

Identifikasi Virus Avian Influenza Pada Beberapa Jenis Unggas di Taman Margasatwa Ragunan dan Upaya Eradikasinya

Identification and Eradication Avian Influenza Virus in Some Birds in Taman Margasatwa Ragunan

NLP Indi Dharmayanti, R. Indriani dan R.M.A. Adjid

Balai Penelitian Veteriner, Jl. R.E. Martadinata, Bogor.

Abstract

Avian influenza virus (AI) can infected a variety of species, including birds and human. Since August 2004, there were some cases of AI affected some birds such as peacock and pigeon in Jakarta. In September 2005, we conducted field investigation to monitor virus circulation of AI in Jakarta including in Taman Margasatwa Ragunan. We collected the cloacal samples from some birds by Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) method. Result of the study showed that avian influenza H5N1 subtype has infected some birds in Taman Margasatwa Ragunan. Some treatments have been done to eradicate the virus such as isolation and antiviral treatment for infected birds and disinfectant treatment for environment. Fifth days after treatment, the virus can be eliminated from the body of birds.

Keywords: Avian influenza virus, birds, Taman Margasatwa Ragunan, antiviral

Pendahuluan

Sejak pertengahan tahun 2003, virus avian influenza telah menginfeksi pada unggas di beberapa negara Asia termasuk Indonesia. Virus avian influenza termasuk dalam famili Orthomyxoviridae. Famili Orthomyxoviridae mempunyai tiga genera yaitu virus influenza A, B dan C. Virus influenza B dan C sebagian besar hanya terbatas pada manusia, sedangkan mayoritas virus influenza A menginfeksi spesies unggas dan hanya sedikit subtype yang dapat menginfeksi manusia dan hewan lainnya seperti babi dan kuda (Hay, 1998). Unggas air atau itik adalah reservoir dari virus *avian influenza*. Unggas air tidak menunjukkan gejala klinis seperti yang terjadi pada ayam. Selain itu tingkat kematian dari itik juga lebih rendah dibandingkan dengan ayam.

Wabah *avian influenza* di Indonesia pertama kali terjadi pada bulan Agustus 2004 di Kabupaten Pekalongan dan Tangerang. Wabah ini menyerang ayam ras petelur dan pedaging, burung puyuh, ayam kampung dan itik. Angka kesakitan (morbiditas) dan angka kematian (mortalitas) kasus ini sangat tinggi yaitu mencapai 90%. Penyebaran terjadi dengan sangat cepat terutama melalui perdagangan dan lalulintas unggas.

Di Indonesia identifikasi penyakit *avian influenza* telah dilakukan oleh Dharmayanti dkk., (2004). Penelitian tersebut berhasil mengidentifikasi penye

wabah tahun 2003 dan awal tahun 2004 disebabkan oleh virus *avian influenza* sub tipe H5 dengan metode *Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR).

Pada bulan Agustus - Oktober 2004, ditemukan kasus *avian influenza* pertama kali di Jakarta. Virus ini telah menyerang beberapa jenis unggas seperti entok, ayam kampung dan puyuh (Wiyono dkk., 2004). Pada bulan November tahun 2004, virus *avian influenza* telah menginfeksi spesies unggas lain seperti burung merak dan merpati di Jakarta (Dharmayanti dkk., 2005). Dharmayanti dkk. (2005) juga berhasil mengidentifikasi dan mengkarakterisasi tujuh isolat virus *avian influenza* yang berasal dari Jakarta tersebut dengan metode RT-PCR dan sekuensing yaitu disebabkan oleh virus *avian influenza* sub tipe H5N1 *highly pathogenic* yang mempunyai motif asam amino RKKR/ /G pada daerah *cleavage site* gen HA.

Pada tahun 2005, virus *avian influenza* masih bersirkulasi di Indonesia. Dharmayanti dan Indriani (2005) masih menemukan kasus *avian influenza* yang menyerang ayam buras di daerah Jakarta. Balai Penelitian Veteriner sebagai institusi pemerintah di bidang penelitian veteriner mempunyai tugas untuk memonitor dinamika virus *avian influenza* di Indonesia. Salah satu kegiatan dari tugas ini adalah melakukan monitoring keberadaan virus *avian influenza* di Taman Margasatwa Ragunan, mengingat

masih adanya kasus *avian influenza* di Jakarta pada tahun 2005, sehingga penulis melakukan kunjungan dan melakukan pengambilan sampel usap kloaka pada beberapa jenis unggas di lokasi tersebut. Pemeriksaan semua sampel dilakukan di laboratorium Virologi, Balivet, Bogor. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan virus *avian influenza* pada beberapa jenis unggas di Taman Margasatwa Ragunan dan mengidentifikasi lebih lanjut sub tipe virus *avian influenza* yang telah menginfeksi unggas-unggas tersebut. Jika diketahui terdapat unggas yang terinfeksi virus *avian influenza* maka akan dilakukan upaya/tindakan untuk mengeradikasi virus tersebut dengan melakukan depopulasi terbatas pada unggas yang tidak termasuk jenis langka dan melakukan beberapa tindakan pengobatan untuk menyelamatkan unggas yang termasuk jenis langka.

Metode Penelitian

Sampel

Sampel yang diambil berupa usap kloaka yang berasal dari beberapa jenis unggas di Taman Margasatwa Ragunan. Sampel-sampel tersebut akan diperiksa di laboratorium Virologi-Balivet. Jika berhasil dideteksi adanya virus *avian influenza* pada unggas-unggas tersebut maka akan dilakukan *treatment* pengobatan antiviral dan penyemprotan desinfektan oleh pihak Taman Margasatwa Ragunan. Hari kelima dan hari kesepuluh pasca *treatment* akan dilakukan pengambilan sampel ulang.

Isolasi RNA Virus

Sampel usap kloaka yang berada dalam media transport langsung dilakukan isolasi RNA virus sesuai dengan metode terdahulu. Ringkasnya adalah sebagai berikut, sampel dalam media transport dipindahkan ke dalam tabung steril dan disentrifugasi dengan kecepatan 15.000 rpm selama 1 menit. Setelah itu diambil sebanyak 140 µl dan diekstraksi dengan QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen) sesuai dengan instruksi penggunaan (Dharmayanti, 2005).

Identifikasi Virus Avian Influenza dengan Metode Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

RNA hasil isolasi yang berasal inokulum usap kloaka digunakan sebagai templat untuk kemudian dilakukan identifikasi dengan teknik RT-PCR menggunakan primer subtype H5 virus *avian influenza* (Lee *et al.*, 2001) dan primer subtype N1 (Pemberian

Dr. Leo Poon, Laboratorium Referens *Avian Influenza*, Hongkong University).

Hasil dan Pembahasan

Hasil Penelitian

Hasil identifikasi dengan metode RT-PCR telah berhasil dideteksi adanya infeksi virus *avian influenza* dengan subtype H5 sebanyak 12 sampel usap kloaka. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 1. Uji ini kemudian dilanjutkan untuk menemukan jenis subtype N dari virus *avian influenza* tersebut. Dari hasil yang diperoleh ternyata 12 sampel yang positif H5 mempunyai sub tipe N1. Sehingga virus yang diperoleh dari hasil identifikasi ini adalah virus *avian influenza* subtype H5N1. Dari hasil pengujian dengan RT-PCR langsung dari usap kloaka menunjukkan bahwa dari 18 sampel terdapat 12 sampel unggas yang positif *avian influenza* subtype H5N1 (Tabel 1). Namun demikian semua unggas yang positif *avian influenza* ini tidak menunjukkan gejala klinis sakit.

Unggas-unggas terinfeksi dan unggas yang satu kandang dengan unggas tersebut dipindahkan di kandang isolasi untuk mengurangi pencemaran virus sekaligus mempermudah pengawasan, penanganan dan pemberian *treatment* yang akan dilakukan. Kemudian dilakukan *treatment* terhadap unggas yaitu dengan penyemprotan desinfektan dua kali sehari dan pengobatan dengan antiviral amantadine selama lima hari oleh pihak Taman Margasatwa Ragunan. Setelah lima hari pemberian amantadine dilakukan pengambilan sampel ulang pasca *treatment*. Sampel berupa usap kloaka dan langsung dilakukan uji RT-PCR. Hasil uji menunjukkan bahwa semua sampel yang dikirim menunjukkan hasil negatif *avian influenza* subtype H5N1. Penyemprotan dengan desinfektan tetap dilakukan sebanyak 2 kali sehari. Pengujian terhadap unggas-unggas tersebut dilakukan kembali setelah 10 hari pasca pemberian Amantadine berakhir. Hasil identifikasi virus *avian influenza* pasca pemberian amantadine menunjukkan bahwa semua unggas yang semula positif *avian influenza* menjadi negatif. Unggas-unggas tersebut dapat dikatakan telah bebas dari penyakit *avian influenza*. Selain itu juga, untuk mengantisipasi apakah virus ini sudah menyebar pada populasi unggas lainnya, pada bulan Oktober 2005, dilakukan pengambilan sampel terhadap unggas lainnya yang pada pengambilan sampel bulan September 2005 belum dilakukan (Tabel 2). Hasil pemeriksaan tersebut menunjukkan bahwa unggas-unggas tersebut tidak terdeteksi adanya infeksi virus *avian influenza*.

Tabel 1. Hasil Identifikasi Virus Avian Influenza yang Berasal dari Sampel Usap Kloaka dari Beberapa Jenis Unggas di Taman Margasatwa Ragunan

No	Jenis unggas	Jumlah Sampel (ekor)	Identifikasi dengan RT-PCR (primer H5)	Identifikasi dengan RT-PCR (primer N1)
1	Joan Puti Mandi	4	positif	positif
2	Beo Kecil	2	positif	positif
3	Merak Hijau	3	positif	positif
4	Bangau Tong-tong	1	positif	positif
5	Blibis Batu	1	positif	positif
6	Blibis Mandarin	1	positif	positif
7	Elang Bondol	2	positif	positif
8	Kuao Perak	1	positif	positif
9	Beleang Sumatra	2	positif	positif
10	Kakatua Raja	1	positif	positif
11	Bluwok	2	positif	positif
12	Ayam Kate	5	positif	positif
13	Elang Bondol K Untung	2	negatif	negatif
14	Kakatua Jingga (nursery)	3	negatif	negatif
15	Kakatua Jambul Orange	2	negatif	negatif
16	Ayam Jepang	2	negatif	negatif
17	Elang Ular	1	negatif	negatif
18	Ayam Kate	2	negatif	negatif

Pembahasan

Unggas yang dipelihara di Taman Margasatwa Ragunan umumnya adalah unggas yang berasal dari jenis langka. Pada saat dideteksinya virus *avian influenza* pada beberapa spesies burung (Tabel 1) pada lokasi ini, dilakukan tindakan bagaimana mengantisipasi dan mengeradikasi virus *avian influenza* supaya tidak menyebar dan menulari unggas lainnya di lokasi tersebut, serta mengantisipasi penularan terhadap manusia. Pihak Taman Margasatwa Ragunan telah mengambil tindakan-tindakan yang strategis yaitu di antaranya dengan menutup sementara Taman Margasatwa tersebut terhadap kunjungan wisatawan.

Upaya untuk mengeradikasi virus ini pada unggas-unggas terinfeksi di antaranya adalah dengan melakukan depopulasi terbatas pada unggas yang tidak termasuk kategori langka (ayam kate) yang telah positif terinfeksi virus *avian influenza* termasuk unggas yang satu kandang dengannya. Untuk unggas/ burung yang tergolong langka diupayakan untuk melakukan pengobatan dengan antiviral jenis Amantadine. Unggas-unggas terinfeksi dipindahkan ke kandang isolasi untuk meminimalkan terjadinya penularan dan mengintensifkan pengawasan. Selain

itu juga diperketatnya biosekuriti dan penyemprotan kandang dengan desinfektan sebanyak dua kali sehari.

Ketika sejumlah manusia terinfeksi virus AI H5N1 pada tahun 1997, amantadine secara cepat diimpor ke Hongkong. Obat anti influenza ini mencegah infeksi dengan mengganggu aktivitas M2 ion channel sehingga menghambat *uncoating* virus (Winquist *et al.*, 1999; Hay *et al.*, 1985; Pinto *et al.*, 1992). Ketika secara eksperimental diberikan pada ayam, amantadine memberikan proteksi yang sangat baik terhadap infeksi viral (Webster *et al.*, 1985). Saat pemberian obat pada *rechallange* dengan virus yang mematikan, ternyata semua ayam pada penelitian tersebut mati. Mutasi titik pada virus ternyata menyebabkan resistensi terhadap obat ini seperti studi yang telah ditunjukkan pada virus influenza manusia maupun *avian influenza* (Grambas *et al.*, 1992). Masih sedikit publikasi yang menginformasikan efikasi amantadine yang digunakan secara ekstensif pada sejumlah besar pasien. Obat antiviral lainnya yang digunakan adalah beberapa dari jenis NA inhibitor seperti zanamivir dan oseltamivir (Calfee and Hayden, 1998; Hayden *et al.*, 1997; Von Itzstein *et al.*, 1993).

Tabel 2. Hasil Identifikasi Virus Avian Influenza yang Berasal dari Usap Kloaka dari Beberapa Jenis Burung yang Belum Pernah Diambil Sampelnya pada September 2005

No	Jenis unggas	Jumlah Sampel (ekor)	Identifikasi dengan RT-PCR (primer H5)
1	Elang Bondol	2	Negatif
2	Jalak Bali	3	Negatif
3	Kakaktua jambul kuning	1	Negatif
4	Pelikan	2	Negatif
5	Kuau Lady	1	Negatif
6	Dara Mahkota	1	Negatif
7	Kakaktua jambul kuning	1	Negatif
8	Merak hijau	1	Negatif
9	Ayam mutiara	1	Negatif
10	Angsa	1	Negatif
11	Pelikan	2	Negatif
12	Ayam kalkun	2	Negatif
13	Mandar	1	Negatif
14	Kuau Lady	1	Negatif
15	Tekukur Afrika	1	Negatif
16	Ayam hutan merah	1	Negatif
17	Walik-walaik	1	Negatif
18	Nuri coklat	1	Negatif
19	Nuri merah P Kuning	1	Negatif
20	Bayan	1	Negatif
21	Kakaktua pipi merah	1	Negatif
22	Elang ular hitam	1	Negatif
23	Julang mas	1	Negatif
24	Bebek kerdil kapas	1	Negatif
25	Bayan	2	Negatif
26	Kuau Perak	1	Negatif
27	Ayam mutiara putih	1	Negatif
28	Parkit	3	Negatif
29	Cendrawasih	1	Negatif

Virus AI dapat diinaktivasi pada suhu 56°C selama 3 jam atau suhu 60°C selama 30 menit. Virus ini diinaktivasi pada pH < 5 atau pH > 8. Bahan kimia yang dapat menginaktivasi virus ini seperti bahan pengoksidasi, sodium dodecyl sulphate dan β - propiolactone. Sedangkan desinfektan yang dapat digunakan untuk mematikan virus ini adalah formalin, *peracetic acid* atau beberapa desinfektan yang telah direkomendasikan sebagai antiviral.

Upaya pemberian antiviral dan penyemprotan desinfektan terhadap unggas terinfeksi avian influenza pada kasus di Taman Margasatwa Ragunan adalah salah satu tindakan yang inovatif, yang ternyata telah terbukti keberhasilannya.

Kesimpulan

Pemberian antiviral dan tindakan penyemprotan dengan desinfektan memberikan keberhasilan

terhadap upaya eradikasi virus avian influenza pada burung-burung langka yang terinfeksi virus avian influenza.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih yang setulusnya kepada para kolega di Taman Margasatwa Ragunan dan Laboratorium Tipe B Propinsi DKI Jakarta yang telah banyak membantu selama penelitian ini berlangsung. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Bapak Nana Suryana, Heri Hoerudin dan Merry atas bantuan teknisnya.

Daftar Pustaka

- Calfee, D.P and Hayden. 1998. New approaches to influenza chemotherapy neuraminidase inhibitors. *Drugs*. 56. 537-555.
- Dharmayanti, NLP I., R. Damayanti, A. Wiyono R. Indriani dan Darminto. 2004. Identifikasi virus avian influenza Indonesia dengan *Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR). *JITV* (9). 2 : 136-142.
- Dharmayanti, NLP I., R. Indriani, R. Damayanti, A. Wiyono dan R.M.A. Adjid. 2005. Karakterisasi molekuler virus avian influenza isolate Indonesia. *JITV*. (10) 2 : 127-133.
- Dharmayanti, NLP I. dan R. Indriani. 2005. Identifikasi virus avian influenza pada unggas di DKI Jakarta pada bulan Maret - Mei 2005. Laporan intern hasil penelitian. Balivet. Bogor.
- Dharmayanti, NLP I.. 2005. Optimasi dan uji sampel langsung dari usap kloaka, trakea dan organ yang berasal dari unggas terinfeksi virus avian influenza. Laporan intern hasil penelitian. Balivet. Bogor.
- Grambas, S., M.S. Bennet and A.J. Hay. 1992. Influence of amantadine resistance mutations on the pH regulatory function of the M2 protein of influenza A viruses. *Virology*. 1991. 541-549.
- Hay, A.J., A.J. Wolstenholme, J.J. Skehel and M.H. Smith. 1985. The molecular basis of the specific anti-influenza action of amantadine. *EMBO J.* 4. 3021-3024.
- Hay, A.J. 1998. The virus Genome and Its replication. In: *Textbook of influenza*. Nicholson, K.G., R.G. Webster, A.J. Hay. London. 43-53.
- Hayden, F.G., A.F. Osterhaus, J.J. Treanor, D.M. Fleming, F.Y. Aoki, K.G. Nicholson, A.M. Bohnen, H.M. Hirst, O. Keene and K. Wightman. 1997. Efficacy and safety of the neuraminidase inhibitor zanamivir in the treatment of influenza virus infection. *N. Engl. J. Med.* 337. 874-880.
- Lee, M.S., P.C. Chang., J.H. Shien., M.C. Cheng., and H.P. Shieh. 2001. Identification and subtyping of avian influenza viruses by reverse transcription-PCR. *J. Virol. Methods*. 97 : 13-22.
- Pinto, L.H., L.J. Holsinger and R.A. Lamb. 1992. influenza virus M2 protein has ion channel activity. *Cell*. 69. 517-528.
- Von Itzstein, M., W.Y. Wu, G.B. Kok, M.S. Pegg, J.C. Dyason, B.Jin. T. Van Phan, M.L. Smythe, H.F. Oliver, P.M. Colman, J.N. Varghese, D.M. Ryan, J.M. Woods, R.C. Bethell, V.J. Hotham, J.M. Cameron and C.R. Penn. Rational design of potent sialidase-based inhibitors of influenza virus replication. 1993. *Nature (London)*. 363. 418-423.
- Webster, R.G., Y. Kawaoka, W.J. Bean, C.W. Beard and M. Brugh. 1985. Chemotherapy and vaccination: a possible strategy for the control of highly virulent influenza virus. *J. Virol.* 55: 173-176.
- Winquist, A.G., K. Fukuda, C.B. Bridges, N.J. Fox. 1999. Neuraminidase inhibitors for treatment of influenza A and B infection. <http://www.cdc.gov/epo/mmwr/preview/mmwrhtml/rr481a1.htm>.
- Wiyono, A, R. Indriani, R. Damayanti dan NLP I Dharmayanti. 2004. Identifikasi agen penyebab kematian pada populasi unggas di DKI Jakarta pada bulan September 2004. Laporan intern hasil penelitian. Balivet. Bogor.