN, H.T. LONG, T.S.P. NAIPOSPOS, H. CHEN, T.M. ELLIS, Y. GUAN, J.S.M. PEIRIS and R.G. WEBSTER. 2005. Role of domestic ducks in the propagation and biological evolution of highly pathogenic H5N1 influenza viruses in Asia. *PNAS* 102: 10682-10687.
- KHAWAJA, J.Z., K. NAEEM, Z. AHMED and S. AHMAD. 2005. Surveillance of avian influenza viruses in wild birds in areas adjacent to epicenter of an out break in federal capital territory of Pakistan. *Inter. J. Poult. Sci.* 4: 39-43.
- KISHIDA, N., Y. SAKODA, N. ISODA, K. MATSUDA, M. ETO, Y. SUNAGA, T. UMEMURA and H. KIDA. 2005. Pathogenicity of H5 influenza viruses for ducks. *Arch. Virol.* 150: 1383-1392.
- LI, K.S., Y. GUAN, J. WANG, G.J. SMITH, K.M. XU, L. DUAN, A.P. RAHARDJO, P. PUTHAVATHANA, C. BURANATHAI, T.D. NGUYEN, A.T. ESTOEPANGESTIE, A. CHAISINGH, P. AUEWARAKUL, H.T. LONG, N.T. HANH, R.J. WEBBY, L.L. POON, H. CHEN, K.F. SHORTRIDGE, K.Y. YUEN, R.G. WEBSTER and J.S. PEIRIS. 2004. Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia. *Nature* 430: 209-213.
- MUNCH, M., L.P. NIELSEN, K.J. HANDBERG and P.H. JORGENSEN. 2001. Detection and Subtyping (H5 and H7) of Avian Type A Influenza Virus by Reverse Transcription-PCR and PCR-ELISA. *Arch. Virol.* 146: 87-97.
- PAYUNGPORN, S., P. PHAKDEEWIROT, S. CHUTINIMITKUL, A. THEAMBOONLERS, J. KEAWCHAROEN, K. ORAVEERAKUL, A. AMONSIN and Y. POOVORAWAN. 2004. Single-step multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) for influenza a virus subtype H5N1 detection. *Viral. Immunol.* 17: 588-593.
- PEREZ, D.R., W. LIM, J.P. SEILER, G. YI, M. PEIRIS, K.F. SHORTRIDGE and R.G. WEBSTER. 2003. Role of quail in the interspecies transmission of H9 influenza a viruses: molecular changes on HA That correspond to adaptation from ducks to chickens. *J. Virol.* 77: 3148-3156.
- SMITH, G.J.D., T.S.P. NAIPOSPOS, T.D. NGUYEN, M.D. DEJONG, D. VIJAYKRISHNA, T.B. USMAN, S.S. HASSAN, T.V. NGUYEN, T.V. DAO, N.A. BUI, Y.H.C. LEUNG, C.L. CHEUNG, J.M. RAYNER, L.J. ZHANG, L.L.M. POON, K.S. LI, V.C. NGUYEN, T.T. HIEN, J. FARRAR, R.G. WEBSTER, H. CHEN, J.S.M. PEIRIS and Y. GUAN. 2006. Evolution and adaptation of H5N1 influenza virus in avian and human hosts in Indonesia and Vietnam. *Virology* 56: 45-53.
- STURM-RAMIREZ, K.M., D.J. HULSE-SPOT, E.A. GOVORKOVA, J. HUMBERD, P. SEILER, P. PUTHAVATHANA, C. BURANATHAI, T.D. NGUYEN, A. CHAISINGH, H.T. LONG, T.S.P. NAIPOSPOS, H. CHEN, T.M. ELLIS, Y. GUAN, J.S.M. PEIRIS and R.G. WEBSTER. 2005. Are Ducks Contributing to the Endemicity of Highly Pathogenic

- H5N1 Influenza Virus in Asia? *J. Virol.* 79: 11269-11279.
- WEAVER, T. 2005. Avian Influenza Surveys in Waterfowl Part I: The Role of Wild and Domestic Waterfowl in Avian Influenza Outbreaks in Domestic Poultry. *NAHSS Outlook*. <http://www.aphis.usda.gov/> [6 Desember 2006].
- WHITTAKER, GR. 2001. Intracellular Trafficking of Influenza Virus: Clinical implication for Molecular Medicine. *Expert Reviews in Molecular Medicine*. <http://www.expertreviews.org/> [6 Desember 2006].
- WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). 2003. WHO manual on animal influenza. Diagnosis and surveillance. <http://www.who.int/>. [12 November 2004].