

Deteksi Antibodi Serum Terhadap Virus *Avian influenza* pada Ayam Buras

(Detection on Serum Antibodies of Native Chickens to Avian influenza Virus)

Darmawi¹, Zakiyah Heryawati Manaf¹, Darniati¹, Fakhrurrazi¹, Mahdi Abrar¹, Erina¹

¹Staf Pengajar pada Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala,
Jl. Hasan Krueng Kale no.8, Darussalam Banda Aceh

ABSTRACT An important approach of controlling against *Avian Influenza* should be determined to detect the antibody titres of bird flu caused by Influenza virus H5N1 in Indonesia. The aim of the present study was to detect the antibodies to *Avian Influenza* in serum of native chickens. This study utilized 123 serum samples collected from the axilaris vein (left or right) of native chickens. Antibody titres were examined using *Hemagglutination Inhibition* (HI). The result showed

that indication of natural infection by *Avian Influenza* (H5N1) in native chickens, as shown that out of 123 serum samples, 16 (13,01%) were tested positive by HI, while only 10 (8,13%) were tested protective to *Avian influenza* infection. Based on the results we obtained, a conclusion that natural infection by *Avian influenza* virus stimulated variety level of formation antibody titres in native chickens.

Key words: *Avian influenza*, antibody, native chickens.

2012 Agripet : Vol (12) No. 1: 23-27

PENDAHULUAN

Penyakit yang disebabkan oleh infeksi virus *Avian influenza* sangat populer sebagai penyakit flu burung (*bird flu*). Virus *Avian influenza* termasuk golongan virus influenza A yang bersama dengan virus influenza B dan C tergabung dalam famili *Orthomyxoviridae* (Rimmelzwaan *et al.*, 2001 ; Rimmelzwaan *et al.*, 2006). Gejala yang ditimbulkan bervariasi mulai dari tanpa gejala, gejala ringan, sering dalam 48 jam menunjukkan gejala antara lain depresi, penurunan produksi telur secara tiba-tiba, syptom respiratori, udema facial subcutaneous, pial kebiruan, hingga kematian mendadak. Masa inkubasi virus dari beberapa jam sampai beberapa hari, dengan tingkat kematian mencapai 90 – 100%.

Flu burung bersifat *zoonosis* yang sangat dikuatirkan di Indonesia. Kekuatiran tidak hanya disebabkan oleh keganasan serangan penyakit pada ternak unggas yang telah menimbulkan kerugian yang luar biasa nilainya tetapi juga akibat potensi mutasi yang

dimiliki virus tersebut menjadi virus *highly pathogenic avian influenza* (HPAI) sehingga bersifat sangat infeksius dan fatal, dan yang berpeluang terjadinya pandemi seperti yang pernah terjadi pada 1918. Agen penyebab flu burung adalah virus *Avian influenza* subtype H5N1 populer di Indonesia sejak pertengahan tahun 2003, dan sampai saat ini telah merambah ke semua propinsi.

Virus dapat ditransmisikan secara langsung melalui inhalasi aerosol atau debu yang terkontaminasi, dan atau secara tidak langsung melalui air minum, makanan yang terkontaminasi atau karkas yang terinfeksi. Transmisi virus dari suatu tempat ke daerah lainnya terutama disebabkan oleh perpindahan unggas terinfeksi, makanan, peralatan, kendaraan. Kemungkinan keterpaparan virus sangat sering terjadi karena kontak antara unggas dengan unggas lainnya dimana sangat mungkin unggas yang bercampur dengan hewan lainnya merupakan hewan pembawa virus (*carrier*) yang menyebarkan virus ke lingkungan.

Corresponding author: d_darmawi@yahoo.com

Mobilitas manusia, produk unggas, dan migrasi unggas memungkinkan penyebaran virus Avian influenza. Mudah-mudahan transportasi lokal dan regional akan lebih memungkinkan penyebaran virus ke area yang lebih luas. Salah satu cara untuk mengetahui penyebaran virus pada suatu daerah dapat dilakukan surveilans keterpaparan virus pada hewan. Secara alami, keterpaparan virus *Avian influenza* dapat membangkitkan respon pertahanan tubuh, yaitu pertahanan seluler dan pertahanan humoral. Pertahanan seluler diperankan oleh sel pertahanan inang yang ditujukan untuk membunuh virus yang berada di dalam sel inang. Pertahanan humoral diperankan oleh antibodi untuk menangkap virus yang terlarut di dalam cairan seperti di dalam darah, antibodi dapat mengenal antigen yang merangsang pembentukannya. Tujuan riset ini adalah mendeteksi keberadaan antibodi serum ayam buras terhadap *Avian Influenza* di Kecamatan Baktiya. Manfaat yang diharapkan adalah mendapatkan informasi apakah ada ayam buras di Kecamatan Baktiya yang terinfeksi oleh virus *Avian influenza* sehingga dapat diambil tindakan pengendalian yang tepat.

MATERI DAN METODE

Ayam Percobaan

Sebanyak 123 ekor ayam buras peliharaan masyarakat yang belum pernah divaksin dengan vaksin *Avian influenza* di Kecamatan Baktiya Kabupaten Aceh Utara. Sampel diambil pada bulan Mei 2009. Sampel yang diperiksa adalah serum ayam tersebut yang diambil dari vena axilaris pada kiri atau kanan bawah sayap ayam.

Uji Hemagglutination Inhibition (HI test)

Masing-masing sumur *microplate U bottom* nomor 1 – 12 diisi dengan 25 µl suspensi virus standar (4 HAU). Sebanyak 25 µl serum yang akan diuji ditambahkan dan dihomogenkan di dalam sumur nomor 1. Sebanyak 25 µl campuran virus standar dan serum pada sumur nomor 1 dipindahkan dan dihomogenkan ke dalam sumur nomor 2. Hal yang sama dilakukan pada sumur nomor 3 sampai 12. *Microplate* dikocok dengan cara digoyang-goyangkan, dan diinkubasi pada temperatur ruangan selama 15 menit. Sebanyak

25 µl suspensi sel darah merah 0,5% ditambahkan ke dalam seluruh sumur, *microplate* digoyang-goyangkan, dan diinkubasi kembali selama 30 menit. Hasil dibaca jika eritrosit pada sumur kontrol telah mengendap (Karaca *et al.*, 2005; Hoffmann *et al.*, 2005). Apabila titer antibodi ayam menunjukkan positif meningkat mencapai 2^4 atau lebih, ayam tersebut dinyatakan sebagai ayam yang memiliki kekebalan yang protektif terhadap serangan *Avian influenza*. Ayam yang memiliki titer antibodi kurang dari 2^4 , maka ayam tersebut dinyatakan sebagai ayam yang bersifat tidak protektif terhadap serangan *Avian influenza* (OIE, 2000).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan melalui uji HI terhadap 123 serum menunjukkan bahwa ayam buras di Kecamatan Baktiya yang negatif mengandung antibodi sebanyak 107 (86,99%), sedangkan antibodi serum yang positif dapat mengenal antigen virus *Avian influenza* (H5N1) sebanyak 16 (13,01%) seperti yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Keberadaan antibodi serum ayam buras terhadap virus *Avian influenza* di Baktiya Kabupaten Aceh Utara

Antibodi	Jumlah (ekor)	Persentase (%)
Negatif	107	86,99
Positif	16	13,01
Total	123	100

Titer antibodi yang dimiliki oleh ayam buras berada dalam sebaran 2^3 sampai 2^7 , dimana sebanyak 6 (4,88%) memiliki titer antibodi 2^3 , sebanyak 7 (5,7%) memiliki titer antibodi 2^5 , dan 1 (0,81%) masing-masing memiliki titer antibodi berturut-turut 2^4 , 2^6 , dan 2^7 seperti yang disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Frekuensi titer antibodi ayam buras terhadap virus *Avian influenza* di Baktiya Kabupaten Aceh Utara

Titer Antibodi	Frekuensi (ekor)	Persentase (%)
2^0	107	86,99
2^1	0	0
2^2	0	0
2^3	6	4,88
2^4	1	0,81
2^5	7	5,70

2 ⁶	1	0,81
2 ⁷	1	0,81
2 ⁸	0	0
2 ⁹	0	0
Total	123	100

Protektivitas titer antibodi menunjukkan bahwa sebagian besar serum ayam buras yaitu 113 (91,87%) tidak memiliki antibodi yang memberi proteksi, dan hanya 10 (8,13%) yang memiliki proteksi kepada ayam dari serangan virus *Avian influenza* seperti disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Protektivitas titer antibodi ayam buras terhadap virus *Avian influenza* di Baktiya Kabupaten Aceh Utara

Titer Antibodi	Jumlah (ekor)	Persentase (%)
Tidak protektif (<2 ⁴)	113	91,87
Protektif (≥2 ⁴)	10	8,13
Total	123	100

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ayam buras peliharaan masyarakat di Kecamatan Baktiya Kabupaten Aceh Utara pernah terinfeksi oleh virus *Avian influenza* (Tabel 1). Infeksi virus *Avian influenza* kepada ayam kampung mungkin terjadi secara langsung atau kontak dengan bahan/peralatan, unggas atau hewan lainnya. Menurut Rimmelzwaan *et al.* (2006) bahwa kucing dapat berperan sebagai penyebar virus *Avian influenza*. Tingkat infeksi *Avian influenza* pada kucing menurut Tarigan *et al.* (2008) sangat tinggi, dan epidemiologi flu burung di Jawa Barat sangat dipengaruhi oleh keberadaan kucing liar.

Hewan lain yang dapat menyebarkan virus *Avian influenza* adalah primata (Rimmelzwaan *et al.*, 2001). Pamungkas *et al.* (2008) menyatakan bahwa indikasi kuat virus subtipe H5 dapat disebarkan melalui kera ekor panjang, dimana positif antibodi serum *Macaca fascicularis* terhadap *Avian influenza* mencapai 94%. Kurniawan dan Dwiyanto (2008) membuktikan bahwa 33,33% serum kucing pada beberapa pasar di wilayah Semarang mengandung antibodi positif terhadap *Avian influenza*. Arsan *et al.* (2008) membuktikan fakta bahwa peningkatan prevalensi virus *Avian influenza* pada bebek sangat mungkin terjadi karena semakin sering

adanya kontak antara unggas air liar, dan berpotensi sebagai awal muncul virus ganas virulen baru.

Menurut Basri *et al.* (2008) pasar unggas berperan sebagai tempat penularan/transmisi virus antar spesies karena bila ada unggas yang subklinis *Avian influenza*, yaitu unggas terinfeksi virus *Avian influenza* tetapi tidak menunjukkan gejala klinis maka oleh masyarakat unggas tersebut dianggap sehat. Selama penjualan unggas subklinis tersebut menyebarkan virus ke lingkungan sehingga menyebabkan hewan lain terpapar. Indriani *et al.* (2008) menyatakan bahwa beberapa pasar unggas di Pulau Jawa terkontaminasi virus *Avian influenza* yang mencapai 50%.

Hasil riset ini mendukung hipotesis bahwa virus *Avian influenza* telah menyebar ke seluruh propinsi di Indonesia. *Hot spot* (*contaminated area*) flu burung di wilayah lainnya menurut Purnamawati dan Sudarnika (2008) bahwa 7,16% serum ayam buras rakyat yang terdapat di Kabupaten Tasikmalaya Jawa Barat positif mengandung antibodi terhadap virus *Avian influenza*. Wijanarko *et al.* (2008) juga telah membuktikan 0,84% bahwa serum dari ayam yang tidak divaksin menunjukkan hasil positif terhadap *Avian influenza* di Kalimantan.

Tabel 2 menunjukkan bahwa titer antibodi ayam buras pada risrt ini bervariasi pada sebaran 2³ sampai 2⁷. Variasi titer antibodi dapat dipengaruhi oleh beberapa kondisi diantaranya adalah kesehatan ayam, jumlah virus yang menginfeksi, dan perbedaan waktu infeksi. Ayam yang sehat akan menunjukkan respons imun yang maksimal. Mekanisme imunitas dapat dipicu apabila dirangsang oleh paparan dosis virus yang cukup. Lamanya virus sudah menginfeksi ayam juga mempengaruhi titer antibodi. Hasil yang diperoleh pada riset ini mirip dengan temuan Purnamawati dan Sudarnika (2008) yang membuktikan juga bahwa titer antibodi serum ayam buras rakyat yang belum divaksin dengan vaksin *Avian influenza* tersebar pada sebaran 2¹ sampai 2⁷.

Hasil riset ini menunjukkan pula bahwa meskipun sebanyak 16 ekor (13,01%) serum ayam positif (Tabel 1), hanya 10 ekor

(8,13%) diantaranya memiliki antibodi yang bersifat protektif terhadap serangan virus *Avian influenza* (Tabel 3). Menurut OIE (2000) bahwa titer antibodi protektif terhadap serangan flu burung apabila memiliki titer antibodi $\geq 2^4$, yaitu inhibisi pada serum yang diencerkan 1 : 16 (2^4) atau log 2^4 yang menggunakan antigen 4 HAU.

Ayam buras yang tidak memiliki antibodi atau antibodi yang ada bersifat tidak protektif terhadap virus *Avian influenza* sangat berisiko apabila ayam terpapar oleh virus *Avian influenza* karena dapat menimbulkan kematian ayam yang mencapai 100%. Untuk menghindari kerugian ekonomi yang diakibatkan oleh morbiditas dan mortalitas ayam karena infeksi virus *Avian Influenza* maka diperlukan metode pengendalian secara imunoprofilaksis. Untuk menerapkan pengendalian flu burung secara imunoprofilaksis haruslah tersedia antigen yang tepat, akurat, dan mujarab untuk mencapai tujuan vaksinasi. Vaksinasi dapat merangsang respons imun ayam adalah terbentuknya antibodi spesifik (Camenisch *et al.*, 1999; Carlander, 2002; Hoffmann *et al.*, 2005 ; Hammond *et al.*, 2007 ; Darmawi *et al.*, 2010).

Riset kami terdahulu, ayam arab (*Breakel silver*) yang diimunisasi dengan vaksin komersial menunjukkan repons titer antibodi yang positif meningkat. Hal ini berarti bahwa vaksin komersial *Avian Influenza* (H5N1) bersifat imunogen karena terbukti dapat menggertak sistem imunitas ayam petelur yang berimplikasi pada terbentuknya antibodi di dalam serum yang memiliki titer antibodi $\geq 2^4$ pada bulan pertama pascavaksinasi. Frekuensi titer antibodi serum $\geq 2^4$ meningkat pada bulan kedua yang mencapai 100%, dan titer antibodi protektif 100% bertahan pada bulan ketiga pascavaksinasi (Darmawi dan Hambal, 2011).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ayam buras memiliki titer antibodi positif terhadap virus *Avian influenza*. Hal ini mengindikasikan bahwa virus *Avian*

influenza telah tersebar di Kecamatan Baktiya Kabupaten Aceh Utara.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan Kabupaten Aceh Utara yang telah mengirimkan sampel serum unggas ke Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala.

DAFTAR PUSTAKA

- Arsan Z., Febrianto, I., Collins, D., and Philippa, J., 2008. Evidence of Avian Influenza viruses of the H5 subtype in wild wandering whistling ducks (*Dendrocygna arcuata*) captured in Kalimantan for human consumption. *Proceeding of AZWMC*: 64 – 65. Bogor, 19 – 21 August.
- Basri C., Noor, G.M.S., Jatikusumah, A., dan Sunandar., 2008. Deteksi Sirkulasi virus Avian influenza H5N1 pada tempat penampungan ayam di Propinsi DKI Jakarta. *Proceeding of AZWMC*: 295 – 297. Bogor, 19 – 21 August.
- Camenisch G., Tini, M., Chilov, D., Kvietikova, I., Srinivas, V., Caro, J., Spielmann, P., Wenger, R. H., and Gassmann, M., 1999. General Applicability of Chicken Egg Yolk Antibodies: the Performance of IgY Immunoglobulins Raised Against the Hypoxia-inducible Factor 1 α . *J. FASEB*. 13: 81-88.
- Carlander D.. 2002. Avian IgY Antibody *in vitro* and *in vivo*. *Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Medicine* 1119, 53 pp. ACTA Universitatis Upsaliensis, Upsala.
- Darmawi, Hambal, M., dan Fakhurrrazi., 2010. Purifikasi Immunoglobulin yolk anti-*Avian influenza* dari kuning telur ayam arab. *Proceeding: National conference on chemical engineering and applications (ChESA)*, 538 -

547. Banda Aceh, 22 – 23 Desember.
- Darmawi dan Hambal, M., 2011. Respon antibodi serum ayam *Breakel silver* terhadap vaksin *Avian influenza*. *J. Kedokteran Hewan*, 5(2): 63 – 66.
- Hammond, E., 2007. Some Intellectual Property Issues Related to H5N1 Influenza Viruses, Research and Vaccines. The Sunshine Project. Third World Network. http://www.sunshine-project.org/flu/patent_report.pdf. (20 Juli 2008)
- Hoffmann, E., Lipatov, A.S., Webby, R.J., Govorkova, E.A., and Webster, R.G., 2005. Role of Specific Hemagglutinin Amino Acids in the Immunogenicity and Protection of H5N1 Influenza Virus Vaccines. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*. 102 (36): 12915 – 12920. <http://www.pnas.org/cgi/reprint/0506416102v1.pdf>. (26 Desember 2006)
- Indriani, R., Indi, N.P.L., Darminto, D., dan Adjid, R.M.A., 2008. Survey Avian influenza pada pasar unggas hidup, titik kritis untuk pengambilan sampel. *Proceeding of AZWMC: 261 -262*. Bogor, 19 – 21 August.
- Karaca, K., Swayne, D.E., Grosenbaugh, D., Bublot, M., Robles, A., Spackman, E., and Nordgren, R., 2005. Immunogenicity of Fowlpox Virus Expressing the Avian Influenza Virus H5 Gene (TROVAC AIV-H5) in Cats. *Clin Diagn Lab Immunol*. 12(11): 1340–1342. <http://cvi.asm.org/cgi/reprint/12/11/1340.pdf> (26 Desember 2006).
- Kurniawan, R.A., dan Dwiyanto, R., 2008. Deteksi antibody Avian influenza H5N1 pada kucing jalanan (*Felis silvestris catus*) di wilayah Semarang. *Proceeding of AZWMC: 311 – 312*. Bogor, 19 – 21 August.
- OIE, 2000. *OIE Manual of Standards for Diagnostic Test and Vaccines*, 4th ed. Paris: Office International des Epizooties. p: 216.
- Pamungkas, J., Iskandriati, D., Putra, M.A., and Setiawan, D., 2008. Antibodies to H5 Subtype of Avian influenza viruses in *Macaca fascicularis* in Indonesia. *Proceeding of AZWMC: 149 – 150*. Bogor, 19 – 21 August.
- Purnamawati, A., dan Sudarnika, E., 2008. Kajian hasil vaksinasi *Avian influenza* pada ayam buras rakyat di Kabupaten Tasikmalaya. *Proceeding of AZWMC: 281 – 283*. Bogor, 19 – 21 August.
- Rimmelzwaan, G.F., Kuiken, T., G. van Amerongen, Bestebroer, T.M., Fouchier, R.A.M., and Osterhaus, A.D.M.E., 2001. Pathogenesis of Influenza A (H5N1) Virus Infection in a Primate Model. *Journal of Virology*, p. 6687 - 6691, **75**(14) <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/75/14/6687?ijkey=45ab9cd965265f9ad98a95fe8abd8442dcb2990b> (26 Desember 2006)
- Rimmelzwaan, G.F., van Riel, D., Baars, M., Bestebroer, T.M., van Amerongen, G., Fouchier, R.A.M., Osterhaus, A.D.M.E., and Kuiken, T., 2006. Influenza A Virus (H5N1) Infection in Cats Causes Systemic Disease with Potential Novel Routes of Virus Spread within and between Hosts. *American J. of Pathol.* 168:176-183. <http://ajp.amjpathol.org/cgi/content/full/168/1/176> (26 Desember 2006).
- Tarigan, S., Darminto, Loth, L., Indriani, R., dan Indi, N.L.P., 2008. Infeksi virus flu burung pada kucing di Jawa Barat. *Proceeding of AZWMC: 308 – 310*. Bogor, 19 – 21 August.
- Wijanarko, Hadi, S., dan Kalianda, J.S., 2008. Surveilans program pembebasan Avian influenza (AI) di Kalimantan. *Proceeding of AZWMC: 270*. Bogor, 19 – 21 August.