



Isolasi dan Identifikasi Virus *Avian Influenza* Subtipe H_5N_1 pada Unggas di Pasar Tradisional Semarang

Isolation and Identification Avian Influenza Virus Subtype H_5N_1 on Fowl in Semarang Traditional Market

✉ Farikhul Ulum, R. Susanti, Siti Harnina Bintari

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

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Diterima Juli 2013
Disetujui Agustus 2013
Dipublikasikan September 2013

Keywords:

AIV H_5N_1 identification, isolation, Semarang Traditional market

Abstrak

Meningkatnya kasus infeksi virus *Avian Influenza* (AI) subtipe H_5N_1 atau lebih dikenal dengan flu burung yang menyebabkan kematian pada manusia sangat dikhawatirkan dapat menular dari manusia ke manusia. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat virus *Avian Influenza* subtipe H_5N_1 pada unggas yang diperjualbelikan di pasar tradisional di Semarang. Sebanyak 55 sampel usap kloaka diambil dari unggas sehat dan belum divaksin di 6 pasar tradisional Kota Semarang. Inokulum ditumbuhkan pada telur ayam berembrio *specific pathogen free* (TAB-SPF) umur sembilan hari. Kemudian telur diinkubasikan selama 4 hari. Cairan alantois dipanen dan diuji kemampuannya mengaglutinasi sel darah merah. Cairan alantois yang menunjukkan aktivitas hemaglutinasi, selanjutnya diekstraksi RNA-nya dan diidentifikasi VAI subtipe H_5N_1 dengan metode *Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) menggunakan primer spesifik H_5 dan primer N_1 . Kemudian DNA hasil RT-PCR dianalisis dengan teknik elektroforesis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat 4 isolat positif VAI subtipe H_5N_1 dengan sebaran 2 isolat dari sampel yang berasal dari pasar Mangkang, 1 isolat dari pasar Rejomulyo dan 1 isolat dari pasar Karimata. Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa unggas yang diperjualbelikan di pasar tradisional di Kota Semarang ada yang terinfeksi VAI subtipe H_5N_1 .

Abstract

The increasing cases of viral infection of Avian Influenza (AI) H_5N_1 subtype or more commonly known as bird flu that causes death in humans very feared to spread from human to human. The aim of this research was to obtain isolates of Avian Influenza virus (AIV) subtype H_5N_1 that marketable in traditional markets in Semarang. A total of 55 cloacal swab samples taken from healthy and unvaccinated fowl in the 6 traditional market in Semarang. Inoculum was grown in embryonated chicken eggs specific pathogen free (SPF TAB) nine days. Then the eggs were incubated for 4 days. Allantoic fluids were harvested and tested for their ability to agglutinate red blood cells. Allantoic fluid that showed hemagglutination activity, further their RNA was extracted and AIV subtype H_5N_1 identified with Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) method using specific primers primary H_5 and N_1 . Then the results of RT-PCR were analyzed by electrophoresis technique. The results showed that there are 4 positive isolates with the distribution of the H_5N_1 subtype AIV 2 isolates samples derived from market Mangkang, 1 isolate from market Rejomulyo and 1 isolate from market Karimata. Based on the results of research and discussion, it can be concluded that the fowl that marketable in traditional markets in Semarang there were AIV infected with subtype H_5N_1 .

PENDAHULUAN

Beberapa tahun terakhir ini perhatian dunia kesehatan terpusat pada semakin merebaknya penularan berbagai macam virus influenza, salah satunya adalah virus avian influenza (VAI) subtipe H_5N_1 atau lebih dikenal dengan flu burung. Tahun 1997 dunia dikejutkan oleh wabah virus *high pathogenic avian influenza* (HPAI) subtipe H_5N_1 di Hongkong yang menyerang unggas dan menular pada manusia sehingga mengakibatkan 6 orang meninggal dunia (Damayanti *et al.* 2004). Pada tahun 2003, flu burung mulai ditemukan di wilayah Asia Tenggara seperti Thailand, Kamboja, Vietnam dan negara lainnya termasuk Indonesia. Hingga tanggal 30 Maret 2010, telah tercatat kasus yang ada di seluruh belahan dunia sebanyak 492 kasus dengan 291 kematian pada manusia yang disebabkan virus ini dan Indonesia menempati posisi teratas dengan 163 kasus yang menyebabkan 135 kematian (WHO 2010).

Meningkatnya kasus infeksi VAI subtipe H_5N_1 yang menyebabkan kematian pada manusia sangat dikhawatirkan dapat berkembang menjadi wabah pandemi (Radji 2006). Walaupun hingga sekarang belum pernah ditemukan adanya penularan VAI dari manusia ke manusia, namun pencegahan dan pengendalian perlu dilakukan mengingat VAI memungkinkan dapat bermutasi sehingga mampu menular dari manusia ke manusia (WHO 2008). Lebih dari satu abad yang lalu, beberapa subtipe virus influenza A menyerang manusia dan menyebabkan pandemi sehingga kewaspadaan global terhadap wabah pandemi *avian influenza* perlu mendapatkan perhatian serius dari berbagai kalangan masyarakat dan pemerintah (Radji 2006).

Selain mengakibatkan korban jiwa, wabah flu burung juga berdampak pada sentra ekonomi. Wabah flu burung sangat merugikan peternak, industri perunggasan dan para pedagang (Saptana *et al.* 2005). Penjualan ayam maupun daging ayam cenderung terus menurun hingga 60% di berbagai pasar-pasar tradisional. Semenjak kabar flu burung semakin berkembang di berbagai daerah, omset penjualan daging ayam di wilayah Semarang merosot tajam. Sepinya pembeli ayam maupun daging ayam terjadi di pasar tradisional seperti PPI Rejomulyo, Peterongan, Karangayu, Pedurungan, Gayamsari, Banyumanik dan pasar Bulu Semarang. Untuk menghindari adanya virus flu burung, dinas terkait telah melaksanakan penyemprotan desinfektan di berbagai kompleks pasar (Sujianto 2005).

Penyebaran VAI ke berbagai belahan dunia terjadi melalui banyak sarana yang dapat ber-

tindak sebagai faktor penularan virus ini. Salah satunya yaitu potensi dari burung-burung air yang liar, terutama dari ordo *Anseriformis* (Itik dan angsa) dan *Charadriiformis* (burung camar dan burung-burung pantai) sebagai pembawa (*carrier*) seluruh subtipe virus influenza A. Unggas air, burung laut dan burung liar berperan sebagai reservoir serta menjadi media penularan dan penyebaran VAI. Penyebaran terjadi dengan cepat karena kebanyakan unggas air liar dan burung-burung akan bermigrasi tiap tahun dan seringkali melintasi beberapa negara (Mohamad 2006).

Salah satu potensi penularan VAI di Indonesia adalah sistem peternakan yang kebanyakan masih bersifat tradisional. Kebanyakan unggas dipelihara dengan sistem penggembalaan bebas dan tidak dikandangkan, begitu juga dengan unggas air (Susanti *et al.* 2007). Unggas air merupakan inang alami virus influenza A, di mana pada inang ini virus berada dalam keadaan seimbang dan tidak menimbulkan penyakit sehingga unggas air patut diperhitungkan dalam penularan VAI ini. Hal tersebut akan memperbesar potensi timbulnya infeksi VAI khususnya subtipe H_5N_1 .

Tanggal 12 November 2008, pemerintah Kota Semarang menetapkan Kejadian Luar Biasa (KLB) Flu Burung di wilayah Kota Semarang. Keputusan ini diambil setelah hasil pemeriksaan uji sampel darah terhadap korban suspek flu burung, DS, 15 tahun, warga Jalan Medoho III RT 05 RW I Kelurahan Siwalan Kecamatan Gayamsari dinyatakan positif terinfeksi VAI subtipe H5N1. Alasan penetapan KLB ini karena kejadian tersebut merupakan kejadian yang pertama kali di Semarang (Jawa pos 2008).

Upaya pencegahan dan penanggulangan infeksi VAI harus dilakukan oleh semua pihak, baik masyarakat maupun pemerintah. Pasar tradisional sebagai tempat jual beli kebutuhan sehari-hari yang termasuk di dalamnya jual beli unggas-unggas hidup berpotensi sebagai penular VAI. Mengingat pasar memiliki potensi dalam penyebaran VAI, maka penulis akan melakukan penelitian berjudul "Isolasi dan Identifikasi Virus Avian Influenza Subtipe H5N1 pada Unggas di Pasar Tradisional Semarang".

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah yang akan dikaji adalah apakah unggas-unggas yang diperjualbelikan di pasar tradisional di Kota Semarang terinfeksi *Virus Avian Influenza* (VAI) subtipe H_5N_1 .

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah unggas-unggas yang diperjualbelikan di pasar tradisional di Kota Semarang terinfeksi *Virus Avian Influenza* (VAI) subtipe H_5N_1 .

METODE

Populasi dalam penelitian ini adalah semua unggas yang terdapat di pasar-pasar tradisional Kota Semarang. Sampel dalam penelitian ini adalah 55 usapan kloaka yang diambil dari 55 unggas sehat dan belum divaksin yang terdapat di 6 pasar tradisional Kota Semarang, yaitu pasar Karang Ayu, Mangkang, Gunung Pati, Rejomulyo, Gayam Sari dan Karimata. Sebaran jumlah sampel dari tiap pasar dan jenis hewan ditampilkan pada Tabel 1.

Pengambilan sampel dilakukan secara acak dengan mengusapkan *cottonswab* pada bagian kloaka unggas. *Swab* yang telah diusapkan kemudian dimasukkan ke dalam tabung *tube ependorf* yang berisi media transport PBS gliserol (WHO 2002). Tabung *tube ependorf* kemudian dimasukkan ke dalam *cool box* yang berisi *ice pack*. Inokulum dibuat dengan mencampur sampel dengan media PBS 10 µl yang mengandung 2×10^6 U/L penisilin dan 200 mg/L streptomisin.

Inokulum yang telah dibuat, ditumbuhkan pada telur ayam berembrio (TAB) *specific pathogen free* (SPF) umur 9 hari. Inokulum yang akan dimasukkan ke dalam telur pada ruang alantois TAB SPF dengan menggunakan spuit terlebih dahulu diinkubasikan pada suhu ruang selama 30 menit. Kemudian telur diinkubasikan pada suhu 37 °C dan diamati setiap hari selama 4 hari. Telur yang telah mati disimpan di lemari es sedangkan telur yang masih hidup setelah hari ke-4 dimatikan dengan cara memasukannya ke dalam *freezer*. Semua telur ayam berembrio yang telah mati, dipanen dan diidentifikasi cairan alantoisnya dalam mengaglutinasi sel darah merah (SDM) (WHO 2002).

Telur yang telah mati, dibuka cangkangnya pada bagian rongga udara dengan pinset. Kemudian ambil cairan alantoisnya dengan mikropipet. Cairan alantois yang telah diambil dimasukkan ke dalam *tube ependorf* dan simpan ke dalam *freezer*.

Sebelum dilakukan uji hemaglutinasi secara mikro, terlebih dahulu dilakukan uji aglutinasi cepat. Uji aglutinasi cepat dilakukan dengan cara mencampurkan cairan alantois dengan SDM 5% dengan perbandingan 1:1. Keberadaan virus ditunjukkan adanya aglutinasi SDM dalam waktu 15 detik setelah dicampur. Semua cairan alantois selanjutnya dilakukan uji HA secara mikro untuk mengetahui titer isolat dengan menggunakan alat *microplate U buttom (Nunc)*. Semua sumur pada *Microplate* diisi dengan 25 µl PBS pH 7,2. Cairan alantois diencerkan bertingkat kelipatan dua dengan PBS dengan cara mengambil 25 µl kemudian pindahkan pada sumur berikutnya demikian seterusnya hingga sumur 11. 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.

Cairan alantois yang positif berdasarkan uji HA, diekstraksi RNA-nya dengan menggunakan *Trizol® LS Reagent* (Invitrogen). Sebanyak 250 µl cairan alantois dan 750 Trizol dimasukkan ke dalam tabung 1,5 ml, dicampur hingga homogen dan diinkubasi 5 menit pada suhu ruang. Selanjutnya tambahkan 200 µl kloroform, kemudian dikocok dan diinkubasi kembali selama 10 menit pada suhu ruang. Larutan selanjutnya disentrifus dengan kecepatan 12000 g selama 15 menit pada suhu 4 °C. Supernatan diambil dan dimasukkan ke tabung 1,5 ml yang baru. Supernatan lalu ditambahkan isopropanol 500 µl, dicampur sampai homogen dan diinkubasi 10 menit suhu ruang. Kemudian larutan disentrifus selama 15 menit dengan kecepatan 12000 g, suhu 4 °C. Supernatan hasil sentrifugasi dibuang dan endapannya dicuci dengan 1000 µl etanol 70% (dalam H₂O dietylpirocarbonat (DEPC)). Setelah divorteks beberapa menit, larutan disentrifus 12000 g pada suhu 4 °C selama 20 menit.

Tabel 1. Sampel Usapan Kloaka dari Setiap Pasar Berdasarkan Jenis Hewan

Pasar	Jenis Hewan				Jmlh
	Ayam Kampung	Itik	Entok	Angsa	
Karang Ayu	8	-	-	-	8
Mangkang	7	-	-	-	7
Gunung Pati	6	-	2	-	8
Rejomulyo	5	4	4	-	13
Gayam Sari	8	-	-	-	8
Karimata	4	-	5	2	11
Total	38	4	11	2	55

Supernatan hasil sentrifugasi dibuang, dan pelet RNA dikeringkan pada suhu ruang selama 15-20 menit. Setelah pelet kering, pelet disuspensi kembali dengan 30 μ l H₂O bebas nuklease (ultrapure H₂O). Larutan RNA selanjutnya disimpan pada suhu -20 oC sampai dilakukan RT-PCR.

RNA virus diidentifikasi sub tipe virus AI-nya berdasarkan gen hemagglutinin (HA) dan neuraminidase (NA). RT-PCR dilakukan dengan menggunakan Superscript™ III One-step RT-PCR system. Pereaksi PCR dibuat sebanyak 20 μ l dengan komposisi 10 μ l 2x *reaction mix*, 1 μ l *primer forward* (10 μ M), 1 μ l *primer reverse* (10 μ M), 0,5 μ l Superscript III RT/Platinum Taq Mix, 2 μ l sampel RNA dan *ultrapure* H₂O 5,5 μ l (sampai volume 20 μ l). 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, 35 siklus terdiri dari denaturasi 95 °C 30 detik, annealing 55 °C 30 detik, ekstensi 72 °C 40 detik dan post ekstensi 72 °C 10 menit (Payungporn *et al.* 2004; WHO 2005). Untuk identifikasi sub tipe virus, setiap isolat diamplifikasi dengan primer H₅ dan N₁. Adanya pita DNA spesifik hasil PCR diidentifikasi dengan elektroforesis pada gel agarose 2%.

DNA hasil RT-PCR yang diperoleh, kemudian dianalisa dengan teknik elektroforesis menggunakan *ultrapure™ agarose* (Invitrogen) 2%. Sebanyak 1,4 g agarose dilarutkan ke dalam 70 ml Tris Buffer EDTA (TBE) 1x, kemudian dipanaskan dalam *microwave* sampai larutan menjadi jernih. Larutan didinginkan pada suhu kamar sampai dingin (hangat-hangat kuku) kemudian dimasukkan 3 μ l *ethidium bromide* (10mg/ml;Invitrogen) dan dicampur sampai homogen. Larutan agarose kemudian dituang ke dalam cetakan gel yang telah dipasang sisir, dibiarkan sampai membeku. Setelah membeku, gel dimasukkan dalam bak elektroforesis (Mupid-x, Japan) yang telah diisi larutan buffer TBE 1x sampai semua gel terendam. Sebanyak 10 μ l produk PCR dicampur dengan 2 μ l *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 transilluminator* (Vilber Lourmart, France). Hasil yang positif ditunjukkan adanya pita berwarna jingga pada gel agarose (Payungporn *et al.* 2004).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil elektroforesis menunjukkan bahwa dari total sampel (55), 4 sampel positif VAI sub tipe H₅N₁ dan 1 positif sub tipe H_xN₁.

Dari total 4 isolat VAI sub tipe H₅N₁ yang berhasil diisolasi, 2 isolat berasal dari pasar Mangkang, 1 isolat dari pasar Rejomulyo dan 1 isolat dari pasar Karimata. Berdasarkan spesies unggas, 4 isolat VAI sub tipe H₅N₁ yang didapatkan dalam penelitian ini terdiri dari 3 isolat ayam dan 1 isolat entok dengan prevalensi masing-masing 7,89 % dan 9,09 %. Angka prevalensi ini dihitung dengan asumsi bahwa dalam 1 inokulum terdapat sekurang-kurangnya 1 sampel yang mengandung VAI H₅N₁. Data hasil isolasi dan identifikasi VAI ditampilkan pada Tabel 2.

Hasil uji HA menunjukkan bahwa sebanyak 5 sampel positif (Tabel 2). Dalam uji HA diperlukan ketelitian dan keterampilan dalam pengamatan bentuk hemagglutinas eritrosit. Cairan alantois yang positif uji HA kemudian dilakukan isolasi RNA virus dan uji RT-PCR. Hasilnya ditemukan isolat H₅N₁ sebanyak 4 sampel dan 1 isolat H_xN₁. Dari total 4 isolat VAI sub tipe H₅N₁ yang berhasil diisolasi, 2 isolat dari pasar Mangkang, 1 isolat dari pasar Rejomulyo dan 1 isolat dari pasar Karimata sedangkan 1 isolat H_xN₁ berasal dari pasar Gunung pati. Isolat H_xN₁ merupakan virus avian influenza tipe A dengan jenis sub tipe NA1 dan HA selain 5. Hal ini dikarenakan isolat tidak dapat diamplifikasi dengan menggunakan primer H₅. Sub tipe HA nya dapat berupa HA1 sampai HA16. Sub tipe H_xN₁ dikhawatirkan merupakan sub tipe yang lebih berbahaya dibandingkan dengan H₅N₁ yang dapat menyebabkan pandemi pada manusia.

Virus AI yang dapat menyebabkan pandemi pada manusia terjadi pada saat rearsori (percampuran), yang menyebabkan gen hemagglutinin (HA) pada strain manusia digantikan gen alel dari virus avian influenza A. Dari semua sub tipe HA, Virus *Avian Influenza* sub tipe H₁, H₂ dan H₃ pernah menyebabkan pandemi pada manusia. Tahun 1918 terjadi pandemi yang disebabkan virus influenza sub tipe H₁N₁ yang dikenal dengan *Spanish Flu*. Tahun 1957 terjadi pandemi yang disebabkan virus influenza sub tipe H₂N₂ yang dikenal dengan *Asian Flu* dan tahun 1968 terjadi pandemi yang disebabkan virus influenza sub tipe H₃N₂ yang dikenal dengan Hongkong Flu. *Virus Avian Influenza* tipe A sub tipe H₁N₁, H₂N₂ dan H₃N₂, sampai saat ini belum terbukti ada di Indonesia (Dharmayanti 2005; Radji 2006; Syafriati 2009).

Berdasarkan sifat patogenitasnya, VAI sub tipe H₅N₁ yang menginfeksi unggas hidup yang diperjualbelikan di pasar-pasar tradisional di Kota Semarang ini tergolong low pathogenic avian influenza virus (LPAIV) karena unggas yang terinfeksi terlihat sehat dan tidak sakit.

Tabel 2. Data pengamatan hasil dari isolasi dan identifikasi VAI

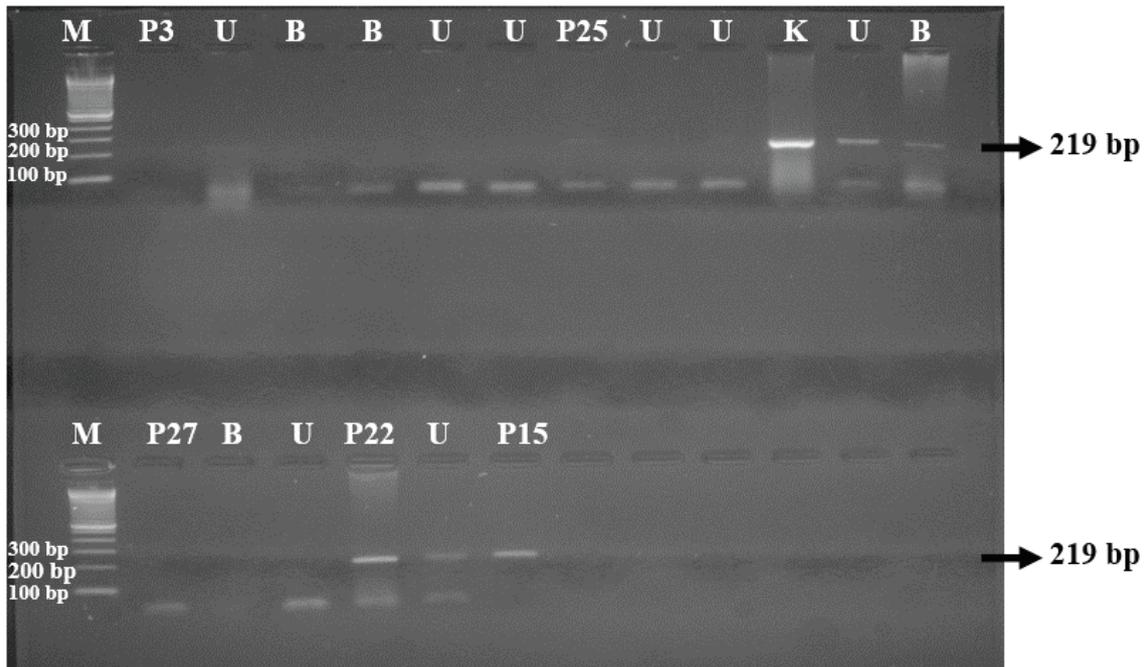
No	Inokulum	Jenis unggas	Asal pasar	HA	H5	N1	Subtipe
1	P1	Ayam	Rejomulyo	-	-	-	-
2	P2	Ayam	Rejomulyo	-	-	-	-
3	P3	Ayam	Rejomulyo	27	+	+	H5N1
4	P4	Itik	Rejomulyo	-	-	-	-
5	P5	Itik	Rejomulyo	-	-	-	-
6	P6	Entok	Rejomulyo	-	-	-	-
7	P7	Entok	Rejomulyo	-	-	-	-
8	P8	Ayam	Gayam Sari	-	-	-	-
9	P9	Ayam	Gayam Sari	-	-	-	-
10	P10	Ayam	Gayam Sari	-	-	-	-
11	P11	Ayam	Gayam Sari	-	-	-	-
12	P12	Ayam	Karimata	-	-	-	-
13	P13	Ayam	Karimata	-	-	-	-
14	P14	Angsa	Karimata	-	-	-	-
15	P15	Entok	Karimata	29	+	+	H5N1
16	P16	Entok	Karimata	-	-	-	-
17	P17	Ayam	Karimata	-	-	-	-
18	P18	Ayam	Karang Ayu	-	-	-	-
19	P19	Ayam	Karang Ayu	-	-	-	-
20	P20	Ayam	Karang Ayu	-	-	-	-
21	P21	Ayam	Karang Ayu	-	-	-	-
22	P22	Ayam	Mangkang	210	+	+	H5N1
23	P23	Ayam	Mangkang	-	-	-	-
24	P24	Ayam	Mangkang	-	-	-	-
25	P25	Ayam	Mangkang	27	+	+	H5N1
26	P26	Ayam	Gunung Pati	-	-	-	-
27	P27	Ayam	Gunung Pati	211	-	+	HxN1
28	P28	Ayam	Gunung Pati	-	-	-	-
29	P29	Entok	Gunung Pati	-	-	-	-

LPAIV lebih sedikit menyerang organ dari unggas yang terinfeksi dibandingkan dengan serangan *high pathogenic avian influenza virus* (HPAIV). LPAIV biasanya hanya menyebabkan gejala ringan pada unggas bahkan adakalanya tidak terdeteksi sama sekali. LPAIV menyerang di saluran pernapasan dan organ reproduktif sedangkan HPAIV hampir menyerang di semua organ pada unggas. HPAIV sangat patogen dan berakibat fatal bagi unggas atau manusia yang terinfeksi. Daya patogeniknya menyerang organ

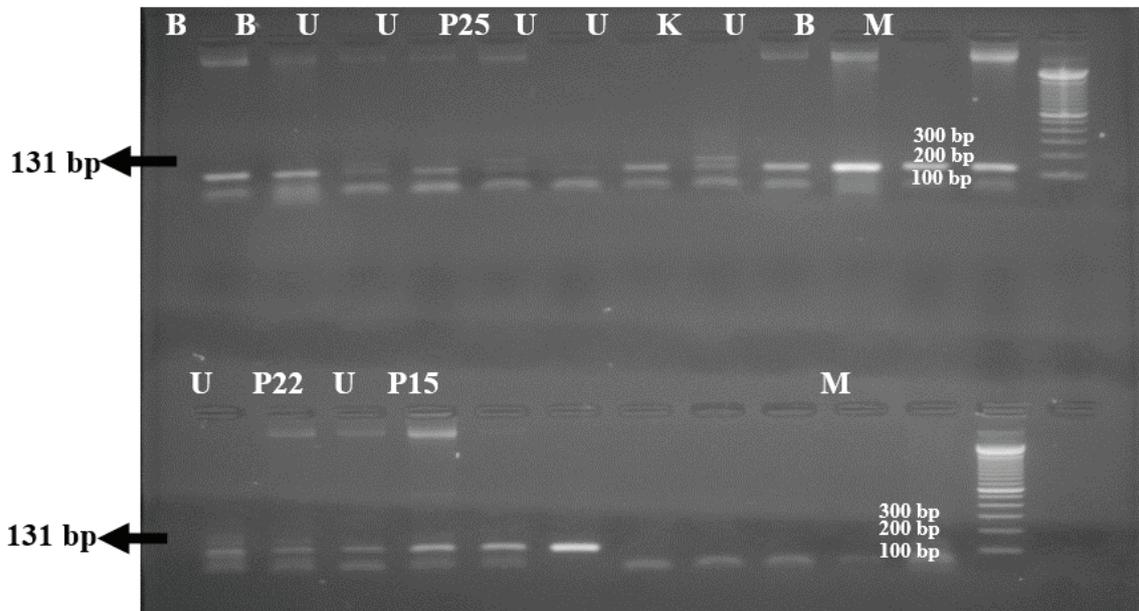
dalam dengan berbagai variasi kerusakan jaringan tergantung pada derajat kerentanannya serta mengakibatkan dampak kesakitan (morbidity) dan kematian (mortalitas). Angka kesakitan maupun kematian dapat mencapai 90% - 100% (Akoso 2006).

Hasil konfirmasi diagnosis dengan RT-PCR dan elektroforesis, sampel P3, P15, P22, P25 dan kontrol menunjukkan reaksi positif dengan primer H₅. Berdasarkan pita hasil elektroforesis DNA, terlihat adanya pita gen HA yang teramplifikasi dengan panjang nukleotida 219 bp. Untuk mengetahui panjang pita gen yang teramplifikasi dengan membandingkannya pada pita-pita marker. Pada P3 dan P25, pita DNANYA terlihat kurang jelas dan sangat tipis. Hal ini dikarenakan pita gen H₅ yang teramplifikasi dengan primer H₅ hanya sedikit. Berbeda dengan P15 dan P22 yang pita DNANYA terlihat jelas.

Hasil konfirmasi diagnosis dengan RT-PCR dan elektroforesis, sampel P3, P15, P22, P25, P27 dan kontrol menunjukkan reaksi positif dengan primer N₁. Berdasarkan pita hasil elektroforesis DNA, terlihat jelas adanya



Gambar 1. Elektroforegram gen haemagglutinin 5 (H5). M = marker; P = isolat dari pasar tradisional; K = kontrol; U dan B = isolat milik orang lain.



Gambar 2. Elektroforegram gen neuraminidase 1 (N1). P = isolat dari pasar tradisional; M = marker; K = kontrol; U dan B = isolat milik orang lain.

pita gen N_1 yang teramplifikasi dengan panjang nukleotida 131 bp.

Berdasarkan spesies unggas, 4 isolat VAI sub tipe H_5N_1 yang didapatkan dalam penelitian ini terdiri dari 3 isolat ayam dan 1 isolat entok dengan prevalensi masing-masing 7,89 % dan 9,09 %. Pada itik dan angsa tidak ditemukan

adanya VAI karena jumlah sampel unggas yang diambil terlalu sedikit dibandingkan sampel pada ayam dan entok. Hal ini dikarenakan unggas-unggas yang diperjualbelikan di pasar tradisional Kota Semarang mayoritas ayam dan entok. Jaring pedagang yang menjual itik dan angsa. Angka prevalensi pada ayam dan entok ini termasuk

Tabel 3. Jumlah dan prevalensi VAI subtype H5N1 yang diisolasi di pasar tradisional

Pasar	Isolat VAI H5N1			
	Ayam	Itik	Entok	Angsa
Rejomulyo	1 (20 %)	0	0	0
Gayamsari	0	0	0	0
Karimata	0	0	1 (20 %)	0
Karang Ayu	0	0	0	0
Mangkang	2 (28,57 %)	0	0	0
Gunung Pati	0	0	0	0
Total	3	0	1	0
Prevalensi	7,89 %	0	9,09 %	0

tinggi. Prevalensi VAI subtype H₅N₁ di pasar unggas Hongkong tahun 1997 paling tinggi ditemukan pada ayam (19,5%), diikuti angsa (2,5%) dan itik (1,3%) (Shortridge 1997). Sementara di pasar unggas Nanchang, China tahun 2000, prevalensi VAI paling tinggi dijumpai pada itik (1,3%), diikuti ayam (1,2%), puyuh (0,8%) dan merpati (0,5%) (Liu *et al.* 2003).

Penelitian pada beberapa jenis unggas di Taman Margasatwa Ragunan menunjukkan bahwa dari 18 sampel terdapat 12 sampel unggas yang positif Avian Influenza subtype H5N1 dan semua unggas yang positif ini tidak menunjukkan gejala klinis sakit (Dharmayanti *et al.* 2006). Wabah VAI subtype H₅N₁ di Hongkong tahun 2001 berasal dari reservoir itik dan angsa yang mengalami rearsori dengan VAI unggas air lainnya sehingga muncul virus yang bersifat patogenik pada unggas darat (Sturm-Ramirez *et al.* 2004) sehingga pola mencampurkan unggas darat dengan unggas air akan selalu beresiko menyebarkan VAI subtype H₅N₁.

Penataan dan/atau relokasi TPnU ke lokasi yang sesuai dengan peruntukannya, diperlukan untuk menekan penyebaran virus AI dan menyediakan unggas yang sehat. Selain lokasi, pembangunan TPnU juga harus dapat memenuhi persyaratan baik fisik bangunan, peralatan serta prosedur operasionalisasinya (penerapan aspek biosekuriti dan higiene sanitasi). Berkenaan dengan hal tersebut, maka diperlukan adanya pembangunan TPnU yang memenuhi persyaratan baik fisik bangunan, peralatan serta prosedur operasionalisasinya (Deptan 2010).

Pasar tradisional mendominasi total pasar yang ada di Indonesia dalam hal pemasaran unggas. Jumlah pasar tradisional rata-rata mencapai 71,6% tiap tahunnya dan sisanya adalah pasar modern. Pasar tradisional berperan besar dalam proses pendistribusian produk unggas bagi masyarakat menengah ke bawah. Data ini menun-

jukkan pasar tradisional berperan besar dalam pendistribusian produk-produk perunggasan (Daryanto 2007). Karena itu dalam pembenahan agribisnis perunggasan, penataan pasar tradisional menjadi komponen yang sangat penting.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa unggas yang diperjualbelikan di pasar tradisional di Kota Semarang ada yang terinfeksi *Virus Avian Influenza* (VAI) subtype H₅N₁. Sebanyak 4 isolat VAI subtype H₅N₁ berhasil diisolasi dari 55 sampel unggas yang diperjualbelikan di 6 pasar tradisional di Kota Semarang dengan sebaran 2 isolat diperoleh dari sampel yang berasal dari pasar Mangkang, 1 isolat dari pasar Rejomulyo dan 1 isolat dari pasar Karimata.

DAFTAR PUSTAKA

- Akoso B.T. (2006). *“Waspada Flu Burung” Penyakit Menular Pada Hewan dan Manusia*. Yogyakarta: Kanisius.
- Damayanti R, Dharmayanti N.L.P.I, Indriani R, Wiyono A & Darminto. (2004). Deteksi Virus Avian Influenza Subtipe H5N1 pada Organ Ayam yang Terserang Flu Burung Sangat Patogenik di Jawa Timur dan Jawa Barat dengan Teknik Imunohistokimia. *JITV* 9 (3):197-203.
- Daryanto A. (2007). Peran Pasar Tradisional dan Modern dalam Pemasaran Unggas. *Trobos*. Oktober 2007. Halaman 62-63.
- [Deptan] Pusat Penelitian dan Pengembangan Sosial Ekonomi Pertanian Badan Litbang Pertanian kerja sama dengan Direktorat Jenderal Bina Produksi Peternakan Departemen Pertanian Dan Food And Agriculture Organization FAO-RAP Bangkok-TCP/RAS/3010. (2004). Socio-economic impact Assesment of the avian influenza crisis on poultry production system in indonesia, with particular focus Independen-

- dent smallholders. On line at <http://pse.litbang.deptan.go.id/> [diakses tanggal 19 Maret 2010].
- _____. Direktorat Kesehatan Masyarakat Veteriner Direktorat Jenderal Peternakan Departemen Pertanian. (2010). Pedoman Teknis Program Pembangunan Tempat Penampungan Unggas (TPnU) Tahun Anggaran 2010.
- Dharmayanti N.L.P.I. (2005). Flu Burung: Penyakit yang Mematikan. Balai Penelitian Veteriner, *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian Indonesia* 27 (3):13-15.
- Dharmayanti N.L.P.I, Indriani R., Damayanti R & Wiyono A. (2005). Isolasi dan Identifikasi Wabah Avian Influenza pada Bulan Oktober 2004-Maret 2005 di Indonesia. *Biol. Indon.* III (9):341-350.
- Dharmayanti N.L.P.I, Indriani R & Adjid R.M.A. (2006). Identifikasi Virus Avian Influenza Pada Beberapa Jenis Unggas di Taman Margasatwa Ragunan dan Upaya Eradikasinya. *Media Kedokteran Hewan* 22 (2):79-83.
- Jawa pos. (2008). Semarang KLB Flu Burung. On line at www.jawapos.com/ [diakses tanggal 7 Agustus 2009].
- Liu M, Guan Y, Peiris M, He S, Webby RJ, Perez D, Webster RG. (2003). The Quest Of Influenza A Virus For New Host. *Avian Dis* 47: 849-856.
- Mohamad K. (2006). Flu Burung. On line at www.influenzareport.com/ [diakses tanggal 27 Agustus 2009].
- Payungporn S, Phakdeewirot P, Chutinimitkul 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(4): 588-593
- Radji M. (2006). Avian Influenza A (H5N1) : Patogenesis, Pencegahan dan Penyebaran pada Manusia. *Majalah Ilmu Kefarmasian* III (2):55 – 65.
- Saptana, Basuno E & Yusdja Y. (2005). Dampak Ekonomi Flu Burung Terhadap Kinerja Industri Perunggasan di Provinsi Jawa Tengah (Suatu Kajian Atas Kasus Flu Burung di Kabupaten Semarang dan Klaten). On line at <http://ejournal.unud.ac.id/> [diakses tanggal 13 Januari 2010].
- Shortridge KF. (1997). Poultry And The Influenza H5N1 Outbreak In Hong Kong, 1997: Abridged Chronology And Virus Isolation. *Vaccine* 17: 826-829.
- Sujianto R. (2005). Peternak Ayam Jateng Kian Resah. On line at <http://www.bisnis.com/> [diakses tanggal 13 Januari 2010].
- Sturm-Ramirez KM, Ellis T, Bousfield B, Bissett L, Dyrting K, Rehg JE, Poon L, Guan Y, Peiris M, Webster RG. (2004). Reemerging H5n1 Influenza Viruses In Hong Kong In 2002 Are Highly Pathogenic To Ducks. *Journal Of Virology* 78 (9): 4892-4901.
- Susanti R, Soejoedono R.D, Mahardika I-G.N.K, Wibawan I-W.T & Suhartono M.T. (2007). Potensi Unggas Air Sebagai Reservoir Virus High Pathogenic Avian Influenza Subtipe H5N1. *JITV* 12 (2): 160-166.
- Syafriati T. (2009). Mengenal Penyakit Influenza Babi. *Lokakarya Nasional Penyakit Zoonosis*: 102-110.
- [WHO] World Health Organization. (2002). WHO manual on animal influenza. Diagnosis and surveillance. On line at www.who.int/ [diakses tanggal 27 September 2009].