

SKRIPSI

DETEKSI VIRUS AVIAN INFLUENZA STRAIN H5 PADA AYAM BURAS DARI BEBERAPA PASAR DI KOTA SURABAYA

KY 45.33

Ch
d



Oleh :

NUR CHASANAH
KEDIRI - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2005**

**DETEKSI VIRUS *AVIAN INFLUENZA* STRAIN H5 PADA AYAM
BURAS DARI BEBERAPA PASAR DI KOTA
SURABAYA**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

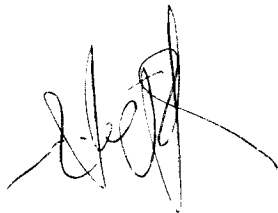
Oleh

NUR CHASANAH

060012741

Menyetujui,

Komisi Pembimbing



(Dr. A.T. Soelih Estoepangestie, Drh.)

Pembimbing pertama



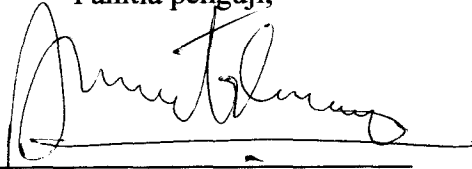
(Drh. Thomas V. Widiyatno, M.Si)

Pembimbing kedua

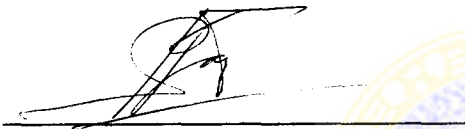
Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar **SARJANA KEDOKTERAN HEWAN**

Menyetujui

Panitia penguji,




Dr. Harjo Puntodewo, S.M. App. Sc., Drh
Ketua



Drh. Dadik Rahardjo, M. Kes.

Sekretaris




Dr. A.T. Soelih Estoepangestie, Drh.

Anggota



Drh. Jola Rahmahani, M. Kes.

Anggota

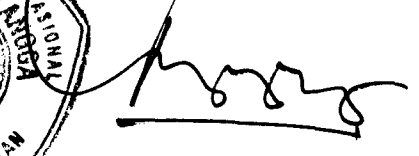


Drh. Thomas V. Widiyatno, M. Si.

Anggota

Surabaya, (29 Juni 2005)

Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga
Dekan,



Prof. Dr. Ismudiono, M.S., Drh.

NIP. 130 687 297

**DETEKSI VIRUS AVIAN INFLUENZA STRAIN H5 PADA AYAM BURAS
DARI BEBERAPA PASAR DI KOTA SURABAYA**

Nur Chasanah

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya titer antibodi serta hasil isolasi pada TAB terhadap virus *avian influenza* strain H5 pada ayam buras dari beberapa pasar di kota Surabaya.

Pengambilan sampel dilakukan secara “*blind sampling*” dan penentuan lokasinya menggunakan metode “*stratified random sampling*”. Sebanyak 100 ekor ayam buras masing-masing diambil darah dan usapan kloaka. Darah lalu dipisahkan serumnya dan dilakukan uji HI mikroteknik untuk mengetahui adanya antibodi terhadap virus *avian influenza* strain H5, sedangkan dari usapan kloaka dilakukan isolasi pada TAB umur 9-11 hari, diinkubasi pada suhu $\pm 37^{\circ}\text{C}$ selama 7 hari. Cairan alantois dari embrio yang mati atau dimatikan diperiksa dengan uji HA mikroteknik dan dilanjutkan uji HI mikroteknik untuk mengidentifikasi adanya virus *avian influenza* strain H5.

Hasil penelitian berdasarkan pemeriksaan serum terhadap adanya antibodi *avian influenza* strain H5 pada ayam buras dari beberapa pasar di kota Surabaya selama bulan Juni sampai Nopember 2004 adalah 0%, sedangkan melalui usapan kloaka yang dilakukan isolasi dan identifikasi adalah 9%.

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT, Maha Suci Allah yang telah melimpahkan kasih sayangNya dan hanya dengan izinNya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul “Deteksi Virus *Avian Influenza* Strain H5 pada Ayam Buras Dari Beberapa Pasar di Kota Surabaya”. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui adanya titer antibodi serta isolasi terhadap virus *Avian Influenza* strain H5 pada ayam buras dari beberapa pasar di kota Surabaya. AI telah menyebabkan kerugian yang besar pada industri perunggasan di dunia dan di Indonesia beberapa waktu yang lalu, untuk itu perlu diadakan usaha-usaha untuk pencegahan maupun pemberantasan terhadap penyakit tersebut sehingga kerugian pada hewan dan manusia dapat diminimalisir.

Kesempatan ini, penulis menyampaikan rasa terima kasih yang tak terhingga kepada Dr. A.T. Soelih Estoepangestie, Drh., selaku pembimbing pertama dan Drh. Thomas V. Widiyatno, M.Si., selaku pembimbing kedua yang telah memberi petunjuk, bimbingan, saran dan dorongan hingga terwujudnya tulisan ini. Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ismudiono MS. Drh selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
2. Tjuk Imam Restiadi, M.Kes., Drh selaku Dosen Wali yang telah membimbing dan mengarahkan dengan sabar dan bijaksana selama penulis menempuh studi di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

3. Bapak Adi Prijo Rahardjo, Drh., selaku penanggung jawab teknis laboratorium atas segala masukan dan dukungannya serta seluruh staf laboratorium Imunologi dan Virologi Fakultas Kedokteran Hewan Unair.
4. Ayahanda dan Ibunda tercinta atas segala do'a dan kasih sayang serta dukungannya.
5. Seluruh teman dan sahabat yang telah mendukung dan membantu, yaitu: Triomfana, Ainun, Harianto, Indra, Martono, Rosida, Yatmi, Catur yang selalu sedia saat penulis membutuhkan.
6. Teman-teman satu tim penelitian Rifky, Faiqur, Maulana serta semua yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu.

Akhirnya penulis berharap semoga segala bantuan dan dukungan yang telah diberikan mendapat imbalan dari Allah SWT. Penulis menyadari penulisan ini masih jauh dari sempurna, sehingga kritik dan saran demi perbaikan serta kesempurnaan penulisan ini sangat penulis harapkan. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi masyarakat luas pada umumnya dan masyarakat kedokteran hewan khususnya.

Surabaya, Juni 2005

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|---------|
| KATA PENGANTAR..... | iv |
| DAFTAR ISI | vi |
| DAFTAR TABEL | viii |
| DAFTAR LAMPIRAN | ix |
| DAFTAR GAMBAR..... | x |
| BAB I. PENDAHULUAN..... | 1 |
| 1.1 Latar Belakang Penelitian | 1 |
| 1.2 Perumusan Masalah | 6 |
| 1.3 Landasan Teori | 6 |
| 1.4 Tujuan Penelitian | 8 |
| 1.5 Manfaat Penelitian | 8 |
| BAB II. TINJAUAN PUSTAKA..... | 9 |
| 2.1. Tinjauan Pustaka Tentang Virus <i>Avian Influenza(AI)</i> | 9 |
| 2.1.1. Etiologi dan Morfologi Virus AI..... | 9 |
| 2.1.2. Sifat virus AI | 10 |
| 2.1.3. Variasi Antigenik Virus AI | 11 |
| 2.1.4. Patogenitas Virus AI | 11 |
| 2.1.5. Hewan Rentan Terhadap AI..... | 13 |
| 2.1.6. Sumber dan Cara Penularan Penularan Penyakit AI | 13 |
| 2.1.7. Gejala Klinis dan Gambaran Patologi Penyakit AI | 15 |
| 2.1.8. Diagnosa dan Diagnosa Banding AI | 17 |
| 2.1.9. Pengendalian dan Penanggulangan Penyakit AI..... | 18 |
| 2.1.10. Pengobatan Penyakit AI | 19 |
| 2.2. Tinjauan Tentang Ayam Buras..... | 20 |
| 2.2.1. Klasifikasi Ayam Buras | 20 |
| 2.2.2. Pakan dan Cara Pemeliharaan Ayam Buras..... | 21 |

| | |
|--|-----------|
| BAB III. MATERI DAN METODE | 22 |
| 3.1. Tempat dan Waktu Penelitian | 22 |
| 3.2. Bahan dan Alat Penelitian | 22 |
| 3.3. Metode Penelitian | 22 |
| 3.3.1. Lokasi Pengambilan Sampel | 23 |
| 3.3.2. Besaran Sampel | 23 |
| 3.3.3. Sampel | 23 |
| 3.3.3.1 Cara Pengambilan serum | 23 |
| 3.3.3.2 Isolasi dan Identifikasi | 24 |
| 3.3.4. Pemeriksaan | 25 |
| 3.3.4.1. Pembuatan Suspensi Eritrosit 0,5% | 25 |
| 3.3.4.2. Uji Hemaglutinasi (HA) mikroteknik | 25 |
| 3.3.4.3. Uji Hemaglutinasi Inhibition (HI) Mikroteknik Pada Serum | 25 |
| 3.3.4.4. Uji Hemaglutinasi Inhibition (HI) Mikroteknik Hasil Isolasi | 26 |
| 3.4 Analisis Hasil | 28 |
| BAB IV. HASIL PENELITIAN | 29 |
| BAB V. PEMBAHASAN | 31 |
| BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN | 35 |
| 6.1. Kesimpulan | 35 |
| 6.2. Saran | 35 |
| RINGKASAN | 36 |
| DAFTAR PUSTAKA | 38 |
| LAMPIRAN | 42 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|---|---------|
| 1. Hasil Uji HI Mikroteknik Serum Darah Ayam Buras Dari Beberapa Pasar di Kota Surabaya Terhadap AI Strain H5 Bulan Juni Hingga Nopember 2004 | 29 |
| 2. Hasil Isolasi Dan Identifikasi Adanya Virus AI Strain H5 Dari Usapan Kloaka Ayam Buras Dari Beberapa Pasar Di Kota Surabaya | 29 |
| 3. Hasil Pasase Isolat Virus AI Strain H5 Pada TAB Dari Ayam Buras Pasar Pabean Surabaya | 30 |



DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Halaman |
|--|---------|
| 1. Hasil isolasi dan identifikasi pada TAB terhadap adanya virus AI strain H5 dari usapan kloaka ayam buras dari pasar di Surabaya | 42 |
| 2. Titer Virus Hasil Pasase pada TAB..... | 47 |
| 3. Hasil Uji HA/HI Isolat Virus AI H5 Ayam Buras dari Pasar Pabean Surabaya..... | 48 |



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. LATAR BELAKANG

Keberadaan virus *avian influenza* (AI) sudah ada sejak lama dan tersebar luas di dunia yang dapat menyebabkan influenza pada babi, kuda, dan unggas serta manusia (Fenner *et al.*, 1995). AI yang menyebabkan kematian sangat tinggi pada unggas dilaporkan pertama kali di Italia tahun 1878 dan dikenal sebagai “fowl plaque”. Walaupun *fowl plaque* telah di kenal di Eropa sejak abad ke-19, virus penyebabnya baru diidentifikasi sebagai virus influenza A pada tahun 1955. Kejadian AI pada ayam telah dilaporkan di Amerika Utara tahun 1929 dan USA tahun 1975. Selanjutnya kejadian penyakit influenza telah dilaporkan dari berbagai nagara di dunia (Tabbu, 2000).

Sejak 30 tahun yang lalu *virus influenza A* yang sangat patogen menyebabkan wabah pada unggas, sebagai contoh AI strain H7 di Australia pada tahun 1976, 1985, 1992, 1995, 1997, di Pakistan pada 1995, di Inggris pada tahun 1979 dan di Jerman pada tahun 1997. AI strain H5 juga menyebabkan wabah di Amerika Serikat dan Irlandia pada tahun 1983-1984, di Mexico pada tahun 1994-1995, di Italia dan di Hongkong pada tahun 1997 (Harimoto dan Kawaoka, 2001).

AI strain H5N1 yang sangat patogen secara terus menerus menyebabkan wabah sporadik pada peternakan ayam di Hongkong. Kebanyakan wabah H5N1 patogenik terjadi pada unggas domestik, akan tetapi wabah yang terjadi pada Desember 2002 menyebabkan kematian yang nyata pada burung liar, termasuk

itik di Hongkong (Sturm-Ramirez *et al.*, 2003). Selain di Hongkong wabah AI H5N1 pada unggas telah terjadi di 10 negara Asia seperti Korea Selatan, Vietnam, Jepang, Thailand, Kamboja, Taiwan, Laos, China, Indonesia dan Pakistan (Moerad, 2004).

Cina mengkonfirmasi bahwa negaranya positif terjangkit Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI) strain H5N1 tahun 2003 lalu, yang menyerang peternakan ayam di negara tersebut (Shimon, 2004). Virus AI strain H5N1 juga ditemukan pada babi di Propinsi Fujian Cina pada pertengahan 2004 lalu (Khayam, 2004). Menurut WHO (2004), pada bulan Agustus 2004 virus AI dikonfirmasi telah menyerang peternakan ayam di Kampung Pasir, Kelantan, Malaysia.

Virus AI merupakan agen zoonotik yang diketahui secara terus menerus mengancam kesehatan hewan dan manusia (Chen *et al.*, 2004). Sebagai contoh galur influenza unggas yang menginfeksi mamalia adalah strain H1N1 pada babi di Eropa tahun 1979, strain H3N8 pada kuda di Cina tahun 1989–1990, dan pada tahun 1979–1980 strain H7N7 menyerang anjing laut di perairan timur laut Amerika selatan (Fenner *et al.*, 1995). Beberapa waktu yang lalu AI strain H5N1 menyerang manusia dengan gejala klinis diantaranya frekuensi yang sangat cepat dan demam yang tinggi (Hien, *et al.*, 2004).

Tahun 1997, Virus influenza A strain H5N1 dilaporkan mewabah di Hongkong karena menyerang ayam dan burung peliharaan. AI strain H5N1 yang diisolasi dari manusia di Hongkong yang menderita penyakit tersebut menunjukkan untuk pertama kalinya diketahui transmisi secara langsung dari

unggas ke manusia dan membunuh 6 dari 18 orang yang terinfeksi (Tabbu, 2000; Zhou *et al.*, 1999). Data dari WHO berdasarkan konfirmasi laboratorium hingga 19 Mei 2005 mencatat 97 kasus yang terjadi pada manusia dan 53 diantaranya meninggal dunia. Kejadian tersebut masing-masing dari Negara Vietnam sebanyak 76 kasus AI dan 37 diantaranya meninggal dunia, sedangkan di Negara Thailand ada 17 kasus dan 12 diantaranya meninggal, kasus terbaru terjadi di Kamboja yang menyerang 4 orang dan keempatnya meninggal (Anonimus, 2005).

Sampai hari ini belum ada bukti yang menunjukkan penularan secara langsung dari manusia ke manusia tetapi tidak menutup kemungkinan lambat laun akan terbentuk transmisi dari manusia ke manusia (Snacken *et al.*, 1999). Sebenarnya yang perlu diwaspadai adalah bahwa dari semua virus AI baik yang ganas maupun tidak, mempunyai kemungkinan sebagai agen zoonosis (Harimoto T. dan Kawaoka Y., 2002).

Virus AI ini memberikan dampak yang menakutkan di bidang ekonomi dan kesehatan manusia, sehingga pada wabah yang terjadi di Hongkong diperlukan pemusnahan populasi unggas secara menyeluruh (Sturm-Ramirez *et al.*, 2003). Cina tidak melakukan pengosongan kandang secara besar-besaran seperti yang dilakukan Thailand dan Vietnam, dalam usahanya untuk membasmi HPAI di negara tersebut digunakan cara yang lebih rasional dengan depopulasi terbatas pada *flock* yang terkena bersamaan dengan vaksinasi masal (Shimon, 2004).

Pertengahan 2003 yang lalu, ribuan ternak ayam di Indonesia banyak yang mati mendadak dengan sebab yang dianggap misterius. Dugaan sementara dari

penyebab tersebut adalah Velogenic Viscerotropic Newcastle disease (VVND) atau virus tetelo vilogenic. Baru pada tanggal 29 Januari 2004 pemerintah Indonesia menetapkan secara resmi negara Indonesia sebagai salah satu negara yang terjangkit wabah penyakit AI subtype H5N1 sebagai status darurat bencana (Moerad, 2004), meskipun telah terjadi kematian unggas akibat wabah yang mengarah pada diagnosa penyakit AI di Legok awal September 2003 (Kiswandi, 2004).

Hingga Oktober 2004, penyakit AI atau lazim dikenal dengan flu burung di Indonesia sudah bersifat endemik dengan penyebaran penyakit di 16 propinsi yang meliputi 99 kabupaten/kota. Masing-masing 67 kabupaten/kota di Pulau Jawa, 16 kabupaten/kota di Sumatra, 5 kabupaten/kota di Kalimantan, 3 kabupaten/kota di Nusa Tenggara Barat, 8 kabupaten/kota di Bali. Jumlah kematian ternak hingga September 2004 tercatat lebih dari 16 juta ekor dan puncak kematian terjadi bulan Januari 2004 sebanyak 2,6 juta ekor (Anonimus, 2004_b).

Industri perunggasan di Indonesia sangat luas, khususnya ayam baik ayam ras maupun ayam buras atau yang lebih dikenal dengan ayam kampung. Berbeda dengan peternakan ayam ras, meskipun usaha peternakan ayam buras mulai dikembangkan, kebanyakan ayam buras masih dipelihara secara tradisional atau hanya sebagai usaha sampingan. Umumnya ayam buras dipelihara secara ekstensif dan dibiarkan lepas bebas berkeliaran. Jumlah ayam yang dipelihara per rumah tangga tidak banyak berkisar 2-7 ekor atau yang lebih besar mencapai 20 ekor.

Hal ini menyebabkan pedagang pengumpul berkunjung dari satu ke desa lain untuk membeli ayam tersebut (Rasyaf, 1992; Sarwono, 2003).

Sebenarnya AI pernah diidentifikasi di Indonesia pada burung nuri (H4N2) tahun 1982 dan pada pelikan dan itik. Evaluasi serologik menunjukkan bahwa virus Influenza A dapat ditemukan di berbagai daerah di Indonesia. Penelitian lebih lanjut menunjukkan bahwa virus Influenza yang ada di Indonesia termasuk tidak ganas dan tidak menyebabkan penyakit pada ayam maka hingga hari itu Indonesia dinyatakan bebas HPAI (Tabbu, 2000).

Wabah AI di Indonesia belum terbukti menular ke manusia seperti yang terjadi di Hongkong, Thailand, Vietnam dan Kamboja. Hasil pemeriksaan terhadap virus AI berupa sampel darah dari 219 orang di Jawa Timur, 103 di Jawa Tengah, 212 orang di Bali dan Bantan atau total keseluruhannya 834 orang peternak atau pegawai peternakan yang ayamnya terkena AI ternyata semuanya negatif (Rudyanto, 2004).

Akibat dari wabah AI ini menyebabkan kerugian ekonomi yang luar biasa. Pemerintah dan pengusaha di Australia juga sudah merasakan dampak dari wabah AI. Pengusaha kehilangan unggas dan hasil produknya karena prosedur eradikasi. Pemerintah mengalami kerugian karena besarnya biaya ganti rugi dan biaya diagnosa, karantina, eradikasi, investigasi epidemiologi dan prosedur rutin lainnya untuk meyakinkan bahwa infeksi dan penyakit sudah musnah (Easterday dan Beard, 1984). Lebih dari 100 juta broiler, breeder, unggas air dan ayam pedaging komersial lainnya dibunuh atau mati karena penyakit ini di Asia. Munculnya histeria masyarakat dalam mengkonsumsi daging dan telur ayam pada tahun 2004

lalu menyebabkan kerugian yang tidak sedikit bagi negara kita (Rudyanto, 2004; Anonimus, 2004_b).

1.2. Perumusan Masalah

Dari latar belakang diatas dapat di kemukakan beberapa rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah ditemukan antibodi terhadap virus AI strain H5 pada ayam buras dari beberapa pasar di kota Surabaya ?
2. Apakah dapat diisolasi adanya virus AI strain H5 dari ayam buras dari beberapa pasar di kota Surabaya ?

1.3. Landasan Teori

Avian influenza merupakan suatu penyakit viral yang disebabkan oleh virus Influenza A. Berbagai spesies dapat terserang virus AI, virus ini menyerang unggas terutama ayam dan kalkun yang ditunjukkan oleh adanya gangguan saluran pernapasan dan penurunan konsumsi pakan dan minum dan penurunan produksi telur (Tabbu, 2000). Selain itu juga dapat menyebabkan kematian mendadak pada unggas dengan morbiditas dan mortalitas yang tinggi (Gharaibeh, 2002).

Berbagai spesies avian dapat terserang oleh virus AI, termasuk kalkun, ayam, ayam mutiara burung puyuh, burung merak, angsa dan itik. Ayam dan kalkun merupakan jenis unggas yang mengalami infeksi virus influenza paling parah. AI juga ditemukan pada unggas liar maupun burung peliharaan. Virus AI

biasanya bereplikasi pada saluran intestinal, sehingga ekskresi virus AI dengan titer tertinggi terdapat di feses (Harimoto dan Kawaoka, 2002). Oleh karena itu unggas liar yang sering bermigrasi maupun pada unggas air misalnya, itik yang dipelihara ditempat terbuka, merupakan sumber penularan virus influenza yang penting (Tabbu, 2000). Selain ditemukan pada unggas, virus AI juga telah ditemukan pada berbagai mamalia misalnya; babi, kuda, anjing laut, ikan paus dan hewan lainnya (Tabbu, 2000).

Virus influenza A bersifat *zoonosis* karena dapat menular dari hewan ke manusia (Tabbu, 2000). Wabah virus AI strain H5N1 yang terjadi pada peternakan ayam di Hongkong pada tahun 1997, menunjukkan bahwa virus AI bertransmisi langsung dari ayam ke manusia (Hoffman *et al.*, 2000). Manusia yang terinfeksi menunjukkan gejala klinis demam, batuk, susah bernapas, dan pernapasan sangat cepat (Hien *et al.*, 2004).

Banyak cara untuk mendiagnosa ada tidaknya AI strain H5, diantaranya adalah dengan melakukan pemeriksaan serum maupun isolasi dan identifikasi. Virus AI mempunyai antigen permukaan HA (hemagglutinin) yang memungkinkan virus influenza A dapat mengaglutinasi eritrosit, sedangkan antigen NA (neuraminidase) berfungsi melepaskan ikatan antara HA dengan permukaan eritrosit sehingga ikatan antara virus dengan eritrosit bersifat sementara (Ernawati dkk, 1996).

Pemeriksaan serum terhadap adanya antibodi virus AI strain H5 dapat dilakukan dengan uji HI sedangkan dari usapan kloaka dapat dilakukan isolasi dan identifikasi pada telur ayam bertunas (TAB). Sampel dari hewan hidup dapat

diambil dari feses, usapan kloaka, jika hewan yang sudah mati sample diambil dari trakea, paru-paru, limpa, ginjal, hati dan usus, kemudian dimasukkan kedalam *mikrotube* yang berisi media (PZ/PBS atau NaCl fisiologis dan antibiotik seperti penisilin, streptomisin, gentamisin dan mikostatin). Media yang sudah berisi sample, dipusingkan dan kemudian diinokulasikan pada TAB, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 4 -7 hari (Rahardjo, 2004). Cairan alantois kemudian diperiksa dengan uji Hemaglutinin aglutinasi (HA) dan dilanjutkan dengan Hemaglutinasi inhibition (HI) (Anonimus, 2000_a).

1.4. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui:

1. Titer antibodi terhadap AI strain H5 pada ayam buras dari beberapa pasar di kota Surabaya
2. Dapat diisolasi adanya virus AI strain H5 pada ayam buras dari beberapa pasar di kota Surabaya

1.5. Manfaat Hasil Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi ilmiah tentang tingkat AI pada ayam buras dari pasar di kota Surabaya sehingga dapat dilakukan tindakan pencegahan, pengendalian dan penanggulangan yang lebih efektif dan efisien agar kerugian yang lebih besar dapat dihindarkan baik bagi kesehatan manusia maupun hewan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Tentang Virus Avian Influenza A

2.1.1. Etiologi dan Morfologi Virus AI

Penyakit *avian influenza* (AI) atau flu burung merupakan penyakit viral yang dapat menyerang unggas di seluruh dunia. Penyakit ini dilaporkan pertama kali oleh Perroncito pada tahun 1878 di Italia Utara dan dikenal dengan *Fowl Plaque* (Easterday and Beard, 1984). Tahun 1955, para ahli membuktikan bahwa penyebab *Fowl Plaque* adalah virus AI. Pada Simposium yang dilakukan tahun 1981, diusulkan agar nama *Fowl Plaque* diganti dengan istilah *Highly Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) karena menyebabkan kematian yang sangat tinggi pada unggas (Tabbu, 2000).

Virus AI seperti halnya virus influenza lainnya termasuk dalam Famili Orthomyxoviridae. Berdasarkan perbedaan antigen protein inti (NP) dan matrix proteinnya, virus Influenza diklasifikasikan menjadi beberapa tipe yaitu tipe A, B dan C. Tipe B dan C secara normal dapat ditemukan pada manusia, sedangkan tipe A dapat menginfeksi manusia, burung, babi, kuda, anjing laut, kuda laut dan binatang lainnya (Easterday dan Beard, 1984; Khayam, 2004).

Virus influenza tipe A atau lebih dikenal dengan AI merupakan virus RNA yang terdiri dari 8 genom atau segmen, bentuknya pleomorfik atau bervariasi mulai dari sferik sampai filamentous, berukuran 80–120 nm, struktur antigennya meliputi HA, NA, NP dan matriks protein. Virus AI dikelompokkan menjadi

banyak subtype berdasarkan struktur antigen permukaan hemagglutinin (HA) dan Neuraminidase (NA) (Rahardjo, 2004). Saat ini diketahui ada 16 subtype HA dan 9 NA dari virus AI. HA dan NA terdapat pada selubung virus berfungsi pada saat pengikatan dan penetrasi virus ke dalam tubuh. Protein HA menentukan tingkat patogen virus influenza A, sedangkan protein NA berfungsi dalam pelepasan virus dari sel terinfeksi (Fouchier *et al.*, 2005)

2.1.2. Sifat Virus AI

Virus AI inaktif pada suhu 56°C selama 3 hari dan suhu 60°C selama 3 menit. Virus ini juga inaktif pada pH asam, bahan kimia (Oksidator, Sodium Doedecyl Sulphate, Lipid Solven, β Propiolaktone), desinfektansia (Formalin dan senyawa Iodium) tapi dapat bertahan lama pada jaringan hewan, feses dan air (Anonimus, 2004_a). Suhu pasteurisasi dan sinar matahari langsung dapat mematikan virus dalam beberapa menit (Estoepangestie, 2004).

Virus AI terlindung oleh bahan organik yang ada dalam kandang seperti lendir, darah dan feses. Virus ini masih tetap infeksius dalam feses selama 30-35 hari pada temperatur 4°C dan selama 7 hari pada temperatur 20°C . Virus influenza dapat bertahan lama dalam kondisi lembab dan dingin serta dapat diisolasi dari air danau atau air kolam yang terletak di daerah yang banyak dihuni oleh unggas air (Tabbu, 2000).

Virus AI bersifat labil, sehingga mudah sekali terjadi perubahan susunan gen pada delapan genomnya. Penggabungan kembali gen pada HA dan NA menghasilkan *antigenic shift*. Mutasi itu menyebabkan terjadinya hanyutan

antigen atau *antigenic drift*. Kedua proses tersebut terjadi secara alami dan menghasilkan keberagaman strain dari Virus AI yang diduga bertanggung jawab atas timbulnya epidemi (Fenner *et al.*, 1994).

2.1.3. Variasi Antigenik Virus AI

Antigen virus AI berubah secara perlahan-lahan dengan mutasi titik (*antigenic drift*) atau secara drastis dengan *genetic reassortment* (*antigenic shift*). Tekanan sistem imun pada HA dan NA merupakan pemicu atau pendorong terjadinya *antigenic drift* (Harimoto dan Kawaoka, 2001).

Sampai saat ini belum diketahui secara pasti penyebab terjadinya perubahan genetic pada virus AI. *Antigenic shift* dapat terjadi melalui tranmisi langsung dari unggas ke manusia yang mengakibatkan *genetic reassortment* dari dua virus influenza yang berbeda yang menginfeksi sel. Sebagai contoh, beberapa waktu yang lalu virus AI subtipe H5N1 yang ada di Hongkong dapat bertranmisi langsung dari unggas ayam ke manusia dan menyebabkan kematian serta subtype H7N7 yang menyebabkan penyakit fatal pada manusia di Belanda (Subbaro *et al.*, 1998). Secara teori jika terjadi pengalihan dari 8 genom segmen berbeda pada virus influenza A, maka akan terjadi 256 kombinasi RNA berbeda (Harimoto dan Kawaoka, 2000).

2.1.4. Patogenitas Virus AI

Patogenitas virus AI dikategorikan berdasarkan kemampuannya untuk menyebabkan penyakit yang ringan atau ganas pada ayam dan unggas air. Secara

umum, virus ini dibedakan menjadi dua yaitu *Low Pathogenic Avian Influenza* (LPAI) dan *High Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) (Anonimus, 2004_a).

Bentuk LPAI kebanyakan bertanggung jawab dalam banyaknya wabah AI yang terjadi pada unggas. Biasanya wabah tersebut tidak menimbulkan penyakit atau hanya penyakit ringan seperti: penurunan produksi telur, tidak bertelur atau penyakit dengan tingkat mortalitas yang rendah (Khayam, 2004).

Virus golongan LPAI biasanya berkembang biak pada saluran pernafasan dan pada saluran pencernaan. Ayam yang terinfeksi virus ini dapat sembuh dalam waktu satu minggu dengan gejala pernafasan ringan akan tetapi masih dapat menularkan virus melalui fesesnya. LPAI perlu diwaspadai karena dapat mengalami mutasi menjadi virus HPAI (Anonimus, 2004_d).

Seperti halnya LPAI, Virus HPAI biasanya juga berkembang biak pada saluran pernafasan dan saluran pencernaan. Selain itu, virus tipe ini juga menyerang dan merusak hampir seluruh organ tubuh, termasuk sistem saraf pusat dan peredaran darah (Anonimus, 2004_a).

Hasil percobaan yang dilakukan oleh Guan *et al.*(2004), pada tikus yang diinokulasi dengan isolat virus dari manusia (yang meninggal akibat pneumonia setelah melakukan perjalanan dari China) dan isolat dari angsa menunjukkan bahwa semua tipe virus dapat bereplikasi di paru-paru tikus dengan titer yang tinggi. Selain di paru-paru, pada tikus yang diinokulasi dengan isolat dari manusia virus juga ditemukan di otak dengan angka mortalitas mencapai 90%. Tikus yang diinokulasi dengan isolat dari angsa menunjukkan angka mortalitas yang lebih rendah yaitu 30%. Percobaan ini menunjukkan bahwa adanya *genetic*

reassortment dari virus AI dapat mempengaruhi penyakit yang dibuatnya, sehingga virus H5N1 dapat menjadi sangat patogen maupun apatogen baik pada mamalia maupun spesies lainnya.

2.1.5. Hewan Rentan Terhadap Virus AI

Virus influenza tipe A dapat menginfeksi manusia, burung, kuda, anjing laut, ikan paus dan hewan lainnya. Burung liar merupakan host alami dari virus ini (Khayam, 2004). Semua subtipe virus ini dapat ditemukan pada burung liar yang merupakan sumber utama dari penularan virus AI (Hoffman *et al.*, 2000), akan tetapi ada beberapa subtipe dari virus AI yang juga dapat menyebabkan penyakit yang serius serta kematian pada burung liar (Khayam, 2004).

Virus influenza biasanya tidak menyebabkan kematian pada burung air hal ini menunjukkan bahwa virus ini dapat beradaptasi secara optimal pada burung tersebut yang berperan sebagai reservoir alami dari virus tersebut (Harimoto dan Kawaoka, 2004). Hewan mamalia babi sensitif terhadap virus AI, unggas domestik seperti kalkun dan ayam menjadi sangat menderita dan bahkan dapat mati mendadak akibat terinfeksi virus ini. AI di Indonesia menyerang peternakan ayam baik ayam pedaging maupun petelur (anonimus, 2004_b). Selain ayam virus AI juga menyerang itik, hal ini di dukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Firmansyah (2004) pada itik melalui pemeriksaan serum dari 100 sampel didapatkan 53 yang positif.

2.1.6. Sumber Dan Cara Penularan Penyakit AI

Virus influenza A dikeluarkan melalui hidung, mulut, konjungtiva dan kloaka unggas yang terinfeksi. Virus influenza A bereplikasi pada saluran pencernaan, selain itu AI juga dapat berkembang biak dengan baik saluran pernafasan, ginjal dan atau sistem reproduksi dan bahkan dapat mencapai ke system saraf pusat (Anonimus, 2004_a).

AI biasanya bereplikasi pada saluran pencernaan dan mengekskresikan virus tersebut dengan titer yang tinggi dalam feses (Harimoto dan Kawaoka, 2001). Burung yang terinfeksi mengumpulkan virus di dalam saliva, sekresi nasal dan feses. Burung dapat terinfeksi virus AI dengan kontaminasi nasal, respirasi atau materi fecal dari burung yang telah terinfeksi (Khayam, 2004). Transmisi dari virus influenza melalui air secara fecal-oral merupakan mekanisme mayor penyebaran virus ini diantara burung liar yang bermigrasi.

Transmisi melalui air mungkin mekanisme yang terpelihara dari tahun ke tahun sebagai pelestari virus AI di habitat alami burung air. Kenyataannya, burung air yang terinfeksi virus influenza jarang menunjukkan gejala penyakit. Hal ini menunjukkan bahwa virus influenza mengalami adaptasi optimal pada burung ini (Harimoto dan Kawaoka, 2001), tetapi mereka dapat menyebarkan virus ini ke burung lain. Infeksi yang disebabkan oleh virus AI tipe A (contoh : strain H5 dan H7) dapat menyebar luas dan menyebabkan penyakit serta kematian pada beberapa spesies burung domestik (Khayam, 2004).

Burung domestik dapat terinfeksi virus AI melalui kontak langsung dengan burung liar yang terinfeksi atau unggas lain yang terinfeksi, melakukan

kontak dengan permukaan atau materi yang terkontaminasi virus, seperti: kotoran, air dan makanan. Manusia, kendaraan dan benda lain seperti kandang dapat menjadi vektor penyebaran virus dari satu peternakan ke peternakan lainnya (Khayam, 2004).

Dari observasi yang telah dilakukan dari air minum di kandang itik yang terinfeksi AI menunjukkan adanya virus dalam jumlah tinggi yang menyebabkan terjadinya penularan secara oropharingeal, dan itik dapat terus menyebarkan virus sampai 10 hari setelah infeksi. Kebanyakan kasus AI yang menginfeksi manusia disebabkan oleh kontak langsung dengan unggas yang terinfeksi atau kontak dengan permukaan yang terkontaminasi (Sturm-Ramirez *et al.*, 2004).

2.1.7. Gejala Klinis dan gambaran patologi Penyakit AI

Masa inkubasi AI beragam dari beberapa jam sampai beberapa hari tergantung kepada dosis virus, virulensi galur dan spesies inang (Fenner *et al.*, 1994). Virus AI menimbulkan gejala atau sindrom yang bervariasi pada bangsa burung, mulai dari asytmomatic, infeksi ringan pada saluran pernafasan atau produksi telur menurun sampai penyakit sistemik parah yang fatal (Harimoto dan Kawaoka, 2001).

Virus AI diklasifikasikan menjadi ganas atau HPAI dapat menyebabkan *Fowl Plaque* atau tidak ganas atau LPAI yang hanya menyebabkan penyakit ringan atau asimtomatik. Virus HPAI yang patogen pada satu spesies burung belum tentu patogen terhadap spesies burung lainnya. Kenyataannya, itik resisten terhadap virus yang menyebabkan kematian pada ayam (Harimoto dan Kawaoka,

2001). Sebagai contoh virus influenza A/Turkey/Ontario/7732/66 (H5N1) menyebabkan tingkat pathogen yang sedang pada ayam dan *quail*, sangat patogen pada kalkun namun tidak patogen terhadap itik, *pheasant* dan burung merpati (Perkin and Swayne, 2001).

Gejala yang tampak pada unggas yang terinfeksi HPAI adalah penurunan produksi telur, gejala respirasi, lakrimasi yang berlebihan, sinusitis, cyanosis pada kulit yang tak berbulu, khususnya pada jengger dan pial, oedema pada kepala dan wajah, bulu berdiri, diare dan gangguan sistem saraf. Kadang-kadang, burung akan mati tanpa menunjukkan gejala penyakit (Harimoto dan Kawaoka, 2001).

Suatu percobaan dari AI A/Chicken/HK/97/H5N1 yang dilakukan pada Ayam (*Gallus domesticus*), kalkun (*Meleagris gallopavo*), *Japanese quail* (*Qoturnix coturnix japonicus*), *Quineafowl* (*Numida meleagris*), *Pheasant* (*Phasianus colchicus*) dan *An chukar pantride* (*Alector chukar*) menunjukkan angka mortalitas 75 - 100% dalam 10 hari dengan gejala klinis depresi, diare mucoid, disfungsi neurologis yang merupakan penyebab cepatnya kematian pada ternak yang terinfeksi virus ini. Gambaran patologi yang ditemukan berupa lesi pada banyak organ seperti hati, limpa, paru-paru, otak limpa, saluran pencernaan, ginjal dan otot skeletal tampak adanya eksudasi, hemorragi, necrosis dan inflamasi oedema dan kongesti. Kematian dari burung-burung tersebut terjadi dalam dua hari setelah inokulasi dengan virus AI strain H5 yang diduga disebabkan oleh kombinasi beberapa faktor seperti gangguan konduksi myocardium atau insufisiensi, disfungsi neurologis, insufisiensi adrenal dan

kegagalan pada berbagai organ antigen virus AI strain H5 dideteksi dengan Imunochemistry pada organ-organ tersebut (Perkin and Swayne, 2001).

Bentuk ringan atau LPAI pada unggas akan terlihat adanya penurunan produksi telur atau produksi telur berhenti, gangguan pernafasan, anoreksia, depresi, sinusitis dan mortalitas yang rendah. Selain itu, juga ditemukan trakheitis/rhinitis kataralis, leleran pada mata, air sacculitis, ovarium tidak berkembang, hemorragi dan ginjal bengkak. Jika terdapat infeksi sekunder oleh bakteri atau ayam dalam keadaan stres akibat lingkungan, gejala klinis dapat menjadi parah (Tabbu, 2000; Gharaibeh, 2002). Bentuk *low pathogenic* dari virus H5 dan H7 potensial untuk berkembang menjadi bentuk *highly patogen* (Khayam, 2004).

2.1.8. Diagnosa Dan Diagnosa Banding AI

Diagnosa AI dilakukan dengan mengamati tanda-tanda klinis seperti gejala penyakit, pemeriksaan paska kematian, serta dengan pemeriksaan laboratorium. Pengamatan dengan gejala klinis seperti diagnosa saluran pernafasan atas atau penurunan produksi telur, kematian tiba-tiba dan angka mortalitas yang tinggi tidak dapat menentukan diagnosa yang pasti (Rahardjo, 2004, Gharaibeh, 2002).

Penyakit yang mirip dengan AI adalah *New Castle Disease* (ND), *Infections Bronchitis* (IB), *Swollen Head Syndrom* (SHS), *Avian Mycoplasma* dan *Infectious Laryngo Tracheitis* (ILT) (Tabbu, 2000).

Pertumbuhan virus dideteksi dengan uji hemaglutinasi HA dan untuk identifikasi dilakukan uji HI dengan antiserum spesifik strain AI, uji serologis lain

yang juga dapat digunakan adalah *Virus Neutralization* (VN), *Neuraamida Inhibition* (NI), *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA) (Ernawati dkk., 2002; Tabbu, 2000).

Pemeriksaan dengan teknik Imunofluorescence dapat secara langsung mengetahui adanya virus nfluenza atau virus protein dari contoh jaringan kerap kali digunakan untuk melakukan diagnosa secara cepat (Tabbu, 2000). Saat ini telah digunakan *Polimerase Chain Reaction* (PCR) untuk deteksi molekular dan identifikasi (Gharaibeh, 2002).

2.1.9. Pengendalian dan Pencegahan Penyakit AI

Umumnya kontrol penyakit dilakukan dengan pemisahan burung yang terinfeksi atau burung yang potensial terinfeksi dan pemutusan siklus infeksi yang penting. Banyak bukti yang menunjukkan bahwa sumber terbesar dari infeksi adalah burung yang terinfeksi (Easterday and Beard, 1984).

Usaha pencegahan lain yang dapat dilakukan adalah menghindari kontak antara unggas dan burung liar, khususnya burung air dan burung migrasi liar yang harus dipertimbangkan adanya ancaman karena tingkat infeksi yang tinggi yang diobservasi dari beberapa area, menghindari masuknya burung yang tidak diketahui status imun ke dalam *flock*, mengontrol lalu lintas manusia, prosedur sanitasi dan desinfeksi yang tepat (Easterday and Beard, 1984; Anonimus, 2004_c).

Selain itu, hal lain yang juga membantu pencegahan adalah karantina hewan, kontrol dan pengawasan yang efektif, prosedur diagnosa dan program

yang tepat serta biosekuriti yang tepat. Vaksinasi dapat menjadi alat kontrol karena dapat mencegah kematian dan sakit, tetapi tidak mencegah infeksi dan penyebaran virus. Vaksin hidup tidak dianjurkan untuk digunakan dalam kegiatan vaksinasi karena potensial menjadi sangat pathogen. Eradikasi dengan cara pemusnahan dan pembinasaaan sebaiknya dilakukan pada saat terjadi outbreak. Pengisian kembali dilakukan paling cepat 21 hari kemudian (Anonimus, 2004_a).

2.1.10. Pengobatan Penyakit AI

AI tidak dapat diobati. Pemberian antibiotika/anti bakteri hanya ditujukan untuk mencegah infeksi sekunder dari bakteri atau mikoplasma. Disamping itu, perlu juga dilakukan pengobatan supportif dengan multivitamin untuk membantu proses rehabilitasi jaringan yang rusak (Tabbu, 2000).

Amantadin bukan terapi pilihan untuk penyakit AI (H5N1) (Guan *et al.*, 2004). Pemberian obat ini telah dicoba pada kasus Influenza burung puyuh di Italia serta kalkun, namun kurang efektif dan tidak boleh diberikan pada unggas yang dikonsumsi (Ratriastuti, 2004).

2.2. Tinjauan tentang Ayam Buras

2.2.1. Klasifikasi Ayam Buras

Klasifikasi ayam buras atau ayam kampung menurut Johnsgard (1986) yang dikutip oleh Crawod (1990) adalah sebagai berikut :

Filum : *Chordota*

Sub Filum : *Vertebrata*

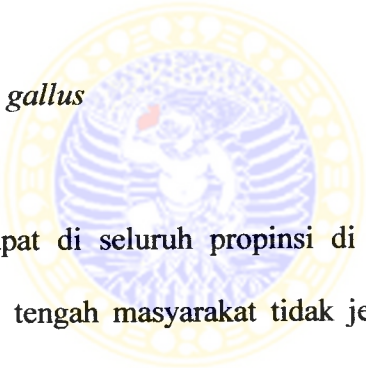
Kelas : *Aves*

Ordo : *Galliformis*

Famili : *Phusianidae*

Genus : *Gallus*

Spesies : *Gallus gallus*



Ayam buras terdapat di seluruh propinsi di Indonesia (Rasyaf, 1992). Kehadiran ayam buras di tengah masyarakat tidak jelas asal-usulnya, ada yang menduga ayam itu adalah ayam lokal Indonesia, berasal dari ayam hutan yang telah jinak. Karena proses evolusi dan domestikasi selama berabad-abad, terciptalah ayam buras yang telah beradaptasi dengan keadaan sekitarnya sehingga cukup tahan terhadap penyakit ayam dan perubahan cuaca (Sarwono, 2003).

Ayam buras tidak pandai terbang. Meskipun mempunyai sayap namun sayapnya tidak mampu mengangkat tubuhnya ke udara. Aktivitas gerak kemudian dipercayakan pada kaki yang memang bisa digunakan untuk berlari cepat (Nur Cahyo dan Widyastuti, 2003).

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu

Penelitian dilakukan di laboratrium Virologi dan Imunologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya dan dilaksanakan selama enam bulan dimulai Juni 2004 sampai November 2004.

3.2. Alat dan bahan penelitian

Alat yang di butuhkan dalam penelitian ini adalah Inkubator, pembakar bunsen, pelubang telur, mikroplate V, lemari es, venoject, lampu *candling*, rak tabung, mikrosentrifuge, vortex mixer, spuit, pinset, gunting, pipet hisap, pipet Pasteur, autoclave, gelas beker, labu erlenmayer, *cottonbuds*, isolasi/parafin, mikropipet, diluter. Bahan yang di butuhkan dalam penelitian ini adalah TAB umur 9-10 hari, NaCl fisiologis, aquadest steril, eritrosit ayam, EDTA, alkohol 70%, Antigen dan antiserum anti AI H5N1 dari Laboratorium Virologi dan Imunologi FKH Unair Surabaya, antibiotik dan Lysol, sedangkan bahan yang akan diperiksa berasal dari usapan kloaca dan serum ayam buras.

3.3. Metode penelitian

Penelitian dilakukan dengan menggunakan metode penelitian deskriptif, sebagai penelitian pendahuluan adanya “Deteksi Virus AI Strain H5 pada Ayam Buras dari Beberapa Pasar di kota Surabaya”.

3.3.1. Lokasi Pengambilan Sampel

Penentuan lokasi pengambilan sampel menggunakan metode “*stratified random sampling*”. Penentuan lokasi pasar tempat pengambilan sampel berdasarkan atas pembagian wilayah kota Surabaya yaitu setiap wilayah diambil 1 pasar sehingga didapatkan 5 pasar. Lokasi pengambilan sampel di wilayah Surabaya barat adalah di pasar Patemon, Surabaya selatan adalah pasar Wonokromo, Surabaya tengah adalah pasar keputran, Surabaya timur adalah Pasar Pacarkeling dan di wilayah Surabaya utara adalah pasar Pabean.

3.3.2. Besaran Sampel

Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 100 ekor ayam buras dari 5 pasar di wilayah kota Surabaya, masing-masing pasar diambil sebanyak 20 ekor ayam buras. Sampel yang diperiksa dari setiap ekor ayam buras adalah darah dan usapan kloakanya.

3.3.3. Sampel

3.3.3.1. Cara Pengambilan Darah

Pada saat ayam dipotong, darah ditampung dengan venoject steril dan ditutup dengan prop karet, dibiarkan beberapa saat dalam posisi miring hingga terjadi pemisahan antara serum dan bekuan darah. Bila pemisahan belum terjadi, maka darah dalam tabung di pusingkan dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit. Setelah serum terpisah, dipindahkan kedalam mikrotube dan disimpan dalam freezer sampai diperiksa.

3.3.3.2. Isolasi dan Identifikasi

Untuk isolasi virus dilakukan dengan menggunakan sampel dari usapan kloaka. Usapan kloaka dilakukan dengan cottonbuds steril kemudian dimasukkan dalam mikrotube yang berisi PZ (pH 7,0-7,4) yang mengandung antibiotik. Antibiotik yang digunakan disini adalah Streptomycin (2000 unit/ml) dan Penicilin (2 mg/ml) (anonimus, 2004_a). Selanjutnya mikrotube di vortex mixer dan di sentrifus, setelah itu cottonbuds diambil dengan pinset steril. Supernatan sampel dipakai sebagai inokulum.

Isolasi virus diawali dengan penyiapan TAB umur 9-11 hari yang diinkubasi, kemudian semua TAB didesinfeksi dengan alkohol 70%. TAB diberi tanda batas dengan pensil antara ruang bawah dan isi telur dengan bantuan lampu peneropong dan dibuat lubang dengan pelubang telur steril pada kulit telur didaerah rongga hawa (kurang lebih 3-5 mm dari tanda batas ruang hawa). Suspensi virus sebanyak 0,1-0,2 ml disuntikkan dengan spuit melalui lubang tersebut sedalam lebih kurang 2 cm sejajar dengan sumbu panjang telur, kemudian ditutup dengan parafin atau plester kertas. Telur diinkubasikan pada suhu 37°C selama 4-7 hari dan diamati tiap hari terhadap kematian embrio. Embrio yang belum mati setelah masa inkubasi yaitu setelah 7 hari di bunuh dengan cara memindahkan TAB kedalam lemari pendinginan. Cairan alantois dari embrio yang mati diuji HA , apabila positif dengan titer rendah dilakukan pasase pada TAB dan jika titer cukup tinggi lakukan uji HI.

3.3.4. Pemeriksaan

Pemeriksaan HA dan HI mikroteknik memerlukan suspensi eritrosit 0,5% yang cara pembuatannya ada dibawah.

3.3.4.1. Pembuatan Suspensi Eritrosit 0,5%

Suspensi eritrosit 0,5% diperlukan untuk uji HA dan HI mikroteknik. Cara mendapatkan suspensi eritrosit dengan konsentrasi 0,5% adalah sebagai berikut: darah ayam ditampung dalam venojack yang telah diisi dengan anti koagulan EDTA dan darah tersebut dipusingkan dengan kecepatan 2000 rpm selama 15 menit. Supernatan dibuang dan sisa endapan ditambahkan NaCl fisiologis dan disentrifus lagi dengan kecepatan dan waktu sama hingga didapatkan supernatan yang jernih (setelah pencucian 3 kali atau lebih). Suspensi eritrosit 0,5% diperoleh dengan cara penambahan NaCl fisiologis pada eritrosit hingga berkonsentrasi 0,5%.

3.3.4.2. Uji Hemaglutinin Aglutinasi (HA mikroteknik)

TAB yang sudah diinokulasi dengan sampel dari usapan kloaka ayam buras diperiksa dengan uji hemaglutinasi (HA) mikroteknik diawali dengan mengisi lubang mikroplate dengan 0,025 ml NaCl fisiologis dengan menggunakan pipet dropper volume 0,025 ml. Lubang pertama diisi antigen 0,025 ml dari cairan alatois TAB. Antigen (Ag) dan NaCl fisiologis pada lubang pertama dicampur dengan cara memutar diluter beberapa saat, kemudian diluter dipindahkan ke lubang berikutnya. Demikian seterusnya hingga tersisa satu

lubang terakhir yang digunakan sebagai kontrol eritrosit tanpa Ag. Langkah berikutnya adalah mengisi semua lubang mikroplate 0,05 ml eritrosit ayam 0,5% dengan mikropipet dropper 0,05ml. Mikroplate diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit atau sampai pada kontrol terjadi pengendapan eritrosit yang tampak seperti titik pada dasar lubang. HA positif bila tidak terjadi pengendapan eritrosit atau terjadi aglutinasi dan hasil pemeriksaan Uji HA digunakan untuk mengetahui titer virus sehingga dapat dilakukan pembuatan antigen 4 HA unit. Caranya misalnya hasil yang didapat dari uji HA adalah 128 unit/ 0,025 ml maka dilakukan pengenceran 1/128 dikalikan empat, hasilnya 1/32, dengan demikian berarti 1 ml antigen ditambah 31 ml NaCl fisiologis.

Pengujian terhadap ketepatan pengenceran perlu dilakukan retitasi antigen dengan cara yang sama seperti pada uji HA, tetapi dengan menggunakan antigen yang telah diencerkan dan sebagai kontrol digunakan antigen yang berasal dari biakan H5N1. Bila pengenceran pada uji HA tepat maka pada lubang satu dan dua akan terjadi pengendapan eritrosit.

3.3.4.3. Uji Hemaglutinasi Inhibition (HI) mikroteknik Pada Serum

Deteksi antibodi terhadap virus AI strain H5 diperiksa dengan uji HI. Pemeriksaan diawali dengan mengisi lubang mikroplate dengan 0,025 ml NaCl fisiologis. Lubang satu sampai dengan dua belas diisi dengan serum yang akan diperiksa sebanyak 0,025 ml, dengan menggunakan pipet dropper volume yang sesuai. NaCl fisiologis dan serum dicampur dengan cara menghisap dan melepaskan kembali kedalam lubang hingga beberapa kali, kemudian dengan

volume yang sama dipindahkan ke lubang berikutnya hingga tersisa satu lubang sebagai control dan kemudian semua lubang diisi dengan antigen 4 HA unit hasil biakan virus AI strain H5N1 yang diperoleh dari laboratorium Virologi dan Imunologi FKH Unair. Langkah selanjutnya adalah menambahkan 0,05 ml eritrosit ayam 0,5% dengan mikropipet dropper volume 0,05 ml pada semua lubang dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Sebagai kontrol eritrosit, lubang mikroplate hanya berisi NaCl fisiologis dan eritrosit ayam 0,5%, sedangkan lubang kontrol antiserum berisi NaCl fisiologis, antiserum H5N1 dan eritrosit ayam 0,5%. Pada HI sempurna adalah terjadinya pengendapan eritrosit pada dasar tabung yang terlihat seperti pada kontrol.

3.3.4.4. Uji Hemaglutinasi Inhibition (HI) mikroteknik Hasil Isolasi

Langkah-langkah untuk pemeriksaan HI hasil isolasi dari usapan kloaka sama dengan HI pada serum. Pemeriksaan diawali dengan pengisian semua lubang mikroplate dengan NaCl fisiologis lalu ditambahkan antigen 4 HA unit yang merupakan hasil pemeriksaan HA dari hasil isolasi usapan kloaka pada TAB. Antiserum AI strain H5N1 ditambahkan pada setiap lubang kecuali 2 lubang kontrol dan kemudian inkubasikan selama 30 menit pada suhu ruang lalu ditambahkan eritrosit 0,5%. Pembacaan hasil dilakukan setelah diinkubasi selama 30 menit.

3.4. Analisis Data

Apabila dalam pemeriksaan diperoleh hasil positif, maka kejadian AI strain H5 dapat langsung diketahui dengan menggunakan rumus:

$$\text{Kejadian avian influenza strain H5} = \frac{\text{Sampel positif}}{\text{Jumlah seluruh sampel}} \times 100\%$$



BAB IV

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan mulai pada bulan Juni sampai Nopember 2004 terhadap 100 ekor ayam buras dari beberapa pasar di Surabaya .

Tabel 1. Hasil uji HI mikroteknik dari serum darah ayam buras dari beberapa pasar di kota Surabaya terhadap AI strain H5 bulan Juni hingga Nopember 2004.

| Wilayah surabaya | Pasar | Positif | Negatif | Jumlah |
|------------------|--------------|---------|---------|------------|
| Selatan | Wonokromo | 0 | 20 | 20 |
| Timur | Pacar Keling | 0 | 20 | 20 |
| Pusat | Keputran | 0 | 20 | 20 |
| Utara | Pabean | 0 | 20 | 20 |
| Barat | Petemon | 0 | 20 | 20 |
| Total | | | | 100 |

Hasil pemeriksaan sampel dari serum ayam buras menunjukkan tidak terdeteksi adanya Antibodi terhadap AI strain H5.

Tabel 2. Hasil isolasi virus AI strain H5 dari usapan kloaka ayam buras dari beberapa pasar di kota Surabaya bulan Juni hingga Nopember 2004

| Wilayah surabaya | Pasar | Positif | Negatif | Jumlah |
|------------------|--------------|----------|-----------|------------|
| Selatan | Wonokromo | 0 | 20 | 20 |
| Timur | Pacar Keling | 0 | 20 | 20 |
| Pusat | Keputran | 0 | 20 | 20 |
| Utara | Pabean | 9 | 11 | 20 |
| Barat | Petemon | 0 | 20 | 20 |
| Total | | 9 | 91 | 100 |

Melalui pemeriksaan HA didapatkan beberapa titer yang rendah sehingga dilakukan pasase untuk melakukan uji HI. Rincian hasil isolasi dan identifikasi 45-49 sedangkan hasil pasase dapat dilihat pada lampiran 2 halaman 50. Hasil pasase menunjukkan terdeteksinya AI strain H5 sebesar 9% dari seluruh sampel, yang rinciannya dapat dilihat pada tabel 3 berikut.

Tabel 3. Hasil Pasase Isolat Virus AI Strain H5 Pada TAB Dari Ayam Buras Pasar Pabean Surabaya

| No. Sampel | TAB 1 | | | TAB 2 | | |
|------------|-----------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|
| | Kematian Embrio | HA | HI | Kematian Embrio | HA | HI |
| AK41 | 2 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ | 2 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ |
| AK42 | 2 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ | 2 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ |
| AK43 | 2 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ | 2 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ |
| AK44 | 1 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ | 2 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ |
| AK46 | 2 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ | 2 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ |
| AK48 | 1 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ | 2 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ |
| AK50 | 1 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ | 2 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ |
| AK52 | 1 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ | 2 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ |
| AK55 | 1 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ | 1 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ |

BAB V

PEMBAHASAN

Hasil yang diperoleh dari pemeriksaan serum pada ayam buras yaitu 0%, sangat bertolak belakang bila dibandingkan dengan kematian ayam ras yang mencapai jutaan dan hasil penelitian serupa yang dilakukan oleh Firmansyah (2004), pada itik yang mencapai 53%. Hasil uji serologis dari serum ayam buras terhadap antibodi virus AI strain H5 adalah 0%, kemungkinan disebabkan belum atau tidak terbentuknya antibodi karena ayam sudah mati segera (2-3 hari) setelah infeksi virus AI H5. Antibodi terhadap AI pada semua spesies dapat dideteksi melalui uji HI dan uji netralisasi virus yang timbul dalam waktu 3-7 hari setelah infeksi dan mencapai puncak selama minggu kedua (Fenner *et al.*, 1995).

Isolasi dan identifikasi AI strain H5 pada TAB dari usapan kloaka ayam buras dari beberapa pasar Surabaya didapatkan hasil 9%. Hasil pengamatan pada masa inkubasi dari isolasi pada TAB menunjukkan waktu kematian embrio yang relatif cepat yaitu 2-3 hari post inokulasi. Kematian embrio yang relatif cepat mengindikasikan bahwa virus AI strain H5 yang diisolasi termasuk dalam kelompok yang ganas.

Melalui pemeriksaan HA yang dilanjutkan dengan uji HI dari usapan kloaka setelah dilakukan pasase pada TAB dapat diketahui titer virus yang relatif tinggi yaitu 2^8 . Tingginya titer virus tersebut dikarenakan tempat replikasi virus influenza tipe A ada di saluran pencernaan sehingga konsentrasi tertinggi virus ada pada feses sebagai sumber penularan utama. Hal ini di dukung oleh

pernyataan Harimoto dan Kawaoka (2001) yang menyatakan bahwa biasanya virus AI bereplikasi pada saluran pencernaan dan mengekskresikan virus tersebut dengan titer yang tinggi dalam fesesnya.

Ayam buras yang terkena infeksi AI strain H5 diduga berasal dari infeksi alam bukan hasil vaksinasi. Kebanyakan masyarakat Indonesia memelihara ayam buras hanya sebagai sampingan, sehingga jumlah ayam buras yang dipelihara per rumah tangga tidak banyak yaitu hanya berkisar 2-7 ekor dan paling banyak kira-kira 20 ekor (Sarwono, 2004). Pelaksanaan vaksinasi membutuhkan biaya yang tidak sedikit maka dari itu program tersebut biasanya hanya dilakukan pada peternakan besar. Besarnya biaya yang diperlukan akan memberatkan masyarakat yang memelihara ayam burasnya hanya sebagai sampingan sehingga program vaksinasi pada ayam buras kemungkinan besar tidak dilakukan oleh pemiliknya.

HPAI kemungkinan aktif di Indonesia awal trimester 2003. Penyakit dalam jumlah besar mulai nyata pada november 2003 (Anonimus, 2004_b). Kasus AI pertama di Indonesia ditemukan di Jawa barat (Anonimus, 2004_d). Pulau Jawa dengan jumlah penduduk yang relatif banyak, sering dikunjungi wisatawan dan di pulau Jawa yang relatif kecil dibandingkan dengan pulau lain namun industri perunggasan lebih banyak, membuat penyakit lebih mudah dan cepat merambat di daerah ini (Hadi, 2004).

Faktor penyebaran penyakit AI di Indonesia kemungkinan besar disebabkan oleh pola hidup burung yang berpindah-pindah diantara pulau-pulau di Indonesia yang luas. Adanya perdagangan besar termasuk melalui pasar

unggas hidup serta kecenderungan masyarakat untuk menjual unggas yang sedang sakit, dan itik yang dipelihara secara nomadik yang bergerak bebas diantara ladang padi, potensial sebagai sumber penting lain dari reinfeksi (Anonimus, 2004_d). Sumber penularan lainnya yang penting adalah dari tenaga medis atau petugas kandang. Penyebaran penyakit dari pulau tertular ke pulau lain dari satu daerah ke daerah lain dalam suatu pulau tentunya terkait dengan arus perdagangan dan sarana transportasi yang digunakan untuk pengangkutan unggas, produk unggas seperti telur ayam, itik, dan puyuh maupun peralatan perunggasan misalnya *egg tray*, kandang *battery*, tempat pakan dan minum yang terkontaminasi (Hadi, 2004). Indonesia terjangkit wabah AI strain H5 setelah beberapa negara Asia seperti China, Thailand, Vietnam dan Kamboja terjangkit wabah AI terlebih dulu yang kemungkinan menyebabkan beredarnya vaksin AI ilegal di Indonesia.

Ayam buras tersebar luas di Indonesia dan umumnya dipelihara secara ekstensif, meskipun tidak sedikit juga yang mengusahakannya secara intensif. Sistem pemeliharaan ekstensif atau tradisional menyebabkan ayam buras berkeliaran kemana-mana untuk memenuhi kebutuhan makanannya yang belum terpenuhi oleh pemiliknya. Kebiasaan tersebut memungkinkan ayam buras memasuki peternakan unggas lain, sehingga ayam buras yang telah terinfeksi tersebut dapat menularkan atau menyebarkan melalui kontak langsung maupun tidak langsung melalui kotorannya yang mengandung virus. Ayam buras dengan sistem pemeliharaan ekstensif memberikan peluang besar untuk kontak dengan burung liar yang merupakan reservoir alami dari virus AI. Sumber utama infeksi

virus AI adalah unggas sakit dan ekskresinya sehingga meskipun ayam buras tersebut telah mati, virus AI yang bersifat infeksius masih dapat di isolasi dari cairan kotoran ayam selama 105 hari (Tabbu, 2000).

Informasi dari para pedagang menyebutkan bahwa ayam buras yang dijual pada pasar-pasar tempat pengambilan sampel tersebut diantaranya berasal dari daerah Tulungagung, Blitar, dan Kediri yang merupakan wilayah perunggasan di Jawa Timur dan sebelumnya telah terjangkit wabah AI strain H5. Ayam buras yang terinfeksi AI yang di bawa dari daerah asal ke Surabaya dapat menularkan virus sepanjang perjalanan yang dilaluinya maupun pada pasar tempat dijualnya ayam buras tersebut dijual.

Kasus AI yang terjadi di negara Hongkong, Thailand, Vietnam maupun Kamboja telah menelan korban manusia hingga menyebabkan kematian. Wabah AI yang terjadi di Indonesia belum terbukti menular dari unggas ke manusia seperti yang terjadi di nagara Thailand dan Vietnam, namun kemungkinan untuk terjadinya hal tersebut selalu ada. Hal ini karena virus AI yang menyerang Indonesia lebih mirip dengan AI di China, yang sampai sekarang belum ada laporan yang menyebutkan penularan dari manusia ke manusia (Anonimus, 2004_d).

Untuk mencegah timbulnya penularan dari unggas ke manusia maupun dari manusia ke manusia, Departemen Kesehatan Indonesia menganjurkan dilakukan vaksinasi AI terutama bagi anggota masyarakat yang memiliki resiko tertular flu burung sesuai dengan anjuran Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) (Anonimus, 2004_b).

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian yang berjalan mulai Juni hingga Nopember 2004 dengan sampel darah dan usapan kloaka ayam buras dari beberapa pasar dikota Surabaya yaitu:

1. Tidak terdeteksi adanya antibodi terhadap virus AI strain H5 pada ayam buras dari beberapa pasar di kota Surabaya.
2. Virus AI strain H5 dapat diisolasi dan diidentifikasi dengan hasil 9% dari sampel usapan kloaka ayam buras dari beberapa pasar di kota Surabaya.

6.2. Saran

Beberapa saran yang dapat di sampaikan adalah sebagai berikut:

1. Mengingat asal ayam buras yang dijual di pasar Surabaya tidak berasal dari Surabaya, maka perlu dilakukan penelitian serupa di peternakan tempat asal ayam buras tersebut.
2. Perlu dilakukan tindakan *surveillance* terhadap penyakit AI guna mengetahui perkembangan penyebaran maupun keganasan virus AI strain H5 baik di tingkat nasional maupun regional.
3. Perlu kerjasama antar instansi terkait dalam memberikan penyuluhan kepada masyarakat, agar masyarakat benar-benar mengetahui bagaimana mencegah terjadinya kasus AI pada manusia.

RINGKASAN

Nur Chasanah. Deteksi Virus *Avian Influenza* Strain H5 Pada Ayam Buras Dari Beberapa Pasar di kota Surabaya. Penelitian ini dilaksanakan dibawah bimbingan Dr. A.T. Soelih Estoepangestie, drh., selaku pembimbing pertama dan Drh. Thomas V. Widiyatno, M.Si., selaku pembimbing kedua.

Penelitian ini bertujuan mengetahui adanya titer antibodi terhadap virus AI strain H5 serta apakah dapat diisolasi adanya virus AI H5 pada ayam buras dari beberapa pasar di kota Surabaya. Sampel diambil secara *blind sampling* dan penentuan lokasi dilakukan dengan cara *stratified random sampling*. Jumlah sampel yang diperiksa adalah 100 ekor ayam buras yang diambil serum maupun usapan kloaknya yang kemudian dilakukan isolasi dan identifikasi dengan uji HI mikroteknik.

Virus AI merupakan virus RNA beramplop golongan orthomyxovirus yang memiliki aktivitas Hemaglutinin (HA) dan Neuraminidase (NA), antigen HA menyebabkan virus influenza A dapat mengaglutinasi eritrosit, sedangkan NA melepaskan ikatan antara HA dengan permukaan eritrosit sehingga ikatan antara virus dengan eritrosit bersifat sementara (Ernawati dkk, 1996).

Hasil penelitian pada deteksi antibodi terhadap AI strain H5 melalui pemeriksaan serum ayam buras dari beberapa pasar di kota Surabaya adalah 0%, sedangkan dari usapan kloaknya yang diisolasi dan diidentifikasi didapatkan hasil 9%. Dari pemeriksaan serum diatas menunjukkan belum atau tidak terbentuknya antibodi pada ayam buras tersebut terhadap AI. Kemungkinan

karena ganasnya jenis virus AI yang menyerang dan didukung dengan tak adanya cara pengendalian penyakit yang diterapkan pada ayam buras menyebabkan kematian yang segera setelah infeksi (2-3 hari pasca infeksi). Tempat replikasi virus AI adalah di saluran pencernaan, akibatnya ekskresi virus dengan titer tertinggi ada pada feses. Penularan AI pada ayam buras dapat melalui kontak dengan burung liar atau dari peternakan lain yang terinfeksi maupun dari petugas kandang atau tenaga medis, ayam tersebut juga dapat berperan dalam penyebaran AI.



DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 2004_a. Avian Influenza.
<http://www.vet.uga.cdc/vpp/gravbook/FAD/AVI.htm>.
- Anonimus. 2004_b. Laporan Dwi Mingguan Perkembangan Avian Influenza (AI) 2004. 15 oktober 2004. <http://www.ai-indonesia.org/>.
- Anonimus. 2004_c. Avian Influenza (H5N1) Case Situation In Thailand and Vietnam. http://www.who.int/csr/don/2004_10_25/en/.
- Anonimus. 2004_d. Avian Influenza Situation and Its Kontrol. Poultry International. Oktober 2004, Vol. 43, No. 11, Pp. 4-8.
- Anonimus. 2005. Avian Influenza (H5N1) In Asia.
http://www.who.int/csr/done/2005_05_19/en/.
- Chen, H., G. Deng, Z. Li, G. Tian, Y. Li, P. Jiao, L. Zhang, Z. Liu, R.G. Webster, and K. Yu. 2004. The Evolution of H5N1 Influenza Viruses in Duck in Southern China. Proc. Natl. acad. Science. U.S.A, Vol. 101, No. 28, Pp. 10452.
- Crawford, R.D. 1990. Poultry Breeding dan Genetics. Elsevier Science Publishis. Amsterdam. Oxford. New York.
- Easterday, B. C. and C. W. Beard, 1984. Avian Influenza in: M.S. Hofstad, with H. J. Barner, B.W. Calnex, W. M. Reid, H. W. Yoger, Jr. Disease of Poultry. 8th Ed. The Iowa Unoversity Press Ames. Iowa. 482-496.
- Ernawati, R., A.P. Rahardjo, N. Sianita, F. A. Rantam, W. Tjahjaningsih dan Suwarno. 1996. Petunjuk Praktikum penyakit viral. Laboratorium Virology dan Imunologi. FKH Unair. Surabaya.
- Estoepangestie, A. T. S. 2004. Program Pengendalian dan Pengawasan Penyakit Avian Influenza. Dalam Seminar Menyikapi Dampak Flu burung tanggal 14 Februari 2004. FKH Unair. Surabaya.
- Fenner, F.J., E.P.J. Gibss, F.A. Murphy, R. Rott, M.J. Studdert and D.O. White. 1995. Veterinery Virologi. 2nd Ed. (Harya Putra dkk., trans). Semarang: IKIP Semarang Press.

- Fouchier, R.A.M., M. Vincent, A. wallansten, T.M. Bestebroer, S. Herfst, D. Smith, G.F. Rimmelzwaan, B. Olsen, and Albert D.ME. Osterhuas. 2005. Characterization Of Novel Influenza A Virus Hemagglutinin Subtype (H16) Obtained from black-headed Gulls. *Journal of Virology*. March 2005, Vol. 79, No. 5, Pp. 2814-2822.
- Gharaibeh, S. 2002. Avian Influenza. <http://www.Vadcorner.com/internet64.html>.
- Guan, Y., L.L.M. Poon, , C.Y. Cheung, T. M. Ellis, W. Lim, A. S. Lipatov, K.H.,Chan,,K.m.Sturm-Raamirez, C.L. Cheung, Y.H.C. Leung, K.Y. Yuen, R.G. Webster and J.S.M. Peiris. 2004. H5N1 Influenza: A Protean Pandemic Threat. *Proc. Natl. acad. Science. U.S.A.* Vol. 101, No. 21, Pp. 8152
- Hadi, S. 2004. Strategi Pengendalian AI. *Poultry Indonesia*. No. 293, September 2004.
- Harimoto, T. and Y. Kawaoka. 2001. Pandemic Threat Posed by Avian Influenza Viruses. *Clinical Microbiology. Rev.* Vol. 14, No. 1, Pp.129-149.
- Hien, T.T., N.T. Liem N.T., Dung, L.T. San, P.P. Mai, N.V.V. Chou. 2004. Avian Influenza A (H5N1) in 10 Patient in Vietnam. *The New Englang Journal of Medicine*. Vol. 350, No. 12, Pp.1170-1188.
- Hoffman, E., J. Stech, E. Levena, S. Krauss, C. Scholtissek, P.S. Chin, M. Peiris, K.F. Shortridge, R.G. Webster. 2000. Characterizasion of Avian Influenza Virus Gene Pool in Avian Species in Southern China: Was H6n1 a Derivative or Precursor of H5N1?. *Journal Of Virology*. Vol. 74, No.14, Pp. 6309.
- Kiswandi, D. 2004. Dampak Wabah Avian Influenza di Jawa Timur dari Segi Sosial Ekonomi. Dalam Seminar Menyikapi Dampak Flu Burung tanggal 14 Februari 2004. FKH Unair. Surabaya.
- Khayam, O. 2004. H5N1 Avian Flu. *Cybermed Update*.
<http://www.vadcorner.com/interner64.html>.
- Lin, Y.P., M. Shaw, V. Gregory, K. Cameron, W. Lim, A. Klimov, K. Subbaro, Y. Guan, L.s. Krauss, K.F. Shortridge, R.G. Webster, N. Cox, and A. Hay. 2000. Avian-to-Human Transmission of H9N2 Subtype Influenza Viruses: Relationship Between H9N2 and H5N1 Human Isolates. *Proc. Natl. acad. Science. U.S.A.* Vol. 97, No. 17, Pp. 9614-9658.

- Moerad, B. 2004. Kebijakan Pemerintah dalam Penanggulangan Wabah Avian Influenza di Indonesia. Dalam Seminar Menyikapi Dampak Flu Burung tanggal 14 Februari 2004. FKH Unair. Surabaya
- Murtidjo, B.A. 1992. Pengendalian Hama dan Penyakit Ayam. Kanisius. Yogyakarta.
- Nurchahya, E.M. dan Y.E. Widyastuti. 2003. Usaha Pembesaran Ayam Kampung Pedaging. Edisi VII. Penebar Swadaya Jakarta. Jakarta.
- Perkin, L.E.L. and Swayne D.E.. 2001. Pathobiology of A/Chicken/Hongkong/220/97/ (H5N1) Avian Influenza Virus in Seven Gallinaceus Species. Vet. Path. Vol. 38, No. 149.
- Rahardjo, A.P. 2004. Avian Influenza: Biology Virus, Diagnosa dan Evaluasi Sampel. Dalam Seminar Menyikapi Dampak Flu Burung tanggal 14 Februari 2004. FKH Unair. Surabaya.
- Rasyaf, M. 1992. Pengelolaan Usaha Peternakan Ayam Kampung. Kanisius. Yogyakarta.
- Ratriastuti. 2004. Mengenal Lebih Dekat Avian Influenza . Poultry Indonesia. Januari 2004. 43-45.
- Rudyanto, M.D. 2004. Jangan Lengah Terhadap Flu Unggas. Bali Post. www.preventconflict.org/portal/main/portalhome.php.
- Sarwono, B. 2003. Beternak Ayam Buras. Penebar Swadaya Jakarta. Jakarta.
- Shane, S. 2004. China Supressed Avian Influenza . Poultry International . Agustus. Vol. 43. No. 9, Pp. 12-14.
- Snacken, R. 1998. The Next Influenza Pandemic: Lesson From Hongkong 1997. <http://www.cdc.gov/ncid/eid/vol5no5/snacken.htm>
- Kanta, S., A. Klimov, J. Katz, H. Regnery, W. Lim, H. Hall. 1998. Characterization of Avian Influenza A (H5N1), Virus Isolated From A Child With A Fatal Respiratory Illness. Journal of Virology. Vol. 72, No 393, Pp. 5349.
- Sturm-Ramirez, K.M., T. Ellis, B. Bousfield, L. Bisset, K. Dyrting, J.E. Rehg, L. Poon, Y. Guan, M. Peiris, and R.G. Webster. 2004. Reemerging H5N1 Influenza Virus In Hongkong in 2002 are Highly Pathogenic to Duck. Journal Of Virology. Vol. 78, No. 9, Pp. 4892.

- Tabbu, R.C. 2000. Penyakit Ayam dan Penanggulangan Penyakit Bakteril, Mikal dan Viral. Kanisius. Yogyakarta. 238-243.
- Zhou, N.N., K.F. Shortridge, E. C. J. class, L.S. Krauss and R.G. Webster. 1999. Rapid Evolution of H5N1 Influenza Viruses in Chicken in Hongkong. Journal of Virology. Vol. 73, No. 4, Pp. 3366-3374.
- Zhou, N.N., D.A. Senne, J.S., Landgraf, S.L. Swenson, G. Erickson, K. Rossow, L. Liu, K. Yoon, S. Krauss and R.G. Webster. 1999. Genetic Reassortment of Avian, Swine, and Human Influenza A Viruses in American Pigs. Journal of Virology. Vol. 73, No. 10, Pp. 8851-8856.



Lampiran 1: Hasil isolasi dan identifikasi pada TAB terhadap adanya virus AI strain H5 dari usapan kloaka ayam buras dari pasar di Surabaya.

| Asal Sampel | No. Sampel | TAB 1 | | | TAB 2 | | | |
|-------------|------------|-----------------|-----------|----------------|-----------------|-----------|----------------|---|
| | | Kematian Embrio | HA | HI | Kematian Embrio | HA | HI | |
| Wonokromo | Ak1 | | - | - | | - | - | |
| | Ak2 | | - | - | | - | - | |
| | Ak3 | | - | - | | - | - | |
| | Ak4 | | - | - | | - | - | |
| | Ak5 | | - | - | | - | - | |
| | Ak6 | | - | - | | - | - | |
| | Ak7 | | - | - | | - | - | |
| | Ak8 | | - | - | | - | - | |
| | Ak9 | | - | - | | - | - | |
| | Ak10 | | - | - | | - | - | |
| | Ak11 | | - | - | | - | - | |
| | Ak12 | | - | - | | - | - | |
| | Ak13 | 4 hari PI | 4 hari PI | - | - | 4 hari PI | - | - |
| | Ak14 | | - | - | | - | - | |
| | Ak15 | 5 hari PI | 5 hari PI | - | - | 5 hari PI | - | - |
| | Ak16 | | - | - | | - | - | |
| | Ak17 | | - | - | | - | - | |
| | Ak18 | 2 hari PI | 2 hari PI | 2 ⁵ | - | 2 hari PI | 2 ⁵ | - |
| | Ak19 | | - | - | | - | - | |
| | Ak20 | | - | - | | - | - | |

| | | | | | | | |
|----------|------|-----------|----------------|--------|-----------|----------------|--------|
| Keputran | Ak21 | 4 hari PI | 2 ² | pasase | 4 hari PI | 2 ² | pasase |
| | Ak22 | | | - | | - | - |
| | Ak23 | | | - | | - | - |
| | Ak24 | 2 hari PI | 2 ³ | pasase | 2 hari PI | 2 ³ | pasase |
| | Ak25 | | | - | | - | - |
| | Ak26 | | | - | | - | - |
| | Ak27 | | | - | | - | - |
| | Ak28 | | | - | | - | - |
| | Ak29 | | | - | | - | - |
| | Ak30 | | | - | | - | - |
| | Ak31 | | | - | | - | - |
| | Ak32 | | | - | | - | - |
| | Ak33 | 2 hari PI | 2 ³ | pasase | 5 hari PI | 2 ² | pasase |
| | Ak34 | | | - | | | - |
| | Ak35 | 3 hari PI | 2 ² | pasase | 3 hari PI | 2 ² | pasase |
| | Ak36 | | | - | | - | - |
| | Ak37 | | | - | | - | - |
| | Ak38 | 2 hari PI | | - | | - | - |
| | Ak39 | | | - | | - | - |
| | Ak40 | | | - | | - | - |

| | | | | | | | |
|--------|------|-----------|-------|--------|-----------|--------|--------|
| Pabean | Ak41 | 2 hari PI | 2^3 | pasase | 2 hari PI | 2^3 | pasase |
| | Ak42 | 2 hari PI | 2^2 | pasase | 2 hari PI | 2^2 | pasase |
| | Ak43 | 1 hari PI | 2^3 | pasase | 1 hari PI | 2^3 | pasase |
| | Ak44 | 2 hari PI | 2^2 | pasase | 2 hari PI | 2^2 | pasase |
| | Ak45 | | | - | | | - |
| | Ak46 | 3 hari PI | 2^3 | pasase | 2 hari PI | 2^4 | pasase |
| | Ak47 | 2 hari PI | 2^3 | pasase | 4 hari PI | 2^3 | pasase |
| | Ak48 | 1 hari PI | 2^4 | pasase | 1 hari PI | 2^2 | pasase |
| | Ak49 | | | - | | | - |
| | Ak50 | 1 hari PI | 2^2 | pasase | 2 hari PI | 2^2 | pasase |
| | Ak51 | | | - | | | - |
| | Ak52 | 2 hari PI | 2^3 | pasase | 2 hari PI | 2^3 | pasase |
| | Ak53 | | | - | | | - |
| | Ak54 | | | - | | | - |
| | Ak55 | 1 hari PI | 2^2 | pasase | 1 hari PI | 2^2 | pasase |
| | Ak56 | | | - | | | - |
| | Ak57 | 2 hari PI | 2^6 | - | 3 hari PI | $>2^8$ | - |
| | Ak58 | 3 hari PI | 2^8 | - | 3 hari PI | $>2^8$ | - |
| | Ak59 | | | - | 2 hari PI | | - |
| | Ak60 | 3 hari PI | 2^5 | - | 3 hari PI | 2^4 | - |

| | | | | | | | |
|--------------|------|-----------|----------------|---|-----------|----------------|---|
| Pacar Keling | Ak61 | | | - | | | - |
| | Ak62 | | | - | | | - |
| | Ak63 | | | - | | | - |
| | Ak64 | 2 hari PI | 2 ⁶ | - | 2 hari PI | 2 ⁵ | - |
| | Ak65 | | | - | | | - |
| | Ak66 | | | - | | | - |
| | Ak67 | | | - | | | - |
| | Ak68 | 3 hari PI | 2 ⁶ | - | 3 hari PI | 2 ⁵ | - |
| | Ak69 | 2 hari PI | | - | 2 hari PI | | - |
| | Ak70 | 3 hari PI | 2 ⁷ | - | 2 hari PI | 2 ⁵ | - |
| | Ak71 | 3 hari PI | 2 ⁵ | - | 2 hari PI | 2 ⁴ | - |
| | Ak72 | | | - | | | - |
| | Ak73 | | | - | | | - |
| | Ak74 | | | - | | | - |
| | Ak75 | | | - | | | - |
| | Ak76 | | | - | | | - |
| | Ak77 | | | - | | | - |
| | Ak78 | | | - | | | - |
| | Ak79 | | | - | | | - |
| | Ak80 | | | - | | | - |

| | | | | | | | |
|---------|-------|-----------|----------------|---|-----------|----------------|---|
| Petemon | Ak81 | 3 hari PI | 2 ⁴ | - | 3 hari PI | 2 ⁴ | - |
| | Ak82 | | - | - | | | - |
| | Ak83 | | - | - | | | - |
| | Ak84 | | - | - | | | - |
| | Ak85 | | - | - | | | - |
| | Ak86 | | - | - | | | - |
| | Ak87 | | - | - | | | - |
| | Ak88 | 2 hari PI | 2 ⁵ | - | 2 hari PI | 2 ⁵ | - |
| | Ak89 | | - | - | | | - |
| | Ak90 | | - | - | | | - |
| | Ak91 | | - | - | | | - |
| | Ak92 | | - | - | | | - |
| | Ak93 | | - | - | | | - |
| | Ak94 | | - | - | | | - |
| | Ak95 | | - | - | | | - |
| | Ak96 | 3 hari PI | 2 ⁴ | - | 3 hari PI | 2 ⁴ | - |
| | Ak97 | 3 hari PI | 2 ⁴ | - | 3 hari PI | 2 ⁵ | - |
| | Ak98 | 3 hari PI | 2 ⁴ | - | 3 hari PI | 2 ⁵ | - |
| | Ak99 | | - | - | | | - |
| | Ak100 | | - | - | | | - |

Keterangan:

AK = Ayam kampung

PI = Post Inokulasi

Pada kolom kematian embrio yang tidak terisi, embrio belum mati sampai kurang lebih 7 hari PI sehingga harus dimatikan terlebih dahulu untuk diperiksa.

Lampiran 2: Titer Virus Hasil Pasase pada TAB

| Asal Sampel | No. Sampel | TAB 1 | | | TAB 2 | | |
|-------------|------------|-----------------|----------------|----|-----------------|----------------|----|
| | | Kematian Embrio | HA | HI | Kematian Embrio | HA | HI |
| Keputran | AK1 | 1 hari PI | 2 ⁸ | - | 1 hari PI | 2 ⁸ | - |
| | AK4 | 2 hari PI | 2 ⁸ | - | 2 hari PI | 2 ⁸ | - |
| | AK13 | 2 hari PI | 2 ⁸ | - | 2 hari PI | 2 ⁸ | - |
| | AK15 | 2 hari PI | 2 ⁸ | - | 2 hari PI | 2 ⁸ | - |
| Pabean | AK41 | 2 hari PI | 2 ⁸ | + | 2 hari PI | 2 ⁸ | + |
| | AK42 | 2 hari PI | 2 ⁸ | + | 2 hari PI | 2 ⁸ | + |
| | AK43 | 2 hari PI | 2 ⁸ | + | 2 hari PI | 2 ⁸ | + |
| | AK44 | 1 hari PI | 2 ⁸ | + | 2 hari PI | 2 ⁸ | + |
| | AK46 | 2 hari PI | 2 ⁸ | + | 2 hari PI | 2 ⁸ | + |
| | AK47 | 2 hari PI | 2 ⁸ | - | 2 hari PI | 2 ⁸ | - |
| | AK48 | 1 hari PI | 2 ⁸ | + | 2 hari PI | 2 ⁸ | + |
| | AK49 | 1 hari PI | 2 ⁸ | - | 2 hari PI | - | - |
| | AK50 | 1 hari PI | 2 ⁸ | + | 2 hari PI | 2 ⁸ | + |
| | AK52 | 1 hari PI | 2 ⁸ | + | 2 hari PI | 2 ⁸ | + |
| | AK55 | 1 hari PI | 2 ⁸ | + | 1 hari PI | 2 ⁸ | + |

Dari hasil diatas dapat diketahui tingginya titer virus setelah pasase.

Keterangan:

AK = Ayam kampung

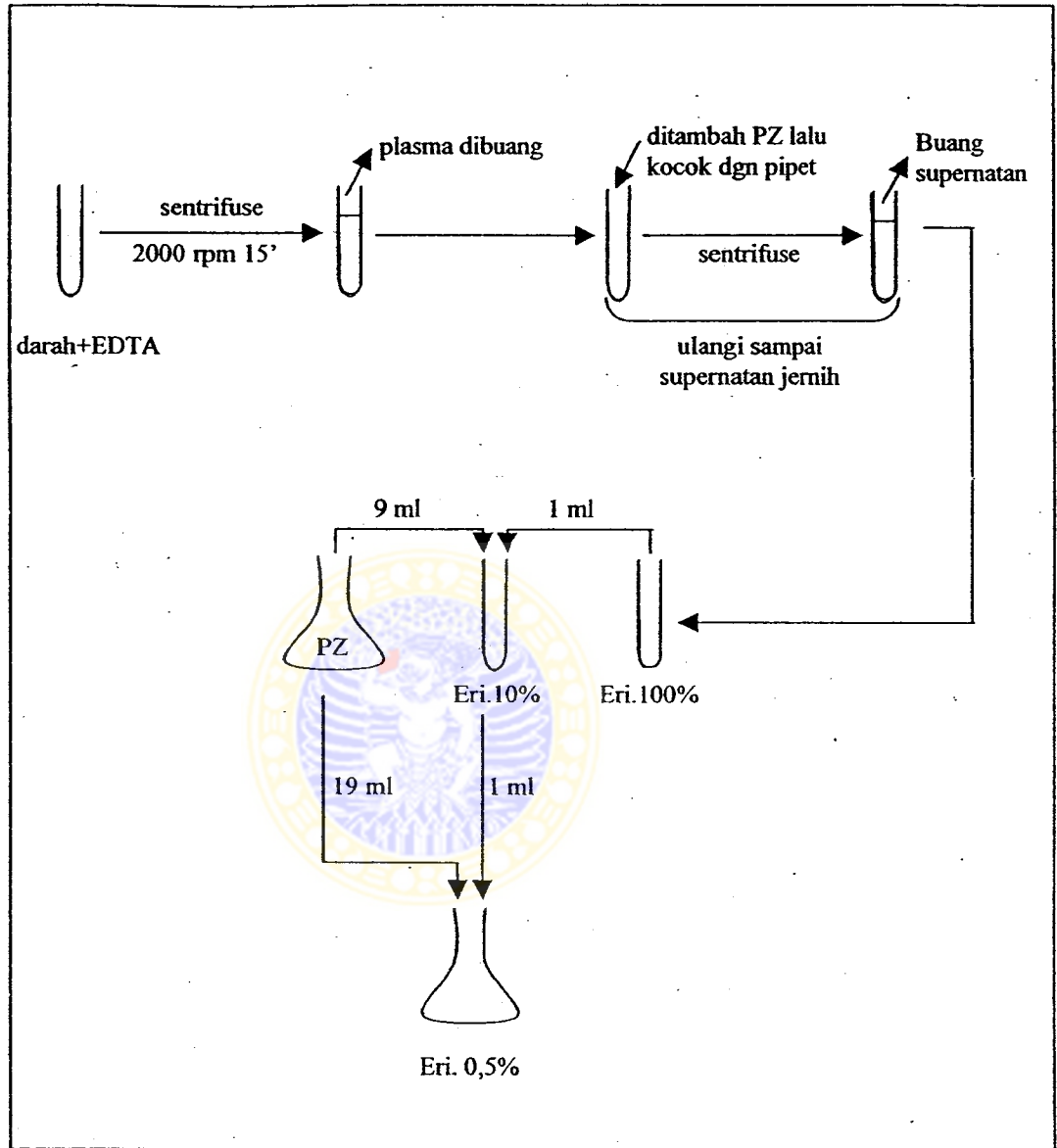
PI = Post Inokulasi

Pada kolom kematian embrio yang tidak terisi, embrio belum mati sampai kurang lebih 7 hari PI sehingga harus dimatikan terlebih dahulu untuk diperiksa.

Lampiran 3: Hasil Uji HA/HI Isolat Virus AI H5 Ayam Buras dari Pasar Pabean Surabaya

| No. Sampel | Hasil Isolasi Awal | | | | | | Hasil Isolasi Setelah Pasase ke-1 Pada TAB | | | | | |
|---------------|--------------------|----------------|--------|-----------------|----------------|--------|--|----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|
| | TAB 1 | | | TAB 2 | | | TAB1 | | | TAB 2 | | |
| | Kematian Embrio | HA | HI | Kematian Embrio | HA | HI | Kematian Embrio | HA | HI | Kematian Embrio | HA | HI |
| AK41 | 2 hari PI | 2 ³ | pasase | 2 hari PI | 2 ³ | pasase | 2 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ | 2 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ |
| AK42 | 2 hari PI | 2 ² | pasase | 2 hari PI | 2 ² | pasase | 2 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ | 2 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ |
| AK43 | 1 hari PI | 2 ³ | pasase | 1 hariPI | 2 ³ | pasase | 2 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ | 2 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ |
| AK44 | 2 hari PI | 2 ² | pasase | 2 hari PI | 2 ² | pasase | 1 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ | 2 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ |
| AK46 | 3 hari PI | 2 ³ | pasase | 2 hari PI | 2 ² | pasase | 2 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ | 2 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ |
| AK47 | 2 hari PI | 2 ³ | pasase | 4 hari PI | 2 ³ | pasase | 2 hari PI | 2 ⁸ | - | 2 hari PI | 2 ⁸ | - |
| AK48 | 1hari PI | 2 ³ | pasase | 1 hariPI | 2 ² | pasase | 1 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ | 2 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ |
| AK49 | 2 hari PI | 2 ³ | pasase | 2 hari PI | 2 ³ | pasase | 1 hari PI | 2 ⁸ | - | 2 hari PI | - | - |
| AK50 | 1 hari PI | 2 ² | pasase | 2 hari PI | 2 ² | pasase | 1 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ | 2 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ |
| AK52 | 2 hari PI | 2 ³ | pasase | 2 hari PI | 2 ³ | pasase | 1 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ | 2 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ |
| AK55 | 1 hari PI | 2 ² | pasase | 1 hariPI | 2 ² | pasase | 1 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ | 1 hari PI | 2 ⁸ | 2 ⁶ |

Gambar 1. Pembuatn Eritrosit Ayam 0,5%



Gambar 2.

A. Titrasi Antigen

| Sumuran no. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|--|---|---|---|----|----|----|-----|-----|-----|-----|----------|---------|
| PZ | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Antigen | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | buang 1 |
| Eritrosit 0,5% | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Inkubasi pada suhu kamar selama 30 menit | | | | | | | | | | | | |
| Pengenceran | 2 | 4 | 8 | 16 | 32 | 64 | 128 | 256 | 512 | dst | kont.eri | |

Keterangan: - PZ → 1 = 0,025 ml
 - Antigen → 1 = 0,025 ml
 - Eritrosit 0.5% → 1 = 0,05 ml

B. Retitrasi Antigen 4 HA Unit

| Sumuran no. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|--|---|---|---|----|----------|---------|---|---|---|----|----|----|
| PZ | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | | | | | | | |
| Antigen | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | buang 1 | | | | | | |
| Eritrosit 0,5% | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | | | | | | | |
| Inkubasi pada suhu kamar selama 30 menit | | | | | | | | | | | | |
| Pengenceran | 2 | 4 | 8 | 16 | kont.eri | | | | | | | |

Keterangan: - PZ → 1 = 0,025 ml
 - Antigen → 1 = 0,025 ml
 - Eritrosit 0,5% → 1 = 0,05 ml

Catatan : aglutinasi hanya terjadi sampai pada sumuran nomor 2.

Gambar 3. Skema Uji HI Mikroteknik

| Sumuran no. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|--|---|---|---|----|----|----|-----|-----|-----|-----|------------|----------|
| PZ | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Serum | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Antigen 4 HA Unit | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Inkubasi pada suhu kamar selama 15 menit | | | | | | | | | | | | |
| Eritrosit 0,5% | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Inkubasi pada suhu kamar selama 30 menit | | | | | | | | | | | | |
| Pengenceran | 2 | 4 | 8 | 16 | 32 | 64 | 128 | 256 | 512 | dst | Kont serum | Kont eri |

Keterangan:

- PZ → 1 = 0,025 ml
- Serum → 1 = 0,025 ml
- Antigen → 1 = 0,025 ml
- Eritrosit 0,5% → 1 = 0,05 ml

Gambar 4. Foto-foto Penelitian



Proses pengambilan sampel darah ayam buras



Alat dan bahan pemeriksaan HA/HI mikrotehnik



TAB yang akan diperiksa setelah diinokulasi hasil usapan kloaka ayam buras