

LIVE BIRD MARKETS (LBM) SEBAGAI LINGKUNGAN YANG BERPOTENSI UNTUK SIRKULASI VIRUS AVIAN INFLUENZA (AI) SUBTIPE H9 DI PROVINSI JAWA BARAT

Niken Respati Maharani¹, Isrok Malikus Sufi¹, Fitriani¹

¹Laboratorium Bioteknologi Balai Veteriner Subang Kementerian Pertanian,
Jl. Terusan Garuda Blok Werasari Dangdeur, Subang 41212

ABSTRAK

Live bird markets (LBM) merupakan pasar yang umum digunakan untuk kegiatan perdagangan unggas (ayam, itik, burung, dll) di sebagian besar negara berkembang di Asia Tenggara, termasuk Indonesia. LBM ini sering diduga sebagai sumber penularan dan penyebaran virus Avian Influenza (AI) ke berbagai daerah di sekitar pasar ataupun bahkan jauh dari pasar tersebut karena didistribusikan melalui perdagangan antar kota/kabupaten atau antar provinsi di seluruh wilayah Indonesia.

Balai Veteriner Subang sebagai UPT Kementerian Pertanian yang memiliki tugas pada bidang penyidikan penyakit hewan telah melakukan surveilans aktif terhadap penyebaran virus AI pada LBM di Provinsi Jawa Barat dengan sampel swab lingkungan (alas talenan, tempat pencabutan bulu, air yang digunakan untuk memproses unggas dan tempat pemotongan unggas) pada tahun 2018. Studi ini bertujuan untuk mengidentifikasi sirkulasi dan prevalensi virus AI dengan pendekatan uji *Real Time* PCR (rt-PCR) berdasarkan identifikasi sub tipe H9.

Sampel swab lingkungan dilakukan pengambilan di LBM pada 7 (tujuh) kota/kabupaten di Jawa Barat pada tahun 2018. Beberapa bagian di lingkungan LBM diambil sampelnya dan dijadikan satu (*dipool*) maksimal 5 (lima) swab lingkungan dalam satu *Viral Transport Media* (VTM). Sampel swab lingkungan diambil sekali untuk setiap LBM yang dikunjungi dimana jumlah sampel disesuaikan dengan situasi dan kondisi pada saat kunjungan. Sampel yang didapatkan kemudian diuji dengan metode qPCR untuk deteksi virus H9.

Hasil penelitian menunjukkan keberadaan virus AI sub tipe H9 pada sampel lingkungan di Provinsi Jawa Barat. Sampel didapatkan dari 329 swab lingkungan dan menunjukkan jumlah prevalensi total virus AI sub tipe H9 pada LBM di Provinsi Jawa Barat sebanyak 249 (75.68%; Selang Kepercayaan (SK) 95%: 71.05%-80.32%). Prevalensi tertinggi sebesar 100% terjadi di Kabupaten Banjar, Kota Bandung dan Kabupaten Purwakarta.

Hasil positif H9 pada sampel lingkungan menunjukkan adanya potensi tersebarnya virus AI di lingkungan pasar. Perbaikan tata niaga perdagangan unggas di LBM penting untuk dilakukan dengan penerapan aspek biosekuriti, biosafeti, sanitasi dan kebersihan lingkungan pasar untuk mengurangi kontaminasi virus AI di area pasar tradisional.

Kata kunci: Avian Influenza, H9, unggas, LBM, Jawa Barat

PENDAHULUAN

Avian Influenza adalah penyakit viral pada unggas dan juga unggas liar yang disebabkan oleh Virus Influenza Type A (Lamb and Krug, 2001). Salah satu sub tipe virus Influenza A adalah virus Influenza Type A sub tipe H9. Infeksi virus ini menyebabkan gejala klinis yang cenderung ringan, namun tidak dipungkiri peran dalam beberapa kasus dan kematian pada peternakan unggas yang disebabkan infeksi patogen lain (Guan *et al.*, 2000; Peiris *et al.*, 2001).

Salah satu faktor penting pemicu terjadinya pandemi AI adalah perdagangan unggas hidup di pasar tradisional (*live bird market*). Banyaknya unggas yang diperdagangkan dalam kondisi hidup dalam suatu area di pasar tradisional

menyebabkan sirkulasi virus AI secara *kontinyu*, *reassortment* dan rekombinasi. Kondisi tersebut memiliki resiko sangat tinggi bagi pengunjung pasar hewan karena dapat tertular secara tidak langsung dan dapat berperan sebagai sumber penyebar virus ke hewan lain (Antara *et al.*, 2009).

Kasus yang terjadi pada manusia tahun 1999 dilaporkan bahwa dua anak terinfeksi virus Influenza A subtype H9 di Hongkong, kemudian pada Tahun 2003 juga terdapat laporan seorang anak terinfeksi virus yang sama (Rahardjo dan Nidom, 2004).

Virus Influenza A subtype H9 sudah menular ke berbagai spesies mamalia. Mamalia yang pernah dilaporkan terinfeksi virus H9N2 di Iran adalah anjing jalanan (Hasiri *et al.*, 2012). Kasus yang sama juga ditemui di daerah Cina Selatan (Sun *et al.*, 2013).

TUJUAN

Studi ini bertujuan untuk mengidentifikasi sirkulasi dan prevalensi virus AI dengan pendekatan uji *Real Time* PCR (rt-PCR) berdasarkan identifikasi subtype H9.

MATERI DAN METODE

Sampel swab lingkungan dilakukan pengambilan di LBM yang telah dilakukan *profiling* pada 7 (tujuh) kota/kabupaten di Jawa Barat pada tahun 2018, yaitu meliputi Kab. Subang, Kab. Purwakarta, Kota Bandung, Kab. Ciamis, Kab. Karawang, Kota Tasikmalaya dan Kab. Banjar. Beberapa bagian di lingkungan LBM diambil sampelnya dan dijadikan satu (*dipool*) maksimal 5 (lima) swab lingkungan dalam satu *Viral Transport Media* (VTM). Sampel swab lingkungan diambil sekali untuk setiap LBM yang dikunjungi dimana jumlah sampel disesuaikan dengan situasi dan kondisi pada saat kunjungan. Sampel yang diambil berupa swab lingkungan tempat pemotongan ayam di antaranya pisau, talenan, keranjang ayam, meja untuk memotong, tempat sampah, dll.

Sampel yang didapatkan kemudian diuji dengan metode qPCR untuk deteksi virus AI. Apabila uji Type A / Matriks positif, maka dilanjutkan dengan uji subtype H9.

Ekstraksi RNA di Laboratorium Bvet Subang dilakukan menggunakan QIAmp® Viral RNA Mini Kit (Cat No : REF 52904). Prosedur pengujian dilakukan sesuai dengan manual kit. Hasil ekstrak RNA kemudian diamplifikasi melalui uji RT-qPCR pada alat Stratagene Mx3005p (*Agilent Technologies*) untuk pengujian subtype H9. Sekuens primer dan probe yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Oligonukleotida Primer dan Probe untuk uji RT-qPCR H9

Assay/Oligo	Sequence (5' - 3')	Final conc. (μ M)
H9		
PrimerH9F	ATG GGG TTT GCT GCC	20
PrimerH9R	TTA TAT ACA AAT GTT GCA CTC TG	20
ProbeH9	/56-FAM/TTC TGG GCC ATG TCC AAT GG/36-TAMSp/	5

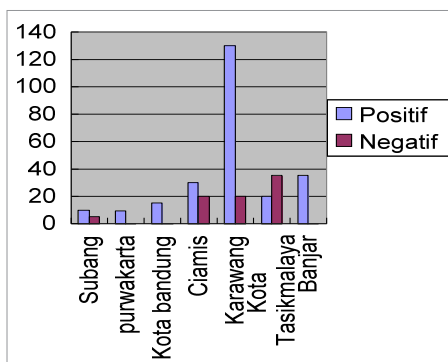
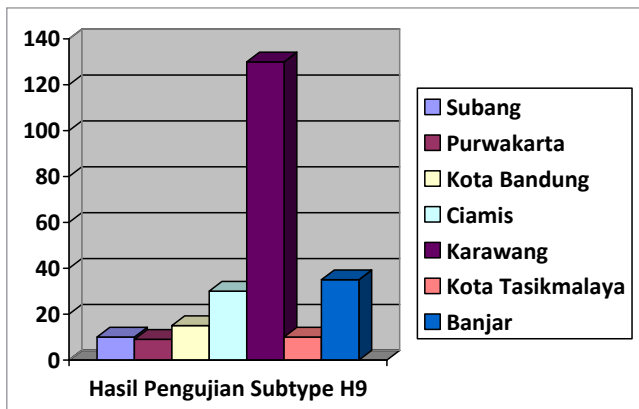
Kit master mix yang digunakan adalah Applied Biosystems (AM1005) Ag-Path-ID™ One-Step RT-PCR Reagents. Komposisi *reagent* untuk total volume 25 μ l terdiri dari *Nuclease-Free Water* sebanyak 2,75 μ l, 2X RT-PCR Buffer sebanyak 12,5 μ l, 25X RT PCR *Enzyme Mix* sebanyak 1 μ l, Primer-Probe Mix sebanyak 3,75 μ l dan template RNA sebanyak 5 μ l. Kondisi siklus/*cycling* yang digunakan adalah *reverse transcription* pada suhu 45°C selama 10 menit dan *polymerase activation* pada suhu 95°C selama 10 menit. Sedangkan amplifikasi gen H9 dilakukan sebanyak 45 siklus yang terdiri dari denaturasi (95°C selama 15 detik) serta annealing/ekstensi (60°C selama 45 detik) (Heine *et al.*, 2007) (Manual diagnostik CSIRO *Australian Animal Health Laboratory*, tidak diterbitkan). Selanjutnya analisis hasil uji didapatkan dari interpretasi nilai Ct melalui hasil data *fluorescence* yang ditampilkan pada layar monitor instrument. Sampel yang diuji menunjukkan hasil positif apabila nilai Ct < 40, *indeterminate* apabila nilai Ct 40-45 dan negatif apabila nilai Ct >45 serta menggunakan nilai *threshold* sebesar 0,1 (Heine *et al.*, 2007) .

HASIL

Tabel 2. Hasil Pengujian PCR Subtype H9 sampel LBM Tahun 2018 di Provinsi Jawa Barat

NO	KABUPATEN	KECAMATAN	JUMLAH SAMPEL	HASIL	
				POSITIF	NEGATIF
1	Subang	Subang	10	10	-
		Pagaden	5	-	5
2	Purwakarta	Purwakarta	9	9	-
3	Kota Bandung	Sukajadi	15	15	-
4	Ciamis	Rancah	10	10	-
		Ciamis	10	10	-
		Kawali	15	5	10
		Sindangkasih	5	-	5
		Panumbangan	10	5	5
5	Karawang	Talagasari	5	5	-
		Cikampek	40	40	-
		Rengasdengklok	20	15	5

NO	KABUPATEN	KECAMATAN	JUMLAH SAMPEL	HASIL	
				POSITIF	NEGATIF
		Kutawaluya	5	5	-
		Karawang Barat	10	10	-
		Karawang Timur	70	55	15
6	Kota Tasikmalaya	Mangkubumi	30	10	20
		Tawang	25	10	15
7	Banjar	Pataruman	35	35	-
Grand Total			329	249	80



Gambar 1. Bagan Hasil Pengujian Positif Subtype H9 sampel LBM Tahun 2018 di beberapa kabupaten di Provinsi Jawa Barat

Hasil penelitian menunjukkan keberadaan virus AI subtipe H9 pada sampel lingkungan di Provinsi Jawa Barat. Sampel didapatkan dari 329 swab lingkungan dan menunjukkan jumlah prevalensi total virus AI subtipe H9 pada LBM di Provinsi Jawa Barat sebanyak 249 (75.68%; Selang Kepercayaan (SK) 95%: 71.05%-80.32%). Prevalensi tertinggi sebesar 100% terjadi di Kabupaten Banjar, Kota Bandung dan Kabupaten Purwakarta.

PEMBAHASAN

Pasar sebagai tempat bertemunya manusia dan unggas berpotensi menjadi sumber penyebaran virus AI pada unggas atau bahkan menular dari unggas ke manusia. Oleh karena itu, perlu dilakukan surveilans aktif sebagai sistem peringatan dini terhadap kemungkinan adanya outbreak virus Avian Influenza di pasar unggas, sebagai bentuk pengendalian AI di Indonesia.

Dari hasil surveilans LBM di 7 kabupaten di Jawa Barat diketahui terdapat paparan virus Avian Influenza subtype H9 sebesar 75,68 %, dengan prevalensi tertinggi di Kabupaten Banjar, Kota Bandung dan Kabupaten Purwakarta sebesar 100%. Di Kabupaten Subang prevalensi kejadian sebesar 66,67%. Sedangkan di Kab. Ciamis sebesar 69,23%. Di Kab. Karawang diperoleh prevalensi kejadian sebesar 86,67%. Dan di Kota Tasikmalaya didapatkan prevalensi sebesar 33,34%.

Hasil tersebut mengidentifikasi bahwa pencegahan dan pengendalian penyebaran AI pada unggas terutama di pasar unggas hidup (*live bird market*) masih perlu mendapatkan perhatian. Meskipun subtype H9 merupakan LPAI (*Low Pathogenic Avian Influenza*), tidak menutup kemungkinan dapat bermutasi menjadi strain HPAI (*Highly Pathogenic Avian Influenza*). Proses mutasi ini kemungkinan terjadi setelah virus strain LPAI yang terdapat di unggas liar ditularkan pada unggas peliharaan. Kemudian strain virus ini bersirkulasi selama beberapa bulan dalam unggas peliharaan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa virus strain LPAI mengalami mutasi *antigenic drift* selama bersirkulasi dalam tubuh unggas peliharaan (EID, 2006).

Berdasarkan penelitian, virus subtype H9 ditemukan pada pasar unggas hidup di Kamboja tanpa mengenal musim, baik itu musim panas maupun musim penghujan (Horwood, *et al.*, 2018). Strain LPAI subtype H9 bersifat endemik pada populasi unggas di Bangladesh. Sebanyak 25% swab lingkungan positif H9, dan prevalensi yang lebih tinggi adalah di tempat pemotongan (sebesar 31,5%), terutama swab pada pisau dan talenan untuk pemotongan unggas, dibandingkan dengan pada area kios penjualan daging (sebesar 20,2%). Selain itu, prevalensi paling tinggi ditemukannya virus subtype H9 adalah pada ayam broiler dibandingkan dengan itik ataupun unggas air (Kim, *et al.*, 2018).

Untuk itu perlu diperhatikan dan dijaga kebersihan lingkungan dan peralatan seperti keranjang, pisau, telenan, meja kios, lantai, dan sebagainya. Setelah dibersihkan dan dicuci dengan deterjen, perlu dilakukan penyemprotan dengan larutan disinfektan agar lingkungan pasar lebih bersih dan sehat. Dan untuk menghindari kontak dengan kuman dan larutan disinfektan saat pembersihan, pedagang dan petugas pasar harus menggunakan alat pelindung diri seperti masker, celemek, sarung tangan, dan sepatu boot. Sarana dan prasarana seperti kendaraan pengangkut unggas serta tempat penampungan dan pemotongan

unggas berpotensi tinggi menyebarkan virus flu burung kepada konsumen jika mengangkut atau menjual unggas yang tertular flu burung.

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil positif H9 pada sampel lingkungan menunjukkan adanya potensi tersebarnya virus AI di lingkungan pasar. Perbaikan tata niaga perdagangan unggas di LBM penting untuk dilakukan dengan penerapan aspek biosekuriti, biosafety, sanitasi dan kebersihan lingkungan pasar untuk mengurangi kontaminasi virus AI di area pasar tradisional.

Selain itu, perlu dilakukan surveilans aktif sebagai sistem peringatan dini terhadap kemungkinan adanya outbreak virus Avian Influenza di pasar unggas, sebagai bentuk pengendalian AI di Indonesia.

KETERBATASAN DAN LIMITASI

- a. Kurangnya edukasi tentang biosafety dan biosecurity terhadap peternak maupun pedagang ayam terkait bahaya AI yang bersifat zoonosis, serta mudahnya penyebaran infeksi virus AI antar unggas bahkan pada manusia.
- b. Kurangnya pengendalian tentang asal muasal ternak unggas yang dijual, kondisi saat transportasi maupun sistem pemeliharaan pada saat berada di pasar unggas.
- c. Sampel diambil pada periode yang tidak ditentukan, sehingga tidak mengetahui adanya perbedaan hasil pada musim-musim tertentu.
- d. Sampel swab lingkungan tidak dipisahkan berdasarkan area pengambilan sampel (pisau, talenan, meja potong, dll, digabung dalam satu media) sehingga tidak diketahui area mana yang prevalensi virusnya paling tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

Antara, I.M.S., Suartha, I.N., Wiryana, I.K.S., Sukada, I.M., Wirata, I.W., Prasetya, I.G.N.D., Dewi, N.M.R.K., Sari, T.K., dan Mahardika, I.G.N.K. 2009. *Pola Distribusi Unggas dari Pasar Tradisional Berperan dalam Penyebaran Virus Flu Burung*. Jurnal Veteriner Juni. ISSN:1411-8327.

EMERGING INFECTION DISEASES (EID). 2006. *Control of Avian Influenza in Poultry*. <http://www.vetcite.org/publish/items/003162/index.html>. (12 September 2006).

Guan, Y.K.F.Shortridge., S. Krauss., P.S. Chin., K.C. Dyrting., T.M. Ellis, R.G. Webster., and M. Peiris. 2000. *H9N2 Influenza Viruses Possessing H5N1-Like Internal Genomes Continue To Circulate in Poultry in Southeastern China*. J. Virology Vol 74, No.20.p.9372-9380.

- Heine HG, Trinidad L, Selleck P, Lowther S. 2007. *Avian Diseases*. 51(2007):370-372. doi:http://dx.doi.org/10.1637/7587-040206R.1.
- Horwood, P.F., Horm, S.V., Suttie, A., Thet, S., Y, Palla., Rith, S. 2018. *Cocirculation of Influenza A H5, H7, and H9 Viruses and Co-infected Poultry In Live Bird Markets, Cambodia*. *Emerging Infectious Disease*. Vol.24, Number 2.
- Kim, Y., Biswas, P.K., Giasuddin, M., Hasan, M., Mahmud R., Chang, Y.M. 2018. *Prevalence of Avian Influenza A(H5) and A(H9) Viruses in Live Bird Markets, Bangladesh*. *Emerging Infectious Disease*. Vol.24, Number 12.
- Lamb, R.A., and Krug, R.M., 2001. *Orthomyxoviridae: The viruses and Their Replication*. In: *Field Virology*, 4thed. Edited by Knipe, D.M., Howley, P.M. Griffin, D.E, Martin, M.A., Lamb R.A., Roizman, B., Straus, S.E., Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, USA: 1487-1531.
- Peiris, J.S., Y.Guan, D. Markwell, P.Ghose, R.G.Webster and K.F Shortridge. 2001. *Cocirculation of avian H9N2 and contemporary human H3N2 Influenza A viruses in pigs in southeastern China: Potential for Genetic Reassortment?* *J Virol*. 75, 9679-9686.
- Rahardjo, J dan C.A. Nidom. 2004. *Avian Influenza : Pencegahan, Pengendalian dan Pemberantasannya. Hasil Investigasi Kasus Lapangan*. Gita Pustaka. Jakarta.
- Sun, X., X. Xu., Q.Liu, D.Liang, C.Li. Q.He, J.Jiang, Y.Cui, J.Li, L.Zheng, J.Guo, Y.Xiong, and J. Yan. 2013. *Evidence of Avian-like H9N2 Influenza A virus among dogs in Guangxi, China*. *J. Infection, Genetics and Evolution* 20 (2013) 471-475.