

HASIL MONITORING AVIAN INFLUENZA SUBTIPE H5 DI WILAYAH LAYANAN BBVET MAROS

Sulaxono Hadi

Balai Besar Veteriner Maros

ABSTRAK

Pendahuluan Penyakit Avian influenza (AI) H5N1 merupakan salah satu penyakit viral strategis di Indonesia. Penyakit masih muncul secara sporadis dan menyebabkan kematian pada unggas yang peka. Pengendalian di Indonesia telah dilakukan dengan vaksinasi dan pelaksanaan manajemen biosikuriti pada usaha peternakan unggas. Indonesia telah menjadi endemis dengan penyakit AI, penyakit telah menyebar ke berbagai propinsi, pada berbagai jenis unggas. Monitoring dilakukan untuk mengetahui persentase titer antibodi pada populasi berdasarkan jenis unggas dan deteksi keberadaan matriks H5 dalam populasi melalui pengujian sampel serum dan swab orofaring unggas.

Metode. Pengujian serologis terhadap serum unggas dilakukan dengan metode *hemagglutinin agglutination* (HA) dan *hemagglutinin inhibition* (HI) terhadap AI H5. Pengujian serologis telah dilakukan terhadap 5.679 sampel serum dari berbagai jenis unggas yang terdiri dari serum entog 33 sampel, itik 201 sampel, ayam buras 2387 sampel, ayam broiler komersial 652 sampel, ayam layer 2038 sampel serta *parent stock* (PS) broiler sebanyak 696 sampel, ayam layer 4065 sampel dan PS broiler 728 sampel. Pengujian virologis telah dilakukan untuk mendeteksi keberadaan matriks AI H5. Pengujian matriks H5 dilakukan secara *pooling* terhadap sampel swab orofaring dengan metode *Real Time Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR). Senyak 5 sampel swab di pool menjadi 1 pool. Jumlah sampel pool swab yang diuji dari ayam PS broiler 213 pool, broiler komersial 103 pool, ayam layer 731 pool dan ayam buras 742 pool swab.

Hasil. Pengujian antibodi AI H5 menunjukkan persentase titer antibodi tertinggi terdapat pada PS broiler sebesar 71,43%, disusul ayam broiler komersial 51,23%, ayam layer 50,14%, entog 39,39%, ayam buras sebesar 18,22% serta itik 8,96%. Secara keseluruhan persentase titer antibodi pada serum yang diuji adalah sebesar 52,05%. Persentase positif matriks H5 terbesar pada ayam broiler komersial sebesar 54,34%, disusul PS broiler 27,70%, ayam layer 22,16% serta ayam buras 15,50%. Matriks H5 ditemukan di 21 kabupaten/kota dari lokasi 49 kabupaten/kota yang diuji sampelnya.

Kesimpulan. Antibodi H5 terdeteksi pada unggas yang tidak divaksinasi AI yaitu ayam buras, itik, entog dan ayam broiler komersial dengan kisaran 8,96%-39,39%. Pada divaksinasi AI H5 yaitu ayam layer dan PS broiler, antibodi yang terbentuk berkisar antara 51,23%-71,43%. Sirkulasi virus avian influenza H5 ditemukan pada peternakan divaksinasi AI yaitu PS broiler dan layer maupun yang tidak melaksanakan vaksinasi AI yaitu ayam buras, itik dan entog.

Kata kunci : titer antibodi, matriks H5, serologis, virologis

PENDAHULUAN

Usaha peternakan unggas di Indonesia telah berkembang dengan baik, mampu menyediakan kebutuhan protein hewani masyarakat berupa daging ayam dan telur. Berbagai jenis unggas telah menjadi industri terutama ayam ras melalui penyediaan daging ayam beku, sosis dan bahan makanan olahan. Sebagian telah berhasil memasuki pasar ekspor. Disamping broiler komersial, ayam petelur, ayam buras dan itik memegang peran penting dalam memenuhi protein hewan masyarakat. Industri perunggasan ini pernah terguncang dengan datangnya serangan avian influenza dari negara tetangga di utara Indonesia. Burung liar yang migrasi dari utara Siberia, China dan Vietnam ke selatan diduga berperan

dalam penyebaran virus AI. Penelitian di China terhadap berbagai jenis burung liar menunjukkan seropositif terhadap virus avian influenza H5 (Chang et al., 2014).

Avian influenza (AI) merupakan penyakit viral yang menginfeksi secara global dan menyerang ke berbagai negara termasuk Indonesia. Penyakit viral ini di Indonesia telah menyebar ke berbagai propinsi dengan dan menyebabkan kerugian ekonomi yang sangat tinggi. Virus penyebab telah berhasil diisolasi, diidentifikasi dan dikarakteristik. Beberapa isolat lokal virus penyebab yaitu H5N1 telah ditetapkan sebagai kandidat vaksin. Kini vaksin AI telah diproduksi secara komersial dan diedarkan ke seluruh Indonesia guna menopang kembali pengembangan peternakan unggas di Indonesia.

Vaksinasi dan penerapan manajemen bioskuriti secara ketat telah diterapkan terutama pada *breeding farm*, peternakan ayam layer atau petelur. Vaksinasi AI pada ayam broiler komersial tidak disarankan oleh pemerintah tetapi dengan penerapan bioskuriti dan higiene sanitasi. Untuk mendukung penyediaan bibit dan mendukung ekspor, pemerintah telah melakukan kompartementalisasi dan mensertifikasi bebas AI pada beberapa breeding farm di Jawa dan luar Jawa. Beberapa zona juga telah dinyatakan sebagai zona yang terbebas dari avian influenza melalui surat keputusan Menteri Pertanian setelah melalui proses penilaian berdasarkan hasil surveilans beberapa tahun dan dinilai oleh tim Komisi Kesehatan Hewan.

Surveilans telah dilakukan di beberapa propinsi setiap tahunnya guna monitoring antibodi hasil vaksinasi serta deteksi terhadap keberadaan virus avian influenza di berbagai propinsi pada berbagai ras unggas yang dipelihara masyarakat atau perusahaan. Kajian hasil monitoring dilakukan untuk mengetahui persentase titer antibodi pada berbagai jenis unggas, serta monitoring sirkulasi virus AI H5 pada berbagai jenis unggas.

BAHAN DAN METODE

Study retrospektif dilakukan terhadap hasil monitoring dan pengujian avian influenza subtype H5 tahun 2017. Besaran sampel uji untuk monitoring serologis dihitung menggunakan piranti lunak Epitools (*sample size for estimate apparent or seroprevalence*) dengan presisi 1%, asumsi prevalensi 10% dan konfidensi 95% untuk populasi besar unggas. Sampel minimal serum yang diperlukan 3.458 sampel. Penghitungan sampel untuk sampling pool swab juga menggunakan Epitools (*sample size calculation for fixed pool and perfect test*) dengan presisi 1%, asumsi prevalensi 10%, jumlah 1 pool 5 sampel dan konfidensi 95%. Jumlah sampel minimal pool swab orofaring yang diperlukan adalah 863 pool swab.

Sebanyak 5.679 sampel serum yang diambil dari vena sayap dari berbagai jenis unggas yaitu itik 201 sampel, entog 33 sampel, ayam buras 2.387 sampel, ayam broiler komersial 652 sampel, ayam layer 4.065 sampel serta PS broiler

sebanyak 728 sampel telah diuji di laboratorium serologi. Sampel serum diambil dari lokasi usaha peternakan dan dibawa ke laboratorium dalam kondisi dingin di *cool box*. Pengujian serologis terhadap serum ini dilakukan dengan metode *hemagglutinin agglutination* (HA) dan *hemagglutinin inhibition* (HI), HA/HI, terhadap avian influenza H5.

Pengujian virologis dilakukan untuk mendeteksi keberadaan matriks H5 pada berbagai peternakan unggas. Pengujian dilakukan secara *pooling* dengan mengumpulkan 5 sampel swab orofaring menjadi 1 pool. Sampel swab diambil langsung dari orofaring unggas, dimasukkan dalam *viral transport medium* (VTM) dan dibawa dingin dalam *cool box*. Sampel pool swab orofaring diuji dengan metode *Real Time Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR), menggunakan primer yang dibuat oleh Balai Besar Veteriner Wates (BBVet Wates) dan Australian Animal Health Laboratory (AAHL). Sebanyak total 1789 pool swab yang terdiri dari 103 sampel pool swab orofaring broiler komersial, 213 pool swab PS broiler, 731 pool swab ayam layer dan 742 pool swab ayam buras dari 49 kabupaten/kota telah diuji di laboratorium bioteknologi untuk mengetahui adanya matriks H5 avian influenza.

Uji HA/HI

Uji menggunakan bahan antikoagilan (alserver's, acid citrose dextrose), PBS, antigen virus AI, NaCl, kontrol positif dan negatif, red blood cell (RBC) dan lain-lain. Alat yang dipergunakan berupa mikropipet dengan berbagai ukuran, mikroplate V bottom dan U bottom, timer dan lain-lain. RBC dipersiapkan dalam pengenceran 10% dan 1%. Serum dipisahkan terlebih dahulu dari darah segar, agar benar-benar tidak tercampur dan diaktivasi terlebih dahulu terutama serum entog, itik, ayam kampung. Selanjutnya dilakukan uji HA dengan pengenceran serum, PBS dan sel darah merah 10%. Hasil dari uji HA yaitubantigen 4 HA unit digunakan untuk uji HI. Hasil pengujian HI dibaca dengan kasat mata. Serum dinyatakan seropositif jika mempunyai titer 2^4 . Nilai ini didapatkan pada lubang terakhir yang tidak ditemukan adanya lisis sel darah merah.

Uji Real Time PCR (RT-PCR)

Peralatan yang diperlukan berupa mesin RT-PCR, mikropipet, mikrotube, tips, rak, biosafety cabinet, gloves dan lain-lain. Bahan yang diperlukan berupa primer avian influenza tipe A subtype H5 yang diproduksi oleh BBVet Wates dan AAHL, probe untuk bahan ekstraksi, master mix, mikrotube, mikroplate dan lain-lain. Sampel swab diekstraksi terlebih dahulu menggunakan pure link viral RNA/DNA. Ekstraksi dilakukan untuk mendapatkan protein virus murni tanpa adanya kontaminasi. Setelah proses ekstraksi, protein virus (RNA/DNA virus) yang didapat dicampur dengan master mix serta probe yang telah ditentukan desainnya untuk spesifik AI tipe A subtype H5. Proses selanjutnya adalah memasukkan campuran master mix dan protein virus ke dalam mesin RT-PCR untuk proses *denaturasi*, *annealing* dan *ekstensi*. Sinyal akan terbaca pada komputer yang terkoneksi dengan mesin RT-PCR. Hasil akan terbaca pada monitor komputer

berupa grafik dan nilai positif serta negatif dalam bentuk *Ct value*. Semakin rendah nilai *Ct value*, semakin positif mengandung virus Avian Influenza.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji serologis

Dari sebanyak 5.679 sampel serum yang diuji serologis terhadap antibodi avian influenza H5 ditemukan hasil yang bervariasi seropositifnya pada berbagai unggas. Persentase antibodi AI H5 ditemukan pada *breeding farm*, yang menghasilkan DOC ayam broiler komersial. Manajemen vaksinasi dan bio-skuritinya pada *breeding farm* memang ketat sekali karena disamping untuk mengamankan *parent stock*. *Breeding farm* melakukan vaksinasi AI dengan ketat, disamping untuk mengamankan *parent stock*-nya, juga diharapkan dapat menurunkan maternal antibodi pada *final stock* atau DOC. Seropositif pada ayam yang berasal dari *breeding farm* sebesar 71,43% dari sebanyak 728 sampel serum yang diuji.

Seropositif sebesar 50,14% ditemukan pada ayam layer dari 4.065 sampel serum diuji. Ayam layer merupakan salah satu jenis unggas yang mendapatkan vaksinasi AI. Pada broiler komersial, seropositif ditemukan sebesar 51,23% dari 652 sampel serum diuji.

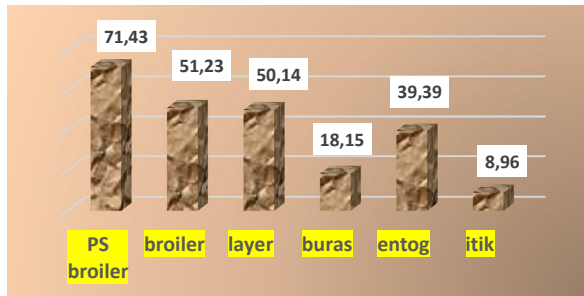
Kondisi seropositif yang hanya 50,14% pada layer perlu mendapat perhatian pemilik atau pengusaha ayam layer karena layer relatif panjang dipelihara daripada ayam broiler komersial. Walau sudah divaksin AI, resiko terserang AI H5 tentunya masih besar karena *herd immunity* hanya separuh dari populasi. Untuk broiler komersial, pemerintah tidak merekomendasikan vaksin AI karena relatif bisa dipanen pada umur pendek sebulan atau lebih, dibanding ayam layer yang dipelihara jangka panjang untuk produksi telur.

Seropositif AI H5 pada ayam buras terdeteksi sebesar 18,15% dari 201 sampel serum yang diuji.. Peternakan ayam buras umumnya dilakukan secara *back yard farming*, dan peternak umumnya tidak melakukan program vaksinasi. Adanya antibodi AI pada ayam buras, juga pada entog sebesar 39,39% dan itik sebesar 8,96% kemungkinan terjadi karena ayam pernah terpapar alami virus AI H5. Hasil selengkapnya proporsi hasil uji serologis AI H5 pada berbagai jenis unggas tertera pada tabel 1 dan gambar 1.

Vaksinasi AI dengan isolat virus lokal yang telah dikaji secara mendalam oleh pemerintah telah direkomendasikan dan diproduksi komersial. Vaksinasi AI telah ditunjukkan mampu melindungi dari serangan AI dan menekan shedding virus AI. Kapczynski et al (2015) menyampaikan bahwa vaksinasi H5N1 efektif mem-proteksi unggas dari serangan H5N1 serta H5N2.

Tabel 1. Jumlah sampel serum dan persentase seropositif AI berdasarkan jenis/ras unggas

Jenis/ras unggas	Seropositif	Jumlah sampel	%
PS broiler	520	728	71,43
Broiler komersial	334	652	51,23
layer	2038	4.065	50,14
buras	435	2.387	18,15
entog	13	33	39,39
itik	18	201	8,96
Jumlah	2.956	5.679	52,05



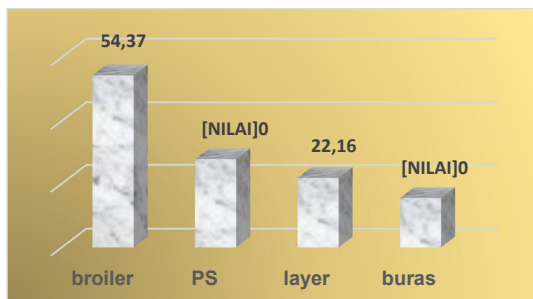
Gambar 1. Persentase seropositif AI berdasarkan jenis/ras unggas

Uji virologis

Sebanyak 1789 pool swab orofaring dari unggas, yang terdiri dari swab ayam broiler komersial sebanyak 103 pool, ayam *parent stock* dari *breeding farm* sebanyak 213 pool, ayam layer sebanyak 731 pool dan ayam buras sebanyak 742 pool swab. Secara keseluruhan matriks avian influenza H5 ditemukan dari unggas hidup di usaha peternakan sebanyak 21,91%. Persentase pool swab positif AI tipe A subtipe H5 per jenis unggas terbesar ada pada ayam broiler 54,34%, disusul PS broiler 27,70%, layer 22,16% dan ayam buras 15,50%. Dari hasil tersebut diketahui bahwa virus avian influenza A subtipe H5 masih bersirkulasi pada berbagai jenis unggas.

Tabel.2. Hasil pengujian matriks H5 pada berbagai jenis unggas

Jenis unggas	Positif H5	Jumlah pool swab	%
Broiler komersial	56	103	54,37
PS broiler	59	213	27,70
layer	162	731	22,16
buras	115	742	15,50
Jumlah	392	1789	21,91



Gambar 2. Persentase positif matrxs H5 dari beberapa jenis unggas

Virus avian influenza H5 pertama kali diketahui masuk dan menimbulkan kasus epidemik di China tahun 2006, dengan 2 sub tipe yaitu H5N1 serta H5N2. Pada periode tahun 2011-2014 clade virus avian influenza yang menginfeksi diketahui clade 7.2 (Ling Liu et al., 2016). Berbagai negara di Asia termasuk Indonesia pada akhirnya terkena imbas pandemi serangan AI. Hingga tahun 2012 virus H5N1 yang ada di Indonesia terdapat 2 clade yaitu 2.1.3 dan clade 2.3.2 Kedua clade ini telah digunakan untuk produksi vaksin AI di Indonesia (Dharmayanti dan, 2015). Wabah AI juga terjadi di Kanada dan Amerika Serikat pada tahun 2014 yang berasal dari strain Eurasia. Penyakit menyebar cepat di 21 negara bagian di Amerika Serikat dan 48 juta ekor unggas telah terinfeksi (Shriner et al, 2016).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian serologis dengan HA/HI, antibodi avian influenza A sub tipe H5 ditemukan pada berbagai jenis unggas dengan persentase 52,05%. Persentase seropositif antibodi ditemukan pada ayam PS broiler disusul broiler komersial, ayam layer, entog, ayam buras dan itik.

Sirkulasi virus avian influenza A sub tipe H5 masih ditemukan di berbagai jenis usaha peternakan ayam, dengan persentase terbesar pada broiler komersial, diisusul PS broiler, ayam layer dan ayam buras.

SARAN

Mengingat masih ditemukannya adanya sirkulasi virus pada unggas yang dipelihara pelaksanaan manajemen bioskuriti, desinfeksi dan sanitasi hendaknya terus ditingkatkan untuk menekan peluang terjadinya serangan avian influenza H5. Vaksinasi AI H5 dengan strain lokal juga disarankan disamping bioskuriti untuk meningkatkan titer antibodi.

DAFTAR PUSTAKA

- Cheng W, Chong KC, Lau SYF, Wang X, Yu Z, Liu S, Wang M, Pan J & Chen E. 2019. Comparison of avian influenza virus contamination in the environment before and after massive poultry H5/H7 vaccination in Zhejiang Province, China. *Open Forum Infect Dis* Jun;6(6):197
- Dharmayanti, NLPI & Indriyani, R. 2015. Efikasi vaksin inaktif bivalen avian influenza virus sub tipe H5N1 (clade 2.1.3 dan clade 2.3.2) di Indonesia (Efficacy of bivalent inactive vaccine of avian influenza H5N1 subtype (clade 2.1.3 and clade 2.3.2) in Indonesia). *Jurnal Biologi Indonesia* 11(2): 169-176 (2015)
- Hassan KE, Kim J, El-Kady M, Afifi M, Abozeid HH, Poklmann A, Beer M & Harder T. 2020. Novel reassortant highly pathogenic avian influenza A (H5N2) virus in broiler chickens Egypt. *Emerg Infect Dis*, Jan: 26(1):129-133
- Kapczynski DR, Esaki M, Dorsey KM, Jiang H, Wood MJ, Moraes M & Gardin Y. 2015. Vaccine protection of chickens against antigenically diverse H5 highly pathogenic avian influenza isolates with alive HVT vector vaccine expressing the influenza hemagglutinin gene derived from a clade 2.2. avian influenza virus. *Vaccine*, vol 33:9L 1197-1205.
- Liu L, Zeng X, Chen P, eng G, Li Y, Sh Ji, Gin C, Kong H, Jiang Y, Tian G & Chen H. 2016. Characterization of clade 7.2. H5 avian influenza virus that continue ti circulatet in chickens in Chine. *J. Virol* No. 1, 90(21): 9797-9805
- Peeters B. , Boer S.M., D. Tjeedsma, Moormann R. & Koch G. 2012. New DIVA vaccine for the protection of poultry against H5 highly pathogenic avian influenza viruses irrecspetive of the N subtype. *Vaccine*, vol.30, 49:7078-7083.
- Shriner SA, Root JJ, Lutman MW, Kloft JM, Dalin KKV, Sullivan HJ, WhiteTS, Milleson MP, Hairston JL, Chandler SC, Wolf PC, Tunage CT, McCluskey BJ, Vincent AL, Torchett MK, Gidlewish T & Delberto TJ. 2016. Surveillance for highly pathogenic H5 avian influenza virus in synanthropic wildlife assiated with poultry farms during acute outbreak. *Scientific R6*:36237
- Swayne DE, Soaarez D.I., Spackman E., Jadhao S. , Dauphin G., Torchetti MK, McGrain J, Weaver J, Daniels P, Wong F, Sollect P, Wiyono A, Indriyani R, Yupiana Y, Siregar ES, Prayitno T, Smith D, & Foucher R. 2016. Antibody titer has positive predictive value for vaccine protective against challenge with natural antigenic drift variants of H5N1 high pathogenicity avian influenza viruses from