

PROPORSI SUBTIPE DAN CLADE VIRUS AVIAN INFLUENZA DARI HASIL SURVEILANS BERBASIS RISIKO PADA PASAR UNGGAS HIDUP DI KOTA SURABAYA, TAHUN 2019

Desi Puspita Sari¹, Hendra Wibawa¹, Zaza Famia¹, Sri Handayani I.¹

¹Medik Veteriner di Balai Besar Veteriner Wates

Korespondensi Penulis Pertama: desicara84@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk memberikan gambaran tentang proporsi temuan sub tipe dan clade virus AI dari hasil surveilans berbasis risiko pada pasar hidup di Kota Surabaya Tahun 2019. Pada tahun 2019 kegiatan surveilans AI di Pasar Unggas Hidup telah dilaksanakan di Kota Surabaya dengan target jumlah pasar yang disurvei berdasarkan perhitungan *simple risk-based sampling* menggunakan EpiTools (<https://epitools.ausvet.com.au/>). Pengambilan sampel swab lingkungan dilakukan sebanyak 2 kali dalam 1 tahun yaitu pada bulan Mei dan Bulan Agustus. Masing-masing sebuah swab lingkungan yang diambil dari setiap pasar unggas hidup berupa swab meja dagang, keranjang, keranjang sampah, meja pemrosesan, pisau/ telenan, kain basah dan mesin pencabut bulu (total 6 swabs) kemudian dipool dalam 1 media transport virus. Sampel selanjutnya akan diuji dan deteksi ada tidaknya virus Influenza Type A, Subtype H5, Subtype H9, Subtype H7, N1, N6, N8 menggunakan teknik *realtime reverse transcription* PCR (qRT-PCR) di Laboratorium Bioteknologi dan teknik isolasi virus pada telur ayam bertunas di Laboratorium Virologi Balai Besar Veteriner Wates. Sampel swab lingkungan yang diperoleh pada bulan Mei sebanyak 45 pool dan 42 pool pada bulan Agustus. Pada bulan Mei diperoleh hasil bahwa virus AI yang banyak ditemukan di lingkungan pasar unggas hidup di kota Surabaya adalah virus AI sub tipe H5 clade 2.1.3 sebanyak 70%, sedangkan pada bulan Agustus banyak ditemukan virus AI sub tipe H5 clade 2.3.2 sebanyak 100%. Kejadian AI di lingkungan pasar unggas hidup pada bulan Agustus lebih tinggi dibandingkan bulan Mei, dengan terdeteksinya Influenza type A sebanyak 76% pada bulan Agustus dan 42% pada bulan Mei.

Kata kunci : Avian influenza, pasar unggas hidup, swab lingkungan.

PENDAHULUAN

Avian Influenza merupakan penyakit viral pada unggas yang disebabkan oleh virus famili *Orthomyxoviridae*. Virus ini termasuk dalam virus RNA, memiliki delapan *gene segment* dan amplop yang mengandung glikoprotein yaitu *hemagglutinin* dan *neuraminidase* (Easterday, et.al., 1997). Penyakit ini bersifat zoonosis dengan mortalitas dan morbiditas yang tinggi mencapai 100% disemua jenis unggas. Kejadian avian influenza di Indonesia telah banyak menimbulkan kerugian yang meluas baik dari sektor ekonomi, kesehatan masyarakat dan kesehatan hewan.

Avian Influenza (AI) adalah salah satu penyakit hewan menular strategis yang dapat ditularkan pada manusia (*zoonosis*). Salah satu pencegahan penyebaran virus AI adalah dengan melakukan surveilans penyakit AI di pasar unggas hidup (*live bird market* atau LBM). Pasar unggas hidup merupakan salah satu faktor penting dalam penyebaran virus avian influenza dan merupakan sumber penularan bagi manusia. Pasar unggas berfungsi sebagai reservoir virus AI dan kemungkinan sebagai sumber infeksi bagi unggas domestik. Pasar unggas hidup juga berfungsi memfasilitasi terjadinya proses reassortment pada berbagai jenis unggas yang ditempatkan dalam kandang yang padat dalam pasar (Kung *et al.*,

2003). Pasar unggas hidup mempunyai resiko besar sebagai sumber penularan AI untuk manusia dan telah dilaporkan terjadi beberapa kasus manusia yang terinfeksi AI di Hongkong dan Provinsi Guangdong, Kota Shanghai dan Provinsi Anhui, China. Kasus manusia yang terkini adalah infeksi H7N9 yang low pathogenic di unggas namun sangat berbahaya di manusia. Kebanyakan pasien yang terinfeksi HPAI subtipe H5N1 karena kontak dengan unggas sakit atau mati ataupun terlibat dalam proses pemotongan atau penyiapan daging unggas untuk konsumsi.

Pasar unggas merupakan sumber infeksi virus AI untuk peternakan ayam komersial yang membuktikan bahwa pasar sebagai tempat yang mampu mempertahankan, memperbanyak dan menyebarkan virus Influenza (Lau *et al.*, 2007). Sebagian besar orang yang terinfeksi virus AI H5N1 di Hongkong pada tahun 1997 diduga akibat kontak dengan unggas yang dijual di pasar unggas (Webster, 2004). Di negara-negara berkembang, salah satu sumber penyebaran penyakit AI adalah *live bird market*, unggas-unggas dari berbagai daerah ditempatkan pada satu tempat sehingga bercampur (Kyaw *et al.*, 2008). Pasar unggas memiliki kontribusi terhadap kejadian wabah HPAI baik sebagai sumber penyebaran penyakit pada unggas atau sumber penularan penyakit pada manusia (FAO, 2009).

Penelitian ini disusun dengan tujuan untuk memberikan gambaran tentang proporsi temuan subtipe dan clade virus AI dari hasil surveilans berbasis risiko pada unggas hidup di Kota Surabaya Tahun 2019.

MATERI DAN METODE

1. Desain Studi

Desain studi yang digunakan menggunakan kaidah surveilans berbasis risiko (*risk-based surveillance*) dalam EpiTool (<https://epitools.ausvet.com.au/riskbasedsssimple>) dengan parameter-parameter pada Tabel 1.

Tabel 1. Kalkulasi besaran sampel- surveilans berbasis risiko LBM Surabaya

Inputs			
Relative risk (RR)	3.50		
Population proportion in high risk group	0.50		
Surveillance proportion in high risk group	0.60		
Design prevalence	0.05		
Test sensitivity	0.95		
Target surveillance sensitivity	0.90		
Results			
Type	Sample size	High risk	Low risk
Risk-based	43	26	17

Representative	48	
Saving	10.4%	
EPI (High risk)	7.5%	

Dari tabel di atas menunjukkan bahwa minimal sampel yang harus dikoleksi dari pasar-pasar beresiko tinggi atau *high risk* (memiliki tempat pemotongan ayam di dalam pasar) sebanyak 26 pasar dan pasar-pasar dengan risiko rendah atau *low risk* (tidak memiliki pemotongan ayam di dalam pasar) sebanyak 17 pasar. Pengambilan sampel dilaksanakan pada bulan Mei dan bulan Agustus.

2. Materi

Alat yang digunakan untuk koleksi sampel swab lingkungan di Pasar Unggas Hidup adalah media viral transport BD cellmatics, swab, alat pelindung diri, ice box, plastik, desinfektan virkon, tisu basah alkohol, dan alat tulis. Untuk alat dan bahan di laboratorium yang digunakan adalah Kit ekstraksi RNA, kit master mix rt-PCR, probe, mikroplate PCR, tip, pipet, primer MA, primer H5, primer H9 dan real time rt-PCR. Untuk alat dan bahan isolasi virus dibutuhkan TAB SAN 9-12 hari, antibiotik gentamycin, PBS, Sel darah merah ayam 5% dan 1%, anti serum AI, antiserum ND, antigen AI 4 HAU sebagai kontrol, antigen ND 4HAU sebagai kontrol, mikroplate V, pipet dan tip, spuit 1cc, kuteks / cat kuku, dan kapas alkohol.

3. Metode

- Sampel swab lingkungan yang diambil berasal dari 6 swab (meja pemrosesan, mesin pencabut bulu, telenan, meja pemajangan, keranjang sampah, pisau, timbangan, dan wadah penyimpanan) yang dipool dalam 1 tabung VTM
- Sampel swab lingkungan diuji menggunakan teknik realtime reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR) menggunakan algoritma deteksi virus AI (FAO, 2009), dimana untuk screening awal menggunakan qRT-PCR untuk deteksi virus AI (gen MA virus Influenza Tipe A). Jika terdeteksi Influenza Tipe A (PCR MA positif), maka uji dilanjutkan untuk deteksi Subtipe virus AI yang telah ada di unggas di Indonesia, yaitu Subtipe H5, Subtipe H9, Subtipe H7, N1, N6, N8 menggunakan Realtime RT-PCR di Laboratorium Bioteknologi dan isolasi virus pada telur ayam berembrio SAN umur 9-11 dan cairan alantois yang positif aglutinasi diidentifikasi dengan serum positif AI H5N1 clade 2.3.2 dan clade 2.1.3, dan antiserum AI H9N2 di laboratorium Virologi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian dari 45 swab lingkungan yang diambil di Bulan Mei 2019 menunjukkan hasil bahwa sebanyak 42% terdeteksi positif gen MA virus Influenza Tipe A yang selanjutnya dilanjutkan pengujian berikutnya dan menunjukkan hasil bahwa sebanyak 13% positif AI Subtipe H5, 11% positif AI subtype H9 (Tabel

2). Untuk virus AI subtype H7 tidak ditemukan di sampel yang diambil pada bulan Mei ini. Untuk pengujian qRT-PCR deteksi sub tipe N1, N6 dan N8 menunjukkan hasil negatif. Sedangkan pengujian dari pengambilan sampel pada Bulan Agustus dengan sampel sebanyak 42 swab lingkungan menunjukkan hasil bahwa sebanyak 76% terdeteksi positif gen MA virus Influenza Tipe A yang selanjutnya dilanjutkan pengujian berikutnya dan menunjukkan hasil bahwa sebanyak 31% positif AI Subtype H5, 33% positif AI subtype H9 (Tabel 2). Untuk AI subtype H7 tidak ditemukan di sampel yang diambil pada musim kering ini. Untuk pengujian qRT-PCR deteksi sub tipe N1, N6 dan N8 menunjukkan hasil negatif.

Tabel 2. Hasil deteksi virus AI pada sampel swab lingkungan dari LBM di Kota Surabaya Th. 2019

Waktu	Jumlah sampel	∑ AI Type A	∑ AI Subtype H5	∑ AI Subtype H9	∑ AI Subtype H7	∑ AI N1	∑ AI N6	∑ AI N8	∑ Isolat AI
Bulan Mei	45	19 (42%)	6 (13%)	5 (11%)	0	0	0	0	10 (22%)
		32 (76%)	13 (31%)	14 (33%)					18 (43%)
Bulan Agustus	42	32 (76%)	13 (31%)	14 (33%)	0	0	0	0	18 (43%)

Dari data diatas dapat dilihat bahwa pada bulan Mei virus AI yang beredar di pasar unggas hidup di kota Surabaya lebih tinggi virus AI sub tipe H5 dibandingkan dengan AI sub tipe H9. Sedangkan pada bulan Agustus virus AI sub tipe H9 yang beredar lebih tinggi daripada virus AI sub tipe H5. Virus AI yang masih hidup di lingkungan pasar unggas hidup di kota Surabaya lebih tinggi ditemukan pada bulan Agustus daripada bulan Mei.

Pada proses pengujian isolasi virus, sampel yang terisolasi akan diidentifikasi menggunakan serum positif H5N1 clade 2.3.2, serum positif H5N1 clade 2.1.3 dan serum positif H9N2 produksi Pusvetma. Pada bulan Mei ada 10 sampel swab lingkungan yang mampu terisolasi dan selanjutnya diidentifikasi dan menunjukkan hasil bahwa 4 isolat teridentifikasi H5N1 clade 2.3.2 dan 7 isolat teridentifikasi H5N1 clade 2.3.1 dan 2 isolat teridentifikasi AI H9N2. Hal ini menunjukkan bahwa ada 2 isolat yang teridentifikasi virus AI H5 clade 2.1.3 dan H5 clade 2.3.2 dan ada 1 isolat yang teridentifikasi virus AI H5 clade 2.3.2 dan virus AI H9N2, dimana hal ini mengindikasikan adanya sirkulasi Bersama (co-circulation) virus-virus tersebut dalam lingkungan pasar-pasar unggas hidup. Sedangkan pada Bulan Agustus 2019 karena level deteksi positif secara molekuler untuk virus Influenza type A lebih tinggi dibandingkan pada Bulan Mei maka isolat virus AI nya juga ditemukan lebih tinggi yaitu sebanyak 18 isolat dengan AI H5N1 clade 2.3.2 sebanyak 100% (Tabel 3). Baik dari pengujian molekuler dan isolasi virus AI menunjukkan bahwa virus AI yang bersirkulasi di pasar unggas di kota Surabaya adalah virus AI H5N1 clade 2.3.2, AI H5N1 clade 2.3.1 dan AI H9N2.

Tabel 3. Hasil Isolasi Virus AI sampel swab lingkungan dari LBM di Kota Surabaya Th. 2019

Waktu	Σ Isolat AI	Σ AI H5NI clade 2.3.2	Σ AI H5NI clade 2.1.3	Σ AI H9N2
Bulan Mei	10 (22%)	4 (40%)	7 (70%)	2 (20%)
Bulan Agustus	18 (43%)	18 (100%)	0	0

Dari hasil pengujian secara molekuler dari sampel yang diambil pada bulan Mei dan bulan Agustus diperoleh bahwa virus AI subtipe H5 lebih banyak ditemukan dari sampel yang diambil pada bulan Mei dibandingkan sampel yang diambil pada bulan Agustus. Sedangkan virus AI subtipe H9 lebih banyak ditemukan dari sampel yang diambil pada bulan Agustus. Sedangkan dari pengujian isolasi virus dapat diketahui bahwa sampel yang diambil bulan Mei menunjukkan bahwa isolat virus AI yang teridentifikasi AI H5 clade 2.1.3 lebih tinggi daripada virus AI H5 clade 2.3.2, sedangkan isolat virus AI dari pengambilan bulan Agustus teridentifikasi AI H5 clade 2.3.2 semua.

KESIMPULAN

Virus Avian Influenza masih bersirkulasi tinggi di pasar unggas di wilayah kota Surabaya, terutama virus AI subtipe H5 clade 2.3.2, selain itu juga masih ada virus AI subtipe H5 clade 2.1.3 dan virus AI subtype H9N2. Virus AI subtipe H5 clade 2.1.3 lebih banyak ditemukan pada Bulan Mei 2019 yaitu sebanyak 70%, sedangkan pada bulan Agustus lebih banyak ditemukan virus AI subtype H5 clade 2.3.2 sebanyak 100%.

Kontrol lingkungan di pasar unggas penting untuk membantu dalam program pengendalian karena dua alasan yaitu pertama, lingkungan pasar unggas yang terkontaminasi dapat menjadi sumber penularan virus yang berkelanjutan, di mana burung yang sehat yang masuk ke pasar dapat terinfeksi dan orang yang bekerja di atau mengunjungi pasar juga dapat terpapar. Kedua, program pengawasan berkelanjutan dalam LBM berdasarkan pengambilan sampel lingkungan lebih mungkin dibandingkan dengan yang berdasarkan pada pengujian burung invasif agar dapat diterima oleh pedagang dan pedagang kios.

KETERBATASAN

Sampel yang diambil pada musim kering tidak bisa semua mengulang sampel yang diambil pada saat musim basah dikarenakan adanya kesalahan teknis tim pengambil sampel dilapangan. Disamping itu, hasil surveilans berbasis risiko pada pasar unggas hidup pada tulisan ini masih disajikan secara deskriptif berdasarkan hasil pengujian sampel-sampel lingkungan yang dikoleksi, sehingga ke depannya

perlu disajikan kajian atau analisis kuantitatif terhadap faktor-faktor risiko yang berhubungan dengan terdeteksi virus AI pada pasar-pasar unggas tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Easterday, B.C., et.al., 1997. Disease of Poultry 10th edn (pp583-606). Ames IA : Iowa State University Press.
- FAO. 2009. Biosecurity for Highly Pathogenic Avian Influenza Issues and Options. FAO Animal Production and Health Paper no 165.
- Indriani, Risa, et.al. 2010. Environmental Sampling For Avian Influenza Virus A (H5N1) in Live Bird Markets, Indonesia. Emerging Infectious Diseases. • www.cdc.gov/eid • Vol. 16, No. 12.
- Kung, N.Y., Y.Guan, N.R., Perkins, L., Bissett, T., Ellis, L., Sims, R.S., Morris, K.F., Shortridge, and Peiris, J.S.M. 2003. The impact of a monthly rest day on avian influenza virus isolation rates in retail live poultry markets in Hongkong. Avian Dis. 47:1037-1041
- Kyaw, T., C.C.S. Mon., T.T. Yu and T.T. Win. 2008. Study on HPAI Situation in Live Bird Markets in Myanmar. The 15th Congress of the Federation of Asian Veterinary Association.
- Lau, Eric H.Y., Leung, Y.H., Connie, Zhang J.L., Cowling, B.J., Ping Mak, S., Guan, Y., Leung, G.M., and Peiris J.S.M., 2007. Effect on Intervention on Influenza A (H9N2) Isolation in Hongkong's Live Poultry Markets, 1999-2005. Emerging Infectious Disease. Vol. 13 No. 9 September.
- Webster, R.G. 2004. Wet Markets-A continuing source of severe acute respiratory syndrome and influenza? Lancet 363 (9404):1, 234-236.
- Zainal, F. 2019. Paparan hasil "Surveilans Lingkungan Pasar Unggas Hidup dan Perkembangannya". Lokakarya Evaluasi Surveilans AI di Pasar Unggas Hidup.