

Seroprevalensi Virus Flu Burung Subtipe H9N2 pada Unggas di Pasar Beringkit, Mengwi, Badung, Bali

(SEROPREVALENCE OF AVIAN INFLUENZA VIRUS SUBTYPE H9N2
IN POULTRY IN PASAR BERINGKIT, MENGWI, BADUNG, BALI)

Brigita Galilea Adu¹, Messy Saputri Boru Sembiring¹, Oktryna Hodesi Sibarani¹,
I Gusti Ngurah Kade Mahardika^{2,3}, Ida Bagus Kade Suardana³,
I Gusti Ayu Agung Suartini⁴, Tjokorda Sari Nindhia⁵

¹Mahasiswa Tingkat Sarjana Kedokteran Hewan

²Laboratorium Biomedik dan Biologi Molekuler Hewan

³Laboratorium Virologi Veteriner, ⁴Laboratorium Biokimia Veteriner

⁵Laboratorium Biostatistika Veteriner

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana Denpasar Bali

Jl. Sudirman, Sanglah, Denpasar, Bali, Indonesia 80234

Phone: (0361) 223791, Email: brigitadu25@gmail.com

ABSTRAK

Virus Avian Influenza (*Avian Influenza Virus/AIV*) subtipe H9N2 (AIV-H9N2) telah menjadi perhatian bagi kesehatan unggas. Virus ini telah dilaporkan di beberapa provinsi di Indonesia. Pasar Beringkit merupakan pasar unggas yang menerima suplai unggas dari berbagai daerah di Bali. Pasar ini menjual berbagai jenis unggas seperti: ayam, itik dan ayam kampung. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui seroprevalensi virus Avian Influenza subtipe H9N2 pada unggas domestik di pasar Beringkit, Kabupaten Badung, Bali. Sebanyak 187 sampel darah dikumpulkan dari tiga kali pengambilan yang berbeda. Serum diambil dari ayam broiler, ayam kampung dan itik yang belum divaksin dan diuji menggunakan Hambatan Hemaglutinasi (*Haemagglutination Inhibition/HI*). Serum diencerkan lima kali dengan NaCl dan dipanaskan 55°C selama 30 menit sebelum dilakukan pengujian. Hasil pemeriksaan uji HI dianalisis dengan uji statistik Non-parametrik Chi-Square. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dari 187 sampel serum, 43 sampel positif mengandung antibodi AIV-H9N2. Seroprevalensi AIV-H9N2 pada ayam broiler sebesar 15,9% (dari total 63), ayam kampung 35,5% (dari total 62) dan itik sebesar 17,7% (dari total 62). Hasil analisis statistika menunjukkan bahwa sampel yang diambil dari antar spesies dengan tiga kali pengambilan berbeda menunjukkan hasil tidak berbeda nyata. Penelitian ini menunjukkan bahwa unggas domestik di Bali telah terinfeksi AIV-H9N2. Biosekuriti, pengawasan pasar dan vaksinasi efektif dalam mencegah infeksi perlu ditingkatkan. Dampak ekonomi yang disebabkan AIV-H9N2 pada unggas domestik perlu dikaji lebih lanjut.

Kata-kata kunci: seroprevalensi; virus avian influenza; H9N2; pasar beringkit

ABSTRACT

Avian Influenza virus subtype H9N2 (AIV-H9N2) has become concern for poultry health. This virus has been reported in many provinces in Indonesia. *Pasar Beringkit* is live bird market (LBM) that receives supply of poultry from various region in Bali. The LBM sells many types of birds such as: chicken, duck, and kampung chicken. The purpose of this study is to determine the seroprevalence of Avian Influenza virus subtype H9N2 in domestic poultry in *Pasar Beringkit*. A total of 187 blood samples were collected from three collection times. The serum were collected from the unvaccinated animals such as broiler chicken, duck and kampung chicken. This serum were tested with Hemagglutination Inhibition Test, using H9N2 antigen with 2² titer. Serum was diluted five times with NaCl and heated 55°C for 30 minutes before testing. The result was analyzed using the Non-parametric Chi-Square. The result shows that in 187 serum, there is 43 positive sample. The seroprevalence Avian AIV-H9 in *Pasar Beringkit* was 15,9% in broiler chicken, 17,7% in duck, 35,5% in kampung chicken. The result of statistical analysis showed that samples collected from three collection times showed not significantly different results. This study indicates

that poultry in Bali has been infected by AIV-H9N2. Biosecurity, market monitoring and vaccination are effective tools to prevent the infection so this needs to be improved. The virus economic impact to poultry needs a further studied.

Keywords: seroprevalence; avian influenza virus; H9N2; pasar beringkit

PENDAHULUAN

Virus flu burung atau *avian influenza* (AI) tergolong famili *Orthomyxoviridae* dan genus *Influenzavirus A* (Palese dan Shaw, 2007). Virus AI (*Avian Influenza Virus/AIV*) diklasifikasikan berdasarkan *Hemagglutination* (HA) dan *Neuraminidase* (NA). Sampai sekarang 16 HA (H1-H16) dan 9 NA (N1-N9) sudah diketahui (Shankar *et al.*, 2009). Berdasarkan patogenitasnya AIV dibagi menjadi dua kelompok yaitu virus flu burung sangat patogen (*Highly Pathogenic Avian Influenza/HPAI*) dan virus kurang patogen (*Low Pathogenic Avian Influenza/LPAI*) (Helmi *et al.*, 2016). Sebagian besar virus LPAI tidak menyebabkan penyakit pada burung air liar. Sebaliknya, virus HPAI menyebabkan infeksi sistemik dan kematian yang tinggi pada ayam, unggas darat dan unggas air (Kim, 2018).

Salah satu subtipe virus LPAI adalah H9N2 (Bano *et al.*, 2003). Virus flu burung subtipe H9N2 (AIV-H9N2) telah menjadi perhatian bagi kesehatan unggas dalam 20 tahun terakhir (Pusch dan Suarez, 2018). Virus ini muncul pada unggas domestik pada pertengahan tahun 1990-an (Fusaro *et al.*, 2011). Infeksi virus H9N2 telah dilaporkan di beberapa negara Asia, Timur Tengah dan Afrika (Al-Garib *et al.*, 2015). Jonas *et al.* (2018) menyatakan bahwa AIV-H9N2 telah menyebar di berbagai provinsi di Indonesia seperti Sumatera Utara, Sumatera Selatan, Jawa Timur dan Bali. Virus AI subtipe H9N2 menyebabkan kerugian ekonomi yang besar pada industri perunggasan (Thuy *et al.*, 2016). Mayoritas ayam yang terinfeksi virus ini menunjukkan gangguan pernapasan dan penurunan produksi telur (Kim, 2018), serta mengalami penurunan bobot badan yang mencapai 25% pada ayam *broiler* (Nili dan Asasi, 2002).

Pasar unggas penting dalam pemasaran unggas di negara berkembang (Cardona *et al.*, 2009). Pasar unggas adalah tempat unggas domestik (termasuk ayam *broiler*, ayam kampung dan itik) dijual (Liu *et al.*, 2003). Sebagian besar pasar hewan di Bali juga merupakan pasar unggas tradisional dan sebagian besar menggabungkannya dengan pasar untuk kebutuhan

sehari-hari. Berbagai spesies unggas ditempatkan dalam kandang panjang yang saling berdekatan, bahkan ada yang dicampur dan ditempatkan dalam satu kandang (Suartha *et al.*, 2010).

Pasar Beringkit di kecamatan Mengwi, Kabupaten Badung merupakan salah satu pasar hewan terbesar di Bali (Hartawan, 2011). Pasar ini menjual berbagai jenis hewan termasuk unggas dari berbagai kabupaten di Bali. Beberapa kabupaten yang menyuplai unggas ke Pasar Beringkit yaitu Kabupaten Badung, Tabanan, Denpasar dan sebagian dari Buleleng (Hartawan, 2011). Penyebaran AIV ditularkan dari unggas terinfeksi ke unggas lain melalui air liur, sekresi nasal, feses dan bulu (Hassan *et al.*, 2015; Yamamoto *et al.*, 2010). Hal ini membuat pasar unggas menjadi sumber utama berbagai jenis AIV termasuk H9N2 (Wu *et al.*, 2015).

Seroprevalensi AIV-H9N2 pada unggas dapat terdeteksi berbeda-beda mulai dari yang rendah hingga tinggi. Prevalensi AIV-H9N2 pada itik di Tiongkok Selatan (2016) yaitu 0,2% (Guan dan Smith, 2016), sementara itu Hadipour *et al.* (2011) melaporkan seroprevalensi AIV-H9N2 pada itik di Iran lebih besar dari 80%. Seroprevalensi virus ini pada ayam *broiler* di Iran (2013) sebesar 40,6%, di Korea (2008) sebesar 23%, dan di Jordania (2009) sebesar 54,2% (Ghaniei *et al.*, 2013; Woo dan Park, 2008; Roussan *et al.*, 2009). Seroprevalensi AIV-H9N2 pada ayam lokal di Iran (2010) ditemukan lebih dari 65% (Hadipour, 2010), sedangkan seroprevalensi AIV-H9N2 pada ayam lokal di Timor Leste sebesar 0% (Serrao *et al.*, 2012). Seroprevalensi AIV-H9N2 pada unggas di Bali sampai saat ini belum banyak dilaporkan, begitupun di Indonesia.

Uji hambatan hemagglutinasi (*Hemagglutination-inhibition/HI*) digunakan untuk mendeteksi antibodi (Mahardika *et al.*, 2016b). Uji ini dianggap sebagai *gold standard* untuk deteksi antibodi virus AI karena memiliki sensitivitas 98,8% dan spesifisitas 99,5% (Comin *et al.*, 2012). Adanya antibodi pada serum menunjukkan bahwa pada tubuh hewan tersebut telah terjadi infeksi virus, memiliki antibodi maternal atau sudah pernah

divaksinasi (Elfidasari *et al.*, 2014). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui seroprevalensi AIV-H9N2 pada unggas yang dijual di Pasar Beringkit Kabupaten Badung, Bali. Kajian ini akan dilakukan pada unggas yang belum divaksin. Dengan demikian deteksi antibodi menunjukkan bahwa hewan sudah terpapar AIV-H9N2.

METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah antigen AIV-H9N2 inaktif (PT Medion, Bandung, Indonesia), suspensi eritrosit 1% dan *Natrium Chloride* (NaCl). Spesimen yang digunakan adalah serum darah ayam *broiler*, ayam buras dan itik yang belum divaksin yang dijual pada hari pasar di Pasar Beringkit, Badung, Bali.

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara acak (*random sampling*). Sebanyak 187 sampel darah dikumpulkan secara acak dari tiga kali pengambilan yang berbeda pada bulan Juni 2019. Darah diperoleh dari vena brachialis ayam *broiler*, ayam kampung dan itik yang belum divaksin sebanyak 1-2 mL. Serum dipisahkan dari bekuan darah dan disimpan pada suhu 4°C atau -20°C sebelum pengujian. Pada saat pengujian sampel, serum diencerkan lima kali dengan NaCl dan dipanaskan dengan suhu 56°C selama 30 detik. (Mahardika *et al.*, 2016b)

Pembuatan Suspensi Eritrosit 1%

Darah ayam ditampung dalam venoject yang telah diisi dengan antikoagulan EDTA (konsentrasi 0,1-0,2 %) dan NaCl. Darah tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 1000 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang, kemudian ditambahkan NaCl dan disentrifugasi kembali. Perlakuan ini diulang sampai tiga kali dengan cara yang sama sehingga didapatkan suspensi yang bersih dari plasma dan *buffy coat*. Konsentrasi eritrosit diukur dengan mikro hematokrit untuk mengetahui nilai *Packed Cell Volume* (PCV). Suspensi 1% diperoleh dengan cara volumetri dengan rumus $V1C1 = V2C2$ (Mahardika *et al.*, 2016b).

Uji Hemaglutinasi (HA)

Antigen diuji menggunakan uji HA titrasi untuk mengetahui virus. Cara kerja uji ini

adalah dengan menggunakan teknik *mikro titer*. Cara pengerjaannya adalah: setiap lubang pada plat mikro diisi masing-masing 0,025 NaCl. Pada lubang pertama dan kedua ditambahkan 0,025 ml antigen (suspensi virus) AIV-H9N2 dan selanjutnya buat pengencer seri kelipatan dua mulai dari lubang kedua sampai lubang kesebelas. Kemudian ditambahkan 0,025 mL NaCl pada seluruh lubang plat mikro. Selanjutnya ayak dengan *mikroshaker* selama 15 detik. Pada masing-masing lubang ditambahkan 0,05 ml suspensi darah eritrosit 1% kemudian di ayak selama 15 detik dan didiamkan pada suhu kamar selama 1 jam dan amati timbul atau tidaknya reaksi aglutinasi sel darah merah setiap 15 menit. Titer HA harus dibaca sampai pengenceran tertinggi yang masih mampu menimbulkan reaksi aglutinasi secara sempurna. Pada umumnya titer HA yang digunakan pada uji HI adalah 4 unit HA (Mahardika *et al.*, 2016b).

Uji Hambatan Hemaglutinasi Cepat

Uji HI cepat/rapid HI digunakan untuk menyeleksi serum yang positif kemudian diikuti dengan uji HI titrasi untuk mengetahui titernya. Serum diencerkan sebanyak lima kali dengan NaCl. Serum dipanaskan terlebih dahulu dengan suhu 56°C selama 30 menit untuk menghilangkan faktor-faktor penghambat yang tidak spesifik didalamnya (Mahardika *et al.*, 2016b).

Untuk melakukan uji rapid HI, kedalam plat mikro diteteskan 0,025 ml serum yang telah diencerkan dan 0,025 ml antigen 4 unit HA. Selanjutnya, plat mikro di ayak selama 15 detik, kemudian didiamkan selama 30 menit. Suspensi eritrosit 1% dimasukkan kedalam lubang dan di ayak selama 15 detik. Hasil dapat diamati setiap 15 menit setelah perlakuan terakhir. Kontrol virus dibuat bersama-sama dengan saat melakukan uji HI diatas dengan materi berupa 0,025 ml antigen 4 unit HA, dan 0,05 ml suspensi eritrosit 1%. Kontrol darah dibuat dengan materi berupa 0,05 ml NaCl dan 0,05 ml suspensi eritrosit. Serum akan diperiksa lebih lanjut dengan uji HI titrasi apabila terbentuk endapan yang nyata di dasar tabung yang menunjukkan bahwa sampel yang diperiksa tersebut adalah positif.

Uji Hambatan Hemaglutinasi Titrasi

Pada setiap lubang plat mikro dimasukkan 0,025 NaCl. Pada lubang pertama dan kedua diisi dengan serum 0,025 ml selanjutnya

diencerkan dengan seri kelipatan dua dari lubang ke-2 sampai ke-11 dan larutan berakhir di lubang 12. Antigen 4 unit HA virus sebanyak 0,025 ml ditambahkan pada masing masing lubang 1-11, namun lubang 12 hanya diisi NaCl 0,025ml. Kemudian, plat mikro diayak selama 15 detik dan didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar. Setelahnya, suspensi sel darah merah 1% sebanyak 0,05 ml ditambahkan pada setiap lubang dan diayak kembali selama 15 detik. Kemudian didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar dan lakukan pembacaan setiap 15 menit. Titer HI adalah pengenceran serum tertinggi yang masih mampu menghambat secara sempurna (Mahardika *et al.*, 2016b).

Analisis Data

Data hasil pemeriksaan uji tes HI pada serum ayam broiler, ayam buras dan itik pada setiap pengambilan dilakukan analisis data dengan menggunakan uji statistik Non-parametrik *Chi-Square* menggunakan software SPSS (*Statistical Product and Service Solution*) versi 22 (Sampurna dan Nindhia, 2019). Seroprevalensi AIV-H9N2 dihitung dengan rumus: seroprevalensi = [(jumlah serum positif) x (jumlah semua sampel)⁻¹] x 100%. Untuk menghitung rata rata titer antibodi digunakan perhitungan GMT (Geometrik Mean Titer) (OIE, 2015). Rumus perhitungan sebagai berikut: $\log_2 \text{GMT} = [(\log_2 t_1)(S_1) + (\log_2 t_2)(S_2) + (\log_2 t_n)(S_n)] \times N^{-1}$. Dalam hal ini, N = Jumlah contoh serum yang diamati; T = Titer antibodi pada pengenceran tertinggi (yang masih dapat menghambat aglutinasi sel darah merah); S = Jumlah contoh serum yang bertiter 1; dan N = Titer antibodi pada sampai ke-n

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa seroprevalensi AIV-H9N2 pada sampel serum ayam *broiler*, ayam buras dan itik di Pasar Beringkit, Kabupaten Badung, Bali sebesar 15,9%, 35,5% dan 17,7%. Seluruh sampel dilakukan pemeriksaan *rapid* HI dan ditemukan sepuluh dari 63 sampel ayam *broiler*, 22 dari 62 sampel ayam kampung dan 11 dari 62 sampel itik menunjukkan hasil positif terhadap AIV-H9N2. Hasil dari tiga kali pengambilan pada masing-masing unggas kemudian dianalisis secara statistika Non-Parametrik dengan Uji Chi Square (dapat dilihat pada Tabel 1.). Uji

statistika menunjukkan bahwa seroprevalensi AIV-H9N2 pada jenis unggas terhadap waktu pengambilan yang berbeda menunjukkan hasil tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Artinya, seroprevalensi yang diperoleh konsisten dan tidak tergantung pada waktu. Oleh karena itu, pengambilan serum untuk kajian AIV-H9N2 dapat dilakukan dengan pengambilan sekali saja, walaupun pengambilan berulang dapat lebih meyakinkan. Unggas yang digunakan dalam penelitian ini berumur mulai dari empat minggu sehingga antibodi maternal dianggap sudah tidak memengaruhi hasil. Antibodi maternal pada unggas biasanya terdeteksi hingga umur 10-14 hari (Hamal *et al.*, 2006). Antibodi AIV-H9N2 juga bukan berasal dari hasil vaksinasi karena unggas yang *disampling* tidak pernah divaksinasi AIV-H9N2 berdasarkan informasi yang diperoleh dari Dinas Peternakan dan Pangan, Kabupaten Badung, Bali. Oleh karena itu, adanya antibodi dalam serum diakibatkan karena paparan alami dari lingkungan yang terkontaminasi oleh sumber virus ini.

Seroprevalensi AIV-H9N2 pada penelitian ini menunjukkan nilai 15,9% pada ayam *broiler* kurang lebih mirip dengan seroprevalensi pada itik yaitu 17,7%, tetapi lebih rendah dibandingkan dengan ayam kampung yaitu sebesar 35,5%. Hal ini mungkin disebabkan karena pola pemeliharaan jenis unggas di peternakan yang berbeda-beda.

Seroprevalensi ayam pedaging/*broiler* yang ditemukan dalam penelitian ini sebesar 15,9% sedangkan seroprevalensi AIV-H9N2 pada ayam *broiler* di Dezful, Iran sebesar 75,95%. Perbedaan yang jauh pada kedua seroprevalensi ini karena Dezful berada dekat Danau Karoun dan Teluk Persia, yang terletak di jalur migrasi burung liar sehingga kondisi ini dapat memungkinkan risiko penularan infeksi AI (Hadipour dan Golchin, 2011). Seroprevalensi ayam kampung pada penelitian ini sebesar 35,5% sedangkan penelitian pada ayam lokal oleh Hadipour *et al.* (2010) di Iran diperoleh seroprevalensi sebesar 62,9%, 72,98% dan 81,6%. Perbedaan yang cukup jauh ini dapat diakibatkan karena perbedaan sistem pemeliharaan. Menurut wawancara dengan pedagang di Pasar Beringkit, ayam kampung yang dijual terus dikandangan sehingga tidak berkontak dengan unggas lainnya, sedangkan menurut Hadipour (2010), ayam lokal di wilayah penelitiannya di Iran dipelihara secara semi intensif dan sering dilepasliarkan sehingga ayam

Tabel 1. Seroprevalensi infeksi AIV-H9N2 antarspesies dengan tiga kali pengambilan

Jenis	Pengambilan	Jumlah	Seropositif	Presentasi	Nilai Chi Square	Asymp.Sig. (2-sided)
Ayam <i>broiler</i>	1	22	3	13,6%	1,964 ^a	.375
	2	20	5	25,0%		
	3	21	2	9,5%		
	Total	63	10	15,9%		
Ayam kampung	1	21	4	19,0%	5,099 ^a	.078
	2	21	11	52,4%		
	3	20	7	35,0%		
	Total	62	22	35,5%		
Itik	1	20	4	20,0%	4,754 ^a	.093
	2	20	6	30,0%		
	3	22	1	4,5%		
	Total	62	11	17,7%		

Keterangan: Pengujian dilakukan dengan metode *rapid* HI setelah serum diencerkan lima kali dengan *Phosphate Buffer Saline* dan dihangatkan pada suhu 56°C selama 30 menit (Mahardika *et al.*, 2016).

tersebut berkontak langsung dengan bebek liar dan burung-burung migrasi lainnya.

Seroprevalensi AIV-H9N2 pada itik dalam penelitian ini diperoleh sebesar 17,7%, hasil ini tergolong tinggi jika dibandingkan dengan seroprevalensi di Tiongkok Selatan sebanyak 0,2% (Guan dan Smith, 2016). Hal ini mungkin karena pedagang di Pasar Beringkit, mencampurkan berbagai jenis unggas yang berbeda dalam satu kandang. Waktu yang diperlukan pedagang untuk mengumpulkan atau mendatangkan unggas di pasar Beringkit 1-3 hari (Suartha *et al.*, 2010). Waktu mengumpulkan unggas sangat berpengaruh terhadap penyebaran AIV, karena semakin pendek waktunya maka waktu kosong kandang tidak ada dan virus akan semakin lestari (Swayne dan Halvorson, 2003). Selain itu, menurut Suartha *et al.* (2010) Pasar Beringkit tidak melakukan pembersihan kandang pada hari libur pasar.

Dari keseluruhan sampel positif, diambil masing-masing delapan sampel untuk dilakukan uji HI Titrasi (HI Titer). Serum yang telah diencerkan memiliki konsentrasi setengah kali dari semula, sehingga hasil yang positif memiliki titer antibodi lebih besar atau sama dengan 10 unit HI. Sebaliknya, hasil negatif memiliki titer lebih kecil dari 10 unit HI. Berdasarkan hal tersebut, hasil penelitian ini akurat karena faktor non-spesifik sudah dihilangkan. Pengenceran menghilangkan faktor non-spesifik yang biasanya rendah. Apabila serum menunjukkan hasil negatif palsu,

yaitu yang memiliki titer rendah maka hal ini tidak dapat sepenuhnya diabaikan. Dari hasil uji HI titrasi tersebut, rataan geometrik titer antibodi pada ayam *broiler*, ayam kampung dan itik masing-masing menunjukkan nilai $10 \times 2^{2,6}$, 10×2^1 dan $10 \times 2^{3,1}$. Satu sampel mempunyai titer tertinggi sebesar 2560 yaitu terdapat pada ayam *broiler* (Tabel 3.) Ini menunjukkan kemungkinan bahwa unggas tersebut baru terinfeksi virus. Menurut Hadipour (2011) titer antibodi yang tinggi pada unggas dapat diperoleh dari lingkungan, oleh karena itu, unggas terinfeksi virus flu burung secara alami.

Virus AI subtipe H9N2 merupakan salah satu virus LPAI (Thuy *et al.*, 2016). Meskipun digolongkan virus LPAI, namun penyebaran virus ini dalam kajian prevalensi AIV-H9N2 pada ayam *broiler*, ayam kampung dan itik di Pasar Beringkit relatif lebih tinggi dibandingkan virus HPAI subtipe H5N1 pada ayam kampung di Bali yaitu sebesar 1,25% (Mahardika *et al.*, 2018).

Penentuan kategori titer antibodi protektif dan tidak protektif menurut Direktorat Jenderal Peternakan (2005) adalah kategori titer protektif $>2^4$ sedangkan kategori titer tidak protektif $<2^4$. *Geometric Mean Titer* (GMT) seroprevalensi AIV-H9N2 pada ayam *broiler*, itik dan ayam kampung di Pasar Beringkit adalah sebesar $10 \times 2^{2,6}$, 10×2^1 dan $10 \times 2^{3,1}$. Hal ini menunjukkan bahwa kategori titer antibodi termasuk protektif. Namun, jika dikaji berdasarkan hasil setiap sampel, hasil uji menunjukkan 178 sampel yang

Tabel 2. Titrasi hambatan hemaglutinasi pada ayam *broiler*, ayam kampung dan itik.

Jenis	Pengambilan Sampel	Serum	Titer(unit HI)	GMT		
Ayam <i>Broiler</i>	1	B5	80	10x2 ^{2,6}		
		B12	10			
		B19	2560			
	2	B2	40			
		B3	10			
		B8	10			
	3	B1	40			
		B18	640			
Ayam Kampung	1	Br3	10	10x2 ¹		
		Br7	10			
		Br9	10			
		Br2	20			
	2	Br3	320			
		Br4	20			
	3	Br5	10			
		Br11	20			
	Itik	1	I1		80	10x2 ^{3,1}
			I4		40	
			I9		320	
		2	I1		80	
I2			80			
I3			40			
3		I11	80			
		I12	160			

Keterangan: GMT = *Geometric Mean Titer*

mempunyai titer protektif, yaitu $>2^4$ dan sembilan sampel mempunyai titer antibodi tidak protektif, yaitu $<2^4$.

Burung liar dan unggas domestik yang terinfeksi virus Avian Influenza menghasilkan antibodi melalui paparan alam atau divaksinasi (Tizard, 2000). Antibodi yang terdeteksi dalam serum sampel menunjukkan hasil yang berbeda-beda dan antibodi yang terbentuk karena adanya infeksi alami yang kemungkinan bersumber dari sesama unggas, kandang dan lingkungan daerah asal ternak. Ini menunjukkan kemungkinan bahwa ayam *broiler*, ayam kampung dan itik tidak divaksin AIV-H9N2 dan sumber ayam *broiler* tidak berasal dari satu tempat.

Avian Influenza virus H9N2 telah menyebar pada ayam *broiler*, ayam kampung dan itik di Bali. Kehadiran AIV-H9N2 di pasar Beringkit dapat menambah faktor risiko lain pada unggas yang diternakkan di peternakan dan ayam kampung (Fiala *et al.*, 2018). Virus ini tidak hanya menginfeksi spesies unggas tetapi dapat juga menginfeksi manusia dan babi

(bersifat zoonosis) (Butt *et al.*, 2005; Pusch dan Suarez, 2018). Dampak ekonomi yang disebabkan AIV-H9N2 perlu dikaji lebih lanjut.

SIMPULAN

Seroprevalensi AIV-H9N2 di pasar Beringkit, Mengwi, Badung, Bali pada ayam *broiler* sebesar 15,8%, ayam kampung sebesar 35,5% dan itik sebesar 17,7%. Sampel diperoleh dari tiga kali pengambilan berbeda menunjukkan hasil tidak berbeda nyata ($P < 0.05$).

SARAN

Virus Avian Influenza subtipe H9N2 sudah beredar pada ayam *broiler*, ayam buras dan itik di Pasar Beringkit sehingga perlu dilakukan kajian lebih lanjut apakah AIV-H9N2 ada/tidak ada di peternakan unggas yang ada di Bali. Perlu dilakukan kajian lebih lanjut mengenai dampak ekonomi infeksi AIV-H9N2 pada unggas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan banyak terima kasih kepada Bidang Kesehatan Hewan, Dinas Peternakan, Perikanan dan Kelautan Kabupaten Badung, drh. I Gede Asrama, MM, atas bantuannya dalam perizinan pengambilan sampel unggas di Pasar Beringkit dan seluruh dokter hewan yang turut membantu di lapangan dalam pengambilan sampel serta pedagang unggas di Pasar Hewan Beringkit, Kabupaten Badung, Bali

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Garib S, Agha A, Al-Mesilaty L. 2015. Low Pathogenic Avian Influenza H9N2: World wide distribution. *World's Poultry Science Journal* 1(2): 1-12.
- Bano SK, Naemm SA, Mail. 2003. Evaluation of pathogenic potential of Avian Influenza virus serotype H9N2 in chickens. *Avian Dis* 47: 817-822.
- Butt KM, Smith GJ, Chen H, Zhang LJ, Leung YH, Xu KM, Lim W, Webster RG, Yuen KY, Peiris JS, Guan Y. 2005. Human infection with an avian H9N2 influenza A virus in Hong Kong in 2003. *J Clin Microbiol* 43 (11) : 5760-5767.
- Cardona C, Yee K, Carpenter T. 2009. Are live bird markets reservoirs of avian influenza?. *Poultry Sci* 88: 856-859.
- Comin A, Stegemen A, Marangon S, Klinkenberg D. 2012. Evaluating surveillance strategies for the early detection of low pathogenicity Avian Influenza infection. *PLoS One* 7(4): 1-8.
- Direktorat Jendral Peternakan. 2005. *Manual Standrat Kesehatan Hewan*. Edisi Pedoman Surveilans dan Monitoring Avian Influenza di Indonesia. Departemen Pertanian. Jakarta.
- Elfidasari D, Puspitasari LR, Frisa A. 2014. Deteksi Antibodi Akibat Paparan Virus AI Subtipe H5N1 pada Unggas Air Domestik di Sekitar Cagar Alam Pulau Dua. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi* 2(4): 260-269.
- Fiala S, Elbestawy AR, Ibrahim, MS. 2018. Isolation of H9N2 Influenza Virus from Backyard Ducks in Egypt. *Alexandria Journal of Veterinary* 57 (2): 72-78.
- Fusaro A, Monne I, Salviato A, Valastro V, Schivo A, Amarin NM, Gonzales C, Ismail MM, Al-Ankari A, Al-Blowi MH, Khan OA, Ali ASM, Hedayati A, Garcia JG, Ziay GM, Shouahtari A, Al-Qahtani KN, Capua I, Holmes EC, Cattoli G. 2011. Phylogeography and Evolutionary History of Reassortant H9N2 Viruses with Potential Human Health Implications. *Journal Of Virology* 85(16): 8413-8421.
- Ghaniei A, Allymehr M, Moradschendi A. 2013. Seroprevalence of avian influenza (H9N2) in broiler chickens in Northwest of Iran. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 3(10): 822-824.
- Guan Y, Smith GJD. 2016. Genetic characterisation of H9N2 influenza viruses in southern China. *Hong Kong Med J* 22(Suppl 4): S4-6.
- Hadipour MM. 2010. Seroprevalence survey of H9N2 avian influenza virus in backyard chickens around the caspian sea in Iran. *Brazilian J: Poultry Science* 12: 53-55.
- Hadipour MM, Hadipourford NR, Fakhrahdipour M, Azad F. 2011. Surveillance of Scavenging Ducks for Low-Pathogenicity (H9N2) Avian Influenza Virus. *Journal Animal and Veterinary Advances* 10(12): 1543-1545.
- Hamal KR, Burgess SC, Pevzner IY, Erf GF. 2006. Maternal Antibody Transfer from Dams to Their Egg Yolks, Egg Whites, and Chicks in Meat Lines of Chickens. *Poultry Science Association* 85: 1364-1372.
- Hartawan DHW. 2011. Deteksi Avian Influenza di Pasar Unggas Berisiko Tinggi di Propinsi Bali pada Musim dan Jumlah Permintaan Unggas yang Berbeda. (Tesis). Yogyakarta. Universitas Gajah Mada.
- Hassan MZ, Das BC, Mahmud MS, Amin MA, Yousuf MA, Jaber M, Belal SMS, Hasan MA, Hossen A, Karim MR, Rahman MS, Hoque MF. 2015. Seroprevalence and Detection of Avian Influenza Type A in Ducks at Nikli And Bajitpur Upazila Of Bangladesh. *Bangl J Vet Med* 13(1): 11-17.

- Helmi TZ, Tabbu CR, Artama WT, Haryanto A, Isa M. 2016. Isolasi dan Identifikasi Virus Avian Influenza pada Berbagai Spesies Unggas secara Serologis dan Molekuler. *Jurnal Kedokteran Hewan* 10(1): 86-90.
- Jonas M, Sahestia A, Murwijatia T, Lestariningsiha CL, Irinea I, Ayesdaa CS, Prihartinia W, Mahardika GN. 2018. Identification of avian influenza virus subtype H9N2 in chicken farms in Indonesia. *Preventive Veterinary Medicine* 159: 99–105.
- Kim SH. 2018. Challenge for One Health: Co-Circulation of Zoonotic H5N1 and H9N2 Avian Influenza Viruses in Egypt. *Viruses* 10:121. doi: 10.3390/v10030121.
- Liu M, He S, Walker D, Zhou N, Perez DR, Mo B, Li F, Huang X, Webster RG, Webby RJ. 2003. The Influenza Virus Gene Pool in a Poultry Market in South Central China. *Virology* 305(2): 267-275.
- Mahardika IG NK, Adi AA AM, Besung NK, Darmawan NS, Kencana GAY, Rompis ALT, Sampurna P, Setiasih LE, Suardana W, Suardana IBK, Suarjana GK, Suartha N, Suartini GAA, Suwiti NK, Utama IH. 2018. Surveillance of Avian Influenza virus of H5N1 subtype in backyard animals and its introduction in Bali, Indonesia. *Pak Vet J* 38(1): 7-12.
- Mahardika IG NK, Astawa INM, Kencana GAY, Suardana IBK, Sari TK. 2016. *Teknik Lab Virus*. Denpasar. Udayana University Press. Hlm. 46-51.
- Nili H, Asasi K. 2002. Natural cases and an experimental study of H9N2 avian influenza in commercial broiler chickens of Iran. *Avian Pathology* 31(3): 247-252. DOI: 10.1080/03079450220136567.
- Office International Epizooties. 2015. *Terrestrial manual, Avian Influenza (infection with avian influenza virus)*, Office international des epizooties (OIE) Chapter 2.3.4.
- Palese P, Shaw ML. 2007. Orthomyxoviridae: The viruses and their replication. 5th ed. Dalam.; Knipe DM Howley PM. *Fields Virology*. Philadelphia, PA, Lippincott Williams & Wilkins: USA. Hlm. 1647–1651.
- Pusch EA, Suarez DL. 2018. Review: The Multifaceted Zoonotic Risk of H9N2 Avian Inûenza. *Vet Sci* 5: 82.
- Roussan DA, Khawaldeh GY, Al Rifai RH, Totanji WS, Shaheen IA. 2009. Avian influenza virus H9 subtype in poultry flocks in Jordan. *Prev Vet Med* 88: 77–81.
- Sampurna IP, Nindhia TS. 2019. *Biostatistika*. Penerbit Puri Bagia. Genre Pendidikan. Diterbitkan Online melalui nulisbuku.com/view-profile/90381/1%20Putu-Sampurna.
- Serrao E, Meers J, Pym R, Copland R, Eagles D, Henning J. 2012. Prevalence and incidence of Newcastle disease and prevalence of Avian Influenza infection of scavenging village chickens in Timor-Leste. *Prev Vet Med* 104(3-4): 301-308.
- Shankar BP, Gowda RNS, Prabhu BHM, Pattnaik B, Nagarajan S, Pradhan HK. 2009. Pathogenicity for Chickens of Avian Influenza Virus Strain H9N1 Isolated from Water Coot in India. *International Journal of Poultry Science* 8(3): 252-255.
- Suartha IN, Antara IMD, Wiryana IKS, Sukada IM, Wirata IW, Dewi NMRK, Mahardika IG NK. 2010. Peranan Pedagang Unggas dalam Penyebaran Virus Avian Influenza. *Jurnal Veteriner* 11(4): 220-225.
- Swayne DE, Halvorson KS. 2003. Efficacy of Vaccines in Chicken Against Highly Pathogenic Hong Kong H5N1 Avian Influenza. *Avian Dis.* 45(2): 355-365.
- Thuy DM, Peacock TP, Bich VTN, Fabrizio T, Hoang DN, Tho ND, Diep NT, Nguyen M, Hoa LNM, Trang HTT, Choisy M, Inui K, Newman S, Trung NV, Doorn RV, To TL, Iqbal M, Bryant JE. 2016. Prevalence and diversity of H9N2 avian influenza in chickens of Northern Vietnam. *Infect of Northern Evol.* 44: 530–540. Doi: 10.1016/j.meegid.2016.06.038.
- Tizard IR. 2000. *Veterinary Immunology and Infectious Diseases* 8th Ed. St. Louis. Saunders Elsevier. Hlm. 297-305.
- Woo JT, Park BK. 2008. Seroprevalence of low pathogenic avian influenza (H9N2) and associated risk factors in the Gyeonggi-do of Korea during 2005-2006. *Journal of Veterinary Science* 9(2): 161-168.

- Wu H, Peng X, Peng X, Cheng L, Lu X, Jin C, Xie T, Yai H, Wu N. 2015. Genetic and molecular characterization of H9N2 and H5 avian influenza viruses from live poultry markets in Zhejiang Province, eastern China. *Scientific Reports* 5:17508 doi: 10.1038/srep17508.
- Yamamoto Y, Nakamura K, Yamada M, Mase M. 2010. Persistence of Avian Influenza Virus (H5N1) in Feathers Detached from Bodies of Infected Domestic Ducks *Appl Environ Microbiol* 76(16): 5496-5499 doi: 10.1128/AEM.00563-10.