

HUBUNGAN AI DAN UNGGAS AIR DALAM MENCIPTAKAN KERAGAMAN GENETIK SERTA PERAN UNGGAS AIR SEBAGAI *RESERVOIR* PADA PENYEBARAN VIRUS AI

DYAH AYU HEWAJULI dan N.L.P.I. DHARMAYANTI

Balai Besar Penelitian Veteriner, Jl. R.E. Martadinata No. 30, Bogor 16114

(Makalah masuk 10 Januari 2012 – Disetujui 19 Februari 2012)

ABSTRAK

Wabah *Avian Influenza* (AI) mempunyai dampak yang sangat besar bagi dunia perunggasan maupun kesehatan manusia. Wabah ini disebabkan oleh virus influenza A yang termasuk famili *Orthomyxoviridae*. Virus ini adalah virus RNA, berpolaritas negatif, mempunyai *envelope* dan genomnya bersegmen. Umumnya, penyakit *Avian Influenza* merupakan penyakit yang murni terjadi pada unggas dengan suatu ekologi yang kompleks meliputi *reassortment* dan *transmission* diantara spesies unggas yang berbeda dan mamalia. Gen virus AI dapat ditularkan diantara manusia dan spesies unggas sebagaimana yang diperlihatkan oleh virus *human reassortant* yang menyebabkan influenza pandemik pada tahun 1957 dan 1968. Virus pandemik pada tahun 1957 dan 1968 berbeda dengan virus-virus pada manusia sebelumnya karena substitusi beberapa gen diperoleh dari virus unggas. Unggas air liar terutama *Anseriformes* (itik, entok dan angsa) dan *Charadriiformes* (burung camar laut, burung laut, burung liar) merupakan *reservoir* alami virus influenza tipe A dan berperan penting terhadap ekologi dan propagasi virus. Dari *reservoir* ini, virus influenza tipe A biasanya dapat ditularkan ke unggas lain, mamalia termasuk manusia dan dapat menyebabkan wabah penyakit yang sangat parah atau mematikan. Umumnya, unggas air yang terinfeksi virus influenza A tanpa menunjukkan gejala klinis. Namun demikian, terdapat beberapa laporan yang menyatakan bahwa virus HPAI dapat menimbulkan penyakit yang parah dengan gejala klinis berupa gangguan syaraf sampai dengan kematian pada unggas air. Migrasi unggas termasuk unggas air mempunyai peran aktif dalam penularan dan penyebaran penyakit AI. Perpindahan unggas liar, transportasi perdagangan unggas yang tidak teratur berperan lebih besar sebagai vektor dalam penyebaran penyakit HPAI ke manusia. Disamping migrasi unggas, perubahan ekologi lingkungan mempunyai dampak yang besar bagi penyebaran virus AI. Pola penyebaran virus AI ini umumnya dipengaruhi oleh musim, dimana prevalensi virus AI dilaporkan lebih tinggi pada musim gugur, dingin dan musim hujan. Pada akhirnya, diperlukan strategi pengendalian yang efektif terhadap penyebaran virus AI pada unggas air. Program monitoring, surveilans, dan vaksinasi merupakan bagian dari strategi pengendalian virus AI pada unggas air disamping strategi-strategi lain yang sudah diterapkan.

Kata kunci: *Avian Influenza*, *reservoir* AI, migrasi, unggas air

ABSTRACT

THE RELATIONSHIP OF AVIAN INFLUENZA AND WATERBIRDS IN CREATING GENETIC DIVERSITY AND THE ROLE OF WATERBIRDS AS RESERVOIR FOR AVIAN INFLUENZA

Outbreaks of *Avian Influenza* (AI) has enormous implications for poultry and human health. These outbreaks are caused by influenza A virus that belong to the family of *Orthomyxoviridae*. These viruses are RNA viruses, negative polarity, and the envelope has segmented genom. Generally, *Avian Influenza* is a disease which originally occurred in birds with complex ecology including reassortment and transmission among different species of birds and mammals. The gene of AI virus can be transmitted among human and avian species as shown by the virus reassortment that caused pandemic human influenza in 1957 and 1968. Pandemic in 1957 and 1968 were different from previously human viruses because the substitution of several genes are derived from avian viruses. Wild waterfowls especially *Anseriformes* (duck, muscovy duck and geese) and *Charadriiformes* (gulls, seabirds, wild birds) are the natural reservoirs for influenza type A viruses and play important role on the ecology and propagation of the virus. From this reservoir, influenza type A virus usually can be transmitted to other birds, mammals (including human) and caused outbreak of lethal diseases. Waterfowl that is infected with influenza A virus usually does not show any clinical symptoms. However, several reports stated that HPAI viruses can cause severe disease with neurological disorders led to death in waterfowl. Migration of birds including waterfowls have active role in transmitting and spreading the disease. Movement of wild birds and inappropriate poultry trade transportation play a greater role as vector in spreading HPAI to humans. Ecological change of environment has also a great effect in spreading AI viruses. The spreading pattern of AI viruses is usually influenced by seasons, where the prevalence of AI was reported to be in the fall, winter and rainy seasons. Finally, the effective control strategies against the spreading of AI viruses is required. Programs of monitoring, surveillance and vaccination is part of the control strategies of AI virus spreading besides other strategies that had been applied.

Key words: *Avian Influenza*, reservoir of AI, waterbirds, migration

PENDAHULUAN

Wabah *Avian Influenza* yang terjadi akhir-akhir ini merupakan sebuah ancaman global yang sangat besar bagi dunia perunggasan maupun kesehatan manusia. Wabah ini disebabkan oleh virus influenza yang berdasarkan taksonominya termasuk dalam famili *Orthomyxoviridae*. Virus ini merupakan virus RNA, berpolaritas negatif, mempunyai *envelope* dan genomnya bersegmen. Berdasarkan sifat genetik dan antigenik, virus influenza dibedakan menjadi tipe A, B dan C. Virus tipe A dibedakan menjadi beberapa subtipe berdasarkan kombinasi 2 antigen permukaan utama yaitu *Hemagglutinin* (HA) dan *Neuraminidase* (NA). Saat ini, 16 subtipe HA dan 9 subtipe NA telah diidentifikasi yang memungkinkan berpotensi menjadi 144 kombinasi subtipe. Sebagai contoh, pandemik influenza pada tahun 1918 disebabkan oleh virus influenza A subtipe H1N1 dan subtipe virus influenza yang menjadi perhatian dunia akhir-akhir ini adalah H5N1 dikarenakan virus ini kemungkinan dianggap sebagai agen yang bertanggung jawab apabila terjadi pandemik influenza pada manusia (FOUCHIER *et al.*, 2005).

Umumnya, virus *Avian Influenza* tidak menginfeksi spesies selain unggas, namun demikian, virus ini kadang-kadang juga ditemukan pada spesies lain seperti mamalia laut, binatang peliharaan dan manusia. Virus *Avian Influenza* berdasarkan *sequence* genetik dan kemampuannya menimbulkan penyakit pada unggas dikarakterisasi menjadi *Highly Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) dan *Low Pathogenic Avian Influenza* (LPAI) (PERDUE dan SWAYNE, 2005). Sebagian besar virus AI yang berasal dari Indonesia termasuk HPAI dimana mempunyai motif *multiple basic* asam amino (QRERRRKKR//G) pada daerah *cleavage site* (SMITH *et al.*, 2006). Penyakit HPAI disebabkan oleh *strain* virus AI subtipe H5 dan H7 yang mempunyai suatu *furin* pada *cleavage site* protein *hemagglutinin* dan biasanya bersifat akut serta menyebabkan infeksi sistemik, sedangkan sebagian besar LPAI hanya menyebabkan infeksi subklinis pada saluran pencernaan. Walaupun demikian, ekskresi virus LPAI dalam jumlah yang besar terjadi di lingkungan khususnya air danau sehingga mekanisme penularan virus yang efisien terjadi melalui ekskresi feses dan lendir (WEBSTER *et al.*, 1992).

Sebagian besar virus AI yang ditemukan pada unggas air adalah virus LPAI, sedangkan virus HPAI biasanya dideteksi pada unggas air bersamaan dengan terjadinya wabah AI pada unggas peliharaan. Unggas air liar merupakan *reservoir* yang unik untuk virus *Avian Influenza* dikarenakan burung air terutama unggas air merupakan *reservoir* semua subtipe H dan N virus *Avian Influenza* dimana virus AI berkembang biak dalam jumlah besar di dalam saluran pencernaan

unggas air tanpa menimbulkan gejala klinis (OLSEN *et al.*, 2006). Pada unggas, virus LPAI mempunyai kemampuan untuk bermutasi menjadi HPAI. Perubahan dari bentuk LPAI menjadi HPAI dalam tubuh unggas ditandai dengan residu asam amino pada HAO *cleavage site* virus AI (ALEXANDER, 2000).

Keragaman sirkulasi virus AI pada unggas air semakin memperkuat dugaan bahwa unggas air berperan penting sebagai sumber utama penularan ke manusia (BAIGENT dan MCCAULEY, 2003). Penyebaran zoonosis virus AI dari unggas ke manusia, sebagian besar terjadi bersamaan dengan wabah AI yang terjadi pada unggas. Dengan asumsi, penyebaran *strain* virus AI seperti HPAI H5N1 pada manusia terjadi selama amplifikasi virus tertinggi dan penyebaran virus secara sistemik.

Pemahaman bagaimana virus influenza A dan gen-gen yang termasuk di dalamnya, dan penyebaran virus diantara spesies unggas serta dari unggas ke manusia merupakan kunci utama untuk memahami peran unggas dalam menimbulkan wabah dan menyebarkan penyakit AI pada manusia. Berdasarkan asumsi di atas maka makalah ini mengulas hubungan antara virus AI, inang (unggas air) dan lingkungan dalam penyebaran AI, serta mengidentifikasi poin-poin penting dengan monitoring untuk pencegahan penularan virus AI antara spesies.

AVIAN INFLUENZA DAN PANDEMIK INFLUENZA

Penyakit AI atau influenza A adalah penyakit yang murni terjadi pada unggas dengan suatu ekologi yang kompleks meliputi *reassortment* dan *transmission* diantara spesies unggas yang berbeda dan mamalia. Virus influenza A dapat menginfeksi berbagai unggas, mamalia dan manusia (WEBSTER *et al.*, 1992). Di Indonesia, kasus infeksi *Avian Influenza* ditemukan dalam skala besar pada peternakan ayam komersial (DHARMAYANTI *et al.*, 2004; WIYONO *et al.*, 2004). Penyakit AI dengan menunjukkan gejala kematian dalam jumlah besar juga pernah dilaporkan kejadiannya pada burung liar, angsa, ayam kampung, kalkun dan itik (MACKENZIE, 2006).

Semua kombinasi virus AI subtipe H dan N dapat diisolasi dari unggas, terutama unggas air tetapi kombinasi subtipe H dan N virus AI pada mamalia ditemukan hanya dalam jumlah sedikit. Umumnya, virus influenza hanya menginfeksi satu spesies tetapi kadang-kadang, virus ditularkan dari satu spesies ke spesies yang lain, dan *genetic reassortment* diantara virus yang berasal dari dua inang yang berbeda dapat menghasilkan suatu virus yang mampu menginfeksi inang ketiga. Virus *Avian Influenza* tidak dengan mudah menginfeksi manusia (BEARE *et al.*, 1991) dikarenakan manusia tidak memiliki reseptor α (2,3)

sialyllactose (Neu-Ac2,3Gal) untuk penempelan virus dengan sel epitel. Meskipun demikian, gen virus AI dapat ditularkan diantara manusia dan spesies unggas sebagaimana yang diperlihatkan oleh virus *human reassortant* yang menyebabkan pandemik influenza pada tahun 1957 dan 1968 (KAWAOKA *et al.*, 1989). Pada abad ke-20, pandemik influenza pada manusia terjadi 4 kali dimana pandemik ini disebabkan oleh virus influenza yang mempunyai kombinasi subtipe yang berbeda dan disebut dengan *antigen shift* yaitu H1N1 pada tahun 1918, H2N2 pada tahun 1957, H3N2 pada tahun 1968 dan H1N1 pada tahun 1977. Virus pandemik pada tahun 1957 dan 1968 berbeda dengan virus-virus pada manusia sebelumnya dimana substitusi beberapa gen diperoleh dari virus unggas (NGUYEN VAN TAM dan HAMPSON, 2003).

Pandemik influenza adalah suatu wabah penyakit saluran pernafasan pada manusia yang terjadi secara global dan disebabkan oleh genotipe novel influenza A dimana dapat menginfeksi manusia yang tidak mempunyai kekebalan terhadap penyakit tersebut (NICOLLS, 2006). Unsur-unsur genetik novel dari salah satu virus LPAI atau HPAI dapat diperoleh melalui penularan langsung suatu virus *avian* dari unggas ke manusia dengan adaptasi virus berikutnya (mutasi dan *reassortment*) selama penularan pada manusia atau sebagai komponen suatu genom virus yang termodifikasi yang telah mengalami mutasi dan *reassortment* dalam spesies inang yang lain sebagai jalan penularan dari unggas ke manusia (SHU *et al.*, 1996).

Struktur virus Influenza A yang termasuk virus RNA, *single stranded*, dan terdiri dari 8 segmen dengan gen yang berbeda adalah faktor-faktor yang kemungkinan berpotensi besar sebagai penyebab terjadinya *genetic reassortment* pada infeksi campuran dengan virus yang berbeda dalam tubuh unggas serta dapat merubah virus AI menjadi virus yang patogen pada manusia (DASZAK *et al.*, 2006). Virus RNA mempunyai kemampuan *proofreading* yang kurang selama proses replikasi, dan memiliki tingkat mutasi tertinggi dari organisme yang ada dengan rata-rata satu mutasi per genom per replikasi. Suatu partikel infeksius tunggal dapat memproduksi 100.000 kopi virus dalam 10 jam, dan jumlah total partikel virus dalam suatu organisme yang terinfeksi akan meningkat 10^{12} (MOYA *et al.*, 2004). Kondisi ini dapat menghasilkan *strain* virus yang bervariasi dengan genetik yang berbeda dari *strain* virus tunggal yang sebelumnya menginfeksi suatu individu. Jika sel inang terinfeksi dengan dua *strain-strain* virus yang berbeda, segmen-segmen gen diantara *strain* virus dapat saling bertukar posisi dan menghasilkan suatu jenis virus hibrid baru. Kejadian-kejadian *reassortment* dapat terjadi diantara *strain-strain* virus yang menyusun suatu inang yang awalnya terinfeksi *strain* virus tunggal. Mutasi dan *reassortment*

dapat terjadi pada unggas, manusia dan spesies yang lain (CAMPITELLI *et al.*, 2006).

Perubahan atau mutasi secara dinamis juga terjadi pada virus AI yang ada di Indonesia. Penelitian yang dilakukan DHARMAYANTI dan INDRIANI (2007) menunjukkan hasil bahwa virus AI tahun 2005 mengalami mutasi yang cukup signifikan. Analisis *phylogenetic* menunjukkan bahwa terdapat 3 kelompok yang berbeda, dan virus A/Ck/Jakarta/DKI-III/2005 merupakan isolat yang tidak mempunyai kekerabatan dengan isolat Indonesia lainnya. Penelitian lebih lanjut untuk mengetahui keragaman dan karakter penyebaran genetik virus AI di Indonesia telah dilakukan DHARMAYANTI *et al.* (2008). Hasil penelitian menunjukkan terdapat 3 jenis motif urutan asam amino di daerah *cleavage site* yaitu PQRERRRKKR//G, PQRESRRKKR//G, dan PQREGRRKR//G serta semua virus yang dianalisa masih mengenali *avian receptor* (α 2,3), tidak mengalami perubahan pada *pocket receptor binding site*. DHARMAYANTI *et al.* (2009) dalam penelitiannya menemukan adanya mutasi pada gen NA virus AI dimana pada penelitian sebelumnya (2003 – 2008) mutasi hanya terbatas pada gen HA. Hal ini mengindikasikan bahwa virus AI terus beradaptasi dengan lingkungan sekitar dimana kondisi seperti ini dibutuhkan kewaspadaan kita terhadap sirkulasi virus AI di Indonesia. Pandemik virus influenza novel H1N1 yang menimbulkan banyak kematian pada manusia terjadi sejak bulan April 2009 semakin memperparah situasi penyakit AI di Indonesia. Hal ini menjadi serius untuk diperhatikan karena kemungkinan terjadinya *reassortant* antara virus H5N1 dengan virus novel H1N1.

Pada beberapa kasus, babi atau spesies yang lain akan berperan sebagai *mixing vessels* penularan virus dan gen virus dari unggas ke manusia seperti pandemik *strain* H3N2 pada tahun 1968 yang terjadi secara musiman (NICOLLS, 2006). Babi dihubungkan sebagai salah satu spesies yang berperan dalam penularan virus AI dari unggas ke manusia karena babi mempunyai reseptor *NeuAc-2,3Gal* dan *NeuAc-2,6Gal* sehingga babi dapat diinfeksi dengan salah satu virus unggas atau virus manusia (ITO *et al.*, 1996). Walaupun demikian, hasil investigasi epidemiologi yang dilakukan secara terus-menerus masih belum terbukti secara efektif bahwa penularan AI dapat terjadi dari manusia ke manusia. Kasus AI pada manusia yang selama ini terjadi kelihatannya masih merupakan hasil penularan virus H5N1 dari unggas yang terinfeksi ke manusia dimana ayam berperan sebagai inang perantara penularan virus AI dari unggas ke manusia (MOUNTS *et al.*, 1999). Kasus *outbreak* virus influenza H5N1 yang terjadi pada manusia dan unggas di Hongkong pada tahun 1997 merupakan kasus AI yang penularannya terjadi secara langsung dari unggas ke manusia (CDC, 2008).

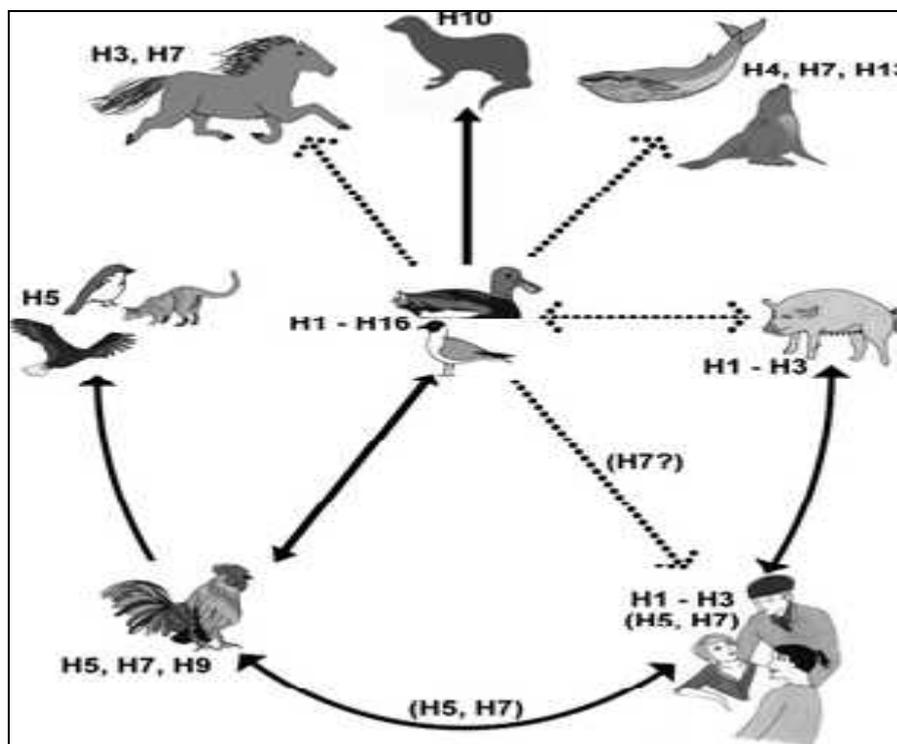
Virus HPAI seperti sub tipe H5N1, H7N7 atau virus influenza novel yang lainnya didapat melalui *mixing vessels* dalam tubuh babi atau unggas air atau ditularkan langsung dari unggas ke manusia dimana virus ini memperlihatkan dengan jelas suatu penyakit yang serius serta diprediksi mampu menyebabkan pandemik influenza pada manusia di masa yang akan datang. Walaupun demikian, penentuan jenis virus yang bertanggung jawab terhadap terjadinya pandemik influenza di masa yang akan datang tidak dapat diprediksi. Sebagian ilmuwan berpendapat bahwa bahaya yang ditimbulkan secara tiba-tiba dari virus *Avian Influenza* dan potensi pandemik influenza yang terjadi merupakan kekhawatiran yang berlebihan (NORMILE, 2005). Meskipun demikian, terdapat opini yang berdasarkan kajian ilmiah yang menyatakan apabila virus AI secara terus-menerus berada dalam tubuh hewan maka risiko pandemik influenza bisa terjadi dan *strain-strain* virus influenza yang baru akan muncul di dunia (NATURE EDITORIAL, 2007).

UNGGAS AIR SEBAGAI RESERVOIR AVIAN INFLUENZA

Keberadaan semua sub tipe virus influenza A dalam tubuh unggas air memberikan suatu risiko

kesehatan yang sangat serius terhadap spesies hewan lain secara luas dan memungkinkan terjadinya *genetic mixing*. Meskipun beberapa sub tipe virus influenza A yang terdapat dalam tubuh inang alami bersifat tidak patogen atau tidak virulen tetapi keberadaannya menyebabkan inang alami tersebut menjadi *reservoir* AI selama beratus-ratus tahun (WEBBY *et al.*, 2007). Unggas air liar merupakan *reservoir* alami virus influenza tipe A dan berperan penting terhadap ekologi dan propagasi virus. Dari *reservoir* ini, virus influenza tipe A biasanya dapat ditularkan ke unggas lain, mamalia termasuk manusia dan dapat menyebabkan wabah penyakit yang sangat parah atau mematikan. *Reservoir* alami dan inang virus influenza A yang paling heterogen adalah unggas air terutama *Anseriformes* (itik, entok dan angsa) dan *Charadriiformes* (burung camar laut, burung laut, burung liar) yang keberadaannya tersebar di dunia (WEBSTER *et al.*, 1992). Gambar 1 menunjukkan ilustrasi antara inang dan sub tipe virus influenza A dengan *reservoir* alami virus influenza A yang telah diidentifikasi dalam kelompok yang berbeda.

Penelitian yang dilakukan HANSON *et al.* (2005) menunjukkan hasil bahwa beberapa sub tipe hemagglutinin yaitu H2, H7, H8 dan H1 dapat dideteksi dari berbagai jenis itik (*Anas crecca*, *Anas cyanoptera*,



Gambar 1. Inang dan sub tipe virus influenza A dengan *reservoir* alami virus influenza A yang telah diidentifikasi dalam kelompok yang berbeda

Sumber: RONNMARK dan GISAEUS (2011)

Anas discors, *Anas acuta*, dan *Anas discors*) yang tinggal di Texas. Itik Mallards (*Anas platyrhynchos*) juga mendapat perhatian yang sangat besar dikarenakan keberadaannya yang menyebar secara luas di dunia, sebagai *reservoir* subtipe H1-H12, dan kemampuannya untuk *shedding* virus dalam jumlah besar dengan gejala patologis dan klinis yang tidak parah (KEAWCHAROEN *et al.*, 2008). Itik Mallards juga dapat berpindah atau migrasi dalam jarak yang sangat panjang dan diduga berperan sebagai *carrier* dari satu daerah ke daerah yang lain (NAGY *et al.*, 2009). Apabila infeksi dan *shedding* virus terjadi terus menerus, virus LPAI akan mempunyai kemampuan untuk bermutasi menjadi HPAI. Virus AI yang tidak patogenik dalam itik Mallards dapat menjadi virus patogenik melalui evolusi atau adaptasi dalam tubuh itik, dan virus tersebut akan bersifat sangat patogenik apabila menginfeksi ayam peliharaan atau peternakan ayam. Hal ini menunjukkan kemampuan itik untuk menularkan virus kepada unggas lain tanpa menderita penyakit yang parah (HULSE-POST *et al.*, 2005).

Perkiraan efektivitas penularan silang virus AI diantara spesies dengan menggunakan pendekatan epidemiologi sangat sulit, maka ACHENBACH dan BOWEN (2011) melakukan penelitian yang mempelajari bagaimana penularan virus AI subtipe H5 dan H7 dari itik Mallards yang diinfeksi virus tersebut kepada itik Mallards yang lain dan spesies hewan lain dalam suatu laboratorium percobaan yang dirancang menyerupai lingkungan dalam suatu ruangan. Penelitian tersebut menunjukkan hasil bahwa akumulasi virus AI subtipe H5 dan H7 ditemukan dalam air dengan titer yang tinggi, virus AI subtipe H5 dapat ditularkan dari itik Mallards yang diinfeksi virus kepada itik Mallards yang lain dan ayam baik secara langsung maupun melalui kontaminasi lingkungan, sedangkan penularan secara langsung maupun tidak langsung virus AI subtipe H7 terjadi dari itik Mallards yang diinfeksi virus kepada semua spesies hewan (itik Mallards yang lain, ayam, burung hitam, tikus dan burung dara) yang ada dalam laboratorium percobaan tersebut.

Pengambilan sampel dengan intensif dan *sequencing* virus AI dari unggas liar dapat membantu pemahaman kita tentang inang AI yang lebih spesifik dan evolusi virus AI. Di kedua benua Amerika Utara dan Asia, analisis genetik yang telah dilakukan mengindikasikan bahwa virus LPAI dan HPAI bersirkulasi di dalam unggas air liar secara bersamaan. Salah satu *outbreak* pada unggas air yang menjadi fokus perhatian adalah kasus yang terjadi di danau Qinghai, Cina pada tahun 2005. Lebih dari 6000 ekor angsa, burung camar, burung laut, entok dan itik mati di danau selama bulan Mei dan Juni. Kasus ini tidak hanya disebabkan oleh *strain* H5N1 tunggal, tetapi hasil analisis *sequencing* 15 virus AI dari 6 spesies menunjukkan bahwa setidaknya-tidaknya terdapat

4 genotipe virus AI sebagai penyebab *outbreak* ini (SMITH *et al.*, 2006; SPACKMAN *et al.*, 2006).

Analisis *phylogenetic* gen HA dari isolat virus AI (A/Duck/Anyang/AVL-1/01) yang diisolasi dari daging itik Pekin Cina yang diekspor ke Korea Selatan menunjukkan hasil bahwa virus tersebut satu kluster dengan virus subtipe H5 Goose/Guandong/1/96 dan virus manusia dari wabah yang terjadi di Hongkong pada tahun 1997. Hasil *sequence cleavage site* HA diantara virus-virus tersebut (A/Duck/Anyang/AVL-1/01, Goose/Guandong/1/96 dan virus manusia Hongkong) juga menunjukkan kemiripan. Virus ini (A/Duck/Anyang/AVL-1/01) bersifat sangat patogenik dan ditemukan dalam titer tinggi pada ayam. Meskipun gejala klinis tidak terlihat pada itik Pekin yang diinfeksi virus ini, tetapi virus dapat diidentifikasi dari jaringan otot, paru, otak serta *swab* trakhea dan kloaka dimana kondisi ini memungkinkan itik bertindak sebagai *reservoir* virus AI. Virus H5N1 yang dapat diisolasi dari ayam mengindikasikan bahwa keberadaan sirkulasi virus tersebut berisiko terhadap penularan langsung virus AI dari unggas ke manusia (TUMPEY *et al.*, 2002).

Di Indonesia, penularan virus AI dari unggas ke manusia terus menerus terjadi sejak pertengahan tahun 2005. Data kematian manusia yang disebabkan virus H5N1 di Indonesia sampai saat ini masih tertinggi di dunia dengan jumlah kematian 150 orang dari 182 orang yang positif terinfeksi virus H5N1 (DEPKES, 2011). Populasi yang tinggi dan sistem penggembalaan unggas air secara bebas dianggap sebagai faktor-faktor yang turut berperan dalam memperbesar potensi unggas air sebagai *reservoir* virus AI H5N1 di Indonesia. Penelitian dengan tujuan untuk mengetahui potensi unggas air (itik, entok, angsa) di Jawa Barat sebagai *reservoir* AI khususnya HPAI, serta mengidentifikasi patotipe virus berdasarkan *cleavage site* telah dilakukan oleh SUSANTI *et al.* (2007). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa semua isolat H5N1 yang diperoleh termasuk HPAI mempunyai karakteristik berupa *sequence* asam amino *cleavage site* sebagian besar QRERRRKKR dan sebagian kecil QRESRRKKR. Analisis *phylogenetic* dan antigen isolat-isolat AI tersebut terhadap isolat ayam Legok 2003 juga telah dilakukan oleh SUSANTI *et al.* (2008) dan menunjukkan hasil bahwa virus AI H5N1 tersebut termasuk dalam kluster Indonesia dan Asia serta beberapa isolat yang ada berbeda *strain* dengan virus AI sebelumnya di Indonesia. Berdasarkan antigenitasnya, semua virus AI H5N1 tersebut mempunyai antigenitas yang berbeda dengan *strain* virus AI Legok 2003. Mekanisme virus untuk menghindari dari sistem imun inang merupakan tekanan untuk mutasi secara *gradual* sehingga muncul *strain-strain* virus baru yang secara imunologi berbeda (SMITH *et al.*, 2004). Hal ini menunjukkan evolusi

virus telah terjadi pada unggas air yang ditandai dengan munculnya *strain-strain* virus baru yang secara imunologi berbeda.

Wabah AI pada unggas air juga pernah dilaporkan terjadi di Republik Czech dimana virus HPAI dengan *cleavage site* HAO (PQGERRRKKR/GLF) dapat dideteksi dari angsa *Mute* (*Cygnus olor*). Angsa *Mute* adalah salah satu spesies unggas air yang biasanya mempunyai tingkah laku mengembara atau berpindah secara sebagian di Eropa Tengah. Analisis *phylogenetic* gen H5 dari virus-virus AI yang bersirkulasi di Eropa Tengah dan Afrika selama tahun 2005 – 2006 menunjukkan bahwa virus-virus tersebut mempunyai kemiripan yang tinggi atau keturunan virus AI dari itik yang bersirkulasi di Cina selama tahun 2005. Homologi yang tinggi juga ditunjukkan virus-virus tersebut dengan virus AI yang diperoleh dari itik, kalkun dan ayam di Eropa (NAGY *et al.*, 2007). Laporan-laporan kasus AI dari beberapa negara di Eropa dengan jelas menyatakan bahwa angsa-angsa yang ada di Eropa umumnya terinfeksi virus AI dan beberapa pendapat menyatakan adanya peningkatan peran angsa liar dalam ekologi virus AI H5N1 (OIE, 2006).

Dari beberapa hasil penelitian yang disebutkan di atas, sebagian besar menunjukkan resistensi unggas air terhadap virus AI. Dalam hal ini, unggas air hanya sebagai *reservoir* AI tanpa menunjukkan gejala klinis penyakit AI yang jelas atau parah apabila terinfeksi AI. Namun demikian, terdapat beberapa laporan yang menyatakan bahwa virus HPAI dapat menimbulkan penyakit yang parah dengan gangguan syaraf sampai dengan kematian pada unggas air (CAPUA *et al.*, 2001). Hasil penelitian yang dilakukan oleh SAITO *et al.* (2009) juga menunjukkan bahwa virus-virus H5N1 yang diisolasi dari kasus *outbreak* di Thailand tidak hanya mampu menyebabkan kematian pada *Gallinaceae*, ayam dan burung puyuh Jepang tetapi juga pada *Anseriformes* (itik) dengan gejala klinis perdarahan pada paruh, depresi dan tortikolis sebelum kematian terjadi.

Umumnya, gejala-gejala klinis unggas air yang terserang virus HPAI seperti yang telah disebutkan di atas akan berkaitan dengan pengamatan secara patologi dan histopatologi. Virus influenza A biasanya lebih suka bereplikasi di sel epitel saluran pencernaan itik (WEBSTER *et al.*, 1978) tetapi virus H5N1 mempunyai tingkat patogenitas yang tinggi pada itik Pekin dengan kerusakan pada *Central Nervous System* (CNS) dan pankreas (VASCELLARI *et al.*, 2007). Hasil penelitian tersebut di atas seiring dengan hasil penelitian YAMAMOTO *et al.* (2010) yang menyatakan bahwa gangguan-gangguan syaraf dan pembengkakan pada kornea dapat menjadi indikasi-indikasi yang berguna untuk mendeteksi unggas air yang terinfeksi virus HPAI H5N1. Berdasarkan pengamatan imunohistokimia pada penelitian YAMAMOTO *et al.*

(2010). Pada itik yang terinfeksi virus HPAI H5N1 akan terdeteksi antigen pada sel parenkim pada organ otak, jantung, pankreas, dan epidermis bulu dan paruh. *Neurotropism* kemungkinan menjadi faktor yang dominan sebagai penyebab timbulnya penyakit dan kematian pada itik yang terinfeksi virus HPAI. Hal ini seiring dengan hasil pengamatan secara histopatologi dalam penelitian yang dilakukan JEONG *et al.* (2009) dimana itik yang terinfeksi virus HPAI H5N1 menunjukkan *meningoencephalitis* dengan *perivascular cuffing* (Gambar 2), miokarditis nonsupuratif berat, nekrosis dan vakuolisasi pada epitel pankreas. Analisis secara imunohistokimia juga mendeteksi antigen pada sel neural ensepalitik, sel glial, sel purkinje, makrofag di alveoli pada paru-paru dan pada otot jantung.

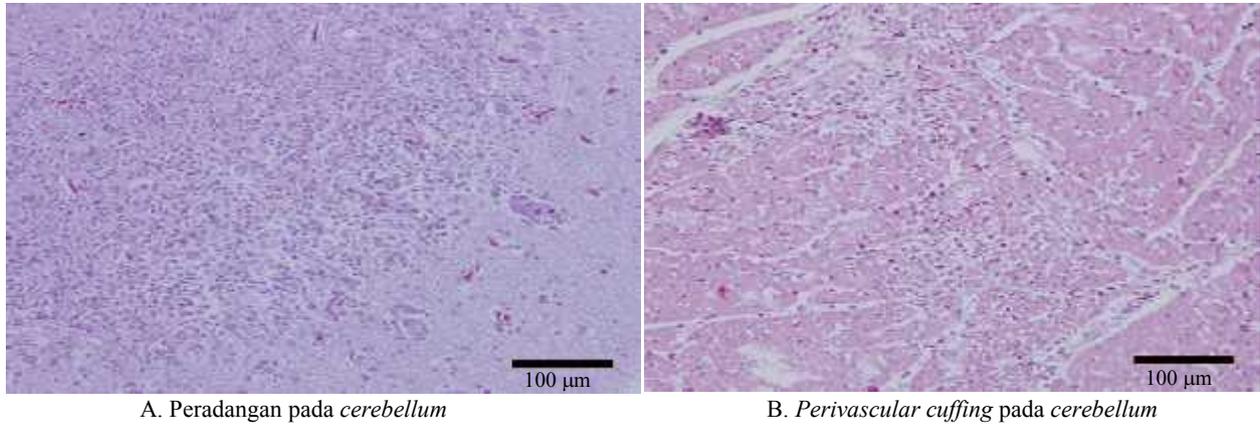
Hasil penelitian yang dilakukan akhir-akhir ini menunjukkan bahwa wabah influenza H5N1 yang terjadi akhir-akhir ini disebabkan oleh virus H5N1 yang didominasi genotipe Z. Namun demikian, patogenitas virus H5N1 pada itik tidak tergantung pada genotipenya tetapi lebih pada genetik bawaan atau sifat alaminya (LI *et al.*, 2004; STRUM-RAMIREZ *et al.*, 2005). Perubahan-perubahan secara molekuler virus HPAI H5N1 yang berhubungan dengan kematian pada itik belum banyak yang diinformasikan seperti halnya pada ayam dimana telah diketahui bahwa *multiple basic amino acid* gen HA dan residu lisin pada posisi 627 gen PB2 berperan terhadap patogenitas virus HPAI pada ayam (HATTA *et al.*, 2001). Meskipun demikian, penelitian tentang perubahan-perubahan virus HPAI yang menyebabkan kematian pada itik sudah mulai banyak dilakukan akhir-akhir ini. Penelitian yang dilakukan HULSE-POST *et al.* (2007) menunjukkan hasil bahwa gen PA dan PB1 bersama-sama dengan gen HA dan NS berperan penting dalam patogenitas virus HPAI H5N1 pada itik tetapi mekanisme kerja gen tersebut dengan jenis inang masih belum terpecahkan.

PERAN MIGRASI UNGGAS AIR DAN KONDISI LINGKUNGAN DALAM PENYEBARAN VIRUS AI

Migrasi unggas mempunyai peran aktif dalam penularan dan penyebaran penyakit AI. Data menyebutkan bahwa perpindahan unggas liar, transportasi perdagangan unggas yang tidak teratur berperan lebih besar sebagai vektor dalam penyebaran penyakit HPAI ke manusia (BELL *et al.*, 2004). Data lain juga menyatakan bahwa fisiologi unggas liar, tingkah laku unggas liar, potensi unggas liar untuk menyebarkan penyakit dalam kurun waktu yang lama dengan cara bermigrasi menggambarkan bahwa mereka sebagai agen yang serius dalam penyebaran agen penyakit yang patogen diantara manusia. Umumnya, beberapa spesies unggas liar terbang beberapa

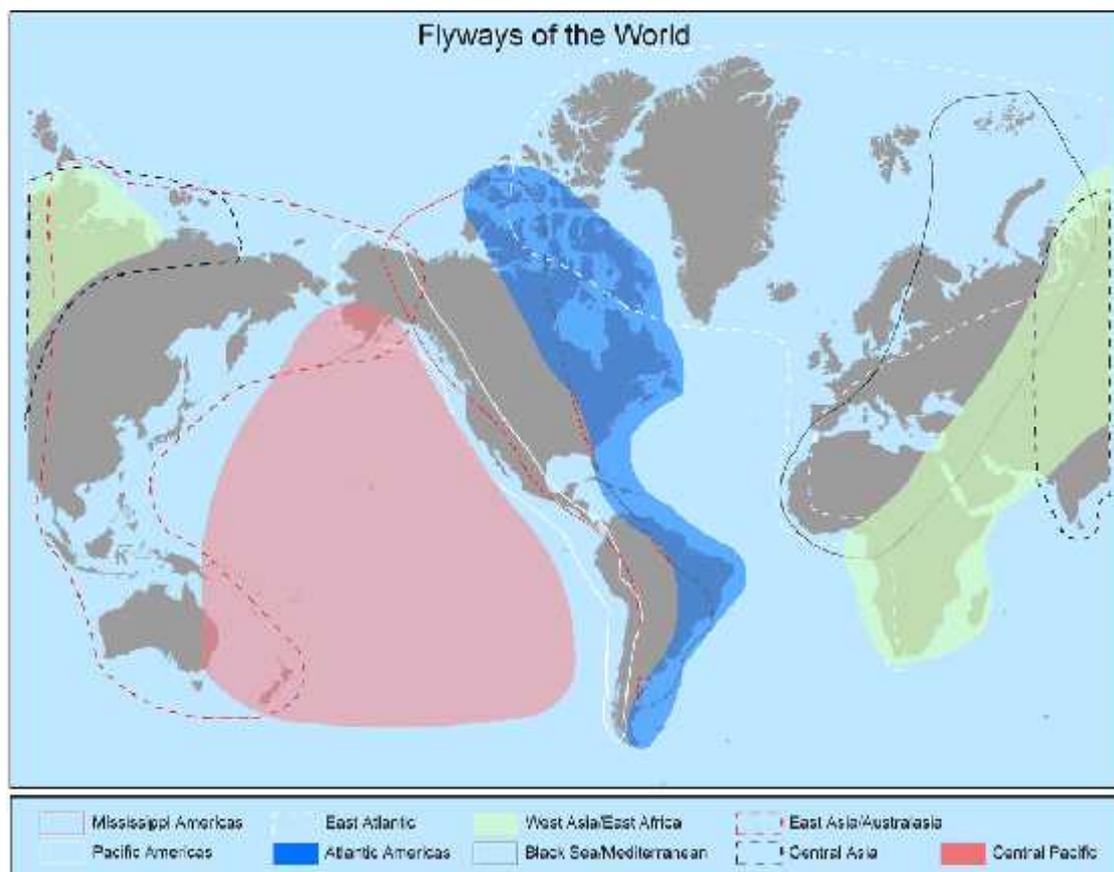
kilometer setiap hari untuk mencari makan atau pasangan, dan beberapa spesies unggas liar lainnya bermigrasi sampai ribuan kilometer setiap tahunnya selama musim kawin dengan tujuan untuk mendapatkan daerah yang aman untuk mereka

berkembang biak. Walaupun demikian, mekanisme yang pasti mengenai peran unggas liar dalam penyebaran virus HPAI masih sulit untuk dijelaskan (FERGUS *et al.*, 2006).



Gambar 2. Lesi pada otak itik yang terinfeksi HPAI H5N1

Sumber: JEONG *et al.* (2009)



Gambar 3. Area migrasi unggas liar di dunia

Sumber: MONKE dan CORN (2007)

Gambar 3 menunjukkan rute migrasi unggas liar dari Asia ke Amerika Utara dan menyebarkan penyakit AI ke Amerika Utara terutama di Alaska dimana di daerah ini merupakan tempat bertemunya unggas liar dari Asia dan Amerika dalam jumlah banyak. Unggas liar di Alaska yang tertular virus AI dari unggas liar dari Asia dapat menyebarkan virus AI di Amerika Utara melalui *shedding* virus. Sejak tahun 2005, wabah AI terjadi pada unggas air di Qianghi, Cina, Asia maka pada tahun 2006, virus LPAI telah diidentifikasi pada angsa *Mute* liar di Michigan dimana tanpa menunjukkan gejala klinis. Penularan ini kemungkinan diperoleh dari migrasi unggas liar yang berasal dari Asia yang bermigrasi ke Amerika Utara pada akhir musim panas tahun 2006.

Penyebaran wabah penyakit HPAI pada unggas telah terjadi dengan cepat di lebih dari 50 negara di Asia, Eropa dan Afrika dimana wabah ini berawal dari Qianghi, Cina (GALL-RECULE *et al.*, 2008). Kondisi lingkungan di Afrika Selatan yang relatif kering dan pemandangan yang kurang menarik kemungkinan menjadi salah satu faktor penyebab populasi unggas air liar bermigrasi ke arah utara yang memiliki iklim yang dingin dimana kondisi ini disukai oleh unggas air untuk melakukan perkawinan. Unggas air lokal Afrika Selatan (bangau, burung laut) diduga adalah unggas air Eropa yang bermigrasi ke Afrika. Migrasi tahunan beberapa spesies unggas air biasanya membentuk suatu kawanan atau kelompok dengan tujuan untuk melindungi diri (HOCKEY *et al.*, 2005; CUMMING *et al.*, 2008). Perpindahan ini akan berpotensi untuk membuat unggas air tersebut berbaur dengan unggas air lainnya dimana kondisi ini dapat memfasilitasi terjadinya mutasi virus AI. Hasil penelitian yang dilakukan ABOLNIK *et al.* (2010) menunjukkan bahwa virus AI dari itik yang bersirkulasi di Afrika Selatan mempunyai hubungan dengan virus AI asal Eropa, tetapi tidak memiliki hubungan dengan virus AI dari Asia. Hal ini dimungkinkan dapat terjadi karena unggas air yang berada di Afrika merupakan unggas air Eropa yang bermigrasi ke Afrika Selatan. Hubungan filogenetik dari virus-virus yang diisolasi dari unggas air tersebut dan peternakan burung unta mengindikasikan bahwa itik liar berperan sebagai sumber penularan infeksi virus AI pada peternakan ayam intensif.

Di akhir musim panas yang panjang pada tahun 2005, virus AI yang mirip dengan virus AI dari wabah yang terjadi di Asia untuk pertama kali dapat diisolasi dari angsa (*Anseriformes*) yang mati di Eropa. Migrasi unggas air mempunyai peran yang sangat penting dalam penyebaran virus AI H5N1 yang berhubungan dengan wabah dari Asia ke Eropa (TEIFKE *et al.*, 2007). Pengembalaan itik secara bebas dan berpindah dari satu tempat ke tempat lainnya terutama pada saat musim panen merupakan faktor yang berperan terhadap penyebaran virus HPAI H5N1 (GILBERT *et al.*, 2006).

Di Indonesia, pengembalaan itik secara berpindah pada musim panen juga terjadi dimana itik secara berkelompok dibiarkan bebas berkeliaran untuk mencari makan sendiri di sawah yang habis panen dan selanjutnya, itik ini akan berpindah ke sawah lain apabila makanan di sawah sebelumnya sudah mulai habis. Perpindahan itik ini berlangsung selama beberapa hari dan dalam jarak yang cukup jauh dimana kondisi ini sangat mendukung terjadinya penyebaran virus oleh itik yang terinfeksi virus AI dari satu tempat ke tempat lainnya.

Virus-virus HPAI dapat ditularkan diantara unggas air dan selanjutnya, unggas air tersebut dapat memulai terjadinya pandemik meskipun mekanisme rute penyebaran virus tersebut tidak bisa diperkirakan (WANG *et al.*, 2008). Walaupun demikian, SIMS *et al.* (2005) menyatakan bahwa rute utama penularan virus tersebut melalui peralatan yang terkontaminasi atau lewat unggas hidup yang terinfeksi. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa umumnya penyebaran virus influenza lebih suka bereplikasi pada saluran pencernaan unggas air dan tanpa memperlihatkan gejala klinis (melalui *fecal-oral*) (WEBSTER *et al.*, 1978). Data akhir-akhir ini disebutkan bahwa sifat biologi dari virus influenza H5N1 dalam unggas air memperlihatkan perubahan dikarenakan sebagian besar virus HPAI H5N1 yang dapat diisolasi dari unggas air yang mati diekresikan lebih tinggi di trakea (saluran pernafasan bagian atas) daripada di kloaka sejak tahun 2002 (HULSE-POST *et al.*, 2005). Penelitian yang dilakukan oleh JEONG *et al.* (2009) juga menunjukkan hasil bahwa virus HPAI H5N1 yang diisolasi dari wabah yang terjadi di Korea ditemukan dalam *swab* orofaring itik dengan titer yang tinggi dan ditularkan terutama melalui mulut atau trakea.

Virus influenza lebih umum dikeluarkan melalui trakea, dimana rute ini lebih relevan dikarenakan adanya beberapa pola hidup dari inang yang memungkinkan penularan virus AI melalui rute *fecal-oral* menjadi sulit terealisasi (ELLSTROM *et al.*, 2008). Namun demikian, virus influenza selama periode infeksi dapat diekresikan itik dalam jumlah besar melalui feses selama 7 hari, bahkan mungkin sampai 21 hari. Itik air sangat peka dan mudah terinfeksi oleh virus influenza AI melalui makanan dan air yang dikonsumsi (KIDA *et al.*, 1980). Habitat itik yang dekat dengan lingkungan air sangat memungkinkan untuk transmisi virus influenza melalui air. Air merupakan suatu media yang disukai untuk penyebaran virus AI *nonvirulent* dan sebagian virus AI sangat *virulent* diantara spesies unggas yang berkumpul dalam suatu lahan yang basah (unggas air, burung laut dan burung pantai). Virus AI masih dapat bersifat infeksi dalam air yang tergenang selama 4 hari pada suhu 22°C dan lebih dari 30 hari pada suhu 0°C. Virus AI akan bertahan

dalam periode yang lebih lama lagi jika berada dalam daerah atau lahan dingin (STALLKNECHT *et al.*, 1990).

Perubahan ekologi lingkungan mempunyai dampak yang besar bagi penyebaran virus AI. Pola penyebaran virus AI ini umumnya dipengaruhi oleh musim, dimana prevalensi virus AI dilaporkan lebih tinggi pada musim gugur dan dingin (DOWELL, 2001). Di Indonesia, laporan kasus AI umumnya akan meningkat pada saat musim hujan dimana kelembaban tinggi menjadi faktor pendukung terhadap perkembangan biakan dan penyebaran virus AI di lingkungan. Hasil penelitian terhadap sirkulasi virus AI subtipe H5 pada unggas termasuk unggas air di Jawa Barat, Banten, Jawa Timur sepanjang tahun 2008 sampai 2009 yang dilakukan HEWAJULI dan DHARMAYANTI (2011, *unpublished data*) menunjukkan bahwa virus AI subtipe H5 ditemukan pada sebagian besar unggas termasuk unggas air yang dikoleksi pada musim hujan sedangkan sebagian besar unggas yang diambil sampelnya pada musim kemarau tidak teridentifikasi virus AI subtipe H5. Suhu yang tinggi pada musim kemarau kemungkinan menyebabkan virus AI yang ada di lingkungan menjadi inaktif. Virus AI dapat diinaktivasi pada suhu 56°C selama 3 jam atau suhu 60°C selama 30 menit, dengan pH < 5 atau pH > 8.

PENCEGAHAN PENYEBARAN VIRUS AVIAN INFLUENZA PADA UNGGAS AIR

Strategi pengendalian penyebaran virus HPAI pada peternakan unggas yang selama ini diterapkan meliputi peraturan yang ketat terhadap perpindahan unggas, pemusnahan unggas yang terinfeksi AI dan berisiko terkena infeksi AI serta peningkatan biosekuriti pada peternakan unggas. Meskipun demikian, keberadaan virus AI H5N1 sudah menyebar secara luas pada peternakan rakyat di Asia meliputi peternakan itik, kalkun, dan unggas liar terutama unggas yang bermigrasi. Untuk itu, perlu strategi alternatif yang harus benar-benar dipertimbangkan untuk pencegahan penyebaran virus AI pada unggas air. Monitoring, surveilans, dan vaksinasi merupakan bagian dari strategi pengendalian virus AI.

Vaksin AI yang efektif mampu mencegah terjadinya infeksi virus AI dan penyakit yang ditimbulkannya. Vaksin yang efektif terhadap itik diharapkan akan mampu memberikan jalan untuk pengendalian penyakit AI, sebagaimana kita ketahui itik memegang peranan yang penting dalam penyebaran virus influenza H5N1 di Asia. Idealnya, vaksin yang efektif adalah vaksin yang mempunyai homologi genetik dan antigenik yang mendekati sempurna dengan virus yang beredar di wilayah yang bersangkutan. Untuk wilayah yang mempunyai virus yang berasal dari satu subkelompok, vaksin yang digunakan idealnya mengandung antigen dari masing-

masing subkelompok. Vaksin AI secara komersial tersedia dalam bentuk vaksin virus inaktif dalam *adjuvan* minyak. Meskipun demikian, efektivitas dan biaya yang dikeluarkan terhadap *flock* itik yang divaksinasi AI perlu dikaji, khususnya di negara dengan tingkat populasi itik yang tinggi dan terkena wabah AI H5N1.

Vaksin AI *monovalent reassortant* mampu memberikan keamanan dan efektivitas yang baik sebagai alat pengendalian virus influenza H5N1 pada itik baik pada peternakan rakyat maupun perusahaan. Vaksin ini juga dapat mencegah terjadinya *shedding* virus AI dan dapat digunakan untuk membedakan antara antibodi yang diperoleh dari itik hasil vaksinasi atau infeksi. Sedangkan vaksin AI *bivalent* hanya mampu memberikan tingkat proteksi terhadap penyakit yang ditimbulkan tetapi *shedding* virus (MIDDLETON *et al.*, 2007). Di Indonesia, analisis *sequence* terhadap isolat-isolat virus HPAI H5N1 dari unggas air yang dilakukan SUSANTI *et al.* (2007) menunjukkan bahwa isolat tersebut dibedakan menjadi 3 percabangan (1 kluster Indonesia dan 2 kluster Asia). Program vaksinasi AI pada unggas air sebagai *reservoir* HPAI subtipe H5N1 perlu dilakukan di Indonesia dengan bibit vaksin AI yang sesuai dengan sifat genetik dan antigenik virus AI yang menginfeksi unggas air tersebut.

Selain vaksinasi AI, surveilans merupakan salah satu komponen yang penting dalam pengendalian virus AI. Saat ini, surveilans terhadap sirkulasi virus AI H5N1 di unggas liar sudah menjadi perhatian yang serius dan pelaksanaannya agar tetap ditingkatkan. Pengambilan sampel pada saat surveilans biasanya pada daerah yang mempunyai tingkat risiko kasus AI H5N1 yang tinggi. Surveilans pada unggas air biasanya dilakukan dengan pengambilan sampel *swab* kloaka dan trakea dari unggas air hidup untuk mendeteksi adanya *shedding* virus AI. Pengambilan sampel air atau lingkungan juga diperlukan sebagai data tambahan untuk surveilans AI. Meskipun demikian, pengambilan sampel *swab* kloaka merupakan pendekatan metode yang paling sering dilakukan dan memberikan hasil yang bisa diterima (MCLEAN *et al.*, 2007).

KESIMPULAN

Wabah *Avian Influenza* disebabkan oleh virus influenza A yang termasuk famili *Orthomyxoviridae*. Penyakit *Avian Influenza* biasanya menyerang unggas, tetapi penyakit ini juga dapat menginfeksi mamalia dan manusia. Unggas air terutama *Anseriformes* (itik, entok dan angsa) dan *Charadriiformes* (burung camar laut, burung laut, burung liar) merupakan *reservoir* alami virus influenza tipe A. Unggas air sebagai perantara penularan virus AI ke unggas lain maupun manusia. Unggas air yang terinfeksi virus AI biasanya tanpa

menunjukkan gejala klinis tetapi akhir-akhir ini ditemukan adanya gejala klinis gangguan syaraf sampai kematian pada unggas air yang terinfeksi AI. Migrasi unggas air dan perubahan lingkungan atau iklim berperan dalam penyebaran virus AI. Strategi pengendalian penyebaran virus AI yang efektif pada unggas air sangat diperlukan. Strategi tersebut meliputi penerapan biosekuriti yang tepat, depopulasi selektif di daerah tertular, vaksinasi, pengendalian lalu lintas unggas, surveilan dan penelusuran, peningkatan kesadaran masyarakat, pengisian kandang kembali, *stamping out* di daerah tertular baru, monitoring, pelaporan dan evaluasi.

DAFTAR PUSTAKA

- ABOLNIK, C., G.H. GERDES, M. SINCLAIR, B.W. GANZEVOORT, J.P. KITCHING, C.E. BURGER, M. ROMITO, M. DREYER, S. SWANEPOEL, G.S. CUMMING and A.J. OLIVIER. 2010. Phylogenetic analysis of influenza A viruses (H6N8, H1N8, H4N2, H9N2, H10N7) isolated from wild birds, ducks, and ostriches in South Africa from 2007 to 2009. *Avian Dis.* 54: 313 – 322.
- ACHENBACH, J.E. and R.A. BOWEN. 2011. Transmission of *Avian Influenza A* viruses among species in an artificial barnyard. *PLoS ONE* 2011 Mar 31. 6(3): e17643.
- ALEXANDER, D.J. 2000. A review of *Avian Influenza* in different birdspecies. *Vet. Microbiol.* 74: 3 – 13.
- BAIGENT, S.J. and J.W. MCCAULEY. 2003. Influenza type A in humans, mammals and birds: Determinants of virus virulence, host-range and interspeciestransmission. *BioEssays* 25: 657 – 671.
- BEARE, A.S. and R.G. WEBSTER. 1991. Replication of avian influenza viruses in humans. *Arch. Virol.* 119: 37–42.
- BELL, D., S. ROBERTON and P.R. HUNTER. 2004. Animal origins of SARS *Coronavirus*: Possible links with the international trade in small carnivores. *Philos Trans R Soc. Lond B Biol. Sci.* 359: 1107 – 1114.
- CAMPITELLI, L., M. CICOZZI, M. SALEMI, F. TAGLIA, S. BOROS, I. DONATELLI and G. REZZA. 2006. H5N1 influenza virus evolution: A comparison of different epidemics in birds and humans (1997 – 2004). *J Gen Virol.* 87: 955 – 960.
- CAPUA, I. and F. MUTINELLI. 2001. Mortality in Muscovy ducks (*Cairina moschata*) and domestic geese (*Anser anser*) associated with natural infection with a *Highly Pathogenic Avian Influenza* virus of H7N1 subtype. *Avian Pathol.* 30: 179 – 183.
- CDC. 2008. *Avian Influenza A* virus infections of humans. <http://www.cdc.gov/flu/avian/gen-info/avian-flu-humans.htm> (5 Oktober 2011).
- CUMMING, G.S., P.A.R. HOCKEY, L.W. BRUINZEEL and M. DU PLESSIS. 2008. Wild bird movements and avian influenza risk mapping in southern Africa. *Ecol. Soc.* 13: 26. <http://www.ecologyandsociety.org/vol13/iss2/art26>. (21 Juli 2011).
- DASZAK, P., A.A. CUNNINGHAM and A.D. HYATT. 2006. Emerging infectious diseases of wildlife: Threats to biodiversity and human health. *Science* 287: 443 – 449.
- DEPKES. 2011. Laporan kasus flu burung. <http://www.depkes.go.id/index.php/berita/press-release/1721-laporan-kasus-flu-burung.html>. (10 Desember 2011).
- DHARMAYANTI, N.L.P.I. dan R. INDRIANI. 2007. Patogenitas molekuler virus *Avian Influenza* yang diisolasi pada tahun 2005. *Media Kedokteran Hewan* 232: 68 – 73.
- DHARMAYANTI, N.L.P.I., R. DAMAYANTI, A. WIYONO, R. INDRIANI dan DARMINTO. 2004. Identifikasi virus *avian influenza* isolat Indonesia dengan *Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR). *JITV* 9: 136 – 143.
- DHARMAYANTI, N.L.P.I., R. INDRIANI, D.A. HEWAJULI, A. RATNAWATI dan DARMINTO. 2009. Mapping genetik virus *Avian Influenza* di Indonesia. Laporan akhir Penelitian. Bbalitvet, Bogor.
- DHARMAYANTI, N.L.P.I., R. INDRIANI, R. HARTAWAN, D.A. HEWAJULI, A. RATNAWATI dan DARMINTO. 2008. Pemetaan genetik virus *Avian Influenza* di Indonesia 2007. *J. Biologi Indonesia* 5(2): 155 – 171.
- DOWELL, S.F. 2001. Seasonal variation in host susceptibility and cycles of certain infectious diseases. *Emerg. Infect. Dis.* 7: 369 – 373.
- ELLSTROM, P., N. LATORRE-MARGALEF, P. GRIEKSPoor, J. WALDENSTRÖM, J. OLOFSSON, J. WAHLGREN and B. OLSEN. 2008. Sampling for low-pathogenic avian influenza A virus in wild Mallard ducks: Oropharyngeal versus cloacal swabbing. *Vaccine* 26: 4414 – 4416.
- FERGUS, R., M. FRY, W.B. KARESH, P.P. MARRA, S. NEWMAN and E. PAUL. 2006. Migratory birds and avian flu. *Science* 312: 845 – 846.
- FOUCHIER, R.A., V. MUNSTER, A. WALLENSTEN, T.M. BESTEBROER, S. HERFST, D. SMITH, G.F. RIMMELZWAAN, B. OLSEN and A.D.M.E. OSTERHAUS. 2005. Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *J. Virol.* 79(5): 2814 – 2822.
- GALL-RECUÉ, G.L., F.X. BRIAND, A. SCHMITZ, O. GUIONIE, P. MASSIN and V. JESTIN. 2008. Double introduction of highly pathogenic H5N1 avian influenza virus into France in early 2006. *Avian Pathol.* 37: 15 – 23.
- GILBERT, M., P. CHAITAWEEsUTB, T.S. PARAKAMAWONGSA, P.T. TIENSIN, W.H. KALPRAVID and W.J. SLINGENBER. 2006. Free-grazing ducks and highly pathogenic avian influenza, Thailand. *EID CDC* 12: 56 – 62.
- HANSON, B. A., D. E. SWAYNE, D.A. SENNE, D.S. LOBPRIES, J. HURST and D. E. STALLKNECHT. 2005. Avian Influenza viruses and paramyxoviruses in wintering and resident ducks in Texas. *J. Wildlife Dis.* 41(3): 624 – 628.

- HATTA, M., P. GAO, P. HALFMANN and Y. KAWAOKA. 2001. Molecular basis for high virulence of Hong Kong H5N1 influenza A viruses. *Science* 293: 1840 – 1842.
- HOCKEY, P.A.R., W.R.J. DEAN and P.G. RYAN. 2005. *Roberts' Birds of South Africa* 7th Ed. John Voelcker Bird Book Fund, Cape Town, South Africa.
- HULSE-POST D.J., J. FRANKS, K. BOYD, R. SALOMON, E. HOFFMANN, H.L. YEN, R.J. WEBBY, D. WALKER, T.D. NGUYEN and R.G. WEBSTER. 2007. Molecular changes in the polymerase genes (PA and PB1) associated with high pathogenicity of H5N1 Influenza Virus in Mallard ducks. *J. Virol.* 81(16): 8515 – 8524.
- HULSE-POST, D.J., K.M. STURM-RAMIREZ, J. HUMBERD, P. SEILER, E.A. GOVORKOVA, S. KRAUSS, C. SCHOLTISSEK, P. PUTHAVATHANA, C. BURANATHAI, T.D. NGUYEN, H.T. LONG, T.S. NAIPOSPOS, H. CHEN, T.M. ELLIS, Y. GUAN, J.S. PEIRIS and R.G. WEBSTER. 2005. Role of domestic ducks in the propagation and biological evolution of highly pathogenic H5N1 influenza viruses in Asia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 10682 – 10687.
- ITO, T., H. KIDA and Y. KAWAOKA. 1996. Receptors of influenza A viruses: Implication for the role of pigs in the generation of pandemic human influenza viruses. *In: Options for the Control of Influenza*. BROWN, L.E., A.W. HAMPSON and R.G. WEBSTER (Eds.). Elsevier Science, Amsterdam, The Netherlands. 3: 516 – 519.
- JEONG, O., M.C. KIM, M.J. KIM, H.M. KANG, H.R. KIM, Y.J. KIM, S.J. JOH, J. KWON and Y.J. LEE. 2009. Experimental infection of chickens, ducks and quails with the highly pathogenic H5N1 avian influenza virus. *J. Vet. Sci.* 10(1): 53 – 60.
- KAWAOKA, Y., S. KRAUSS and R.G. WEBSTER. 1989. Avian-to-human transmission of the PB1 gene of influenza A viruses in the 1957 and 1968 pandemics. *J. Virol.* 63: 4603 – 4608.
- KEAWCHAROEN, J., D. VAN RIEL, G. VAN AMERONGEN, T. BESTEBROER, W.E. BEYER, R.V. LAVIERENT, A.D.M.E. OSTERHAUS, R.A.M. FOUCHIER and T. KUIKEN. 2008. Wild ducks as long-distance vectors of highly pathogenic Avian Influenza virus (H5N1). *Emerg. Infect. Dis.* 14(4): 600 – 607.
- KIDA, H., R. YANAGAWA and Y. MATSUOKA. 1980. Duck influenza lacking evidence of disease signs and immune response. *Infect. Immun.* 30: 547 – 553.
- 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(6996): 209 – 213.
- MACKENZIE, D. 2006. The bird flu threat. *New Scientist*. i – vii. Specia Sup, 7 January.
- MCLEAN, R.G., J.S. HALL, A.B. FRANKLIN, H. SULLIVAN, K. VANDALEN, S. SHRINER, M. FARNSWORTH, P. OESTERLE, G. YOUNG, J. CARLSON, K. COBBLE, S. ELMORE, T. ANDERSON, S. HAUSER, K. BENTLER, N. MOOERS, K.P. HUYVAERT and T. DELIBERTO. 2007. Avian influenza in wild birds: Environmental sampling for the rapid detection of avian influenza viruses. *Proc. of the 12th Wildlife Damage Management Conference. USDA National Wildlife Research Center-Staff-Publication*. University Nebraska, Lincoln. 768 : 87 – 93.
- MIDDLETON, D., J. BINGHAM, P. SELLECK, S. LOWTHER, L. GLEESON, P. LEHRBACH, S. ROBINSON, J. RODENBERG, M. KUMAR and M. ANDREW. 2007. Efficacy of inactivated vaccines against H5N1 avian influenza infection in ducks. *J. Virol.* 359(1): 66 – 71.
- MONKE, J. and M.L. CORN. 2007. Avian influenza in poultry and wild birds. US. Geological Survey. Congressional Research Service (CRS). http://Alaska.usgs.gov/science/biology/avian_influenza/flyways.html (6 September 2011).
- MOUNTS, A.W., H. KWONG, H.S. IZURIETA, Y.Y. HO, T.K. AU, M. LEE, C.B. BRIDGES, S.W. WILLIAMS, K.H. MAK, J.M. KATZ, W.W. THOMPSON, N.J. COX and F. FUKUDA. 1999. Case-control study of risk factors for avian influenza A (H5N1) disease, Hong Kong, 1997. *J. Infect. Dis.* 180: 505 – 508.
- MOYA, A., E.C. HOLMES and F. GONZALEZ-CANDELAS. 2004. The population genetics and evolutionary epidemiology of RNA viruses. *Nat Rev.* 2: 279 – 288.
- NAGY, A., J. MACHOVA, J. HORNICKOVA, M. TOMCI, I. NAGL, B. HORYNA and I. HOLKO. 2007. Highly pathogenic avian influenza virus subtype H5N1 in Mute swans in the Czech Republic. *Vet. Microbiol.* 120: 9 – 16.
- NAGY, A., V. VOSTINAKOVA, Z. PINDOVA, J. HORNICKOVA, L. CERNIKOVA, K. SEDLAK, M. MOJZIS, Z. DIBARKOVA and J. MARCHOVA. 2009. Molecular and phylogenetic analysis of the H5N1 *Avian Influenza* virus caused the first highly pathogenic avian influenza outbreak in poultry in the Czech Republic in 2007. *Vet. Microbiol.* 133: 257 – 263.
- NATURE EDITORIAL. 2007. Antiviral Resistance and the Control of Pandemic Influenza: Editors' Summary. *Public Library of SciencePLoS Med.* 4(2) http://www.medscape.com/viewarticle/556454_5 (9 Oktober 2011).
- NGUYEN-VAN-TAM, J.S. and A.W. HAMPSON. 2003. The epidemiology and clinical impact of pandemic influenza. *Vaccine* 21(16): 1762 – 1768.
- NICHOLLS, H. 2006. Pandemic influenza: the inside story. *PLoS Biol.* 4(2): 50.
- NORMILE, D. 2005. Pandemic skeptics warn against crying wolf. *Science* 310: 1112 – 1113.
- OIE WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH. 2006. Update on Avian Influenza. http://www.oie.int/download/AVIAN%20INFLUENZA/A_AI-Asia.htm (2 April 2006).

- OLSEN, B., V.J. MUNSTER, A. WALLENSTEN, J. WALDENSTROM, A.D.M.E. OSTERHAUS and R.A.M. FOUCHIER. 2006. Global patterns of influenza A virus in wild birds. *Science* 312: 384 – 388.
- RONNMARK, R. and E. GISAEUS. 2011. Illustration of the host range of influenza A virus with the natural reservoir of influenza A virus, accidental hosts, and the subtype that have been identified in the different groups. http://www.infectionecologyandepidemiology.net/index.php/iee/article/viewFile/6004/html_83/16919 (25 August 2011).
- SAITO, T., C. WATANABE, N. TAKEMAE, A. CHAISINGH, Y. UCHIDA, C. BURANATHAI, H. SUZUKI, M. OKAMATSU, T. IMADA, S. PARCHARIYANON, N. TRAIWANATAM and S. YAMAGUCHI. 2009. Pathogenicity of highly pathogenic avian influenza viruses of H5N1 subtype isolated in Thailand for different poultry species. *Vet. Microbiol.* 133: 65–74.
- SHU, L.P., G.B. SHARP, Y.P. LIN, E.C.J. CLASS, S.L. KRAUSS, K.F. SHORTRIDGE and R.G. WEBSTER. 1996. Genetic reassortment in pandemic and interpandemic influenza viruses: A study of 122 viruses infecting humans. *Eur. J. Epidemiol.* 12(1): 63 – 70.
- SIMS, L.D., J. DOMENECH, C. BENIGNO, S. KAHN, A. KAMATA, J. LUBROTH, V. MARTIN and P. ROEDER. 2005. Origin and evolution of highly pathogenic H5N1 avian influenza in Asia. *Vet. Rec.* 157: 159 – 164.
- SMITH, G.D.J., A.S. LAPEDES, J.C. DE JONG, T.M. BASTEBROER, G.F. RIMMELZWAAN, A.D.M.E. OSTERHAUS and R.A.M. FOUCHIER. 2004. Mapping the antigenic and genetic evolution of influenza virus. *Science* 305: 371 – 375.
- SMITH, G.J.D., T.S.P. NAIPOSSOS, T.D. NGUYEN, M.D. DE JONG, D. VIJAYKRISHNA, T.B. USMAN, S.S. HASSAN, T.V. NGUYEN, T.V. DAO, N.A. BUI, Y.H. LEUNG, C.L. CHEUNG, J.M. RAINER, J.X.ZHANG, L.J. ZHANG, L.L. POON, K.S. LI, V.C. NGUYEN, T.T. HIEN, J. FARRA, R.G. WEBSTER, H. CHEN, J.S. PEIRIS and Y. GUAN. 2006. Evolution and adaptation of H5N1 influenza virus in avian and human hosts in Indonesia and Vietnam. *Virology* 350(2): 258 – 268.
- SPACKMAN, E., K.G. MCCracken, K. WINKER and D.E. SWAYNE. 2006. H7N3 avian influenza virus found in a South American wild duck is related to the Chilean 2002 poultry outbreak, contains genes from equine and North American wild bird lineages, and is adapted to domestic turkeys. *J. Virol.* 80(15): 7760 – 7764.
- STALLKNECHT, D.E., S.M. SHANE, M.T. KEARNEY and P.J. ZWANK. 1990. Persistence of avian influenza viruses in water. *Avian Dis.* 34: 406 – 411.
- STRUM-RAMIREZ, K., D.J. HULSE-POST, E.A. GOVORKOVA, J. HUMBERD, P. SEILER, P. PUTHAVATHANA, C. BURANATHAI, T.D. NGUYEN, A. CHAISINGH, H.T. LONG, T.S.P. NAIPOSSOS, 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.
- 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* subtype H5N1. *JITV* 12(2): 160 – 166.
- SUSANTI, R., R. D. SOEJOEDONO, I. G. N. K. MAHARDIKA, I. W. T. WIBAWAN dan M. T. SUHARTONO. 2008. Filogenetik dan struktur antigenik virus avian influenza subtype H5N1 isolat unggas air. *J. Vet.* 9(3): 99 – 106.
- TEIFKE, J.P., R. KLOPFLEISCH, A. GLOBIG, E. STARICK, B. HOFFMAN, P.U.WOLF, M. BEER, T.C. METTENLEITER and T.C. HARDER. 2007. Pathology of natural infections by H5N1 highly pathogenic avian influenza virus in mute (*Cygnus olor*) and whooper (*Cygnus cygnus*) swans. *Vet Pathol.* 44(2): 137 – 143.
- TUMPEY, T. M., D. L. SUAREZ, L.E.L. PERKINS, D.A. SENNE, J. LEE, Y.J. LEE, I.P. MO, H.W. SUNG and D.E. SWAYNE. 2002. Characterization of a highly pathogenic H5N1 avian influenza a virus isolated from duck meat. *J. Virol.* 76(12): 6344 – 6355.
- VASCELLARI, M., A. GRANATO, L. TREVISAN, L. BASILICATA, A. TOFFAN, A. MILANI and F. MUTINELLI. 2007. Pathologic findings of highly pathogenic Avian Influenza Virus A/Duck/Vietnam/12/05 (H5N1) in Experimentally infected Pekin ducks, based on immunohistochemistry and in situ hybridization. *Vet Pathol.* 44: 635 – 642.
- WANG, G., D. ZHAN, L. LI, F. LEI, B. LIU, D. LIU, H. XIAO, Y. FENG, J. LI, B. YANG, Z. YIN, X. SONG, X. ZHU, Y. CONG, J. PU, J. WANG, J. LIU, G.F. GAO and Q. ZHU. 2008. H5N1 *Avian Influenza* re-emergence of Lake Qinghai: Phylogenetic and antigenic analyses of the newly isolated viruses and roles of migratory birds in virus circulation. *J. Gen. Virol.* 89: 697 – 702.
- WEBBY, R.J., R.G. WEBSTER and J.A. RICHT. 2007. Influenza viruses in animal wildlife populations. *Curr. Top Microbiol. Immunol.* 315: 67 – 83.
- WEBSTER, R.G., M. YAKHNO, V.S. HINSHAW, W.J. BEAN and K.G. MURTI. 1978. Intestinal influenza: Replication and characterization of influenza viruses in ducks. *Virology* 84: 268 – 278.
- WEBSTER, R.G., W.J. BEAN, O.T. GORMAN, T.M. CHAMBERS and Y. KAWAOKA. 1992. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol. Rev.* 56: 152 – 179.
- WIYONO, A., R. INDRIANI, N.L.P.I. DHARMAYANTI, R. DAMAYANTI dan DARMINTO. 2004. Isolasi dan Karakterisasi Virus Highly pathogenic *Avian Influenza* sub-tipe H5 dari Ayam Asal wabah di Indonesia. *JITV* 9: 61 – 71.
- YAMAMOTO, Y., K. NAKAMURA, M. YAMADA and M. MASE. 2010. Comparative pathology of chickens and domestic ducks experimentally infected with highly pathogenic Avian Influenza viruses (H5N1) isolated in Japan in 2007 and 2008. *JARQ* 44(1): 73 – 80.