

PREVALENSI SEROLOGI PAPARAN VIRUS *Avian Influenza* SUBTIPE H5N1 PADA BURUNG AIR LIAR DI CAGAR ALAM PULAU DUA

Dewi Elfidasari^{1*}, Dedy D. Solihin², Retno D. Soejoedono³, Sri Murtini³, Yus R. Noor⁴

¹Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Al Azhar Indonesia

²Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB

³Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner FKH IPB

⁴Wetland International-Indonesia Programme

*E-mail : dewielfidasari@yahoo.com

ABSTRAK

Avian Influenza (AI) disebut juga *fowl pest*, *fowl plaque* atau *avian flu* adalah penyakit yang menyerang unggas dan disebabkan oleh virus influenza tipe A. Salah satu reservoir alami virus *Avian Influenza* (AI) sub tipe H5N1 adalah unggas air. Pada reservoir alami, virus AI bersifat *low pathogenic*. Burung air liar juga diduga merupakan reservoir alami virus AI sub tipe H5N1 yang berpotensi menyebarkan virus tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan prevalensi serologi paparan virus AI sub tipe H5N1 pada burung air liar penetap di CAPD yang dilakukan pada tahun 2008 dan 2010. Hasil penelitian yang dilakukan tahun 2008 terhadap 183 sampel serum, menunjukkan sebanyak 41 sampel yang memberi hasil uji HI positif, dengan prevalensi serologis sebesar 22,40%, sedangkan hasil uji HI pada tahun 2010, dari 244 sampel serum, terdapat 20 sampel yang menunjukkan hasil uji HI positif dengan prevalensi serologis 8,20%. Virus AI sub tipe H5N1 dijumpai terdapat pada lima jenis burung air liar pada tahun 2008, sedangkan pada tahun 2010 terdapat enam jenis burung air liar yang pernah terpapar virus AI sub tipe H5N1. Penghitungan *Geometric Meant Titer* (GMT) pada masing-masing spesies menunjukkan nilai yang tergolong rendah dan jauh dari titer protektif yaitu 2⁴.

Kata kunci : Virus AI sub tipe H5N1, burung air liar, reservoir, prevalensi serologis, Uji HI

PENDAHULUAN

Avian Influenza (AI) disebut juga *fowl pest*, *fowl plaque* atau *avian flu* adalah penyakit yang menyerang unggas yang disebabkan oleh virus influenza tipe A. AI memiliki kemampuan menyebar secara cepat dan mengakibatkan angka kematian tinggi pada sejumlah unggas dan manusia (Akoso, 2006).

Unggas air seperti bebek atau itik, mentok dan angsa merupakan reservoir alami virus *Avian Influenza* (AI) sub tipe H5N1 (Susanti 2008). FAO memasukan unggas air ke dalam reservoir alami yang keberadaannya diperhitungkan sebagai sumber penularan virus AI sub tipe H5N1 (FAO 2008). Pada reservoir alami, virus AI bersifat *low pathogenic*. Hal ini disebabkan virus berada dalam kondisi yang seimbang, sehingga antara unggas air dan virus terdapat toleransi yang baik.

Selain pada unggas air, burung air liar juga diduga berperan sebagai reservoir alami virus AI sub tipe H5N1 yang menyebarkan virus tersebut. Sebanyak 75 jenis dari 10 ordo burung tercatat dapat menyebarkan virus AI, hampir 60% diantaranya merupakan burung air. Virus *low pathogenic Avian Influenza* (LPAI) telah berhasil diisolasi dari 105 jenis burung liar, yang sebagian besar merupakan ordo Anseriformes dan Charadiiformes (FAO 2008; Komnas FBPI 2008). Kedua ordo tersebut mencakup berbagai jenis burung migran. Serangkaian penelitian terdahulu juga telah menunjukkan adanya potensi dan peran burung migran dalam menyebarkan virus AI. Pada burung-burung tersebut LPAI tidak menunjukkan gejala klinis akan tetapi dapat mempengaruhi aktivitas mencari makan dan migrasi.

Burung air sebagai salah satu indikator bagi suatu lingkungan dapat dibagi menjadi dua kelompok yaitu burung air liar bermigrasi (*migratory waterbird*) dan burung air liar penetap (*residence waterbird*). Kedua kelompok ini dapat berinteraksi langsung secara bersamaan pada saat terjadi musim migrasi. Interaksi terjadi pada saat kedua kelompok ini mencari makan ditempat yang sama, kondisi seperti inilah yang memungkinkan terjadinya penularan virus AI sub tipe H5N1. Virus AI tersebut dapat ditularkan melalui kontak langsung dengan sumber penularan, berupa paparan langsung dengan ekskresi hidung, mata dan feses dari unggas terinfeksi yang masuk melalui mulut, mata, dan hidung (CIDRAP 2004; Komnas FBPI 2008).

Hingga tahun 2003-2004 burung liar diketahui tidak mendapat pengaruh yang besar akibat wabah AI tersebut. Baru sejak bulan Mei 2005, virus AI subtipe H5N1 diduga telah membunuh 6.000 ekor burung air di Suaka Margasatwa Danau Qinghai, Barat laut China. Jenis burung-burung air yang mati meliputi *Anser indicus*, *Phalacrocorax carbo*, *Larus sp* dan *Tadorna ferruginea*. Pada bulan Juli-Agustus 2005, di Mongolia juga dilaporkan terjadi kasus kematian pada beberapa ekor burung migran *Anser indicus* dan *Cygnus cygnus* di dua danau yang berbeda di wilayah utara Mongolia. Sampai dengan tahun 2007 terdapat 38 negara yang berada di tiga benua (Asia, Eropa dan Afrika), yang melaporkan adanya virus AI *low pathogenic* (LPAI) pada burung liar (FAO 2008). Surveilans AI pada tahun 2007-2010 di Greenland dan Denmark, 2008-2010 di Great Britain, 2009-2010 di Amerika dan tahun 2010-2011 di Ukraina juga menyatakan bahwa LPAI berhasil diisolasi dari delapan ordo burung air liar (Breed *et al.* 2012; Ferro *et al.* 2012; Hjulager *et al.* 2012; Muzyka *et al.* 2012)

Meskipun belum ada pembuktian, terdapat beragam pendapat berkaitan dengan mekanisme penularan virus AI dari unggas ke manusia. Secara garis besar Mulyadi dan Prihatini (2005) membagi tiga kemungkinan mekanisme penularan virus AI (H5N1) dari unggas ke manusia. Ketiga mekanisme tersebut menjelaskan bahwa sumber virus AI berasal dari unggas liar yang disebarkan kepada hewan lain seperti unggas domestik (itik, mentok, ayam). Untuk itu perlu diketahui apakah burung air di CAPD telah terpapar virus AI subtipe H5N1

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan prevalensi serologi paparan virus AI subtipe H5N1 pada burung air liar penetap di CAPD yang diperoleh pada surveilans AI tahun 2008 dan 2010.

CARA KERJA

Tempat dan Waktu Penelitian

Pengambilan sampel darah dari burung-burung air di kawasan CAPD dilakukan pada waktu yang berbeda, yaitu tahun 2008 dan 2010. Analisa laboratorium dilakukan Laboratorium Terpadu Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Departemen Mikrobiologi Medik Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.

Pengambilan sampel

Pengambilan sampel darah dilakukan sesaat setelah burung-burung berhasil diperoleh dari perangkap yang dipasang pada pohon hunian di kawasan CAPD. Sebanyak 0,2-1 ml sampel darah diambil dari *vena branchialis* dengan menggunakan *syringe* 3 ml (untuk burung berukuran besar) dan *syringe* 1 ml (untuk burung berukuran kecil). Darah yang berhasil diperoleh selanjutnya dipisahkan, satu bagian dimasukkan ke dalam mikrotube yang telah berisi *etanol absolute* (untuk analisa DNA), dan sisanya dibiarkan dalam spuit untuk beberapa lama sehingga terpisah antara serum dan sel darah merah. Selanjutnya burung air diberi tanda (cincin) dan dilepasliarkan kembali ke alam. Serum yang telah terpisah dengan sel darah merah selanjutnya disimpan dalam freezer untuk analisa laboratorium (WHO 2002).

Uji Antigenesitas Virus dan Evaluasi Titer antibodi terhadap Virus AI

Uji antigenesitas dilakukan dengan *hemagglutination inhibition* (HI). Sumur 1-12 dari *microplate* diisi dengan PBS pH 7,2 masing-masing 25 µl. Isolat virus sebanyak 25 µl (4 HAU) dimasukkan ke dalam sumur pertama, dan diencerkan bertingkat kelipatan dua dengan PBS. Kemudian ditambahkan 25 µl antibodi pada semua sumur. Setelah dicampur sampai homogen, diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Suspensi sel darah merah (SDM) ayam 0,5% ditambahkan ke dalam seluruh sumur. *Microplate* dikocok dengan cara digoyang-goyangkan, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama kurang lebih 30 menit. Sampel dinyatakan positif terhadap uji HI apabila terdapat pengendapan SDM pada sumur sampel.

Evaluasi titer antibodi sampel serum dilakukan dengan menghitung rata-rata titer antibodi digunakan perhitungan GMT (*Geometric Mean Titer*). Rumus penghitungan menurut OIE (2004) adalah sebagai berikut :

$$\text{Log}_2 \text{ GMT} = \frac{(\text{Log}_2 t_1) (S_1) + (\text{Log}_2 t_2) (S_2) + (\text{Log}_2 t_n) (S_n)}{N}$$

Keterangan :

N = Jumlah contoh serum yang diamati

t = Titer antibodi pada pengenceran tertinggi (yang masih dapat menghambat aglutinasi sel darah merah)

S = Jumlah contoh serum yang bertiter 1

n = Titer antibodi pada sampel ke-n

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah sampel serum yang diperoleh dari dua waktu survei yang berbeda adalah sebanyak 183 sampel serum pada tahun 2008 dan 244 sampel serum pada tahun 2010. Perbedaan jumlah sampel ini dipengaruhi oleh jumlah sarang yang dijumpai pada masa berbiak burung-burung air liar penempat tersebut di CAPD.

Hasil analisa serologi terhadap paparan virus AI sub tipe H5N1 dengan uji HI terhadap sampel-sampel serum burung air liar di CAPD menunjukkan hasil yang berbeda pada tahun 2008 dan 2010. Hasil uji HI yang diperoleh pada tahun 2008 terhadap 183 sampel serum, terdapat 41 sampel yang menunjukkan hasil uji HI positif atau sebesar 22,40%. Pada tahun 2010, dari 244 sampel serum, terdapat 20 sampel yang menunjukkan hasil uji HI positif atau sebesar 8,20% (Tabel 1).

Berdasarkan jenis burung air yang menunjukkan hasil uji HI positif, pada tahun 2008 terdapat lima jenis burung air yang pernah terpapar virus AL sub tipe H5N1, yaitu *Nycticorax nycticorax*, *Egretta garzetta*, *E. intermedia*, *Bubulcus ibis*, *Casmerodius albus* dan *Ardeola speciosa*. Pada tahun 2010 terjadi penambahan 1 jenis burung air, sehingga jumlah spesies burung air yang pernah terpapar virus AI sub tipe H5N1 sebanyak enam jenis, dengan tambahan jenis *Ardea sp* (Tabel 1).

Penghitungan *Geometric Meant Titer* (GMT) pada masing-masing spesies menunjukkan hasil GMT-nya tergolong rendah dan jauh dari titer protektif (batas minimal jumlah antibodi dalam tubuh yang masih mampu melindungi dari infeksi virus) yaitu 2^4 (Tabel 1). Variasi titer antibodi yang dihasilkan berkaitan erat dengan respon pembentukan antibodi pada tiap individu. Respon dalam membentuk antibodi bersifat individual dan dipengaruhi oleh banyak faktor, seperti kondisi kesehatan hewan secara umum, genetik, usia, asupan nutrisi dari pakan, stres, cara pemeliharaan dan kondisi lingkungan (Fenner *et al.* 1993). Rendahnya titer antibodi pada burung air liar di CAPD menunjukkan derajat infeksi ringan yang tidak menyebabkan timbulnya gejala klinis pada burung-burung air tersebut. Derajat infeksi ringan akibat virus AI dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya: kecenderungan infeksi yang terjadi disebabkan virus berpatogenitas rendah; jumlah paparan virus yang kecil; terpapar sedikit demi sedikit shg mampu menstimulasi terbentuknya antibodi; terpapar virus secara terus menerus shg unggas tervaksinasi secara alamiah; paparan terjadi tidak secara langsung, melainkan melalui lingkungan (rantai oral-fecal); rentang waktu paparan atau infeksi mungkin sudah cukup lama sehingga derajat titer antibodi sudah mengalami penurunan (Subbarao & Katz 2000; Hulse-Post *et al.* 2005; CDC 2006; Monke & Corn 2007; Hadipour *et al.* 2011).

Tabel 1 Hasil uji HI terhadap serum burung air liar di CAPD tahun 2008 dan 2010

Jenis burung air	2008			2010			GMT
	Jumlah Sampel	HI (+)	Prevalensi HI (+) (%)	Jumlah sampel	HI (+)	Prevalensi HI (+) (%)	
<i>Ardea sp</i>	1	0	0	4	1	25	2^2
<i>Nycticorax nycticorax</i>	34	12	35,29	57	6	10,53	$2^{0,28}$
<i>Egretta garzetta</i>	36	12	33,33	31	3	9,68	$2^{0,22}$
<i>Egretta intermedia</i>	20	2	10,00	33	3	9,09	$2^{0,2}$
<i>Bubulcus ibis</i>	60	12	20,00	78	6	7,69	$2^{0,15}$
<i>Casmerodius albus</i>	1	0	0,00	19	1	5,26	$2^{0,35}$
<i>Ardeola speciosa</i>	31	3	9,68	16	0	0,00	-
<i>Phalacrocorax sp</i>				5	0	0,00	-
<i>Plegadis falcinellus</i>				1	0	0,00	-
TOTAL	183	41	22,40	244	20	8,20	

Ket : HI=Hemagglutination Inhibition

Paparan virus AI subtipe H5N1 pada burung-burung air liar penetap di CAPD dapat terjadi pada saat burung-burung tersebut melakukan aktivitas makan. Hasil penelitian Elfidasari (2006), aktivitas makan pada burung-burung air liar di CAPD dilakukan pada lokasi di sekitar kawasan CAPD yang juga berdekatan dengan pemukiman penduduk seperti dataran lumpur, tambak, sawah dan tegalan. Hal ini karena lokasi-lokasi tersebut memiliki sumber bahan makanan yang cukup berlimpah baik bagi unggas domestik maupun burung air liar. Pada saat aktivitas makan inilah terjadi interaksi antara burung-burung air liar dengan unggas-unggas domestik peliharaan penduduk yang tinggal di sekitar kawasan CAPD (Elfidasari 2007). Penyebaran atau transmisi virus dapat terjadi melalui kontak langsung maupun tidak langsung. Kontak langsung antara burung air liar dan unggas domestik (bebek, itik, mentok) pada saat mencari makan di lokasi yang sama memungkinkan terjadinya penyebaran virus, sehingga paparan virus AI pada burung air liar tidak dapat dihindari.

Fang *et al.* (2008) menyatakan bahwa penularan virus AI subtipe H5N1 dapat terjadi melalui interaksi langsung antara unggas yang positif terhadap H5N1 dengan unggas lain. Kondisi ini diduga menjadi salah satu faktor yang berperan dalam proses penularan virus AI dari burung air liar ke unggas domestik atau sebaliknya, dari unggas domestik ke burung air liar. Transmisi tidak langsung dapat terjadi melalui air yang merupakan sumber air minum bagi burung-burung air liar maupun unggas domestik (Nazarudin 2008), melalui sekresi air liur dan hidung, serta feses dengan perantara air yang terdapat pada tempat interaksi antara burung-burung air liar dan unggas domestik (Fang *et al.* 2008; Hulse-Post *et al.* 2005; CDC 2006; Monke & Corn 2007) secara *cross-infection*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini mendapat bantuan dana dari Riset Dasar Kemenristek tahun anggaran 2007 berdasarkan surat perjanjian No.36/RD/Insentif/PPK/I/2007 dan Hibah Kompetitif Strategis Nasional DP2M DIKTI DEPDIKNAS berdasarkan Kontrak No. 240/D3/K.U/VII/2009. Untuk itu kami mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya atas kesempatan dan bantuan yang diberikan sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Akoso BT. 2006. "Waspada Flu Burung" Penyakit Menular Pada Hewan dan Manusia. Kanisius. Yogyakarta.
- Breed AC, Irvine RM, Duncan D, Rae D, Snow L, Cook AJC, Brown IH. 2012. An evaluation of wild bird avian influenza surveillance in Great Britain. *Avian Diseases* 56:986-991
- [CDC] Control Diseases Center. 2006 *Avian Influenza (Bird flu). Question and Answer About Avian Influenza (Bird flu) and Avian Influenza A (H5N1) Virus*. <http://www.cdc.gov/flu/avian/geu-info/fact.htm> [4 Februari 2010]
- [CIDRAP] Center for Infectious Disease Research & Policy. 2004. *Highly Pathogenic Avian Influenza (Fowl Plaque)*. Academic Health Center, Univ. of Minnesota. Pp.14
- Elfidasari D. 2006. Lokasi makan tiga jenis kuntul (*Casmerodius albus*, *Egretta garzetta* dan *Bubulcus ibis*) di sekitar Cagar Alam Pulau Dua Serang, Propinsi Banten. *Biodiversitas* 7:187-190
- Elfidasari D. 2007. Jenis interaksi intraspesifik dan interspesifik pada tiga jenis kuntul saat mencari makan di sekitar Cagar Alam Pulau Dua Serang, Propinsi Banten. *Biodiversitas* 8:266-269
- [FAO]. Food and Agricultural Organization. 2008. *Burung liar dan flu burung: Pengantar riset lapangan terapan dan teknik pengambilan sampel penyakit*. Disunting oleh D. Whitworth, SH Newman, T Mundkur dan P Harris. Jakarta : Panduan produksi dan kesehatan hewan FAO, No. 5 Food and Agriculture Organization of the United Nation & Wetland International-Indonesia Programme.
- Fang LQ, de Vles SJ, Liang S, Looman CWN, Gong P, Xu B, Yan L, Yang H, Richardus JH, Cao WC. 2008. Environmental Factors Contributing to the Spread of H5N1 Avian Influenza in Mainland China. *PlosOne*. 3, Issue 5, May 2008
- Fenner FJ, Gibbs EP, Murphy FA, Rott R, Studdert MJ, White DO. 1993. *Veterinary Virology*, 2nd ed. Academic Press, Inc. London, Sydney, Tokyo, Toronto.

- Ferro PJ, Khan O, Peterson MJ, Batchuluun D, Reddy SJ, Lupiani B. 2012. Avian influenza virus surveillance in Hunter-Harvested Waterfowl, Texas Coast, September 2009-Januari 2010. *Avian Diseases* 56:1006-1009
- Hadipour MM, Habibi G, Vosoughi A. 2011. Prevalence of Antibodies to H9N2 AIV in Backyard Chickens Around Maharlou Lake in Iran. *Pak Vet J.* 31:192-194.
- Hjulsager CK, Breum SO, Trebbien R, Hanberg KJ, Therkildsen OR, Madsen JJ, Thorup K, Baroch JA, DeLiberto TJ, Larsen LE, Jorgensen PH. 2012. Surveillance for avian influenza viruses in wild birds in Denmark and Greenland, 2007-10. *Avian Diseases* 56:992-998
- Hulse-Post DJ, Sturm-Ramirez KM, Humberd J, Seiler P, Govorkova EA, Krauss S, Scholtissek C, Puthavathana P, Buranathai C, Nguyen TD, Long HT, Naipospos TSP, Chen H, Ellis TM, Guan Y, Peiris JSM, Webster RG. 2005. Role of domestic duck in the propagation and biological evolution of highly pathogenic H5N1 influenza viruses in Asia. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:10682-10687
- [Komnas FBPI] Komite Nasional Pengendalian Flu Burung dan Kesiapsiagaan Menghadapi Pandemi Influenza. *Strategi dan rencana aksi nasional penanganan flu burung pada burung liar di Indonesia*. Komnas FBPI, Jakarta.
- Monke J, Corn ML. 2007. *CRS Report for Congress: Avian Influenza in Poultry and Wild Birds*. Congressional Research Services.
- Mulyadi B, Prihatini. 2005. Diagnosis laboratorik flu burung (H5N1).[Telaah Pustaka]. *Ind J of Clinical Pathology and Medical Lab* 12:71-81
- Muzyka D, Pantin-Jackwood M, Spackman E, Stegny B, Rula O, Shutchenko. 2012. Avian influenza virus wild bird surveillance in the Azov and Black Sea region of Ukraine (2010-2011). *Avian Diseases* 56:1010-1016
- Nazarudin W. 2008. Avian Influenza pada Unggas. *Jurnal Pusat Kesehatan Hewan*. <http://www.vet-klinik.com> [26 Oktober 2010]
- [OIE] Office international des Epizooties. 2004. *Manual of diagnostic test and vaccines for terrestrial animal/ Avian Influenza*. 5th Edition. <http://www.oie.int/> [24 Oktober 2010].
- Subbarao K, Katz J. 2000. Avian Influenza Infecting Humans (Review). *Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS)*. 57:1770-84.
- Susanti R. 2008. Analisis molekuler fragmen gen penyandi hemaglutinin Virus Avian Influenza subtipe H5N1 dari unggas air.[Disertasi]. Bogor : Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- [WHO] World Health Organization. 2002. *WHO manual on animal influenza Diagnosis and surveillance*. <http://www.who.int/> [12 Oktober 2009]