

Identifikasi Flu Burung H5N1 pada Unggas di Sekitar Kasus Flu Burung pada Manusia Tahun 2011 di Bekasi

*(AVIAN INFLUENZA H5N1 IDENTIFICATION IN AVIAN SPECIES SURROUNDING
AVIAN INFLUENZA H5N1 HUMAN CASES IN BEKASI, WEST JAVA, 2011)*

Dyah Ayu Hewajuli, Ni Luh Putu Indi Dharmayanti

Departemen Virologi, Balai Besar Penelitian Veteriner,
Badan Litbang, Kementerian Pertanian
Jl.R.E.Martadinata No 30 atau PO Box 151, Bogor 16114,
Telp(0251)8331048; 8334456; Fax(0251)8336425; e-mail:dhewajuli@yahoo.com

ABSTRAK

Virus avian influenza H5N1 merupakan penyebab wabah flu burung pada manusia di Indonesia yang muncul pertama kali Tangerang pada tahun 2005. Kasus flu burung di Indonesia saat ini telah tersebar di 12 provinsi. Jumlah kumulatif kasus flu burung ada 182 dengan 150 kematian pada manusia sampai dengan bulan November 2011. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi flu burung subtype H5N1 pada unggas yang berada di sekitar kasus flu burung H5N1 pada manusia yang terjadi di Kota Bekasi pada bulan Maret tahun 2011 dan bagaimana peran unggas sekitar dalam penyebaran virus AI ke manusia dengan menggunakan metode *Hemagglutination Inhibition* (HI), dan *Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR). Hasil penelitian sebaran antibodi flu burung H5N1 pada unggas yang berada di sekitar kasus flu burung subtype H5N1 pada manusia, menunjukkan bahwa 80% sampel bereaksi negatif terhadap flu burung subtype H5N1, sebanyak 4,4% sampel menunjukkan titer antibodi flu burung subtype H5N1 kurang dari 4 log 2, serta 15,6% sampel menunjukkan titer antibodi flu burung H5N1 antara 4-7 log 2. Identifikasi virus flu burung subtype H5N1 dengan RT-PCR pada unggas disekitar kasus flu burung subtype H5N1 pada manusia menunjukkan hasil bahwa 47,6% sampel negatif terhadap virus flu burung subtype H5N1, sebanyak 30,2% sampel positif terhadap virus flu burung subtype H5, tetapi negatif terhadap subtype N1 serta 11,2% sampel positif terhadap virus flu burung H5N1. Simpulan dari penelitian ini adalah sirkulasi virus flu burung subtype H5N1 pada unggas yang berada di sekitar kasus flu burung subtype H5N1 pada manusia berperan dalam penularan virus flu burung dari unggas ke manusia baik secara langsung maupun tidak langsung.

Kata-kata kunci : flu burung subtype H5N1, unggas, uji HI, RT-PCR

ABSTRACT

H5N1 subtype Avian Influenza (AI) virus is the causal agent of AI disease in humans. In Indonesia, the first human AI occurred in Tangerang 2005. Human AI in Indonesia has now spread into 12 provinces, including West Java, Jakarta, Banten, North Sumatra, East Java, Central Java, Lampung, South Sulawesi, West Sumatra, South Sumatra, Riau, and Bali. Until 2011, the total human AI cases were 182 cases with 150 deaths. This study was conducted to identify of H5N1 AI virus in birds in area surrounding a human AI human case in Bekasi city in March 2011 and to investigate its role in the spread of AI to humans using methods of Hemagglutination Inhibition (HI), and Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR). The result showed that 80% of birds in the area surrounding AI surrounding H5N1 AI human case in Bekasi 2011 were antibody negative against H5N1-AI virus. Antibody against H5N1-AI virus with the titer less than 4 log 2 was detected in 4.4% of birds and with antibody titer 04 4-7 log 2 in 15% of birds. By RT-PCR, H5N1 AI virus was not detected in 47.6% of bird samples. H5 positive and N1 negative AI virus was detected in 30.2% samples. Only 11.2% samples showed positive for H5N1 AI virus. The results suggest that H5N1-AI virus affecting birds may have a positive role in transmitting to the virus to human in Bekasi 2011.

Keywords : H5N1 subtype AI virus, birds, HI and RT-PCR

PENDAHULUAN

Penyakit-penyakit yang terjadi karena penularan antara manusia, hewan liar, dan hewan peliharaan mempunyai pengaruh yang penting terhadap kesehatan masyarakat secara umum, perekonomian, perunggasan, dan perlindungan satwa liar. Akhir-akhir ini, hasil survei menunjukkan terdapat lebih dari 1.400 spesies patogen pada manusia dan lebih dari separuh diketahui bersifat zoonosis (Taylor *et al.*, 2001). Hasil survei menunjukkan bahwa patogen yang dianggap sebagai penyebab wabah penyakit kemungkinan besar adalah patogen yang bersifat zoonosis dibandingkan patogen yang tidak bersifat zoonosis (Woolhouse *et al.*, 2001). Flu burung H5N1 adalah contoh patogen yang diketahui sebagai penyebab terjadinya wabah penyakit pada manusia.

Pada tahun 1997, penularan flu burung H5N1 dari unggas ke manusia pertama kali di laporkan di Hongkong (Mounts *et al.*, 1999; Shortridge *et al.*, 2000). Selanjutnya, wabah penyakit flu burung menyebabkan kematian pada manusia di Vietnam dan Thailand dengan 22 orang meninggal dari 33 kasus flu burung pada manusia yang terjadi pada Januari 2004. Penyebabnya adalah virus flu burung subtipe H5N1 dan merupakan epidemi terbesar pada unggas komersial (WHO, 2004) di sejumlah negara-negara lainnya di Asia seperti Kamboja, Cina, Indonesia, Jepang, dan Korea. Kasus flu burung ini menyebabkan lebih dari 100 juta unggas mati atau dimusnahkan dalam dua bulan pertama tahun 2004 (Fleck, 2004; WHO, 2004).

Di Indonesia, kasus flu burung pada manusia pertama kali terjadi di Tangerang, Banten pada tahun 2005. Kasus flu burung pada manusia di Indonesia saat ini telah tersebar di 12 propinsi yaitu Jawa Barat, DKI Jakarta, Banten, Sumatera Utara, Jawa Timur, Jawa Tengah, Lampung, Sulawesi Selatan, Sumatera Barat, Sumatera Selatan, Riau, dan Bali. Sejak kasus flu burung pada manusia ditemukan di Indonesia pada tahun 2005, jumlah kumulatif kasus tersebut sebanyak 182, dengan mengakibatkan 150 kematian sampai dengan bulan November 2011 (Depkes, 2011).

Tingkat kematian akibat penyakit flu burung yang tinggi biasanya terjadi bersamaan dengan potensi epidemi pada manusia, sehingga perhatian lebih besar difokuskan pada manusia

karena virus flu burung sangat patogen pada manusia. Reservoir alami virus flu burung adalah unggas air. Unggas air dapat terinfeksi oleh virus flu burung *strain avirulent* atau *low pathogenic* dengan menunjukkan gejala klinis tidak parah atau tanpa menunjukkan gejala klinis sama sekali. Virus influenza disekresikan bersama feses unggas yang terinfeksi flu burung dan penularannya terjadi secara langsung maupun tidak langsung (Horimoto dan Kawaoka, 2001).

Penularan virus flu burung dari unggas ke manusia terjadi secara langsung maupun tidak langsung. Cara penularan virus flu burung yang demikian kemungkinan menjadi penyebab kasus flu burung pada manusia di Kota Bekasi pada bulan Maret tahun 2011 yang menyebabkan satu orang warganya meninggal. Dari hasil identifikasi, penyebabnya adalah virus flu burung subtipe H5N1. Sehubungan dengan hal tersebut, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan mengidentifikasi virus flu burung subtipe H5N1 pada unggas yang berada di sekitar kejadian kasus flu burung pada manusia di Kota Bekasi pada bulan Maret tahun 2011 dan bagaimana peran unggas sekitar dalam penyebaran virus flu burung ke manusia. Penelitian ini dilakukan dengan metode *Hemagglutination Inhibition* (HI), dan *Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) yang bertujuan untuk mengetahui sebaran antibodi dan karakter genetik dari virus flu burung subtipe H5N1 tersebut.

METODE PENELITIAN

Sampel

Sampel serum darah dan usap kloaka unggas, usap kandang, dan usap talenan diperoleh dari sekitar lokasi tempat tinggal korban yang meninggal dunia dan teridentifikasi positif flu burung subtipe H5N1. Sampel serum darah diambil dari ayam dan angsa, usap kloaka dari ayam, angsa, dan sebagian burung hias, usap kandang diambil dari kandang atau sangkar burung hias, sedangkan usap talenan diperoleh dari talenan yang digunakan untuk memotong produk unggas di pasar. Sampel yang digunakan terdiri dari 45 sampel serum, 18 sampel usap kloaka, 45 sampel usap kandang, dan satu usap talenan. Data sampel lengkap disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Perolehan jumlah sampel serum darah dan usap unggas yang berasal dari sekitar kasus flu burung pada manusia di Kelurahan JakaMulya, Kecamatan Bekasi Selatan, Kota Bekasi tahun 2011

No	RT/RW Kelurahan	Jenis Hewan	Jumlah Sampel					
			Serum	Usap Kloaka	Usap Kandang	Usap Talenan		
1	Pasar Tradisional	Ayam Broiler	33	11	-	1		
		Ayam Kampung	9	3	-	-		
2	RT 1/RW 4	Burung Kacer	-	-	1	-		
		Burung Kerocokan	-	-	2	-		
		Burung Decu	-	-	2	-		
		Burung Gondoijo	-	-	1	-		
		Burung Perkutut	-	-	3	-		
		Burung Kenari	-	-	1	-		
		Burung Beo	-	-	1	-		
		Burung Wambi	-	-	1	-		
		Burung Jalak Suren	-	-	2	-		
		Burung Jalakijo	-	-	1	-		
		Burung Prenjak	-	-	1	-		
		3	RT 2/RW 4	Burung Perkutut	-	-	1	-
Burung Anis	-			-	1	-		
4	RT 4/RW 4	Burung Puter	-	1	3	-		
		Burung Tekukur	-	1	-	-		
		Burung Perkutut	-	-	2	-		
		Burung Kerocokan	-	-	2	-		
		Burung Jalak Kebo	-	-	2	-		
		Burung Cucak Rawa	-	-	1	-		
		Burung Kutilang	-	-	1	-		
		Burung Jalak Nias	-	-	1	-		
		Burung Kacer	-	-	3	-		
		Burung Srindit	-	-	1	-		
		Burung Cucak Biru	-	-	1	-		
		Burung Pok Mandarin	-	-	1	-		
		Burung Beo	-	-	1	-		
		Burung Puter Kapas	-	-	2	-		
		5	Jl.Bojong	Ayam Kampung	-	1	-	-
				Burung Puter	-	-	1	-
				Burung Ciblek	-	-	1	-
				Burung Kenari	-	-	1	-
Burung Kerocokan	-			-	1	-		
Burung Cucakijo	-			-	1	-		
B.Titok	-			-	1	-		
Angsa	3			1	-	-		
Total Perolehan Sampel			45	18	45	1		

Sampel usap kloaka, usap kandang, dan usap talenan selanjutnya disimpan dalam media transport *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) dan antibiotik (penisilin 2000 unit/mL, sterptomisin 2 mg/mL). Sampel serum, usap kloaka, usap kandang, dan usap talenan segera diperiksa setelah diinkubasi selama 1-2 jam pada suhu ruang. Apabila sampel tidak memungkinkan untuk dikerjakan secepatnya, maka sampel disimpan pada suhu 4°C selama empat hari. Penyimpanan sampel yang lebih dari empat hari disimpan pada suhu -80°C (OIE, 2008).

Uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI)

Pemeriksaan serologi dengan uji HI dilakukan untuk mengetahui adanya pembentukan antibodi terhadap virus flu burung subtipe H5N1 yang dapat diamati pada hari ke-7 sampai ke-10 pascainfeksi. Uji HI dilakukan sesuai dengan standar baku (OIE, 2008). Titer HI dihitung berdasarkan pengenceran tertinggi sampel serum yang masih menghambat aglutinasi sel darah merah dengan sempurna, dan dinyatakan dalam log 2.

Uji *Reverse Transcriptase – Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR)

Ekstraksi RNA dilakukan dengan menggunakan QIAmp RNA viral mini kit (*Qiagen*) yang tersedia secara komersial dan penggunaannya sesuai instruksi penggunaan dengan sedikit modifikasi. Reaksi RT-PCR

dilakukan dengan menggunakan *Superscript III one Step RT-PCR system* (*Life Technology*). Primer H5, dan program RT-PCR yang digunakan sesuai dengan Lee *et al.*, (2001) sedangkan primer N1 dan program RT-PCR yang digunakan sesuai dengan Wright *et al.*, (1995). Hasil amplifikasi divisualisasi dengan *UV transiluminator* dan didokumentasikan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian HI dari sampel unggas yang diperoleh dari sekitar rumah korban kasus flu burung subtipe H5N1 disajikan pada Tabel 2.

Hasil uji HI terhadap 45 sampel serum unggas menunjukkan bahwa 36 sampel serum bereaksi negatif terhadap antigen flu burung subtipe H5N1 tetapi bereaksi positif dengan titer <4 log 2 sebanyak dua sampel serum, dan sebanyak tujuh sampel serum dengan titer 4 s/d 7 log 2. Gambaran tersebut menunjukkan bahwa serum unggas yang diambil dari unggas di sekitar rumah korban kebanyakan tidak mempunyai titer antibodi terhadap flu burung (36 serum) tetapi mempunyai titer antibodi flu burung rendah (2 serum), titer antibodi flu burung sedang (7 serum) dan tidak ada sampel yang menunjukkan titer antibodi flu burung tinggi.

Hasil pengujian RT-PCR sampel usap kloaka, usap kandang, dan usap lingkungan unggas di sekitar kasus flu burung subtipe H5N1 pada manusia disajikan pada Tabel 3.

Tabel 2. Hasil uji HI sampel serum unggas yang diperoleh dari sekitar kasus flu burung subtipe H5N1 pada manusia di Kelurahan JakaMulya, Kecamatan Bekasi Selatan, Kota Bekasi, Jawa Barat tahun 2011

No	Alamat	Spesies	Jumlah Sampel	Titer HI (log 2)			
				-ve	<4	4-7	>7
1	Pasar Tradisional	Ayam Broiler	33	27	2	4	0
		Ayam Buras	9	9	0	0	0
2	Jl.Bojong	Angsa	3	0	0	3	0
Total			45	36	2	7	0

Keterangan : -ve adalah titer antibodi negatif

Tabel 3. Hasil uji RT-PCR sampel usap kloaka, usap kandang dan usap lingkungan unggas yang diperoleh dari sekitar kasus flu burung subtype H5N1 pada manusia di Kelurahan Jaka Mulya, Kecamatan Bekasi Selatan, Kota Bekasi, Jawa Barat tahun 2011

No	Alamat	Spesies	Jumlah Sampel	Hasil RT-PCR			
				Subtipe H5	Subtipe N1		
1	Pasar Tradisional	Ayam Broiler	11	8	2		
		Talenan	1	1	1		
		Ayam Buras	3	3	3		
2	RT1/RW4	Burung Kacer	1	0	0		
		Burung Kerocokan	2	1	0		
		Burung Decu	2	2	0		
		Burung Gondolijo	1	0	0		
		Burung Perkutut	3	1	1		
		Burung Kenari	1	1	0		
		Burung Beo	1	1	0		
		Burung Wambi	1	1	0		
		Burung Jalak Suren	2	1	0		
		Burung Jalak Ijo	1	0	0		
		Burung Prenjak	1	0	0		
		3	RT 2/RW 4	Burung Perkutut	1	0	0
				Burung Anis	1	0	0
4	RT 4/RW 4	Burung Puter	5	1	0		
		Burung Kerocokan	2	0	0		
		Burung Perkutut	2	2	0		
		Burung Kutilang	1	0	0		
		Burung Jalak Kebo	2	0	0		
		Burung Jalak Nias	1	1	0		
		Burung Kacer	3	1	0		
		Burung Srindit	1	0	0		
		Burung Cucak Biru	1	0	0		
		Burung Poksai Mandarin	1	0	0		
		Burung Beo	1	0	0		
		Burung Tekukur	1	1	0		
		Burung Cucak Rawa	1	0	0		
		5	Jl.Bojong	Ayam Buras	1	0	0
				Burung Puter	1	0	0
				Burung Ciblek	1	0	0
				Burung Kenari	1	0	0
Burung Kerocokan	1			0	0		
Burung Cucakijo	1			0	0		
Burung Titok	1			0	0		
Angsa	1			0	0		
Total			63	26	7		

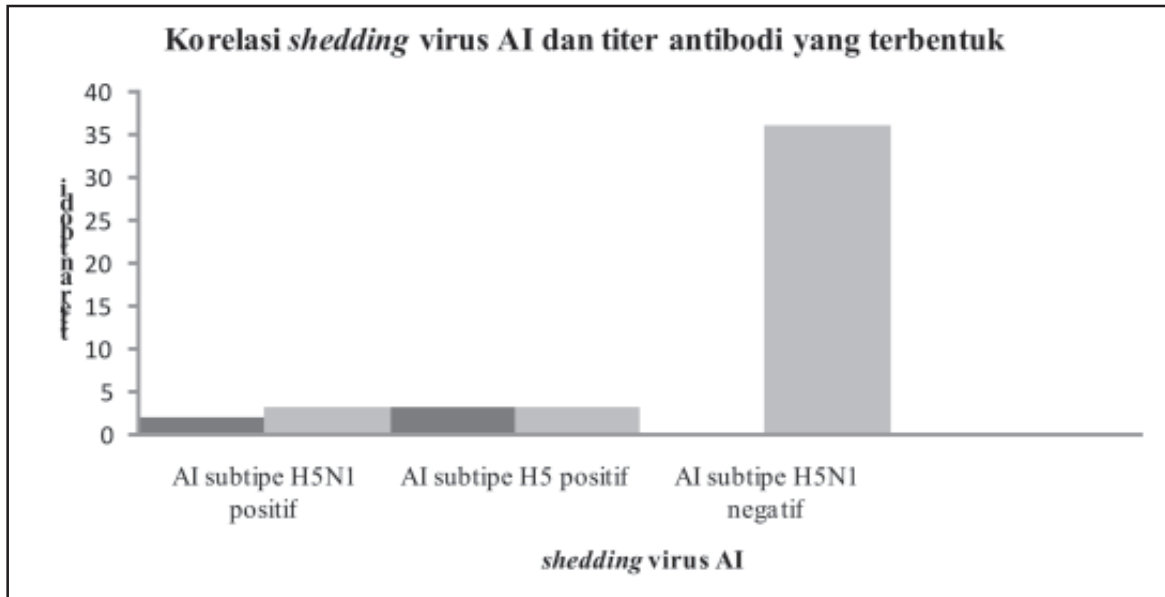
Keterangan : RT-PCR = *reverse transcriptase chain reaction*

Hasil uji RT-PCR terhadap sampel dari usap kloaka, usap kandang, dan usap lingkungan yang berasal dari unggas yang berada di sekitar rumah korban kasus flu burung subtype H5N1 pada manusia memperlihatkan bahwa sebanyak 30 sampel yang berasal dari usap kloaka dan usap kandang

unggass menunjukkan hasil negatif terhadap primer H5 sehingga tidak dilanjutkan untuk pengujian RT-PCR lebih lanjut dengan primer N1. Namun demikian, terdapat 19 sampel yang dikoleksi dari usap kloaka, dan usap kandang menunjukkan hasil positif terhadap primer H5 tetapi negatif terhadap primer N1. Meskipun

demikian terdapat tujuh sampel dari usap kloaka, usap kandang, dan usap lingkungan diidentifikasi sebagai flu burung subtipe H5N1 karena mampu mengamplifikasi primer H5 dan N1, karena diperoleh potongan fragmen 545 bp dengan primer H5 dan potongan fragmen 616 bp dengan primer N1.

Pada umumnya, unggas peliharaan maupun unggas liar dapat terinfeksi oleh virus influenza. Unggas tersebut meliputi ayam, kalkun, itik, ayam mutiara, angsa peliharaan, burung puyuh, burung liar, ayam hutan, burung camar, burung laut, burung pantai. Beberapa unggas yang terinfeksi virus



Keterangan : grafik batang hitam : antibodi positif
 grafik batang abu-abu : antibodi negatif

Gambar 1 : Korelasi *shedding* virus flu burung subtipe H5N1 dan reaksi antibodi terhadap antigen flu burung subtipe H5N1.

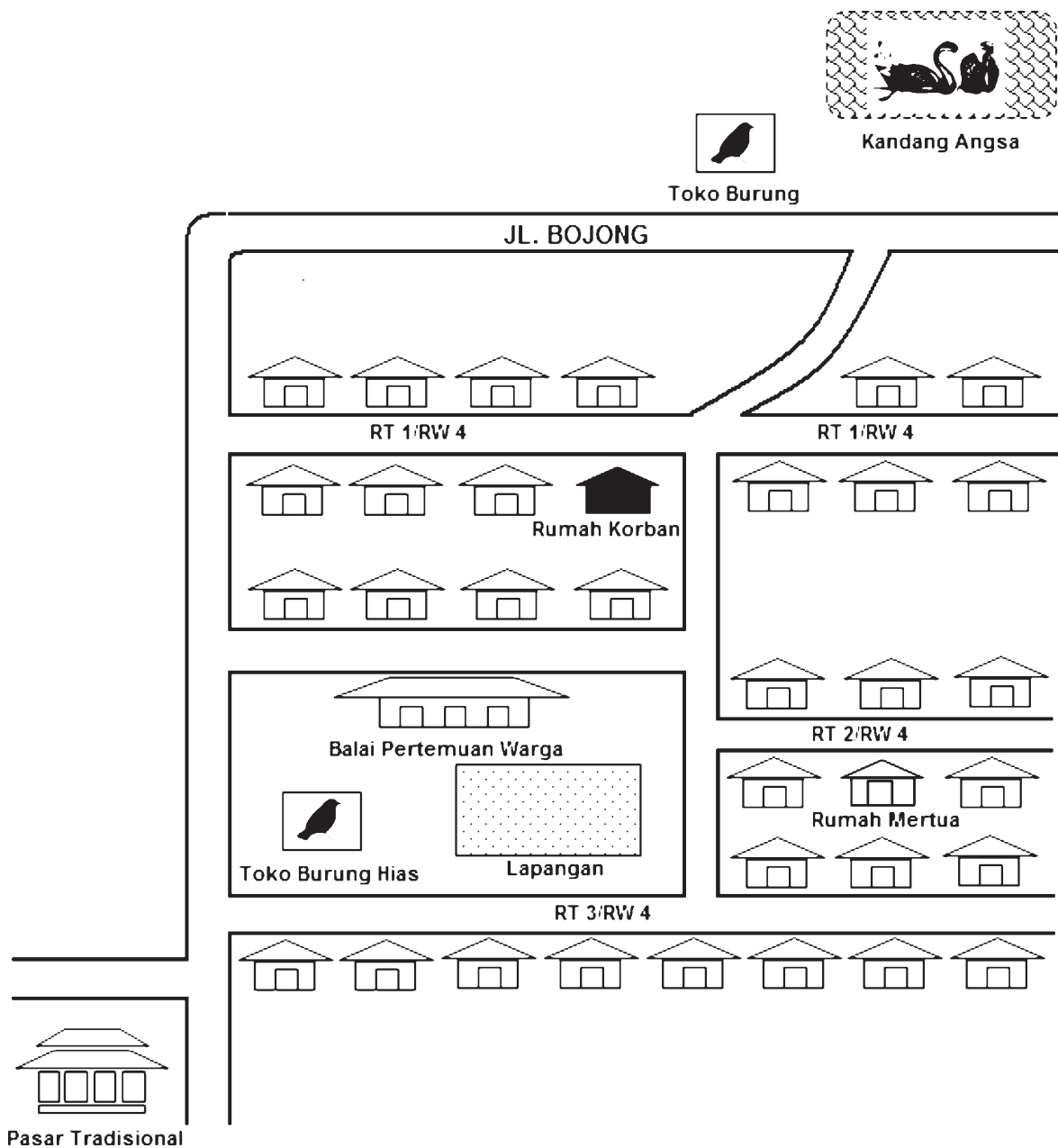
Korelasi antara keberadaan virus flu burung subtipe H5N1 dengan reaksi antibodi terhadap antigen flu burung subtipe H5N1 yang terbentuk memperlihatkan bahwa sebanyak dua sampel positif virus flu burung subtipe H5N1, dan antibodi bereaksi positif terhadap antigen flu burung subtipe H5N1 sedangkan sebanyak tiga sampel menunjukkan positif terhadap virus flu burung subtipe H5N1 tetapi antibodi tidak bereaksi terhadap antigen flu burung subtipe H5N1. Sampel yang teridentifikasi virus flu burung subtipe H5 dan antibodi bereaksi positif terhadap antigen flu burung subtipe H5N1 sebanyak tiga sampel, sedangkan sampel positif terhadap virus flu burung subtipe H5 tetapi antibodi negatif terhadap antigen flu burung subtipe H5N1 sebanyak tiga sampel. Sejumlah 36 sampel yang memperlihatkan hasil negatif terhadap virus flu burung subtipe H5N1 dan tidak terbentuk antibodi terhadap antigen flu burung subtipe H5N1.

influenza dapat menunjukkan gejala klinis atau tanpa menunjukkan gejala klinis (Easterday *et al.*, 1997; Webster dan Kawaoka, 1988). Kondisi daerah sekitar tempat tinggal korban yang meninggal akibat terinfeksi flu burung subtipe H5N1 memperlihatkan bahwa sebagian besar masyarakat memelihara burung hias sebagai hewan peliharaan dan terdapat beberapa orang yang memelihara burung hias untuk dijual kembali. Burung hias tersebut dikandangkan dalam suatu sangkar dan sebagian besar digantung di depan atau di teras rumah yang berpeluang besar untuk berkontak dengan masyarakat di sekitarnya. Meskipun korban yang meninggal akibat kasus flu burung subtipe H5N1 tidak memelihara unggas termasuk burung hias di tempat tinggalnya tetapi tetangga sekitar rumah korban termasuk mertuanya memelihara burung hias yang dikandangkan dalam sangkar dan digantung di halaman atau teras rumah. Korban kasus flu

burung subtype H5N1 dalam kurun waktu tertentu juga melakukan kunjungan ke rumah mertuanya. Sebelum terinfeksi, korban juga melakukan kunjungan ke pasar tradisional dengan tujuan berbelanja kebutuhan sehari-hari. Sekitar 100 meter dari rumah korban, terdapat pasar tradisional yang menjual unggas hidup yang beroperasi setiap hari (Gambar 2). Berdasarkan hasil pengamatan, unggas yang berada di sekitar rumah tinggal korban flu burung pada manusia tidak ada yang

menunjukkan gejala klinis flu burung. Meskipun demikian, hal ini perlu diwaspadai karena unggas yang terinfeksi virus flu burung tidak selalu menunjukkan gejala klinis tetapi tetap mampu mensekresikan virus AI melalui fesesnya.

Virus Influenza disekresikan dari saluran pencernaan unggas terinfeksi melalui feses selama tujuh hari bahkan mungkin sampai 21 hari (Webster *et al.*, 1978; Kida *et al.*, 1980). Penularan virus flu burung dapat terjadi melalui



Gambar 2 : Denah lokasi kasus flu burung subtype H5N1 pada manusia di Kelurahan JakaMulya, Kecamatan Bekasi Selatan, Kota Bekasi, Jawa Barat tahun 2011.

aerosol dan material lain yang terkontaminasi virus flu burung. Ketika unggas yang terinfeksi flu burung mengeluarkan virus flu burung dalam jumlah banyak melalui fesesnya, beberapa material seperti pakan, air, peralatan, dan kandang terkontaminasi virus flu burung dan berkontribusi dalam penyebaran virus flu burung (Ito *et al.*, 1995).

Sebagian besar masyarakat yang memelihara burung hias dan pedagang unggas hidup di pasar tradisional tidak menggunakan desinfektan ketika membersihkan sangkar atau kandang. Pembersihan kandang dilakukan dengan menggunakan air secara berkala dengan frekuensi yang berbeda di antara masing-masing pemilik. Kondisi ini memungkinkan virus flu burung mampu bertahan hidup dalam kurun waktu yang lebih lama pada material seperti peralatan dan kandang yang tidak didesinfeksi secara berkala. Menurut laporan Lombardi *et al.*, (2008), beberapa desinfektan seperti asam asetat 5%, asam sitrat 1% dan 3%, kalsium hipoklorit 750 ppm, sodium hipoklorit 750 ppm efektif untuk menginaktivasi virus flu burung pada benda dengan permukaan *porous* maupun *nonporous*. Detergen konvensional dengan konsentrasi yang bervariasi juga diketahui mampu menginaktivasi virus flu burung baik pada benda dengan permukaan *porous* maupun *nonporous*.

Penerapan biosekuriti yang ketat seperti penggunaan desinfektan serta program vaksinasi merupakan faktor-faktor yang berperan untuk meminimalkan penyebaran virus AI ke lingkungan. Kandang unggas di sekitar korban flu burung pada manusia, tidak mendapat perlakuan desinfektan dalam pembersihan kandang dan peralatan serta unggas tersebut tidak mendapatkan vaksinasi flu burung sehingga sekresi virus flu burung dari unggas yang terinfeksi flu burung dan keberadaan virus flu burung di lingkungan dapat berlangsung dalam waktu yang lebih lama. Penelitian pengembangan prototipe vaksin inaktif flu burung subtipe H5N1 isolat lokal dan aplikasinya dilaporkan Indriani *et al.*, (2005) bahwa sekresi virus tantang flu burung dari tubuh ayam *broiler* yang divaksinasi flu burung H5N1 inaktif sudah tidak terdeteksi lagi mulai hari ke tujuh. Lierz *et al.*, (2007) melaporkan bahwa program vaksinasi flu burung yang diterapkan mampu memberikan proteksi pada burung elang melalui *shedding* virus yang menurun, serta menurunkan risiko penularan

virus flu burung ke jenis unggas lain dan manusia.

Umumnya virus flu burung tidak bereplikasi secara efisien pada manusia. Hal ini mengindikasikan bahwa penularan langsung virus flu burung dari manusia jarang terjadi. Sebagai contoh, virus flu burung dalam dosis tinggi diperlukan agar dapat bereplikasi dalam tubuh manusia (Beare dan Webster, 1991). Selama wabah unggas yang terjadi di Pennsylvania tahun 1983-1984, tidak ada laporan kasus penyakit yang menyerupai influenza pada manusia yang berisiko tinggi terpapar oleh virus HPAI. Kondisi ini berlangsung lama sehingga muncul suatu dugaan bahwa program pengendalian pertumbuhan virus flu burung yang ketat mampu mencegah timbulnya bahaya pandemik influenza yang disebabkan oleh *strain* baru virus influenza. Namun demikian, asumsi ini terpatahkan dengan ditemukannya isolat virus flu burung subtipe H7 yang diisolasi dari manusia dengan gejala konjungtivitis di Hongkong pada tahun 1996. Sumber virus ini ada hubungannya dengan unggas air yang ada di sekitar tempat kejadian. Pada tahun 1996 juga, virus flu burung subtipe H9N2 dapat diisolasi dari dua orang anak dengan gejala influenza ringan. Virus ini secara genetik mempunyai hubungan kekerabatan yang dekat dengan virus flu burung subtipe H5N1 dan gen-gen virus tersebut berperan dalam penyebaran virus flu burung dari unggas ke manusia. Surveilen terhadap pasar-pasar unggas hidup di Hongkong pada tahun 1997 melaporkan bahwa virus flu burung subtipe H9N2 selain subtipe H5N1 diisolasi dari pasar (Guan *et al.*, 1999; Kurtz *et al.*, 1999; Peiris *et al.*, 1999). Wabah flu burung yang terjadi di Hongkong ini bersifat unik dan mengindikasikan bahwa kemungkinan pandemik virus flu burung dapat terjadi melalui penularan secara langsung dan *reassortment* atau adaptasi di tubuh manusia. Meskipun demikian, bagaimana cara penularan virus flu burung pada manusia masih belum bisa dipastikan.

Di Indonesia, virus flu burung subtipe H5N1 yang dapat diisolasi dari unggas di sekitar kasus flu burung subtipe H5N1 pada manusia masih mengenal *avian receptor* (á2,3) dan belum mengenal *human receptor* (á2,6) sehingga infeksi pada manusia kemungkinan tertular dari unggas yang terlebih dahulu terinfeksi virus flu burung subtipe H5N1. Virus flu burung yang

diisolasi dari ayam sekitar kasus flu burung sub tipe H5N1 pada manusia mempunyai karakter genetik pada NS1 yang menarik sehingga kemungkinan berkorelasi dengan adaptasi dari virus pada manusia. Virus *reassortant* kemungkinan juga ditemukan di Indonesia yang diperoleh dari virus flu burung sub tipe H5N1 Indonesia dan virus flu burung sub tipe H3N2 Hongkong yang mengalami *genetic reassortment*. Virus *reassortant* ini memiliki gen HA, NA, dan M yang berasal dari virus flu burung sub tipe H5N1 Indonesia, sedangkan protein NS1 berasal dari virus flu burung sub tipe H3N2 Hongkong. Karakter virus flu burung yang menginfeksi manusia mempunyai perbedaan dengan virus flu burung yang hanya menginfeksi unggas. Substitusi asam amino yang khas pada protein M1 dan M2 hanya ditemukan pada virus yang berasal dari manusia ataupun virus unggas yang diisolasi di sekitar kasus flu burung manusia yang kemungkinan besar merupakan virus yang menyebabkan infeksi pada manusia. Virus asal unggas yang tidak diisolasi dari kasus infeksi flu burung manusia tidak mempunyai substitusi tersebut. Penyakit flu burung sub tipe H5N1 yang endemis di Indonesia memerlukan kewaspadaan kita, kemungkinan adanya *genetic reassortment* antara virus flu burung sub tipe H5N1 dan *novel* H1N1 maupun virus influenza lainnya seperti H1N1/H3N2 *seasonal flu* yang kemungkinan akan menyebabkan virus flu burung sub tipe H5N1 lebih mudah beradaptasi pada manusia (Dharmayanti, 2009; Dharmayanti *et al.*, 2011).

Korelasi antara keberadaan *shedding* virus flu burung sub tipe H5N1 dengan antibodi yang terbentuk juga diamati pada penelitian ini. Unggas yang baru terinfeksi virus flu burung sub tipe H5N1, pemeriksaan menunjukkan adanya *shedding* virus flu burung sub tipe H5N1, tetapi antibodi terhadap antigen AI sub tipe H5N1 belum terbentuk, sedangkan unggas yang tidak ditemukan virus flu burung sub tipe H5N1 tetapi hasil serologi menunjukkan adanya reaksi antibodi terhadap antigen flu burung sub tipe H5N1. Hal ini mengindikasikan bahwa unggas tersebut pernah terinfeksi virus flu burung. Kondisi yang perlu diwaspadai adalah apabila unggas teridentifikasi mengidap virus flu burung sub tipe H5N1 dan antibodi terhadap antigen flu burung sub tipe H5N1 bereaksi positif, maka keadaan ini akan menyebabkan *shedding* virus flu burung sub tipe H5N1 dalam jumlah tinggi, dan berisiko tinggi kemungkinan

terjadinya wabah flu burung sub tipe H5N1. Kasus flu burung sub tipe H5N1 pada manusia biasanya ditemukan bersamaan dengan wabah flu burung sub tipe H5N1 pada unggas. Adanya *shedding* virus flu burung sub tipe H5N1 dan terbentuknya antibodi flu burung sub tipe H5N1 yang ditemukan, memerlukan perhatian khusus terhadap bahaya yang ditimbulkan *shedding* virus flu burung sub tipe H5N1 yang tinggi. Situasi ini kemungkinan menjadi faktor risiko yang tinggi terhadap penularan virus flu burung sub tipe H5N1 ke lingkungan sekitar termasuk manusia.

Pasar unggas hidup menjadi suatu tempat yang memberikan peluang yang optimal terhadap penularan dan evolusi penyakit zoonosis karena menjadi tempat kontak utama antara manusia dan unggas hidup (Guan *et al.*, 2007; Webster, 2004). Bagian lingkungan yang sering terkontaminasi adalah proses penyembelihan unggas dan proses pemotongan karkas setelah penyembelihan unggas seperti pada penjualan dan pembuangan limbah. Kontaminasi ini dapat terjadi karena proses pemotongan menghasilkan limbah yang kemungkinan mengandung partikel virus dan pengeluaran organ dalam yang berpotensi mengandung virus dalam jumlah besar. Meskipun penyembelihan dilakukan di tempat terpisah, kontaminasi dapat terjadi pada proses penjualan dan pembuangan limbah melalui karkas dan pengeluaran organ dalam yang biasanya dilakukan di tempat penyembelihan unggas dan kios penjualan daging unggas (Indriani *et al.*, 2010). Keberadaan talenan yang digunakan pedagang daging di pasar merupakan salah satu faktor risiko penularan virus flu burung dari unggas ke manusia karena talenan biasanya digunakan sebagai alas untuk memotong daging dan pengeluaran organ dalam unggas ketika proses jual beli terjadi antara pedagang dan pembeli.

SIMPULAN

Virus flu burung sub tipe H5N1 dapat diidentifikasi dari unggas dan lingkungan di sekitar kasus flu burung pada manusia. Keberadaan virus flu burung sub tipe H5N1 menunjukkan korelasi dengan terbentuknya antibodi terhadap antigen flu burung sub tipe H5N1 pada unggas di sekitar kasus flu burung pada manusia. Sirkulasi virus flu burung sub tipe H5N1 pada unggas yang berada di

sekitar kasus flu burung pada manusia berperan dalam penularan virus flu burung dari unggas ke manusia baik secara langsung maupun tidak langsung.

SARAN

Strategi pengendalian penyebaran virus flu burung yang sudah menjadi program pemerintah selama ini sebaiknya harus secara nyata diterapkan di lapangan dalam rangka upaya untuk memotong mata rantai penyebaran virus AI dari unggas ke manusia. Selain itu, kerjasama yang baik antara masing-masing instansi yang berkaitan dengan kesehatan hewan dan manusia serta masyarakat harus selalu dibina dalam upaya pengendalian dan pemberantasan penyebaran virus flu burung dari unggas ke manusia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai dari APBN tahun 2011. Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya atas bantuan dan kerjasamanya kepada Nana Suryana, SE, Teguh Suyatno, Amd. serta laboran di Kelompok Penelitian Virologi, Balai Besar Penelitian Veteriner, Bogor, khususnya yang bekerja di penelitian flu burung sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Beare AS, Webster RG. 1991. Replication of avian influenza viruses in humans. *Arch Virol* 119: 37–42.
- Depkes. 2011. Laporan kasus flu burung. <http://www.depkes.go.id/index.php/berita/press-release/1721-laporan-kasus-flu-burung.html>.
- Dharmayanti, NLPI. 2009. Perubahan genom dan karakter virus avian influenza subtype H5N1 pada unggas di Indonesia. (Disertasi). Jakarta : Universitas Indonesia.
- Dharmayanti NLPI, Ibrahim F, Darminto, Soebandrio A. 2011. Influenza H5N1 virus of birds surrounding H5N1 human cases have specific characteristics on the matrix protein. *Hayati Journal of Biosciences*, 18 (2): 82- 90
- Easterday BC, Hinshaw VS, Halvorson DA. 1997. Influenza. Dalam : Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, McDougald LR, Saif YM, (eds.). *Diseases of Poultry*. Ames. Iowa State University Press. 583 – 605
- Fleck F. 2004. Avian flu virus could evolve into dangerous human pathogen, experts fear. *Bull WHO*. 82: 236–237.
- Guan Y, Shortridge KF, Krauss S, Webster RG. 1999. Molecular characterization of H9N2 influenza viruses: were they the donors of the “internal” genes of H5N1 viruses in Hong Kong?. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 9363 – 9367.
- Guan Y, Chen H, Li K, Riley S, Leung G, Webster R, Peiris, JSM, Yuen KY. 2007. A model to control the epidemic of H5N1 influenza at the source. *BMC Infect Dis*.7: 132. DOI: 10.1186/1471-2334-7-132
- Horimoto T, Kawaoka Y. 2001. Pandemic threat posed by avian influenza. *Clin Microbiol Rev*.14: 129–149.
- Indriani R, Dharmayanti NLPI, Syafriati T, Wiyono A, Adjid RMA. 2005. Pengembangan prototipe vaksin inaktif avian influenza H5N1 isolat lokal dan aplikasinya pada hewan coba di tingkat laboratorium. *JITV* 10 (4): 315–321.
- Indriani R, Samaan G, Gultom A, Loth L, Indryani S, Adjid RMA, Dharmayanti NLPI, Weaver J, Mumford E, Lokuge K, Kelly PM, Darminto. 2010. Environmental sampling for avian influenza virus A (H5N1) in live-bird markets, Indonesia. *Emerg Infect Dis* 16 (12) : 1889 – 1895.
- Ito T, Okazaki K, Kawaoka Y, Takada A, Webster RG, Kida H. 1995. Perpetuation of influenza A viruses in Alaskan waterfowl reservoirs. *Arch Virol* 140: 1163–1172.
- Kida H, Yanagawa R, Matsuoka Y. 1980. Duck influenza lacking evidence of disease signs and immune response. *Infect Immun* 30: 547–553.
- Kurtz J, Manvell RJ, Banks J. 1996. Avian influenza virus isolated from a woman with conjunctivitis. *Lancet* 348: 901–902.
- Lee MS, Chang PC, Shien JH, Cheng MC, Shieh HK. 2001. Identification and subtyping of avian influenza viruses by reverse transcription-PCR. *J Virol Methods* 97: 13–22.
- Lierz M, Hafez MH, Klopffleisch R, Luschow D, Prusas C, Teifke JP, Rudolf M, Grund C, Kalthoff D, Mettenleiter T, Beer M, Harder T. 2007. Protection and virus shedding of

- falcons vaccinated against highly pathogenic avian influenza A virus (H5N1). *Emerg Infect Dis* 13 (11): 1667-1674.
- Lombardi ME, Ladman BS, Alphin RL, Benson ER. 2008. Inactivation of avian influenza virus using common detergents and chemicals. *Avian dis* 52 (1): 118–123.
- Mounts AW, Kwong H, Izurieta HS, Ho YY, Au TK, Lee M, Bridges CB, Williams SW, Mak KH, Katz JM, Thompson WW, Cox NJ, Fukuda F. 1999. Case-control study of risk factors for avian influenza A (H5N1) disease, Hong Kong, 1997. *J Infect Dis* 180: 505-508.
- Office International des Epizooties (OIE). 2008. Manual of diagnostic test and vaccines for terrestrial animal. *World Organisation for Animal Health* 4: 258-269.
- Peiris M, Yam WC, Chan KH, Ghose P, Shortridge KF. 1999. Influenza A H9N2: aspects of laboratory diagnosis. *J Clin Microbiol* 37: 3426-3427.
- Shortridge KF, Gao P, Guan Y, Ito T, Kawaoka Y, Markwell D, Takada A, Webster RD. 2000. Interspecies transmission of influenza viruses: H5N1 virus and a Hong Kong SAR perspective. *Vet Microb* 74: 141-147.
- Taylor LH, Latham SM, Woolhouse ME. 2001. Risk factors for human disease emergence. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 356: 983–989.
- Webster RG, Yakhno MA, Hinshaw VS, Bean WJ, Murti KG. 1978. Intestinal influenza: replication and characterization of influenza viruses in ducks. *Virology* 84: 268–278.
- Webster RG, Kawaoka Y. 1988. Avian influenza. *Crit Rev Poult Biol* 1: 211 – 246.
- Webster RG. 2004. Wet markets—a continuing source of severe acute respiratory syndrome and influenza? *Lancet* 363: 234–236.
- WHO. Confirmed human cases of influenza A (H5N1). http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/country/cases_table_2004_03_10/en.
- WHO. Avian influenza A (H5N1)- update 31: situation (poultry) in Asia: need for a long-term response, comparison with previous outbreaks. 2004. http://www.who.int/csr/don/2003_02_27a/en.
- Woolhouse MEJ, Taylor LH, Haydon DT. 2001. Population biology of multi-host pathogens. *Science* 292: 1109–1112.
- Wright KE, Wilson GAR, Novosad D, Dimock C, Tan D, Weber JM. 1995. Typing and subtyping of influenza viruses in clinical samples by PCR. *J Clin Microbiol* 33: 1180-1184.