

SKRIPSI

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI VIRUS AVIAN INFLUENZA
SUB TIPE H5 DARI SWAB KLOAKA ITIK YANG
DIPERDAGANGKAN DI PASAR SEPANJANG
KABUPATEN SIDOARJO**



Oleh :

MUHAMMAD IRFAN

NIM 061211132009

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2016**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI VIRUS AVIAN INFLUENZA SUB TIPE H5
DARI SWAB KLOAKA ITIK YANG DIPERDAGANGKAN DI PASAR
SEPANJANG KABUPATEN SIDOARJO**

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

MUHAMMAD IRFAN

061211132009

Menyetujui

Komisi Pembimbing,


(Adi Prijo Rahardjo, M.Kes., drh.)
Pembimbing Utama

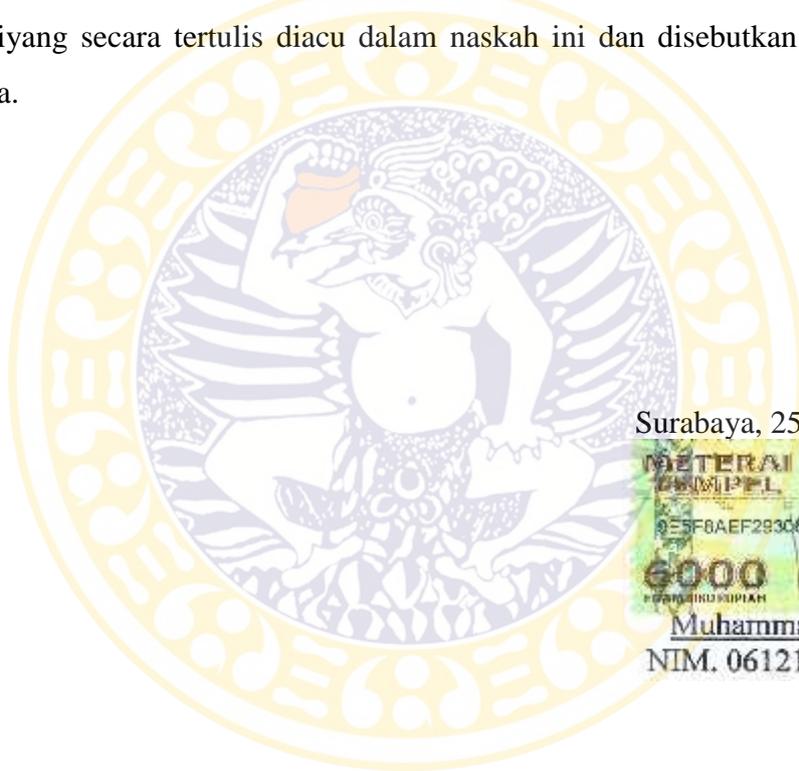

(Dr. Eka Pramytha H, M.Kes., drh)
Pembimbing Serta

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul:

Isolasi dan Identifikasi Virus *Avian Influenza* Sub Tipe H5 dari *Swab* Kloaka Itik yang Diperdagangkan di Pasar Sepanjang Kabupaten Sidoarjo

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.



Surabaya, 25 Juli 2016

METERAI
PENGIPPL

9E5F0AEF293082365

6000
PENGALIHAN KUPAH

Muhammad Irfan

NIM. 061211132009

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 29 Juli 2016

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

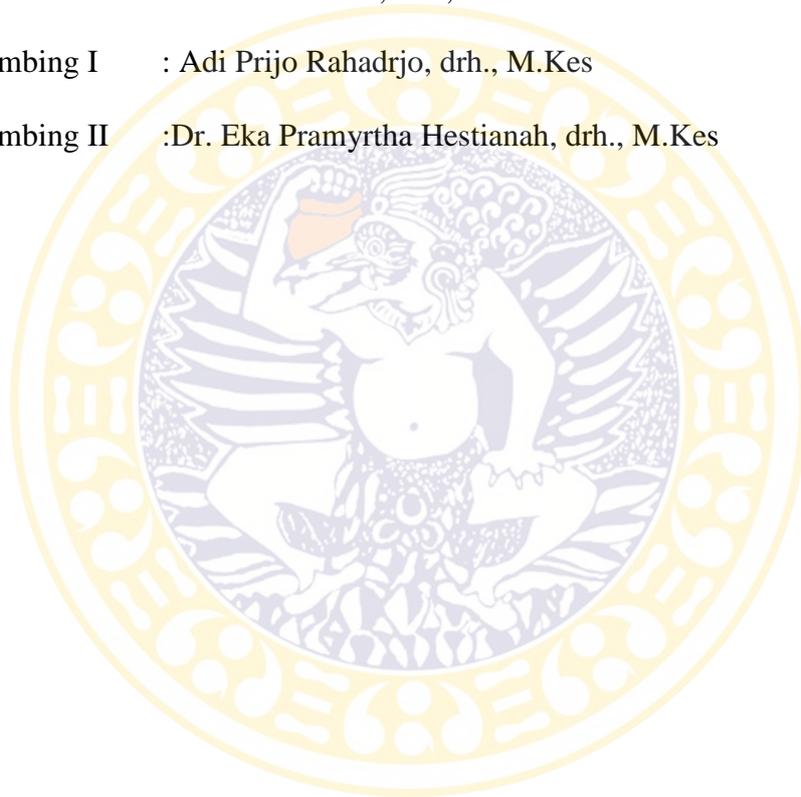
Ketua : Prof. Dr. Suwarno, drh., M.Si

Sekretaris : Dr. Kadek Rachmawati, drh., M.Kes

Anggota : Dr. Soeharsono, drh., M.S

Pembimbing I : Adi Prijo Rahadrjo, drh., M.Kes

Pembimbing II : Dr. Eka Pramytha Hestianah, drh., M.Kes



Telah diuji pada

Tanggal : 6 September 2016

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

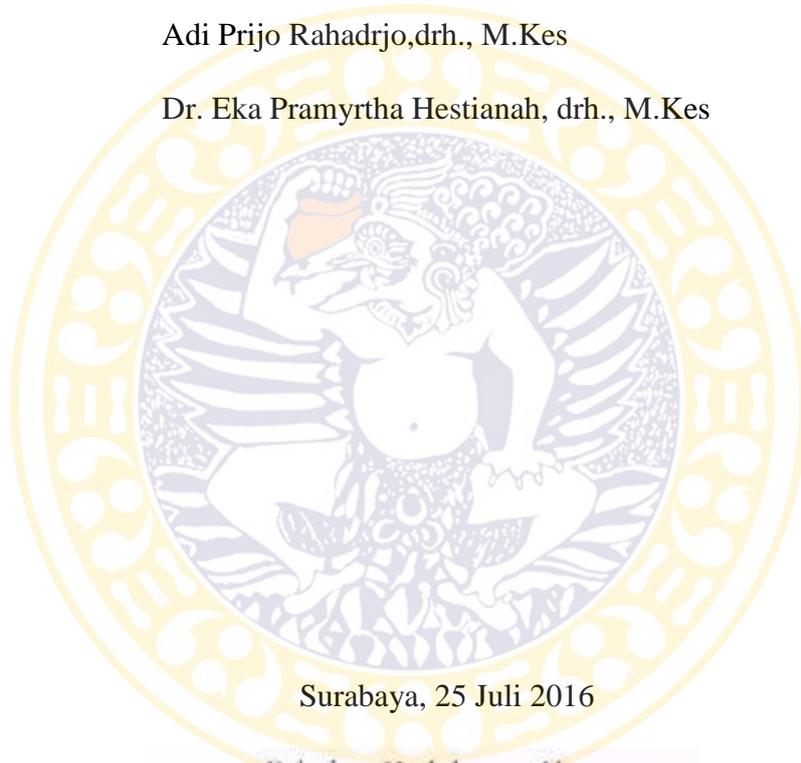
Ketua : Prof. Dr. Suwarno, drh., M.Si

Anggota :Dr. Kadek Rachmawati, drh., M.Kes

Dr. Soeharsono, drh., M.S

Adi Prijo Rahadrjo, drh., M.Kes

Dr. Eka Pramytha Hestianah, drh., M.Kes



Surabaya, 25 Juli 2016

Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga
Dekan,

Prof. Des Puji Srianto, drh., M. Kes
NIP. 195601051986011001

The text is accompanied by an official blue ink stamp of the Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga. Overlaid on the stamp is a handwritten signature in black ink.

**ISOLATION AND IDENTIFICATION OF AVIAN INFLUENZA VIRUS
SUB TYPE H5 FROM CLOACAL SWABS OF DUCKS SOLD IN
SEPANJANG MARKET SIDOARJO**

Muhammad Irfan

ABSTRACT

The aim of this study is to detect the presence of Avian Influenza H5 subtype viruses on ducks sold in Sepanjang live bird market. Samples for virus isolation were taken from ducks by pooling cloacal swabs. One pooled sample contained three individual samples. Swab samples were inoculated in SAN (Specific Antibody Negative) 9-11 days embryoned chicken eggs, then were incubated at 37°C for 5 days. At fifth day, the allantoic fluids from embryoned chicken eggs were harvested, then they were tested using HA test. HA test was positive when hemagglutination of chicken red blood cells was shown. The positive allantoic fluids were continued for HI test. HI test was positive when inhibition of hemagglutination was shown, that was signed by unagglutinated, sedimented erythrocytes on the base of microplate's wells. The result for this study showed that from 100 pooled samples; that came from 300 ducks; there was 18 pooled sample (18%) had Avian Influenza H5 subtype viruses.

Keyword: *Avian Influenza*, ducks, HI test, cloacal swab, live bird market

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur Kehadirat Allah SWT atas karunia yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi dengan judul **Isolasi dan Identifikasi Virus Avian Influenza Sub Tipe H5 dari Swab Kloaka Itik yang Diperdagangkan di Pasar Sepanjang Kabupaten Sidoarjo.**

Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi dengan baik, antara lain :

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Prof. Pudji Srianto, drh., M.Kes. serta dekan periode tahun 2010-2015, Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph.D., atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, drh. M.Sc., selaku Wakil Dekan I, Dr. Mufasirin, drh., M.Si., selaku Wakil Dekan II, Prof. Dr. Suwarno, drh., M.Si. selaku Wakil Dekan III, serta Prof. Dr. Rr. Sri Pantja Madyawati, drh., M.Si., selaku Kepala Bagian Akademik atas bimbingannya kepada penulis selama belajar di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Adi Prijo Rahardjo, drh., M.Kes. selaku dosen pembimbing pertama dan Dr. Hj, Eka Pramytha Hestianah, drh., M.Kes., PAVet(K). selaku pembimbing kedua, atas ilmu, saran, motivasi, bimbingan, dan masukan serta telah banyak memberikan literatur dalam skripsi saya.

Prof. Dr. Suwarno, drh., M.Si. selaku ketua komisi penguji, Dr. Kadek Rachmawati, drh., M.Kes. selaku sekretaris komisi penguji, dan Dr. Soeharsono,

drh., M.Si. selaku anggota komisi penguji, atas ilmu, koreksi, bimbingan dan masukan kepada penulis, sehingga banyak membantu penulis dalam penyusunan skripsi ini.

M. Gandul Atik Yuliani, drh., M.Kes., selaku dosen wali atas bimbingan akademik yang diberikan selama menjadi mahasiswa di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Seluruh staf pengajar di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas bantuan dalam penelitian dan wawasan ilmu selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, semoga penulis bisa mengamalkan ilmu yang telah diberikan.

Seluruh staf Kependidikan, Bagian Akademik, Bagian Keuangan, Bagian Tata Usaha, dan Bagian sistem Informasi yang telah banyak membantu penulis selama belajar di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Orang tua penulis, Bapak Gunadi, Ibu Karwati dan kedua kakak penulis, Sarofah dan Endrik Susilo yang selalu memberikan dukungan, doa, bimbingan, dan motivasi yang tiada henti kepada penulis untuk menjadi lebih baik.

Sahabat seperjuangan antara lain : Diana, Risky, Cakra, Yossi, Kholiqul, Zainul, Sevia, Hima, Mety, Novita, Chandra, May dan Aisyah yang selalu memberikan motivasi, saran dan masukan kepada penulis. Teman-teman seperjuangan yang selalu memberikan semangat dan dorongan kepada penulis yaitu teman-teman Paguyuban Duta Universitas Airlangga, Paguyuban Duta Pariwisata Sidoarjo, UKM Penalaran, UKM Teater Mata Angin, Sebaya, teman-teman FKH angkatan 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, dan 2015 dan teman-teman penulis lain yang belum disebutkan.

Harapan terakhir penulis, semoga Skripsi ini dapat memberikan manfaat khususnya bagi penulis dan dapat menjadi referensi bagi banyak pihak, oleh karena itu penulis menerima kritik dan saran untuk kesempurnaan penyusunan makalah penelitian selanjutnya.

Surabaya, 25 Juli 2016

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iii
ABSTRACT.....	vi
UCAPAN TERIMAKASIH	vii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Landasan Teori.....	5
1.4 Tujuan Penelitian	8
1.5 Manfaat Penelitian	8
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Virus <i>Avian Influenza</i>	9
2.1.1 Etiologi virus avian influenza	9
2.1.2 Sifat virus.....	10
2.1.3 Tingkat keganasan virus.....	11
2.1.4 Penularan virus avian influenza.....	12
2.1.5 Patogenesis penyakit avian influenza	13
2.1.6 Gejala klinis	15
2.1.7 Diagnosis dan diagnosis banding	15
2.1.8 Pencegahan dan pengendalian	16
2.2 Tinjauan tentang itik.....	17
2.3 Tinjauan tentang pasar unggas	20
BAB 3 MATERI DAN METODE.....	22
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	22
3.2 Besaran Sampel.....	22
3.3 Materi Penelitian.....	22
3.3.2 Alat penelitian.....	23
3.4 Metode Penelitian	23
3.4.1 Persiapan prapengambilan sampel	23
3.4.1.1 Pembuatan media transport.....	23
3.4.2 Teknik pengambilan sampel	23
3.4.3 Preparasi sampel di laboratorium	24
3.4.4 Isolasi virus	24

3.4.4.1 Inokulasi virus pada TAB	24
3.4.5 Deteksi virus avian influenza.....	25
3.4.5.1 Pembuatan suspensi eritrosit ayam 0,5 %	25
3.4.5.2 Uji HA mikroteknik cairan allantois	26
3.4.5.3 Pembuatan antigen 4 HA unit	27
3.4.6 Identifikasi virus avian influenza sub tipe H5	28
3.4.6.1 Uji HI mikroteknik	28
3.5 Analisis Data	29
3.6 Diagram Alur Penelitian	30
BAB 4 HASIL PENELITIAN	31
4.1 Hasil Isolasi Virus <i>Avian Influenza</i> Sub Tipe H5 Berdasarkan Waktu Pengambilan Sampel.....	31
4.2 Hasil Isolasi dan Identifikasi Virus <i>Avian Influenza</i> Sub Tipe H5 Melalui Uji HI-AI/H5	33
BAB 5 PEMBAHASAN	34
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	38
6.1 Kesimpulan.....	38
6.2 Saran.....	38
RINGKASAN	39
DAFTAR PUSTAKA.....	42
LAMPIRAN.....	49

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
3.1	Skema Uji HI Mikroteknik.....	28
4.1	Hasil Isolasi Virus <i>Avian Influenza</i> Sub Tipe H5 Berdasarkan Waktu Pengambilan Sampel.....	31
4.2	Hasil Isolasi dan Identifikasi Virus <i>Avian Influenza</i> Sub Tipe H5 Melalui Uji HI-AI/H5.....	33



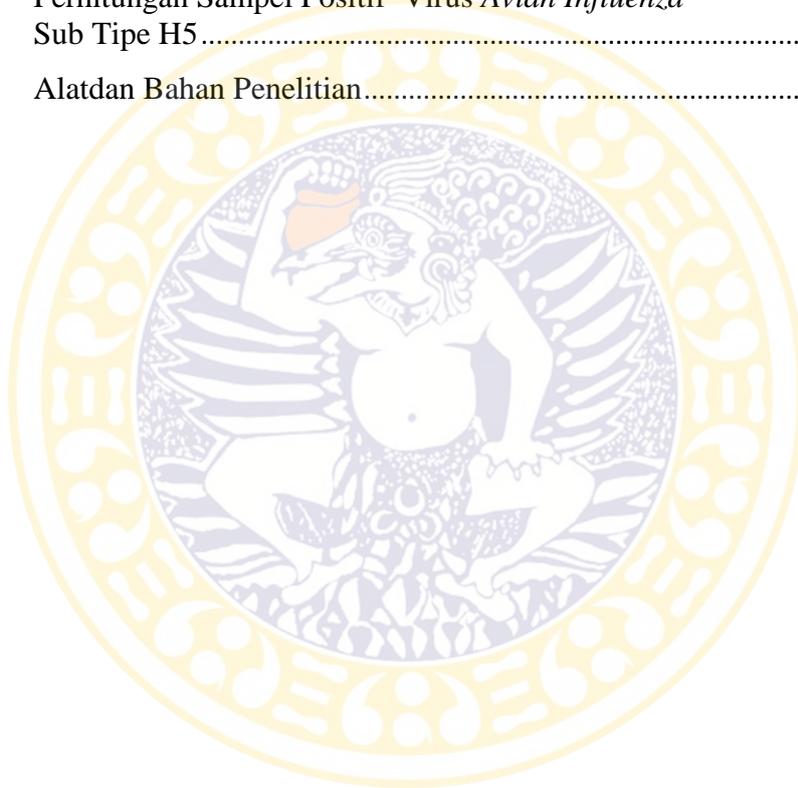
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur Virus <i>Avian Influenza</i>	10
2.2 Itik Mojosari.....	17
2.3 Itik Hibrida.....	18
3.1 Skema Alur Kerja.....	30



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Uji HA Mikroteknik	49
2. Skema Uji HI Mikroteknik	50
3. Data Hasil Uji HA (<i>Haemmaglutination</i>) dan Uji HI (<i>Haemmaglutination Inhibition</i>)	51
4. Perhitungan 4 HAU	54
5. Perhitungan Sampel Positif <i>Virus Avian Influenza</i> Sub Tipe H5	55
6. Alatan dan Bahan Penelitian	56



SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

AI	= <i>Avian Influenza</i>
BPPP	= Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian
CDC	= <i>Centers of Disease Control and Prevention</i>
Ditjennak	= Direktorat Jenderal Peternakan
ELISA	= <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
HA	= Hemaglutinasi
HAU	= Hemaglutinasi Unit
HI	= Hemaglutinasi Inhibisi
HPAI	= <i>Highly Pathogenic Avian Influenza</i>
IP2TP	= Instansi Penelitian dan Pengkajian Teknologi Pertanian
IVPI	= <i>Intravenous Pathogenecity Index</i>
IU	= <i>International Unit</i>
LPAI	= <i>Low Pathogenic Avian Influenza</i>
M	= <i>Matriks</i>
MERS CoV	= <i>Middle East Respiratory Syndrome Corona Virus</i>
MDCK	= <i>Madine Darby Canine Kidney</i>
NA	= Neuraminidase
nm	= nanometer
NP	= Nukleoprotein
NS	= Non struktural protein
OIE	= <i>Office International des Epizooties</i>
PA	= Polimerase A
PB1	= <i>Polymerase Basic Protein 1</i>
PB2	= <i>Polymerase Basic Protein 2</i>
PBS	= <i>Phospat Buffer Saline</i>
Puslitbangnak	= Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan
RBC	= <i>Red Blood Cells</i>
RDE	= <i>Receptor Destroying Enzyme</i>
RER	= <i>Reticulum Endoplasma Rough</i>
RNP	= Ribonukeloprotein
RT-PCR	= <i>Real Time – Polymerase Chain Reaction</i>
rpm	= rotasi per menit
SAN	= <i>Specific Antibody Negative</i>
SARS	= <i>Severe Acute Respiratory Syndrome</i>
SPF	= <i>Specific Pathogenic Free</i>
TAB	= Telur Ayam Berembrio
WHO	= <i>World Health Organization</i>
µl	= Mikro liter

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit influenza unggas (*Avian Influenza*), atau lebih dikenal sebagai “Fowl Plaque”, pertama kali dilaporkan pada tahun 1878 di Italia oleh Perrocinto. Virus *Avian Influenza* (AI) subtipe H5N1 merupakan salah satu golongan *Highly Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) yang dapat menyebabkan infeksi sistemik (WHO, 2006). Virus HPAI menyebabkan terjadinya wabah *Avian Influenza* pada unggas peliharaan, terutama unggas air. Unggas air merupakan reservoir semua subtipe H dan N virus *Avian Influenza*, virus ini bereplikasi dalam jumlah besar di dalam saluran pencernaan tanpa menimbulkan gejala (Olsen *et al.*, 2006). Infeksi virus HPAI dapat menyebabkan mortalitas mendekati 100% dan kerugian ekonomis yang sangat besar pada industri ternak unggas, sehingga virus HPAI mendapat perhatian yang sangat besar di dunia veteriner sebagai penyakit yang wajib dilaporkan kepada pihak yang berwenang (Werner dan Harder, 2006).

Virus HPAI subtipe H5N1 terdeteksi pertama kali pada tahun 1996 di Provinsi Guangdong, ketika menginfeksi unggas air (*geese*), namun belum banyak menarik perhatian, setelah pada tahun 1997 virus ini dari Guangdong menyebar dan menyerang peternakan ayam di Hongkong. Penularan virus HPAI terjadi pada manusia menyebabkan kematian 6 dari 18 orang yang terinfeksi, barulah kasus H5N1 menjadi perhatian dunia (Guan *et al.*, 2009). Antara tahun 2001-2004, dari Guangdong menyebar ke Yunnan dan Hunan (China Selatan), berikutnya dari Yunan menyebar ke Vietnam, Thailand dan Malaysia, kemudian dari Hunan diantaranya menyebar ke Indonesia (Frederika *et al.*, 2013 ; OIE, 2014). Indonesia

merupakan salah satu dari lima negara yang dinyatakan endemik *Avian Influenza* subtipe H5N1 pada unggas (FAO, 2011; Daniels P *et al.*, 2012).

Virus *Avian Influenza* subtipe H5N1 dapat ditemukan secara alami pada burung liar dan menyerang unggas, spesies burung dan hewan yang lain (CDC, 2014). Wabah penyakit *Avian Influenza* subtipe H5N1 terjadi di Indonesia sejak pertengahan tahun 2003 (Raharjo, 2004 ; Smith *et al.*, 2006). Pada Unggas penyakit ini dapat menyebabkan gangguan pada sistem pernafasan, sistem pencernaan dan sistem syaraf. Pada perkembangannya virus ini dapat menginfeksi mamalia, binatang peliharaan dan manusia (Alexander, 2000). Unggas yang terserang pada umumnya adalah ayam petelur, ayam pedaging, bebek dan puyuh. *Avian Influenza* di Indonesia disebabkan oleh virus H5N1 *clade* 2.1.3 dan *clade* 2.3.2. Virus H5N1 dengan *clade* 2.1.3 menyerang unggas, terutama ayam dan manusia sedangkan *clade* 2.3.2 menyebabkan kematian pada itik (Puslitbangnak, 2013).

Virus *Avian Influenza* tidak hanya mengancam kesehatan hewan, tetapi juga berdampak pada kesehatan manusia. Berdasarkan *World Health Organization* (WHO), *Avian Influenza* diklasifikasikan sebagai salah satu penyakit zoonosis dimana tercatat total kasus pada manusia di Indonesia sebanyak 163 orang meninggal dari 195 kasus (WHO, 2014). Penyakit ini mempunyai dampak yang luas karena menyebabkan tingkat mortalitas dan morbiditas tinggi, sehingga bisnis perunggasan terkena imbasnya antara lain peternak, pedagang dalam berbagai tingkat, termasuk perusahaan pemotongan ayam (Ilham dan Yusdja, 2010).

Pasar unggas sangat berpotensi sebagai tempat penularan virus *Avian Influenza*. Sebagian besar orang yang terinfeksi virus *Avian Influenza* di Hongkong pada tahun 1997 diduga akibat kontak dengan unggas yang dijual di

pasar unggas. Virus AI H5N1 juga dapat ditemukan pada unggas yang dijual di pasar unggas di berbagai negara seperti China, Hongkong, Thailand, dan Indonesia (Webster, 2004). Di negara-negara berkembang, salah satu sumber penyebaran penyakit AI adalah *live bird market* atau *wet market*, unggas-unggas dari berbagai daerah di tempatkan pada satu tempat sehingga bercampur (Kyaw *et al.*, 2008). Pasar unggas memiliki kontribusi terhadap kejadian wabah HPAI baik sebagai sumber penyebaran penyakit bagi unggas atau sumber penularan penyakit bagi manusia (FAO, 2009). Kasus flu burung pertama kali dilaporkan di Indonesia pada tahun 2003. Penyakit ini ditemukan pertama kali di beberapa peternakan ayam komersial di Jawa Barat dan Jawa Tengah yang kemudian meluas ke berbagai provinsi di Indonesia hingga menyerang Jawa Timur (Widiasih dkk., 2006). Kematian itik di Jawa Timur mencapai 80.049 ekor dan tersebar di 22kabupaten/kota (BPPP, 2013).

Itik adalah salah satu unggas air sebagai sumber AI H5N1 pada wabah di Cina tahun 2000-2004 (Chen *et al.*,2004) dan Hongkong tahun 2001 (Sturm-Ramirez *et al.*,2005). Itik liar dapat berpindah atau bermigrasi dalam jarak yang sangat jauh dan diduga berperan sebagai carrier virus AI dari satu daerah ke daerah yang lain (Nagy *et al.*, 2009). Penelitian di Pakistan menunjukkan bahwa 15% itik dan angsa merupakan reservoir AI H5N1 (Khawaja *et al.*,2005). Di dalam tubuh itik, virus HPAI bertahan tanpa menimbulkan kematian sehingga dapat bertindak sebagai reservoir penyebar penyakit AI dengan cara disekresikan melalui kloaka atau kotoran (Fouchier *et al.*, 2003).

Perkembangan peternakan itik semakin maju terlihat dari meningkatnya permintaan pasar. Peternakan itik biasanya ditenakkan secara intensif. Itik

disukai konsumen sebagai sumber protein asal unggas baik daging maupun telurnya. Lokasi dari peternakan itik yang dekat dengan peternakan unggas lainnya akan dapat memicu terjadinya wabah AI H5N1 pada ternak ayam, burung puyuh serta unggas lainnya, selain itu juga dapat menjadi sumber penularan bagi manusia disekitarnya (IP2TP Jakarta, 2000).

Pasar Sepanjang adalah pasar tradisional di Kecamatan Taman Kabupaten Sidoarjo. Pasar Sepanjang beroperasi setiap hari dengan jumlah pengunjung cukup banyak, di pasar ini terdapat pasar unggas yang menjual berbagai unggas, hidup seperti ayam, bebek, entog, angsa dan burung berkicau. Unggas yang diperdagangkan berasal dari Mojosari, Lumajang, Sidoarjo dan Jombang diletakkan di tempat distribusi unggas dengan jadwal distribusi dan sub-lokasi yang berbeda namun dalam satu lokasi. Itik yang akan dipotong diletakkan dalam kandang yang sangat sempit dengan sirkulasi udara terbatas. Bahkan itik dicampur dengan ayam dalam satu tempat. Pada tempat pemotongan unggas sirkulasi kurang baik, kebersihan kurang terjaga, serta ketersediaan air yang terbatas, di lokasi itu, itik dan ayam dipotong dan dibersihkan sebelum didistribusikan ke pedagang di pasar Sepanjang untuk dijual dalam bentuk karkas pada masyarakat. Unggas yang dibawa atau dijual kadangkala tidak berasal dari satu peternakan saja, tetapi mengambil dari beberapa peternak, sehingga kondisi tersebut semakin memperbesar kemungkinan penularan antar itik. Cuaca lembab pada musim hujan dapat menjadi salah satu pemicu perkembangan virus AI, di Indonesia puncak musim hujan terjadi pada bulan desember – pertengahan Maret. Kelembaban yang tinggi menjadi faktor pendukung terhadap perkembangan dan penyebaran virus *Avian Influenza* dapat bertahan lama di lingkungan luar (Yan, 2014).

Dinamika kasus *Avian Influenza* di Pasar Sepanjang Kabupaten Sidoarjo belum pernah dilaporkan. Diduga unggas yang diperdagangkan di Pasar Sepanjang Sidoarjo berasal dari daerah yang berpotensi menyebabkan terjadinya penyebaran virus AI subtipe H5, sehingga perlu dilakukan pengambilan sampel *swab*kloaka pada itik di pasar tradisional. Beberapa penyakit dapat menunjukkan gejala tersebut diantaranya adalah HPAI.

Berdasarkan latar belakang, maka diperlukan penelitian lebih lanjut untuk memberikan penjelasan ilmiah mengenai kemungkinan itik yang berasal dari Mojosari, Lumajang, Sidoarjo dan Jombang sebagai *carrier* virus *Avian Influenza*. Pemantauan virus *Avian Influenza* di pasar tradisional diharapkan dapat menjadi peringatan dini yang harus diterapkan di negara – negara Asia (Amonsin *et al.*, 2010).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah apakah virus *Avian Influenza* subtipe H5 dapat diisolasi dan diidentifikasi dari sampel *swab* kloaka itik yang diperdagangkan di Pasar Sepanjang Kecamatan Taman Kabupaten Sidoarjo?

1.3 Landasan Teori

Virus *Avian Influenza* subtipe H5N1 merupakan virus RNA *single strandedsense negative* dan mempunyai amplop. Virus ini diklasifikasikan dalam kelompok *Highly Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) berdasarkan patogenitasnya (Hewajuli dan Dharmayanti, 2012). Virus *Highly Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) bereplikasi pada alat pernafasan, pencernaan, sistem syaraf dan beredar ke seluruh tubuh dengan tingkat kematian yang tinggi yaitu mencapai 100%. Virus

yang bersifat *Highly Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) seperti H5 mudah bermutasi dan keganasannya ditentukan oleh waktu, tempat, dan inang yang terinfeksi (Raharjo, 2004; Choi *et al.*, 2005). Proses mutasi ini dapat melalui mekanisme *antigenic drift* dan *antigenic shift*. *Antigenic drift* merupakan mutasi yang terjadi secara minor dan perlahan melalui proses mutasi titik dan dapat menyebabkan epidemi influenza, sedangkan *antigenic shift* dapat menyebabkan pandemi influenza. *Antigenic shift* timbul karena adanya genetik *ressortment* antara virus influenza dengan subtype yang berbeda. Pemantauan sirkulasi H5N1 dan virus influenza lainnya merupakan suatu tindakan yang penting, terutama virus yang telah diisolasi dari daerah yang endemik virus HPAI H5N1 (Wibawa *et al.*, 2012). Virus *Highly Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) dapat diisolasi dari beberapa jenis unggas dan mamalia (Spackman, 2007).

Sekali suatu daerah terpapar virus H5N1 maka penyebaran virus sangat mungkin terjadi (Gilbert *et al.*, 2007), didukung pula dengan sistem perdagangan lokal di pasar unggas yang kurang memperhatikan manajemen pasar yang baik, sanitasi serta tata lokasi pasar unggas. Peran dari pembeli dan pedagang memiliki potensi dalam penyebaran virus. (Anthara *et al.*, 2009). Pada akhir 2012 banyak di temukan kasus kematian pada itik karena AI H5N1 yang awalnya diperkirakan karena adanya virus AI ternyata setelah di amati kasus kematian unggas yang banyak pada ayam, maupun puyuh sebelum agustus 2012 disebabkan oleh H5N1 clade 2.1.2, sedangkan H5N1 yang menyerang itik di akhir 2012 adalah clade 2.3.2, clade 2.3.2 awalnya muncul di daratan Cina dan akhirnya masuk ke Indonesia (Olsen *et al.*, 2006; DEPTAN, 2013). Itik merupakan reservoir alami virus *Avian Influenza* dan berperan penting terhadap ekologi dan propagasi virus.

Virus ini biasanya dapat ditularkan ke unggas lain, mamalia termasuk manusia dan dapat menyebabkan wabah penyakit yang sangat parah atau mematikan (Hewajuli dan Dharmayanti, 2012).

Prinsip pengendalian merupakan hal yang penting dalam kontrol dan pencegahan penyakit ini, yaitu meliputi dan pemberantasan yang efektif yaitu: program monitoring dan survei nasional yang menyeluruh dan terintegrasi, pendidikan peternak dan pekerja lainnya termasuk dokter hewan dan paramedis mengenai pengendalian lalu lintas unggas dan produk unggas serta limbah peternakan tertular, penggunaan vaksin sebagai salah satu elemen program pengendalian dan pemberantasan (Rahardjo, 2004).

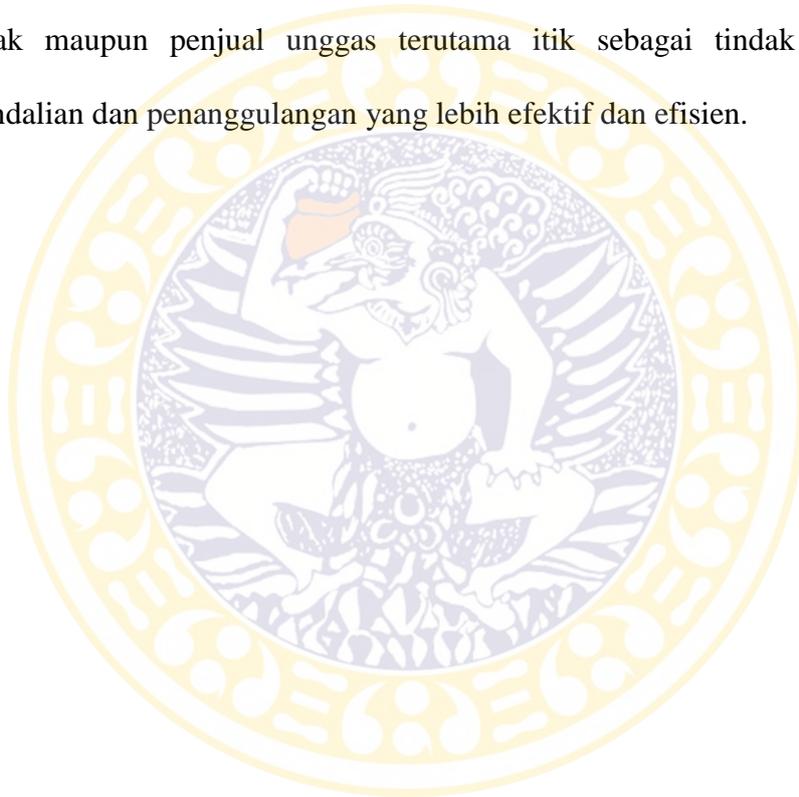
Sampel virus *Avian influenza* berasal dari *swab* kloaka itik, karena intestinum merupakan tempat untuk bereplikasi virus *Avian influenza*, sehingga ekskresi virus dengan titer tertinggi diperoleh dari feses (Horimoto dan Kawaoka, 2001). Virus *Avian Influenza* yang dicampur dengan eritrosit ayam dapat menyebabkan hemaglutinasi karena terjadinya interaksi antar permukaan glikoprotein virus HA dengan reseptor permukaan eritrosit, sedangkan serum spesifik digunakan untuk mengidentifikasi subtipe H dari virus *Avian Influenza* yang dikoleksi. Pengambilan sampel *swab* kloaka itik merupakan Uji Virologi. Untuk mengetahui adanya hemaglutinin pada virus dapat menggunakan Uji Hemaglutinasi (HA) dan untuk identifikasi virus dapat menggunakan Uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI) (Wibowo dkk, 2006).

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya virus *Avian Influenza* sub tipe H5 pada itik yang diperdagangkan di Pasar Sepanjang Kecamatan Taman Kabupaten Sidoarjo.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang adanya infeksi AI sub tipe H5 pada itik yang dipotong di Pasar Sepanjang Kecamatan Taman Kabupaten Sidoarjo, sehingga dapat menjadi masukan yang bermanfaat bagi peternak maupun penjual unggas terutama itik sebagai tindak pencegahan, pengendalian dan penanggulangan yang lebih efektif dan efisien.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Virus Avian Influenza

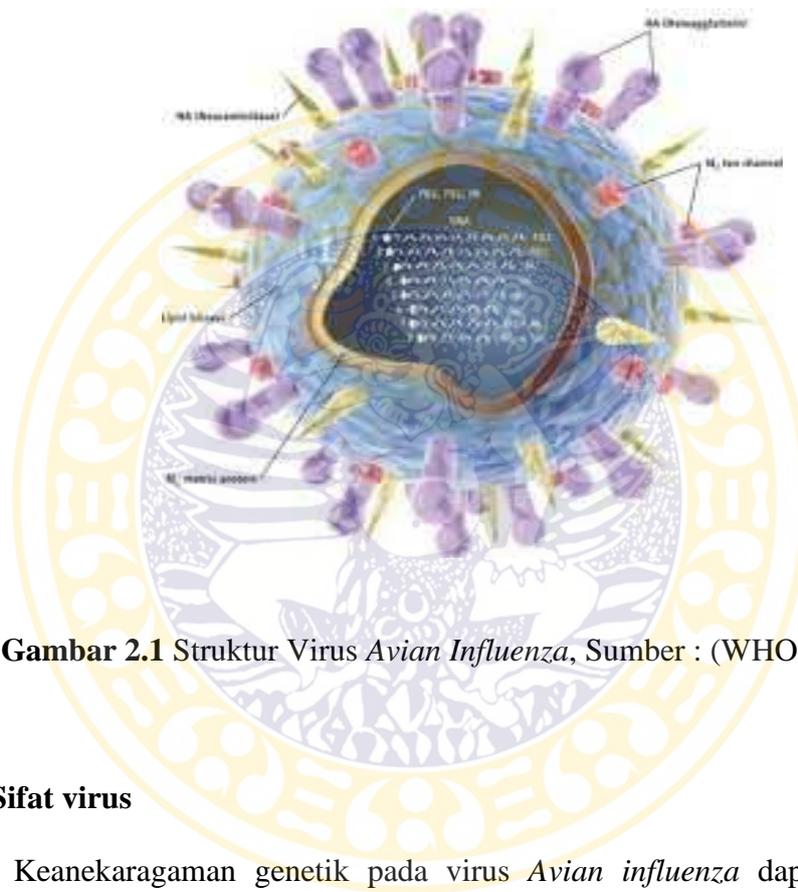
2.1.1 Etiologi virusavian influenza

Avian Influenza (AI) merupakan penyakit influenza pada unggas yang disebabkan oleh virus golongan *Orthomyxoviridae* dan diklasifikasikan ke dalam virus influenza tipe A. Selain virus influenza tipe A, virus influenza tipe B dan C juga termasuk dalam golongan *Orthomyxoviridae*. Virus influenza tipe A dapat ditemukan pada ayam, itik, angsa, kalkun, burung dara, burung camar, burung elang, manusia, babi. Virus influenza tipe B dan C dapat ditemukan pada manusia (Rahardjo, 2004).

Virus *Avian Influenza* mempunyai bentuk ovoid, berantai tunggal, *sense* negatif, berfilamen atau berbentuk diantara keduanya dengan ukuran diameter 80-120 nm. Semua virus influenza mempunyai 8 segmen gen dan menghasilkan 10 jenis protein. Kedelapan segmen tersebut antara lain gen hemagglutinin (HA), neuraminidase (NA), matriks (M), nukeloprotein (NP), *polymerase basic protein1* (PB1), *polymerase basic protein2* (PB2), polimerase A (PA) dan non struktural (NS) (Palese dan Shaw, 2007).

Virus influenza A mempunyai amplop dengan lipid bilayer yang berasal dari hospes dan terdapat kurang lebih 500 tonjolan *glikoprotein*. *Glikoprotein* ini terdiri dari protein permukaan hemagglutinin (HA) dan neuraminidase (NA) yang mempunyai aktivitas hemagglutinin dan neuraminidase. Protein HA pada virus berperan sebagai perantara penempelan virus dan masuk membran endosom hospes. Neuraminidase berkontribusi dalam pelepasan partikel virus pada sel

hospes yang terinfeksi (Romieh, 2008; Smith *et al.*, 2009). Gen Matriks M1 berperan dalam awal infeksi yaitu saat pemisahan protein M1 dari RNP untuk masuk ke sitoplasma. Saat ini berdasarkan analisis serologis dan genetik virus influenza diketahui HA sebanyak 18 subtipe (H1-18) dan NA sebanyak 10 subtipe (N1-N10) (Tong *et al.*, 2013).



Gambar 2.1 Struktur Virus *Avian Influenza*, Sumber : (WHO, 2011).

2.1.2 Sifat virus

Keanekaragaman genetik pada virus *Avian influenza* dapat ditemukan dengan frekuensi yang tinggi melalui dua cara mutasi, yaitu *antigenic shift* dan *antigenic drift*. Kedua cara ini memungkinkan virus untuk berubah dan beradaptasi dengan cepat, dimana dapat berpengaruh terhadap proses infeksi pada hospes yang baru. Sifat *antigenic drift* merupakan keadaan virus *Avian Influenza* yang mengalami mutasi urutan nukleotida pada gen HA atau NA atau keduanya yang menyebabkan antibodi tidak dapat menetralkan virus secara lengkap.

Perubahannya bersifat minor tetapi subtipenya sama dan dapat menyebabkan epidemik influenza. *Antigenic shift* merupakan mutasi yang disebabkan oleh dua macam *Avian Influenza A* yang menghasilkan segmen gen baru sebagai hasil rekombinan genetik. Aktivitas ini menghasilkan subtipe baru dan antibodi dalam tubuh tidak dapat menetralsir virus baru tersebut. Perubahannya dominan (mayor) dan dapat menimbulkan *pandemic* (Raharjo, 2004).

Katahanan virus *Avian Influenza* tergantung pada suhu, pH dan bahan kimia. Virus *Avian Influenza* mati pada suhu 56°C selama 1 jam, 60°C selama 3 menit atau 80°C selama 1 menit. Pada air dengan suhu 22°C selama 4 hari masih dapat bertahan dan inaktif pada suhu 0°C selama lebih dari 30 hari (Tamrer dan Noorkasiani, 2008).

Virus *Avian Influenza* mudah mati oleh panas, sinar matahari dan desinfektan (detergen, ammonium kuarterner, formalin 2-5%, iodium kompleks, senyawa fenol, natrium atau kalium hipoklorit). Pelarut lemak seperti detergen dapat merusak lapisan lemak ganda pada amplop virus. Kerusakan amplop virus dapat mengakibatkan virus *Avian Influenza* menjadi tidak infeksi lagi. Faktor lain adalah pH asam, nonisotonik dan kondisi kering. Senyawa ether atau sodium deodeclysulfate akan mengganggu amplop virus, sehingga merusak protein hemaglutinin dan neuraminidase (Kementerian Pertanian, 2012). Virus *Avian Influenza* masih bersifat infeksi dalam feses pada suhu 4°C selama 30-35 hari dan 20°C selama 7 hari (Rahardjo, 2004).

2.1.3 Tingkat keganasan virus

Virus *Avian Influenza* digolongkan dalam patotipe yang berbeda berdasarkan kemampuannya untuk menyebabkan penyakit ringan atau ganas. Virus *Avian*

Influenza dibagi menjadi 2 golongan yaitu *Highly Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) dan *Low Pathogenic Avian Influenza* (LPAI) (Raharjo, 2004).

Sifat dari virus *Highly Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) yaitu mampu berkembang biak pada alat pernafasan, pencernaan, sistem saraf dan peredaran darah sehingga dapat menyerang dan merusak semua organ tubuh dengan tingkat mortalitas yang sangat tinggi yaitu mencapai 100%. Virus *Avian Influenza* dengan sub tipe H5 dan H7 termasuk dalam golongan HPAI yang mudah bermutasi dan keganasannya ditentukan oleh waktu, tempat, dan hospes yang terinfeksi (Raharjo, 2004). Menurut OIE (2006), virus HPAI mempunyai *Intravenous Pathogenicity Index* (IVPI) lebih besar dari 1,2 pada ayam berumur 6 minggu atau menyebabkan kematian sebesar 75% pada ayam berumur 4-8 minggu. Hewan yang terserang *Low Pathogenic Avian Influenza* (LPAI) menunjukkan gejala pada pernafasan dan mampu mengalami mutasi menjadi *Highly Pathogenic Avian Influenza* (Horimoto dan Kawaoka, 2001).

2.1.4 Penularan virus avian influenza

Unggas air merupakan reservoir alami dari virus *Avian Influenza* terutama bebek. Pada kejadian yang langka, virus AI dapat menular pada spesies unggas yang lain dan beberapa mamalia (Stallknecht *et al.*, 1990; Hanson *et al.*, 2003). Pada awalnya virus *Avian influenza* ini ditemukan pada burung-burung liar, namun pada saat ini sudah ditemukan pada ayam, puyuh, itik, kalkun, dan babi. Virus *Avian influenza* dapat berkembang dalam saluran pencernaan unggas.

Virus *Avian Influenza* dapat menular dengan cepat antara populasi dengan mortalitas tinggi. Penularan virus dalam satu kandang terjadi karena virus dikeluarkan lewat kotoran dan lendir dari mata dan hidung, kandungan organik

dalam kotoran merupakan nutrisi bagi virus ini dan dapat hidup lebih lama di luar jaringan. Penempelan kotoran pada peralatan ternak seperti tempat pakan, tempat minum, rak telur dan dinding kandang juga menyebarkan virus (Soedjoedono dan Ekowati, 2005). Bahkan penularan *Avian Influenza* dapat lewat Aerosol (Pattison *et al.* 2008).

2.1.5 Patogenesis penyakit avian influenza

Tahapan pertama pada infeksi virus *Avian Influenza* terjadi secara inhalasi atau ingesti yaitu *attachment* (penempelan) protein HA dari virus ke reseptor sel hospes. Proses *attachment* (penempelan) virus merupakan fase masuknya virus pada sel hospes melalui reseptor spesifik yang disebut dengan *endositosis* (Radji, 2006).

Proses *endositosis* virus tergantung dari reseptor spesifik yang diekspresikan oleh permukaan sel hospes yang berupa asam sialat. Pada proses *attachment* (penempelan) protein HA pada virus akan berikatan dengan reseptor yang spesifik pada hospes, dimana reseptor ini berupa 2,3 dan 2,6 asam sialat. Setiap spesies mempunyai reseptor spesifik dan terletak pada jaringan tubuh yang berbeda-beda. Reseptor 2,3 terdapat pada golongan unggas sedangkan 2,6 terdapat pada manusia (Thompson *et al.*, 2006; Wan, 2006).

Gambaran dari tahap masuknya dan berkembangnya virus AI ke dalam sel secara skematis yaitu mula-mula virion menempel pada reseptor sel tropisma melalui protein Hemagglutinin. Proses endositosis akan berlangsung beberapa waktu. Berdasarkan pengamatan laboratorium, diketahui selama 10 menit, proses endositosis dan pelepasan selubung telah mencapai lebih dari 50%, proses ini sampai semua segmen RNA ke luar ke dalam sitoplasma. Segmen-segmen

tersebut masuk ke dalam inti sel (nukleus) dan mengalami transkripsi, untuk mengubah bentuk (-) RNA menjadi (+) RNA. Sebagian segmen keluar kembali ke sitoplasma untuk mempersiapkan protein selubung untuk dipakai oleh virus baru yang akan dihasilkan. Protein yang dimaksud meliputi protein Hemagglutinin, Neuraminidase, Matriks dan Protein Nonstruktural.

Delapan segmen yang berada di inti sel ditambah dengan segmen RNA yang masih tersisa di sitoplasma melakukan replikasi. Berbeda dengan virus RNA lainnya yang bereplikasi di luar inti sel, sehingga virus AI menggunakan bahan yang diperlukan dari dalam inti sel inang. Proses ini yang memudahkan terjadi proses *Antigenic drift* dan *Antigenic shift*. Segmen RNA yang sudah mengalami replikasi, keluar ke sitoplasma untuk dibungkus dengan protein HA, NA dan M, serta NS, menjadi anak AI yang siap dilepas dari sel inang. Untuk bisa keluar dari sel inang, virus baru ini akan menempel pada reseptor yang terdapat di dalam sel inang. Penempelan ini dilakukan oleh protein neuraminidase, bukan hemagglutinin seperti pada saat masuk ke sel. Proses ini bisa berlangsung selama dua jam sejak infeksi (Rahardjo, 2004).

Sel yang menghasilkan *foci virus* terkelompok dalam suatu lapisan mukosa dari saluran pernafasan, usus, lapisan endotelium, miokardium dan otak. Melalui sekresi nasal, jutaan partikel virus akan terlepas, sehingga 0,1 µl partikel aerosol mengandung lebih dari 100 partikel virus. Pada saat awal terjadinya infeksi virus *Avian Influenza*, virus juga dapat ditemukan di dalam darah dan cairan tubuh lainnya (Werner and Harder, 2006).

2.1.6 Gejala klinis

Gejala klinis yang ditimbulkan oleh *Avian Influenza* dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain strain virus yang menginfeksi, spesies dan usia hospes, status imun hospes, dan faktor lingkungan. Infeksi *Avian Influenza* dapat menimbulkan penyakit dengan derajat keparahan yang berbeda. Infeksi pada unggas, terutama ayam dan kalkun, dapat menimbulkan gejala klinis mulai dari mortalitas tinggi dengan kematian mendadak tanpa disertai gejala tertentu sampai dengan hanya menunjukkan gejala yang ringan pada bentuk penyakit yang sangat ringan (Pattison *et al.*, 2008).

Gejala yang tampak pada unggas yang terinfeksi HPAI adalah penurunan produksi telur, gejala respirasi, hiperlakrimasi, sinusitis, *cyanosis* pada kulit yang tidak berbulu khususnya jengger dan pial, edema pada kepala dan muka, diare dan gangguan sistem syaraf (Horimoto dan Kawaoka, 2001). Infeksi LPAI virus dapat tidak menimbulkan gejala klinis, tetapi ada penurunan produksi telur, anoreksia, depresi dan sinusitis (Pattison *et al.*, 2008).

2.1.7 Diagnosis dan diagnosisbanding

Penegakan diagnosis yang dapat digunakan untuk *Avian Influenza* antara lain isolasi dan identifikasi virus serta uji serologis untuk konfirmasi. Isolasi virus dapat menggunakan Telur Ayam Berembrio (TAB), *Madin-Darby Canine Kidney* (MDCK) atau *African green monkey kidney* (sel Vero). Uji serologis dilakukan dengan uji *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), HI, imunohistokimia atau *Western blot*, sedangkan uji konfirmasi untuk mengetahui adanya virus dapat dilakukan dengan *convensional* RT-PCR, real time RT-PCR atau sekuensing genetik (Suwarno dkk., 2006).

Diagnosis banding dari *Avian Influenza* antara lain *Newcastle Disease* (ND), *Infectious Laryngotracheitis* (ILT), *Duck Plague*, *Swollen Head Syndrome* (SHS), *acute poisoning*, *Acute Fowl Cholera (Pasteurellosis)*, *Bacterial Cellulitis* pada jengger dan pial (Werner dan Harder, 2006).

2.1.8 Pencegahan dan pengendalian

Prinsip dasar dari kontrol penyakit viral adalah mencegah kontak antara hewan yang peka, hewan yang terinfeksi yang bahan-bahan yang terkontaminasi oleh virus. Berdasarkan Raharjo (2004), strategi yang efektif untuk kontrol dan pencegahan wabah *Avian Influenza* antara lain program *biosecurity*, manajemen *all-in-all-out*, isolasi unggas yang terinfeksi, manajemen pengangkutan ternak unggas, desinfeksi kandang, pekerja dan selalu menjaga sanitasi dari kandang. Strategi lain yang dapat dilakukan untuk mencegah *outbreak* yaitu dengan mengurangi populasi atau *culling* dari daerah yang terinfeksi, surveilans, *stamping out* dan vaksinasi dapat mengurangi jumlah kematian. Cara ini tidak dapat mencegah penyebaran virus, tetapi hal yang penting bisa dilakukan adalah meningkatkan pengetahuan dan kewaspadaan masyarakat terhadap *Avian Influenza*.

Menurut keputusan Direktur Jendral Bina Produksi Peternakan No.17/Kpts/PD.640 terdapat lima prinsip dasar dan penerapan program pencegahan, pengendalian dan pemberantasan AI yaitu mencegah kontak antara hewan yang peka dengan cara menghentikan penyebaran infeksi melalui karantina atau isolasi lokasi peternakan tertular.

Pengawasan lalu lintas hewan atau bahan asal hewan atau bahan lain yang dapat menyebarkan penyakit dari lokasi peternakan tertular, desinfeksi pada

kandang, peralatan, kendaraan dan bahan permanen lain yang kemungkinan dapat menularkan penyakit. Meningkatkan resistensi hewan (pengebalan hewan peka terhadap virus) dengan vaksinasi. Pemusnahan terbatas (depopulasi) unggas hidup yang terekspos unggas tertular dalam satu kandang. Peningkatan kesadaran masyarakat (*public awarnes*) yang diterapkan melalui pendidikan kepada peternak dan sosialisasi kepada masyarakat melalui media (elektronik, cetak) maupun penyebaran brosur (Syukur, 2006).

2.2 Tinjauan tentang itik

Klasifikasi itik domestik (Supriyadi, 2009) sebagai berikut :

Kingdom : *Animalia*
Filum : *Chordata*
Kelas : *Aves*
Ordo : *Anseriformis*
Famili : *Anatidae*
Sub Famili : *Anatinae*
Genus : *Anas*
Spesies : *Anas javanicus*



Gambar 2.2 Itik Mojosari (IP2TP Jakarta, 2000).



Gambar 2.3 Itik Hibrida (Kaleka, 2015)

Itik lokal Indonesia merupakan plasma nutfah asli Indonesia yang memiliki mutu genetik dan berpotensi untuk dikembangkan sebagai penghasil telur yang produktif (Srigandono, 1997) dalam (Yuniwanti *et al.*, 2013). Salah satu yang termasuk genus *Anas* adalah itik lokal Indonesia. Itik Indonesia hampir seluruhnya merupakan keturunan bangsa itik *Indian Runner*, yaitu bangsa itik yang dikenal sebagai itik penghasil telur dan sudah beradaptasi baik dengan lingkungan Indonesia sejak berabad-abad lampau. Potensi itik *Indian Runner* sebagai sumber bahan pangan hewani cukup besar. Akibat domestikasi, terbentuklah beberapa varian seperti besar tubuh, konformasi dan warna bulu, serta dikenal sebagai *Anas domesticus* (Samosir, 1993; Bappenas, 2009).

Berbagai jenis itik lokal dikenal penamaannya berdasarkan wilayah asal dan sifat morfologis, diantaranya penulis menjelaskan yaitu itik Mojosari dan Hibrida (Itik MA).

Postur tubuh itik mojosari mirip itik tegal, tetapi ukuran tubuhnya lebih kecil. Bulu pada betina berwarna coklat tua kemerahan dengan beberapa variasi,

sedangkan pada jantan, bulu pada bagian kepala, leher, dan dada berwarna coklat gelap kehitaman. Bulu dibagian perut berwarna keputihan. Di bagian sayap terdapat bulu suri berwarna hitam mengkilap. Cara membedakan itik mojosari jantan dengan itik mojosari betina, yaitu itik jantan memiliki 1-2 helai bulu ekor yang melengkung ke atas serta warna paruh dan kakinya lebih hitam di bandingkan itik betina (Marhiyanto dan Idel, 1996; Supriyadi, 2009).

Itik Mojosari berasal dari dataran tinggi sehingga terbiasa hidup di pegunungan yang lebih sejuk, tetapi itik ini juga bisa ditenakkan di daerah pesisir Jawa Timur. Itik Mojosari yang digembalakan di areal sawah yang subur, akan mampu menghasilkan telur rata-rata 130 butir per ekor dalam satu tahun. Pemeliharaan secara intensif dengan kandang tanpa air, produksi telur dapat meningkat rata-rata 265 butir per ekor dalam satu tahun (Kaleka, 2015).

Itik Hibrida atau yang lebih dikenal dengan nama itik MA, merupakan hasil persilangan dari itik Mojosari dengan itik Alabio (Kalimantan). Itik MA merupakan hasil penelitian dari Balai Penelitian Ternak Ciawi (Ditjen Peternakan) dan Balai Pembibitan Ternak Unggul (BPTU) Kambing, Domba dan Itik (KDI) di Pelaihari (Kalimantan Selatan). Itik MA betina disebut Ratu dan itik MA jantan disebut raja. Itik hibrida digunakan sebagai bibit niaga (*final stock*), karena secara genetis apabila hibrida dikawinkan lagi dengan sesamanya atau dengan tetuanya lagi, maka akan kehilangan keturunan yang produktivitasnya lebih rendah dan kehilangan keunggulannya (Sinar Tani Eds. 19-25 Oktober, 2011).

Itik digolongkan menjadi 3 jenis, yakni : itik petelur, itik ornamental dan itik pedaging. Itik petelur dipelihara untuk diperoleh telurnya, itik ornamental dipelihara sebagai itik hias sedangkan itik pedaging dipelihara untuk diambil

dagingnya. Peternakan itik pedaging belum sepopuler itik petelur, karena itu pada umumnya kebutuhan akan daging itik di pasaran dipenuhi dari itik petelur afkir atau hasil penggemukan itik jantan (Soepranianondo, 2011).

Secara garis besar pemeliharaan itik di Indonesia dapat digolongkan menjadi beberapa cara yaitu, secara ekstensif, semi-intensif dan intensif. Pemeliharaan secara ekstensif yaitu berternaknya itik dilepas dari mulai kecil sampai masa produksi. Pemeliharaan semi-intensif yaitu melepas itik pada waktu tertentu dan mengkandangkan itik sewaktu tertentu pula. Pemeliharaan intensif yaitu memelihara itik dengan cara mengkandangkan itik dari mulai kecil sampai produksi atau biasa disebut pemeliharaan itik tanpa air (Soepranianondo, 2011).

2.3 Tinjauan tentang pasar unggas

Pasar unggas merupakan tempat terjadinya transaksi jual-beli unggas hidup. Kondisi yang kurang baik pada kebanyakan pasar unggas hidup di Indonesia menyebabkan pasar unggas hidup sebagai tempat yang cocok untuk berkembangnya virus *Avian Influenza* (Sutanto, 2013). Leung *et al.* (2007) menyatakan bahwa pasar unggas hidup memainkan peranan penting dalam pelestarian, perbanyakan dan penyebaran virus AI. Pasar unggas juga merupakan faktor risiko penyebaran virus AI (H5N1) dari unggas ke manusia, karena mobilitas yang tinggi dari manusia untuk membeli kebutuhan unggas hidup dan produk unggas (FAO, 2009 ; Suartha dkk., 2010).

Menurut penelitian yang dilakukan Rahardjo dan Estoepangestie (2008), virus AI subtipe H5 ternyata tidak hanya didapatkan dari swab trakhea dan kloaka, tetapi dapat juga ditemukan pada daging dan kulit ayam yang terinfeksi. Diketahui bahwa pasar tradisional merupakan tempat penampungan, pemotongan unggas

dan penjualan karkas unggas, sehingga memperbesar kemungkinan terjadinya kontak langsung antara unggas sakit dengan manusia. Menurut penelitian yang dilakukan Novia (2015), ditemukan sampel *swab* kloaka itik yang positif virus AI subtipe H5 di Pasar Raya Mojosari, Oleh karena itu pasar unggas perlu mendapat perhatian khusus karena pasar burung dan pedagang pengumpul juga berperan penting bagi penyebaran penyakit AI/H5N1. Lemahnya biosekuritas dan kebersihan serta sanitasi yang buruk mendorong persebaran dan penularan virus AI di pasar unggas (Poetranto dkk., 2011).



BAB 3 MATERI DAN METODE

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari 2016 – Juli 2016. Pengambilan sampel diambil di tempat perdagangan unggas yang berada di Pasar Sepanjang Kecamatan Taman Kabupaten Sidoarjo. Pengambilan sampel dilakukan satu kali setiap minggu, dengan pengulangan lima kali sampai akhir bulan Februari kemudian dilanjutkan pemeriksaan sampel sampai bulan juli dilaksanakan di Laboratorium Virologi, Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

3.2 Besaran Sampel

Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebesar 100 *pooled cloacal swab* yang berasal dari 300 ekor itik. Setiap *pooled* sampel terdiri dari tiga sampel *swab* kloaka yang berasal dari itik yang berbeda. Pengambilan sampel dilakukan selama 5 minggu dengan 5 kali pengulangan.

3.3 Materi Penelitian

3.3.1 Bahan penelitian

Penelitian menggunakan sampel yang diambil dari swab kloaka itik yang berada di Pasar Sepanjang. Kecamatan Taman, Kabupaten Sidoarjo. Bahan yang digunakan untuk pemeriksaan adalah : PZ atau NaCl 0,9 %, eritrosit ayam, antigen AI/H5N1 *clade* 2.1.3 produksi Pusvetma, antiserum AI/H5N1 *clade* 2.1.3 Pusvetma, Telur Ayam Berembrio SAN (Spesifik Antibodi Negatif) umur 9 – 11 hari, Penicillin-G (Meiji), Streptomycin Sulfate, Antikoagulan EDTA (MERCK), *alcohol* 70%, Lysol.

3.3.2 Alat penelitian

Alat yang digunakan adalah : *Gloves*, masker, mikroplate *V bottom*, *cotton swab* steril, *microtube* steril, elemen pendingin, *centrifuge*, *vortex*, mikropipet berbagai ukuran, mikropipet *multichannel*, spuit *disposable* 1 ml, pipet hisap, pipet Pasteur, *blue tip*, *yellow tip*, bunsen, korek api, gunting, pinset, *autoclave*, tabung *venoject*, tabung konikal, *incubator*, *egg candler*, pelubang telur, *ice box*, kapas, isolasi kertas, kantong plastik.

3.4 Metode Penelitian

3.4.1 Persiapan pra pengambilan sampel

Bahan dan alat yang dibutuhkan untuk pengambilan sampel dipersiapkan terlebih dahulu satu hari sebelum pelaksanaan, yaitu pembuatan media transport.

3.4.1.1 Pembuatan media transport

Sampel *swab* yang dikirim ke laboratorium harus dimasukkan ke dalam media transport yang telah disiapkan terlebih dahulu sebelum pengambilan sampel. Pembuatan media transport memerlukan 100 ml PZ ditambah dengan antibiotik Penicillin (1000 IU/ml PZ) dan Streptomycin (1 mg/ml PZ). Dosis yang diperlukan adalah empat kali dosis sebagaiantisipasi akan banyaknya kontaminasi baik dari feses maupun dari lingkungan. Media transport yang telah dibuat dimasukkan ke dalam mikrotube sebanyak 1.3 ml lalu disimpan dalam lemari es untuk selanjutnya dibawa saat pengambilan sampel.

3.4.2 Teknik pengambilan sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *swab* kloaka itik yang diambil dengan menggunakan *cottonswab* steril, kemudian sampel dimasukkan ke dalam mikrotube yang telah diisi dengan media transport.

Setiap tiga *swab*kloaka dari itik yang berbeda dikumpulkan (*pooled*) menjadi satu tabung sampel, total selama penelitian akan dikoleksi sebanyak 100 *pooled* sampel. Sampel *swab* tersebut dimasukkan ke dalam *ice box* yang berisi elemen pendingin, setelah sampai di laboratorium, dilakukan pemeriksaan terhadap sampel. Sampel yang belum diperiksa dapat disimpan dalam lemari es dengan suhu 4 °C selama maksimal empat hari (OIE, 2008).

3.4.3 Preparasi sampel di laboratorium

Sebelum hasil *swab*kloaka diinokulasikan pada TAB, dilakukan preparasi di laboratorium terlebih dahulu. Sampel *swab* kloaka yang berada dalam mikrotube divortex hingga material sampel yang menempel pada *cottonswab* dapat tercampur dengan media transport. *Cottonswab* dikeluarkan dari mikrotube secara hati-hati. Sampel yang berada di dalam mikrotube disentrifus dengan kecepatan 2500 rpm selama ± 15 menit, untuk selanjutnya dilakukan isolasi virus dengan cara inokulasi sampel pada TAB.

3.4.4 Isolasi Virus

3.4.4.1 Inokulasi virus pada TAB (Telur Ayam Berembrio)

Penelitian ini dilakukan inokulasi virus dalam TAB yang bertujuan untuk isolasi virus *Avian influenza* (WHO, 2011). TAB umur 9-11 hari sebelumnya dibersihkan terlebih dahulu kemudian diseleksi dengan candling untuk melihat kondisi embrio dan posisi ruang udara. Letak ruang yang telah diketahui menentukan posisi yang tepat untuk inokulasi, selanjutnya TAB ditandai. TAB yang telah ditandai diletakkan pada nampan telur (*egg tray*) dengan posisi rongga udara di atas, kemudian TAB didesinfeksi dengan menggunakan *alcohol* 70% pada daerah rongga udara.

Setiap sampel diinokulasikan ke dalam tiga butir TAB. Telur yang dibutuhkan untuk inokulasi keseluruhan sampel selama penelitian berlangsung adalah 300 butir TAB, Dilakukan inokulasi sampel virus *Avian influenza* ke dalam TAB. Cara untuk melakukan inokulasi adalah dengan membuat lubang menggunakan pelubang telur, kemudian menggunakan spuit 1ml sebanyak 0,2 ml inokulum diinokulasikan ke dalam masing-masing TAB pada bagian kantong allantois dengan cara memasukkan jarum secara vertikal ke dalam lubang sedalam 0,5 - 0,8 cm. Bekas penyuntikan lalu ditutup dengan menggunakan isolasi kertas dan dikembalikan ke dalam incubator dengan suhu 37 °C selama minimal 4 hari, perkembangan embrio dan perubahan yang terjadi diamati dua kali dalam sehari dengan candling.

Pada saat pemeriksaan, jika teramati embrio mati, maka TAB disimpan terlebih dahulu di dalam lemari es. Embrio yang mati dan yang masih hidup hingga hari kelima, dipanen cairan allantoisnya untuk diuji kemampuan virus tersebut dalam mengaglutinasi eritrosit dengan uji Hemaglutinasi (HA) (Susanti dkk, 2007).

3.4.5 Deteksi virus avian influenza

3.4.5.1 Pembuatan suspensi eritrosit ayam 0.5%

Eritrosit dengan konsentrasi 0.5% dibutuhkan di dalam uji HA maupun HI. Darah ayam yang didapat dari ayam yang sehat dan tidak pernah divaksin AI, ditampung dalam tabung *venoject* yang telah diisi dengan anti-koagulan EDTA. Darah yang terkumpul digoyang secara perlahan dengan gerakan membentuk angka delapan dengan tujuan agar tidak menggumpal dan tidak terjadi lisis, selanjutnya ditambahkan PZ pada tabung untuk disentrifus selama 10 menit

dengan kecepatan 2500 rpm. Supernatant dibuang dan sisa endapannya dicuci menggunakan PZ, kemudian disentrifus kembali selama 10 menit. Pencucian diulang sebanyak tiga kali atau hingga supernatant jernih, dengan cara yang sama hingga didapatkan suspensi eritrosit 100%.

Pembuatan suspensi eritrosit dengan konsentrasi 0.5%, diambil 0,5 ml eritrosit ayam 100% lalu ditambahkan ke dalam 99,5 ml PZ. Eritrosit ayam 0.5% tersebut dapat langsung digunakan atau disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu 4 °C.

3.4.5.2 Uji hemaglutinasi (HA) mikroteknik cairan allantois

Uji HA dilakukan untuk mendeteksi keberadaan virus dengan sifat mampu mengaglutinasi eritrosit yang merupakan salah satu sifat virus *Avian influenza*, sekaligus untuk mengukur titer antigen (OIE, 2014).

Langkah-langkah yang dilakukan dalam pelaksanaan uji HA mikroteknik diawali dengan memasukkan 25 µl PZ ke dalam setiap sumuran mikroplate V *bottom* (tergantung banyaknya sampel yang diuji), kemudian ditambahkan 25 µl antigen, berasal dari cairan allantois yang diambil dari TAB dengan cara membuka cangkang (bagian rongga udara) telur secara hati-hati menggunakan gunting, lalu selaput membran korio allantois dirobek. Cairan allantois diambil menggunakan mikropipet 25-100 µl sebanyak 25 µl dan dimasukkan pada lubang pertama, kemudian dihomogenkan dengan cara menghisap dan melepaskan hisapan sebanyak lima kali atau lebih, pindahkan 25 µl ke lubang kedua, begitu selanjutnya hingga lubang terakhir dan buang 25 µl dari lubang terakhir.

Dilakukan penambahan 50 µl eritrosit ayam 0,5% di setiap lubang, digoyang-goyang perlahan dan didiamkan dalam suhu ruangan selama 30 menit.

Hasil uji HA dinyatakan positif apabila pada dasar mikroplate tampak presipitat halus seperti pasir yang berarti terjadi proses hemaglutinasi. Titer HA virus atau antigen adalah kebalikan angka hasil pengenceran dimana pada lubang beberapa masih tampak adanya hemaglutinasi (OIE, 2014). Cairan allantois yang menunjukkan hasil positif pada uji HA kemudian dipanen, dengan menggunakan mikropipet 1000 µl cairan allantois diambil semaksimal mungkin dari setiap TAB dan dimasukkan ke dalam tabung konikal. Untuk identifikasi, tabung yang berisi cairan allantois yang telah dipanen harus dilabel dengan keterangan kode isolate, titer dan tanggal panen, setelah itu dilakukan retitrasi sehingga menjadi 4 HA Unit sebelum dilakukan uji HI, sedangkan untuk cairan allantois yang menunjukkan hasil negatif atau titer rendah saat di uji HA, disimpan terlebih dahulu untuk dilakukan pasase.

3.4.5.3 Pembuatan antigen 4 HA unit

Pembuatan antigen 4 HA Unit dilakukan berdasarkan hasil uji HA terhadap Cairan Allantois (CA). Standard CA yang digunakan pada uji HI adalah 4 HA Unit, dihitung pengencerannya menggunakan rumus sebagai berikut :

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

Keterangan : N_1 = Titer Antigen atau CA Awal

V_1 = Volume Antigen atau CA Awal

N_2 = Titer Antigen atau CA Akhir (yang diharapkan)

V_2 = Volume Antigen atau CA Akhir (yang diharapkan)

3.4.6 Identifikasi virus *avian influenza* Subtipe H5

3.4.6.1 Uji *hemagglutination inhibition* (HI) mikroteknik

Uji hambatan hemaglutinasi digunakan untuk melakukan identifikasi virus. Uji HI dilakukan dengan cara mengisi semua sumuran yaitu nomor 1-12 dengan 25 μ l PZ menggunakan mikropipet 25 μ l. Kemudian isi sumuran nomor 1 dan 12 dengan antiserum positif AI sebanyak 25 μ l. Campurkan hingga homogen antiserum positif AI dan PZ dengan cara hisap-tiup menggunakan mikropipet kemudian pindahkan 25 μ l ke sumuran berikutnya, demikian seterusnya sampai sumuran nomor 11. Kemudian isi sumuran nomor 1-11 dengan antigen 4 HAU sebanyak 25 μ l dengan menggunakan mikropipet 25 μ l. Antigen ini berasal dari cairan allantois TAB yang sudah dilakukan pengenceran dengan menggunakan PZ sesuai dengan titer yang didapat pada uji HA. Inkubasi mikroplate pada suhu kamar selama 30 menit. Kemudian isi semua sumuran dengan 50 μ l eritrosit ayam 0,5% menggunakan mikropipet. Inkubasi lagi pada suhu kamar selama 30 menit. Selanjutnya dilakukan pembacaan hasilnya (Ernawati dkk., 2013).

Tabel 3.1 Skema uji HI mikroteknik (Ernawati dkk., 2013).

Sumuran No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
PZ (μ l)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Antiserum AI/H5 (μ l)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	Dibuang
Ag 4 HAU (μ l)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	-
Inkubasi selama 15 menit dalam suhu kamar												
Eritrosit ayam (μ l)	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Inkubasi selama 30 menit dalam suhu kamar												
Pengenceran	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	Kontrol eritrosit

Titer HI dianggap positif apabila titer HI dari serum menggunakan antigen sampel \pm sama dengan titer HI dari serum dengan menggunakan antigen kontrol (Capua and Terregio, 2009).

3.5 Analisis Data

Penyajian data dalam penelitian ini dinyatakan secara deskriptif dengan menghitung persentase sampel positif, sehingga jumlah seluruh sampel positif dibandingkan dengan jumlah sampel.

Persentase kejadian adanya virus Avian influenza subtipe H5 :

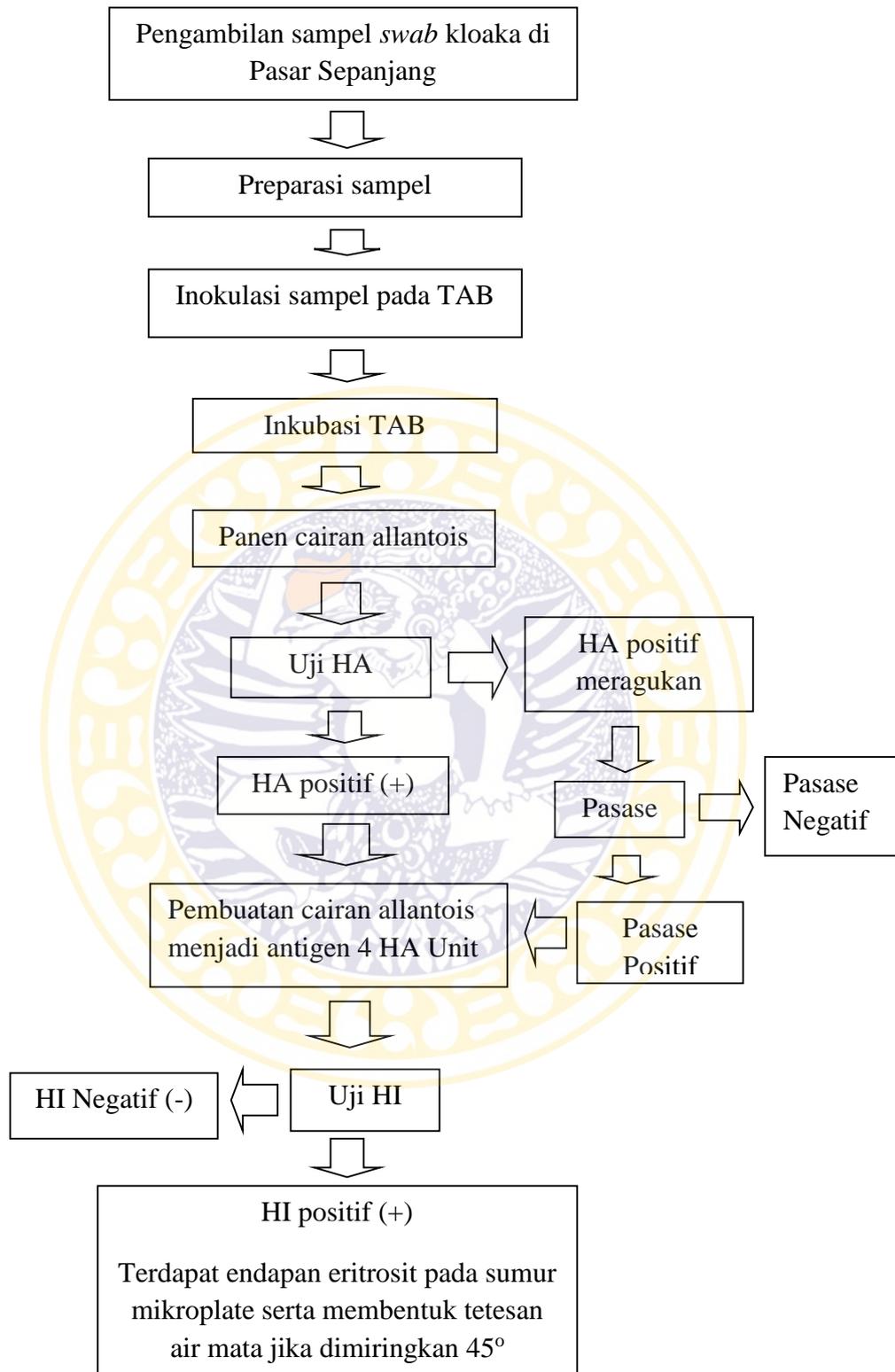
$$\frac{\sum A}{\sum B} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Sampel positif uji HI

B = Total Keseluruhan sampel

3.6 Diagram Alur Penelitian



Gambar 3.1 Skema Alur Kerja

BAB 4 HASIL PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan identifikasi virus *Avian Influenza* subtype H5 dari *swab* kloaka itik di Pasar Sepanjang Kabupaten Sidoarjo, Jawa Timur. Penelitian berlangsung mulai bulan Januari 2016 – Juli 2016.

4.1 Hasil Isolasi Virus *Avian Influenza* Berdasarkan Waktu Pengambilan

Sampel

Tabel 4.1 Jumlah Sampel Positif Virus *Avian Influenza* H5 Berdasarkan Waktu Pengambilan Sampel

Pengambilan Sampel (Minggu Ke)	Asal 100 Pooled Sample Itik											
	Mojosari			Lumajang			Sidoarjo			Jombang		
	Total	+ Uji HA	+ Uji HI AI	Total	+ Uji HA	+ Uji HI AI	Total	+ Uji HA	+ Uji HI AI	Total	+ Uji HA	+ Uji HI AI
I	14	4	0	6	6	1	-	-	-	-	-	-
II	9	9	7	11	10	10	-	-	-	-	-	-
III	-	-	-	-	-	-	20	4	0	-	-	-
IV	10	10	0	10	9	0	-	-	-	-	-	-
V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20	19	1

Berdasarkan hasil penelitian pada tabel 4.1 dapat dilihat bahwa pada pengambilan sampel minggu pertama sebanyak 20 *pooled sample* itik yang berasal dari Mojosari dan Lumajang yaitu sebanyak 4 dari 14 *pooled sample* itik Mojosari menunjukkan hasil positif saat diuji HA, namun saat dilakukan uji HI-AI/H5 didapatkan hasil negatif. Sebanyak 6 dari 6 *pooled sample* itik Lumajang menunjukkan hasil positif saat diuji HA, namun hanya 1 *pooled sample* yang positif saat diuji HI-AI/H5.

Pengambilan minggu kedua didapatkan total 20 *pooled sample* itik yang berasal dari Mojosari dan Lumajang, sebanyak 9 dari 9 *pooled sample* itik Mojosari menunjukkan hasil positif saat diuji HA, namun saat dilakukan uji HI-AI/H5 didapatkan hasil positif sebanyak 7 *pooled sample* yang positif. Sebanyak 10 dari 11 *pooled sample* itik Lumajang menunjukkan hasil positif saat diuji HA, kemudian saat dilakukan uji HI-AI/H5 menunjukkan hasil positif pada 10 *pooled sample*.

Sebanyak 20 *pooled sample* itik Sidoarjo didapatkan saat pengambilan sampel minggu ke-3, sebanyak 4 *pooled sample* yang positif saat diuji HA, namun saat dilakukan uji HI-AI/H5 menunjukkan hasil tidak satu pun yang positif.

Pengambilan minggu keempat didapatkan total 20 *pooled sample* itik yang berasal dari Mojosari dan Lumajang, sebanyak 10 dari 10 *pooled sample* itik Mojosari menunjukkan hasil positif saat diuji HA, namun saat dilakukan uji HI-AI/H5 didapatkan hasil tidak satu pun yang positif. Sebanyak 9 dari 10 *pooled sample* itik Lumajang menunjukkan hasil positif saat diuji HA, namun saat dilakukan uji HI-AI/H5 menunjukkan hasil tidak satu pun yang positif.

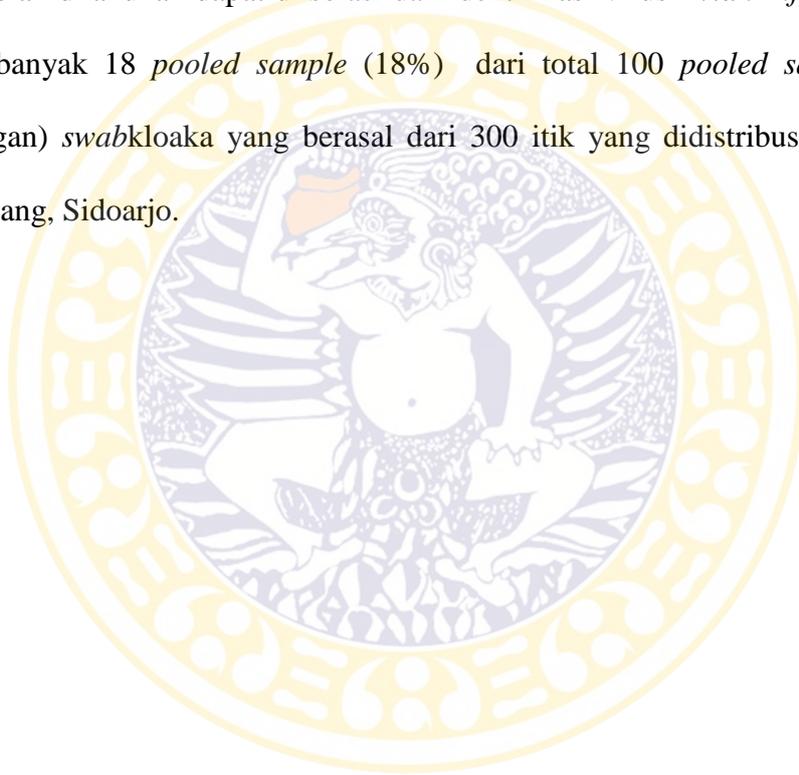
Pengambilan sampel terakhir (minggu ke-5) sebanyak 19 dari 20 *pooled sample* itik yang berasal dari Jombang menunjukkan hasil positif saat diuji HA, namun hanya 1 *pooled sample* menunjukkan hasil positif saat dilakukan uji HI-AI/H5.

4.2 Hasil Isolasi dan Identifikasi Virus Avian Influenza Subtipe H5 Melalui Uji HI-AI/H5

Tabel 4.2 Hasil Isolasi dan Identifikasi Virus Avian Influenza subtipe H5 dari *swab* kloaka itik yang didistribusikan di Pasar Sepanjang, Sidoarjo melalui uji HI-AI/H5

Asal Itik	Jumlah Sampel (<i>Pooled Sample</i>)	Positif AI/H5	Negatif AI/H5
Mojosari	33	7 (21,2 %)	26 (78 %)
Lumajang	27	10 (37 %)	17 (62,9 %)
Sidoarjo	20	0 (0 %)	20 (20 %)
Jombang	20	1 (5 %)	19 (19 %)
Total	100	18 (18 %)	82 (82 %)

Berdasarkan data pada tabel tersebut, diketahui bahwa melalui penelitian yang telah dilakukan dapat diisolasi dan identifikasi virus *Avian Influenza* subtipe H5 sebanyak 18 *pooled sample* (18%) dari total 100 *pooled sample* (sampel gabungan) *swabkloaka* yang berasal dari 300 itik yang didistribusikan di Pasar Sepanjang, Sidoarjo.



BAB 5 PEMBAHASAN

Pasar Sepanjang adalah pasar tradisional di Kecamatan Taman Kabupaten Sidoarjo, di pasar tersebut terdapat pasar unggas yang menjual berbagai jenis unggas hidup terutama itik. Itik yang diperdagangkan berasal dari Mojosari, Lumajang, Sidoarjo dan Jombang. Keragaman asal itik menyebabkan tidak bisa dilakukan kontrol terhadap kondisi itik yang diperjualbelikan. Jumlah dan jenis ternak yang beragam memungkinkan sirkulasi virus *Avian Influenza* subtipe H5 berkelanjutan. Sirkulasi virus AI subtipe H5 juga dapat terjadi secara berkelanjutan akibat mobilitas masyarakat dan pedagang yang tinggi setiap hari. Mobilitas yang tinggi memungkinkan terjadinya rekombinasi serta mutasi virus AI di pasar (Kyaw *et al.*, 2008 ;FAO, 2009). Itik membawa virus HPAI yang dapat bertahan tanpa menimbulkan kematian sehingga dapat bertindak sebagai reservoir penyebar penyakit AI dengan cara disekresikan melalui kloaka atau feses (Fouchier *et al.*, 2003).

Penelitian ini membuktikan bahwa di Pasar Sepanjang Sidoarjo ditemukan itik yang positif Virus *Avian Influenza* subtipe H5 melalui isolasi pada TAB dengan menggunakan sampel *Swabkloaka*, didapatkan hasil 18 *pooled sample* (18%) positif virus *Avian Influenza* subtipe H5 dari Total 100 *pooled sample* yang berasal dari 300 ekor itik (Mojokerto, Lumajang, Sidoarjo dan Jombang), dapat dilihat pada **Tabel 4.2**.

Berdasarkan hasil pengamatan pada masa inkubasi untuk mengisolasi virus menggunakan media TAB menunjukkan waktu kematian embrio yang bervariasi yaitu 2 – 3 hari pasca inokulasi. Kematian embrio ini disebabkan

infeksi sistemik oleh virus HPAI, terjadinya infeksi sekunder yang disebabkan oleh kuman, atau trauma pada embrio saat pengerjaan inokulasi. Virus HPAI menyebabkan terjadinya wabah *Avian Influenza* pada unggas peliharaan, seperti salah satu unggas peliharaan yang terserang wabah AI adalah itik.

Kelembaban yang tinggi menjadi faktor pendukung terhadap perkembangan dan penyebaran virus *Avian Influenza*, sehingga hasil positif melalui uji HI yang didapatkan berasal dari pengambilan pertama dan kedua (sampel *swab* kloaka itik yang berasal dari Mojosari dan Lumajang), kemudian pengambilan kelima (sampel *swab* kloaka itik berasal dari Jombang) yang pada saat pengambilan memasuki awal musim hujan. Hasil sampel yang diambil pada minggu ketiga dan keempat menunjukkan hasil negatif saat dilakukan uji HI-AI/H5, namun tidak menutup kemungkinan masih adanya virus *Avian Influenza* subtipe H5 yang bersirkulasi di Pasar Sepanjang saat musim hujan.

Penurunan titer yang didapatkan dari minggu pertama, minggu kedua dan selanjutnya terjadi salah satu faktornya adalah kelembaban, sehingga mempengaruhi respon imun pada setiap itik, karena salah satu sifat virus *Avian Influenza* yaitu dapat bertahan lama pada kondisi lingkungan dengan kelembaban tinggi, sedangkan pada kondisi dengan kelembaban rendah virus *Avian Influenza* tidak dapat bertahan lama.

Isolasi virus menggunakan cairan allantois TAB melalui uji HA mikroteknik, setelah dilakukan proses pengambilan sampel. Pada uji HA didapatkan beberapa titer yang rendah dan juga cairan allantois dengan kualitas buruk seperti terlihat keruh dan tercampur darah, sehingga untuk meminimalisir

terjadinya kesalahan pembacaan hasil saat uji HI maka dilakukan pasase untuk beberapa isolate sampel yang memiliki titer rendah.

Hasil negatif yang didapat dari uji HI-AI/H5, diambil dari beberapa sampel yang menghasilkan titer tinggi saat dilakukan uji HA. Hal tersebut dapat terjadi karena virus yang diisolasi bukan virus *Avian Influenza*, namun virus lain yang juga memiliki sifat mengaglutinasi sel darah merah pada uji HA yaitu virus *Newcastle Disease* (ND), karena virus ND dapat ditemukan pada itik dan bersifat asimtomatik (tanpa gejala). Virus ND juga dapat disekresikan melalui feses dan mampu bertahan lama di feses, atau karena isolat sampel tersebut kemungkinan merupakan virus *Avian Influenza*, namun bukan termasuk subtype H5 (non-H5). Faktor lain yang mempengaruhi hasil dari uji HI-AI/H5 yang dilakukan yaitu virus yang berhasil diisolasi memang virus *Avian Influenza* subtype H5 namun *clade* nya tidak sama atau bukan termasuk *clade* 2.1.3 sehingga saat diuji HI hasilnya negatif, karena pada uji HI mikroteknik yang dilakukan menggunakan antiserum dari Pusvetma (AI/H5N1 *clade* 2.1.3) (Novia, 2015).

Itik merupakan salah satu unggas air sebagai sumber virus AI H5N1 dan bertindak sebagai *carrier* dari satu daerah ke daerah yang lain (Nagy *et al.*, 2009). Pada akhir 2012 banyak ditemukan kasus kematian pada itik karena AI H5N1 *clade* 2.3.2, namun itik juga dapat membawa H5N1 *clade* 2.1.3, sehingga dapat dipastikan bahwa itik dapat bertindak sebagai *carrier* H5N1 *clade* 2.1.3 (DEPTAN, 2013). Virus AI H5N1 yang tidak patogenik bagi itik dapat menjadi virus patogenik melalui evolusi atau adaptasi dalam tubuh itik, virus tersebut akan bersifat patogenik apabila menginfeksi ayam peliharaan atau peternakan ayam.

Hal ini menunjukkan kemampuan itik untuk menularkan virus kepada unggas lain tanpa menderita penyakit yang parah (Hulse-Post *et al.*, 2005).

Kasus *Avian Influenza* dengan subtipe H5N1 terjadi di Jawa Timur yaitu Banyuwangi, dan Lamongan pada bulan maret 2016 (BBKPS, 2016). Pasar Sepanjang Sidoarjo merupakan salah satu titik tempat penyebaran virus *Avian Influenza*, sehingga menjadi tempat transaksi jual beli unggas hidup dan produk hasilnya. Itik adalah salah satu Unggas yang didistribusikan di Pasar Sepanjang. Suplai itik berasal dari Mojokari, Lumajang, Sidoarjo dan Jombang, sehingga letak geografis semakin memperbesar kemungkinan penularan virus *Avian Influenza* subtipe H5 pada itik sebagai *carrier*.

Penularan virus *Avian Influenza* subtipe H5 dapat terjadi melalui inhalasi, kontak langsung maupun tidak langsung unggas yang terinfeksi. Penularan kontak langsung terjadi dari unggas yang terinfeksi melalui saluran pernafasan, lendir, cairan konjunktiva dan feses. Penularan tidak langsung dapat terjadi melalui debu yang mengandung virus, peralatan kadang dan mengkonsumsi daging unggas yang terinfeksi yang dimasak tidak matang secara sempurna.

Temuan sampel positif terinfeksi virus AI subtipe H5 pada itik menunjukkan bahwa pada Pasar Sepanjang Sidoarjo memiliki kemungkinan sebagai tempat terjadinya penyebaran virus AI baik pada antar unggas maupun manusia. Kondisi pasar dengan biosekuritas, kebersihan dan sanitasi yang tidak dijaga serta mobilitas masyarakat dan pedagang yang tinggi setiap hari. Tempat untuk transportasi yang sederhana, berupa kandang besar, sehingga kemungkinan terjadinya penularan antar unggas dan spesies lain apabila terdapat unggas yang sakit saat perjalanan ke pasar semakin besar.

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Virus *Avian Influenza* subtipe H5 dapat diisolasi dan identifikasi dari sampel *swab* kloaka itik, yaitu itik yang berasal dari Mojosari, Lumajang, Sidoarjo dan Jombang, yang diambil di Pasar Sepanjang Sidoarjo dengan persentase positif 18 % yaitu 18 *pooled sample* dari total 100 *pooled sample* itik.

6.2 Saran

Saran yang diberikan dari hasil penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut melalui uji RNA untuk mengidentifikasi *clade* virus dari sampel positif yang didapatkan. Sampel yang hasilnya positif masih perlu dilakukan pengujian lebih lanjut untuk memastikan adanya virus *Avian Influenza* subtipe H5 dari *clade* lain.
2. Berdasarkan hasil dari penelitian ini, hendaknya pihak– pihak terkait semakin memperhatikan dan mengawasi perdagangan unggas hidup, terutama itik di pasar tradisional umumnya dan di Pasar Sepanjang Sidoarjo khususnya sebagai sumber penyebaran virus *Avian Influenza*.

RINGKASAN

Isolasi dan Identifikasi Virus *Avian Influenza* Subtipe H5 dari Swab Kloaka Itik yang Diperdagangkan di Pasar Sepanjang Kabupaten Sidoarjo.

Penelitian ini di bawah bimbingan Adi Prijo Rahardjo, M.Kes., drh sebagai dosen pembimbing pertama dan Dr. Eka Pramyrtha Hestianah, M.Kes., drh sebagai dosen pembimbing serta.

Indonesia mulai terserang wabah *Avian Influenza* pada pertengahan tahun 2003, setelah dilakukan penelitian diketahui bahwa penyebab dari wabah tersebut adalah virus *Avian Influenza* subtipe H5N1 yang menyerang berbagai unggas, termasuk unggas darat dan unggas air. Unggas darat yang terinfeksi mengakibatkan mortalitas yang tinggi, sehingga menyebabkan kerugian ekonomi yang besar terutama bagi peternak ayam, sedangkan gejala yang bersifat *Asimptomatis*, namun proses replikasi virus tetap terjadi secara efisien, terutama pada saluran pencernaan, sehingga sejumlah virus besar diekresikan melalui feses (virus *shedder*). Hal ini menyebabkan virus dapat dengan mudah menginfeksi unggas rentan lainnya bahkan manusia yang berada di lingkungan sekitar habitat unggas air tersebut. Salah satu faktor penting lainnya yang menyebabkan virus *Avian Influenza* tetap lestari pada suatu daerah adalah perdagangan unggas hidup di pasar tradisional.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan identifikasi virus *Avian Influenza* subtipe H5 pada itik di Pasar Sepanjang Kabupaten Sidoarjo yang berasal dari Mojosari, Lumajang, Sidoarjo dan Jombang. Pengambilan sampel dilakukan secara *Purposive Sampling*, jumlah sampel yang diperiksa sebanyak

100 *Pooled sample* (sampel gabungan) yang berasal dari 300 itik di Pasar Sepanjang Sidoarjo. Satu *pooled sample* terdiri dari 3 sampel itik yang berbeda.

Penelitian ini telah dilakukan pada bulan Januari – Juli 2016, diperoleh 100 *Pooled sample* Mojosari sebanyak 33 ekor yang diambil *swab* kloaknya, di *pooled* menjadi 11 sampel inokulum. Itik yang berasal dari Lumajang sebanyak 27 ekor yang diambil *swab* kloaknya, di *pooled* menjadi 9 sampel inokulum. Itik yang berasal dari Sidoarjo sebanyak 20 ekor yang diambil *swab* kloaknya, di *pooled* menjadi 8 sampel inokulum. Itik yang berasal dari Jombang sebanyak 20 ekor diambil *swab* kloaknya, di *pooled* menjadi 8 sampel inokulum.

Setiap sampel *swab* tersebut kemudian diinokulasikan pada TAB, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C dan diamati setiap harinya terhadap kematian embrio. Cairan allantois dari TAB yang embrionya mati atau dimatikan kemudian dilakukan uji HA untuk mengetahui kemungkinan adanya virus *Avian Influenza*, apabila positif maka dilanjutkan uji HI untuk mengidentifikasi subtipe dari virus *Avian Influenza* yang berhasil diisolasi, namun bila uji HA menunjukkan hasil negatif atau titer yang dihasilkan rendah atau bila cairan allantois yang dipanen memiliki kualitas jelek (keruh, campur darah) maka dilakukan pasase.

Hasil penelitian isolasi dan identifikasi virus *Avian Influenza* subtipe H5 dari *swab* kloaka itik yang didistribusikan di Pasar Sepanjang Sidoarjo mendapatkan hasil sebanyak 18 *pooled sample* positif (18 %) dari 100 *pooled sample* yang berasal dari 300 ekor itik. Keseluruhan sampel positif virus *Avian Influenza* subtipe H5 berasal dari isolat itik (Mojosari, Lumajang, Sidoarjo dan Jombang), sehingga dapat disimpulkan kisaran jumlah per ekor itik

yang positif *Avian Influenza* subtipe H5 sebanyak 18 ekor hingga 54 ekor itik (Mojosari, Lumajang, Sidoarjo dan Jombang) dari 300 ekor itik yang diambil *swab* kloaknya.

Hasil Penelitian menunjukkan bahwa di Pasar Sepanjang Sidoarjo masih ditemukan virus *Avian Influenza* subtipe H5. Hal ini membuktikan bahwa di pasar tersebut sirkulasi dari virus *Avian Influenza* subtipe H5 terjadi pada awal musim hujan, maka untuk menghindari terjadinya *reassortment genetic* yang dapat menimbulkan varian virus baru, sebaiknya di Pasar Sepanjang Sidoarjo pada umumnya maupun di pasar-pasar tradisional lain di seluruh Indonesia memisahkan penjualan unggas darat dan unggas air.

Perlu kerjasama yang baik antar instansi yang terkait dalam memberikan penyuluhan yang tepat guna kepada masyarakat dan para pedagang agar dapat mengetahui dan memahami bagaimana cara yang tepat dalam pencegahan, penularan *Avian Influenza* di pasar tradisional, juga meningkatkan sanitasi dan higienis dalam proses pemotongan unggas dan penanganan karkas unggas di pasar tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, D. J. 2000. A review of asian influenza in different bird spesies. *Vet Microbiol.* 74: 3-13 Abstrct: <http://amadeo.com/lit.php?id=10799774>
- Amonsin A., Lapkuntod J., Suwannakarn., Kitikoon P., Suradinat S., T. Rachord., B. Supanat., Bunpapong N., W. Manoosak., Wisedchantwet T., T. Apiradee., Poovorawan Y., Sasipreeyajan J., Thanawongnuwech R. 2010. Genetic Characterization of 2008 Reassortant Influenza A Virus (H5N1), Thailand. *Virology Journal* 2010, 7 : 233.
- Anthara, I.M.S., Suartha I.N., Wiryana I.M.S., Sukada I.M., Wirata I.W., Prasetya I.G.N.D., Dewi N.M RK., Komalasari T dan Mahardika IGNK. 2009. Pola Distribusi Perdagangan Unggas di Pasar Tradisional Berpotensi terhadap Penyebaran Virus Avian Influenza. *Jurnal Veteriner.* Vol. 12 (2) : 104-110
- Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian 2013. Arah Penelitian Mendukung Rencana Bebas Penyakit Avian Influenza pada UnggasTahun 2020 di Indonesia. IAARD Press: Jakarta. <http://peternakan.litbang.pertanian.go.id>.
- Balai Besar Karantina Pertanian Surabaya. 2016. Antisipasi Penyebaran Flu Burung di Jawa.<http://karantinasby.pertanian.go.id/id/2016/04/11/liputan-antisipasi-penyebaran-flu-burung-di-jawa-timur>. [20 Juli 2016]
- Bappenas. 2009. BudidayaTernakItik, Proyek Pengembangan Ekonomi Masyarakat Pedesaan. <http://ristek.go.id>. [1 Mei 2013].
- Capua, I. and C. Terregio. 2009. Clinical Traits and Pathology of Avian Influenza Infections, Guidelines for Farm Visit and Differential Diagnosis. In: *Avian Influenza and New Castle Disease: A Field and Laboratory Manual*, Capua I. and Alexander D. J., Eds. Springer. Milan
- Centers for Disease Control and Prevention. 2014. Information on Avian Influenza, <http://www.cdc.gov/flu/avianflu/>. [18 December 2014].
- Chen H, Deng G, Li Z, Tian G, Li Y, Jiao P, Zhang L, Liu Z, Webster RG, Yu K. 2004. The evolution of H5N1 influenza viruses in ducks in southern China. *ProcNatlAcad Sci. USA*; 101: 10452-10457.
- Choi Y.K., Nguyen T.D., Ozaki H., Webby R.J., Puthavathana P., Buranathal C., Chaisingh A., Auewarakul P., Hanh N.T., Ma S.k., Hui P.Y., Guan Y., Peiris J.S., Webster R.G. 2005. Studies of H5N1 Influenza Virus Infection of Pig by Using Viruses Isolated in Vietnam and Thailand in 2004. *J. Virol* 2005; 79: 10821-5.

- Daniels, P., Agus W., Elly S., Bagoes P and L. D. Sims. 2012. H5N1 Highly Pathogenic Avian Influenza in Indonesia: Retrospective Considerations. SpringerLink /Volume 365/ pp 171-184.
- DEPTAN. 2013. <http://epetani.deptan.go.id/budidaya/jurus-jitu-melawan-flu-burung-avian-influenza-8357> [1Maret 2014]
- Ernawati, R., A. P. Rahardjo., N. Sianita., J. Rahmahani., F. A. Rantam., W. dan Suwarno. 2013. Petunjuk Praktikum Pemeriksaan Virologik dan Serologik. Laboratorium Virologi dan Imunologi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- FAO. 2009. Biosecurity for Highly Pathogenic Avian Influenza Issues and options. FAO Animal Production and Health Paper No. 165
- FAO Animal Production and Health. 2011. Investigating the Role of Bats in Emerging Zoonoses. Food and Agriculture Organization.
- Fouchier, R.A.M., B. Olsen., T.H. Bestebroer., S. Herfist., L. Van Der Kemp., G.F. Rimmelzwaan and A.D.M.E. Osterhaus. 2003. Influenza A Virus Surveillance in Wild bird in Northern Europe in 1999 and 2000. Avian Dis. 47 : 857 – 860.
- Frederika, E., A. Mareta., W. Krisna., E.D. Poetranto., L. Wulandari., R.A. Setyoningrum., L.L. Setyowati., R. Yudhawati., G. Sugiartodan M. Yamaoka. 2013. Identification of Influenza Viruses in Human and Poultry in the Area of Larangan Wet Market Sidoarjo-East java, Indonesia. Indonesia Journal of Tropical and Disease, Vol.4.No.4 : 30-34.
- Gilbert, M.X., XiangmingPrasit., C.Kalpravidh., W.Premashthira., S. Boles and S.Slingenbergh J.2007.Avianinfluenza, Domestic Ducks and Ricea Agriculture in Thailand.Agriculture, Ecosystems and Environment. Vol. 119 : 409–415.
- Griffin, C.R., F.J. Shallenberger and S.I. Ferrer. 1989. Hawaii's Endangered Waterbird: A Resource Management Challenge. In: R.R Sharitz and I. W. Symposium: 155-169. Savannah River Ecology Lab. Aiken, South Carolina.
- Guan, Y., G.J. Smith. R. Webby and R.G. Webster. 2009. Molecular epidemiology of H5N1 Avian Influenza. Rev Sci Tech. 28(1) : 29-47
- Hanson, B. A., Stallknecht D. E., Swayne D. E., Lewis L. Aand Senne D. A. 2003. Avian Influenza Viruses in Minnesota Ducks during 1998-2000. Avian Dis. 47, 867-871.
- Horimoto, T. and Y. Kawaoka. 2001. Pandemic Threat Posed by Avian Influenza A Viruses. Clin.Microbiol. Rev. 14: 129-149

- Hewajuli, D.A. dan N.L.P.I. Dharmayanti. 2012. Hubungan AI dan Unggas Air dalam Menciptakan Keragaman Genetik serta peran Unggas Air sebagai Reservoir pada Penyebaran Virus AI. Balai Besar Penelitian Veteriner: Bogor. <http://peternakan.litbang.pertanian.go.id/fullteks/wartazoa/wazo221-2.pdf?secure=1>.
- Hulse-Post, D.J., K.M. Sturm-Ramirez., J. Humberd., P. Seiler., E.A. Govorkova., S. Krauss., C. Scholtissek., P. Puthavathana., C. Buranathai., T.D. Nguyen., H.T. Long., T.S.P. Naipospos., H. Chen., T.M. Ellis., Y. Guan., J.S.M. Peiris and R.G. Webster. 2005. Role of domestic ducks in the the propagation and biological evolution of highly pathogenic H5N1 influenza viruses in Asia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 10682 – 10687.
- Ilham, N. and Y. Yusdja. 2010. Dampak Flu Burung Terhadap Produksi Unggas dan Kontribusi Usaha Unggas Terhadap Pendapatan Peternak Skala Kecil di Indonesia. *Jurnal Agro Ekonomi*, Volume 28 No. 1, Mei 2010: 39-68.
- IP2TP Jakarta, 2000. Laporan Hasil Kegiatan Gelar Teknologi Penerapan Sistem Usaha Tani Itik Petelur di DKI Jakarta. [http : //www.pustaka.litbang.deptan.go.id/agritek/dkij0120.pdf](http://www.pustaka.litbang.deptan.go.id/agritek/dkij0120.pdf). [25 Februari 2014]
- Kaleka, Norbertus. 2015. Beternak Itik Tanpa Bau Tanpa Angon. Arcitra. Yogyakarta. Hal 31-32.
- Khawaja, J.Z., Naeem K., Ahmed Z and Ahmad S. 2005. Surveillance of avian influenza Viruses in wild birds in areas adjacent to epicenter of an out break in Federal Capital Territory of Pakistan. *Int J Poultry Sci.* 4 : 39-43
- Kementerian Pertanian. 2012. Manual Penyakit Unggas. [http ://keswan.ditjennak.deptan.go.id/index.php/blog/read/berita/penyakit-avian-influenza](http://keswan.ditjennak.deptan.go.id/index.php/blog/read/berita/penyakit-avian-influenza). [30 Juni 2014]
- Kyaw, T., C.C.S. Mon., T.T. Yu and T.T. Win. 2008. Study on HPAI Situation in Live Bird Markets in Myanmar. The 15th Congress of the Federation of Asian Veterinary Association, FAVA and OIE Symposium, Bangkok, Thailand. 27-30 October 2008.
- Leung, Y.H.C., L.J. Zhang., C.K. Chow., C.L. Tsang., N.G. Chi-Fung, C.K. Wong., Y. Guan., J.S.M. Peiris. 2007. Poultry Drinking Water Used for Avian Influenza Surveillance. *Emerging Infectious Diseases*, Vol.13 No.9.
- Marhiyanto, B. dan A. Idel. 1996. *Budidaya Bebek Darat*. Gita MEDIA Press. Surabaya. Hal 14-16
- Nagy, A., V. Vostinakova., Z. Pindova., J. Hornickova., L. Cernikova., K. Sedlak., M. Mojzis., Z. Dibarkova and J. Marchova. 2009. Molecular and

Phylogenetic Analysis of The H5N1 Avian Influenza Virus Caused The First Highly Pathogenic Avian Influenza Outbreak in Poultry in The Czech Republic in 2007. *Vet. Microbiol.* 133 : 257 – 263.

Novia, I. L. 2015. Isolasi dan Identifikasi Virus Avian Influenza Subtipe H5 melalui Swab Kloaka Unggas Air di Pasar Raya Mojosari Kabupaten Mojokerto Jawa Timur [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Office International des Epizooties (OIE). 2008. *Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animal*. World Organization for Animal Health. 4 : 258-269

Office International des Epizooties (OIE). 2014. *Avian Influenza :Version adopted by the World Assembly of Delegates of the OIE in May 2014* : 12-13.

OIE. 2014. *Avian Influenza*. In: *Manual Diagnostic and Vaccines for Terrestrial Animal 2012*. <http://www.oie.int/international-standard-setting/terrestrial-manual/access-online>. [21 Mei 2015]

Olsen, B., V. J. Munster., A. Wallensten., J. Waldenstrom., A.D.M.E. Osterhaus and R.A.M. Fouchier. 2006. Global Patterns of Influenza A Virus in Wild Birds. *Science* 312: 384-388

Palese, P. and M.L. Shaw. 2007. *Orthomyxoviridae: The Viruses and Their Replication*, In: D.M. Knipe and P.M. Howley (eds), *Fields*.

Pattison, M., P. F. McMullin., J. M. Bradbury and D. J. Alexander. 2008. *Poultry Disease*, 6th ed. Elsevier.

Poetranto, E.D., M. Yamaoka., A.M. Nastri., L.A.W. Krisna., M.H. Rahman., L. Wulandari., R. Yudhawati., T.E Ginting., A. Makino., K. Shinya dan Y. Kawaoka. 2011. An H5N1 highly pathogenic avian influenza virus isolated from a local tree sparrow in Indonesia. *MicrobiolImmunol* 2011; 55; 666-672

Puslitbangnak. 2013. *Avian Influenza A (H5N1) :Patogenesis, Pencegahan, Pengendalian dan Pemberantasannya*. Hasil Investigasi Lapangan. Gita Pustaka. Jakarta

Rahardjo, A.P dan A.T.S. Estoepangestie. 2008. Isolation of Avian Influenza Virus AI/H5 from Chicken Skin During A Natural Outbreak. *Veterinary Medicine Faculty of Airlangga University, Surabaya*

Radji, M. 2006. Avian Influenza A (H5N1): Patogenesis, Pencegahan, dan Penyebaran pada Manusia. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 3 : 55-65

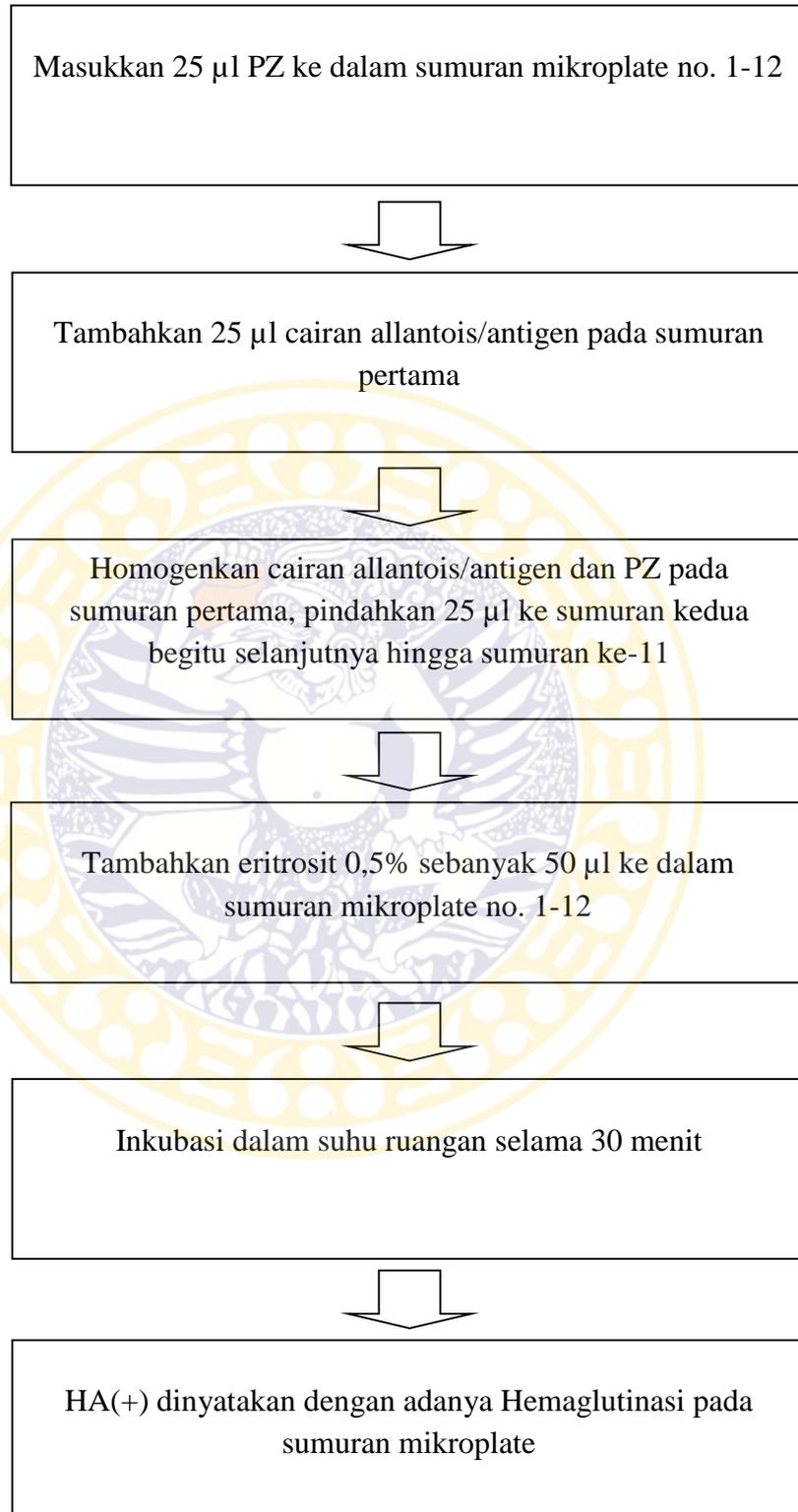
- Rahardjo, Y. 2004. Avian Influenza, Pencegahan, Pengendalian dan Pemberantasannya. Gallus Indonesia Utama. Jakarta.
- Romieh, J.A. 2008. Understanding Zoonotic Disease. Cengage Learning. Canada
- Samosir, B.J. 1993. Ilmu Berternak Itik. PT. Gramedia pustaka Utama. Jakarta.
- Smith, G.J.D., T.S.P Naipospos., T.D Nguyen., M.D de Jong., D. Vijaykrishn., T.B Usman., S.S Hassan., T.V Dao, N.A Bui., M.D Leung., T.T Hien., J. Farrar., R.G Webster., H. Chen J.S.M Peiris., Y Guan. 2006. Evolution and Adaptation of H5N1 Influenza Virus in Avian and Human Host in Indonesia and Vietnam. *Virology* 2006 ; 350 : 258-68.
- Smith, G.J., D Vijaykrishna., J Bahl., S.J Lycett., M Worobey., O.G. Pybus., S.K Ma., C.L Cheung., J. Raghvani., S. Bhatt., J.S. Peiris., Y. Guan and A. Rambaut. 2009. Origins and Evolutionary Genomic of the 2009 Swine-Origin H1N1 Influenza A Epidemic. *Nature*. 2009 Jun 25;459 (7250) :1122-5.
- Spackman, Erica. 2007. Avian Influenza Virus in *Methods in Biology Molecular* 436. Humana Press: USA, Chapter 1: 3-4
- Soejoedono, Retno D. dan Ekowati Handharyani. 2005. Flu Burung. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Stallknecht, D. E., S.M Shane., P. J.Zwank., D. A. Senne. and M.T. Kearney. 1990. Avian Influenza Virus from Migratory and Resident Ducks of Coastal Louisiana. *Avian Dis.* 34, 398-450.
- Sturm-Ramirez K.M., Hulse-Post D.J., Govorkova E.A., Humberd J., Seiler P., Puthuvanathana P., Burunathai C., Nguyen T.D., Chaisingh A., Long H.T., Naipospos T.S.P., Chen H., Ellis T.M., Guan Y., Peiris J.S.M and Webster R.G. 2005. Are ducks contributing to the endemicity of highly pathogenic H5N1 influenza virus in Asia? *J Virol.* 79: 11269-11279
- Suartha, I.N., I.M.S Antara, I.K.S. Wiryana, I.M. Sukada, I.W. Wirata, N.M.R.K. Dewi dan I.G.N.K Mahardika. 2010. Peranan Pedagang Unggas dalam Penyebaran Virus Avian Influenza. *Jurnal Veteriner*. Vol. 11 No. 4: 220-225.
- Susanti, R., R.D Soejoedono., I.G.N.K Mahardika., I.W.T Wibawandan M.T Suhartono. 2007. Potensi Unggas Air Sebagai Reservoir Virus *High Pathogenic Avian Influenza* Subtype H5N1. *JITV* 12(2) : 160-166.
- Sutanto, Y.C. 2013. Highly Pathogenic Avian Influenza Knowledge, Attitudes and Practices Study among Live Bird Market Worker in Jakarta-Indonesia [Thesis]. Colorado State University.

- Soeprinianondo K, Romziah S, Dady Soegianto N, Sri Hidanah, SunaryoHadi W. 2011. Manajemen Pemeliharaan Ternak Itik. Airlangga University Press. Surabaya.
- Supriyadi. 2009. Panduan Lengkap Itik. Penebar Swadaya. Jakarta
- Suwarno., A.P. Rahardjo., Fauziah dan Eko Agus S. 2006. Karakterisasi Virus Avian Influenza dengan Uji Serologik dan Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction. *Media Kedokteran Hewan*. 2: 74-78.
- Syukur, D.A. 2006. Situasi Penyakit Flu Burung. http://www.disnakkeswanlampung.go.id/index.php?option=com_content&task=view&id=143&Itemid=9. [30 Desember 2006]
- Tamrer, S. dan Noorkasiani. 2008. Flu Burung : Aspek Klinis dan Epidemiologis. Salemba Medika. Jakarta.
- Thompson, C. I., W. S. Barclay., Zambon. M. C and Pickles. M. C. 2006. Infection of Human Airways Ephilium by Human and Avian Strain of Influenza Virus. *Journal of Virology* 80:8060-8068.
- Tong S., Zhu X., Li Y., Shi M and Zhang J, et al. 2013. New World Bats Harbor Diverse Influenza A Viruse. *PloS Pathog* 9(10): e1003657
- Wan, H. and D. R. Perez. 2006. Quail Carry Sialic Acid Receptors Compatible with Binding of Avian and Human Influenza Viruses. *Virology* 346:278-286.
- Webster, R.G. 2004. Wet markets-A continuing source of severe acute respiratory syndrome and influenza? *Lancet* 363 (9404): 234-236
- Werner, O. and Harder, T.C., 2006. Avian Influenza 43. in Kamps, B.S., Hoffmann, C., Preiser, W. (eds.) *Influenza Report 2006*, Flying Publishers, Paris accessed at www.influenzareport.com.
- Wibawa, H., J. Bingham, H. Nuradjia., S. Lowthera., J. Paynea., J. Harpera., F. Wonga., R. Lunta., A. Junaidic., D. Middletona., J. Meers. 2012. The Pathobiology of Two Indonesian H5N1 Avian Influenza Viruses Representing Different Clade 2.1 sublineages in Chickens and Ducks. *Comparative Immunology, Microbiology and Infctious Diseases*. 36:175-191. *Virology* 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 1647-1689.
- Widiasih, D. A., H. Susetya., B. Sumiarto., C. R. Tabbudan S. Budiharta. 2006. Kajian Kasus-Kontrol *Avian Influenza* pada Unggas di Jawa Timur, Jawa Tengah dan Daerah Istimewa Yogyakarta. *J.Sain. Vet.*, Vol.24 No.1 : 71-76.

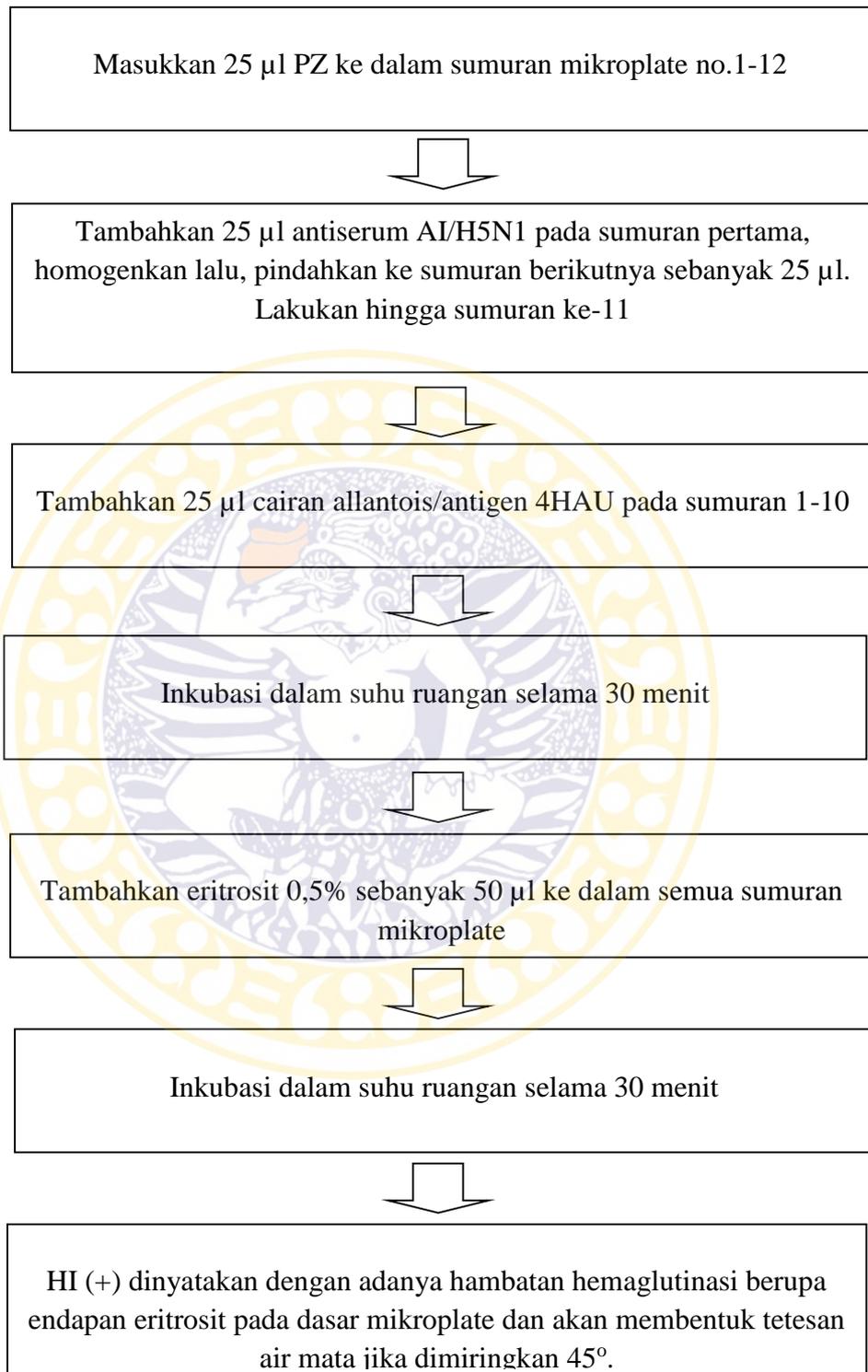
- Wibowo, M.H., W. Asmara dan C.R. Tabbu. 2006. Isolasi dan Identifikasi Serologis Virus *Avian Influenza* dari Sampel Unggas yang Diperoleh di Daerah Istimewa Yogyakarta dan Jawa Tengah. *J Sain Vet*, Vol.24 No. 1 : 77-83.
- WHO. 2006. Avian Influenza 2.7.12, Terrestrial Animal Health Code-1006. World Organization for Animal Health: Paris, Perancis.
- WHO. 2011. Manual for the Laboratory Diagnosis and Virological Surveillance of Influenza. WHO Press. Switzerland. ISBN 978-92-154809-0
- WHO.2014. Cumulative Number of Confirmed Human Cases for Avian Influenza A (H5N1) Reported to WHO, 2003-2014.
- Yan, Peter. 2014. Keganasan Virus AI. *Majalah Poultry Indonesia*. Edisi Bulan Maret. www.poultryindonesia.com/news/utama-2/keganasan-virus-ai/ [10 Desember 2015].



Lampiran 1. Skema Uji HA Mikroteknik



Lampiran 2. Skema Uji HI Mikroteknik



Lampiran 3. Data Hasil Uji HA (*Hemagglutination*) dan Uji HI (*Hemagglutination Inhibition*) Cairan Allantois TAB

No. Urut	Kode Isolat	Uji HA	Uji HI- AI/H5 Titer (log 2)	Identifikasi Virus AI/H5
1	1-1M	Pos	< 2 ¹	Neg
2	1-2M	Neg	TD	---
3	1-3M	Pos	< 2 ¹	Neg
4	1-4M	Neg	TD	---
5	1-5M	Neg	TD	---
6	1-6M	Neg	TD	---
7	1-7M	Neg	TD	---
8	1-8M	Neg	TD	---
9	1-9M	Neg	TD	---
10	1-10M	Neg	TD	---
11	1-11M	Pos	< 2 ¹	Neg
12	1-12M	Neg	TD	---
13	1-13M	Neg	TD	---
14	1-14M	Neg	TD	---
15	1-15L	Pos	< 2 ¹	Neg
16	1-16L	Pos	< 2 ¹	Neg
17	1-17L	Pos	< 2 ¹	Neg
18	1-18L	Pos	< 2 ¹	Neg
19	1-19L	Neg	TD	---
20	1-20L	Pos	2 ⁵	Pos
21	2-1L	Pos	2 ³	Pos
22	2-2L	Pos	< 2 ¹	Neg
23	2-3L	Pos	2 ³	Pos
24	2-4L	Pos	2 ⁴	Pos
25	2-5L	Pos	2 ⁴	Pos
26	2-6L	Pos	2 ⁴	Pos
27	2-7L	Pos	2 ⁴	Pos
28	2-8L	Pos	2 ³	Pos
29	2-9L	Pos	2 ⁴	Pos
30	2-10L	Neg	TD	---
31	2-11L	Pos	2 ⁶	Pos
32	2-12M	Pos	2 ⁴	Pos
33	2-13M	Neg	TD	---
34	2-14M	Pos	2 ⁴	Pos
35	2-15M	Pos	2 ⁴	Pos

Lanjutan

No. Urut	Kode Isolat	Uji HA	Uji HI- AI/H5 Titer (log 2)	Identifikasi Virus AI/H5
36	2-16M	Pos	2⁴	Pos
37	2-17M	Pos	2³	Pos
38	2-18M	Pos	2⁴	Pos
39	2-19M	Neg	< 2 ¹	Neg
40	2-20M	Pos	2³	Pos
41	3-1S	Neg	TD	---
42	3-2S	Neg	TD	---
43	3-3S	Neg	TD	---
44	3-4S	Neg	TD	---
45	3-5S	Neg	TD	---
46	3-6S	Neg	TD	---
47	3-7S	Neg	TD	---
48	3-8S	Neg	TD	---
49	3-9S	Neg	TD	---
50	3-10S	Neg	TD	---
51	3-11S	Neg	TD	---
52	3-12S	Neg	TD	---
53	3-13S	Neg	TD	---
54	3-14S	Neg	TD	---
55	3-15S	Neg	TD	---
56	3-16S	Neg	TD	---
57	3-17S	Neg	TD	---
58	3-18S	Neg	TD	---
59	3-19S	Neg	TD	---
60	3-20S	Neg	TD	---
61	4-1L	Pos	< 2 ¹	Neg
62	4-2L	Neg	TD	---
63	4-3L	Pos	< 2 ¹	Neg
64	4-4L	Pos	< 2 ¹	Neg
65	4-5L	Pos	< 2 ¹	Neg
66	4-6L	Pos	< 2 ¹	Neg
67	4-7L	Pos	< 2 ¹	Neg
68	4-8L	Pos	< 2 ¹	Neg
69	4-9L	Pos	< 2 ¹	Neg
70	4-10L	Neg	TD	---
71	4-11M	Neg	TD	---
72	4-12M	Pos	< 2 ¹	Neg
73	4-13M	Pos	< 2 ¹	Neg
74	4-14M	Pos	< 2 ¹	Neg
75	4-15M	Pos	< 2 ¹	Neg

Lanjutan

No. Urut	Kode Isolat	Uji HA	Uji HI-AI/H5 Titer (log 2)	Identifikasi virus AI/H5
76	4-16M	Pos	< 2 ¹	Neg
77	4-17M	Pos	< 2 ¹	Neg
78	4-18M	Pos	< 2 ¹	Neg
79	4-19M	Pos	< 2 ¹	Neg
80	4-20M	Pos	< 2 ¹	Neg
81	5-1J	Pos	< 2 ¹	Neg
82	5-2J	Pos	< 2 ¹	Neg
83	5-3J	Pos	< 2 ¹	Neg
84	5-4J	Pos	< 2 ¹	Neg
85	5-5J	Pos	< 2 ¹	Neg
86	5-6J	Pos	< 2 ¹	Neg
87	5-7J	Pos	< 2 ¹	Neg
88	5-8J	Pos	2⁸	Pos
89	5-9J	Pos	< 2 ¹	Neg
90	5-10J	Pos	< 2 ¹	Neg
91	5-11J	Pos	< 2 ¹	Neg
92	5-12J	Pos	< 2 ¹	Neg
93	5-13J	Pos	< 2 ¹	Neg
94	5-14J	Pos	< 2 ¹	Neg
95	5-15J	Pos	< 2 ¹	Neg
96	5-16J	Pos	< 2 ¹	Neg
97	5-17J	Pos	< 2 ¹	Neg
98	5-18J	Pos	< 2 ¹	Neg
99	5-19J	Neg	TD	---
100	5-20J	Pos	< 2 ¹	Neg

Keterangan :

Pos = Positif

Neg = Negatif

TD = Tidak Dikerjakan

Lampiran 4. Contoh Perhitungan 4HAU

Antigen	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
B	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
C	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
D	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
E	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
F	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
G	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
H	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Titer HA	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	Kontrol Eritrosit

Keterangan:

(+) = Hemaglutinasi Positif

(-) = Hemaglutinasi Negatif

Contoh : Pada Tabel diketahui bahwa titer Antigen/cairan alantois A:

Titer HA = 256

Diperlukan = 4 HAU

↳ Antigen/cairan alantois harus diencerkan $256:4 = 64$ kali

(1ml Ag + 63 ml PZ)

Lampiran 5. Perhitungan Sampel Positif Virus *Avian Influenza* Subtipe H5

Jumlah sampel positif *Avian Influenza* subtipe H5 = 18 dari total 100 *Pooled sample*

$$\frac{\sum A}{\sum B} \times 100 \% \quad \Rightarrow \quad [18/100] \times 100 \% = 18 \%$$

Keterangan:

A = Sampel positif uji HI

B = Total keseluruhan sampel

Dari analisis data di atas diketahui persentase sampel positif virus *Avian Influenza* subtipe H5 pada itik melalui *swab* kloaka di Pasar Sepanjang Sidoarjo sebesar 18 % dari total *pooled sample*.

Lampiran 6. Alat dan Bahan Penelitian



Gambar 1. *Microtube* steril dan *Vortex mixer*



Gambar 2. Proses inokulasi virus dalam TAB menggunakan spuit disposable 1ml



Gambar 3. Sentrifus



Gambar 4. Alat dan kelengkapan untuk uji HA dan uji HI secara Mikrotiter