



**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI VIRUS AVIAN INFLUENZA SUBTIPE H5N1
DI PETERNAKAN TRADISIONAL KECAMATAN GUNUNGPATI SEMARANG**

***ISOLATION AND IDENTIFICATION OF AVIAN INFLUENZA VIRUS SUBTYPE H5N1
AT TRADITIONAL FARM IN GUNUNGPATI SEMARANG***

Angga Ari Wibowo, ✉R. Susanti, Farikhul Ulum, Nugrahaningsih W.H.

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang,
Indonesia

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Diterima April 2012
Disetujui Juni 2012
Dipublikasikan September
2012

Keywords:

*Avian influenza; RT-PCR;
traditional farm; virus*

Abstrak

Avian Influenza (AI) atau yang lebih dikenal dengan flu burung disebabkan oleh virus influenza yang bermutasi menjadi patogen. Penelitian tentang isolasi dan identifikasi virus AI sub tipe H5N1 perlu dilakukan untuk mengetahui keberadaan virus tersebut khususnya di kecamatan Gunungpati. Desain penelitian adalah eks ploratif dengan pengumpulan sampel usap kloaka secara acak di lima kelurahan di kecamatan Gunungpati. Sampel usap kloaka ditumbuhkan pada telur ayam berembrio SPF, kemudian diisolasi RNA-nya dilanjutkan dengan identifikasi sub tipe virus AI menggunakan Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) dengan primer pendeteksi gen H5 dan N1. Hasil positif apabila visualisasi hasil elektroforesis dari produk PCR menunjukkan pita-pita spesifik panjang 219 bp untuk H5 dan 131 bp untuk gen N1-nya. Limapuluh sampel usap kloaka yang diisolasi dari lima kelurahan di Gunungpati, delapan isolat positif VAI dan enam diantaranya positif H5N1 dengan angka prevalensi 12%. Isolat positif berasal dari 2 spesies itik (16,67%), 2 dari entok (11,76%) dan 2 dari angsa (18,18%). Dari lima kelurahan yang diambil sampelnya, tiga kelurahan ditemukan positif virus H5N1 masing-masing kelurahan Sekaran (6,67%), Kalisegoro (16,67%) dan Pakintelan (15,78%). Unggas-unggas air di peternakan unggas tradisional berpotensi sebagai penularan virus AI, khususnya sub tipe H5N1.

Abstract

Avian Influenza (AI) or better known as bird flu is caused by influenza viruses that mutate into a pathogen. Research on the isolation and the identification of H5N1 subtype needed to be carried out to determine the presence of the virus, particularly in the subdistrict of Gunungpati. The study design was explorative by collecting cloacal swab samples randomly from five villages in Gunungpati. The cloacal swab samples were cultured in embryonated SPF chicken eggs, then the RNA was isolated and followed by the identification of AI virus subtype using Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) with H5 and N1 gene detecting primers. A positive result is obtained if the visualization of the electrophoresis of PCR products showed bands with specific length of 219 bp for H5 gene and 131 bp for N1 gene. Fifty cloacal swab samples were isolated from five villages in Gunungpati, and eight of them were positive isolates and six of them were H5N1 positive with the prevalence rate of 12%. The positive isolates were derived from two species of duck (16,67%), 2 from wild duck (11,76%) and 2 from geese (18,18%). Of the five sampled villages, three villages were found to be H5N1 positive, i.e. Sekaran village (6,67%), Kalisegoro village (16,67%) and Pakintelan village (15,78%). Water birds in traditional poultry farming were considered potential as the transmitters of AI virus, particularly of H5N1 subtype.

© 2012 Universitas Negeri Semarang

✉ Alamat korespondensi:

FMIPA UNNES Gd D6 Lt 1 Jln. Raya Sekaran- Gunungpati- Semarang 50229
Telp./Fax. (024) 8508033; E-mail: rsant_ti@yahoo.com

ISSN 2085-191X

PENDAHULUAN

Avian Influenza (AI) adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh virus influenza tipe A. Virus influenza A, termasuk famili Orthomyxoviridae, mempunyai material genetik berupa RNA berpolaritas negatif, dengan diameter 120 nm dan strukturnya berfilamen. Selain tipe A, virus influenza juga memiliki 2 tipe lain yaitu B dan C. Tipe A menyerang unggas dan manusia, tipe B hanya menyerang manusia dan tipe C menyerang babi dan manusia. Tipe A mudah bermutasi dan sangat patogen, sedang influenza B dan C hanya dapat menimbulkan sakit ringan dan tidak menyebabkan epidemik.

Virus influenza tipe A secara natural dapat menginfeksi unggas dan manusia. Virus ini dibagi menjadi berbagai subtipe berdasar analisis serologis dan genetik hemaglutinin (HA) dan neuroamidase (NA). Sampai saat ini ada 16 subtipe HA (H1-H16) dan 9 subtipe NA (N1-N9) (Russel & Webster, 2005). Semua subtipe HA dan NA ditemukan pada unggas air, dan hanya 3 subtipe HA (H1-H3) dan 2 subtipe NA (N1 dan N2) pada manusia (Hoffman *et al.*, 2001). Dilaporkan bahwa subtipe H5 dan H7 yang sangat virulen pada unggas dan berpotensi sebagai penyebab pandemik (Russel & Webster, 2005).

Unggas air merupakan hospes alami dari virus AI. Hewan tersebut merupakan hewan produktif karena dapat menghasilkan uang apabila dipelihara atau ditenakkan (Arsyad, 2008). Selain unggas air, ayam merupakan hewan yang juga banyak ditenakkan. Spesies unggas ini yang paling rentan terhadap patologi virus AI, hingga menyebabkan banyak kematian. Virus H5N1 sangat patogen pada ayam dan manusia. Sementara kasus klinis dan kematian pada unggas air (itik, entok dan angsa) tidak tampak secara signifikan. Salah satu reservoir yang patut diperhitungkan adalah peran unggas air sebagai sumber penularan virus AI (Hulse-Post *et al.*, 2005).

Sejak tahun 1959 sampai akhir tahun 2003, dilaporkan hanya terjadi 24 wabah virus influenza pada ternak unggas di seluruh dunia. Kebanyakan wabah tersebut terbatas secara geografis pada daerah tertentu, dan ti-

dad satupun dari wabah-wabah tersebut angkanya mendekati wabah H5N1 di Asia tahun 2004. Pertengahan Desember 2003 sampai awal Februari 2004, wabah yang disebabkan oleh virus HPAI H5N1 garis Asia dilaporkan telah menyerang unggas di Korea Selatan, Vietnam, Jepang, Thailand, Kamboja, Laos, Indonesia dan Cina (Maines *et al.*, 2005; OIE, 2005). Tahun 2004 sampai akhir tahun 2009, wabah VAI H5N1 berjumlah 468 kasus dengan angka kematian 282 orang. Kasus di Indonesia menempati urutan tertinggi di dunia yaitu 162 kasus dengan kematian berjumlah 134 orang (WHO, 2010). Tujuan dari penelitian ini adalah mengisolasi dan mengidentifikasi virus avian influenza subtipe H5N1 di peternakan tradisional kecamatan Gunungpati.

METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kesehatan Masyarakat dan Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Sampel yang diambil berasal dari 5 kelurahan di Kecamatan Gunungpati secara *purposive sampling* dengan waktu penelitian selama 6 bulan. Pengambilan Sampel adalah wilayah Kecamatan Gunungpati, yaitu di desa Kalisegoro, Ngijo, Pakintelan, Patemon, dan Sekaran, dilakukan secara acak dengan mengusap *cottonswab* pada bagian dalam kloaka unggas sedalam ± 2 cm. Hasil olesan *cottonswab* dimasukkan ke dalam tabung *tube* 1,5 ml yang berisi media transport PBS gliserol. Sampel diberi label, lalu disimpan dalam freezer supaya virus tetap hidup.

Propagasi virus pada telur ayam berembrio SPF (*Specific Pathogen Free*), dilakukan dengan cara: sampel usap kloaka ditumbuhkan pada telur ayam yang berembrio SPF umur 9 hari. Setiap 1 - 4 sampel usap kloaka dipolling berdasar jenis dan pemilik unggas. Inokulum dibuat dengan mencampur sampel usap kloaka dengan media PBS 10 μ l dengan kandungan 2×10^6 U/L penisilin dan 200 mg/L streptomisin. Inokulum diinokulasikan pada ruang alantois TAB SPF setelah 3 menit inkubasi. Setelah inokulasi, telur diinkubasi suhu 37 °C, dan diamati setiap hari selama 4 hari, hingga di hari ke-4

dipanen semua alantoisnya. Telur yang embrionya rusak atau mati sebelum 4 hari dan embrio yang hidup sampai 4 hari diuji cairan alantoisnya menggunakan sel darah merah (SDM) dengan uji hemaglutinasi (HA).

Uji Hemaglutinasi (HA), ada 2 jenis, yaitu uji HA cepat dan lambat. Uji HA cepat dilakukan dengan mencampur masing-masing 100 µl alantois telur dengan 200 µl media 5% Sel Darah Merah (SDM) ayam. Hasil positif ditunjukkan adanya penggumpalan darah untuk selanjutnya diuji dengan uji HA lambat untuk mengetahui titer HA virus. Uji HA lambat dilakukan dengan menggunakan alat *microplate U buttom* (Nunc) sesuai dengan standar yang berlaku. Mikroplate diisi dengan 25 µl PBS pH 7,2 pada sumur ke- 1-12. Cairan alantois diambil dari telur sebanyak 25 µl, dimasukkan ke dalam sumur sesuai nomor sampel uji. Cairan alantois diencerkan bertingkat kelipatan dua dengan PBS, kemudian ditambahkan 25 µl suspensi SDM ayam 0,5% ke dalam seluruh sumur. Tahap terakhir dilakukan pengocokan *microplate* dengan menggoyang-goyangkannya, lalu diinkubasi pada suhu ruang sekitar 30 menit. Pembacaan sampel uji dapat dilakukan jika SDM sumur kontrol telah teraglutinasi di dasar sumur. Sampel dinyatakan positif apabila SDM pada sumur sampel mengalami aglutinasi. Titer HA dihitung berdasarkan pengenceran tertinggi alantois yang dapat mengaglutinasi SDM.

Isolasi RNA dilakukan dengan meng-

gunakan Trizol® LS Reagent (Invitrogen) sesuai petunjuk. Sebanyak 250 µl cairan alantois dan 750 µl Trizol dimasukkan ke dalam tabung 1,5 ml, dicampur hingga homogen. Setelah inkubasi 5 menit pada suhu kamar/ruang, ditambahkan 200 µl kloroform, dikocok dan diinkubasi kembali selama 10 menit. Lalu disentrifus dengan kecepatan 12000 g selama 15 menit pada suhu 4 °C. Supernatan diambil dan dimasukkan ke tabung 1,5 ml yang baru. Ditambahkan isopropanol 500 µl lalu dihomogenisasi. Setelah diinkubasi 10 menit suhu kamar, larutan disentrifus 12000 g, 4 °C selama 15 menit. Kali ini supernatan yang dibuang menyisakan pelet. Endapan pelet dicuci dengan 1000 µl etanol 70% (dalam H₂O dietylpirocarbonat). Larutan divorteks selama beberapa menit, kemudian disentrifus 12000g, 4 °C selama 20 menit. Supernatan dibuang, pelet RNA dikeringkan pada suhu ruang selama 15 – 20 menit. Setelah kering, disuspensi kembali dengan 30 µl H₂O bebas nuklease (*ultrapure* H₂O). Larutan RNA disimpan pada suhu -20 °C sebagai stok RNA hingga dilakukan langkah berikutnya.

Identifikasi Subtipe VAI dilakukan dengan menggunakan RT-PCR (*Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction*). *Reverse transcription* adalah pembuatan copy DNA (cDNA) yang sifatnya komplementer dengan RNA virus, dengan enzim reverse transcriptase. PCR adalah metode alternatif untuk mengidentifikasi virus AI, walaupun genom virus hanya berjumlah sedikit (Payun-

Tabel 1. Sekuen basa primer untuk mengamplifikasi gen H5 dan N1 serta besaran produk yang diharapkan.

| Primer | Sekuen Basa | Fragmen Gen | Produk (bp) |
|----------------|--|---------------------------|-------------|
| 1 ^a | H5-1 : 5'GCCATTCCA- CAACATACACCC'3 H5-3 : 5'CTCCCCTGCT- CATTGCTATG'3 | H5 (basa 915- 1133) | 219 |
| 2 ^b | CU-N1F : 5'GTTT- GAGTCTGTTGCTTG- GTC'3 CU-N1R 5'TGATAGT- GTCTGTTATTATGCC'3 | N1 (basa 479- 609) | 131 |

Keterangan: ^aWHO (2005); ^bPayungporn *et al.* (2004)

gporn *et al.*, 2004; OIE, 2005). RT-PCR dilakukan dengan menggunakan SuperscriptTM III One-Step RT-PCR sistem untuk isolat yang positif uji haemaglutinasi. Reaksi PCR dibuat sebanyak 20 µl dengan komposisi 10 µl 2x reaction mix, 1 µl primer forward (10 µM), 1 µl primer reverse (10 µM), 0,5 µl Superscript III RT/Platinum Taq Mix, 2 µl sampel RNA dan ultrapure H₂O 5,5 µl (sampai volume 20 µl). Primer yang digunakan untuk mengamplifikasi gen H5 dan N1. Program RT-PCR adalah reverse transcription 45 °C selama 60 menit, predenaturasi 95 °C selama 5 menit, siklus terdiri dari denaturasi 95 °C 30 detik, annealing 55 °C 30 detik, ekstensi 72 °C 40 detik sebanyak 35 siklus, post ekstensi 72 °C selama 10 menit (Payungporn *et al.*, 2004). Untuk identifikasi subtipe virus, setiap isolat diamplifikasi dengan primer H5 dan N1 seperti terlihat pada Tabel 1.

DNA hasil RT-PCR yang diperoleh, kemudian dianalisis dengan teknik elektroforesis menggunakan ultrapureTM agarose (invitrogen) 2%. Sebanyak 1,4 g agarose dilarutkan ke dalam 70 ml TBE (*Tris Buffer EDTA*) satu kali, kemudian dipanaskan dalam *microwave* sampai larutan menjadi jernih. Setelah didinginkan pada suhu kamar sampai hangat-hangat kuku, kemudian dimasukkan 3 µl ethidium bromide (10mg/ml; invitrogen) dan dicampur sampai homogen. Larutan agarose kemudian dituang ke dalam cetakan gel yang telah dipasang sisir, dan dibiarkan sampai membeku. Setelah membeku, gel dimasukkan dalam bak elektroforesis (Mupid-x, Japan) yang telah diisi larutan buffer TBE satu kali sampai gel terendam. Sebanyak 10 µl produk PCR dicampur dengan 2 µl loading dye (Sigma) kemudian dimasukkan ke dalam sumur-sumur pada gel. *Running* dilakukan pada 100 volt selama 35 menit. Setelah *running* selesai, keberadaan pita-pita DNA produk PCR diamati di atas UV transiluminator (Vilber Lourmart, France). Hasil yang positif ditunjukkan adanya pita spesifik berwarna jingga pada gel agarose (Payungporn *et al.*, 2004).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang dikumpulkan dalam pen-

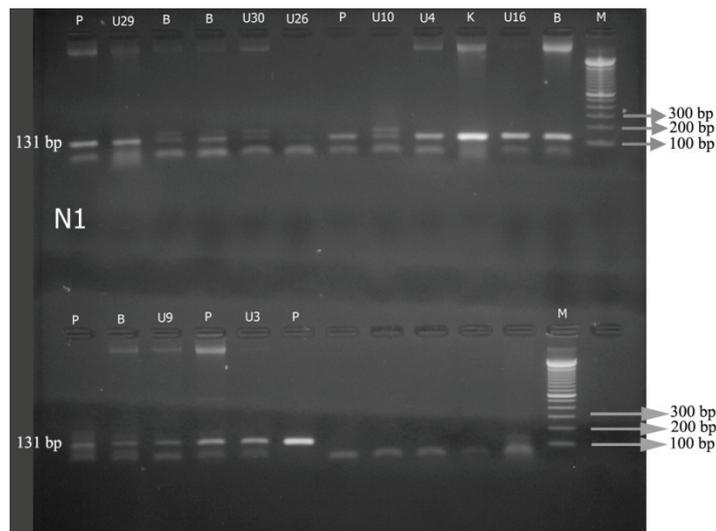
elitian ini adalah sebanyak 50 sampel usap kloaka unggas (ayam, itik, entok, dan angsa) diambil dari peternak tradisional di lima kelurahan yaitu kelurahan Sekaran, Patemon, Kalisegoro, Ngijo dan Pakintelan. Setiap peternak diambil sampel rata-rata 2-4 ekor pada satu jenis unggas, sesuai dengan jenis unggas yang dimiliki peternak. Sampel usap kloaka berdasar jenis unggas di kecamatan Gunungpati terdiri dari 10 ekor ayam, 12 ekor itik, 17 ekor entok dan 11 ekor angsa. Kemudian dilakukan *polling* sesuai dengan jenis unggas dan pemilik ternak menjadi 30 sampel.

Sebanyak 8 isolat positif uji HA. Angka titer HA menunjukkan selang antara 2⁸-2¹¹. Titer HA 2⁸ sudah tergolong tinggi (Natih *et al.*, 2010). Titer HA ini prinsipnya mengaglutinasi sel darah merah sehingga pada sumur terlihat titik-titik merah. Titer HA adalah pengenceran tertinggi yang masih memperlihatkan aglutinasi sempurna. Uji HA merupakan suatu uji untuk mengetahui keberadaan antigen virus yang dapat mengaglutinasi SDM (Sel Darah Merah). Berdasar hasil penelitian menunjukkan bahwa titer HA virus cukup tinggi sebesar lebih dari 2⁸ (Natih *et al.*, 2010). Untuk dapat mengaglutinasi sempurna diperlukan sekitar 10⁷ unit virus. Titer HA pada penelitian ini adalah 2⁸-2¹⁰ yang dapat dikatakan cukup tinggi (Tabel 2). Uji HA digunakan untuk menghitung kandungan virus yang telah mati (tidak infeksi) dan yang masih hidup (infeksi). Untuk menghitung jumlah virus infeksi digunakan uji EID₅₀ (*Egg Infectious Dose*₅₀), tetapi di penelitian ini tidak dilanjutkan ke uji tersebut.

Identifikasi subtipe virus AI H5N1 dengan RT-PCR menggunakan primer spesifik yaitu untuk deteksi gen H5 dan N1 virus. Pita-pita cDNA yang didapat kemudian divisualisasikan pada elektroforegram. RNA virus direaksi balik menjadi cDNA. *Running* elektroforesis dilakukan dua kali, yaitu untuk H5 dan N1. Pita-pita tersebut akan melewati gel agarose yang berpori bergerak dari kutub negatif menuju kutub positif dari alat elektroforesis. Ukuran pita yang diharapkan adalah spesifik berukuran 219 bp untuk gen H5-nya (Gambar 1), dan 131 bp untuk gen



Gambar 1. Elektroforegram isolat berdasarkan gen H5. M: marker. K: Kontrol (+). Kode U3, U4, U10, U16, U26, U29: sampel positif H5. Kode U1, U2, U5-U9, U11-U15, U17-U25, U27, U28, U30: sampel negatif H5. Kode P & B: isolat diluar kecamatan Gunungpati (bukan termasuk hasil penelitian ini).



Gambar 2. Elektroforegram isolat berdasarkan gen N1. M: marker. K: Kontrol (+). Kode U3, U4, U9, U10, U16, U26, U29, U30: sampel positif N1. Kode U1, U2, U5-U8, U11-U15, U17-U25, U27, U28: sampel negatif N1. Kode P & B: isolat diluar kecamatan Gunungpati (bukan termasuk hasil penelitian ini).

N1-nya (Gambar 2).

Genom virus AI adalah *single-strand RNA* sehingga pada reaksi PCR dibutuhkan sintesa sebuah *DNA copy* (cDNA) yang berkomplementar dengan RNA virus. PCR (*Polymerase Chain Reaction*) adalah teknik yang mempunyai banyak kelebihan dalam men-

gidentifikasi genom, termasuk dalam hal ini genom VAI, ketika virus tidak dalam jumlah yang banyak. RT (*Reverse Transcriptase*) adalah enzim polimerase yang digunakan untuk mensintesa cDNA, sehingga reaksinya disebut RT-PCR. Metode RT-PCR sudah banyak digunakan untuk mendiagnosa adanya virus

Tabel 2. Isolat positif virus AI subtipe H5N1 di peternakan tradisional kecamatan Gunungpati Semarang.

| No. | Inokulum | Jenis | Asal | Titer HA | H5 | N1 | Subtipe |
|-----|----------|-------|------------|-----------------|----|----|---------|
| 1. | U3 | Entok | Sekaran | 2 ¹¹ | + | + | H5N1 |
| 2. | U4 | Itik | Kalisegoro | 2 ¹¹ | + | + | H5N1 |
| 3. | U9 | Ayam | Kalisegoro | 2 ¹⁰ | - | + | HxN1 |
| 4. | U10 | Angsa | Kalisegoro | 2 ⁹ | + | + | H5N1 |
| 5. | U16 | Angsa | Pakintelan | 2 ⁹ | + | + | H5N1 |
| 6. | U26 | Itik | Pakintelan | 2 ⁸ | + | + | H5N1 |
| 7. | U29 | Entok | Pakintelan | 2 ¹¹ | + | + | H5N1 |
| 8. | U30 | Entok | Patemon | 2 ¹¹ | - | + | HxN1 |

avian influenza, biasanya metode ini akan dilanjutkan dengan *sequencing* DNA untuk melihat lebih jauh tentang karakter molekuler virus ini, seperti mutasi virus, hubungan kekerabatan dan untuk rekayasa genetik lainnya (Dharmayanti *et al.*, 2004).

Hasil identifikasi yang terlihat pada elek troforegram menunjukkan sensitifitas dari primer spesifik pendeteksi virus VAI subtipe H5N1 terbukti berhasil. Elektroforegram menunjukkan bahwa 6 isolat (U3, U4, U10, U16, U26, dan U29) positif H5N1 (Gambar 1 & 2) dengan titer HA 10⁹-10¹¹ (Tabel 2). Keenam isolat H5N1 berasal dari kelurahan Sekaran (1 isolat), Kalisegoro (2 isolat), Pakintelan (3 isolat). Selain keenam sampel tersebut, 2 sampel positif N1 tetapi negatif untuk H5, sehingga subtipenya adalah HxN1 yaitu masing-masing U9 dan U30. Kedua isolate positif H5N1 berasal dari entok (2 isolat), itik (2 isolat), dan angsa (2 isolat). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari total sampel (50) usap kloaka, 6 positif VAI H5N1 dengan prevalensi 12%, dan 2 positif HxN1 (4%). Hasil ini juga menunjukkan bahwa semua unggas yang positif VAI H5N1 adalah unggas air yaitu 2 isolat dari entok (11,76%), 2 isolat dari itik (16,67%), dan 2 isolat dari angsa (18,18%).

Pada Gambar 1 dan 2, untuk 6 isolat positif terlihat pita spesifik yang diinginkan. Untuk 2 sampel yang negatif H5 tetapi positif untuk primer N1 berarti subtipe VAI tersebut HxN1, dengan (x) adalah subtipe H lain (H1-H16 selain H5).

Sebanyak 50 isolat sampel yang be-

rasal dari kecamatan Gunungpati menunjukkan 6 isolat positif virus H5N1. Isolat positif H5N1 semuanya berasal dari unggas air dari Sekaran, Kalisegoro, Patemon dan Pakintelan. Pada penelitian ini, isolat yang menunjukkan positif H5N1 berasal dari entok (11,76%), itik (16,67%), dan angsa (18,18%). Unggas air yang dikenal sebagai inang alami memungkinkan virus untuk menginfeksi, tanpa ada gejala yang membahayakan bagi inangnya. Peluang untuk virus beradaptasi juga memperbesar untuk menginfeksi inangnya (Strum *et al.*, 2005). Data penelitian ini, perlu ditindak lanjuti dengan menyampaikan atau melaporkan ke Dinas Peternakan terkait agar dilakukan pemeriksaan lebih rinci sebagai tindak lanjut untuk pencegahan dan penanggulangan VAI H5N1.

Penelitian sebelumnya oleh Susanti (2008), menyebutkan bahwa prevalensi unggas air di dua kabupaten di Jawa Barat juga tergolong tinggi. Angka prevalensi pada unggas air (itik 4,04%, entok 4,85%, angsa 6,67%) ini didapatkan dari peternak tradisional di Kabupaten Sukabumi dan Bogor. Penelitian dari pasar Nanchang, China tahun 2000 menunjukkan angka prevalensi pada itik hanya sebesar 1,3% (Liu *et al.*, 2003). Bahkan prevalensi VAI subtipe H5 pada unggas air di Minesota, Amerika Serikat cukup rendah, yaitu hanya sebesar 0,4% (Hanson *et al.*, 2003). Berdasar penelitian-penelitian tersebut, terlihat bahwa untuk spesies angsa memiliki resiko infeksi yang relatif tinggi.

Sistem beternak dengan mengumbar ternak secara bebas (*backyard*) di Thailand

dapat memberikan angka prevalensi hingga sebesar 56% untuk unggas yang terinfeksi VAI, walaupun infeksi tersebut tanpa menunjukkan gejala dari luar (Songserm, 2006). Pola beternak secara tradisional di Kecamatan Gunungpati menyebabkan masyarakat memiliki resiko baik menguntungkan ataupun merugikan masyarakat sendiri dibanding pada pola peternakan intensif. Masyarakat kebanyakan memelihara unggas dengan tujuan menambah ekonomi rumah tangga. Diuntungkan lagi dengan mudahnya pemeliharaan unggas karena tanpa dirawat dengan intensif pun unggas tersebut masih dapat hidup dan mencari makanannya sendiri serta masih terlihat sehat. Di samping keuntungan, tentu saja ada juga kerugiannya, yaitu rentan terhadap penyakit.

Sejak ditemukan kasus yang muncul pada warga Semarang, pemerintah kota Semarang tak henti-hentinya melakukan himbauan agar warga mau dan ikut andil dalam hal tanggap flu burung. Pemerintah juga melakukan pemusnahan terhadap unggas yang berada di sekitar rumah warga yang positif AI. Pemusnahan tersebut tentunya akan merugikan bagi peternak karena kemungkinan peternak mendapatkan ganti rugi yang tidak layak atau bahkan mengikhlaskan unggasnya tanpa adanya biaya ganti rugi.

Selama ini penanggulangan kasus VAI di Indonesia khususnya di Semarang bersifat pengobatan. Daerah-daerah yang belum terdeteksi kasus, masyarakat acuh tak acuh terhadap penyakit ini, padahal VAI sudah menjadi penyakit endemik di Indonesia. Pemerintah pun baru bertindak setelah terjadi kasus di wilayah tertentu, dengan hanya memusnahkan unggas yang diduga akan tertular unggas yang telah terinfeksi. Tentu saja hal ini sangat merugikan masyarakat bahkan pemerintah sendiri. Kehilangan penghasilan yang tidak sedikit tentunya telah dialami para peternak tradisional, sehingga perlunya tindakan penanggulangan yang tepat baik dari pemerintah maupun peternak sendiri.

Anjuran oleh FAO (2005) yaitu dengan perkandangan yang tertutup, sehingga unggas akan selalu berada dalam kandang tersebut dan tetap terlindung. Kontak antara unggas ternak dengan unggas terinfeksi dan

lingkungan yang terkontaminasi lebih kecil dibanding dengan kandang terbuka. Pembuatan kandang tertutup ini memerlukan biaya yang sedikit mahal dan memerlukan perawatan ekstra. Solusi yang praktis adalah dengan kandang tertutup (untuk malam hari), pelataran yang berpagar dan pangaan kolam di dalamnya (untuk siang hari).

SIMPULAN

Hasil isolasi dan identifikasi dari 50 sampel usap kloaka asal unggas di Kecamatan Gunungpati, menunjukkan 6 isolat positif VAI subtipe H5N1 (12%), 2 isolat berasal dari entok (11,76%), 2 dari angsa (18,18%), dan 2 dari itik (12,67%). Unggas-unggas air di peternakan unggas tradisional berpotensi sebagai penularan VAI, khususnya subtipe H5N1.

DAFTAR PUSTAKA

- Arsyad, A. M. (2008). *Hubungan Pengetahuan Tentang Flu Burung dengan Sikap Masyarakat yang Memelihara Unggas di Wilayah Mojogedang*. Skripsi. Surakarta: Fakultas ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Dharmayanti, R., Damayanti, A., Wiyono, R., Indriani & Darminto. (2004). Identifikasi Virus Avian Influenza Isolat Indonesia dengan Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR). *JITV*, 9(2), 136-143.
- [FAO] Food and Agriculture Organization. (2005). Pencegahan dan Pengendalian Flu Burung (Avian Influenza) pada Peternakan Unggas Skala Kecil. Buku Petunjuk bagi Paramedik Veteriner (Online). Retrieved from <http://www.fao.org/>.
- Hanson, B. A., Stallknecht, D. E., Swayne, D. E., Lewis, L. A. & Senne, D. A. (2003). Avian Influenza in Minnesota ducks during 1998-2000. *Avian Dis*, 47, 867-871.
- Hoffman, E., Stech, J., Guan, Y., Webster, R. G. & Perez, D. R. (2001). Universal primer set for the full-length amplification of all influenza A viruses. *Arch Vi-*

- rol*, 146, 2275-2289.
- Hulse-Post, D. J., Sturm-Ramirez, K. M., Humberd, J., Seiler, P., Govorkova, E. A., Krauss, S., Scholtissek, C., Puthavathana, P., Buranathai, C., Nguyen, T. D., Long, H. T., Naipospos, T. S. P., Chen, H., Ellis, T. M., Guan, Y., Peiris, J. S. M. & Webster, R. G. (2005). Role of domestic ducks in the propagation and biological evolution of highly pathogenic H5N1 influenza viruses in Asia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102, 10682-10687.
- Liu, M., Guan, Y., Peiris, M., He, S., Webby, R. J., Perez, D. & Webster, R. G. (2003). The quest of influenza A virus for new host. *Avian Dis*, 47, 849-856.
- Maines, T. R., Lu, X. H., Erb, S. M., Edwards, L., Guarner, J., Greer, P. W., Nguyen, D. C., Szretter, K. J., Chen, L. M., Thawatsupha, P., Chittaganpitch, M., Waicharoen, S., Nguyen, D. T., Nguyen, T., Nguyen, H. H. T., Kim, J. H., Hoang, L. T., Kang, C., Phuong, L. S., Lim, W., Zaki, S., Donis, R. O., Cox, N. J., Katz, J. M. & Tumpey, T. M. (2005). Avian influenza (H5N1) viruses isolated from human in Asia 2004 exhibit increased virulence in mammals. *J Virol*, 79, 11788-11800.
- Natih, K. K. N., Retno, D., Soejoedono, Wayan, T. W. & Fachriyan, H. P. (2010). Preparasi Imunoglobulin G Kelinci sebagai Antigen Penginduksi Antibodi Spesifik Terhadap Virus Avian Influenza H5N1 Strain Legok. *Jurnal Veteriner*, 11(2), 99-106.
- [OIE] Office international des Epizooties. (2005). Update on avian influenza viruses, including highly pathogenic H5N1 from poultry in live bird market in Hanoi, Vietnam in 2001. *J Virol*, 79, 4201-4212.
- Payungporn, S., Phakdeewirot, P., Chu-tinimitkul, S., Theamboonlers, A., Keawcharoen, J., Oraveerakul, K., Amonsin, A. & Poovorawan, Y. (2004). Single-step multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) for influenza A virus subtype H5N1 detection. *Viral Immunol*, 17, 588-593.
- Russell, C. J. & Webster, R. G. (2005). The genesis of a pandemic influenza virus. *Cell*, 123, 368-371.
- Songserm, T., Jam-on, R., Sae-Heng, N., Meemak, N., Hulse-Post, D. J., Sturm-Ramirez, K. M. & Webster, R. G. (2006). Domestic ducks and H5N1 influenza epidemic in Thailand. *Emerg Infect Dis*, 12, 575-581.
- Sturm-Ramirez, K. M., Ellis, T., Bousfield, B., Bissett, L., Dyrting, K., Rehg, J. E., Poon, L., Guan, Y., Peiris, M. & Webster, R. G. (2005). Reemerging H5N1 influenza viruses in Hong Kong in 2002 are highly pathogenic to ducks. *J Virol*, 78, 4892-4901.
- Susanti, R., Soejoedono, R. D., Mahardika, I. G. N. K., Wibawan, I. W. T. & Suhartono, M. T. (2008). Isolasi dan identifikasi virus avian influenza sub tipe H5N1 pada unggas air sehat di peternakan skala rumah tangga (*backyard*) di Jawa Barat. *Media Kedokteran Hewan*, 3, 139-146.
- WHO. (2010). Cumulative Number of Confirmed Human Cases of Avian Influenza A/(H5N1) (Online). Retrieved from http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/country. May 10, 2010.