

SURVEILANS AVIAN INLUENZA (AI) DI PASAR UNGGAS HIDUP DI WILAYAH KERJA BALAI VETERINER SUBANG TAHUN 2016

Sunarno

Balai Veteriner Subang
Email : ano.keswan@gmail.com

ABSTRAK

Dinamika virus AI di Indonesia menunjukkan adanya perubahan yang signifikan seperti infeksi awal oleh virus clade 2.1.1, perkembangan menjadi clade 2.1.2 dan 2.1.3, mutasi virus, perubahan patogenesitas, fenomena escape mutant, reassortant sampai dengan introduksi jenis baru dari clade 2.3.2 dan HxNx. Untuk memonitor perkembangan virus AI di lapangan diperlukan suatu alat/tool, yaitu longitudinal surveilans di pasar unggas hidup (Live Birds Market Surveilans). Hal tersebut di dasarkan atas pertimbangan bahwa di pasar unggas hidup merupakan tempat berkumpulnya bermacam macam jenis unggas sehingga adanya mix infection dan reassorbment virus sangat tinggi. Kegiatan surveilans dilakukan oleh dinas setelah mendapatkan pelatihan oleh B-Vet Subang bekerjasama dengan FAO. Wilayah yang diambil sampel terdiri atas 13 kabupaten/kota di Propinsi Jawa Barat dan 3 kabupaten/kota di Propinsi Banten. Tujuan dari surveilans ini untuk memonitor kemajuan pengendalian AI secara nasional, memonitor sirkulasi virus AI dan mendeteksi awal dari munculnya virus influenza baru. Petugas sampling pasar (PSP) melakukan profiling pasar, penentuan pasar sesuai kriteria untuk diambil sampel. Satu pasar diambil sampel satu pool terdiri atas swab telenan, kain lap, pisau, meja display, bak sampah, ember dan mesin pencabut bulu. Sampel sampel tersebut diuji dengan menggunakan teknik Reverse Transcriptase Real Time PCR (RRT-PCR) dan sesuai tahapan algoritma pengujian. Sampel yang diperoleh dari hasil surveilans di beberapa pasar unggas hidup di Propinsi Jawa Barat dan Banten sebanyak 512 sampel. Sampel tersebut diuji menggunakan RRT-PCR. Pengujian yang lain untuk mendapatkan isolat adalah uji isolasi virus menggunakan telur bertunas. Dari hasil pengujian RRT-PCR diperoleh hasil bahwa 30 sampel positif H5N1 clade 2.3.2.1 dan 6 sampel positif H9N2. Hasil isolasi virus diperoleh hasil bahwa sampel - sampel tersebut positif AI untuk clade 2.3.2.1, namun untuk H9N2 tidak bisa tumbuh di telur bertunas kemungkinan virus sudah mati. Hal ini mengindikasikan bahwa pasar unggas hidup memang merupakan faktor yang sangat penting terjadinya wabah AI di Indonesia.

Kata kunci : AI, Pasar Unggas Hidup

PENDAHULUAN

Penyakit AI subtipe H5N1 masuk dan menjadi endemik di Indonesia sejak tahun 2003 dan menyebabkan kerugian ekonomi yang signifikan baik pada peternakan rakyat maupun komersial. Kasus kematian manusia di Indonesia akibat dampak zoonosis virus H5N1 masih tertinggi di dunia yang mencapai lebih dari 300 jiwa pada tahun 2017. Dinamika virus AI di Indonesia menunjukkan adanya perubahan yang signifikan seperti infeksi awal oleh virus clade 2.1.1, perkembangan menjadi clade 2.1.2 dan 2.1.3, mutasi virus, perubahan patogenesitas, fenomena escape mutant, reassortant sampai dengan introduksi jenis baru dari clade 2.3.2. Kendala dalam pengendalian penyakit avian influenza adalah penyebaran yang cepat ke berbagai wilayah baik oleh peranan migrasi burung-burung liar maupun penyebaran melalui transportasi unggas, produk turunannya dan peralatan yang terkontaminasi. Kendala lain adalah banyaknya varian virus di lapangan akibat mutasi. Dengan genom

berupa single stranded RNA yang terdiri atas 8 segmen maka virus influenza dapat bermutasi secara drift maupun shift menjadi virus jenis baru. Di Indonesia sistem pemasaran unggas lebih banyak dilakukan di pasar-pasar tradisional atau lebih dikenal dengan pasar becek. Di dalam pasar tersebut terdapat bermacam-macam jenis unggas yang berasal dari berbagai tempat, sehingga kemungkinan besar terjadinya *mix infection* dan *reabsorbment* virus tinggi. Hal tersebut yang mendasari pentingnya surveilans di pasar unggas hidup (pasar tradisional) sangat penting melihat kondisi perkembangan virus AI yang begitu cepat. Kegiatan surveilans di pasar unggas hidup atau *Live Bird Market Surveilans* di fasilitasi oleh *Food and Agriculture Organization* (FAO) untuk melakukan pelatihan profiling pasar dan teknik pengambilan sampel oleh petugas dinas kabupaten/kota. Surveilans dilakukan di wilayah kerja Balai Veteriner Subang meliputi 14 kabupaten/kota di 2 propinsi yaitu Jawa Barat dan Banten.

TUJUAN

Surveilans ini bertujuan untuk memonitor kemajuan pengendalian AI secara nasional, memonitor sirkulasi virus AI dan mendeteksi awal dari munculnya virus influenza baru.

MATERI DAN METODE

Materi

- Sampel swab lingkungan yang berasal dari pedagang ayam di pasar tradisional (LBM) per pool
- Viral Transport Media (VTM)
- Telur bertunas
- Antisera AI
- Kontrol positif AI
- Kit PCR berupa
 - a. Kit ekstraksi : Viral ekstraksi RNA/DNA
 - b. Kit master mix : AgPath One Step RT PCR
 - c. Primer (AAHL, 2014)

Metode

a. Profiling pasar dan pengambilan sampel

Petugas sampling pasar (PSP) melakukan profiling pasar untuk menentukan kriteria pasar yang memenuhi persyaratan pengambilan sampel yaitu di dalam pasar terdapat pedagang yang mempunyai unggas hidup dan memotong unggas tersebut di tempat. Dari hasil profiling tersebut maka PSP memilih beberapa pasar yang akan dijadikan objek untuk pengambilan sampel, satu pasar diambil satu pool sampel. Pengambilan sampel

menggunakan swab berupa cotton bud dacron (kapas sintetik), karena apabila menggunakan cotton bud biasa (organik) akan merusak media dalam VTM sehingga jika di isolasi virus tidak dapat tumbuh. Sampel diambil dari pedagang ayam berupa swab telenan, kain lap, pisau, meja display, bak sampah, ember dan mesin pencabut bulu, terdiri dari 5 swab dan dimasukkan ke dalam VTM. Sampel tersebut disimpan dalam cool box dingin agar tidak rusak dan PSP mengirimkan sampel tersebut ke Balai Veteriner Subang untuk dilakukan pengujian.

b. Pengujian dengan metode *polymerase chain reaction* (PCR)

Tahap pertama sampel dilakukan ekstraksi untuk mendapatkan RNA virus menggunakan kit ekstraksi geneaid viral RNA/DNA, dengan mengikuti prosedur yang sudah disediakan dalam kit tersebut. Tahap kedua pembuatan master mix menggunakan kit Agpath One Step RT PCR, dengan komposisi sebagai berikut :

- Rnase free water : 3
- 2x PCR Buffer : 12,5
- 25x Enzim : 1
- Primer Probe Mix : 3,5 (tipe A, H5 clade, H7, H9)

Untuk reaksi total 25 ul, dengan penambahan RNA hasil ekstraksi sebanyak 5 ul.

Kondisi PCR saat melakukan penyetalan di mesin adalah sebagai berikut :

- 1x 45°C 10 menit
- 1x 95°C 10 menit
- 45x 95°C 15 detik
- 60°C 45 detik

Sesuai dengan algoritma pengujian bahwa jika sampel positif influenza tipe A, maka dilanjutkan pengujian subtype HxNx agar diketahui strain virus AI yang bersirkulasi di pasar unggas hidup.

c. Isolasi virus

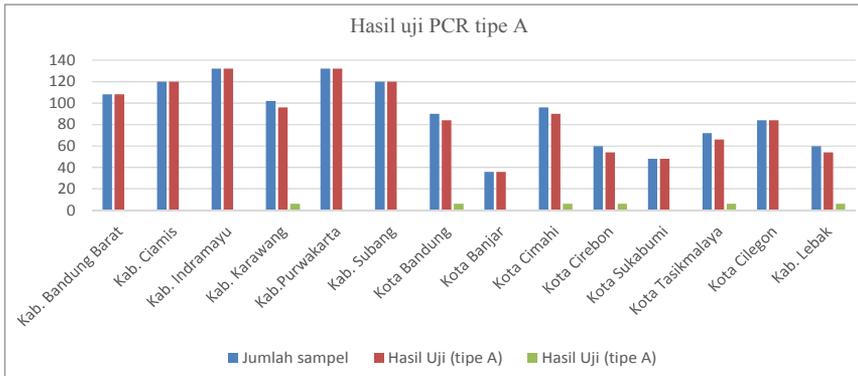
Inokulasi virus dengan spuit sebanyak 1 ml dari sampel lapangan di ruang alantoik menggunakan telur berembrio umur 9 – 11 hari. Diinkubasi selama 4-7 hari pada suhu 35°C -37°C, setelah itu telur disimpan pada suhu 4°C minimal selama 4 jam. Cairan allantois dipanen menggunakan spuit 10 ml dan dimasukkan pada tabung ukuran 15 ml dan disentrifus 3000 rpm selama 5 menit agar cairan yang diperoleh terpisah dari sel atau darah yang melekat. Dilakukan uji hambatan haemaglutinasi untuk menentukan apakah virus hasil inokulasi merupakan virus AI atau bukan.

HASIL

Dari hasil sampling yang dilakukan di 14 kabupaten/kota diperoleh 1.260 sampel dari 78 pasar, perolehan sampel dan hasil pengujian PCR influenza A dapat dilihat pada tabel 1.

No.	Propinsi	Kabupaten/Kota	Jumlah sampel	Hasil Uji (tipe A)			
				Negatif	Positif		
1	Jawa Barat	Kab. Bandung Barat	108	108	0		
		Kab. Ciamis	120	120	0		
		Kab. Indramayu	132	132	0		
		Kab. Karawang	102	96	6		
		Kab. Purwakarta	132	132	0		
		Kab. Subang	120	120	0		
		Kota Bandung	90	84	6		
		Kota Banjar	36	36	0		
		Kota Cimahi	96	90	6		
		Kota Cirebon	60	54	6		
		Kota Sukabumi	48	48	0		
		Kota Tasikmalaya	72	66	6		
		2	Banten	Kota Cilegon	84	84	0
				Kab. Lebak	60	54	6
Jumlah			1.260	1.224	36		

Grafik 1. Pengujian PCR influenza A

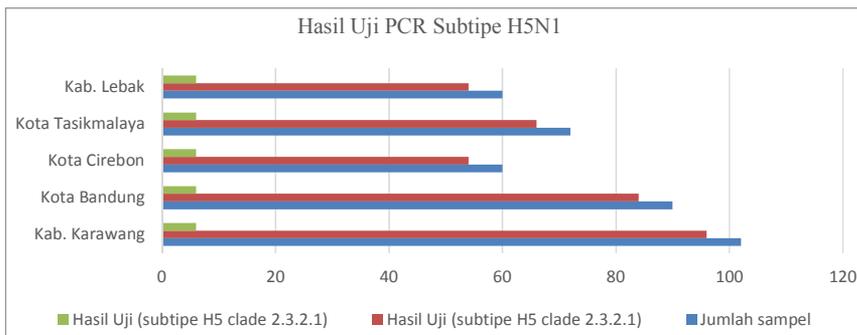


Hasil sampel positif pengujian influenza A, dilanjutkan dengan uji subtype H5

Tabel 2. Hasil uji sub tipe H5

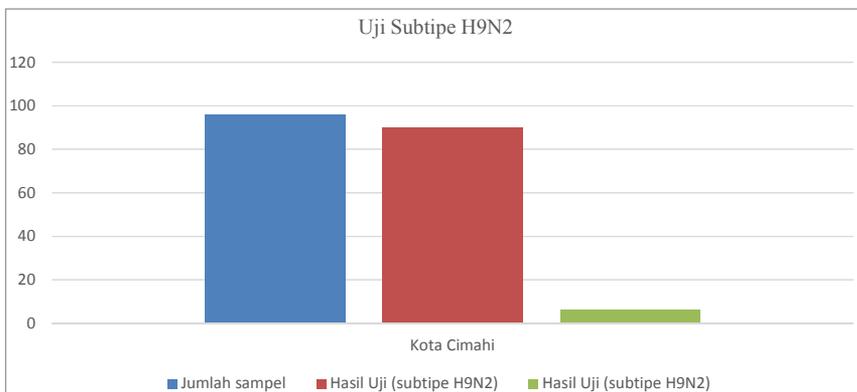
No.	Propinsi	Kabupaten/Kota	Jumlah sampel	Hasil Uji (sub tipe H5)	
				Negatif	Positif
1	Jawa Barat	Kab. Karawang	102	96	6
		Kota Bandung	90	84	6
		Kota Cirebon	60	54	6
		Kota Tasikmalaya	72	66	6
2	Banten	Kab. Lebak	60	54	6
Jumlah			384	354	30

Grafik 2. Pengujian PCR Sub tipe H5N1



Hasil sampel positif influenza A, negatif sub tipe H5N1 dilanjutkan pengujian sub tipe H9N2. Pada kasus ini hanya ditemukan di salah satu pasar kota cimahi.

Grafik 3. Hasil uji PCR sub tipe H9N2



Hasil isolasi virus untuk sampel – sampel positif PCR yang berasal dari kabupaten/kota yang berasal dari Karawang, Cirebon, Tasikmalaya, Bandung dan Lebak virus dapat tumbuh dengan baik di telur bertunas dan di dapatkan isolat virus. Namun sampel yang berasal dari Cimahi yang positif PCR, sampel tidak dapat tumbuh di telur.

Persentase sampel hasil pengujian dengan PCR untuk masing masing jenis uji sebagai berikut :

- a. Pengujian influenza A (tipe A) : 2.85%
- b. Pengujian subtype H5N1 : 2.38%
- c. Pengujian subtype H9N2 : 0.47%

PEMBAHASAN

Kegiatan *live bird market* surveilans merupakan longitudinal survei di pasar unggas hidup yang memiliki pedagang, yang menjual unggas hidup, memotong unggasnya di pasar atau menjual karkas unggas. Surveilans ini harus berjalan secara terus menerus agar data yang diperoleh lebih lengkap dan dapat memonitor perkembangan virus di lapangan, deteksi dini munculnya varian baru. Menurut Indriani (2010) bahwa hampir 50% terjadinya proses penularan AI di Indonesia berada di pasar unggas hidup (LBM). Berdasarkan penelitiannya sampel – sampel positif diperoleh dari meja display dan ember tempat menampung unggas. Pengambilan sampel dilakukan pada bulan September, Oktober dan November dengan pertimbangan di bulan tersebut merupakan awal musim penghujan dan ditandai mulai ditemukan kasus kematian pada unggas oleh virus AI. Dari hasil pengujian PCR terlihat pada tabel 1, bahwa 36 sampel positif influenza A (tipe A) dari kabupaten/kota Karawang, Cimahi, Cirebon, Tasikmalaya, Bandung dan Lebak. Sesuai algoritma pengujian PCR maka uji tipe A dilanjutkan pengujian subtype HxNx. Terlihat pada tabel 2, sebanyak 30 sampel positif H5N1 clade 2.3.2.1 yang berasal dari kabupaten/kota Karawang, Cirebon, Tasikmalaya, Bandung dan Lebak. Sedangkan pada grafik 3, terlihat 1 sampel positif H9N2 berasal dari kota Cimahi. Untuk uji isolasi virus dari hasil sampel positif PCR subtype H5N1, virus dapat ditumbuhkan di dalam telur bertunas dan dihasilkan isolat virus lapang. Namun sampel positif PCR subtype H9N2, virus tidak dapat tumbuh di dalam telur bertunas. Hal ini kemungkinan terjadi karena beberapa faktor diantaranya karakter virus H9N2 yang sangat mild sehingga sukar tumbuh di telur, virus sudah mati selama masa penyimpanan sehingga hanya tertinggal materi genetiknya saja. Hasil pengujian sampel PCR H5N1 yang didominasi clade H5 2.3.2.1 mengindikasikan bahwa virus strain ini sudah menggeser dominasi virus H5 clade 2.1.3 yang lebih dulu masuk ke Indonesia. Virus ini kemungkinan besar sudah meluas ke berbagai wilayah sehingga jenis vaksinasi yang digunakan akan sedikit berbeda untuk meningkatkan protektivitas vaksin terhadap *challenge* virus lapang. Penemuan virus H9N2 di LBM merupakan hal sangat menarik karena selama

melakukan surveilans reguler belum pernah ditemukan virus strain ini. Inilah hasil deteksi dini munculnya virus strain baru di Indonesia melalui surveilans di pasar unggas hidup.

KESIMPULAN DAN SARAN

Surveilans pasar unggas hidup sangat penting untuk memonitor sirkulasi virus AI di pasar dan daerah tangkapannya, dapat digunakan untuk memonitor clade virus yang berbeda dan dapat digunakan untuk mendeteksi awal adanya virus influenza baru (H9N2) dan sebagai indikator resiko AI pada manusia di wilayah yang diambil sampelnya. Agar data yang diperoleh lebih lengkap dan dianalisa maka perlu dilakukan surveilans secara berkala setiap tiga bulan sekali.

KETERBATASAN ATAU LIMITASI

Surveilans di pasar unggas hidup membutuhkan anggaran yang cukup besar untuk mendukung hasil yang lebih akurat karena surveilans tersebut tidak bisa dilakukan hanya sekali setahun. Dengan minimnya anggaran surveilans maka pengambilan sampel LBM dilakukan setahun sekali terkait penyediaan reagen kit/reagen pengujian dan biaya perjalanan dinas oleh PSP.

DAFTAR PUSTAKA

AAHL. 2014. Protocol Pengujian Avian Influenza Secara PCR, CSIRO

Indriani R, dll, 2010. Environmental Sampling for Avian Influenza A (H5N1) in Live Bird Market, Indonesia. *Emerging Infectious Disease*. 52:34-52 doi: 10-1637/8138-101207