

SIRKULASI VIRUS AVIAN INFLUENZA SUBTIPE H5N1 DI PASAR TRADISIONAL DI JAWA TIMUR TAHUN 2012* [Circulation of the Avian Influenza Virus Subtype H5N1 at Traditional Markets of East Java in 2012]

Risza Hartawan✉ dan NLP Indi Dharmayanti

Balai Besar Penelitian Veteriner, PO Box 151, Jl RE Martadinata 30 Bogor
email: risza.hartawan@litbang.deptan.go.id, rjoss.dvm@gmail.com

ABSTRACT

Avian influenza virus subtype H5N1 outbreak has become endemic in Indonesia since 2003. The disease does not only cause immense economic losses but it also leads to significant fatality of human being. The existence of traditional markets including live bird trading is suspected to play important role in the spreading and evolution of the virus. The objective of this study was to identify the circulation of H5N1 virus at traditional markets of East Java in 2012 by using reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) test and virus isolation. As results, this study detected the presence of the H5N1 virus circulating in Gresik, Mojokerto, Lamongan and Surabaya in both of live birds and environmental samples. The successfulness of virus isolation indicated a potential transmission to other hosts, including to human. This study suggests that the improvement of the poultry trading system at traditional markets by implementing sanitation, hygiene and biosecurity is necessary to reduce the burden of virus contamination at the market environment.

Key words: Avian influenza, H5N1, bird, traditional market, East Java

ABSTRAK

Penyakit avian influenza subtipe H5N1 yang mewabah dan endemik di Indonesia sejak 2003 telah menyebabkan kerugian ekonomi dan korban jiwa manusia yang signifikan. Perdagangan unggas hidup dan produknya di pasar tradisional diduga memainkan peranan penting dalam perkembangan dinamika penyakit avian influenza. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi sirkulasi virus H5N1 di pasar tradisional di Jawa Timur tahun 2012 dengan pendekatan uji reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) dan isolasi virus. Hasil penelitian menunjukkan keberadaan virus H5N1 baik pada unggas hidup maupun sampel lingkungan di Gresik, Mojokerto, Lamongan dan Surabaya. Keberhasilan isolasi virus menunjukkan adanya potensi penularan ke induk semang lainnya termasuk manusia. Studi ini menyarankan bahwa perbaikan tata niaga perdagangan unggas di pasar tradisional sangat penting untuk dilakukan dengan penerapan aspek sanitasi, higien dan biosekuriti untuk mengurangi beban kontaminasi virus di lingkungan pasar.

Kata kunci: Avian influenza, H5N1, unggas, pasar tradisional, Jawa Timur

PENDAHULUAN

Wabah penyakit avian influenza (AI) merupakan ancaman serius terhadap kehidupan masyarakat dimana dampaknya bukan hanya secara ekonomi semata tetapi juga aspek zoonosisnya (Cox dan Uyeki, 2008). Penyakit ini disebabkan oleh kelompok virus influenza A dari famili Orthomyxoviridae (Alexander, 2008). Virus influenza A dibagi menjadi beberapa subtipe berdasarkan kombinasi glikoprotein hemagglutinin (H/HA) dan neuraminidase (N/NA). Diantara 16 jenis HA dan 9 jenis NA yang diidentifikasi pada unggas, subtipe H5 merupakan salah satu yang paling diwaspadai karena kemampuannya dalam menimbulkan wabah pada hewan maupun manusia (OIE, 2012).

Gelombang wabah penyakit virus *highly pathogenic avian influenza* (HPAI) subtipe H5N1 telah menyebar ke berbagai wilayah di kawasan Afro-Eurasia sejak wabah penyakit pertama kali

terdeteksi di Hongkong tahun 1997 (Shortridge, 1999; Sims *et al.*, 2003). Introduksi virus H5N1 ke Indonesia diperkirakan pada tahun 2003 yang kemudian menyebar luas ke sebagian besar wilayah Indonesia (Damayanti *et al.*, 2004; Wiyono *et al.*, 2004). Dinamika 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; Dharmayanti dan Darminto, 2009; Wibawa *et al.*, 2012).

Penyebaran virus HPAI yang sangat cepat dengan cakupan wilayah yang luas menjadi salah satu kendala pengendalian penyakit. Diduga ada peranan burung migrasi dalam penyebaran virus AI melintasi wilayah geografis yang luas (Feare, 2007). Introduksi virus ke dalam ekosistem peternakan telah menyebabkan terjadinya wabah penyakit pada

unggas domestik (Swayne, 2008). Sementara itu, tata niaga perdagangan unggas di negara berkembang seperti Indonesia masih bersifat tradisional dan berpotensi dalam penyebaran wabah penyakit (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 mengidentifikasi sirkulasi virus H5N1 pada beberapa pasar tradisional di Jawa Timur pada tahun 2012 secara molekular melalui uji *reverse transcriptase polymerase chain reaction* (RT-PCR) baik pada sampel unggas hidup maupun sampel lingkungan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan masukan sebagai bahan pertimbangan dalam pengambilan kebijakan pengendalian penyakit AI di Indonesia pada masa mendatang.

BAHAN DAN CARA KERJA

Koleksi sampel lapangan

Pengambilan sampel dilakukan pada pasar tradisional dan tempat penampungan unggas di Jawa Timur, meliputi Gresik, Mojokerto, Lamongan dan Surabaya pada bulan November 2012. Sampel yang diambil adalah serum darah unggas, swab kloaka dan swab lingkungan. Swab unggas sejenis dipool (digabungkan) maksimal untuk 3 ekor. Sampel swab lingkungan diambil pada beberapa titik di lingkungan pasar dimana setidaknya 1 tempat pemotongan unggas dan 1 penjual daging ayam dipilih setiap pasarnya. Pengambilan sampel dilakukan sekali untuk setiap pasar yang dikunjungi dimana jumlah sampel disesuaikan dengan situasi dan kondisi pada saat kunjungan. Sampel swab kloaka dan lingkungan dipreservasi dalam media *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) dengan penambahan antibiotik dan antijamur. Sampel swab disimpan pada refrigerator portable (4°C) untuk dibawa ke Laboratorium Virologi, Balai Besar Penelitian Veteriner, Bogor.

Deteksi antibodi terhadap virus AI subtype H5N1

Pemeriksaan titer antibodi spesifik dengan uji *hemagglutination inhibition* (HI) pada serum darah unggas terhadap virus H5N1 dilakukan sesuai dengan metode standard menggunakan antigen

standard isolat A/Ck/WestJava/PWT-WIJ/2006 (OIE, 2012).

Uji RT-PCR untuk identifikasi virus AI subtype H5N1

1. Set primer untuk amplifikasi gen H5

Identifikasi virus AI dengan cara mengamplifikasi gen H5 melalui uji RT-PCR menggunakan set primer spesifik sesuai dengan penelitian Lee *et al.* (2001). Set primer terdiri atas *forward* H5-155f (5'-ACACATGCYCARGACATACT-3') dan *reverse* H5-699r (5'-CTYTGRTTYAGTGTTGATGT-3') dengan ukuran produk amplifikasi sekitar 545 bp.

2. Isolasi RNA virus AI subtype H5N1

Isolasi materi genetik virus AI pada sampel lapangan dilakukan dengan menggunakan kit komersial QIAamp[®] Viral Mini Kit (Qiagen) metode *spin column* sesuai dengan prosedur dari penyedia kit. Hasil ekstraksi RNA disimpan pada *freezer* -20°C untuk analisis RT-PCR lebih lanjut.

3. Uji RT-PCR untuk amplifikasi gen H5

Amplifikasi gen H5 dilakukan melalui uji RT-PCR pada mesin thermal cycler AB9700 menggunakan kit komersial SuperScript[®] III one step RT-PCR system with Platinum[®] taq DNA polymerase (Invitrogen) (Dharmayanti *et al.*, 2004). Komposisi *reagent* untuk total volume 25 µl mengandung 2X reaction mix sebanyak 12,5 µl; masing-masing primer *forward* dan *reverse* (20 pmol/µl) sebanyak 1 µl; SuperScript[®] III RT/Platinum[®] Taq Mix sebanyak 0,5 µl dan templat RNA sebanyak 10 µl. Tahapan awal uji RT-PCR meliputi *reverse transcriptase* pada suhu 42°C selama 45 menit dan inaktivasi enzim pada suhu 95°C selama 3 menit. Amplifikasi dilakukan sebanyak 35 siklus yang terdiri atas denaturasi (95°C, 30 detik), *annealing* (55°C, 40 detik) dan ekstensi (72°C, 40 detik). *Final elongation* dilakukan pada suhu 72°C selama 10 menit. Selanjutnya amplicon divisualisasi dengan elektroforesis (100 Volts/30 menit) pada gel agarose 2%.

Isolasi virus AI subtype H5N1 pada telur ayam bertunas

Isolasi virus dilakukan pada sampel yang positif uji RT-PCR dengan cara inokulasi pada telur ayam bertunas (TAB) *specific pathogenic free* beru-

mur 9-11 hari (Woolcock, 2008). Inokulum terlebih dahulu disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 15 menit untuk memisahkan kotoran dengan supernatan. Selanjutnya, supernatan sebanyak 0,1-0,2 ml disuntikkan ke TAB melalui ruang allantois. Selanjutnya TAB diinkubasi pada suhu 37°C dengan pengamatan setiap hari selama 4 hari. TAB dengan embryo mati segera disimpan pada refrigerator 4°C sedangkan TAB dengan embryo hidup sampai hari terakhir dibunuh dengan cara ditempatkan pada suhu 4°C semalaman. Skrining awal dilakukan dengan melihat aktivitas hemagglutinasikan cairan allantois pada RBC ayam 10%. Cairan allantois positif hemagglutinasikan kemudian dikonfirmasi ulang dengan uji RT-PCR untuk kemudian disimpan pada freezer -20°C.

HASIL

Karakteristik pedagang unggas hidup di pasar tradisional di Jawa Timur

Komunitas pedagang unggas hidup pada umumnya menempati lokasi khusus di lingkungan pasar tradisional. Beberapa pedagang memiliki lapak permanen dan berjualan sepanjang hari (Gambar 1). Namun ada pedagang yang berjualan hanya dengan fasilitas sederhana seperti keranjang yang disatukan dengan alat transportasi (Gambar 1). Pedagang tipe ini berpindah-pindah dari satu pasar ke pasar lainnya. Ada juga pengepul unggas yang berperan dalam mengalirkan unggas hidup dari daerah pinggiran atau pedesaan ke pasar-pasar di perkotaan

Koleksi sampel lapangan

Pengambilan sampel lapangan pada pasar tradisional di Gresik, Mojokerto, Lamongan dan Su-



Gambar 1. Dokumentasi pengambilan sampel lapangan pada pasar tradisional di Jawa Timur 2012 (*the documentation of field sampling at the traditional markets of East Java in 2012*). (A-B-C) Gresik; (D-E-F) Mojokerto; (G-H-I) Lamongan; (J-K-L) Surabaya

rabaya pada bulan November 2012 menghasilkan total serum darah sebanyak 178 sampel (Tabel 1), total sampel swab kloaka sebanyak 61 pool (Tabel 2) dan swab lingkungan sebanyak 81 sampel (Tabel 3).

Titer antibodi sampel serum darah terhadap virus AI subtipe H5N1

Hasil uji HI (*hemagglutination inhibition*) menunjukkan bahwa sebagian besar serum tidak menunjukkan adanya titer antibodi, yang diwakili sebanyak 89,88% (Tabel 1) yang meliputi jenis ayam kampung, ayam arab, ayam pedaging dan bebek (*Anas domestica*). Jenis ayam petelur afkir menunjukkan sebaran titer antibodi yang beragam (Tabel 1) mulai dari tidak ada titer, titer rendah (<4 log₂), titer

menengah (4-7 log₂) sampai titer tinggi (>7 log₂). Sementara itu, jenis entok (*Cairina moschata*) juga menunjukkan adanya titer antibodi namun hanya sampai dengan tingkat menengah.

Identifikasi dan isolasi virus AI subtipe H5N1 pada sampel pasar tradisional

Uji RT-PCR mendeteksi adanya virus AI sampel dari jenis entok dan ayam kampung walaupun dengan presentase yang rendah yaitu sebesar 6,56% (Tabel 2). Uji RT-PCR juga mendeteksi adanya kontaminasi virus AI pada lingkungan pasar tradisional sebesar 17,28% dimana tempat pemotongan unggas maupun lapak penjualan daging ayam menunjukkan persentase tingkat kontaminasi virus AI yang sama

Tabel 1. Sebaran titer antibodi terhadap virus AI subtipe H5N1 pada sampel serum darah unggas yang berasal dari Jawa Timur 2012 (*The level of antibody titer for AI virus subtype H5N1 in the bird sera collected from East Java in 2012*).

Kabupaten atau kota (district)	Kode pasar (market code)	Jenis unggas (poultry species)	Jumlah serum (number of serum)	Titer antibodi dalam log 2 terhadap virus H5N1 (the titer of antibody in log 2 for H5N1 virus)										
				-ve	1	2	3	4	5	6	7	8	≥9	
Gresik	BP	Ayam pedaging (<i>broiler</i>)	9	9										
		Ayam kampung (<i>native chicken</i>)	9	9										
		Ayam petekur afkir (<i>culled layer</i>)	3	1					2					
		Entok (<i>muscovy duck</i>)	1	1										
	TPU BP	Ayam pedaging (<i>broiler</i>)	15	15										
		Ayam kampung (<i>native chicken</i>)	6	6										
Mojokerto	MJ1	Ayam kampung (<i>native chicken</i>)	12	12										
		Ayam petekur afkir (<i>culled layer</i>)	3	1					1		1			
	MJ2	Ayam kampung (<i>native chicken</i>)	6	6										
		Ayam petekur afkir (<i>culled layer</i>)	3			1		1	1					
		Ayam arab (<i>arabic chicken</i>)	3	3										
		Entok (<i>muscovy duck</i>)	9	9										
	Bebek (<i>duck</i>)	6	6											
Lamongan	LM	Ayam kampung (<i>native chicken</i>)	12	12										
		Entok (<i>muscovy duck</i>)	6	3		1					2			
		Bebek (<i>duck</i>)	16	16										
	TPU LM	Ayam kampung (<i>native chicken</i>)	14	14										
		Entok (<i>muscovy duck</i>)	3	3										
		Bebek (<i>duck</i>)	6	6										
Surabaya	SB	Ayam kampung (<i>native chicken</i>)	10	10										
		Ayam petekur afkir (<i>culled layer</i>)	8	1				1	1	2	2	1		
		Entok (<i>muscovy duck</i>)	3	2		1								
		Bebek (<i>duck</i>)	3	3										
	TPU SB	Ayam pedaging (<i>broiler</i>)	12	12										

Tabel 2. Identifikasi dan isolasi virus AI subtipe H5N1 dari sampel unggas hidup di Jawa Timur 2012 (*The identification and isolation of AI virus subtype H5N1 of the live bird samples collected from East Java in 2012*).

Kabupaten atau kota (district)	Kode pasar (market code)	Jenis unggas (poultry species)	Jumlah pool (number of pool)	Positif RT-PCR (positive for RT-PCR)	Positif isolasi virus (positive for virus isolation)
Gresik	BP	Ayam pedaging (<i>broiler</i>)	3		
		Ayam kampung (<i>native chicken</i>)	4	1	1
		Ayam petekur afkir (<i>culled layer</i>)	1		
		Entok (<i>muscovy duck</i>)	1	1	
	TPU BP	Ayam pedaging (<i>broiler</i>)	5		
		Ayam kampung (<i>native chicken</i>)	2		
Mojokerto	MJ1	Ayam kampung (<i>native chicken</i>)	4		
		Ayam petekur afkir (<i>culled layer</i>)	1		
	MJ2	Ayam kampung (<i>native chicken</i>)	1		
		Ayam petekur afkir (<i>culled layer</i>)	1		
		Ayam arab (<i>arabic chicken</i>)	1		
		Entok (<i>muscovy duck</i>)	3		
Lamongan	LM	Ayam kampung (<i>native chicken</i>)	4		
		Entok (<i>muscovy duck</i>)	2		
		Bebek (<i>duck</i>)	5		
	TPU LM	Ayam kampung (<i>native chicken</i>)	6		
		Entok (<i>muscovy duck</i>)	1	1	1
		Bebek (<i>duck</i>)	2		
Surabaya	SB	Ayam kampung (<i>native chicken</i>)	3		
		Ayam petekur afkir (<i>culled layer</i>)	3		
		Entok (<i>muscovy duck</i>)	1	1	1
		Bebek (<i>duck</i>)	1		
	TPU SB	Ayam pedaging (<i>broiler</i>)	4		

yaitu 8,64% (Tabel 3). Beberapa sampel yang menunjukkan hasil positif pada uji RT-PCR yang spesifik terhadap gen H5 diperlihatkan pada Gambar 2. Isolasi virus memperlihatkan adanya perbedaan viabilitas yang besar diantara swab kloaka dan lingkungan. Sebanyak 3 isolat virus berhasil ditumbuhkan dari 4 sampel swab kloaka (75%) yang positif uji RT-PCR (Tabel 2). Sementara itu, hanya 2 dari 14 sampel lingkungan (14,28%) yang dapat ditumbuhkan (Tabel 3).

PEMBAHASAN

Pasar tradisional merupakan elemen perekonomian penting dalam kehidupan bermasyarakat. Perdagangan unggas hidup dan produk-

produknya di pasar tradisional masih merupakan pilihan utama bagi sebagian besar masyarakat di Indonesia karena pertimbangan harganya yang lebih murah dibanding dengan di Swalayan karena adanya proses tawar-menawar. Namun interaksi yang intensif antara manusia dan hewan memunculkan potensi penularan berbagai macam penyakit zoonosis termasuk AI (Webster, 2004). Beberapa penelitian mengindikasikan adanya kasus AI manusia yang bersumber dari pasar tradisional (Dharmayanti *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2006).

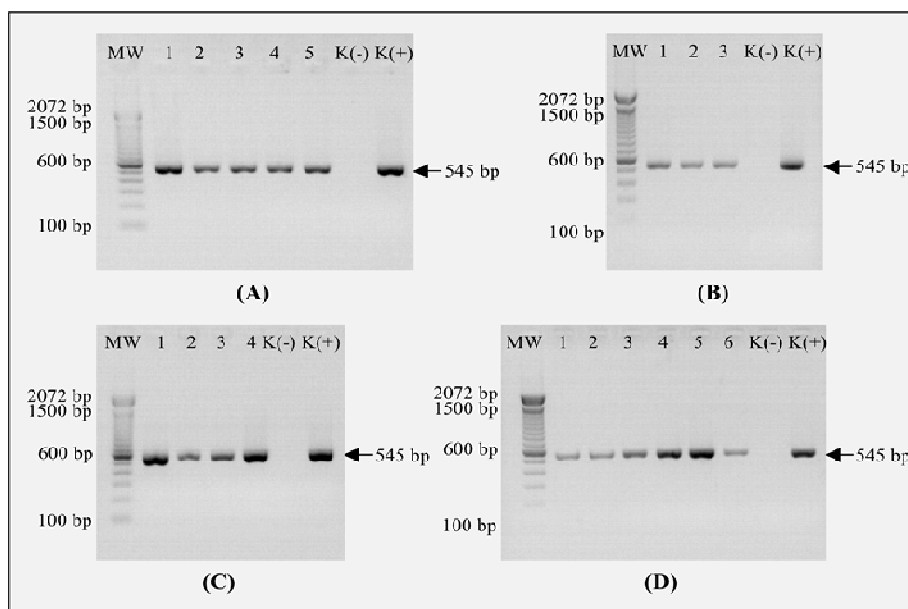
Kondisi tata niaga perdagangan unggas sangatlah kompleks sehingga sulit untuk menjamin unggas yang masuk ke pasar bebas penyakit. Hasil analisa uji HI pada sampel serum menunjukkan adanya be-

Tabel 3. Identifikasi dan isolasi virus AI subtipe H5N1 dari sampel lingkungan pasar tradisional di Jawa Timur 2012 (*The identification and isolation of AI virus subtype H5N1 of the market environmental samples collected from East Java in 2012*).

Kabupaten atau kota (district)	Kode pasar (market code)	Lokasi pengambilan sampel (site of field sampling)	Jenis sampel lingkungan (type of environmental sample)	Jumlah (number of sample)	Positif RT-PCR (positive for RT-PCR)	Positif isolasi virus (positive for virus isolation)	
Gresik	BP	Tempat potong unggas (bird slaughterhouse)	Kandang penampungan (bird cage)	1			
			Lantai potong (floor of slaughter)	1			
			Mesin cabut bulu (defeathering machine)	1			
			Pisau (knife)	1			
			Kain lap (wet cloth)	1			
			Penampungan daging (meat basket)	1			
			Penjual daging ayam (chicken meat seller)	Permukaan meja (table surface)	2		
				Talenan (chopping board)	2	1	
				Pisau (knife)	2	1	
				Kain lap (wet cloth)	2	1	
	TPU BP	Tempat potong unggas (bird slaughterhouse)	Kandang penampungan (bird cage)	1			
			Lantai potong (floor of slaughter)	1			
			Mesin cabut bulu (defeathering machine)	1			
			Pisau (knife)	1			
			Penampungan daging (meat basket)	1			
			Truk pengangkut ayam (chicken delivery truck)	1			
Mojokerto	MJ1	Tempat potong unggas (bird slaughterhouse)	Lantai potong (floor of slaughter)	1			
			Mesin cabut bulu (defeathering machine)	1			
			Penampungan daging (meat basket)	1			
			Pisau (knife)	1			
			Talenan (chopping board)	1			
			Tempat sampah (waste bin)	1			
			Penjual daging ayam (chicken meat seller)	Permukaan meja (table surface)	1		
				Mesin cabut bulu (defeathering machine)	1		
				Pisau (knife)	1		
				Kain lap (wet cloth)	1		
	MJ2	Tempat potong unggas (bird slaughterhouse)	Timbangan (scale)	1			
			Lantai potong (floor of slaughter)	1			
			Bak pemotongan (site of slaughter)	1	1		
			Mesin cabut bulu (defeathering machine)	1			
			Penampungan daging (meat basket)	1			
			Pisau (knife)	1	1		
			Talenan (chopping board)	1	1		
			Penjual daging ayam (chicken meat seller)	Permukaan meja (table surface)	1		
				Talenan (chopping board)	1		
				Pisau (knife)	1		
Kain lap (wet cloth)	1						
Lamongan	LM	Tempat potong unggas (bird slaughterhouse)	Timbangan (scale)	1			
			Lantai potong (floor of slaughter)	2			
			Mesin cabut bulu (defeathering machine)	1	1	1	
			Pisau (knife)	1			
			Penampungan daging (meat basket)	1			
			Penjual daging ayam (chicken meat seller)	Permukaan meja (table surface)	2		
				Talenan (chopping board)	2		
				Pisau (knife)	2	1	
				Kain lap (wet cloth)	2		
					Timbangan (scale)	2	1

Tabel 3. Identifikasi dan isolasi virus AI subtipe H5N1 dari sampel lingkungan pasar tradisional di Jawa Timur 2012 (*The identification and isolation of AI virus subtype H5N1 of the market environmental samples collected from East Java in 2012*). (lanjutan/continued)

Kabupaten atau kota (district)	Kode pasar (market code)	Lokasi pengambilan sampel (site of field sampling)	Jenis sampel lingkungan (type of environmental sample)	Jumlah (number of sample)	Positif RT-PCR (positive for RT-PCR)	Positif isolasi virus (positive for virus isolation)	
Surabaya	SB	Tempat potong unggas (bird slaughterhouse)	Lantai potong (floor of slaughter)	1			
			Mesin cabut bulu (defeathering machine)	1			
			Pisau (knife)	1			
			Talenan (chopping board)	1			
			Penampungan daging (meat basket)	1	1	1	
			Permukaan meja (table surface)	1	1		
			Talenan (chopping board)	1			
			Pisau (knife)	1			
			Kain lap (wet cloth)	1			
			Timbangan (scale)	1			
	TPU SB	Tempat potong unggas (bird slaughterhouse)	Lantai potong (floor of slaughter)	1	1		
			Mesin cabut bulu (defeathering machine)	1	1		
			Penampungan daging (meat basket)	1			
			Keranjang pengangkutan (delivery basket)	1			
			Pisau (knife)	1			
			Truk pengangkut ayam (chicken delivery truck)	1			
			Tempat penjualan daging ayam (site for chicken meat selling)	Lantai jualan (floor of meat selling)	1		
				Talenan (chopping board)	1		
				Pisau (knife)	1	1	
				Kain lap (wet cloth)	1		
		Penampungan daging (meat basket)	1				
		Freezer	1				



Gambar 2. Dokumentasi sampel positif uji RT-PCR pada sampel pasar di Jawa Timur 2012 (*The documentation of several samples collected from the traditional markets of East Java in 2012 that were positive for RT-PCR test*). (A) Gresik; (B) Mojokerto; (C) Lamongan; (D) Surabaya. MW: penanda molekuler (molecular weight) 100 bp. K(-) dan K(+): kontrol negatif dan positif (negative and positive control).

berapa unggas dari jenis ayam petelur afkir dan entok yang memiliki titer antibodi terhadap virus AI. Titer antibodi pada ayam petelur afkir diduga berasal dari vaksinasi, sedangkan pada entok kemungkinan berasal dari infeksi alam karena vaksinasi tidak lazim dilakukan pada entok. Entok juga merupakan unggas air yang diduga berperan sebagai *reversoir* virus AI di alam. Meskipun beberapa unggas mempunyai titer antibodi protektif namun bukan merupakan jaminan bebas AI. Hasil penelitian menunjukkan titer antibodi 3,44-4,14 log₂ pada ayam petelur mampu memberikan proteksi hingga 90% (Indriani *et al.*, 2005). Namun beberapa strain virus AI kemungkinan masih mampu menginfeksi unggas dengan titer antibodi tinggi sehingga penyebaran virus ke lingkungan tidak bisa dihindari.

Hasil uji RT-PCR pada sampel pasar menunjukkan adanya beberapa sampel yang positif mengandung virus AI baik sampel unggas hidup maupun sampel lingkungan. Kontaminasi virus pada lingkungan pasar diduga berasal dari aktivitas pemotongan unggas (Indriani *et al.*, 2010). Penyebaran ke area lainnya mungkin terjadi melalui produk unggas dan/atau peralatan yang tercemar (Samaan *et al.*, 2011). Sebenarnya virus AI dapat terinaktivasi oleh pengaruh fisik seperti suhu, UV dan derajat keasaman (Zou *et al.*, 2013). Virus AI terinaktivasi pada paparan suhu 56°C selama 30 menit, suhu 65°C selama 10 menit atau pada suhu tinggi (70-100°C) selama 1 menit. Virus AI terinaktivasi sempurna jika terpapar UV sekurang-kurang 30 menit. Virus AI masih infeksius selama 24 jam pada pH 4-12, namun virus menjadi inaktif pada paparan pH <2 selama setengah jam. Pemakaian chlorine efektif dalam menginaktivasi virus AI H5N1 (Rice *et al.*, 2007). Namun pemakaian desinfektan lain dengan bahan kimia dan konsentrasi yang berbeda menunjukkan perbedaan efektivitas dalam inaktivasi virus (Alphin *et al.*, 2009).

Salah satu fenomena yang ditemukan adalah keberhasilan isolasi virus AI dari mesin cabut bulu karena sebelum unggas yang sudah disembelih mengalami proses cabut bulu terlebih dahulu melalui

pencelupan pada air hangat atau panas. Menurut SNI 01-3924-1995, perendaman dilakukan pada suhu 52-60°C selama 3-5 menit. Namun tidak ada kontrol yang ketat pada pasar tradisional sehingga diperkirakan dilakukan lebih lama pada suhu yang lebih panas. Menurut Zou *et al.* (2013) virus AI mampu bertahan pada suhu 56°C selama 15 menit ataupun suhu 60°C selama 5 menit. Oleh karena itu, virus AI mungkin saja masih mampu bertahan pada saat proses perendaman. Sebagai konsekuensinya apabila unggas terinfeksi virus AI maka peralatan, karkas maupun sampah termasuk bulu akan menjadi faktor resiko pencemaran virus ke lingkungan. Bulu diketahui berperan sebagai sumber infeksi dimana virus H5N1 pada bulu yang sudah tercabut masih tetap infeksius selama 15 hari pada suhu 20°C (Yamamoto *et al.*, 2008; 2010).

Peranan pasar unggas tradisional mungkin tidak hanya terbatas sebagai sumber penularan virus AI semata. Ekosistem pasar tradisional ternyata memberikan kondisi ideal untuk terjadinya proses *reassortment* beberapa strain virus influenza menjadi strain baru. Meskipun keberadaan babi sebagai *intermediate host* untuk terjadinya mixing virus influenza strain *avian* dan *human* hanya ditemukan terbatas di daerah tertentu saja, proses reassortant masih mungkin terjadi pada induk semang lainnya. Lam *et al.* (2008) mengidentifikasi kemungkinan adanya virus H5N1 *reassortant* di Indonesia yang berasal dari unggas, kucing dan manusia. Oleh karena proses *reassortant* bisa terjadi pada kedelapan segmen gen, maka diperlukan sumber daya yang sangat besar untuk melakukan sekuensing keseluruhan genom isolat virus AI untuk mendeteksi ada tidaknya virus-*virus reassortant*.

Mengingat peran penting pasar tradisional dalam perkembangan dinamika penyakit maka perbaikan dan restrukturisasi sangat penting dan mendesak untuk dilakukan. Program penutupan pasar secara berkala disertai dengan program pembersihan dan desinfeksi ternyata efektif dalam meminimalisir dan mengeleminasi virus AI (Bulaga *et al.*, 2003; Trock *et al.*, 2008). Perbaikan infrastruktur dan manajemen

pasar perlu melibatkan seluruh stakeholders yang terlibat seperti pemerintah, pengelola pasar, petugas kebersihan, para pedagang dan anggota masyarakat. Menurut Samaan *et al.* (2012) perbaikan pasar tradisional perlu disertai adanya advokasi, konsultasi dan edukasi secara berkala dan terus-menerus untuk mendorong terjadinya perubahan sikap dan budaya para stakeholder pasar untuk mengadopsi prinsip-prinsip sanitasi, higien dan biosekuriti dalam rangka mencegah penularan penyakit zoonosis.

KESIMPULAN

Perdagangan unggas hidup dan produknya pada pasar tradisional memegang peranan penting dalam dinamika dan penyebaran penyakit AI subtipe H5N1 sekaligus sebagai sumber penularan zoonosis. Surveilans penyakit AI pada pasar tradisional hendaknya dilakukan pada sampel unggas hidup maupun lingkungan. Penelitian mendatang sebaiknya menerapkan sistem surveilans *sentinel* dengan melibatkan lebih banyak pasar tradisional yang disampling sehingga mampu memberikan gambaran dinamika penyakit AI subtipe H5N1 secara lebih luas dari waktu ke waktu. Karakterisasi molekuler seluruh genom virus AI yang berasal dari pasar tradisional penting untuk dilakukan untuk mengidentifikasi peluang kemungkinan terjadinya *reassortant* virus influenza. Selanjutnya, program perbaikan pasar tradisional dalam rangka mencegah penularan penyakit zoonosis harus melibatkan partisipasi seluruh stakeholders yang terlibat disertai dengan pendampingan yang memadai secara berkelanjutan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian terintegrasi dari skema kerjasama penelitian penyakit avian influenza tahun 2012 antara Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian dengan Balai Besar Penelitian Veteriner. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Nana Suryana, Teguh Suyatno dan Ace Endang Supriatna atas bantuan teknisnya selama penelitian. Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada Dinas Peternakan Kabupaten Gresik, Mojokerto,

Lamongan dan Surabaya atas bantuannya untuk kegiatan lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander DJ. 2008. Orthomyxoviridae - Avian Influenza. *In: Poultry Diseases*. 6th ed. P Mark, FM Paul, MB Janet and A Dennis (Eds), 317-332. W.B. Saunders. Edinburgh.
- Alphin RL, KJ Johnson, BS Ladman and ER Benson. 2009. Inactivation of Avian Influenza Virus using Four Common Chemicals and One Detergent. *Poultry Science* **88**, 1181-1185.
- Bulaga LL, L Garber, DA Senne, TJ Myers, R Good, S Wainwright, S Trock and DL Suarez. 2003. Epidemiologic and Surveillance Studies on Avian Influenza in Live-Bird Markets in New York and New Jersey, 2001. *Avian Diseases* **47**, 996-1001.
- Cox NJ and T Uyeki. 2008. Public Health Implications of Avian Influenza Viruses. *In: Avian Influenza*. DE Swayne (Ed), 453-483. Blackwell Publishing. Iowa.
- Damayanti R, NLPI Dharmayanti, R Indriani, A Wiyono dan Darminto. 2004. Deteksi Virus Avian Influenza Subtipe H5N1 pada Organ Ayam yang Terserang Flu Burung Sangat Patogenik di Jawa Timur dan Jawa Barat dengan Teknik Tmunohistokimia. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* **9**, 202-208.
- Dharmayanti NLPI. 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 NLPI. 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.
- Dharmayanti NLPI, R Damayanti, A Wiyono dan R Indriani. 2004. Identifikasi Virus Avian Influenza Isolat Indonesia dengan Reserve Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR). *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* **9**, 136-142.
- Dharmayanti NLPI dan Darminto. 2009. Mutasi Virus AI di Indonesia: Antigenic Drift Protein Hemagglutinin (HA) Virus Influenza H5N1 Tahun 2003-2006. *Media Kedokteran Indonesia* **25**, 1-8.
- Dharmayanti NLPI, R Hartawan, DA Hewajuli, Hardiman, H Wibawa dan Pudjiatmoko. 2013. Karakteristik Molekuler dan Patogenesis Virus H5N1 Clade 2.3.2 Asal Indonesia. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* **18**, 99-113.
- Dharmayanti NLPI, A Ratnawati, DA Hewajuli and R Indriani. 2014. Genetic Characterization of H5N1 Avian Influenza Viruses Isolated from Pet Bird and Chickens from Live Bird Market in Bali and Bekasi (Indonesia), 2011. *African Journal of Microbiology Research* **8**, 244-251.
- Feare CJ. 2007. The Role of Wild Birds in The Spread of HPAI H5N1. *Avian Diseases* **51**, 440-447.
- Indriani R, NLPI Dharmayanti, T Syafriati, A Wiyono dan RMA Adjid. 2005. Pengembangan Prototipe Vaksin Inaktif Avian Influenza H5N1 Isolat Lokal dan Aplikasinya pada Hewan Coba di Tingkat Laboratorium. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* **10**, 315-321.
- Indriani R, G Samaan, A Gultom, L Loth, S Indryani, RMA Adjid, NLPI Dharmayanti, J Weaver, E Mumford, K Lokuge, PM Kelly and Darminto. 2010. Environmental Sampling for Avian Influenza Virus A (H5N1) in Live-Bird Markets, Indonesia. *Emerging Infectious Diseases* **16**, 1889-1895.
- Lam TTY, CC Hon, OG Pybus, SL Kosakovsky Pond, RTY Wong, CW Yip, F Zeng and FCC Leung. 2008. Evolu-

- tionary and Transmission Dynamics of Reassortant H5N1 Influenza Virus in Indonesia. *PLoS Pathogens* **4**, e1000130.
- Lee MS, PC Chang, JH Shien, MC Cheng and HK Shieh. 2001.** Identification and Subtyping of Avian Influenza Viruses by Reverse Transcription-PCR. *Journal of Virological Methods* **97**, 13-22.
- [OIE] Office International des Epizooties. 2012.** *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (Mammals, Birds and Bees)*. 7th ed. World Organization for Animal Health, Paris.
- Rice EW, NJ Adcock, M Sivaganesan, JD Brown, DE Stallknecht and DE Swayne. 2007.** Chlorine Inactivation of Highly Pathogenic Avian Influenza (H5N1) Virus. *Emerging Infectious Diseases* **13**, 1568-1570.
- Samaan G, A Gultom, R Indriani, K Lokuge and PM Kelly. 2011.** Critical Control Points for Avian Influenza A H5N1 in Live Bird Markets in Low Resource Settings. *Preventive Veterinary Medicine* **100**, 71-78.
- Samaan G, F Hendrawati, T Taylor, T Pitona, D Marmansari, R Rahman, K Lokuge and PM Kelly. 2012.** Application of a Healthy Food Markets Guide to Two Indonesian Markets to Reduce Transmission of "Avian Flu". *Bulletin of The World Health Organization* **90**, 295-300.
- Shortridge KF. 1999.** Poultry and The Influenza H5N1 Outbreak in Hong Kong, 1997: Abridged Chronology and Virus Isolation. *Vaccine* **17**, S26-S29.
- Sims LD, TM Ellis, KK Liu, K Dyrting, H Wong, M Peiris M, Y Guan and Shortridge. 2003.** Avian Influenza in Hong Kong 1997-2002. *Avian Diseases* **47**, 832-838.
- Suartha IN, IMS Antara, IKS Wiryana, IM Sukada, IW Wirata, NMRK Dewi and IGKN Mahardika. 2010.** Peranan Pedagang Unggas dalam Penyebaran Virus Avian Influenza. *Jurnal Veteriner* **11**, 220-225.
- Swayne DE. 2008.** Epidemiology of Avian Influenza in Agricultural and Other Man-Made Systems. In: *Avian Influenza*. DE Swayne (Ed), 59-85. Blackwell Publishing. Iowa.
- Trock SC, M Gaeta, A Gonzalez, JC Pederson and DA Senne. 2008.** Evaluation of Routine Depopulation, Cleaning, and Disinfection Procedures in The Live Bird Markets, New York. *Avian Diseases* **52**, 160-162.
- Wang M, B Di, DH Zhou, BJ Zheng, H Jing, YP Lin, YF Liu, XW Wu, PZ Qin, YL Wang, LY Jian, XZ Li, JX Xu, EJ Lu, TG Li and J Xu. 2006.** Food Markets with Live Birds as Source of Avian Influenza. *Emerging Infectious Diseases* **12**, 1773-1775.
- Webster RG. 2004.** Wet Market - A Continuing Source of Severe Acute Respiratory Syndrome and Influenza? *The Lancet* **36**, 234-236.
- Wibawa H, WB Prijono, NLPI Dharmayanti, SH Irianingsih, Y Miswati, A Rohmah, E Andesyha, Romlah, RSD Daulay dan K Safitria. 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.
- Wiyono A, R Indriani, NLPI Dharmayanti, R Damayanti dan Darminto. 2004.** Isolasi dan Karakterisasi Virus Highly Pathogenic Avian Influenza Subtipe H5 dari Ayam asal Wabah di Indonesia. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* **9**, 61-71.
- Woolcock PR. 2008.** Avian Influenza Virus Isolation and Propagation in Chicken Eggs. In: *Avian Influenza Virus*. E Spackman (Ed), 35-46. Humana Press. Athens.
- Yamamoto Y, K Nakamura, M Okamoto, M Yamada and M Mase. 2008.** Avian Influenza Virus (H5N1) Replication in Feathers of Domestic Waterfowl. *Emerging Infectious Diseases* **14**, 149-151.
- Yamamoto Y, K Nakamura, M Yamada and M Mase. 2010.** Persistence of Avian Influenza Virus (H5N1) in Feathers Detached from Bodies of Infected Domestic Ducks. *Applied and Environmental Microbiology* **76**, 5496-5499.
- Zou S, J Guo, R Gao, L Dong, J Zhou, Y Zhang, J Dong, H Bo, K Qin, Y Shu. 2013.** Inactivation of The Novel Avian Influenza A (H7N9) Virus under Physical Conditions or Chemical Agents Treatment. *Virology Journal* **10**, 289.