

Penambahan *Water Additive* Kimchi Dapat Mencegah Infeksi Alami Flu Burung (*Avian Influenza*) pada Ayam Pedaging

(*THE SUPPLEMENTATION OF WATER ADDITIVE KIMCHI COULD PREVENT NATURAL INFECTION OF AVIAN INFLUENZA IN BROILER*)

I Putu Cahyadi Putra¹, Raden Wasito², Hastari Wuryastuty^{3*}

¹Mahasiswa Sekolah Pascasarjana Program Studi Sain Veteriner,

²Departemen Patologi, ^{3*}Departemen Ilmu Penyakit Dalam,
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada,
Jl. Fauna No.2 Kampus UGM, Yogyakarta, Indonesia 55281

*Email: hastari@ugm.ac.id

ABSTRACT

Subclinical infection of avian influenza (AI) in day old chick (DOC) has potential to interfere the success of vaccination programs. Therefore, an alternative ways to increase avian innate immunity in preventing the infection is necessary. The purpose of this study was to evaluate the effect of adding water additive (KimchiStock®) in preventing the occurrence of AI natural infection in DOC raising in commercial broiler farms. Fifty-five broiler DOCs, Cobb strains were used as experimental animals. Before the experiment begin, five DOCs were randomly selected, sacrificed and the lung were taken out for polymerase chain reaction (PCR) analysis on the matrix region. Fifty remaining DOCs were randomly divided into two: K1 (control) and K2 (treated) groups. K2 group were given 0.2% water additive (KimchiStock®) 5 days/week for five weeks. Every week for five consecutive weeks, five chicken from each group were randomly selected for sera and lung collection. Sera samples were analyzed for antibody titer detection using haemagglutination inhibition technique. The results showed that there is no significant different in antibody titer between control and treated group. The majority of the antibody titer in this experiment were under 2³. At week 4 the antibody titer of one chicken in treated group was 2³ but no clinical sign was observed. Molecularly, there were no positive result detected from the lung of five DOCs at the beginning of the experiment and control group. While in the K2, positive result were detected on week 1 and 2 but without any clinical sign. Based on the research results could be concluded that adding 0.2% water additive KimchiStock® could prevent AI natural infection starting from week 3.

Keywords: avian influenza; broiler; KimchiStock®; water additive

ABSTRAK

Infeksi subklinis *avian influenza* (AI) pada day old chick (DOC) berpotensi mengganggu keberhasilan program vaksinasi. Oleh karena itu, cara alternatif untuk meningkatkan kekebalan bawaan dalam mencegah infeksi sangat diperlukan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi efek penambahan *water additive* (KimchiStock®) dalam mencegah terjadinya infeksi alami AI pada DOC yang dipelihara di peternakan broiler komersial. Lima puluh lima DOC broiler, strain Cobb digunakan sebagai hewan percobaan. Sebelum perlakuan dimulai, lima DOC dipilih secara acak, dikorbankan nyawanya dan paru-paru diambil untuk analisis polymerase chain reaction (PCR). Lima puluh DOC yang tersisa secara acak dibagi menjadi dua: kelompok kontrol (K1) dan kelompok perlakuan (K2). Kelompok K2 diberi 0,2% *water additive* (KimchiStock®) (5 hari/minggu) selama 5 minggu berturut-turut. Setiap minggu selama lima minggu perlakuan, lima ayam dari setiap kelompok dipilih secara acak untuk koleksi serum dan paru-paru. Sampel serum dianalisis untuk deteksi titer antibodi menggunakan teknik penghambatan hemaglutinasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan dalam titer antibodi antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Mayoritas titer antibodi dalam percobaan ini berada di bawah 2³. Pada minggu ke 4, titer antibodi satu ayam dalam kelompok perlakuan adalah 2³ tetapi tidak ada gejala klinis yang teramati. Secara molekuler, tidak ada hasil positif yang terdeteksi

dari paru-paru lima DOC pada awal percobaan dan kelompok kontrol. Sementara di K2, hasil positif terdeteksi pada minggu ke 1 dan 2 tetapi tanpa adanya gejala klinis. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penambahan 0,2% *water additive* KimchiStock® dapat mencegah terjadinya infeksi alami AI mulai dari minggu ke-3 sejak pemberian.

Kata-kata kunci: *avian influenza*; broiler; KimchiStock®; *water additive*

PENDAHULUAN

Flu burung atau *Avian influenza* (AI) merupakan penyakit pada unggas yang disebabkan oleh virus RNA famili *Orthomyxoviridae* dari genus *Influenza A* (OIE, 2018). Penyakit AI dapat dibedakan berdasarkan patogenitasnya menjadi *highly pathogenic avian influenza* (HPAI) dan *low pathogenic avian influenza* (LPAI) (Alexander, 2000). Virus AI dibedakan berdasarkan protein hemagglutinin (HA) menjadi 18 subtipe dan neuraminidase (NA) menjadi 11 jenis subtipe (CDC, 2017). Subtipe AI yang paling patogen pada unggas adalah H5 dan H7 (OIE, 2018; Wasito *et al.*, 2014).

Wabah AI subtipe H5N1 di Indonesia pertama kali terjadi pada tahun 2003–2004. Wabah tersebut di Asia Tenggara menyebabkan kerugian ekonomi hingga mencapai 387 juta dollar dan 16.2 juta unggas mati saat pengendalian wabah (Hall *et al.*, 2006). Gejala klinis spesifik HPAI ditunjukkan saat wabah terjadi yaitu *cyanosis* pada pial dan jengger, *petechiae* subkutan pada kaki, eksudat dari rongga hidung dan kematian mendadak dalam jumlah besar pada unggas dewasa (11-70 minggu) (Damayanti *et al.*, 2004; Damayanti *et al.*, 2005). Penyakit AI H5N1 penyebarannya sangat cepat dan pada tahun 2005 telah meluas hingga 31 provinsi di Indonesia (Siregar *et al.*, 2007). Hal tersebut menyebabkan Indonesia berstatus endemis HPAI subtipe H5N1 (Hewajuli dan Dharmayanti, 2012). Kondisi endemis menyebabkan kejadian penyakit terus terjadi tiap tahun, namun dengan pola, gejala dan jumlah kematian yang berbeda dibandingkan dengan saat awal wabah (Wibawan, 2012).

Vaksinasi merupakan salah satu strategi pemerintah Indonesia untuk mengendalikan penyebaran penyakit AI (Wibawa, 2012). Vaksinasi berguna untuk melindungi unggas dari tanda klinis dan mortalitas, menurunkan tingkat dan durasi ekskresi virus, serta meningkatkan kekebalan inang (Capua dan Alexander, 2008). Kegagalan vaksinasi yang

terjadi di Indonesia disebabkan oleh strategi yang digunakan belum dilaksanakan secara maksimal (Wibawan, 2012; Martindah *et al.*, 2007). Kegagalan vaksinasi dapat disebabkan oleh *biosecurity* yang buruk selama vaksinasi, vaksinasi tanpa depopulasi, monitoring sistem yang buruk, prosedur yang tidak tepat, keragaman antigenik dan pencocokan antigenik antara virus vaksin dengan virus lapangan yang tidak tepat (OIE, 2018; Martindah *et al.*, 2007; Siregar *et al.*, 2007).

Selain vaksinasi, untuk menurunkan jumlah penyebaran penyakit, pemerintah telah melakukan berbagai upaya antara lain melalui pelarangan distribusi unggas dewasa dan hanya mengizinkan dengan persyaratan lalulintas anak ayam umur satu hari dari daerah tertular ke daerah bebas. Tindak tersebut belum memberikan hasil yang memuaskan. karena dari hasil penelitian yang dilaporkan oleh Setyawati *et al.* (2010) terbukti bahwa anak ayam umur satu hari dapat bertindak sebagai pembawa virus AI.

Saat ini penggunaan herbal *feed additive* sedang marak diaplikasikan di sektor perunggasan. Hal ini terutama sebagai respon adanya larangan pemberian antibiotik *per oral* oleh pemerintah berdasarkan dampaknya pada resistensi dan residu obat. Secara umum herbal *feed additive* berfungsi terutama untuk perbaikan keseimbangan mikrobial usus dan membantu inang dalam memperoleh nutrisi yang optimal dari pakan sehingga secara tidak langsung akan memperbaiki pertumbuhan, produksi, performa dan ketahanan terhadap penyakit (Suganya *et al.*, 2016). Kimchi merupakan produk makanan tradisional Korea berupa sayuran (kubis, lobak dan mentimun) dan bumbu (bubuk lada merah, bawang putih, jahe, garam dan bahan lainnya) yang difermentasi menggunakan bakteri asam laktat (BAL) seperti *Leuconostoc spp*, *Lactobacillus spp*, *Pediococcus spp* dan *Weissella spp* (Lee *et al.*, 2015; Choi *et al.*, 2015) yang memiliki banyak manfaat bagi kesehatan manusia. Manfaat kimchi untuk kesehatan dibuktikan *in vitro* dan *in vivo* menggunakan tikus dan

mencit sebagai hewan percobaan (Khan dan Kang, 2016). Berdasarkan beberapa hasil penelitian diduga bahwa efek fungsional kimchi berasal dari komponen bahan bakunya, produk fermentasi dan senyawa metabolit yang dihasilkan oleh bakteri *Lactobacillus* dalam kultur. Fakta tentang potensi kimchi terhadap kesehatan manusia yang terus meningkat menjadi pertimbangan para ahli untuk pemanfaatan kimchi sebagai alternatif promotor pertumbuhan pengganti antibiotik pada ternak terutama unggas dan babi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh *water additive* kimchi (KimchiStock®) yang disuplementasikan pada ayam pedaging terhadap kemungkinan terjadinya infeksi alami oleh virus *avian influenza* yang dipelihara di peternakan broiler komersial.

METODE PENELITIAN

Sampel

Pada penelitian ini sebanyak 55 ekor *day old chick* (DOC) ayam pedaging galur *Cobb* digunakan sebagai hewan coba. Ayam tersebut telah divaksinasi *Newcastle disease* (ND), *infectious bronchitis* (IB) dan *infectious bursal disease* (IBD) oleh *hatchery*. Penggunaan ayam sebagai hewan coba telah disetujui oleh komisi etik Universitas Gadjah Mada dengan nomor sertifikat *Ethical Clearance* No.00083/04/LPPT/VII/2017.

Rancangan Penelitian

Pada hari ke-1, lima (5) ekor DOC diambil secara acak dari total 55 DOC yang digunakan sebagai penelitian. Lima DOC tersebut dikorbankan nyawanya kemudian diambil organ parunya untuk diperiksa adanya virus AI. Lima puluh ekor DOC yang tersisa kemudian dibagi secara acak menjadi dua kelompok perlakuan masing-masing 25 ekor. Ayam dari masing-masing kelompok ditempatkan pada kandang percobaan yang berada di peternakan ayam potong komersial bertipe kandang panggung.

Kelompok pertama (K1) sebagai kontrol dan kelompok kedua (K2) sebagai kelompok perlakuan yang memperoleh suplementasi *water additive* 0.2% (KimchiStoc®) yang diberikan lima hari berturut-turut per minggu selama 35 hari. Air minum diberikan *ad libitum*. Frekuensi pemberian air minum ayam pada umur 1-14 hari adalah satu kali sehari, sedangkan pada umur 15-35 hari diberikan dua kali sehari, jika air

minum habis maka ditambahkan kembali setelah tempat minum kosong. Pemberian *water additive* dilakukan setiap kali penambahan air minum. .

Setiap minggu lima ekor ayam dari setiap kelompok perlakuan diambil secara acak untuk diambil serum dan organ parunya. Pengambilan darah dilakukan melalui *vena brachialis*, untuk pengujian titer antibodi terhadap AI. Ayam kemudian dikorbankan nyawanya dengan metode dekapitasi, dinekropsi dan diambil organ paru-paru. Lima sampel paru-paru ayam dari setiap perlakuan dimasukkan ke dalam satu tabung *ependorf* bebas RNAase berukuran 1.5 ml (*pooling*). Tabung disimpan di dalam *freezer* -20°C sampai dilakukan identifikasi adanya AIV dengan RT-PCR. Hal yang sama dilakukan setiap minggu hingga perlakuan selesai (lima minggu). Total sampel *pooling* dari semua ayam perlakuan dalam penelitian ini adalah 11.

Haemagglutination Inhibition (HI)

Pengukuran titer antibodi terhadap AI dilakukan dengan uji *haemagglutination inhibition* (HI). Antigen 4 HAU yang digunakan sebagai antigen pada uji hambatan hemagglutinasinya adalah H5N1 clade 2.1.3 (*A/chicken/West Java/Subang/29/2007*). Pengujian dilakukan mengacu pada standar pengujian OIE (2015) yang dikerjakan sebagai berikut: Sebanyak 25 µl larutan PBS dimasukkan ke dalam sumuran nomor 1 hingga 12 dari *microplate* 96 dengan dasar V. Dua puluh lima mikroliter serum sampel kemudian dimasukkan ke dalam sumuran pertama, dicampur hingga homogen dengan cara pipetasi secara berulang dan perlahan-lahan. Campuran larutan dari sumuran pertama diambil sebanyak 25 µl kemudian dimasukkan ke dalam sumuran kedua demikian selanjutnya dilakukan pengenceran berseri kelipatan 2 dari sumuran pertama hingga sumuran ke 11. Langkah selanjutnya, 25 µl antigen AI 4 HAU sebanyak 25 µl ditambahkan ke dalam setiap sumuran kecuali sumuran ke-12, dan dicampur hingga homogen. *Microplate* kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Sesudah inkubasi, 25 µl sel darah merah ayam 1% ditambahkan ke masing-masing sumuran. Semua komponen di dalam *microplate* kemudian dicampur dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Untuk selanjutnya diamati terjadinya hambatan agglutinasinya pada setiap sumuran. Titer antibodi ditentukan dari pengenceran serum tertinggi yang masih

mampu menghambat antigen 4 HAU untuk mengaglutinasi sel darah merah. Titer antibodi protektif dinyatakan apabila titer e^{-2} 16 unit. Data hasil uji titer antibodi dilakukan analisis statistik non-parametrik *Chi-square* (\pm^2).

Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

Dari setiap sampel *pooling* diambil \pm 1 gram, dipotong-potong kecil, ditempatkan di dalam mortar, digerus menggunakan pastel steril hingga halus dan ditambahkan 9 ml PBS steril sehingga terbentuk suspensi larutan 10% (m/v). Suspensi sampel kemudian dituangkan ke dalam tabung steril berukuran 10 ml dan disentrifugasi dengan kecepatan 1.000 rpm selama 10 menit. Sesudah sentrifugasi, bagian supernatan diambil secara perlahan-lahan, dimasukkan ke dalam tabung steril yang baru untuk dilakukan ekstraksi RNA menggunakan kit komersial (*Viral Nucleic Acid Kit II*, Geneaid™) (Geneaid, 2017). RNA hasil ekstraksi digunakan untuk uji RT-PCR dengan menggunakan kit *SuperScript™ III One-Step RT-PCR* dengan *Platinum Taq DNA Polymerase* (Invitrogen™). Pada penelitian ini amplifikasi dilakukan terhadap gen Matrix AIV (AAHL, 2004) dengan pasangan primer spesifik 5'-GCA CTT GAT ATT GTG GAT TCT TAG TC-3' dan 5'-AGT AGA AAC AAG GTA GTT TTT TAC TCC-3'. Amplifikasi dilakukan didalam mesin *thermocycler* (peqSTAR, Jerman) dengan kondisi reaksi sebagai berikut: campuran reaksi awalnya di inkubasi selama 30 menit pada suhu 48° C satu siklus, dilanjutkan dengan denaturasi awal pada suhu 95° C selama dua menit dan 40 siklus amplifikasi yang masing-masing terdiri dari tahap denaturasi pada suhu 95° C selama 30 detik, tahap *annealing* pada suhu 50° C selama 40 detik dan ekstensi pada suhu 72° C selama 40 detik serta tahap ekstensi akhir pada suhu 72° C satu kali siklus selama 10 menit. Produk amplifikasi dianalisa dengan elektroforesis pada *agarose gel 2%* dengan kecepatan 100 V, 400 A selama 45 menit. Produk elektroforesis divisualisasi dengan *SYBR® safe DNA gel stain* dan diamati dengan *ultraviolet transilluminator* (AlphaImager® Mini, Alpha Innotech). Data hasil RT-PCR yang dianalisis secara deskriptif. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya pita pada posisi 220 bp.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian titer antibodi dengan uji HI terhadap serum ayam kelompok K1 dan K2 selama perlakuan disajikan pada Tabel 1. Dari Tabel 1 dapat diketahui bahwa mayoritas titer antibodi dari DOC yang digunakan dalam penelitian ini 88% ada dibawah 2^3 (8). Titer antibodi terhadap AIV H5N1 *clade* 2.1.3 yang tertinggi terdeteksi pada minggu pertama yaitu satu ekor dari kelompok kontrol (K1) dan satu ekor dari kelompok perlakuan (K2) masing-masing 2^5 (32) dan 2^4 (16). Antibodi pada minggu pertama dari anak ayam merupakan antibodi yang berasal dari induk.

Menurut Kumar *et al.* (2007) ayam dengan titer antibodi lebih rendah dari 10 tidak mampu melindungi ayam dari infeksi AIV tetapi dapat mencegah infeksi klinis dan *shedding* virus. Maternal antibodi akan menurun secara signifikan pada saat anak ayam berumur 10 hari (Gharaibeh dan Mahmoud, 2013). Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian ini dimana titer antibodi pada minggu ke 2 menurun hingga 2^2 dan terus menurun menjadi 0 pada minggu ke 3, ke 4 dan ke 5. Menurut Indriani dan Dharmayanti (2012), maternal antibodi pada anak ayam umur 4-5 minggu sudah tidak dapat terdeteksi lagi.

Pada penelitian ini satu ekor anak ayam di dalam kelompok perlakuan (yang disuplementasi 0,2% *water additive* Kimchistock® pada minggu ke-4 memiliki titer antibodi terhadap AI 2^3 (8). Ayam-ayam pada penelitian ini tidak di vaksinasi maka antibodi terhadap AI tersebut berasal dari infeksi alami virus AI yang kemungkinan beredar di lingkungan. Virus AI tersebut tidak mampu menimbulkan infeksi secara klinis kemungkinan karena jumlah dan/atau virulensinya yang relatif rendah atau ketahanan tubuh ayam yang relatif cukup untuk mempertahankan infeksi menjadi subklinis. Pertahanan tubuh yang baik tersebut kemungkinan disebabkan oleh pemberian 0,2% *water additive* Kimchistock®. *Water additive* Kimchistock® adalah hasil prosesing kimchi yang difermentasi secara bioteknologi sehingga menghasilkan suatu produk akhir yang mengandung bakteri asam laktat *Leuconostoc mesenteroides* HJ69 (Bajpai *et al.*, 2017). Mekanisme dari *water additive* Kimshistock®

Tabel 1. Titer antibodi terhadap virus H5N1 *clade 2.1.3* (Subang) mulai minggu pertama hingga minggu ke lima perlakuan.

Perlakuan	Jumlah sampel	Titer antibodi terhadap virus AI H5N1 dengan uji HI (log 2)										
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
K 1-1	5	1	-	2	1	-	1	-	-	-	-	-
K 1-2	5	3	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-
K 1-3	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K 1-4	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K 1-5	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K 2-1	5	1	-	1	2	1	-	-	-	-	-	-
K 2-2	5	3	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-
K 2-3	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K 2-4	5	4	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
K 2-5	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan: K1-1= kelompok 1 minggu pertama; K1-2= kelompok 1 minggu ke 2; K1-3= kelompok 1 minggu ke 3; K1-4= kelompok 1 minggu ke 4; K1-5= kelompok 1 minggu ke 5;.....; K2-5= kelompok 2 minggu ke lima.



Gambar 1. Elektroforesis hasil amplifikasi gen MA dengan panjang 220 bp terhadap sampel paru *day old chick* (DOC), ayam broiler kontrol tanpa suplementasi (K11-K15) dan dengan suplementasi *water additive* kimchi 0.2% (K21-K25). Keterangan: *Lane 1*. Marker (M) 100 bp, *Lane 2*. Kontrol positif (K+), *Lane 3*. Sampel paru DOC sebelum perlakuan, *Lane 4 - 8*. Sampel organ paru kelompok kontrol pada minggu pertama (K1-1) hingga minggu ke lima (K1-5), *Lane 9 - 14*. Sampel organ paru kelompok perlakuan pada minggu pertama (K2-1) hingga minggu ke lima (K2-5), *Lane 14*. Kontrol negatif (K-) dan *Lane 15*. *No template control* (NTC).

dalam melindungi ayam terhadap infeksi AI adalah melalui kemampuannya dalam meningkatkan sistem kekebalan perolehan dan penghambatan perlekatan virus pada reseptor (Park *et al.*, 2013; Rather *et al.*, 2015; Seo *et al.*, 2012). Penghambatan perlekatan virus diperankan oleh asam sialat (*sialyl-oligosaccharides*) dan *exopolysaccharides* yang terkandung di dalam metabolit kimchi (Ha *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2008). Menurut Pandey *et al.* (2018), *3'sialyl-oligosaccharides* yang diisolasi dari air susu ibu (ASI) mampu menetralkan virus A1 H9N2 pada kolon ayam dalam waktu 24 jam pasca infeksi, sehingga virus tidak masuk ke dalam sirkulasi darah. Asam sialat dan polisakarida yang berasal dari kimchi mencegah penempelan virus pada sel inang sehingga virus tidak dapat bersirkulasi ke dalam darah dan/atau masuk ke dalam organ lainnya (Sharon, 2006).

Hasil pengujian RT-PCR terhadap gen matrix (MA) virus AI dari sampel paru secara *pooling* disajikan pada Gambar 1. Berdasarkan pengujian secara molekuler organ paru kelompok kontrol dari minggu pertama hingga akhir perlakuan tidak terlihat adanya pita DNA pada gel agarosa. Hasil negatif ini membuktikan tidak adanya infeksi virus AI atau karena konsentrasi virus AI pada organ paru jumlahnya dibawah limit deteksi dari PCR. Limit deteksi dari PCR konvensional menggunakan pewarnaan ethidium bromida berkisar antara 10 nanogram sedangkan jika menggunakan pewarna Sybr Green konsentrasi cDNA yang dapat terdeteksi kurang dari 10 nanogram bahkan mungkin hingga 100 pikogram tergantung pada ketipisan dari agarose yang dibuat (Ivanbio, 2011). Menurut Salahi and Najafi (2014), parameter lain seperti waktu pengumpulan dan cara pengawetan jaringan, jenis fiksatif yang digunakan, prosedur ekstraksi RNA, kuantitas jaringan dan metode pengecekan untuk kuantitas dan kualitas RNA, secara langsung atau tidak langsung dapat berpengaruh terhadap integritas RNA dan ekspresi gen. Hal tersebut perlu dipertimbangkan dalam evaluasi hasil. Penelitian serupa dari DOC yang di lalu-lintaskan melalui bandara Soekarno-Hatta oleh peneliti lain menunjukkan angka kejadian penyakit yang berbeda yaitu 1,78% (Mujiatun, 2009) dan 7,5% (Setyawati *et al.*, 2010). Perbedaan tersebut kemungkinan berhubungan dengan jumlah sampel yang digunakan lebih banyak. Disamping itu, uji RT-PCR terhadap gen MA dari sampel organ tanpa

inokulasi pada telur ayam bertunas kurang sensitif untuk deteksi virus AI dengan titer rendah (Haryanto *et al.*, 2012).

Menggunakan tehnik RT-PCR dengan pasangan primer yang spesifik mengamplifikasi gen matrix AIV, pita DNA dari sampel organ paru kelompok perlakuan (K2) pada minggu pertama dan kedua terlihat pada posisi 220 bp. Hasil tersebut membuktikan adanya virus AIV pada organ paru yang di *pooling*. Infeksi oleh AIV yang terjadi pada kelompok perlakuan ini dikategorikan sebagai infeksi subklinis. Infeksi subklinis dapat terjadi karena kekebalan yang dimiliki cukup untuk melindungi ayam dari penyakit yang menimbulkan gejala klinis tetapi virus masih berada dalam jumlah terbatas pada organ paru. Pada konsentrasi virus yang rendah, virus akan berada pada organ saluran pernafasan sebagai tempat predileksi AIV, dalam kondisi ini virus masih mengalami replikasi sehingga ayam dapat mensekresikan virus ke lingkungan (Tarigan, 2015). Kejadian infeksi subklinis sering tidak disadari oleh peternak sehingga virus bersirkulasi di suatu peternakan tanpa diketahui namun berisiko menjadi sumber penularan pada peternakan lain disekitarnya karena berperan sebagai sumber penularan laten (Tarigan, 2015). Keberadaan virus baru diketahui apabila terjadi infeksi klinis yang menimbulkan banyak kematian. Hal ini secara umum terjadi apabila sistem kekebalan ayam menurun akibat faktor lingkungan yang menimbulkan stress. Suplementasi *water additive* KimchiStock® 0,2% pada penelitian ini mampu melindungi ayam sehingga infeksi subklinis tidak berubah menjadi infeksi klinis dan mampu mengeliminasi virus dari tubuh ayam di minggu ke 3 setelah pemberian terbukti dari hasil uji molekuler yang negatif. Hubungan antara kimchi dengan AI pernah diteliti oleh Ma (2017) yang membuktikan bahwa 11 dari 13 ayam yang diinfeksi dengan AIV H5N6 pulih dari dampak negatif virus AI akibat pemberian kimchi.

SIMPULAN

Suplementasi *water additive* Kimchi Stock® 0.2% pada ayam pedaging yang dipelihara di peternakan komersial dapat mencegah infeksi alami *avian influenza* pada minggu ketiga setelah pemberian.

SARAN

Pemberian *water additive* KimchiStock® disarankan diberikan mulai dari DOC dan minimal tiga minggu pemberian untuk menurunkan risiko infeksi alami AI yang bersifat subklinis pada ayam pedaging komersial. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui subtipe virus AI terhadap gen HA dan NA serta pengujian patogenesitasnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Dr. Agus Surjanata, Direktur PT Pimaimas Citra, Dr. Lucas Chung, Direktur PT Blue Sky Biotech, Dr. Andi Wijanarko, Dr. I. Komang Tri Kumara, Dr. Anwar Setyawantono, Dr. Ade Irma Suryani, Dr. Rina Isnawati, Dr. Rina Dwi Susanti, Dr. M. Faiz Karimy dan Bapak Gundung yang telah memberi bantuan teknis maupun non-teknis sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander DJ. 2000. A review of avian influenza in different bird species. *Vet Microbiol* 74: 3-13.
- Australia Animal Health Laboratory (AAHL). 2004. Molecular diagnostic test available at Australia Animal Health Laboratory. <http://www.csiro.au>. (Diakses Maret 2018).
- Bajpai VK, Rather IA, Majumder, R, Alshammari FH, Nam G-J, Park Y-H. 2017. Characterization and antibacterial mode of action of lactic acid bacterium *Leuconostoc Mesenteroides* HJ69 from Kimchi. *J. Food Biochem* 41: 1-11.
- Capua, I and Alexander, D.J. 2008. Avian influenza vaccines and vaccination in birds. *Vaccine*. 26S: D70–D73.
- Centre for Disease Control and Prevention (CDC). 2017. Influenza type A viruses. [<https://www.cdc.gov/flu/avianflu/influenza-a-virus-subtypes.htm>]. Diakses Februari 2018.
- Choi HJ, Lee NK, Paik HD. 2015. Health benefits of lactic acid bacteria isolated from kimchi, with respect to immunomodulatory effects. *Food Sci. Biotechnol* 24(3): 783-789.
- Damayanti R, Dharmayanti NLPI, Indriani R, Wiyono A, Darminto. 2004. Gambaran klinis dan patologis ayam yang terserang flu burung sangat patogenik (HPAI) di beberapa peternakan di Jawa Timur dan Jawa Barat. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 9(2): 128-135.
- Damayanti R, Dharmayanti NLPI, Indriani R, Wiyono A, Adjid RMA. 2005. Monitoring kasus penyakit avian influenza berdasarkan deteksi antigen virus subtipe H5N1 secara imunohistokimia. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 10(4): 322–330.
- Geneaid. 2017. Viral nucleic acid extraction kit II. <http://www.geneaid.com/sites/default/files/VR10.pdf>. (Diakses tanggal 27 Maret 2018)
- Gharaibeh S, Mahmoud K. 2013. Decay of maternal antibodies in broiler chickens. *Poult Sci* 92(9): 2333-2336.
- Ha BJ, Bae DJ, Ku CS, Kim CH, Jang DI, Sung HW. 2008. Anti-viral effect of *Lactobacillus plantarum* DC 412K isolated from Kimchi on the avian influenza virus. *Korean Society for Biotechnology and Bioengineering, Spring Conference and International Symposium 2008* Pp. 267-268.
- Hall DC, Benigno C, Kalpravidh W. 2006. *The impact of avian influenza on small and medium scale poultry producers in south east Asia (preliminary findings)*. Paper prepared for presentation at the American Agricultural Economics Association Annual Meeting, Long Beach, California, July 23-26, 2006.
- Haryanto A, Andinita D, Irianingsih SH, Yudianingtyas DW. 2012. Diagnosis cepat virus avian influenza tipe A subtipe H5 dari spesimen lapangan dengan metode onestep simplex RT-PCR. *Jurnal Kedokteran Hewan* 6(1): 6-10.
- Hewajuli DA, Dharmayanti, NLPI. Sirkulasi virus flu burung subtipe H5 pada unggas di Jawa Barat, Banten, dan Jawa Timur sepanjang tahun 2008-2009. *Jurnal Veteriner* 13(3): 293-302.
- Indriani R, Dharmayanti NLPI. 2012. *Antibody level of avian influenza subtype H5 in commercial broiler farm*. International Conference on Livestock Production and Veterinary Technology. Pp. 402-406.

- Ivanbio. 2011. Detection limit of a conventional PCR. (<http://www.protocol-online.org/biology-forums-2/posts/19995.html>) (Diakses tanggal 10 Maret 2019).
- Kim JM, Seo HN, Hwang TS, Lee SH, Park DH. 2008. Characterization of exopolysaccharide (EPS) produced by *Weissella hellenica* Skkimchi3 isolated from kimchi. *J Microbiol* 46(5): 535-541
- Khan I, Kang SC. 2016. Probiotic potential of nutritionally improved *Lactobacillus plantarum* DGK-17 isolated from Kimchi – A traditional Korean fermented food. *Food Control* 60: 88-94.
- Kumar M, Chu HJ, Rodenberg J, Krauss S, Webster RG. 2007. Association of serologic and protective responses of avian influenza vaccines in chickens. *Avian Dis* 51: 481-483.
- Lee ME, Jang JY, Lee JH, Park HW, Choi HJ, Kim TW. 2015. Starter cultures for kimchi fermentation. *J Microbiol Biotechnol* 25(5): 559–568.
- Ma K-M. 2017. The relationship between Korean foods and avian influenza (AI). *Int J Community Fam Med* 2: 125.
- Martindah E, Priyanti A, Nurhayati IS. 2007. *Kajian pelaksanaan kebijakan pengendalian penyakit avian influenza di lapang*. Bogor. Lokakarya Nasional Inovasi Teknologi dalam Mendukung Usaha Ternak Unggas Berdaya Saing.
- Mujiatun. 2009. Deteksi keberadaan virus avian influenza pada DOC yang dilalulintaskan melalui bandara Soekarno Hatta. *Tesis*. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- OIE. 2018. Avian influenza (Infection with avian influenza viruses) In: *OIE terrestrial animals*, Chapter 3.3.4. Paris, France. World Organization of Animal Health: Paris, France. Pp. 821-843.
- Pandey RP, Kim DH, Woo J, Song J, Jang SH, Kim JB, Cheong KM, Oh JS, Sohng JK. 2018. Broad-spectrum neutralization of avian influenza viruses by sialylated human milk oligosaccharides: in vivo assessment of 32 -sialyllactose against H9N2 in chickens. *Scientific Reports* 8: 2563.
- Park MK, Vu NGO, Kwon YM, Lee YT, Yoo S, Cho YH, Hong SH, Hwang HS. 2013. *Lactobacillus plantarum* DK119 as a probiotic confers protection against influenza virus by modulating innate immunity. *PLoS ONE* 8(10): e75368
- Rather IA, Choi KH, Bajpai VL, Park YH. 2015. Antiviral mode of action of *Lactobacillus plantarum* YML009 on Influenza virus H1N1. *Bangladesh J Pharmacol* 10: 475-482.
- Salehi Z, Najafi, M. 2014. RNA preservation and stabilization. *Biochem. Physiol* 3(1): 1-4
- Siregar S E, Darminto, Weaver J, Bouma A. 2007. The a vaccination programme in Indonesia. *Dev Biol (Basel)* 130: 151-158.
- Seo BJ, Rather IA, Kumar VJR, Choi UH, Moon MR, Lim JH, Park YH. 2012. Evaluation of *Leuconostoc mesenteroides* YML003 as a probiotic against low-pathogenic avian influenza (H9N2) virus in chickens. *J Appl Microbiol* 113(1): 163–171.
- Setyawati S, Soejoedono RD, Handharyani E, Sumiarto B. 2010. Deteksi virus Avian Influenza H5N1 pada anak ayam umur satu hari dengan teknik imunohistokimia. *Jurnal Veteriner* 11(4): 203-209.
- Sharon N. 2006. Carbohydrates as future anti-adhesion drugs for infectious diseases. *Biochim Biophys. Acta* 1760: 527–537.
- Suganya T, Senthilkumar S, Deepa K, Muralidharan J, Gomathi G, Gobiraju S. 2016. Herbal feed additives in poultry. *Int. J. Sci. Environ. Technol.* 5(3): 1137-1145.
- Tarigan S. 2015. Infeksi subklinis *Avian Influenza* H5N1 pada peternakan ayam yang menerapkan program vaksinasi. *Wartazoa* 25(2): 75-84.
- Wasito R, Wuryastuty H, Tjahyowati G, Irianingsih SH, Tyasasmaya T, Maes RK. 2014. Detection and differentiation of pathogenic H5 and H7 influenza A virus subtypes in Indonesian poultry Bay multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction. *Biochem Biotechnol Res* 2(2): 27-31.
- Wibawan IWT. 2012. Manifestasi subklinis avian influenza pada unggas: ancaman keselamatan dan penanggulangannya. *Orasi Ilmiah Guru Besar IPB*. Bogor. Institut Pertanian Bogor