

## Seroprevalensi Virus Avian Influenza H5N1 pada Entok di Peternakan Pt. Epikur, Tabanan, Bali

(SEROPREVALENCE OF AVIAN INFLUENZA VIRUS H5N1 IN MUSCOVY DUCKS IN PT. EPIKUR FARM-TABANAN, BALI)

Melkias Oagay<sup>1\*</sup>, I Nyoman Suartha<sup>2</sup>, Gusti Ngurah Mahardika<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Program Pendidikan Sarjana Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali;

<sup>2</sup>Laboratorium Penyakit Dalam Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali;

<sup>3</sup>Laboratorium Virologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali.

\*Email: [melkias23oagay@gmail.com](mailto:melkias23oagay@gmail.com)

### Abstrak

Penelitian tentang seroepidemiologi virus avian influenza subtipe H5N1 (VAI-H5N1) pada entok dalam populasi yang besar belum pernah dilaporkan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui seroprevalensi VAI-H5N1 pada kelompok entok di perusahaan PT EPIKUR Tabanan. Sebanyak 48 serum entok dari umur di bawah tiga bulan (32 serum) dan di atas 1 tahun (25 serum) dikumpulkan. Antibodi terhadap VAI H5N1 diuji dengan teknik hambatan haemaglutinasi (HI) pada serum yang diencerkan 5 kali dengan PBS maupun tidak diencerkan. Hasil penelitian seroprevalensi VAI H5N1 pada d PT. EPIKUR adalah 0% baik pada entok muda dan pada entok dewasa.

Kata kunci: Entok; seroprevalensi; serum; virus avian influenza H5N1

### Abstract

Seroepidemiological study of avian influenza virus of H5N1 (AIV-H5N1) in a muscovy duck flock has never been reported. This study was conducted to know the seroprevalence of AIV-H5N1 in a muscovy duck flock in PT EPIKUR Tabanan. Forty-eight muscovy duck sera were collected, in which 23 were under 3 months old and 25 were more than one year old. Antibody to AIV-H5N1 was detected using haemagglutination inhibition (HI) test in deluted and undeluted sera. The delution was made by adding 4 time volume of PBS to 1 time volume of sera. The result shows that the seroprevalence of AIV-H5N1 in muscovy duck at PT. EPIKUR was 0% in young as well as old ducks.

Keywords: Avian influenza virus H5N1, muscovy ducks, seroprevalence; serum.

### PENDAHULUAN

Virus avian influenza (AI) atau flu burung telah menyebar ke berbagai negara di dunia termasuk Indonesia sejak awal tahun 2000-an. Virus ini bersifat zoonosis, yang dapat ditularkan dari hewan terinfeksi ke manusia (Hayden dan Croiser, 2005). Virus ini pertama kali ditemukan pada angsa peliharaan di Cina Selatan pada 1996 yang kemudian menyebar ke seluruh Dunia. Semua Kabupaten di Provinsi Bali sudah tertular VAI (Mahardika *et al.*, 2005).

Di Indonesia, wabah AI terus mengalami perkembangan. Daerah penyebaran penyakit virus menular hingga ke 26 provinsi (WHO, 2006). Meluasnya wabah diikuti pula dengan meningkatnya peluang kejadian penularan penyakit pada manusia. Kekhawatiran tersebut telah terbukti dengan timbulnya korban jiwa akibat infeksi VIA H5N1 di Indonesia. Informasi terbaru per Februari 2017, jumlah kasus manusia di Indonesia yang dikonfirmasi telah terinfeksi virus avian influenza H5N1 adalah 199 orang, 167

orang diantaranya meninggal dunia (Kemenkes, 2017).

Unggas air termasuk entok dan itik dikenal sebagai resevoir alami VAI (Olsen *et al.*, 2006). Hal senada juga dikatakan oleh (Chen *et al.*, 2004) bahwa unggas air liar termasuk itik merupakan inang alami virus AI. Virus AI H5N1 sangat patogen bagi semua jenis ayam (Monne *et al.*, 2015). Tetapi pada itik VAI H5N1 tidak berbahaya sehingga mampu menyebar ke itik lain dan mengakibatkan endemik dan menjadi acaman pandemik (Hules-Post *et al.*, 2005; Strum-Ramires *et al.*, 2005).

Salah satu unggas air yang memiliki peran sebagai sumber dalam penyebaran virus AI adalah itik (Fouchier *et al.*, 2005). Penyebaran virus AI oleh unggas air ini terjadi secara cepat dan meluas akibat dari pola pemeliharaan itik yang tidak dikandangkan atau itik yang digembalakan di daerah persawahan pasca panen. Pada unggas air sebagai inang virus AI mengakibatkan hasil seroprevalensi yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan ayam kampung (Mahardika *et al.*, 2005). Infeksi AI pada unggas air tidak disertai dengan gejala klinis yang menciri (bersifat sub klinis) dan virus terus dieksresikan dalam waktu yang lama.

Laporan deteksi antibodi dan virus AI H5N1 pada entok sudah ada dari banyak negara di dunia, termasuk Indonesia. Adjid *et al.* (2013) melaporkan entok yang positif antibodi sebanyak 5 dari 26 ekor (sekitar 19%) di Bogor. Sebelumnya penelitian lain sudah mengkarakterisasi virus AI dari entok di Jawa Barat (Susanti *et al.*, 2007). Kenyataan ini, entok tampaknya dapat terinfeksi virus AI walau bersifat sub-klinis. Perusahaan PT. EPIKUR menternakkan entok dalam jumlah yang banyak di Desa Apuan, Kecamatan Baturiti, Tabanan. Jumlah entok yang dipelihara sekitar 1000 ekor. Perusahaan memproduksi daging entok khas Prancis yang disebut *foie grass*. Perusahaan itu memperoleh entok dari produksi sendiri dan membeli dari luar, perusahaan itu ada di tengah persawahan yang dialiri dari

pengairan subak serta kemungkinan masuknya unggas lain dan burung liar cukup besar. Perusahaan juga memelihara entok dalam kelompok umur yang berbeda. Perusahaan itu merupakan tempat berkumpulnya entok dalam jumlah besar yang jarang ada di Indonesia. Karena itu, penelitian seroprevalensi infeksi virus AI di PT EPIKUR menarik untuk dilakukan.

## METODE PENELITIAN

### Sampel Penelitian.

Sampel darah entok diambil di peternakan entok di Tabanan Bali. Sampel penelitian yang digunakan sejumlah 48 sampel serum entok umur muda < 3 bulan 23 sampel dan umur dewasa > 1 tahun 25 sampel.

Pengambilan sampel darah entok diambil dari vena brachialis (vena sayap), menggunakan spuit 3 ml sebanyak 2 ml. Spuit yang berisi darah dimasukkan kedalam *cool box* dengan posisi horisontal agar sampel tidak rusak dan serum bisa dipisah sempurna. Setelah sampai dilaboratorium sampel darah dimasukkan dalam *refrigerator* suhu 4°C selama 18 jam, kemudian serum dipisahkan dari gumpalan darah. Serum ditempatkan kedalam tabung mikro 1,5 ml disimpan dalam suhu -20°C sampai digunakan dalam uji Hambatan Aglutinasi (*HI test*).

### Perlakuan Serum.

Serum diencerkan 5x dengan *Posphate Buffer Saline* (PBS), yaitu 1 bagian serum ditambahkan dengan 4 bagian PBS. Serum yang diencerkan dipanaskan selama 30 menit pada suhu 56°C untuk menghilangkan penghambat yang tidak spesifik. Pengujian dilakukan pada serum yang diencerkan dan tidak diencerkan. Serum kontrol positif dan negatif diperoleh dari Laboratorium Biomedik FKH UNUD.

### Antigen 4 HA.

Sebagai antigen virus AI yang digunakan adalah (A/Chicken/Denpasar/01/2004 (H5N1) yang sekuens haemaglutinin (HA) dan

neurominidase (NA) (GenBank dengan Nomor Akses DQ644955 dan KR987715) (Suartha *et al.*, 2018). Virus itu diencerkan 8x dengan PBS untuk memperoleh 4 unit HA.

### Uji Hambatan Hemaglutinasi Cepat (*Rapid HI*)

Uji HI dilakukan dengan mengisi 25  $\mu$ l NaCl 0,9% ke dalam lobang plat mikro dengan dasaran U dari lobang pertama sampai lobang ke-12. Lobang pertama ditambahkan serum unggas yang telah diencerkan 10x sebanyak 25  $\mu$ l cairan pada lobang pertama dan dipindahkan pada lobang ke-12 demikian seterusnya sampai lobang ke-11. Antigen AI 4 unit HA sebanyak 25  $\mu$ l ditambahkan dari lobang pertama sampai lobang ke-11. *Plate* kemudian diayak selama 30 detik lalu diinkubasikan pada suhu kamar selama 30 menit. Suspensi sel darah merah (SDM) konsentrasi 0,5% sebanyak 50  $\mu$ l ditambahkan ke semua lobang. *Plate* kembali diayak dan diinkubasikan selama 30 menit. Pembacaan dilakukan setelah sel darah merah kontrol (lobang 12) menggumpal hasil positif uji HI ditandai dengan adanya endapan seperti pasir SDM pada dasar lobang (WHO, 2002).

### Analisis Data.

Data dianalisis secara deskriptif. Seroprevalensi AI dihitung dengan rumus: jumlah sampel positif terdeteksi AI dibagi jumlah sampel yang diambil dari ternak entok yang beresiko, dikalikan 100%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

Gambar peternakan entok PT. EPIKUR dan pengambilan darah ditunjukkan dengan Gambar 1. Hasil pengujian HI cepat dan serum yang diencerkan dan serum yang tidak diencerkan ditampilkan pada Gambar 2.

Hasil pengujian HI cepat terhadap serum yang diencerkan dan tidak diencerkan ditampilkan pada Tabel 1. Pengujian dilakukan dua kali yaitu 12 Februari dan 19 Februari 2018. Dari data

tersebut tampak bahwa jumlah serum yang negatif dari total sampel adalah 48, yang positif 0. Hasil itu tampak pada serum yang diencerkan dan tidak diencerkan. Seroprevalensi infeksi AI H5N1 di perusahaan EPIKUR adalah 0%, baik pada entok muda maupun pada entok dewasa. Tabel itu juga menunjukkan bahwa dua serum kontrol positif hasilnya positif dan dua serum kontrol negatif, hasilnya negatif.

### Pembahasan.

Unggas air dikenal sebagai reservoir alami VAI (Henaux dan Samuel, 2011). Virus AI H5N1 pada itik VAI H5N1 tidak berbahaya sehingga mampu menyebar ke itik lain dan mengakibatkan endemik dan menjadi ancaman pandemik (Ellis *et al.*, 2004). Penyebaran virus AI oleh unggas air ini terjadi secara cepat dan meluas akibat dari pola pemeliharaan itik yang tidak dikendalikan atau itik digembalakan di daerah persawahan paska panen. Para itik dan unggas air sebagai inang virus AI mengakibatkan hasil seroprevalensi yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan ayam kampung (Mahardika *et al.*, 2005). Damanik *et al.* (2013) melaporkan seroprevalensi AI pada pasar unggas dan peternakan itik di Kabupaten Klungkung sebesar 81,4%. Laporan sebelum dari Jawa Barat, Adjid *et al.* (2013) melaporkan entok yang positif antibodi sebanyak 5 dari 26 ekor (sekitar 19%) di Bogor. Penelitian lain sudah mengkarakterisasi virus AI dari entok di Jawa Barat (Susanti *et al.*, 2007). Dari hal itu, entok tampaknya terinfeksi virus AI walaupun bersifat sub-klinis.

Perusahaan PT. EPIKUR memelihara entok dalam jumlah yang banyak sekitar 1000 ekor. Perusahaan itu memperoleh entok dari produksi sendiri dan membeli dari luar. Disamping sumber entok dari luar, perusahaan itu ada di tengah persawahan yang dialiri dari pengairan subak serta kemungkinan masuknya unggas lain dan burung liar cukup besar. Perusahaan juga memelihara entok dalam kelompok umur yang berbeda. Perusahaan itu merupakan tempat berkumpulnya entok

dalam jumlah besar yang jarang ada di Indonesia. Karena itu, penelitian seroprevalensi infeksi virus AI di PT. EPIKUR menarik untuk dilakukan.

Pada unggas air (itik, entok) virus AI tidak menimbulkan gejala klinis yang khas dan tidak mematikan. Gejala klinis yang teramati pada itik yaitu penurunan nafsu makan. Isolasi virus AI pada itik di Bali dan daerah Indonesia telah banyak dilaporkan, tetapi laporan isolasi virus AI dan seroprevalensi pada entok di daerah Bali belum ada. Itik dan entok pernah terinfeksi dan sedang diinfeksi dapat deteksi dari titer antibodi yang terbentuk pada entok. Penelitian sebelumnya di Indonesia menunjukkan bahwa virus AI dan antibodi terhadap virus AI H5N1 dapat dideteksi di Jawa Barat (Adjid *et al.*, 2013; Susanti *et al.*, 2007). Mengingat peternakan PT. EPIKUR berlokasi ditempat terbuka yang rawan akses ayam milik masyarakat serta aliran air subak dimana terdapat banyak peternakan ayam disepanjang aliran air itu, sehingga diduga peternakan tersebut sudah tertular virus AI H5N1 yang dapat dideteksi dari antibodi di dalam serumnya. Semakin tua umur entok, peluang terpapar virus semakin besar sehingga prevalensinya lebih besar dibandingkan hewan mudah.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada, entok yang mempunyai antibodi terhadap virus AI H5N1. Hal ini dapat terjadi kemungkinan karena entok yang dipelihara tidak peka terhadap AI H5N1. Dengan kata lain, virus itu tidak bisa bereplikasi pada tubuh entok. Hasil ini dibedakan dengan temuan Adjid *et al.* (2013) dan Susanti *et al.* (2007). Ini kemungkinan terjadi karena jenis entok yang dipelihara berbeda dengan yang ada di PT Epikur. Disamping itu, biosekuriti perusahaan tampaknya sudah dapat mencegah penularan AI dari luar. Hal ini dapat menjadi contoh untuk penerapan biosekuriti ditempat lain di Indonesia. PT EPIKUR sejak setahun terakhir tidak lagi menggunakan air subak untuk permandian dan sumber air minum entoknya.

Perusahaan menggunakan air tanah dari sumur bor untuk keperluan itu.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Tidak ditemukan serum positif pada entok yang diteliti.

### Saran

Penelitian dalam jangka panjang pada perusahaan yang sama serta pada peternakan entok yang lain perlu dilakukan.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada PT. EPIKUR, serta semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adjid RMA, NLPI Dharmayanti R, Indriani R, Hewajuli DA. 2013. Characteristic of avian influenza h5n1 virus infection in backyard poultry. *Proc. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner* 2013.
- Chen HG, Deng ZLi, Tian G, Li Y, Join P, Zhang L, Liu Z, Webster RG, Yu K. 2004. The evolution of H5N1 influenza viruses in duck. *PNAS*. 101(28): 10452-10457.
- Damanik EG, Kencana GAY, Mahardika IGNK. 2013. *Bul. Vet. Udayana*. 5(2): 139-146.
- Ellis TM, Bousfield B, Bisset L, Dyrting K, Luk GSM, Tsim ST, Strum-Ramirez K, Webster RG, Guang Y, Peiris JS. 2004. Investigation of outbreaks of highly pathogenic H5N1 avian influenza in waterfowl and wild birds in Hong Kong in late 2002. *Avian Pathol*. 33: 492-505.
- Fouchier RA, Munster V, Wollensten A, Besterbroer TM, Helfts S, Smith D, Rimmelzwaan CF, Olsen B, Osterhaus. 2005. Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin sub type (h16) obtained from black headad gulls. *J. Virol*. 79: 2814-2822.

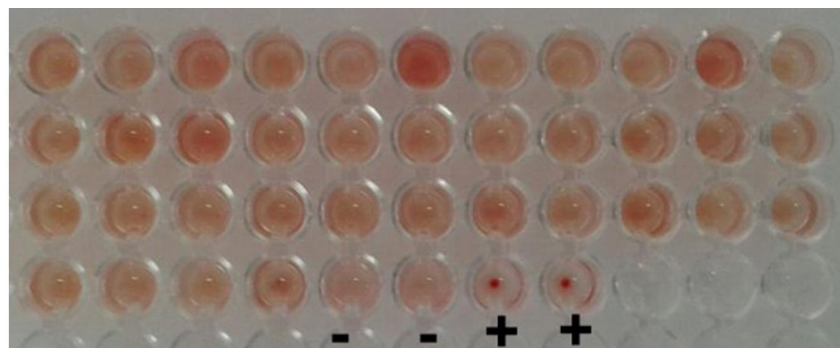
- Hayden F dan Croisier A. 2005. Transmission of Avian Influenza Viruses to and between Humans. *J. Infect. Dis.* 192(8): 1318-1322.
- Henaux V, Samuel MD. Avian influenza shedding patterns in waterfowl: implications for surveillance, environmental transmission, and disease spread. *J. Wildlife Dis.* 47(3): 566-578.
- Hulse-Post DJ, Sturm-Ramires KM, Humberd J, Seiler P, Govorkova EA, Krause S, Scholtissek C, Puthavathana P, Buranathai, Nguyen TD, Peiris H, Webster RG. 2005. Role of domestic ducks in the propagation and biological evolution of highly pathogenic H5N1 influenza viruses in Asia. *PNAS.* 102(30): 10682-10687.
- Kemkes. 2017. Kasus Flu Burung ke 200. <https://www.kemkes.go.id/article/view/17110800005/kemkes-umumkan-kasus-flu-burung-ke-200.html>. Akses tanggal 9 Juli 2018.
- Mahardika IGNK dan Tim Surveilans Pembebasan Penyakit AI Kajian AI FKH Unud. 2005. Laporan Surveilans Pembebasan Penyakit Afian Influenza di Propinsi Bali, Nusa Tenggara Barat dan Nusa Tenggara Timur, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana. Denpasar.
- Monne I, Meseko C, Joannis T, Shittu, Ahmed M, Tassoni L, Fusaro A, Cattoli G. 2015. Highly Pathogenic Avian Influenza A(H5N1) Virus in Poultry, Nigeria, 2015. *Emerg. Infect. Dis.* 21(7): 1275-1277.
- Olsen B, Munster VJ, Wallensten A, Waldenstrom J, Osterhaus AD, Fouchier RA. 2006. Global patterns of influenza A virus in wild birds. *Sci.* 312: 384–388.
- Strum-Ramirez KM, Hulse-Post D, Govorkova EA, Humberd J, Sailer P, Puthavathana P, Buranathai C, Nguyen TD, Chaisingh A, Long HT, Naipospos TSP, Chen H, Ellis TM, Guan Y, Peiris JSM, Webster RG. 2005. Are ducks contributing to the endemicity of highly pathogenic H5N1 influenza virus in Asia?. *J. Virol.* 29(17): 11269-11279.
- Suartha IN, Suartini GGA, Wirata IW, Dewi NMARK, Putra GNN, Kencana GAY, Mahardika IGN. 2018. Intranasal administration of inactivated AIV-H5N1 vaccine induced systemic immune response in chicken and mice. *Vet. World.* 11(2): 221-226.
- Susanti R, Soejoedono RD, Mahardika IGN, Wibawan IWT, Suhartono MT. 2009. Isolasi dan Identifikasi Virus Avian Influenza Subtipe H5N1 pada Unggas Air Sehat di Peternakan Skala Rumah Tangga di Jawa Barat. *Media Kedokteran Hewan.* 24(3): 139-146.
- WHO, 2002. WHO Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/68026>. Akses tanggal 10 Juli 2018.
- WHO. (2006). *Avian – influenza situation in Indonesia – update 14*. [www.who.int/csr/don/2006\\_05\\_23/en/index.html](http://www.who.int/csr/don/2006_05_23/en/index.html). Akses tanggal 12 Juni 2007.

Tabel 1. Hasil pengujian HI cepat terhadap serum yang diencerkan dan tidak diencerkan.

Kondisi Serum	Kategori	Jumlah	Jumlah Positif	Jumlah Negatif
Diencerkan	Umur < 3 bulan	23	0	23
	Umur >1 bulan	25	0	25
Tidak diencerkan	Umur < 3 bulan	11	0	11
	Umur >1 bulan	17	0	17
Kontrol	Kontrol Positif	2	2	0
	Kontrol Negatif	2	0	2



Gambar 1. Peternakan entok PT. Epikur Apuan, Tabanan, entok umur 1 tahun (A), entok umur dibawah 3 bulan (B), pengambilan darah pada entok (C).



Gambar 2. Hasil pengujian HI pada serum entok. Tanda (-) kontrol serum negatif dan (+) adalah kontrol serum positif.