

Analisa *Cross-Infection Virus AI* Subtipe H5N1 Berdasarkan Imunoserologi pada Burung Air di Cagar Alam Pulau Dua

Dewi Elfidasari¹, Riris Lindia Puspitasari¹

¹Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Al Azhar Indonesia, Kompleks Masjid Agung Al Azhar, Jakarta Selatan, 12110, Indonesia

Email : d_elfidasari@uai.ac.id

Abstrak - Imunoserologi adalah cara mengidentifikasi terbentuknya antibodi yang diproduksi oleh sel darah putih sebagai respon terhadap masuknya antigen. Salah satu teknik Imunoserologi yang lazim digunakan untuk mendeteksi keberadaan antibodi di dalam darah adalah uji hambatan hemaglutinasi (*Hemagglutination-inhibition/HI*). Pada uji ini digunakan antigen yang homolog sehingga akan terjadi ikatan antigen-antibodi. Titer antibodi merupakan salah satu indikator dalam menentukan respon imun organisme terhadap suatu infeksi, seperti infeksi Virus Avian Influenza (VAI) subtipe H5N1. Interaksi yang terjadi antara burung air liar dengan unggas domestik dapat menyebabkan *cross-infection*, baik dari unggas domestik ke burung liar maupun dari burung liar ke unggas domestik. Salah satunya cara yang dapat dilakukan untuk menentukan pola penularan dan penyebaran VAI subtipe H5N1 pada kawasan CAPD adalah melalui analisa *cross-infection* berdasarkan imunoserologi dengan melihat titer antibodi yang terbentuk pada unggas (ayam, bebek, mentok) dan burung-burung air liar penetap di kawasan tersebut. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *cross-infection* tidak terjadi pada penyebaran virus VAI subtipe H5N1 di kawasan CAPD. Penularan terjadi hanya satu arah, dari unggas domestik ke burung-burung air liar penetap di CAPD.

Abstract - *Immunoserology is a method to identify the formation of antibodies that produced by white blood cells as a response to against the antigen. One of Immunoserology assays technique that commonly used to detect the presence of antibodies is hemagglutination test (Hemagglutination-inhibition/HI). In this study*

we used homologous antigens to observed the antigen-antibody binding. The antibody titer is an indicator to determining the immune response for the infectious microorganism, such as Avian Influenza Virus (AIV) subtype H5N1. Interactions between wild water birds and domestic poultry can lead the cross-infection mechanism. The analysis of cross-infection by imunoserologi is one of the ways to find the patterns of transmission and spread of the AIV subtype H5N1 in CAPD. The results of this study was indicate that cross-infection did not occur in the spread of AIV subtype H5N1 in the CAPD. The mechanism of transmission was occurs by one direction, only from domestic poultry to wild water birds resident in CAPD.

Keywords - *HI test, Avian Influenza virus subtype H5N1, wild water bird, immunoserology assay, cross-infection*

I. PENDAHULUAN

Imunoserologi adalah respon imun yang dibentuk dalam serum darah sebagai bentuk reaksi terhadap masuknya antigen tertentu. Sejumlah metode imunoserologi telah dikembangkan sehingga antibodi yang telah diketahui identitasnya dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan antigen. Demikian pula sebaliknya, antigen yang telah diketahui identitasnya dapat digunakan untuk mendeteksi titer antibodi di dalam serum. Titer antibodi adalah derajat kandungan antibodi yang diukur dengan metode titrasi. Titer antibodi merupakan salah satu indikator penting dalam menentukan respon imun organisme terhadap suatu infeksi, seperti infeksi Virus Avian Influenza (VAI) subtipe H5N1.

VAI subtipe H5N1 diketahui telah menginfeksi hampir sebagian besar unggas domestik (peliharaan) masyarakat seperti ayam, bebek dan mentok. VAI subtipe H5N1 juga telah memberi paparan pada burung-burung liar di Indonesia. Pada ayam dan manusia, VAI subtipe H5N1 bersifat sangat patogen sedangkan pada unggas air, hanya VAI subtipe H5N1 *clade* 2.3 (merupakan introduksi dari luar) yang mampu bersifat mematikan.

Efektivitas penularan VAI subtipe H5N1 dari ayam ke ayam sudah dapat dibuktikan dan tidak diragukan lagi. Akan tetapi sumber penularan VAI subtipe H5N1 ke ayam dan ke manusia sampai saat ini belum diketahui dengan jelas. Unggas air domestik (bebek & mentok) yang merupakan reservoir VAI subtipe H5N1 juga patut diperhitungkan perannya sebagai sumber penularan. Dugaan adanya peran burung air liar baik yang bermigrasi maupun penetap di suatu kawasan dalam proses penyebaran VAI subtipe H5N1 juga masih perlu dibuktikan.

Transmisi VAI subtipe H5N1 dari unggas air (bebek dan mentok) ke unggas lain (ayam, puyuh, dan burung-burung) yang terjadi di pasar unggas merupakan penyebab utama penyebaran VAI subtipe H5N1. Hal ini disebabkan pada lokasi tersebut kontak langsung antara unggas tidak dapat dihindarkan.

Interaksi yang terjadi antara unggas air liar dengan unggas domestik dapat menyebabkan ***cross-infection***, baik dari unggas domestik ke unggas liar maupun dari unggas liar ke unggas domestik. Salah satunya cara yang dapat dilakukan untuk menentukan pola penularan dan penyebaran VAI subtipe H5N1 pada kawasan CAPD adalah melalui analisa ***cross-infection*** berdasarkan imunoserologi dengan melihat titer antibodi yang terbentuk pada unggas (ayam, bebek, mentok) dan burung-burung air liar penetap di kawasan tersebut. Titer antibodi yang dihasilkan dari Uji Hemaglutinasi terhadap sampel serum dan usap kloaka asal unggas-unggas di kawasan CAPD diharapkan mampu menjelaskan mekanisme penularan dan penyebaran VAI subtipe H5N1 serta mampu menjelaskan sumber VAI subtipe H5N1 pada kawasan konservasi tersebut.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan sumber, pola penyebaran dan penularan VAI subtipe H5N1 pada unggas-unggas di sekitar CAPD berdasarkan imunoserologi yang terbentuk akibat infeksi dan paparan virus AI subtipe H5N1. Hasil penelitian ini

diharapkan mampu memberi informasi pola ***cross-infection*** VAI subtipe H5N1 pada unggas-unggas tersebut di sekitar CAPD.

II. TINJAUAN PUSTAKA

Imunoserologi bagian dari sistem imun

Salah satu kendala utama dalam menentukan adanya antibodi di dalam tubuh adalah karena hasil produksi antibodi tidak dapat secara langsung dilihat keberadaannya. Untuk itu dikembangkan berbagai macam cara dalam mengidentifikasi keberadaan antibodi salah satunya adalah imunoserologi. Imunoserologi adalah cara mengidentifikasi terbentuknya antibodi yang diproduksi oleh sel darah putih sebagai respon terhadap masuknya antigen. Imunoserologi juga merupakan cara yang dilakukan untuk mengetahui kadar antibodi dalam serum yang melibatkan antigen yang tidak larut [1].

Imunoserologi memiliki banyak manfaat antara lain dapat digunakan untuk menentukan jenis mikroorganisme yang diisolasi dari penderita penyakit infeksi, menentukan golongan darah sebelum proses transfusi, memilih donor yang tepat sebelum dilakukan transplantasi jaringan, mendeteksi organisme pada jaringan tubuh dan menentukan status kekebalan tubuh. Imunoserologi terdiri dari beberapa metode yang sering digunakan, meliputi reaksi presipitasi, reaksi aglutinasi, reaksi fiksasi komplemen, reaksi imunofluoresensi, *Radioimmuna assay* (RIA) dan *Enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) [1].

Salah satu metode imunoserologi yang sering digunakan untuk mendeteksi keberadaan antibodi akibat infeksi atau paparan VAI subtipe H5N1 adalah **Reaksi Aglutinasi** atau **Uji Aglutinasi**. Reaksi aglutinasi adalah reaksi yang dilakukan untuk mengetahui kadar antibodi dalam serum melalui ikatan yang terjadi antara antibodi-antigen. Reaksi aglutinasi dilakukan untuk antigen yang tidak larut, berbentuk partikel atau antigen yang larut tapi terikat dengan partikel atau sel. Reaksi aglutinasi terjadi bila antigen yang berbentuk partikel direaksikan dengan antibodi spesifik. Mekanisme terjadinya reaksi aglutinasi terjadi pada *antigen binding site* [1].

Uji Aglutinasi terdiri dari beberapa macam meliputi Uji aglutinasi secara langsung, uji aglutinasi secara tidak langsung, uji hambatan aglutinasi dan Hemaglutinasi. Uji aglutinasi secara langsung

dilakukan untuk menentukan antigen seluler yang terdapat pada sel darah merah, bakteri dan jamur. Uji aglutinasi tidak langsung merupakan bentuk modifikasi teknik aglutinasi dengan melibatkan *carrier*. Jenis *carrier* yang biasa digunakan adalah sel darah merah atau partikel lateks. Bila menggunakan sel darah merah, maka akan disebut dengan uji hemaglutinasi. Uji hemaglutinasi akan menghasilkan reaksi hemaglutinasi yang merupakan reaksi antara antigen yang terdapat pada permukaan sel darah merah dengan antibodi yang komplementer. Beberapa virus anatara lain virus influenza, *mumps* dan *measles* dapat mengaglutinasi sel darah merah meski tanpa memalui reaksi antigen antibodi [1][2].

Epidemiologi Virus Avian Influenza (VAI) subtipe H5N1

VAI telah menjangkiti ternak unggas di seluruh dunia sejak tahun 1959 hingga tahun 2003. Wabah yang ditimbulkan tersebut kebanyakan terbatas pada daerah geografis tertentu saja dan tidak satupun dari wabah-wabah tersebut berukuran seperti wabah *High Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) yang disebabkan oleh virus influenza A subtipe H5 dan H7 pada tahun 2004. Faktor utama penyebaran virus HPAI adalah perdagangan unggas hidup dan produknya, serta dapat melalui mobilitas manusia (wisatawan dan pengunjung) [3].

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 [4][5][6][7].

Kematian ternak unggas banyak dilaporkan di daerah yang berdekatan dengan danau dan rawa-rawa yang menjadi tempat singgah unggas air liar. Hal ini membuat asumsi yang kuat bahwa unggas air bermigrasi merupakan sumber penyebaran virus termasuk virus HPAI subtipe H5N1 di kawasan Asia. Virus HPAI subtipe H5N1 diperkirakan dibawa oleh unggas air liar selama masa inkubasi virus pada saat bermigrasi dan oleh spesies burung yang masih bertahan hidup meskipun telah terinfeksi VAI subtipe H5N1 [8].

Penyebaran VAI subtipe H5N1 secara global disebabkan oleh perdagangan unggas dan/atau produk unggas serta pergerakan unggas bermigrasi [9][10]. Analisa penyebaran global VAI subtipe H5N1 di Asia menunjukkan bahwa 9 dari 21 introduksi virus ke negara-negara Asia melalui perdagangan unggas atau produk unggas. Unggas bermigrasi juga berperan pada penyebaran dan introduksi VAI subtipe H5N1 pada 3 dari 21 negara-negara di Asia. Sedangkan introduksi VAI subtipe H5N1 pada 20 dari 23 negara di Eropa terjadi melalui pergerakan unggas bermigrasi. Di Afrika, 2 dari 8 negara di benua tersebut mengalami introduksi VAI subtipe H5N1 melalui perdagangan unggas dan pada 3 dari 8 negara diketahui melalui unggas bermigrasi [11].

Wabah VAI subtipe H5N1 pada unggas di Indonesia muncul pertama kali pada bulan Agustus 2003, ditemukan pada beberapa peternakan ayam ras komersial di Jawa Barat dan Jawa Tengah. Wabah ini kemudian meluas ke berbagai daerah di Jawa Tengah, Jawa Barat, Jawa Timur, DIY, Lampung, Bali serta beberapa daerah di Sumatera dan Kalimantan.

Transmisi VAI subtipe H5N1 dari unggas ke manusia masih dianggap melibatkan peran unggas peliharaan manusia seperti ayam, bebek dan mentok yang menyebarkan VAI subtipe H5N1 secara langsung atau lingkungan yang terkontaminasi virus [12].

Secara umum beberapa faktor yang berperan dalam transmisi VAI antara lain buruknya biosekuriti pada sistem peternakan, keluar masuknya unggas dan produknya, perdagangan hewan hidup di pasar. Migrasi unggas liar yang membawa virus *Low-pathogenic Avian Influenza* (LPAI) maupun HPAI diduga memiliki peran penting dalam penyebaran VAI pada unggas-unggas di berbagai daerah [13].

III. METODE PENELITIAN

Objek dan Lokasi Penelitian

Objek penelitian adalah serum darah dan usap kloaka yang berasal dari unggas air liar (burung-burung air liar) dan unggas domestik (ayam, bebek, itik dan entok) di sekitar kawasan CAPD yang terletak di Teluk Banten, Kabupaten Serang, Propinsi Banten. Kawasan tersebut kira-kira 4 km ke arah timur laut Pelabuhan Karang Hantu [14]

Analisa sampel akan dilakukan di Laboratorium Terpadu Bagian Immunologi Dept. Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan IPB dan Laboratorium Mikrobiologi Universitas Al Azhar Indonesia.

Metode pengambilan sampel darah dan usap kloaka

Pengambilan sampel terhadap burung-burung air liar di kawasan CAPD dilakukan pada masa berbiak (*breeding season*). Pada awal masa berbiak, burung-burung air jantan dan betina akan membangun sarang yang akan digunakan untuk meletakkan telur. Masa berbiak yang diawali dengan kegiatan membangun sarang akan dilanjutkan dengan masa peletakkan telur pasca perkawinan. Telur yang diletakkan pada masing-masing sarang berkisar 2-5 butir. Pada masa pengeraman telur inilah burung-burung air liar di kawasan CAPD akan lebih mudah ditangkap untuk dilakukan pengambilan sampel darah dan usap kloaka.

Penangkapan burung dilakukan dengan memasang perangkap pada sarang hunian. Burung yang terjatuh selanjutnya akan diambil sampel darah dan usap kloaka-nya, diberi tanda dan dilepasliarkan kembali ke lokasi yang dekat dengan sarang huniannya.

Pengambilan sampel pada unggas domestik (peliharaan masyarakat) dilakukan dengan terlebih dahulu meminta izin atau kesediaan para pemilik unggas untuk dilakukan pengambilan sampel darah dan usap kloaka. Umumnya para pemilik unggas memberi izin pengambilan sampel pada unggas-unggas yang mereka miliki dengan jumlah terbatas berkisar antara 2-5 ekor saja. Hal ini dilakukan untuk menghindari “stress” pada hewan-hewan peliharaan mereka.

Propagasi Virus pada Telur Ayam Berembrio *Specific Pathogen Free* (TAB-SPF)

Sampel usap kloaka ditumbuhkan pada telur ayam berembrio (TAB) *specific pathogen free* (SPF) umur 9 hari. Setiap 1-4 sampel usap kloaka (masing-masing sebanyak 100 μ l) dikumpulkan (*polling*) menjadi satu berdasarkan jenis burung air liar. Inokulum dibuat dengan mencampur sampel usap kloaka ke dalam tabung yang telah berisi 10 μ l *phosphate buffer saline* (PBS) yang mengandung 2×10^6 U/L penisilin dan 200 mg/L streptomisin. Setelah diinkubasi 30 menit pada suhu kamar, inokulum diinokulasikan pada ruang alantois TAB SPF. Telur diinkubasi pada suhu 37°C dan diamati setiap hari selama 4 hari. Telur ayam berembrio yang mati sebelum hari keempat dan embrio yang masih hidup sampai hari ke empat dipanen cairan alantoisnya untuk diidentifikasi kemampuan mengaglutinasi sel darah merah (SDM) dengan Uji HA dan HI [3].

Pembuatan suspensi RBC 0,5%

Pengujian HA dan HI mikroteknik memerlukan suspensi eritrosit dengan konsentrasi 0,5%. Suspensi eritrosit dengan konsentrasi 0,5% diperoleh melalui: darah ayam diambil melalui *vena brachialis* dengan menggunakan *sprit* dan *needle* diambil sebanyak 3 mL kemudian dimasukkan dalam tabung *venoject* yang telah diisi dengan anti-koagulan EDTA. Darah tersebut disentrifuse selama 5 menit dengan kecepatan 2500 rpm. Supernatan dibuang dan sisa endapannya dicuci dengan menambahkan PBS, kemudian disentrifuse lagi selama 5 menit.

Setelah terjadi endapan kembali, supernatannya dibuang. Pencucian tersebut diulang sampai tiga kali dengan cara yang sama hingga didapatkan suspensi eritrosit 100%. Suspensi eritrosit dengan konsentrasi 0,5% didapatkan dengan menambahkan PBS hingga konsentrasi eritrosit 0,5%.

Inaktivasi Serum

Sampel serum yang telah diperoleh dari lapangan sebelum dianalisa dengan Uji HA dan HI diaktivasi terlebih dahulu pada inkubator atau *waterbath* dengan suhu 56°C selama 30 menit. Tujuan dari aktivasi ini adalah menghilangkan komplemen-komplemen yang akan mengganggu pada saat uji berlangsung dan pembacaan uji.

Uji Hemaglutinasi (HA)

Uji HA dilakukan untuk mendapatkan virus standar 4 HAU. Proses kerja dimulai dengan memasukkan PBS sebanyak 25 μ l ke dalam 12 sumur pada

microplate (*v bottom microplate*), kemudian memasukkan susupensi virus AI subtype H5N1 sebanyak 25 µl ke dalam sumur pertama. Virus dihomogenkan dengan cara menghisap dan mengeluarkan kembali dengan mikropipet minimal 5 kali kemudian dipindahkan ke sumur ke-2. Pengocokan dilakukan kembali sampai sumur ke-12. Selanjutnya pada setiap sumur ditambahkan PBS 25 µl dan 1% suspensi sel darah merah sebanyak 25 µl, inkubasi 20-40 menit. Kemudian diamati titer virusnya.

Uji Hambatan Hemaglutinasi (*Hemagglutination-Inhibition/HI*)

Uji HI dilakukan dengan metode β dan menggunakan antigen berupa virus inaktif H5N1 pada titer 4HAU 25 µl dan sel darah 1%. Sebanyak 25 µl PBS dimasukkan ke dalam setiap sumur *v bottom microplate*, kemudian mencampurkan 25 µl serum uji ke dalam setiap sumur uji, larutan dihomogenkan. Serum yang diencerkan pada sumur pertama dipindahkan pada sumur ke-2 dan dihomogenkan kembali, lalu dipindahkan ke sumur ke-3 dan seterusnya sampai sumur ke-12. Setelah itu ditambahkan 25 µl virus standar (4HAU), lakukan homogenisasi dengan cara mengoyang-goyangkan *microplate* secara perlahan agar semua cairan di dalam *microplate* homogen, inkubasi pada suhu ruang selama 20-40 menit. Setelah itu tambahkan 25 µl suspensi sel darah merah 1% ke dalam setiap sumur uji. Setelah dihomogenisasi *microplate* akan diinkubasi pada suhu ruang selama ± 30 menit, dan diamati titer virusnya.

Evaluasi Titer antibodi terhadap VAI subtype H5N1

Untuk menguji keberadaan virus AI subtype H5N1 pada suatu sampel darah, OIE merekomendasikan dilakukan dengan metode uji hambatan hemaglutinasi (*Hemagglutination Inhibition/HI*) [15]. Evaluasi titer antibodi sampel serum dilakukan pada Laboratorium Imunologi Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan IPB.

Rumus penghitungan rata-rata titer antibody menggunakan perhitungan GMT (*Geometric Mean Titer*). sebagai berikut [15] :

$$\text{Log}_2 \text{ GMT} = \frac{(\text{Log}_2 t_1) (S_1) + (\text{Log}_2 t_2) (S_2) + (\text{Log}_2 t_n) (S_n)}{N} \dots\dots(1)$$

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

Analisa *Cross-Infection* berdasarkan hasil uji Imunoserologi

Analisa *Cross-Infection* dilakukan berdasarkan penghitungan titer antibodi yang dihasilkan dari Uji HA dan HI pada serum darah dan cairan alantois TAB-SPF yang telah berisi kultur VAI subtype H5N1. Pendekatan *Cross-Infection* akan ditentukan dari persentase seroprevalensi dan nilai titer antibodi yang dihasilkan masing-masing unggas di kawasan CAPD.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 294 sampel yang terdiri dari sampel serum darah dan *Cloacal swab* dari seluruh spesies burung air liar dan unggas domestik (peliharaan masyarakat) di kawasan Cagar Alam Pulau Dua dan sekitarnya telah berhasil dikumpulkan. Sampel-sampel tersebut terdiri dari 244 sampel burung air liar dan 50 sampel unggas domestik.

Hasil Uji HA dan HI yang dilakukan pada sampel darah dan usap kloaka burung air liar dan unggas domestik di CAPD menunjukkan adanya pembentukan antibodi akibat paparan virus AI subtype H5N1 di dalam tubuh burung-burung tersebut. Terbentuknya antibodi di dalam tubuh merupakan respon terhadap masuknya antigen.

Antibodi akan langsung dapat mengenali dan mengikat antigen secara spesifik. Antibodi bersifat sangat spesifik dalam mengenali determinan antigenik dari suatu antigen sehingga apabila suatu organisme mempunyai beberapa determinan antigenik, maka tubuh akan memproduksi beberapa antibodi sesuai dengan jenis epitop yang dimiliki oleh setiap mikroorganisme. Antibodi dapat membantu proses perusakan dan pemusnahan antigen [1].

Antibodi dibentuk oleh sel plasma yang berasal dari proliferasi sel β akibat stimulus dari antigen. Antibodi yang telah terbentuk secara spesifik akan mengikat antigen sejenis yang masuk kembali ke dalam tubuh. Mekanisme pembentukan antibodi yang disampaikan oleh Burnet menerangkan bahwa sel yang berperan dalam proses imun, yaitu sel

limfosit hanya dapat mengikat satu antigen atau grup antigen yang berkerabat dekat serupa.

Setiap individu memiliki kumpulan sel-sel limfosit yang berlainan dan dapat bereaksi dengan suatu antigen secara spesifik. Bila antigen masuk ke dalam tubuh maka akan segera diikat oleh reseptor yang sesuai yang terdapat pada permukaan sel limfosit, selanjutnya sel limfosit akan berproliferasi membentuk satu klon. Sebagian dari sel klon akan membentuk antibodi dan sebagian lainnya akan menyebar melalui peredaran darah dan kelenjar limfe ke dalam jaringan tubuh sebagai cadangan sel yang sensitif terhadap antigen tersebut (*memory cell*).

Sel β tertentu akan berdiferensiasi dengan cepat dan mensekresi antibodi yang spesifik terhadap antigen tertentu. Apabila antigen yang sama masuk untuk kedua kalinya ke dalam tubuh, maka antigen akan dikenali oleh sel memori, sehingga mengakibatkan terbentuknya zat anti yang lebih cepat dan lebih banyak [1].

Prevalensi paparan virus AI sub tipe H5N1 tertinggi dijumpai pada ketiga jenis unggas domestik peliharaan masyarakat di sekitar CAPD. Masing-masing jenis unggas yang meliputi ayam (*Gallus gallus*), entok (*Cairina* sp) dan bebek (*Anas* sp) menunjukkan nilai 100%. Pada burung air, spesies yang memiliki prevalensi tinggi adalah cangkak (*Ardea* sp), dengan nilai prevalensi 20% dan yang memiliki prevalensi terendah adalah blekok sawah (*Ardeola speciosa*), pecuk (*Phalacrocorax* sp) dan roko-roko (*Plegadis falcinellus*), masing-masing memiliki nilai prevalensi nol (Gambar 1).

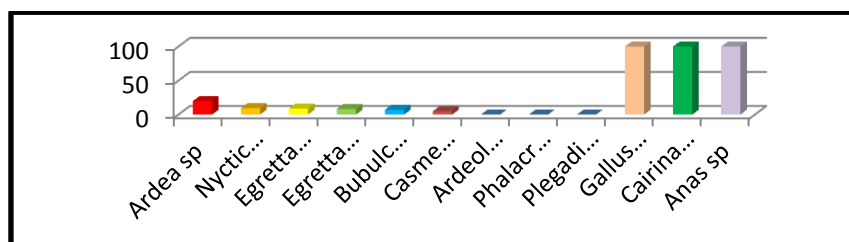
Hasil analisa serologis dengan menggunakan uji HI menunjukkan bahwa nilai seroprevalensi tinggi dijumpai pada unggas domestik yang merupakan peliharaan masyarakat di sekitar kawasan CAPD. Tingginya prevalensi pada unggas-unggas domestik memperlihatkan bahwa seluruh sampel yang diperoleh dari unggas-unggas domestik pernah

terpapar virus AI sub tipe H5N1. Hasil ini sama seperti yang telah dilakukan pada beberapa penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa seroprevalensi pada ayam, itik/bebek dan entok relatif sangat tinggi dibandingkan pada unggas-unggas lainnya [8][16].

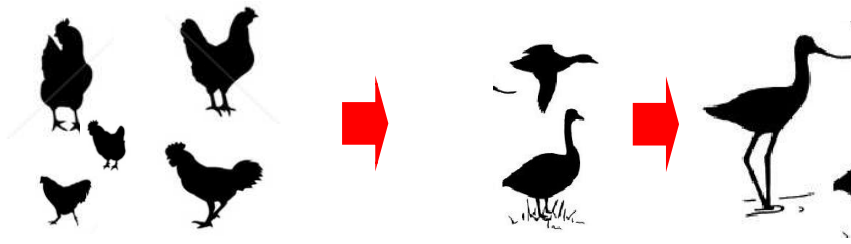
Tingginya seroprevalensi pada unggas-unggas domestik dibandingkan burung air liar menunjukkan bahwa unggas-unggas domestik lebih rentan terhadap paparan atau infeksi virus AI sub tipe H5N1. Unggas domestik dari Ordo Galliformes seperti Kalkun, ayam dan puyuh bukan merupakan reservoir virus influenza A unggas, namun rentan terhadap infeksi virus tersebut. Unggas air dari Ordo Anseriformes juga sangat rentan terhadap virus influenza A. Hasil surveillans yang dilakukan sejumlah peneliti memberikan informasi bahwa anggota dari Ordo Anseriformes, Famili Anatidae lebih mudah terinfeksi VAI sub tipe H5N1 [17].

Unggas domestik di sekitar kawasan CAPD selain memiliki nilai seroprevalensi yang tinggi, juga menunjukkan nilai titer rata-rata (GMT) yang lebih tinggi pula dibandingkan burung air liar. Nilai GMT tertinggi dijumpai pada ayam ($2^{7.7}$), dilanjutkan oleh entok ($2^{6.9}$) dan bebek ($2^{4.6}$). Hasil ini menunjukkan bahwa nilai GMT yang berhasil diperoleh pada unggas domestik berada di atas titer protektif (2^4). Hasil berbeda ditunjukkan oleh burung air liar yang memiliki nilai GMT relatif sangat kecil dan jauh di bawah titer protektif.

Nilai titer antibodi yang tinggi diatas titer protektif (2^4) diduga diperoleh dari sistem pertahanan tubuh yang merespon paparan virus AI secara terus menerus dari lingkungan sehingga menyebabkan unggas tervaksinasi secara natural. Hal ini dikarenakan ketiadaan *biosecurity* pada sistem peternakan *backyard*, sehingga virus AI dapat dengan mudah bertransmisi dari unggas satu ke unggas yang lain melalui kontak langsung maupun tidak langsung.



Gambar 1. Seroprevalensi pembentukan antibodi akibat paparan AI sub tipe H5N1 pada burung air liar dan unggas domestik di CAPD



Gambar 2. Mekanisme penularan virus AI subtipe H5N1 di kawasan CAPD

Rendahnya nilai GMT pada burung-burung air liar menunjukkan bahwa burung-burung air tersebut terpapar virus AI subtipe H5N1 secara sedikit-demi sedikit, sehingga hewan-hewan teraksin secara alamiah. Paparan virus kemungkinan besar terjadi secara tidak langsung atau melalui media perantara yang dapat menyebarkan virus AI tersebut. Nilai GMT pada unggas yang relatif lebih tinggi menunjukkan bahwa di dalam tubuh unggas air membentuk antibodi yang lebih banyak karena virus yang masuk berjumlah lebih besar.

Hasil analisa adanya *cross-infection* berdasarkan imunoserologi pada burung air liar di CAPD dan unggas domestik di sekitar kawasan tersebut menunjukkan bahwa tidak terjadi mekanisme tersebut. Mekanisme *cross-infection* atau infeksi silang antara individu unggas dapat terjadi pada saat terjadi kontak antar unggas baik secara langsung maupun tidak langsung. Adanya *cross-infection* dapat ditandai dengan tingginya prevalensi dan GMT pada burung-burung yang terlibat pada proses penularan virus AI subtipe H5N1 di kawasan tersebut.

Pada kasus yang terjadi di kawasan CAPD terlihat bahwa prevalensi dan nilai GMT mulai dari nilai tertinggi hingga terendah berturut-turut dijumpai pada ayam, entok, itik dan burung air liar. Prevalensi dan nilai GMT yang tinggi menunjukkan adanya kemampuan atau potensi pada unggas tersebut untuk menyebarkan virus AI subtipe H5N1.

Dari hasil penelitian ini dapat diperoleh informasi bahwa penularan atau infeksi hanya terjadi satu arah dari unggas domestik ke burung air liar (Gambar 2). Penularan virus AI subtipe H5N1 dari burung air liar ke unggas domestik tidak dapat terjadi karena burung-burung air liar tidak memiliki potensi untuk menularkan virus AI tersebut pada unggas domestik di sekitar kawasan CAPD.

Virus AI subtipe H5N1 yang terdapat pada ayam dan bebek diduga bukan berasal dari proses penularan di sekitar kawasan tersebut, akan tetapi sudah berada di dalam tubuh unggas sejak masih anakan. Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa pada sebagian telur-telur berembrio dan DOC (*Day old Chicken*) yang dijadikan bibit bagi pengembangan peternakan di Indonesia dijumpai adanya virus AI subtipe H5N1. Penularan pada telur dan DOC disebabkan penularan vertikal yang terjadi dari induk kepada anak maupun kontaminasi pada saat penetasan dan pengangkutan [9] [18].

Penularan secara vertikal dari induk ke anakan diindikasikan pada keberadaan virus AI subtipe H5N1 pada kuning telur dan putih telur yang dihasilkan pada kelompok ayam yang mencapai puncak infeksi AI. Virus diduga menyebabkan telur tidak dapat menetas, telur yang tidak menetas dan pecah dapat menjadi sumber penularan virus AI subtipe H5N1.

DOC yang berasal dari beberapa negara dan dilintaskan melalui Bandara Soekarno Hatta menunjukkan hasil uji HI positif mengandung virus AI subtipe H5N1 dengan prevalensi sebesar 1,73%. Virus AI yang terkandung pada DOC merupakan virus yang hidup dan berpotensi menularkan ke unggas lain dan menyebar di wilayah tujuan pengiriman DOC.

V. KESIMPULAN

Dari hasil penghitungan seroprevalensi dan nilai GMT dapat diperoleh simpulan bahwa mekanisme penularan virus AI subtipe H5N1 di kawasan CAPD dan sekitarnya tidak terjadi secara *cross-infection* atau infeksi silang. Penularan virus AI tersebut hanya satu arah dari unggas domestik (ayam, entok dan bebek) ke burung-burung air liar penetap di CAPD.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini mendapat bantuan dana dari Grant UAI 2013 melalui Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LP2M) UAI berdasarkan Surat Perjanjian Kerja Internal Pelaksanaan RE TA 2013 No. 010/SPK/A-01/UAI/II/2013, untuk itu kami mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya atas kesempatan dan bantuan yang diberikan sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

Terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Prof. Dr. Drh. Retno Soejoedono, M.S., Dr. Drh. Sri Murtini, M.Si., staf dan laboran Laboratorium Terpadu Dept. Ilmu dan Penyakit Hewan serta Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor atas bantuan, bimbingan dan pengarahannya selama analisis sampel di Laboratorium.

Kepada pimpinan dan staf Kantor BKSDA Serang dan jagawana Cagar Alam Pulau Dua (Pak Madsahi dan Pak Umar), terimakasih atas bantuan dan kerjasamanya pada perizinan serta pengambilan sampel serum unggas air (liar dan domestik).

DAFTAR PUSTAKA

- [1] M. Radji. 2006. Avian Influenza A (H5N1): Patogenesis, Pencegahan dan Penyebaran pada Manusia. *Majalah Ilmu Kefarmasian* III(2): 55-65.
- [2] R. Hunt. 2003. Microbiology and Immunology. Online Book. University of South Carolina. [\[12 Oktober 2009\]](#).
- [3] World Health Organization. 2002. *WHO manual on animal influenza Diagnosis and surveillance*. <http://www.who.int/> [12 Oktober 2009].
- [4] A.C. Breed, R.M. Irvine, D. Duncan, D. Rae, L. Snow, A.J.C. Cook, I.H. Brown. 2012. An evaluation of wild bird avian influenza surveillance in Great Britain. *Avian Diseases* 56:986-991.
- [5] P.J. Ferro, O. Khan, M.J. Peterson, D. Batchuluun, S.J. Reddy, B. Lupiani. 2012. Avian influenza virus surveillance in Hunter-Harvested Waterfowl, Texas Coast, September 2009-Januari 2010. *Avian Diseases* 56:1006-1009.
- [6] C.K. Hjulsgaard, S.O. Breum, R. Trebbien, K.J. Hanberg, O.R. Therkildsen, J.J. Madsen, K. Thorup, J. A. Baroch, T.J. DeLiberto, L.E. Larsen, P.H. Jorgensen. 2012. Surveillance for avian influenza viruses in wild birds in Denmark and Greenland, 2007-10. *Avian Dis* 56:992-998.
- [7] D. Muzyka, M. Pantin-Jackwood, E. Spackman, B. Stegny, O. Rula, Shutchenko. 2012. Avian influenza virus wild bird surveillance in the Azov and Black Sea region of Ukraine (2010-2011). *Avian Diseases* 56:1010-1016.
- [8] K.M. Sturm-Ramirez, D.J. Hulse-Post, E.A. Govorkova, J. Humberd, P. Seiler, P. Puthuvanathana, C. Burunathai, T.D. Nguyen, A. Chaisingh, H.T. Long, T.S.P. Naipospos, H. Chen, T.M. Ellis, Y. Guan, J.S.M. Peiris, R.G. Webster. 2005. Are ducks contributing to the endemicity of highly pathogenic H5N1 influenza virus in Asia? *J. Virol* 79: 11269-11279.
- [9] I. Capua, S. Marangon. 2006. Control of avian influenza in poultry. *Emerg. Infect Dis* 12: 1-2.
- [10] H. Chen, G.J.D. Smith, K.S. Li, J. Wang, X.H. Fan, J.M. Rayner, D. Vijaykrishna, J.X. Zhang, L.J. Zhang, C.T. Guo, C.L. Cheung, K.M. Xu, L. Duan, K. Huang, K. Qin, Y.H.C. Leung, W.L. Wu, H.R. Lu, Y. Chen, N.S. Xia, T.S.P. Naipospos, K.Y. Yuen, S.S. Hassan, S. Bahr, T.D. Nguyen, R.G. Webster, J.S.M. Peiris, Y. Guan. 2006. Establishment of multiple sublineages of H5N1 influenza virus in Asia: Implication for pandemic control. *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 2845-2850.
- [11] A. M. Kilpatrick, A.A. Chmura, D.W. Gibbons, R.C. Fleiher, P.P. Marra, P. Daszak. 2006. Predicting the global spread of H5N1 avian influenza. *Proc. Natl Acad Sci USA* 103: 19368-19373.
- [12] G.D.J. Smith, T.S.P. Naipospos, T.D. Nguyen, M.D. Jong, D. Vijaikrishna, T.B. Usman, S.S. Hassan, T.V. Nguyen, T.V. Dao, N. A. Bui, Y.I.L.C. Leung, C.L. Cheung, J.M. Rayner, L.J. Zhang, L.L.M. Poon, K.S. Li, V.C. Nguyen, T.T. Hien, J. Farrar, R.G. Webster, H. Chen, J.S.M. Peiris, Y. Guan. 2006. Evolution and adaptation of H5N1 influenza virus in avian and humans hosts in Indonesia and Vietnam. *Virol* 350: 258-268.
- [13] F. Goutard, J. Roger, J. Guitian, G. Balanc, K. Argaw, A. Demissie, V. Soti, V. Martin, Pfeiffer. 2007. Conceptual framework for Avian Influenza risk assessment in Afrika: The case of Ethiopia. *Avian Dis* 51: 504-506.
- [14] Y. Rusila-Noor, D. Sartono, S. Dana. 2000. Paparan Potensi Dan Nilai Penting Cagar Alam Pulau Dua, Serang sebagai kawasan berbiak burung air. PKA.
- [15] 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].
- [16] R. Susanti, R.D. Soejoedono, I.G.N. Mahardika, I.W.T. Wibawan, M.T. Suhartono. 2008. Identificaton of Pathogenicity of Avian Influenza Virus subtype H5N1 from Waterfowls Based on Amino Acid Sequence of Cleavage Site Hemagglutinin Protein. *Indonesian J. of Biotech* 13 (2): 1069-1077.
- [17] R. Theary, S. San, H. Davun, L. Allal, H. Lu. 2012. New outbreaks of H5N1 highly pathogenic avian influenza in domestic poultry and wild birds in Cambodia in 2011. *Avian Dis* 56:861-864.

- [18] D.J. Hulse-Post, K.M. Sturm-Ramirez, J. Humberd, P. Seiler, E.A. Govorkova, S. Krauss, C. Scholtissek, P. Puthavathana P, C. Buranathai, T.D. Nguyen, H.T. Long, T.S.P. Naipospos, H. Chen, T.M. Ellis, Y. Guan, J.S.M. Peiris, R.G. Webster. 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.