

Deteksi dan Identifikasi Cemaran Virus *Avian Influenza* pada Pasar Tradisional di Kabupaten Aceh Besar dan Kota Banda Aceh

Detection and Identification of Avian Influenza Virus Contamination in Traditional Markets in Aceh Besar and Banda Aceh

Teuku Zahrial Helmi¹, Rika Yulisma², Budianto Panjaitan³, Charles Ranga Tabbu⁴, Aris Haryanto⁵

¹Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.

²Laboratorium Veteriner Dinas Kesehatan Hewan dan Peternakan, Provinsi Aceh.

³Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.

⁴Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

⁵Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

Email: zahrial_fkh@unsyiah.ac.id

Abstract

This study was designed to detect the presence of the AI virus at some critical point, namely poultry, cage temporary shelter, where the cutting and sale of carcasses, and identify the subtype of AI virus in some traditional markets in Aceh Besar and Banda Aceh, Aceh Province. Swab sample taken randomly (random) of the four markets in Aceh Besar and Banda Aceh, Aceh Province, namely market Lambaro, Ketapang, Ulekareng and Peunayong, and dipoolkan. One pool samples contain 1 to 5 swab grouped by traders, poultry, and the critical point AI contamination. The total number of samples taken is 314 swab, consisting of tracheal swabs of live poultry, cage shelter, table abattoir, and carcasses, then grouped into 121 pool. Isolation of AI virus into chicken eggs to sprout (TAB), the examination serologically (test HA / HI) and molecular identification (method of RT-PCR) is done at the Virology Laboratory of the Veterinary, Health department and Animal Husbandry Aceh Province, and the Research Laboratory of Integrated Faculty of Veterinary Medicine University of Syiah Kuala in Banda Aceh. Analysis of the results of serological and molecular identification of AI virus is done with descriptive method. The results of virus isolation on TAB showed that embryo death at 1 day after infection with the virus material from a sample swab from the market Lambaro, Aceh Besar district, and the titer of antibodies against AI virus was only detected in ducks and broilers which ranges from 24 to 27. From the results of the serological examination followed by RT-PCR. Based on the test results of RT-PCR using primers specific to the gene M, H5 and N1 obtained AI virus circulating in poultry in markets Lambaro classified subtype H5N1. The results of this study prove that among several critical points AI virus contamination in the traditional market, live poultry (ducks and broilers), which are in temporary shelter cage is a potential spread of AI virus into the environment.

Keywords: *Avian Influenza, H5N1, Traditional markets, Contamination critical points, Serological test, RT-PCR.*

Abstrak

Penelitian ini dirancang untuk mendeteksi keberadaan virus AI pada beberapa titik kritis, yaitu unggas, kandang penampungan sementara, tempat pemotongan dan penjualan karkas, dan mengidentifikasi sub tipe virus AI pada beberapa pasar tradisional di Kabupaten Aceh Besar dan Kota Banda Aceh, Propinsi Aceh. Sampel swab diambil secara acak (random) dari empat pasar di Kabupaten Aceh Besar dan Kota Banda Aceh, Propinsi Aceh, yaitu pasar Lambaro, Ketapang, Ulekareng dan Peunayong, dan dipoolkan. Satu pool sampel berisi 1 sampai 5 swab yang dikelompokkan berdasarkan pedagang, jenis unggas, dan titik kritis cemaran AI. Jumlah total sampel yang diambil adalah 314 swab, yang terdiri dari swab trakea unggas hidup, kandang penampungan, meja tempat pemotongan, dan karkas, kemudian dikelompokkan dalam 121 pool. Isolasi virus AI kedalam telur ayam bertunas (TAB), pemeriksaan secara serologis (uji HA/HI), dan identifikasi molekuler (metode RT-PCR) dilakukan di bagian Virologi Laboratorium Veteriner, dinas Kesehatan Hewan dan Peternakan Provinsi Aceh, dan Laboratorium Riset Terpadu Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala Banda Aceh. Analisis hasil pemeriksaan serologis dan identifikasi molekuler virus AI dilakukan dengan metode deskriptif. Hasil isolasi virus pada TAB menunjukkan bahwa embrio mengalami kematian pada 1 hari setelah di infeksi dengan material virus dari sampel swab yang berasal dari pasar Lambaro Kabupaten Aceh Besar, dan titer antibodi terhadap virus AI hanya terdeteksi pada itik dan ayam pedaging yang berkisar antara 2^4 sampai dengan 2^7 . Dari hasil serologis tersebut dilanjutkan dengan pemeriksaan RT-PCR. Berdasarkan hasil uji RT-PCR menggunakan primer spesifik terhadap gen M, H5, dan N1 diperoleh virus AI yang bersirkulasi pada unggas di pasar Lambaro tergolong sub tipe H5N1. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa diantara beberapa titik kritis cemaran virus AI di pasar tradisional, unggas hidup (itik dan ayam pedaging) yang berada dalam kandang penampungan sementara merupakan potensial penyebaran virus AI ke lingkungannya.

Kata kunci: Avian Influenza, H5N1, pasar tradisional, titik kritis cemaran, uji serologis, RT-PCR.

Pendahuluan

Penyakit avian influenza (AI), merupakan penyakit infeksius pada unggas yang disebabkan oleh virus AI tipe A, yang termasuk dalam keluarga *Orthomyxoviridae*. Hampir semua spesies unggas peka terhadap infeksi virus AI. Selain mampu menginfeksi berbagai jenis unggas, virus AI tipe A juga mampu menginfeksi berbagai spesies hewan mamalia dan manusia (Easterday *et al.*, 1997; Swayne and Halvorson, 2003).

Berdasarkan sifat antigenisitas glikoprotein permukaan virus, maka virus influenza tipe A memiliki 18 Hemaglutinin (HA) dan 11 Neuramidase (NA) (Heider, 2015). Penelitian terbaru tentang virus AI pada kelelawar di Guatemala (Amerika Tengah) diidentifikasi sebagai sub tipe H17N10 (Tong *et al.*, 2012). Virus Ai yang diisolasi kelelawar di sekitar Amazon, teridentifikasi sebagai virus AI sub tipe H18N11 (Tong *et al.*, 2013; Wu *et al* 2014). Dilaporkan juga bahwa selain

sub tipe H17, H18, N10, dan N11, semua kombinasi H dan N lainnya telah ditemukan pada unggas (Garcia-Sastre, 2012).

Penularan virus AI dapat terjadi secara langsung maupun secara tidak langsung. Penularan secara langsung terjadi melalui kontak antara unggas yang peka dengan unggas yang terinfeksi virus AI melalui pernafasan (kontak dekat). Penularan virus AI secara tidak langsung dapat terjadi secara oral melalui pakan dan air minum yang tercemar oleh virus tersebut (Soejoedono dan Handharyani, 2005).

Virus AI dapat menyebar dengan cepat diantara populasi unggas, namun penularan virus AI dari satu unggas ke unggas lain dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, yaitu: strain virus, jenis unggas dan faktor lingkungan (Hulse *et al.*, 2005). Sumber penularan virus AI adalah ekskreta yang berasal dari hidung, mulut, dan konjungtiva serta feses unggas yang menderita. Virus AI dikeluarkan dari hidung, konjungtiva, dan kloaka unggas yang terinfeksi ke

lingkungan sekitarnya, oleh karena virus tersebut bereplikasi pada saluran pernafasan, pencernaan, ginjal, dan/atau organ reproduksi (Swayne dan Suarez, 2000).

Avian influenza dapat ditemukan dalam 2 bentuk, yaitu bentuk berat (*highly pathogenic avian influenza*, HPAI) dan bentuk ringan (*low pathogenic avian influenza*, LPAI). Bentuk akut (HPAI) ditandai oleh adanya proses penyakit yang cepat dan disertai mortalitas tinggi; gangguan pernafasan; lakrimasi yang berlebihan; sinutisis; edema didaerah kepala dan muka; perdarahan jaringan subkutan yang diikuti oleh sianosis pada kulit, terutama di daerah muka, jengger, pial, dada, tungkai, dan telapak kaki; diare; gangguan produksi telur; dan gangguan saraf. Pada HPAI bentuk yang sangat akut, dapat terjadi kematian mendadak tanpa adanya gejala tertentu (Tabbu, 2000).

Introduksi virus H5N1 ke Indonesia diperkirakan pada tahun 2003 yang kemudian menyebar luas ke sebagian besar wilayah Indonesia (Wiyono *et al.*, 2004). Dinamika perkembangan virus HPAI di Indonesia menunjukkan adanya perubahan yang signifikan meliputi mutasi gen, perubahan patogenitas, fenomena *escape mutant*, *reassortant* sampai dengan introduksi jenis baru (Dharmayanti, 2005; 2011; Dharmayanti *et al.*, 2013; Wibawa *et al.*, 2012).

Salah satu faktor penting yang mempengaruhi kejadian AI yang terus menerus di Indonesia adalah akibat dari penanganan virus AI yang belum maksimal. Hal ini dapat dilihat dari pola distribusi unggas di pasar unggas tradisional yang tidak terkontrol, rendahnya biosekuriti pada peternakan unggas, terutama pada sektor 3 dan 4, penyebaran virus AI yang berasal dari unggas air liar (Tabbu, 2000).

Pasar tradisional pada umumnya menjual kebutuhan sehari-hari secara lengkap pada satu area pasar dan tentunya dengan harga yang relatif murah. Unggas pada pasar tradisional biasanya dijual dalam bentuk hidup, dan akan dilakukan pemotongan jika ada pembeli. Di pasar tradisional dijual berbagai jenis unggas, seperti ayam buras, ayam petelur afkir, ayam pedaging, itik petelur, dan entok yang dicampur dalam satu kandang penampungan. Unggas-unggas tersebut berasal dari berbagai daerah yang umumnya didominasi dari peternakan sektor 3 dan sektor 4, yang sangat rentan terhadap penularan berbagai penyakit termasuk AI (Antara *et al.*, 2009).

Pekerja di tempat penjualan/pemotongan unggas di pasar tradisional seringkali mengabaikan biosekuriti, misalnya selama pengangkutan unggas, penampungan, transaksi jual-beli, pemotongan dan penjualan daging seringkali terjadi kontak langsung antara pembeli, penjual, dan pekerja pemotongan unggas serta kebiasaan menggunakan kembali peralatan pemotongan yang tercemar dengan feses, darah dan sisa pakan yang tidak dibersihkan dan tidak didesinfeksi terlebih dahulu, sehingga dapat mengakibatkan terjadinya penularan penyakit pada unggas yang sehat. Salah satu agen penyakit yang dapat mencemari pasar unggas tradisional adalah virus AI, oleh karena virus tersebut dapat bertahan hidup sampai beberapa minggu pada kondisi pasar yang becek dan lembab (Antara *et al.*, 2009).

Introduksi virus ke dalam ekosistem peternakan telah menyebabkan terjadinya wabah penyakit pada unggas domestik (Swayne, 2008). Model perdagangan unggas di negara berkembang seperti Indonesia masih bersifat tradisional menyebabkan penyebaran wabah penyakit menjadi sangat beresiko terjadi (Suartha *et al.*,

2010). Penelitian sebelumnya telah mengidentifikasi terdapat sirkulasi virus AI pada pasar unggas hidup tradisional di Indonesia (Indriani *et al.*, 2010).

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi dan mengidentifikasi beberapa titik kritis cemaran virus AI (ayam hidup dari peternak, kandang penampungan unggas sementara, tempat pemotongan, penjualan karkas) di berbagai pasar tradisional di kabupaten Aceh Besar dan Kota Banda Aceh, Propinsi Aceh berdasarkan pemeriksaan uji serologis dan molekuler.

Materi dan Metode

Penelitian ini mengambil lokasi di 4 pasar tradisional yang ada di Kabupaten Aceh Besar dan Kota Banda Aceh di Propinsi Aceh, yaitu pasar Lambaro, Ketapang, Ulekareng, dan Peunayong.

Isolasi virus, pemeriksaan serologis dan identifikasi molekuler virus AI dilakukan di bagian Virologi Laboratorium Veteriner, Dinas Kesehatan Hewan dan Peternakan Provinsi Aceh, dan Laboratorium Riset Terpadu Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.

Materi utama penelitian ini adalah: swab trakea dari ayam dan itik, entok hidup, swab kandang penampungan, swab meja tempat pemotongan, dan swab yang berasal dari karkas. Sampel diambil secara acak (*random*) dari 50% jumlah pedagang di masing-masing pasar. Kemudian sampel swab di kelompokkan (*pool*) berdasarkan pedagang, jenis unggas dan titik kritis cemaran AI, setiap *pool* berisi 1- 5 swab. Swab berasal dari trakea ayam buras layer afkir, broiler, itik, dan entok hidup, swab kandang penampungan, meja tempat pemotongan, dan karkas. Semua swab di tampung dalam tabung yang telah berisi *Viral Transport Medium*. Data

Tabel 1. Data pengambilan sampel Penelitian

Asal Pasar	Sumber Sampel dan Jumlah Swab										Jumlah Total Sampel	
	Trakea		Kandang		Tempat pemotongan		Karkas		Alat Transportasi		Swab	Pool
	Swab	Pool	Swab	Pool	Swab	Pool	Swab	Pool	Swab	Pool		
Lambaro	63	18	6	6	6	6	44	12	6	6	119	42
Ulee kareng	46	13	4	4	4	4	19	5	4	4	73	26
Keutapang	49	13	3	3	3	3	11	3	3	3	66	22
Peunayong	46	13	4	4	4	4	25	6	4	4	83	31
Jumlah	204	57	17	17	17	17	99	26	21	21	341	121

Bahan-bahan yang diperlukan untuk isolasi RNA virus AI antara lain *Purelink™ micro-to-Midi Total RNA purification system* (Invitrogen), *Transcriptor One-Step RT-PCR Kit®* (Roche), dan

primer untuk amplifikasi gen M, H5 dan N1, digunakan 2 pasang primer yaitu *forward* dan *reverse* dapat dibaca pada Tabel 2.

Hasil swab tersebut dibawa ke laboratorium kemudian dibuat suspensi dalam antibiotik untuk diinokulasikan pada telur ayam berembrio yang bebas dari penyakit patogen umur 9 - 11 hari dan diinkubasikan pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam sampai hari ke 4, jika pada hari ke 4 masih ada embrio yang belum mati maka semua embrio dimatikan. Telur yang mati selama pengamatan dan yang dimatikan pada hari terakhir pengamatan disimpan pada suhu 4°C, kemudian virus dipanen dengan cara mengambil cairan chorioalantoisnya.

Isolasi dan propagasi virus AI dilakukan secara *in ovo* menggunakan telur ayam berembrio bebas antibodi (*antibody free*) penyakit AI dan ND, umur 9-11 hari. Pertumbuhan virus AI ditentukan dengan uji HA dan dilanjutkan dengan uji hambatan hemaglutinasi/hemagglutination *inhibition* (HI) menggunakan serum spesifik antivirus AI-H5NI. Prosedur isolasi dan identifikasi serologis mengacu pada standar OIE (Beard, 1989; WHO, 2002). Hasil propagasi secara *in ovo* tersebut kemudian diperiksa secara molekuler.

Isolasi RNA virus yang berasal dari cairan korioalantois diekstraksi dengan *Purelink™ micro-to-Midi Total RNA purification system*. Teknik isolasi RNA virus dilakukan sesuai dengan prosedur standar yang dikeluarkan oleh perusahaan pembuat kit (Invitrogen, 2006). Hasil isolasi RNA virus dilakukan amplifikasi gen matriks dengan metode *one-step RT-PCR* menggunakan *Transcriptor One-Step RT-PCR Kit®* (Roche). Metode ini menggunakan satu pasang primer spesifik untuk gen matriks, gen H5 dan gen N1 secara terpisah. Tahap awal dalam melakukan *single step RT-PCR* adalah mempersiapkan *master mix* dengan volume 22,5 µl untuk satu sampel. Sebanyak 1x *RT-PCR Reaction*

Buffer dengan volume 12,5 µl dimasukkan ke dalam tabung, kemudian ditambahkan dengan masing-masing 0,5 µl *primer forward* dan 0,5 µl, *primer reverse* yang spesifik, dengan konsentrasi 10 pmol/µl. Lalu ditambahkan 7 µl dH₂O dan 1 µl *RT-PCR Enzyme Mix*. Selanjutnya kedalam campuran *master mix* ditambahkan 2,5 µl *template* sehingga volume total reaksi untuk satu sampel adalah 25 µl.

Campuran reaksi PCR yang terdiri dari *master mix* dan *template* siap untuk diamplifikasi. Proses sintesis cDNA dilakukan dengan metode *reverse transcription* pada suhu 55°C selama 30 menit. Proses PCR diawali dengan *denaturation* pada suhu 94°C selama 2 menit, sebanyak 1 siklus; dilanjutkan dengan amplifikasi sebanyak 35 siklus dengan suhu masing-masing sebagai berikut: denaturasi 94°C selama 30 detik, *annealing* 55°C selama 30 detik, ekstensi 68°C selama 1 menit, dan final ekstensi pada suhu 68°C selama 7 menit.

Produk amplifikasi menggunakan metode *RT-PCR* dianalisis dengan elektroforesis pada gel *agarose* 2%. Setiap sampel yang akan dielektroforesis dicampur dengan *loading dye buffer* sebanyak 1 µl per 8 µl sampel, selanjutnya sampel pertama dimasukkan ke dalam sumuran ke 2 hingga sampel yang terakhir. Sumuran pertama diisi dengan DNA *ladder* 100 bp sebagai marker, sedangkan sumuran terakhir diisi dengan kontrol positif. Setelah semua sumuran terisi, maka dilakukan *running* elektroforesis pada tegangan 100 volt selama 40 menit.

Hasil elektroforesis dibaca pada *trans illuminator viewer*, dan diharapkan akan diperoleh adanya satu pita DNA pada setiap sumuran sesuai dengan target gen yang diinginkan. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif.

Hasil dan Pembahasan

Pemeriksaan 341 sampel swab pada berbagai jenis unggas dan tempat pengambilan swab dilakukan secara *pooling* berdasarkan berdasarkan pedagang, jenis unggas, dan titik kritis cemaran AI. Sampel diambil pada beberapa titik kritis cemaran virus AI seperti unggas hidup yang dijual oleh peternak, kandang penampungan sementara, tempat pemotongan, karkas, dan alat transportasi di pasar tradisional di Kabupaten Aceh Besar dan Kota Banda Aceh, Propinsi.

1. Inokulasi pada Telur Ayam Bertunas (TAB) dan Uji HA/HI

Hasil inokulasi pada TAB dan hasil uji HA/HI dengan antigen H5 virus AI dan *Newcastle disease* (ND) menunjukkan adanya 10 sampel swab dari pasar lambaro yang positif terhadap virus AI sub tipe H5 (Tabel 3). Hasil inokulasi TAB dan uji HA menunjukkan adanya 18 swab/5 pool yang positif hemaglutinasi. Sampel yang positif terhadap uji HA, diuji lagi dengan metode HI, dan ternyata 10 swab/3pool positif virus AI sub tipe H5, dan 8 swab/2 pool positif virus ND dari total 341 swab/121 pool yang diuji.

Tabel 2. Hasil inokulasi pada TAB dan uji HA/HI

Pasar Asal sampel	Sumber dan jumlah sampel yang positif hasil isolasi virus pada TAB				Hasil HA/HI		
	TR	KD	TP	KK	HA+	HI+ (AI)	HI + (ND)
Lambaro	15	-	-	-	15 (4 pool)	10 (3 pool)	5 (1 pool)
Ulee Kareng	3	-	-	-	3 (1 pool)	-	3 (1 pool)
Keutapang	-	-	-	-	-	-	-
Peunayong	-	-	-	-	-	-	-
Total Sampel (swab dan pool)	18 swab/ 5 pool	-	-	-	18 swab/ 5 pool	10 swab/ 3 pool	8 swab/ 2 pool

Pada Tabel 3. dapat dibaca bahwa tingkat cemaran virus AI hanya ditemukan di pasar Lambaro pada sampel swab trakea ayam hidup (10 swab/3 pool). Sampel yang positif virus AI sub tipe H5 di pasar Lambaro berasal dari itik sebanyak 6 sampel dan ayam pedaging sebanyak 4 sampel. Disamping itu, ditemukan juga dari ayam buras sebanyak 8 sampel/2 pool positif virus ND di pasar Lambaro sebanyak 5 sampel dan pasar Ulekareng sebanyak 3 sampel.

2. Pemeriksaan dengan metode RT-PCR

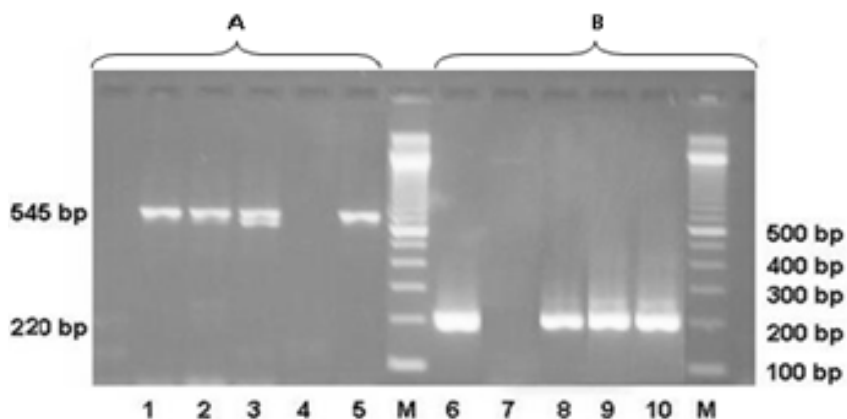
Pemeriksaan sampel diuji dengan metode RT-PCR menggunakan primer yang spesifik terhadap gen Matriks (M), H5 dan N1 (Tabel 4). Amplifikasi gen M menggunakan primer yang direkomendasikan oleh AAHL, Geelong, Australia, H5 menggunakan Lee *et al.*, 2001, dan primer N1 yang direkomendasikan oleh Mahardika (2008).

Tabel 3. Hasil amplifikasi dengan RT-PCR terhadap sampel yang positif dengan metode inokulasi TAB.

Asal sampel TAB	Jumlah swab hasil RT-PCR/Fragmen gen					
	M (220 bp)		H5 (545 bp)		N1 (514 bp)	
	+	-	+	-	+	-
Pasar Lambaro	10	5	10	5	10	5
Pasar Ulee kareng	0	3	0	3	0	3

Berdasarkan hasil elektroforesis dapat diketahui bahwa sampel dari itik dan broiler yang berasal pasar Lambaro dapat dinyatakan positif virus AI tipe A sub tipe H5 sehubungan dengan adanya *band* pada hasil elektroforesis produk RT-PCR menggunakan primer H5 : F-H5-AI dan R-H5-AI (545 bp) (Lee *et al.*, 2001) dan primer matrik: F-matrik- AI; R-Matrik AI (220 bp) (AAHL, 2004). Amplifikasi gen M virus AI juga telah dilaporkan

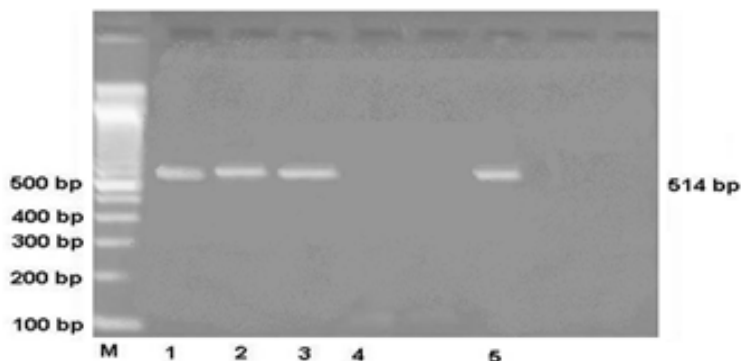
oleh Haryanto *et al.* (2013) yang mengamplifikasi tiga gen dari virus yang berbeda sekaligus pada satu reaksi multipleks RT-PCR bersama sama dengan gen fusion (F) virus *Newcastle Disease* (ND) dan gen *viral protein-2* (VP-2) virus *infectious bursal disease* (IBD) atau virus Gumboro. Hasil positif ditemukan pada swab trakea itik sebanyak 2 sampel dan swab trakea broiler 1 sampel yang ditemukan pada pasar Lambaro (Gambar 1.).



Gambar 1. Hasil elektroforesis produk RT-PCR. A. Hasil elektroforesis gen H5 pada 545 bp. 1. Sampel swab trakea itik asal Lambaro, 2. Sampel swab trakea itik asal Lambaro, 3. Sampel swab trakea broiler asal Lambaro, 4. Kontrol Negatif, 5. Kontrol Positif, M. Marker (100bp leader). B. Hasil elektroforesis gen Matriks pada 220 bp, 6. Kontrol Positif, 7. Kontrol Negatif, 8. Sampel swab trakea itik asal Lambaro, 9. Sampel swab trakea itik asal Lambaro, 10. Sampel swab trakea broiler asal Lambaro.

Pengujian lanjutan sampel virus dilakukan dengan cara amplifikasi menggunakan primer yang spesifik terhadap gen neuraminidase 1 (N1). Dalam

menentukan sub tipe N1 penelitian ini menggunakan primer yang direkomendasikan oleh Mahardika, 2008, (514 bp)(Gambar 2).



Gambar 2. Hasil elektroforesis gen N1 pada 514 bp. M. Marker, 1. Sampel swab trakea itik asal Lambaro, 2. Sampel swab trakea itik asal Lambaro, 3. Sampel swab trakea broiler asal Lambaro, 4. Kontrol Negatif, 5. Kontrol Positif.

Hasil dari kedua gambar tersebut dapat diketahui bahwa penggunaan primer tersebut cocok dengan virus AI yang bersirkulasi di Kabupaten Aceh Besar saat ini, yang ditandai oleh adanya *band* DNA virus pada daerah yang teramplifikasi dengan ketiga pasang primer tersebut. Hasil amplifikasi gen M dan H5 virus AI tersebut juga sesuai dengan yang dilaporkan oleh Haryanto *et al.*, (2012). Hal ini membuktikan bahwa virus AI yang bersirkulasi di Kabupaten Aceh Besar saat ini adalah virus AI tipe A sub tipe H5N1. Hasil dari penelitian sesuai dengan laporan penelitian sebelumnya, bahwa semua virus AI yang mewabah dari tahun 2006-2008 di Provinsi Aceh termasuk ke dalam subtipe H5N1 (Helmi, 2014).

Berdasarkan hasil inokulasi virus pada telur ayam bertunas dan uji HA/HI serta metode RT-PCR diperoleh hasil bahwa titik kritis cemaran virus AI pada pasar tradisional di Kabupaten Aceh Besar Provinsi Aceh hanya terdeteksi pada unggas hidup di pasar Lambaro. Hal ini mungkin karena pasar ini merupakan tempat yang paling banyak menjual dan membeli berbagai jenis unggas dari berbagai wilayah di Kabupaten Aceh Besar. Dalam hal ini, pasar Lambaro merupakan pasar induk yang setiap hari menampung unggas dari berbagai daerah sebelum didistribusikan ke pasar-pasar yang lain (Anonim, 2006). Selain tingkat transaksi unggas yang tinggi di pasar Lambaro, cemaran virus AI di pasar ini juga disebabkan oleh biosekuriti yang sangat rendah bahkan sama sekali tanpa biosekuriti, serta rendahnya kesadaran pedagang dalam menjaga dan memelihara kebersihan di lingkungan.

Menurut Nguyen *et al.*, (2005) penularan virus AI antar unggas sangat mudah terjadi melalui berbagai jenis unggas hidup yang diperdagangkan di

pasar-pasar tradisional. Dalam hal ini unggas yang telah terinfeksi oleh virus AI disuatu daerah dijual dan dibawa ke pasar, kemudian ditampung pada suatu tempat/kandang sementara yang berada di lingkungan lain yang belum tercemar oleh virus tersebut. Penelitian yang dilakukan oleh Webster dan Hulse (2004), mengungkapkan bahwa adanya unggas air seperti itik, entok, dan angsa yang diperdagangkan dalam kondisi hidup di pasar tradisional dapat menjadi pemicu terjadinya penyebaran virus AI. Pada penelitian ini, ditemukan 10 sampel positif virus AI subtipe H5N1 dan sebanyak 6 sampel (60%) diantaranya ditemukan pada itik. Hal ini jelas menunjukkan bahwa keberadaan virus AI di pasar tradisional, terutama pada unggas hidup sangat beresiko bagi pengunjung pasar tempat penjualan unggas hidup. Sebagaimana kita ketahui bahwa virus AI sangat jarang menyebabkan kematian pada unggas air seperti itik, akan tetapi itik akan mengeluarkan virus AI bersama feces ke lingkungan sekitarnya secara terus menerus (Sturm-Ramirez *et al.*, 2005).

Unggas yang terinfeksi virus AI dapat juga menjadi sumber penularan pada manusia, hal ini harus mendapat perhatian yang serius mengingat pasar tradisional sebagai pusat aktivitas sosial dan ekonomi masyarakat. Penanganan kebersihan dan sanitasi pasar yang kurang memadai akan merubah pasar-pasar tradisional sebagai sumber penularan penyakit-penyakit zoonosis seperti AI. Lemahnya biosekuriti dan buruknya tingkat higienis inilah yang memicu terjadinya penyebaran dan penularan virus AI di pasar yang menjual unggas hidup dan produknya (Darminto, 2008).

Pada penelitian ini, tidak ditemukan adanya cemaran virus AI pada kandang penampungan,

tempat pemotongan, dan karkas. Hal ini mungkin disebabkan oleh karena unggas tersebut biasanya ditampung dalam waktu yang singkat (sekitar 1–2 hari), sehingga tingkat cemaran pada kandang sangat rendah dan tidak terdeteksi pada uji laboratorium. Berdasarkan hasil Loka Karya Pasar Unggas Hidup (*live bird markets/traditional markets*) yang diadakan oleh Komnas FBPI, USDA, dan CIVAS terdapat empat titik kritis dalam rantai distribusi unggas dan produknya, yaitu peternakan, tempat penampungan unggas, tempat pemotongan unggas, dan tempat penjualan unggas dan produknya di pasar tradisional (Jaelani, 2008).

Pada penelitian ini dapat diketahui bahwa, diantara beberapa titik kritis cemaran virus AI di pasar tradisional, ayam hidup yang berada dalam kandang penampungan sementara merupakan titik yang paling berpotensi sebagai sumber penyebaran dan penularan virus AI ke lingkungannya. Penyebaran virus tersebut dapat berupa penularan pada kelompok unggas yang berada dalam satu kandang penampungan di pasar maupun kepada unggas lain di luar pasar tradisional melalui unggas yang dibeli dan dibawa dalam kondisi hidup (Basri *dkk.*, 2008).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat bahwa hasil RT-PCR menggunakan primer spesifik terhadap gen M, H5 dan N1 diperoleh virus AI yang bersirkulasi pada unggas di pasar Lambaro Kabupaten Aceh Besar tergolong subtipe H5N1, dan cemaran virus AI hanya terdeteksi pada itik dan ayam pedaging. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa diantara beberapa titik kritis cemaran virus AI di pasar tradisional, unggas hidup (itik dan ayam

pedaging) yang berada dalam kandang penampungan sementara merupakan potensial penyebaran virus AI ke lingkungannya. Beberapa titik kritis cemaran virus AI di pasar tradisional, unggas hidup (itik dan ayam pedaging) yang berada dalam kandang penampungan sementara merupakan potensial penyebaran virus AI ke lingkungannya.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala laboratorium Virologi Lab Veteriner, dinas Kesehatan Hewan dan Peternakan, Provinsi Aceh, Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, yang telah menyediakan tempat untuk melaksanakan penelitian ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional Republik Indonesia yang telah mendanai proyek penelitian ini melalui dana Hibah Penelitian Dosen Muda tahun anggaran 2011 dengan nomor kontrak 2159/H11/LK-PNBP/2011 Tanggal 18 MEI 2011.

Daftar Pustaka

- Anonim, (2006). *Laporan Hasil Penelitian Kajian Epidemiologi Penyebaran Avian Influenza Virus pada Pasar Unggas Tradisional Di Nanggroe Aceh Darussalam*. Tim Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala. Banda Aceh.
- Antara, I.M.S., Suartha, I.N., Wiryana, I.K.S., Sukada, I.M., Wirata, I.M., Prasetya, I.G.N., Dewi, N.M.R.K., Sari, I.M., dan Mahardika, I.G.N.K. (2009). Pola Distribusi Unggas dari Pasar Tradisional Berperan dalam Penyebaran Virus Flu Burung. *Jurnal Veteriner*. 10 (2) : 104-110.
- Basri, C., Sunandar., Noor, G.M.S. dan Jatikusumah A. (2008) Karakteristik Sistem Pemeliharaan

- Ayam di Tempat Penampungan Ayam di Provinsi DKI Jakarta dan Risiko Penularan Virus Avian Influenza. Di dalam: Priosoeryanto BP, editor. *Proceeding of 10th National Veterinary Scientific Conference of Indonesian Veterinary Medical Association*; Bogor, 19-22 Agust 2008. Jakarta : Perhimpunan Dokter Hewan Indonesia. Hal. 302-304.
- Darminto. (2008). Perkembangan Teknologi Pengendalian Penyakit Avian Influenza. Balai Besar Penelitian veteriner, Bogor.
- Dharmayanti, N.L.P.I., Hartawan, R., Hewajuli, D.A., Hardiman., Wibawa, H. dan Pudjiatmoko. (2013). Karakteristik Molekuler dan Patogenesitas Virus H5N1 Clade 2.3.2 Asal Indonesia. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 18, 99-113.
- Dharmayanti, N.L.P.I. (2005). Analisis of HA1 Gene Fragment of Avian Influenza Virus that Infected Breeding Farm in Early 2004 and 2005 in Sukabumi District. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia* 10, 86-90.
- Dharmayanti, N.L.P.I. (2011). Variasi Genetik pada Protein Internal Matrix (M1) dan Non Struktural (NS1) Virus Avian Influenza Subtipe H5N1 asal Indonesia. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 16, 71-81.
- Haryanto, A., Krisanti, B., Irianingsih, S.H. and Yudianingtyas, D.W. (2012). Molecular diagnosis of avian influenza virus type A and subtype H5 by amplification of its M and H5 genes using one step simplex RT-PCR based on. *Jurnal Veteriner* 13 (2), 92-101.
- Haryanto, A., Irianingsih, S.H., Yudianingtyas, D.W., Wijayanti, N. and Budipitojo, T. (2013). Single step multiplex RT-PCR for detection and differential diagnosis of avian influenza, newcastle disease and infectious bursal disease viruses in chicken. *Int. Res. J. Biotechnol.* 4, 34-39.
- Helmi, T.Z., Widayanti, R. dan Haryanto, A., (2014). Penentuan Subtipe Virus Avian Influenza Dengan Metode Single Step Multiplex Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) Isolat Asal Provinsi Aceh. *Jurnal Kedokteran Hewan. Vol, 8* (1).
- Hulse-Post, D.J., Sturm-Ramirez, K.M., Humberd, J., Seiler, P., Govorkova, E.A., Krauss, S., Scholtissek, C., Puthavathana, P., Buranathai, C., Nguyen, T.D., Long, H.T., Naipospos, T.S.P., Chen, H., Ellis, T.M., Guan, Y., Peiris, J.S.M., dan Webster, R.G. (2005) Role of Domestic Ducks in the Propagation and Biological Evolution of Highly Pathogenic H5N1 Influenza Viruses in Asia. *PNAS* 102 (30):10682–10687.
- Indriani, R., Samaan, G., Gultom, A., Loth, L., Indryani, S., Adjid, R.M.A., Dharmayanti, N.L.P.I., Weaver, J., Mumford, E., Lokuge, K., Kelly, P.M. and Darminto. (2010). Environmental Sampling for Avian Influenza Virus A (H5N1) in Live- Bird Markets, Indonesia. *Emerging Infectious Diseases* 16, 1889-1895.
- Invitrogen, 2006. *PureLink™ Micro-to-Midi Total RNA Purification System*. http://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/purelink_micro_midi_rna_man.pdf. (diakses 29 Februari 2010).
- Jaelani, A. (2008) *Peran Sentral Pasar Unggas dalam Penyebaran AI*. <http://infovet.blogspot.com/2008/08/>. (diakses 24 Februari 2010).
- Lee, M.S., Chang, P.C., Shien, J.H., Cheng, M.C. and Shieh, H.K. (2001). Identification and subtyping of avian influenza viruses by reverse transcription-PCR. *J. Virol. Methods.* 97: 13-22.
- Mahardika, I.G.N.K., Suartha, I.N., Suardana, I.B.K. dan Kencana, I.G.A. (2008). Perbandingan Sekuens Konsensus Gen Hemaglutinin Virus Avian Influenza Subtipe H5N1 Asal Unggas di Indonesia dengan Subtipe H5N2 dan H5N9. *Jurnal Veteriner*
- Nguyen, D.C., Uyeki, T.M., Jadhao, S., Maines, T., Shaw, M., Matsuoka, Y., Smith, C., Rowe, T., Lu, X., Hall, H., Xu, H., Balish, A., Klimov, A., Tumpey, T.M., Swayne, D.E., Huynh, L.P.T., Nghiem, H.K., Nguyen, H.H.T., Hoang, L.T., Cox, N.J., dan Katz, J.M. (2005). Isolation and Characterization of Avian Influenza

- Viruses, Including Highly Pathogenic H5N1, from Poultry in Live Bird Markets in Hanoi, Vietnam, in 2001. *J Virol*, 79 (7): 4201–4212.
- Office International des Epizooties (OIE), (2012) *Manual of Standards for Diagnostik Tests and Vaccines*. OIE, Paris. p. 212–219.
- Soejoedono, R.D. dan Handharyani, E. (2005) *Flu Burung*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Sturm-Ramirez, K.M., Hulse-Post, D.J., Govorkova, E.A., Humberd, J., Seiler, P., Puthavathana, P., Buranathai, C., Nguyen, T.D., Chaisingh, A., Long, H.T., Naipospos, T.S., Chen, H., Ellis, T.M., Guan, Y., Peiris, J.S., dan Webster, R.G. (2005) Are Ducks Contributing to the Endemicity of Highly Pathogenic H5N1 Influenza Virus in Asia. *J Virol*, 79(17):11269-11279.
- Suartha, I.N., Antara, I.M.S., Wiryana, I.K.S., Sukada, I.M., Wirata, I.W. Dewi, N.M.R.K. dan IGNK Mahardika. (2010). Peranan Pedagang Unggas dalam Penyebaran Virus Avian Influenza. *Jurnal Veteriner* 11, 220-225.
- Swayne, D.E. 2008. Epidemiology of Avian Influenza in Agricultural and Other Man-Made Systems. In: *Avian Influenza*. DE Swayne (Ed), 59-85. Blackwell Publising. Iowa.
- Swayne, D.E. and Suarez, D.I. (2000). Highly Pathogenic Avian Influenza. *Rev Science Tech*, 19:643-468.
- Tabbu, C. R. (2000). *Penyakit Ayam dan Penanggulangannya. Penyakit Bakterial, Mikal, dan Viral*. Kanisius, Yoyakarta.
- Webster, R.G., dan Hulse, D.J., (2004). Microbial Adaptation and Change: Avian Influenza. *Review Science Technology. Office International Epizootic.*, 23 (2): 453-465.
- Wibawa, H., Prijono, W.B., Dharmayanti, N.L.P.I., Irianingsih, S.H., Miswati, Y., Rohmah, A., Andesyha, E., Romlah., Daulay, R.S.D. dan Safitria, K. (2012). Investigasi Wabah Penyakit pada Itik di Jawa Tengah, Yogyakarta, dan Jawa Timur: Identifikasi Sebuah Clade Baru Virus Avian Influenza Subtipe H5N1 di Indonesia. *Buletin Laboratorium Veteriner* 12, 2-9.
- World Health Organization. (2005) Review of Latest Available Evidence on Risks to human Health Through Potential Transmission of Avian influenza (H5N1) Through Water and Sewage. www.who.int/biologicals/publications. (diakses 23 Januari 2010).