

# DIAGNOSA VETERINER

**Buletin Informasi Kesehatan Hewan & Kesehatan Masyarakat Veteriner**

*Volume 16, Nomor 1, Tahun 2017*



**BALAI BESAR VETERINER MAROS**

**KEMENTERIAN PERTANIAN - DIREKTORAT JENDERAL PETERNAKAN DAN KESEHATAN HEWAN**

*Jl. DR. Sam Ratulangi, Kabupaten Maros, Sulawesi Selatan  
Telp. 0411-371105, Fax. 0411-372257*

*E-mail : [bbvetmaros@pertanian.go.id](mailto:bbvetmaros@pertanian.go.id), Website: [www.bbvet-maros.web.id](http://www.bbvet-maros.web.id)*



# KATA PENGANTAR

Diagnosa Veteriner Vol. 16, No. 1, Tahun 2017

*Alhamdulillah*, segala puji bagi Tuhan Yang Maha Kuasa. Atas rahmat dan karuniaNya Buletin Diagnosa Veteriner Vol. 16, No. 1, Tahun 2017 dapat diterbitkan. Buletin edisi ini kami menyajikan artikel “Kasus Pertama *Low Pathogenic Avian Influenza* Subtipe H9N2 pada Peternakan Ayam Petelur di Kabupaten Sidrap, Sulawesi Selatan Indonesia”. Artikel kedua, “aktivitas Beberapa *Chemical Germicide* Golongan *Formaldehyde* dan *Chlorin* terhadap Sampel Darah Anthraks pada Laboratorium”. Artikel terakhir ”Survey Triangulasi pada Hewan Domestik di Pulau Sulawesi : Hasil Pengujian *Round 1* Sulawesi Utara dan Gorontalo Tahun 2016”.

Redaksi membuka kesempatan kepada semua pihak yang berkepentingan dengan dunia veteriner dan peternakan untuk menyampaikan ide atau gagasan berupa karya ilmiah populer pengamatan lapangan, hasil penelitian atau review melalui buletin ini.

Redaksi mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari pembaca sebagai bahan pembelajaran untuk pengembangan Buletin Diagnosa Veteriner volume selanjutnya.

Maros, 24 April 2017

Redaksi

# DIAGNOSA VETERINER

Buletin Informasi Kesehatan Hewan dan  
Kesehatan Masyarakat

International Standard Serial Number (ISSN) : 0216 – 1486

Volume : 16

No : 3

Tahun : 2017

## SUSUNAN REDAKSI

Penanggung Jawab : Kepala Balai Besar Veteriner Maros

Pemimpin Redaksi : Kepala Seksi Informasi Veteriner

Penyunting/ editor : Kepala Bidang Pelayanan Veteriner  
drh. Dini Marmansari  
drh. Titis Furi Djatmikowati  
drh. Hadi Purnama Wirawan, M.Kes

Sekretariat : Suryani Gesha Utami, A.Md  
Marwati, S. Sos

# DAFTAR ISI

Diagnosa Veteriner Vol. 16, No. 1, Tahun 2017

	Halaman
Kata Pengantar .....	i
Susunan Redaksi .....	ii
Daftar Isi .....	iii
Kasus Pertama <i>Low Pathogenic Avian Influenza</i> Subtipe H9N2 pada Peternakan Ayam Petelur di Kabupaten Sidrap, Sulawesi Selatan Indonesia .....	1
Aktivitas Beberapa <i>Chemical Germicide</i> Golongan <i>Formaldehyde</i> dan <i>Chlorin</i> terhadap Sampel Darah Anthraks pada Laboratorium .....	14
Survey Triangulasi pada Hewan Domestik di Pulau Sulawesi : Hasil Pengujian <i>Round 1</i> Sulawesi Utara dan Gorontalo Tahun 2016 .....	22

## Kasus Pertama *Low Pathogenic Avian Influenza* Subtipe H9N2 pada Peternakan Ayam Petelur di Kabupaten Sidrap, Sulawesi Selatan Indonesia

Muflihanah<sup>1</sup>, Ernes Andesfha<sup>2</sup>, Hendra Wibawa<sup>3</sup>, Farida Camallia Zenal<sup>4</sup>, Ferra Hendrawati<sup>1</sup>, Siswani<sup>1</sup>, Wahyuni<sup>1</sup>, Dina Kartini<sup>2</sup>, Irma Rahayuningtyas<sup>2</sup>, Sulaxono Hadi<sup>1</sup>, Sri Mukartini<sup>2</sup>, Bagoes Poermadjaja<sup>3</sup>, Fadjar Sumping Tjatur Rasa<sup>5</sup>

1. Balai Besar Veteriner Maros
2. Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan
3. Balai Besar Veteriner Wates
4. Food and Agriculture Organization Organization Emergency Centre for Transboundary Diseases Indonesia
5. Direktorat Kesehatan Hewan

[muflibd@yahoo.com](mailto:muflibd@yahoo.com), [ernesandesfha@ymail.com](mailto:ernesandesfha@ymail.com), [hi.wibawa@gmail.com](mailto:hi.wibawa@gmail.com), [ferradic7@gmail.com](mailto:ferradic7@gmail.com), [fyca\\_farida@yahoo.com](mailto:fyca_farida@yahoo.com), [siswani.nink@yahoo.com](mailto:siswani.nink@yahoo.com), [wahyunipurnama@gmail.com](mailto:wahyunipurnama@gmail.com), [sulaxonohadi@yahoo.com](mailto:sulaxonohadi@yahoo.com), [bagoes208@yahoo.com](mailto:bagoes208@yahoo.com)

### Intisari

*Low pathogenic avian influenza* subtipe H9N2 virus pertama kali didiagnosa pada peternakan ayam layer di Kabupaten Sidrap Propinsi Sulawesi Selatan Indonesia pada Desember 2016 dengan gejala klinis berupa gangguan pada saluran pernafasan yang ditandai dengan muka bengkak, sesak nafas, *discharge* dari hidung, kurang nafsu makan dan feses berwarna kehijauan. Kejadian penyakit terjadi dalam kurun waktu 3 – 14 hari dengan tingkat mortalitas rata-rata dibawah 5 % dan terjadi penurunan produksi telur sebanyak 50 - 80%.

Dari hasil pengujian laboratorium dengan real time PCR menunjukkan positif *Avian Influenza Type A*, negatif subtype H5 dan H7 serta positif H9. Hasil isolasi virus pada Telur Embrio Bertunas (TAB) dengan uji rapid aglutinasi hasilnya tidak mengaglutinasi sel darah merah. Hasil histopatologi pada jaringan organ menunjukkan hasil *suspect* terhadap virus. Pengujian laboratorium dengan menggunakan teknik isolasi virus dan *real time* PCR. Dari isolasi virus setelah dilakukan penanaman di telur embrio, menunjukkan terjadi kematian embrio, seluruh organ embrio mengalami pendarahan, tetapi cairan allantois tidak mengaglutinasi sel darah merah ayam. Kemudian cairan allantois diambil untuk pengujian *real time PCR* menunjukkan hasil positif tipe A, negatif H5, negatif H7 dan positif H9.

Hasil Sequencing terhadap tiga isolat A/Chicken/Sidrap/07161511-1/2016, A/Chicken/Sidrap/07161511-61/2016, A/Chicken/Sidrap/07170094-44OA/2017 memiliki kesamaan genetik 98% H9N2. Hasil pohon filogenetik menunjukkan sampel yang diuji nampak dari kelompok atau lineage Asia Y280-H9N2.

-----  
Kata Kunci : *Avian Influenza, H9N2, Ayam petelur*

### Pendahuluan

Virus H9N2 adalah salah satu virus *avian influenza* (AI) yang memiliki sifat keganasan pada unggas yang rendah sehingga digolongkan dalam kelompok *low pathogenic avian influenza* (LPAI) (OIE, 2008). Virus ini telah ditemukan di beberapa negara di wilayah Asia, Timur Tengah dan Afrika, dimana menyebabkan kerugian ekonomi khususnya dari sektor pertanian/peternakan karena terjadi hambatan pertumbuhan dan fertilitas unggas serta penurunan produksi. Meskipun virus H9 di klasifikasikan LPAI, kematian di lapangan pernah dilaporkan lebih dari 50%. Virus ini juga berpotensi zoonotik karena kasus infeksi H9N2 pada manusia pernah dilaporkan di Hongkong, China, Bangladesh dan Mesir, serta telah dibuktikan bahwa virus ini berperan sebagai donor internal gen prekursor subtype virus lain, seperti H5N1 yang menyebabkan kasus flu burung (*bird flu*) pada manusia di Hong kong tahun 2007 atau H7N9 dan H10N8 di Cina pada tahun 2013 dan 2015 (Peacock, *et al.*, 2016)

Pada bulan Desember 2016 telah dilaporkan kasus penyakit pada ayam petelur di Kabupaten Sidrap, Sulawesi Selatan Indonesia dengan gejala klinis berupa gangguan pada

saluran pernafasan yang ditandai dengan muka bengkak, sesak nafas, *discharge* dari hidung, kurang nafsu makan dan feses berwarna kehijauan. Kejadian penyakit terjadi dalam kurun waktu 3 – 14 hari dengan tingkat mortalitas rata-rata dibawah 5 % dan terjadi penurunan produksi telur sebanyak 50 - 78%. Investigasi dan pengujian laboratorium dengan teknik *real time* PCR dan isolasi kasus penyakit dilakukan oleh Balai Besar Veteriner Maros (BBVet Maros), dilanjutkan dengan identifikasi agen penyakit dengan teknik virologi dan DNA sequencing bekerja sama dengan laboratorium *Sequencing Partner*, Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPMSOH), Bogor dan laboratorium rujukan AI Nasional, Balai Besar Veteriner Wates (BBVet Wates). Hasil investigasi dan identifikasi agen penyakit mengindikasikan bahwa gejala klinis dan patologis berupa penurunan produksi telur dan mortalitas pada ayam petelur disebabkan oleh virus LPAI subtipe H9N2. Peningkatan angka mortalitas kemungkinan bisa terjadi disebabkan oleh adanya infeksi sekunder bakteri sehingga memperparah derajat penyakit pada unggas.

## Materi dan Metode

### Koleksi Data Kasus

Investigasi dilakukan berdasarkan laporan dari Dinas yang membidangi fungsi peternakan dan kesehatan hewan pada tanggal 15 -17 Desember 2016 di Desa Tanete Kecamatan Maritengngae dan dilakukan penelusuran kembali pada tanggal 2 – 4 Februari 2017 berdasarkan hasil pengujian laboratorium dan laporan dari petugas bahwa kasus yang sama terjadi di Desa Bulu Kecamatan Pancarijang. Kemudian dilakukan pengumpulan data termasuk riwayat penyakit, spesies, gejala klinis, perkembangan tanda-tanda dari waktu ke waktu, lalu lintas, faktor lingkungan, pengambilan spesimen unggas dan lingkungan serta pengujian laboratorium.

### Pengujian Laboratorium

Pengujian laboratorium dilakukan dengan pemeriksaan patologi anatomi dan histopatologi, deteksi dan identifikasi agen penyakit dengan teknik *real time polymerase chain reaction* (RT-PCR) dengan algoritma deteksi AI dan isolasi dengan teknik kultur virus pada telur ayam bertunas di BBVet Maros.

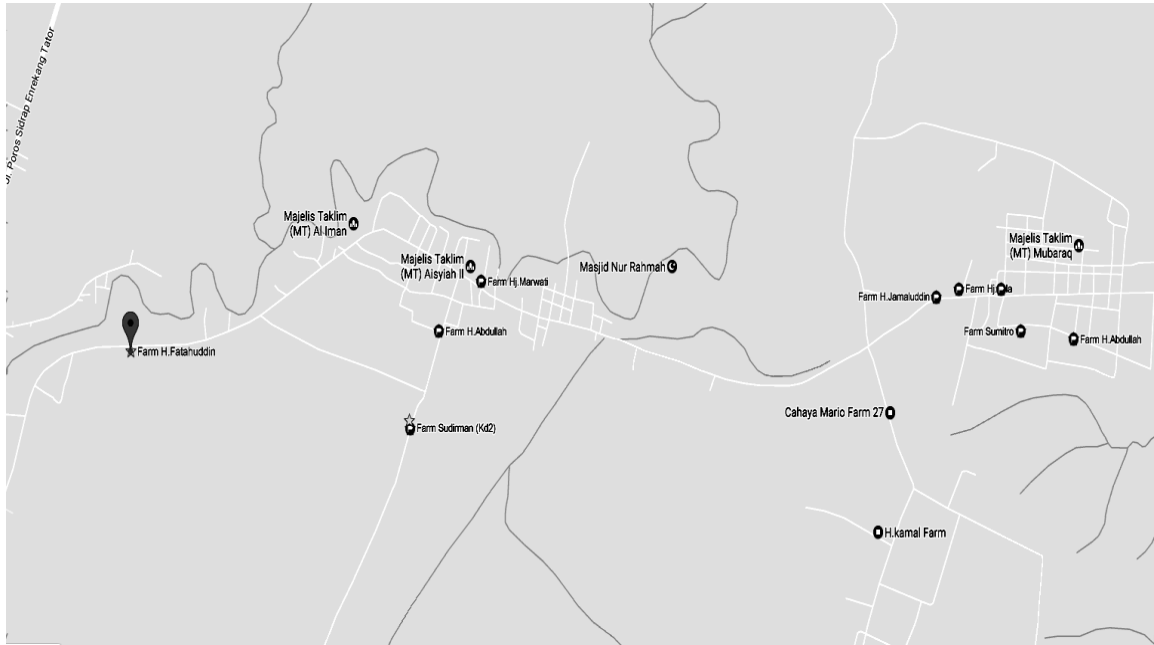
Identifikasi dan konfirmasi agen penyakit menggunakan teknik *Sanger dideoxy sequencing* AI dilakukan di BBPMSOH dan selanjutnya dengan teknik *Next Generation Sequencing* (NGS) di BBVet Wates. Prosedur Sanger DNA sequencing AI menggunakan protokol yang telah dikembangkan dan divalidasi oleh laboratorium rujukan OIE Asia Pasifik, *Australian Animal Health Laboratory* (AAHL) Australia, menggunakan sepasang primer dengan panjang amplicon 682 bp (H9-KD-654F: GACACAACAACGAGTGTGGC, H9-KD-1335R : GCCCATATA TCTTGGATTTGAT). Untuk primer N2 menggunakan reference dari Fereidouni *et al Veterinary Microbiology* 135 (2009) 253–260 dengan panjang amplicon 362 bp (IVA-N2-F : GCATGGTCCAGYTCAAGYTG, IVA-N2-R : CCYTTCCAGTTGTCTCT GCA).

## Hasil

### Investigasi kejadian penurunan produksi telur dan kematian unggas

Kasus penyakit di Kabupaten Sidrap terjadi pada ayam petelur mulai tanggal 1 Oktober 2016 sampai tanggal 2 Februari 2017. Berdasarkan laporan dan investigasi, kejadian kasus kematian unggas bermula dari Desa Tanete Kecamatan Maritengnga, Desa Bulu dan Desa Cipotakari Kecamatan Pancarijang serta Desa Talawe Kecamatan Watangsidenreng serta laporan terakhir kasus yang sama telah menyebar di sentra peternakan di Desa Allakuang Kecamatan Maritengngae dan Desa Teteaji Kecamatan Tellulimpoe. Laporan kasus penyakit baru di Desa Talawe Kecamatan Sidenreng diperoleh ketika tim berada di Desa Bulu

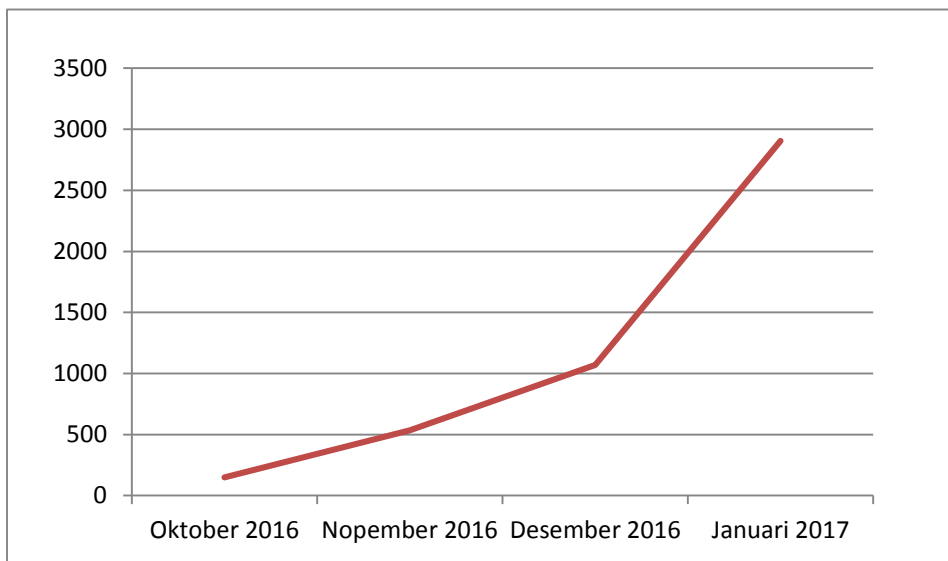
Kecamatan Pancarijang, dan kasus baru saja berlangsung selama dua hari. Lokasi kasus secara keseluruhan di Kecamatan Pancarijang dapat dilihat pada peta dibawah ini (Gambar 1)



Gambar 1. Lokasi Kasus

Tabel 1. Laporan Kematian Ayam secara keseluruhan di Kabupaten Sidrap

No	Bulan Kematian	Jumlah Kematian
1.	Oktober 2016	150
2.	Nopember 2016	536
3.	Desember 2016	1070
4.	Januari 2017	2905
<b>Total</b>		<b>4661</b>



Gambar 2. Kurva Epidemik kasus penyakit di Kabupaten Sidrap



Dari gambaran kurva epidemik, kematian unggas di mulai pada bulan Oktober 2016. Gambaran kurva epidemik pada kasus penyakit pada ayam petelur tertinggi pada bulan Januari 2017 dengan rata-rata angka mortalitis sebesar 2,73 %. Data kematian unggas dan penurunan produksi secara keseluruhan disimpulkan pada Tabel 2 di bawah ini :

Tabel 2. Data Kematian Ayam Petelur dan Penurunan Produksi Telur di Kecamatan Pancarijang, Kabupaten Sidrap

No	Tahun	Bulan	Desa	Pemilik	Populasi (Ekor)	Jumlah Kematian (Ekor)	Tingkat Mortalitas (%)	Produksi Telur (Rak/Hari)	Penurunan Produksi Telur (Rak/hari)	Tingkat Penurunan Produksi Telur (%)
1	2016	Nop	Tanete	Peternak 1	13800	100	0.72	500	200	60
2		Nop	Bulo	Peternak 1	6000	200	3.33	178	85	52.2
3		Des	Tanete	Peternak 2	6000	80	1.33	27	7	74.1
4		Des	Tanete	Peternak 3	1800	35	1.94	40	9	77.5
5		Jan	Cipotakari	Peternak 1	11000	450	4.09	150	40	73.3
6	2017	Jan	Bulo	Peternak 2	69000	500	0.72	1500	700	53.3
7		Jan	Bulo	Peternak 4	13000	200	1.54	200	100	50
8		Jan	Bulo	Peternak 5	14000	200	1.43	250	105	58
9		Jan	Bulo	Peternak 6	5500	200	3.64	80	53	33.8
10		Jan	Bulo	Peternak 3	20000	950	4.75	250	120	52
11		Jan	Cipotakari	Peternak 2	8000	140	1.75	203	70	65.5
12		Jan	Cipotakari	Peternak 3	8000	600	7.50	130	30	76.9
Rata-rata							2,73 %			<b>60,55%</b>

### Gejala Klinis dan Patologi Anatomi

Gejala klinis yang ditemukan pada ayam petelur dari kasus penyakit di beberapa lokasi di atas berupa gangguan pernafasan, muka bengkak, pial dan jengger sianosis, berak hijau, dan penurunan nafsu makan dan minum, hingga tidak mampu berdiri (Gambar 3). Telur yang dihasilkan dari peternakan yang terkena kasus nampak abnormal (ukuran kecil dan kerabang tipis dan mudah pecah) (Gambar 4):

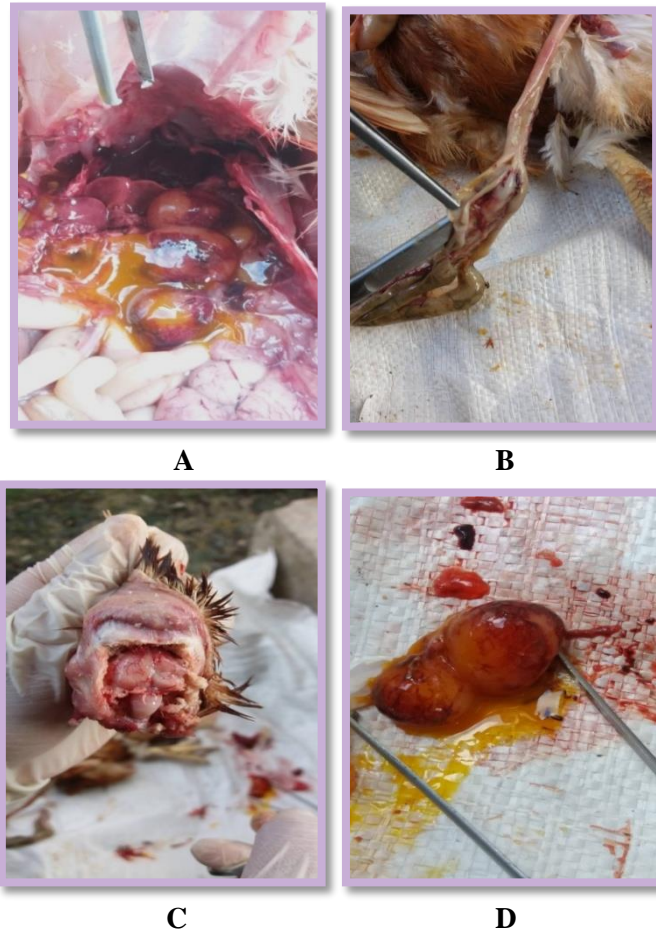


Gambar 3. Gejala Klinis pada Ayam

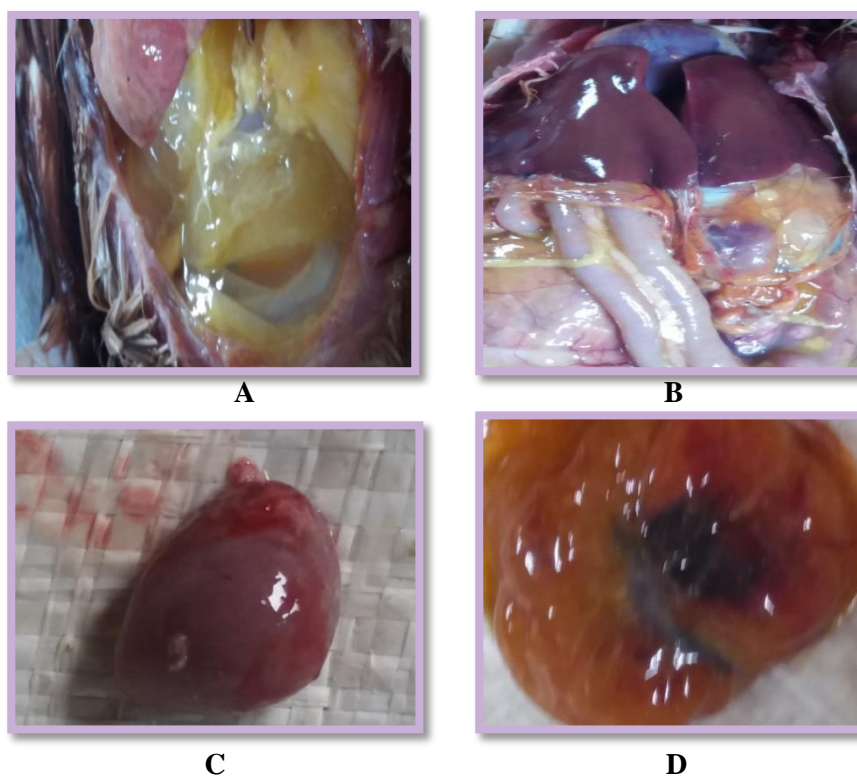


Gambar 4. Ukuran telur di bawah normal dan kerabang yang mudah pecah

Diagnosa awal/sementara dengan gejala klinis tersebut adalah sementara adalah IB (*Infectious Bronchitis*), dengan diagnosa banding adalah *Low Pathogenic AI*, EDS, ND, Colibacillosis, CRD. Namun setelah dilakukan nekropsis dari unggas yang menunjukkan sakit/mati tampak adanya pendarahan pada otot dada, pendarahan terjadi pada beberapa organ, pendarahan pada ovarium dan bentuk folikelnya tidak beraturan serta peradangan juga ditemukan pada saluran pernafasan (Gambar 5). Selain itu juga ditemukan adanya pendarahan dan kongesti pada bagian organ hati, usus, jantung dan otak serta limpa tampak membesar dan adanya titik pendarahan pada ovarium (Gambar 6).



Gambar 6. Perubahan Patologi pada Ayam (A) Pendarahan pada Organ Visceral, (B) Pendarahan pada Usus, (C) Pendarahan pada Otak, (D) Pendarahan pada Ovarium



Gambar 7. Perubahan Patologi pada Ayam Sakit (A) Lapisan jelly pada lemak perut (B) Hati dan serosa usus relatif normal, (C) Limpa membesar , (D) Terjadi titik pendarahan pada ovarium

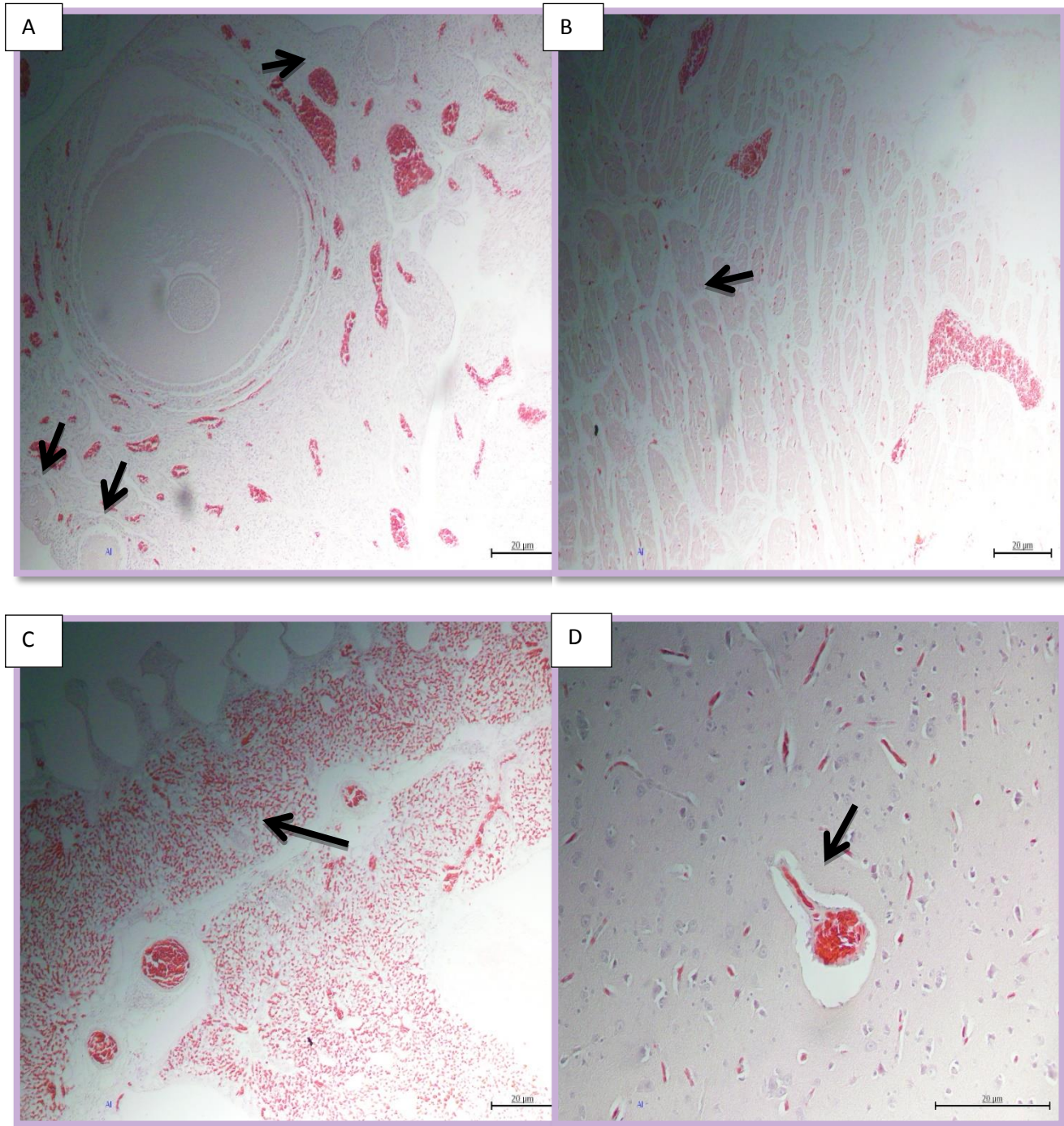
### Hasil pengujian Laboratorium : PCR dan Isolasi Agen Penyakit

Untuk mendeteksi keberadaan agen penyakit dari sampel-sampel ayam yang sakit/mati, dilakukan pengujian *realtime* PCR, isolasi agen, dan melihat gambaran histopatologi.

Tabel 3. Hasil Pengujian Real time PCR Kasus Pertama di Desa Tanete Kecamatan Maritenggae

No	No Epi	Kode Sampel	Hewan	Jenis Sampel	Jumlah Smapel	Hasil Uji (Ct Value)			
						MA	H5	H7	H9
1.	7161511	1 sd 5	Ayam Layer	Swab Oropharyngeal	5 (pooled)	25.17	Undet	Undet	22.27
2.	7161511	6 sd 10	Ayam Layer	Swab Oropharyngeal	5 (pooled)	28.8	Undet	Undet	28.35
3.	7161511	11 sd 15	Ayam Layer	Swab Oropharyngeal	5 (pooled)	38.11	Undet	Undet	Undet
4.	7161511	16 sd 20	Ayam Layer	Swab Oropharyngeal	5 (pooled)	32.05	Undet	Undet	30.35
5.	7161511	22 sd 26	Ayam Layer	Swab Oropharyngeal	5 (pooled)	37.18	Undet	Undet	38.99
6.	7161511	36 sd 40	Ayam Layer	Swab Oropharyngeal	5 (pooled)	33.34	Undet	Undet	34.77
7.	7161511	41 sd 45	Ayam Layer	Swab Oropharyngeal	5 (pooled)	28.32	Undet	Undet	28.5
8.	7161511	51 sd 55	Ayam Layer	Swab Oropharyngeal	5 (pooled)	33.88	Undet	Undet	33.34
9.	7161511	56	Ayam Layer	Swab Oropharyngeal	1	36.81	Undet	Undet	27.66
10.	7161511	57	Ayam Layer	Swab Oropharyngeal	1	22.51	Undet	Undet	22.03
11.	7161511	59	Ayam Layer	Swab Oropharyngeal	1	23.87	Undet	Undet	22.49
12.	7161511	61	Ayam Layer	Organ	1	21.15	Undet	Undet	19.41
Total					44				

Dari hasil pengujian laboratorium dengan real time PCR menunjukkan positif *Avian Influenza Type A*, negatif subtype H5 dan H7 serta positif H9. Hasil isolasi virus pada Telur Embrio Bertunas (TAB) dengan uji rapid aglutinasi hasilnya tidak mengaglutinasi sel darah merah. Hasil histopatologi pada jaringan organ menunjukkan hasil dugaan terhadap infeksi virus ditunjukkan pada Gambar 8 sebagai berikut :



Gambar 8. Hasil pengujian histopatologi (A). ovarium : banyak regresi sel telur dan perdarahan, (B) Jantung mengalami pembengkakan, (C) Paru-paru perdarahan diffuse, (D) Perivascular cuffing pada otak dan gliosis

Dari isolasi virus setelah dilakukan penanaman di telur embrio, menunjukkan terjadi kematian embrio, seluruh organ embrio mengalami pendarahan, tetapi cairan allantois tidak mengaglutinasi sel darah merah ayam.



Gambar 9. Pendarahan Pada Embrio

Kemudian cairan allantois diambil untuk pengujian *real time PCR* menunjukkan hasil positif tipe A, negatif H5, negatif H7 dan **positif H9**. Setelah dilakukan N typing hasilnya negatif N8, N6, N9 dan N1, tetapi positif N2. Hasil pengujian *real time PCR* dapat dilihat pada Tabel 4 di bawah ini:

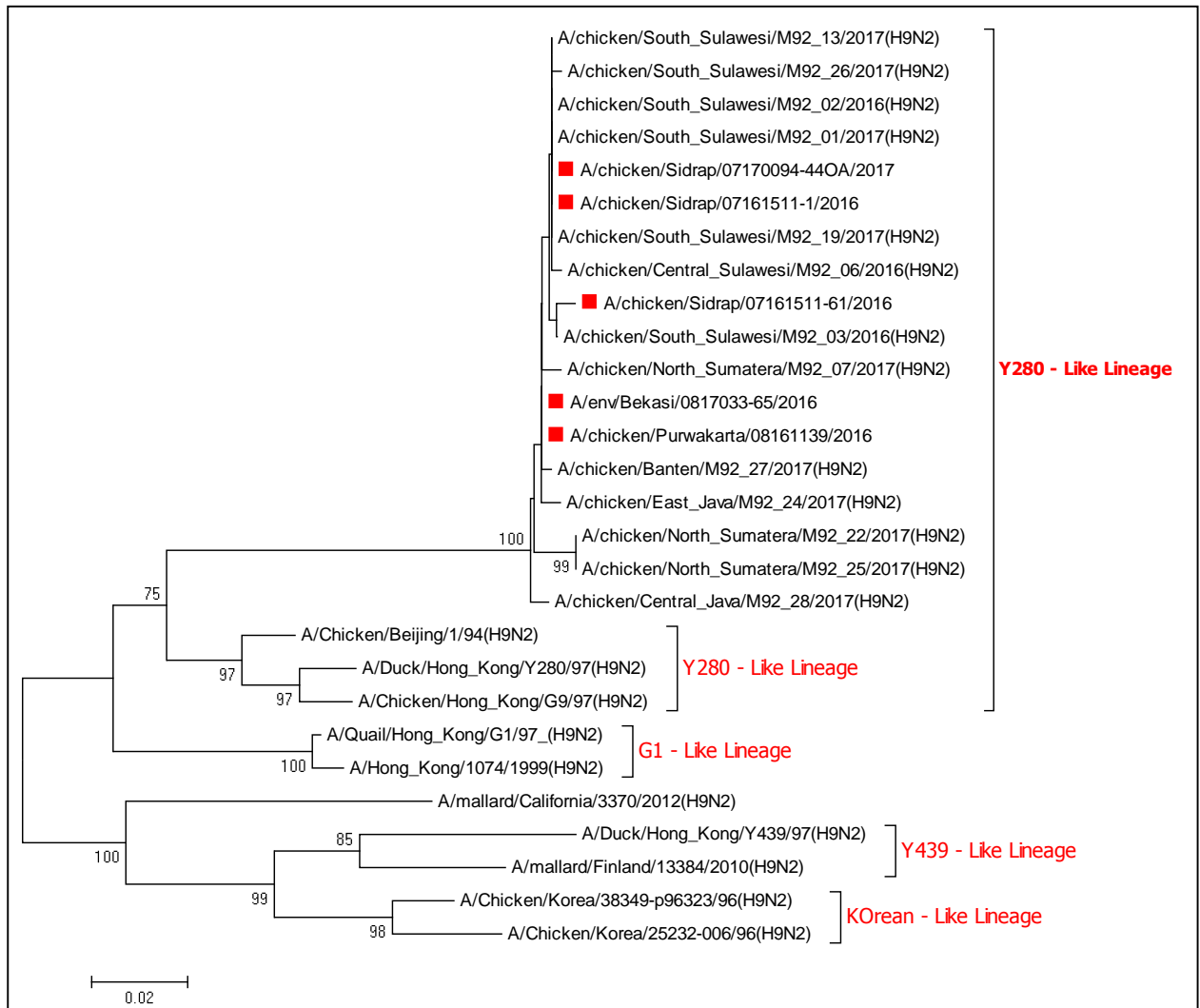
Tabel 4. Hasil Pengujian Real time PCR Cairan Allantois

No	No Epi	Kode Sampel	Hewan	Jenis Sampel	Tanggal Uji	Hasil Uji			
						MA	H5	H7	H9
1.	7170094	S2 (44)	Ayam Layer	allantois	8-Feb-17	26.2	Undet	Undet	32.35
2..	7170094	O2 (44)	Ayam Layer	allantois	8-Feb-17	13.79	Undet	Undet	15.42

Untuk konfirmasi pengujian maka dilakukan sequencing terhadap sampel yang memiliki nilai Ct yang tinggi. Sequencing gen hemagglutinin (HA) dilakukan di BBPMSOH Bogor dan *whole genome sequencing* di BBVet Wates. Identifikasi subtype HA telah dilakukan di BBPMSOH bersamaan dengan dengan sampel dari survei pada pasar unggar hidup/*live bird market* (LBM) dari FAO-Project pada LBM di wilayah Jabodetabek dimana telah terdeteksi positif H9N2 dengan teknik PCR. Adapun sampel yang diuji *DNA sequencing* yaitu A/Chicken/Sidrap/07161511-1/2016 (Ct : 22.27), A/Chicken/Sidrap/07161511-61/2016 (Ct : 19.41) dan A/Chicken/Sidrap/07170094-44OA/2017 (Ct : 15.42)

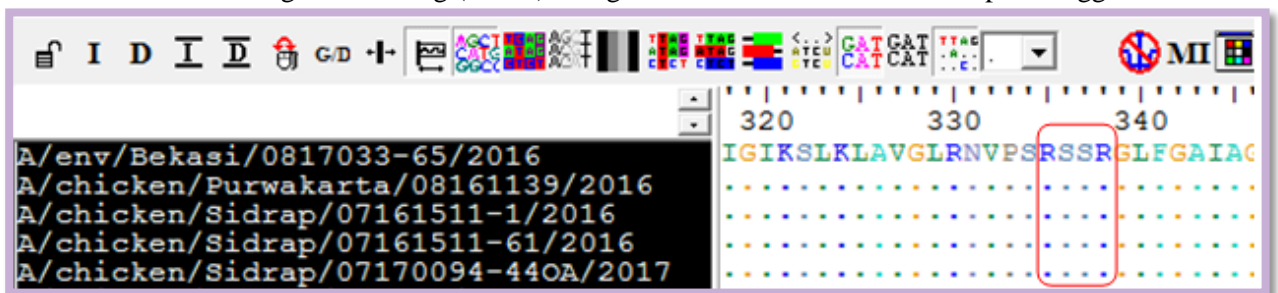
#### Analisis Filogenetik dan Molekuler Sekuens

Hasil analisa filogenetik gen HA menunjukkan bahwa sampel-sampel yang disequencing terdeteksi dan teridentifikasi sebagai virus AI sub tipe H9 dan diidkasikan memiliki kekerabatan genetik yang tinggi dengan virus-virus yang sebelumnya terdeteksi sebagai virus LPAI H9N2 .



**Gambar 10. Pohon filogenetik dari isolat-isolat H9N2 yang diisolasi dari ayam dan sampel lingkungan (sampel diberi tanda kotak merah). Analisis menggunakan NJ tree, dengan model substitusi nukleotida (Tamura-Nei (TN93) dengan 1000 bootstrap replikasi. Empat lineage yang digunakan yaitu Y280, G1, Y439 dan Korean – like lineage.**

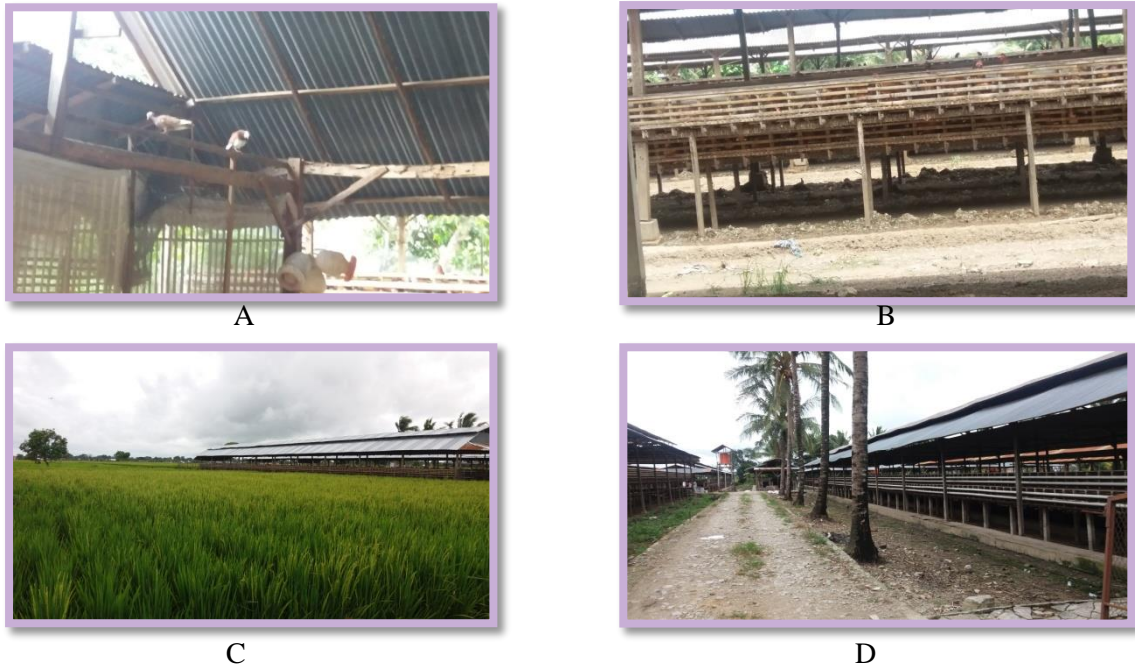
Motif CS isolat H9N2 Indonesia lainnya yang telah diupload di genbank juga memiliki motif CS yang sama yaitu RSSR. Menurut Li *et al.*, 2003 semua isolat H9N2 sekarang ini memiliki motif Arg-Ser-Ser-Arg (RSSR) sebagai karakteristik virus LPAI H9 pada unggas.



**Gambar 11. Motif asam-asam amino pada daerah cleavage site /pemotongan proteolitik (diberi kotak merah) dari isolat H9N2.**

## Pembahasan

Hasil kegiatan investigasi dan pengujian laboratorium menunjukkan bahwa kasus H9N2 terjadi sangat cepat dan menyebar di beberapa peternakan ayam petelur di Kabupaten Sidrap. Dari wawancara dengan peternak dan pemantauan di lokasi kasus, faktor risiko penyebaran terjadinya penyakit yaitu manajemen biosecurity yang masih rendah (pekerja dan keluarga pekerja yang bebas keluar masuk kandang, mobil pengangkut pakan, pengangkut feces tanpa adanya desinfeksi), banyaknya burung liar di dalam dan sekitar kandang, cuaca yang ekstrim, manajemen vaksinasi khususnya rantai dingin dan kebersihan kandang. Menurut El Houadfi *et al.*, 2016 bahwa kejadian H9N2 di Marocco, burung liar, unggas domestik dan manusia memberikan kontribusi terbesar dalam penyebaran H9N2.



Gambar 12. Faktor risiko penyebaran penyakit dari lingkungan (A) Burung Liar dalam Kandang, (B) Kebersihan di Bawah Kandang, (C) Lingkungan terbuka, (D) Akses lalu lintas

Tindakan yang dilakukan peternak yaitu pengobatan dengan antibiotik dan pemberian vitamin. Peternak ada yang memberikan antibiotik manusia ke masing-masing ayam. Bahkan beberapa peternak melaporkan bahwa ketika kasus penyakit terjadi ada yang melakukan vaksinasi AI, IB, ILT dan ND sehingga immunosupresif. Menurut Gu *et al.*, 2017 virus H9N2 akan mengakibatkan perubahan pada organ tubuh dan immunosupresif pada unggas yang terinfeksi. Vaksin AI yang digunakan sebagian besar menggunakan clade 2.3.2.1 dan beberapa peternak menggunakan clade 2.1.3. Ketika terjadi perbaikan kondisi ayam, produksi telur mulai meningkat tetapi telur yang dihasilkan ukurannya di bawah normal dan kerabang yang mudah pecah.

Hasil pohon filogenetik menunjukkan 5 sampel yang diuji nampak dari kelompok atau lineage Asia Y280-H9N2, demikian pula isolat H9N2 Indonesia yang telah diupload di genbank. Sebagaimana diketahui H9N2 lineages Y280 dan G1 banyak ditemukan pada unggas Asia terutama di ayam dan puyuh (Guan *et al.*, 2000, Li *et al.*, 2003). A/quail/Hongkong/G1/97 (G1-like) termasuk dalam menghasilkan *pathogenic* tinggi virus H5N1 pada tahun 1997 (Guan *et al.*, 1999) dan menjadi donor gen internal ke-6 pada unggas dan manusia isolasi virus H5N1 (Guan *et al.*, 2000). Virus A/duck/Hongkong/Y280/97 (Y280-like) terutama berhubungan dengan infeksi pada ayam yang menyebabkan gejala klinis ringan (Guan *et al.*, 2000) dan telah berhasil diisolasi pada babi di China Selatan (Peiris *et al.*, 2001).

Namun, jika diperhatikan lebih lanjut ada kecenderungan bahwa virus-virus LPAI H9N2 asal Indonesia membentuk *cluster* filogenetik tersendiri yang unik. Konfirmasi lebih lanjut apakah virus-virus H9N2 merupakan *cluster* lain dari lineage Y280 dapat dibuktikan setelah terkumpul beberapa isolat baru yang lebih lengkap sehingga *cluster* H9N2 Indonesia tersebut dapat didukung dengan data statistik dan jarak genetik yang signifikan.

Homologi nukleotida (nt) dan asam amino (aa) kelima sampel positif H9N2 yaitu 99.3 - 100% dan 98.9 - 100%. Sedangkan homologi nt dan aa terhadap sampel H9N2 Indonesia yang telah diupload di Genbank sebesar 98.6 - 100% dan 98.2 - 100%. Homologi kelima sampel terhadap lineage Y280 sebesar 88.2 - 89.5% (nt) dan 88.4-91.9% (aa), sedangkan terhadap lineage lainnya (G1, Korean dan Y439) yaitu 76.9-86.7% (nt) dan 84.2-88.4% (aa).

Hasil analisis asam amino pada bagian *cleavage site* (CS) bersifat *monobasic* yaitu RSSR (aa 335 - 338) (Gambar 10), dengan demikian dapat disimpulkan bahwa sampel-sampel yang diuji baik dari unggas dan LBM termasuk dalam kelompok *low pathogenic avian influenza*

*Receptor binding site* (RBS) adalah hal yang penting bagi spesifisitas reseptor sel dan menentukan variasi host (Gambaryan *et al.*, 2002, Ha *et al.*, 2001), residu asam amino pada posisi 110, 161, 163, 191, 198, 234, 235 dan 236 molekul HA. Dari lima sampel positif H9N2, terdapat satu sampel (A/chicken/Sidrap/07161511-61/2016) yang tidak dapat dianalisa asam amino bagian RBS dikarenakan hasil sequencing pada bagian awal kurang optimal. Hasil analisis asam amino keempat sampel lainnya yaitu pada asam amino 234 terdapat mutasi asam amino dari Q (Glutamine) menjadi L (Q234L, sedangkan asam amino tidak mengalami perubahan yaitu glycine (G236G). Substitusi Q234L pada HA protein pada virus kelompok HPAI berkontribusi terhadap patogenesitas pada mamalia dan meningkatnya afinitas virus AI terhadap  $\alpha 2, 6$  sialic acid reseptor yang ditemukan banyak terdapat pada saluran respirasi tikus dan manusia (Matrosovich *et al.*, 2001). Kajian Wan *et al* menyatakan substitusi Q234L ditemukan pada lineage G1, Y280 dan G9 yang diisolasi di Hongkong, memungkinkan virus H9N2 lebih mudah menginfeksi sel-sel yang tidak bersilia dan tumbuh lebih efisien di kultur sel epitel saluran nafas manusia sehingga meningkatkan keparahan infeksi pada manusia (Wan *et al.*, 2007). Perlu dikaji lebih lanjut dengan uji tantang pada beberapa spesies, termasuk mamalia, untuk membuktikan apakah perubahan asam-asam amino yang ditemukan berpengaruh pada peningkatan atau perubahan sifat pengikatan reseptor virus pada sel dan berpotensi patogenik pada mamalia.

Kajian Jakhesara *et al* 2014 tentang infeksi H9N2 pada layer ditemukan gejala klinis seperti kesulitan bernafas, kepala bengkak, *nasal discharge*, penurunan nafsu makan, jengger *cyanotic dan flock* yang terkena infeksi H9N2 gejala klinisnya terlihat selama 3-4 minggu dengan penurunan produksi sampai 40%. Persentase kematian 2-3% dan 10-30% pada *flock* unggas yang terkena di fase *grower* dan layer. Pemeriksaan *post mortem* ditemukan *fibrinocaseative* pada *sinus infraorbitalis*, kongesti pada mukosa trachea dengan material *caseos*, *edema* pada dinding *oviduct*, *fibrine plaques* pada ovarium dan sumbatan *caseos* pada percabangan Jakhesara *et al.*, 2014).

Beberapa laporan di negara lain menyebutkan bahwa virus LPAI H9N2 telah ditemukan pada unggas dan menyebabkan wabah penyakit AI dengan kerugian ekonomi yang tidak sedikit. Selama tahun 1990 outbreak di poultry yang disebabkan oleh subtype H9 terutama H9N2 telah dilaporkan di Jerman, Itali, Ireland, Afrika Selatan, USA, China dan Timur Tengah, Saudi Arabia dan Pakistan (Alexander, 2000, Banks, 2000). Pada tahun 1997 virus H9N2 telah diisolasi dari beragam spesies unggas termasuk ayam, bebek, kalkun, puyuh, angsa, merpati di wilayah Asia, Timur Tengah, Eropa dan Afrika dan untuk pertama kali dari manusia di Hong Kong dan China tahun 1999 (Peiris *et al.*, 1999, Peiris *et al.*, 2001, Guo *et al.*, 1999). H9N2 dapat muncul sebagai patogen pada manusia melalui reassortment pada host antara seperti babi (Peiris *et al.*, 2001). Virus H9N2 menyebabkan masalah penyakit yang signifikan pada unggas sehingga merugikan ekonomi yang besar karena terjadi penurunan produksi telur atau angka kematian yang tinggi dengan *co-infeksi* dengan infeksi patogen seperti *infectious bronchitis virus* (HaghighatJahromi *et al.*, 2008), *Staphylococcus aureus*, *Avibacterium paragallinarum*, *Escherichia coli* atau tekanan imunitas (Kishida *et al.*, 2004).



### Kesimpulan

Berdasarkan gejala klinis yang ditemukan, persentase mortalitas yang rendah, penurunan produksi yang sangat signifikan hingga 80%, kondisi dan kualitas telur yang ditemukan, status dan jenis vaksinasi yang telah dilakukan, serta pengujian laboratorium dengan teknik PCR dan hasil DNA sequencing dengan analisis BLAST, asam amino pada CS, dan filogenetik dapat disimpulkan bahwa kasus yang terjadi pada unggas di peternakan layer di Kabupaten Sidrap disebabkan oleh infeksi **virus AI dari golongan LPAI subtype H9N2**.

### Daftar Pustaka

- AAHL (2016). In House Australian Animal Health Laboratory (AAHL), Geelong, Australia.
- Alexander, D.J. (2000) A review of avian influenza in different bird species. *Vet. Microbiol.* 74: 3-13.
- Banks, J., Speidel, E.C., Harris, P.A. and Alexander, D.J. (2000). Phylogenetic analysis of influenza A viruses of H9 haemagglutinin subtype. *Avian Pathol.* 29: 353-360.
- Chaipan, C., Kobasa, D., Bertram, S., Glowacka, I., Steffen, I., Solomon Tsegaye, T., Takeda, M., Bugge, T., Kim, S., Park, Y., Marzi, A., & Pohlmann, S. (2009). Proteolytic Activation of the 1918 Influenza Virus Hemagglutinin *Journal of Virology*, 83 (7), 3200-3211 DOI: [10.1128/JVI.02205-08](https://doi.org/10.1128/JVI.02205-08)
- El Houadfi, M., Siham F., Saadia N., Jean-Luc G., Mariette F. D., 2016. First outbreaks and phylogenetic analyses of Avian Influenza H9N2 virus isolated from poultry flock in Morocco. *Virology Journal* 13:140
- Fereidouni S.R, Starick E, Grund C, Globig A, Mettenleiter T.C, Beer M, Harder T (2009). 260 Rapid molecular subtyping by reverse transcription polymerase chain reaction of the neuraminidase gene of avian influenza A viruses. *Veterinary Microbiology* 135 (2009) 253–260.
- Gambaryan A, Webster R, Matrosovich M (2002) Differences between influenza virus receptors on target cells of duck and chicken. *Arch Virol* 147: 1197–1208. 36.
- Gu, M., Lijun X, Xiaoquan, W., Xiufan, L.. 2017. Current situation of H9N2 subtype Avian Influenza in China. *Veterinary Research* DOI 10.1186/s13567-017-0453-2
- Guan, Y., K. F. Shortridge, S. Krauss, P. S. Chin, K. C. Dyrting, T. M. Ellis, R. G. Webster, and M. Peiris. 2000. H9N2 influenza viruses possessing H5N1-like internal genomes continue to circulate in poultry in southeastern China. *J. Virol.* 74:9372–9380
- Guan, Y., K. F. Shortridge, S. Krauss, and R. G. Webster. 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.
- Guo YJ, Li JW, Cheng I: Discovery of humans infected by avian influenza A (H9N2) virus. *Chin J Exp Clin Virol* 1999, 15:105-108.
- Ha Y, Stevens DJ, Skehel JJ, Wiley DC (2001) X-ray structures of H5 avian and H9 swine influenza virus hemagglutinins bound to avian and human receptor analogs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98: 11181–11186.
- HaghighatJahromi M, Asasi K, Nili H, Dadras H, Shooshtari AH: Coinfection of avian influenza virus (H9N2 subtype) with infectious bronchitis live vaccine. *Arch Virol* 2008, 153:651-655

- Hall, T (1999). Hall, T. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp Ser* 41: 95-98.
- Jakhesara, SJ, Bhatt VD, Patel NV, Prajapati KS, Joshi CG. 2014. Isolation and characterization of H9N2 influenza virus isolates from poultry respiratory disease outbreak. SpringerPlus 2014, 3:196.
- Kawaoka, Y., S. Krauss, and R. G. Webster. 1989. Avian-to-human transmission of the PB1 gene of influenza A viruses in the 1957 and 1968 pandemics. *J. Virol.* 63:4603–4608.
- Kida, H., T. Ito, J. Yasuda, Y. Shimizu, C. Itakura, K. F. Shortridge, Y. Kawaoka, and R. G. Webster. 1994. Potential for transmission of avian influenza viruses to pigs. *J. Gen. Virol.* 75:2183–2188.
- Kishida N, Sakoda Y, Eto M, Kida H: Co-infection of *Staphylococcus aureus* or *Haemophilus paragallinarum* exacerbates H9N2 influenza A virus infection in chickens. *Arch Virol* 2004, 149:2095-2104.
- Li, K. S., K. M. Xu, J. S. M. Peiris, L. L. M. Poon, K. Z. Yu, K. Y. Yuen, K. F. Shortridge, R. G. Webster, and Y. Guan. 2003. Characterization of H9 subtype influenza viruses from the ducks of southern China: a candidate for the next influenza pandemic in humans? *J. Virol.* 77:6988–6994.
- Matrosovich MN, Krauss S, Webster RG: H9N2 influenza A viruses from poultry in Asia have human virus-like receptor specificity. *Virology* 2001, 281:156-162.
- Peiris M, Yuen KY, Leung KH, Chan PL, Lai SIp, RW M, Orr K, Shortridge KF: Human infection with influenza H9N2. *Lancet* 1999, 354:916-917.
- Peiris S, Guan Y, Markwell D, Ghose P, Webster RG, Shortridge KF: Cocirculation of avian H9N2 and contemporary “human” H3N2 influenza A viruses in pigs in southeastern China: potential for genetic reassortment? *J Virol* 2001, 75:9679-9686.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipinski A, and Kumar S (2013) MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30: 2725-2729.
- Wan H, Perez DR: Amino acid 226 in the hemagglutinin of H9N2 influenza viruses determines cell tropism and replication in human airway epithelial cells. *J Virol* 2007, 81:5181-5191..

## Aktivitas Beberapa *Chemical Germicide* Golongan *Formaldehyde* dan *Chlorin* terhadap Sampel Darah Anthraks pada Laboratorium

Djatkowati<sup>1</sup>, Haeriah<sup>2</sup>, Hasniah<sup>2</sup>, Rahman<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Medik Veteriner, Balai Besar Veteriner Maros

<sup>2</sup> Paramedik Veteriner, Balai Besar Veteriner Maros

### Intisari

Anthraks merupakan penyakit endemis di Provinsi Sulawesi Selatan, anthraks juga merupakan penyakit zoonosis dan dapat berakibat fatal bagi manusia. Penanganan disposal terkait *biosecurity* dan *biosafety* haruslah diperhitungkan dalam budaya kerja di Balai Besar Veteriner Maros.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui beberapa aktivitas bahan kimia sebagai *chemical germicide* terhadap sampel darah yang teridentifikasi anthraks yaitu *Buffer Normal Formalin 1%*, *Buffer Normal Formalin 2%*, *Buffer Normal Formalin 5%*, *Buffer Normal Formalin 10%*, *Formalin 10%*, *Formalin 37%*, *Hypochlorite 1%*, *Hypochlorite 2%*, *Hypochlorite 5,25%* dengan variasi waktu kontak 5 menit, 10 menit, 15 menit, 30 menit dan 60 menit. Hasil penelitian pada penggunaan bahan kimia golongan *formaldehyde* yaitu BNF 10%, *Formalin 10%* dan *Formalin 37%* mampu menghambat pertumbuhan *B.anthraxis* dengan lama waktu kontak minimum adalah 5 menit. Sedangkan hambatan pertumbuhan *B.anthraxis* dengan masing-masing bahan kimia golongan *formaldehyde* yaitu BNF 1% terjadi setelah 15 menit, BNF 2 % setelah 30 menit, BNF 5% setelah 10 menit. Penggunaan *hypochlorite 1%* dengan waktu kontak 60 menit tidak mampu menghambat pertumbuhan *B.anthraxis*, konsentrasi *hypochlorite 2%* mampu menghambat dalam waktu kontak 60 menit, sedangkan *hypochlorite 5,25%* mampu menghambat pertumbuhan *B.anthraxis* dalam waktu kontak 15 menit. *Hypochlorite 2%*, *hypochlorite 5,25%*, BNF 1%, BNF 2 %, dan BNF 5% memiliki aktivitas *germicide* sama dengan BNF 10%, *Formalin 10%* dan *Formalin 37%*, namun aktivitas *germicide* terhadap *B.anthraxis* dari masing-masing *chemical* tersebut ditentukan oleh lamanya waktu kontak yang berbeda pula.

-----  
Kata kunci : anthraks, *chemical germicide*

### Pendahuluan

Anthrax dikenal sebagai penyakit *Charbon*, *Woolsolters disease*, *Ragpickers diseases*, *Malignant Carbuncle*, *Malignant Pustule* yang disebabkan oleh bakteri *Bacillus anthracis*, berbentuk batang berantai gram positif dengan panjang 3.0-5.0  $\mu\text{m}$  dan lebar 1.0-1.2  $\mu\text{m}$  dan membentuk spora. Penyakit anthrax secara primer menyerang *herbivora*, manusia dan *carnivora* dapat terserang secara langsung maupun tidak langsung melalui hewan maupun *animal product*. *B. anthracis* mempunyai 2 faktor pathogen yang menentukan keganasan yaitu toksin yang dibawa plasmid PX01 dan kapsul asam *glutamat poly-D* yang dibawa *plasmid PX02*. *Plasmid PX01* terdiri dari 3 komponen yaitu protective antigen (PA), oedema factor dan lethal factor, sedangkan *PX02* terdiri dari gen biosintetik kapsul ( *capB*, *capC* dan *capA*). Kapsul mempunyai peranan menghambat *phagocytosis* oleh leukosit pada hewan yang terinfeksi *B.anthraxis* sehingga pertumbuhan *B.anthraxis* menjadi tidak terkendali ( Songer,2005 ; OIE, 2012 ).

Hewan ruminansia dan kuda terinfeksi secara primer menyebabkan *septicaemia*, pada hewan *carnivora* kecenderungan mengalami *pharyngitis* daripada *septicaemia*. Infeksi pada manusia dapat melalui kulit ( 95 % *cutaneous form* ), inhalasi maupun ingesti ( *gastrointestinal form* ). Manusia yang berhubungan langsung dengan animal produk memiliki resiko cukup tinggi terinfeksi anthraks, tidak terkecuali pekerja laboratorium. Sehingga aspek *biosecurity* dan

*biosafety* haruslah diperhatikan dalam penanganan dan pengujian sampel yang dicurigai anthraks.

Kemampuan *B.anthraxis* bertahan hingga puluhan tahun karena kemampuannya untuk membentuk spora yang dipicu oleh nutrisi jelek, terpapar O<sub>2</sub>, sporulasi juga dipengaruhi PH, temperatur dan kalsium sehingga *B.anthraxis* resisten terhadap panas, desinfektan dan antibiotik. Spora *B.anthraxis* memiliki *Specific Organic Acid* sebagai energi untuk germinasi, dan *Small Acid Soluble Proteins* (SASPs) untuk mengikat dan melindungi DNA. Bagian spora terdiri dari:

1. *Cortex* berfungsi sebagai *heat resistance*, yang di dalamnya terdapat *germination-specific cortex-lytic-enzyme* (GSLE) sebagai reseptor germinasi
2. *Spore Coat* (50%) berfungsi sebagai *Chemical resistance* dan *physical disruption*
3. *Exosporium* berfungsi sebagai *adhesive surface* ( WHO, 2008).

Struktur dan sifat spora *B.anthraxis* tersebut mendukung kemampuan untuk bertahan dari berbagai kondisi alam (WHO, 2008). Hasil survei dan pengujian sampel tanah di Provinsi Sulawesi Selatan masih ditemukan adanya *B.anthraxis* sebesar 5,43% ( Djatmikowati, 2014).

Salah satu upaya pencegahan dan pemberantasan penyakit hewan menular khususnya anthraks adalah dengan desinfeksi lingkungan sekitar yang tercemar oleh bakteri *B.anthraxis*. Tentunya pemilihan desinfektan harus tepat yaitu memiliki aktivitas germicide yang cukup tinggi, aman bagi manusia dan lingkungan ( WHO, 2004 ).

Sesuai dengan standar WHO bahan yang paling efektif sebagai desinfektan untuk bakteri *B.anthraxis* adalah formalin 10% dan hypochlorite 10%. Diduga formalin mempunyai efek karsinogenik, sedangkan *hypochlorite* yang beredar di pasaran adalah *hypochlorite* dengan konsentrasi 5,25 %. Sehingga salah satu tujuan penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sejauh mana aktivitas bahan kimia golongan *chlorin* yang beredar dipasaran yang dapat berfungsi sebagai *germicide* terhadap bakteri *B.anthraxis* dibandingkan dengan golongan *formaldehyde*, yang tentunya sebagai alternatif bahan *chemical germicide* yang aman bagi manusia.

#### **Buffer Neutral Formalin ( BNF )**

*Buffer Neutral Formalin* 10% ( BNF 10% ) merupakan bahan standart untuk fiksasi sediaan histopatologi. Sediaan BNF 10% untuk kebutuhan laboratorium umumnya sudah tersedia dalam berbagai merek dagang. Namun dipasaran juga tersedia dalam kemasan cair 37-40% formaldehide (gas) dalam cairan dan bukan merupakan larutan buffer/penyangga. Penambahan NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> dan Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> atau penambahan NaCl dan Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> akan terbentuk larutan *buffer* (BNF). (<https://www.surrey.ac.uk/sites/default/files/formalin-fixative.pdf>)

#### **Sodium Hypochlorite ( NaClO )**

*Sodium hypochlorite* merupakan bahan kimia yang mempunyai kemampuan *germicide* berspektrum luas, fast -acting oxidant, berfungsi sebagai pemutih ( *bleach* ), bersifat sangat alkali dan korosif pada logam. Gas *chlorin* sangat *toxic*, harus disimpan dan digunakan dalam ruangan dengan ventilasi yang cukup. *Bleach* tidak boleh dicampur dengan bahan asam untuk mencegah cepatnya pengeluaran gas *chlorin*. Banyak produk *chlorin* yang sudah cukup aman untuk manusia dan lingkungan sehingga sangat memungkinkan *chlorin* dapat digunakan sebagai desinfektan ( WHO, 2004 ).

#### **Formaldehyde**

*Formaldehyde* ( HCHO ) merupakan gas yang dapat membunuh semua mikroorganisme dan spora pada temperatur 20<sup>0</sup> C, tetapi tidak efektif pada prion. *Formaldehyde* relatif *slow acting* dan membutuhkan level kelembaban hingga 70%. Pada pasaran umumnya tersedia dalam kemasan solid *polymer*, *paraformaldehyde*, tablet, maupun serpihan. Atau dalam bentuk formalin, yaitu dalam bentuk cairan dari gas dalam air sekitar 370 g/l ( 37% ) terdiri dari methanol (100ml/l) sebagai stabiiser. Kedua formulasi tersebut

dipanaskan digunakan untuk dekontaminasi dan desinfeksi *Biosafety Cabinet* dan ruangan. *Formaldehyde* ( formalin 5% dalam air) sebagai liquid desinfektan. *Formaldehyde* dicurigai sangat karsinogenik dan mempunyai bahaya iritan hidung, mata dan membran mukosa ( WHO, 2004 )

### Tujuan

1. Untuk mengetahui beberapa alternatif bahan kimia sebagai germicide terhadap *B.anthraxis*
2. Untuk mengetahui aktivitas beberapa bahan kimia yang terdapat di laboratorium yang dapat digunakan sebagai germicide terhadap *B.anthraxis* dengan berbagai pengenceran dan dengan beberapa variasi waktu kontak
3. Untuk mengetahui alternatif penggunaan *chemical germicide* yang efektif terhadap *B.anthraxis* dan aman bagi manusia.

### Materi dan Metode

Berbagai pengenceran bahan kimia golongan *formaldehyde* dan *Chlorin* digunakan dalam penelitian ini yang direaksikan dengan sampel darah positif *B.anthraxis* dengan beberapa waktu kontak ( *contact time* ). *Buffer Normal Formalin 1%*, *Buffer Normal Formalin 2%*, *Buffer Normal Formalin 5%*, *Buffer Normal Formalin 10%*, *Formalin 10%*, *Formalin 37%*, *Hypochlorite 1%*, *Hypochlorite 2%*, *Hypochlorite 2,5%*, dan *Hypochlorite 5,25%*.

Bahan sampel yang digunakan yaitu berupa sampel darah sapi yang teridentifikasi positif anthraks dan media yang digunakan yaitu *Blood Agar*. Perbandingan volume sampel darah dan bahan kimia 1 : 3, yaitu sebanyak 1 ml sampel darah dimasukkan ke dalam tabung venoject steril kemudian ditambahkan bahan kimia sebanyak 3 ml dan diculture pada media *Blood Agar* secara duplo dengan waktu kontak 5 menit, 10 menit, 15 menit, 30 menit dan 60 menit. Setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup> C, dilakukan pengamatan dan penghitungan koloni *B.anthraxis*.

### Hasil

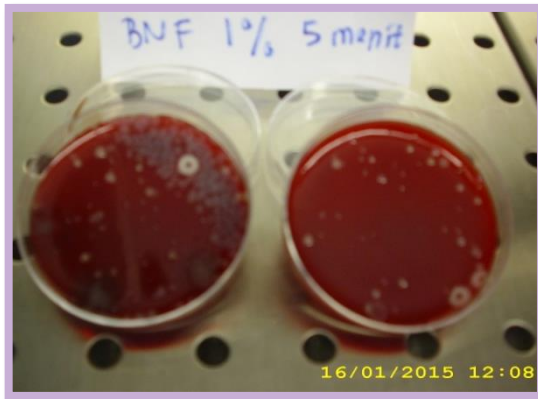
Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa formalin 10% dan formalin 37% dengan waktu kontak 5 menit mampu menghambat pertumbuhan *B.anthraxis* maupun bakteri lain pada media *Blood agar*.

Selengkapnya disajikan dalam tabel berikut.

Tabel 1. Aktivitas *Chemical Germicide* golongan Formaldehide terhadap *B.anthraxis*

Waktu	BNF 1%		BNF 2 %		BNF 5 %		BNF 10%		Formalin 10%		Formalin 37 %	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
	No Plate (Ulangan)											
5 ‘	+( 100*)	+(100*)	+(50*)	+(50*)	+(1*)	+(1*)	-	-	-	-	-	-
10 ‘	+( 48*)	+(78*)	+(40*)	+(2*)	-	-	-	-	-	-	-	-
15 ‘	-	-	+(4*)	+(5*)	-	-	-	-	-	-	-	-
30 ‘	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60 ‘	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

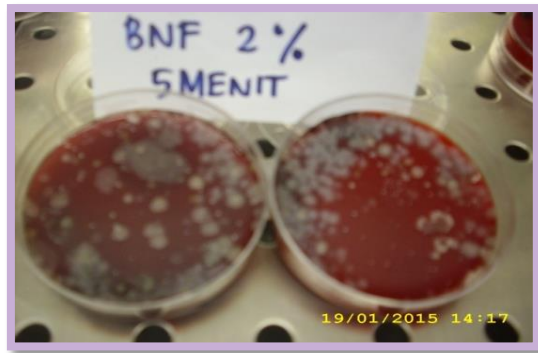
\*= Jumlah koloni *B.anthraxis*



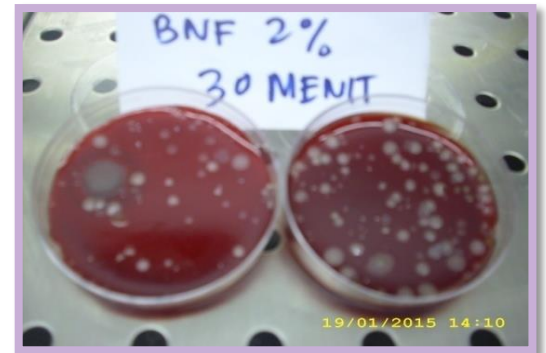
Gambar 1. Aktivitas BNF 1% selama 5 menit terhadap *B.anthraxis*



Gambar 2. Aktivitas BNF 1% selama 30 menit tidak ditemukan koloni *B.anthraxis*



Gambar 3. Aktivitas BNF 2% selama 5 menit terhadap *B.anthraxis*



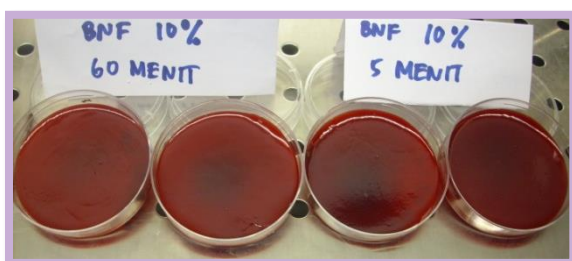
Gambar 4. Aktivitas BNF 2% selama 30 menit terhadap *B.anthraxis*



Gambar 5. Aktivitas BNF 5% selama 5 menit masih terdapat 1 koloni *B.anthraxis*



Gambar 6. Aktivitas BNF 5% selama 10 menit sudah tidak terdapat koloni *B.anthraxis* namun terdapat koloni bakteri lain



Gambar 7. Aktivitas BNF 10% selama 5 menit sudah tidak terdapat koloni *B.anthraxis* namun terdapat koloni bakteri lain



Gambar 8. Aktivitas Formalin 10% selama 5 menit sudah tidak terdapat koloni *B.anthraxis* namun terdapat koloni bakteri lain



Gambar 9. Aktivitas Formalin 37% selama 5 menit sudah tidak terdapat koloni *B.anthraxis* maupun koloni bakteri lain



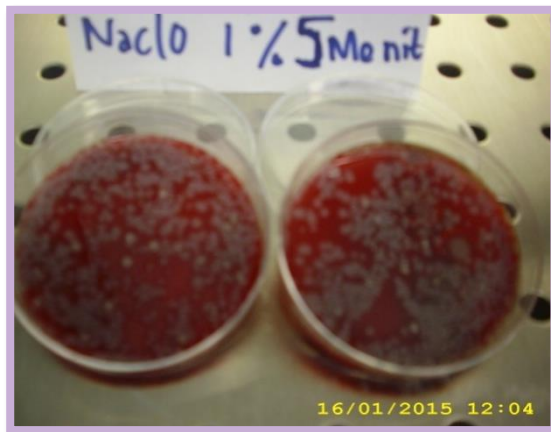
Gambar 10. Kontrol Positif tanpa perlakuan dan kontrol negatif

Tabel 2. Aktivitas *Chemical germicide Hypochlorite* terhadap *B.anthraxis*

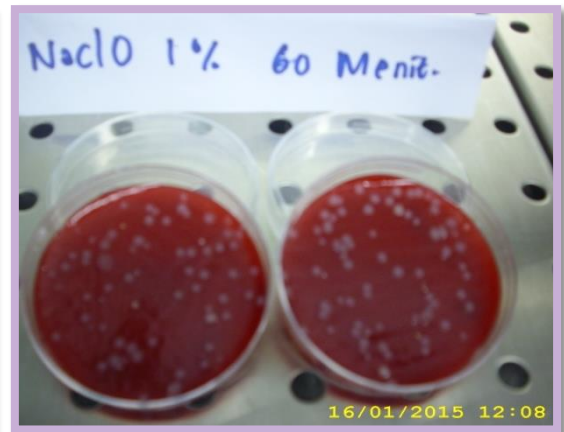
Waktu	Hypochlorite 1%		Hypochlorite 2 %		Hypochlorite 5,25 %	
	1	2	1	2	1	2
	No Plate (Ulangan)					
5'	+( >150*)	+( >150*)	+( >100*)	+ (100*)	+(5*)	+(4*)
10'	+( >150*)	+( >150*)	+( >100*)	+ (83*)	-	+(5*)
15'	+( >150*)	+( >150*)	+ (70*)	+ (80*)	-	-
30'	+( >136*)	+( >200*)	+(3*)	+(3*)	-	-
60'	+(63*)	+( >52*)	-	-	-	-

\*= Jumlah koloni *B.anthraxis*

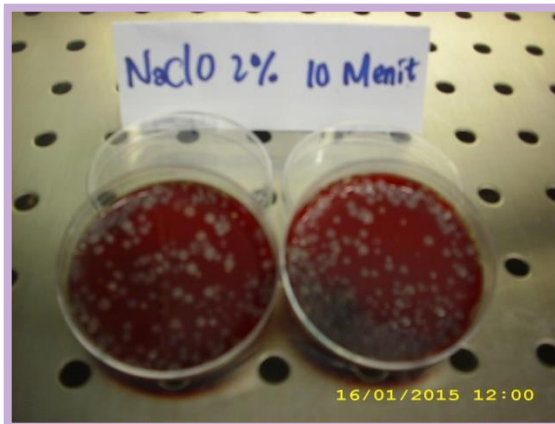
Pada tabel 2 menunjukkan bahwa sodium hypochlorite 5,25% dengan waktu kontak 10 menit dan formalin 37% dengan waktu kontak 5 menit merupakan kondisi minimum yang mampu menghambat pertumbuhan *B.anthraxis* maupun bakteri lain pada media *Blood Agar*.



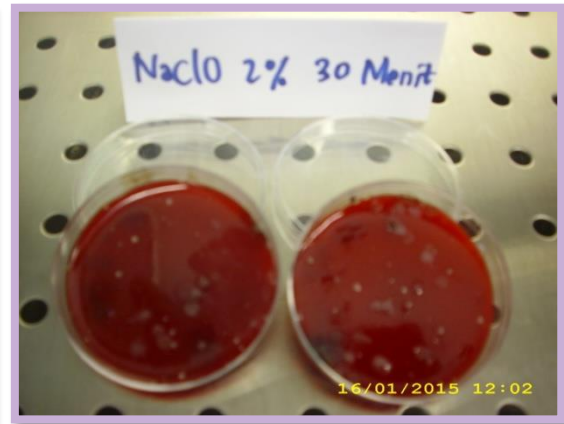
Gambar 11. Aktivitas NaClO 1% selama 5 menit belum mampu menghambat pertumbuhan terdapat koloni *B.anthraxis*



Gambar 12. Aktivitas NaClO 1% selama 60 menit belum mampu menghambat pertumbuhan terdapat koloni *B.anthraxis*



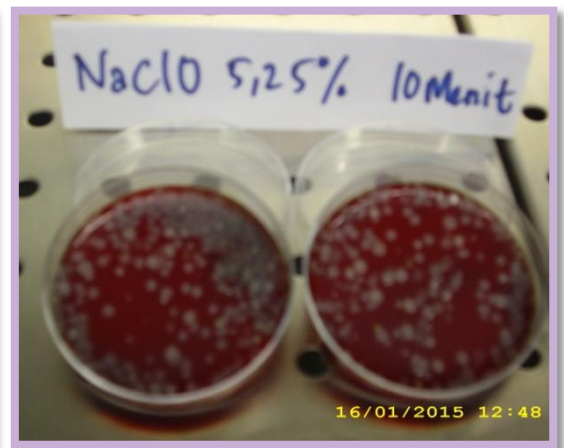
Gambar 13. Aktivitas NaClO 2% selama 10 menit belum mampu menghambat pertumbuhan terdapat koloni *B.anthraxis*



Gambar 14. Aktivitas NaClO 2% selama 30 menit belum mampu menghambat pertumbuhan terdapat koloni *B.anthraxis*

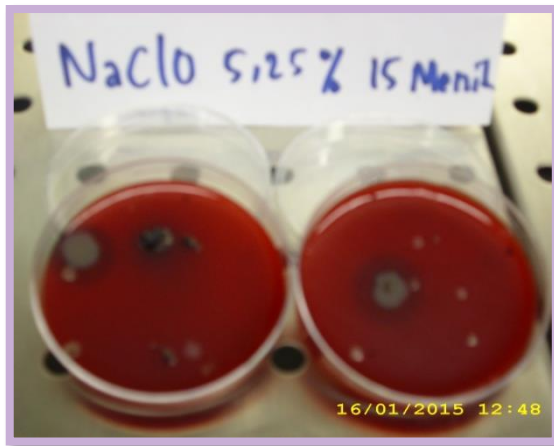


Gambar 15. Aktivitas NaClO 2% dalam waktu 60menit mampu menghambat pertumbuhan terdapat koloni *B.anthraxis*

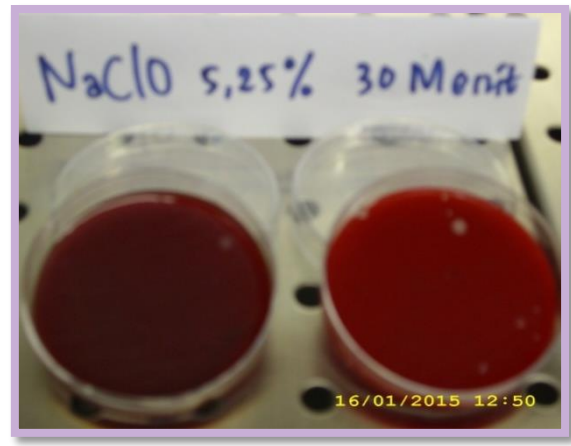


Gambar 16. Aktivitas NaClO 5,25 % selama 10 menit belum mampu menghambat pertumbuhan terdapat koloni *B.anthraxis*





Gambar 17. Aktivitas NaClO 5,25% selama 15 menit mampu menghambat pertumbuhan terdapat koloni *B.anthraxis*



Gambar 18. Aktivitas NaClO 5,25% selama 30 menit mampu menghambat pertumbuhan terdapat koloni *B.anthraxis*

Beberapa pengenceran *formaldehyde* maupun BNF juga mampu menghambat pertumbuhan *B.anthraxis* hal ini tentunya dapat digunakan dalam upaya penghematan bahan atau biaya tetapi harus betul-betul diperhatikan waktu kontak dalam penanganan anthrax. Hasil penelitian tersebut juga dapat diketahui bahwa penggunaan bahan kimia golongan formaldehyde 10% mempunyai aktivitas *chemical germicide* dengan minimal waktu kontak 5 menit paling efektif terhadap *B.anthraxis*.

Penggunaan *hypochlorite* ( NaClO ) 2% baru mampu menghambat pertumbuhan *B.anthraxis* dengan minimal waktu kontak 60 menit, sedangkan *hypochlorite* ( NaClO ) 5,25% mampu menghambat pertumbuhan *B.anthraxis* dengan minimal waktu kontak 15 menit. Semakin lama waktu kontak tentunya sangat dimungkinkan akan semakin tinggi kemampuan *chemical germicide* tersebut dalam menghambat pertumbuhan *B.anthraxis*.

### Kesimpulan dan Saran

Pemilihan bahan kimia sebagai *chemical germicide* terhadap *B.anthraxis* dapat dilakukan dari kemampuan menghambat pertumbuhan *B.anthraxis* dengan masing-masing waktu kontak yang berbeda pula.

1. BNF dapat digunakan sebagai *chemical germicide* terhadap *B.anthraxis* dalam berbagai pengenceran sebagai berikut:
  - BNF 1% mampu menghambat pertumbuhan *B.anthraxis* minimal waktu kontak selama 15 menit
  - BNF 2% mampu menghambat pertumbuhan *B.anthraxis* minimal waktu kontak selama 30 menit
  - Penggunaan BNF 2% sebagai *chemical germicide* minimal selama 30 menit
2. *Hypochlorite* ( NaClO ) dapat digunakan sebagai *chemical germicide* dalam berbagai pengenceran sebagai berikut:
  - *hypochlorite* 2% mampu menghambat pertumbuhan *B.anthraxis* dalam waktu kontak minimal 60 menit
  - *hypochlorite* 5,25% mampu menghambat pertumbuhan *B.anthraxis* dalam waktu kontak minimal 15 menit
3. Penggunaan *chemical germicide* yang paling efektif terhadap *B.anthraxis* adalah golongan *Formaldehyde* 10% dengan waktu kontak minimal 5 menit.

### **Daftar Pustaka**

- Anonimus, 2004. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual. 3rd-ed. ISBN 92 4 154650 6. Malta
- Anonimus, 2017. University of Surrey. Formalin Fixative. <https://www.surrey.ac.uk/sites/default/files/formalin-fixative.pdf>.
- [Anonimus, 2008. Anthrax in Human and Animal. Fourth Edition. World Health Organization Press. Appia-Avenue-Geneva-Switzerland](#)
- Songer, J.G., Post, K.W., 2005. Veterinary Microbiology. Bacterial and Fungal of Animal Disease. Chapter 7-The Genus Bacillus. p 61-71. Elsevier Inc. St.Louis -Missouri
- Anonimus, 2011. Anthrax di Nusa Tenggara. ISBN: 978-079-628-024-7. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan-Australian Center for International agricultural Research

## Survey Triangulasi pada Hewan Domestik di Pulau Sulawesi : Hasil Pengujian *Round 1* Sulawesi Utara dan Gorontalo Tahun 2016

Muflihanah<sup>1</sup>, Ferra Hendrawati<sup>1</sup>, Faizal Zakaria<sup>1</sup>, Titis Furi Djatmikowati<sup>1</sup>, Wiwik Dariani<sup>1</sup>, Fitri Amaliah<sup>1</sup>, Supri<sup>1</sup>, Taman Firdaus<sup>1</sup>, Sitti Hartati Said<sup>1</sup>, Sulaxono Hadi<sup>1</sup>, Farida Camalia Zenal<sup>2</sup>, Ali Risqi Arasy<sup>2</sup>, Nining Hartaningsih<sup>2</sup>, Audi Tri Harsono<sup>2</sup>

1. Balai Besar Veteriner Maros

2. Food and Agriculture Organization Emergency Centre for Transboundary Diseases Indonesia

[mufliibd@yahoo.com](mailto:mufliibd@yahoo.com), [ferradic7@gmail.com](mailto:ferradic7@gmail.com), [faizaldic@gmail.com](mailto:faizaldic@gmail.com), titis [furi@yahoo.co.id](mailto:furi@yahoo.co.id), [wiwikdaeiani@yahoo.com](mailto:wiwikdaeiani@yahoo.com), [fite\\_amaliah@yahoo.com](mailto:fite_amaliah@yahoo.com), [muh\\_fakhry01@gmail.com](mailto:muh_fakhry01@gmail.com), [hartaty.said@yahoo.com](mailto:hartaty.said@yahoo.com), [sulaxonohadi@yahoo.com](mailto:sulaxonohadi@yahoo.com), [fyca\\_farida@yahoo.com](mailto:fyca_farida@yahoo.com), ali [arasy@gmail.com](mailto:arasy@gmail.com), [drnining@gmail.com](mailto:drnining@gmail.com), auditri [harsono@gmail.com](mailto:harsono@gmail.com).

Penyakit zoonosis berdampak pada manusia dan ekonomi secara global. Terdapat kurang lebih 75% penyakit yang baru muncul (*emerging diseases*) merupakan zoonosis. Dalam era globalisasi dan perdagangan, perjalanan penyakit ini sangat cepat berpengaruh pada kesehatan masyarakat dan ekonomi. Melalui program USAID-EPT 2 program, FAO ECTAD Indonesia berkolaborasi dengan Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan (BBVet Maros) dan PREDICT2 melakukan surveilans triangulasi dan pengumpulan sampel ternak (hewan domestik) dalam rangka memahami potensi penularan patogen dari satwa liar ke hewan domestik dan manusia.

Tujuan surveilans triangulasi adalah untuk mengidentifikasi ancaman virus zoonosis pada *interface* penularan patogen pada ternak dari satwa liar yang berisiko tinggi, mengidentifikasi faktor biologi yang menggerakkan munculnya, penularan dan penyebaran penyakit zoonosis pada ternak dan kaitannya dengan satwa liar serta memperkirakan risiko relatif *spillover* patogen yang tidak dikenal atau dikenal dari satwa liar ke hewan domestik, yang memungkinkan penularan virus zoonosis antar wilayah.

Desain surveilans adalah berbasis risiko untuk meningkatkan kemungkinan deteksi virus. dengan populasi target hewan domestik yang ditanakkan (sapi, kerbau, kuda, babi, kambing) yang memiliki keterkaitan (*interface*) yang tinggi dengan satwa liar di dua Kabupaten Provinsi Gorontalo (Kabupaten Boalemo dan Kabupaten Pohuwato) dan Sulawesi Utara (Kabupaten Bolaang Mongondow, Minahasa Selatan, Minahasa dan Kota Tomohon).

Telah dilakukan pengujian terhadap 172 sampel swab rektal untuk mendeteksi lima target family virus yaitu *Influenza (HPAI, Human Flu)*, *Paramyxovirus (Nipah, Hendra)*, *Coronavirus (SARS, MersCov)*, *Filovirus (Ebola)*, *Flavivirus (JE)* menggunakan protokol PREDICT dengan teknik PCR konvensional. Hasil menunjukkan sebanyak 6,97% sampel presumtif positif terhadap Influenza A, 0,58% presumtif positif terhadap paramyxovirus, dan 172 sampel presumtif negatif terhadap *Coronavirus*, *Flavivirus* dan *Filovirus*.

-----  
*Kata Kunci : Surveilans Triangulasi, Hewan Domestik, Family virus*

### Pendahuluan

Penyakit zoonosis berdampak pada manusia dan ekonomi secara global. Terdapat kurang lebih 75% penyakit yang baru muncul (*emerging diseases*) merupakan zoonosis. Dalam era globalisasi dan perdagangan, perjalanan penyakit ini sangat cepat berpengaruh pada kesehatan masyarakat dan ekonomi. Mayoritas *Emerging Infectious Diseases* (EIDs) pada manusia merupakan zoonosis, berasal dari satwa liar dan sebagian besar disebabkan oleh virus diantaranya *Avian Influenza*, *Severe Acute Respiratory Syndrome* (SARS), Nipah Virus, Ebola, MERS-CoV yang menjadi ancaman dunia (Anthony *et al.*, 2013). Zoonosis muncul di satwa liar dan mampu menginfeksi hewan domestik dan manusia. Munculnya *acquired immune deficiency syndrome* (AIDS) yang disebabkan oleh *virus* (HIV) karena adanya kontak manusia dan satwa primata. Wabah Ebola manusia pertama kali di dunia karena adanya kontak dengan

kera besar tertular yang diburu untuk dimanfaatkan dagingnya. Munculnya wabah SARS di Cina disebabkan oleh virus corona dihubungkan dengan perdagangan internasional carnivora kecil. Burung-burung liar merupakan reservoir virus *West Nile* dimana virus ini menjadi penyebab wabah pada burung yang terus berlanjut dan berpindah ke manusia dan kuda (Naipospos, 2010). Epidemik virus Nipah yang awalnya ditemukan pada kelelawar kemudian menular ke babi dan selanjutnya ke manusia yang menyebabkan kematian lebih dari 100 orang di Malaysia dan Singapura (Lim *et al.*, 2002).

Dalam upaya untuk mengidentifikasi dan respon terhadap penyakit zoonosis baru sebelum menyebar ke manusia, *U.S. Agency for International Development (USAID)* membentuk *Emerging Pandemic Threats (EPT)*. Program EPT terdiri dari empat proyek: PREDICT, RESPOND, IDENTIFY dan PREVENT. PREDICT berusaha untuk mengidentifikasi penyakit menular baru yang bisa menjadi ancaman bagi kesehatan manusia. PREDICT melakukan penelitian yang berfokus pada satwa liar yang paling mungkin untuk membawa penyakit zoonosis seperti kelelawar, tikus, dan primata non-manusia. Sehingga berdasarkan hal tersebut maka dilakukan surveilans tertarget untuk mengoptimalkan langkah-langkah pencegahan dan pengendalian serta mengurangi ancaman penyakit *EID zoonosis* pada masa yang akan datang. Melalui program USAID-EPT 2 program, FAO ECTAD Indonesia berkolaborasi dengan Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan dan PREDICT2 melakukan surveilans triangulasi dan pengumpulan sampel ternak (hewan domestik) dalam rangka memahami potensi penularan patogen dari satwa liar ke hewan domestik dan manusia.

## Materi dan Metode

### Rancangan Studi

Desain surveilans ini merupakan *survey longitudinal* dengan pengambilan sampel ternak di wilayah yang sama dan pada waktu yang sama dengan pengambilan sampel satwa liar oleh PREDICT 2.

### Populasi target

Populasi target adalah hewan domestik yang ditanakkan (sapi, kerbau, kuda, babi, kambing) yang memiliki keterkaitan (*interface*) yang tinggi dengan satwa liar di dua Kabupaten Provinsi Gorontalo (Kabupaten Boalemo dan Kabupaten Pohuwato), Sulawesi Utara (Kabupaten Bolaang Mongondow, Minahasa Selatan, Minahasa dan Kota Tomohon) dan Sulawesi Selatan (Kabupaten Sinjai dan Kabupaten Maros).

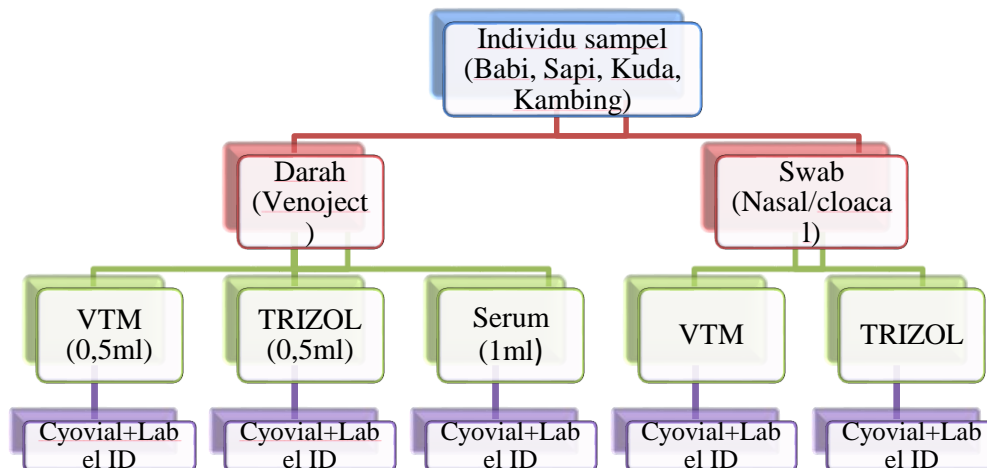
### Strategi Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan berdasarkan pengambilan sampel acak pada hewan domestik (ternak) di beberapa daerah tertarget yang berisiko tinggi. Daerah target tersebut adalah daerah pengambilan sampel satwa liar PREDICT2 yang memiliki kontak tinggi antara ternak dan satwa liar. Penentuan daerah bergantung pada tipe sampel satwa liar yang diambil oleh PREDICT2 (kelelawar, rodensia). Jika sampel satwa liar PREDICT2 lebih banyak mengumpulkan kelelawar yang bermigrasi (*flying fox, Pteropus spp*), pengambilan sampel ternak akan dilakukan di sepanjang daerah pergerakan kelelawar, yaitu 30 km di sekitar tempat bertengger atau radius 25-85 km di sekitar tempat bertengger. Untuk kelelawar non-migrasi (*Ascerodon spp*), pengambilan sampel hanya dilakukan dalam 30 km di sekitar populasi kelelawar. Selain itu pengambilan dilakukan di daerah yang memiliki *interface* peridomestik dimana sumber makanan satwa liar (kelelawar/hewan pengerat) tersedia serta pengambilan di pasar yang mencampur penjualan satwa liar dan ternak hidup.

Pengambilan sampel dilakukan pada 100 sampel hewan domestik untuk setiap putaran pengambilan sampel di masing-masing. Tipe spesimen adalah serum darah, *whole blood*, *swab oro-pharyngeal/nasal*, dan ulas kloaka/*rectal*. Untuk setiap hewan diambil 2-4 spesimen sebagai sampel individu dan ditempatkan ke dalam tube sampel yang terpisah.

Spesimen darah yang diambil akan dimasukkan ke dalam *tube blood vacutainer* untuk pengambilan serum dan tabung EDTA. Serum akan dipisahkan dan dimasukkan ke dalam *cryovial* untuk kemudian disimpan di dalam tangki *Liquid Nitrogen Gas* (LNG) dan spesimen

darah dimasukkan ke dalam tube yang berisi VTM dan Trizol. Swab *oropharyngeal/nasal dan cloacal* diambil dan dimasukkan ke dalam tube yang berisi VTM dan Trizol selanjutnya disimpan di tangki LNG. Protokol terpisah akan digunakan untuk setiap spesimen yang berbeda dengan mengikuti dan menerapkan protokol PREDICT 2 untuk pengambilan sampel dan menerapkan rantai dingin untuk pengiriman dan penyimpanan sampel yang aman.



Gambar 1. Pengambilan sampel pada ternak

### Pengujian Sampel

Sampel akan di uji terhadap lima target family virus yaitu *Influenza (HPAI, Human Flu)*, *Paramyxovirus (Nipah, Hendra)*, *Coronavirus (SARS, MersCov)*, *Filovirus (Ebola)*, *Flavivirus (JE)* menggunakan protokol PREDICT dengan teknik PCR konvensional di laboratorium Bioteknologi Balai Besar Veteriner Maros. Spesimen yang diambil, disimpan dalam *deep freezer -80 °C*.

## Hasil dan Pembahasan

### Scooping Visit

Dalam kegiatan surveilans triangulasi di lakukan kegiatan *scooping visit* dan pengambilan sampel di lapangan. Adapun hasil kegiatan di jabarkan berdasarkan lokasi sebagai berikut :

#### 1.1. Sulawesi Utara

Berdasarkan hasil *scooping visit* di Propinsi Sulawesi Utara, daerah ini memiliki risiko tinggi terhadap penularan penyakit satwa liar ke ternak domestik dan manusia. Hal tersebut dimungkinkan karena keanekaragaman hayati yang dimiliki oleh Sulawesi Utara. Berbagai jenis satwa liar mulai dari anoa, babi rusa, babi hutan, yaki, kuskus, tarsius, kelelawar, tupai, tikus, soasoa, burung rangkong, serta burung Maleo. Di samping itu adanya kultur beberapa kelompok masyarakat yang mengkonsumsi daging dari satwa liar. Propinsi Sulawesi Utara memiliki 15 kabupaten/kota yaitu Minahasa, Bolaang Mongondow, Sangihe, Kepulauan Talaud, Minahasa Selatan, Minahasa Utara, Bolaang Mongondow Utara, Minahasa Tenggara, Kepulauan Sitaro, Bolaang Mongondow Timur, Bolaang Mongondow Selatan, Kota Manado, Kota Bitung, Kota Tomohon dan Kota Kotamobagu Lokasi surveilans triangulasi

dilaksanakan di empat kabupaten/kota yaitu Minahasa, Bolaang Mongondow, Minahasa Selatan dan Kota Tomohon .

Di Kabupaten Bolaang Mongondow *interface* antara satwa liar dengan ternak domestik memiliki risiko tinggi karena berbatasan dengan Taman Nasional Bogani Nani Wartabone. Satwa liar seperti kelelawar sering muncul ke pemukiman ketika terjadi musim buah terutama langsung serta populasi burung bangau masih banyak di area persawahan. Pengambilan sampel dilaksanakan di Kecamatan Dumongga Barat di lima Desa yaitu Desa Ikhwan dengan target ternak sapi, Toraut Tengah (sapi), Toraut Utara (sapi), Wangga Baru (sapi) dan kambing serta Desa Uuwan dengan target ternak Babi. Total sampel yang diambil yaitu 25 sampel dengan rincian 10 ekor sapi dan 15 ekor babi dari masing- masing lima peternak babi dan peternak sapi.

Kabupaten Minahasa Selatan memiliki topografi berbukit-bukit/pegunungan yang membentang dari utara selatan. Lokasi pengambilan sampel satwa liar di Kecamatan Modinding. Setelah dilakukan *scooping visitrisiko interface* satwa liar dengan ternak domestik rendah sehingga pengambilan sampel ternak dilakukan di Kecamatan Tumpa dimana *interface* kelelawar sangat tinggi ke ternak babi, Desa Tawaang Kecamatan Tenga (kelelawar dan tikus hutan dengan babidan Desa Lowian Kecamatan Maesaan yaitu kelelawar dengan sapi. Total sampel yang diambil yaitu 10 ekor babi di Kecamatan Tumpa, 10 ekor babi di Kecamatan Tenga dan 5 ekor sapi di Kecamatan Maesaan.

Kota Tomohon terdapat pasar tradisional yang menjual pangan asal satwa liar yang tidak biasa untuk dikonsumsi, seperti daging ular, daging babi hutan, daging monyet, tikus panggang, kelelawar dan kucing bakar. Di sekitar pasar tidak ada ternak domestik yang dikandangkan. Babi dikandangkan di kebun jauh dari pemukiman. Pengambilan sampel dilaksanakan Kecamatan Tomohon Timur yang berbatasan dengan kawasan hutan dengan target ternak yaitu babi, sapi, kuda dan pengambilan sampel babi sebanyak 5 ekor, Tomohon Barat 5 ekor babi, Tomohon Selatan 5 ekor kambing, dan Tomohon Tengah 7 ekor babi dan 3 ekor sapi.

Kabupaten Minahasa memiliki topografi berbukit-bukit/pegunungan. Terdapat Danau Tondano yang berpotensi datangnya burung liar. Terdapat pasar ekstrim yang menjual daging satwa liar yaitu di Pasar Langoan dan Pasar Kawangkoan. Pengambilan sampel ternak dilakukan disekitar Pasar Kawangkoan dengan jumlah sampel 5 ekor sapi dan 5 ekor babi, Kecamatan Tombulu 5 ekor babi dan Kecamatan Tompasso 5 ekor babi dan 5 ekor kuda.



Gambar 2. *Interface* satwa liar dengan hewan domestik

## 1.2. Gorontalo

Lokasi pengambilan sampel di Propinsi Gorontalo dilakukan di dua kabupaten yaitu Kabupaten Boalemo dan Kabupaten Pohuwato. Secara umum topografi wilayah Kabupaten Boalemo berbukit-bukit dengan batas terluar bagian selatan adalah Laut Sulawesi dan dibagian utara berbatasan Kab. Gorontalo Utara, Barat berbatasan Pohuwato dan Timur dengan Kab. Gorontalo. Wilayah sampling Kecamatan Tilamuta yang memiliki kepadatan ternak yang cukup dengan diversitas ternak yang beragam. Topografi berbukit dengan vegetasi tanaman buah (mangga, langsung dan pisang) serta tanaman perkebunan kelapa yang padat, serta sebagian petani yang juga menanam jagung sebagai komoditi perkebunan. Kelompok hewan liar yang ditemukan adalah kelelawar jenis *Acerodon spp* dan *Pteropus spp* yang merupakan kelompok

kelelawar pemakan buah, hidup dan bertengger di pucuk kelapa, dan aktif pada malam hari (*nokturnal*). Interface antara satwa liar dan hewan domestik kategori sedang. Pengambilan sampel di Kecamatan Tilamuta akan diambil 25 ekor sapi dan Kecamatan Mananggu sebanyak 25 ekor babi.

Wilayah sampling Kecamatan Paguyaman Pantaimemiliki kepadatan dan keragaman ternak yang kurang. Topografi berbukit dengan vegetasi kelapa, jagung dan bakau. dengan wilayah pesisir pantai. Wilayah dengan padat populasi ternak dan dimungkinkan interaksi antara ternak domestik dan satwa liar (kelelawar) adalah di Kecamatan Wonosari. Berdasarkan pengamatan Kabupaten Pohuwatomemiliki vegetasi yang heterogen dengan keanekaragaman satwa liar dan interaksi hewan domestik yang tinggi. Diversitas dan keanekaragaman satwa liar dengan hewan domestik di Pohuwato yaitu di Kecamatan Patilanggio dan Kecamatan Wanggasari. Jumlah sampel yang diambil yaitu 15 ekor sapi di Kecamatan Wanggasari, 15 ekor sapi di Kecamatan Patilanggio dan 10 ekor sapi serta 10 ekor babi di Kecamatan Popayato Timur.

### 1.3. Sulawesi Selatan

Pemilihan lokasi di Sulawesi Selatan berdasarkan habitat kelelawar, lokasi yang memiliki banyak perkebunan buah sebagai sumber makanan kelelawar seperti langsung kelapa, rambutan, dan lain-lain, lokasi yang memiliki sebaran ternak dengan jumlah terbanyak (populasi) baik dari ternak sapi, kambing dan kuda serta jarak lokasi dari habitat kelelawar dan lokasi peternakan masih dalam radius pencarian makan kelelawar sekitar 186 Km. Berdasarkan hal tersebut maka ditentukan lokasi pengambilan sampel di Kabupaten Sinjai dan Kabupaten Maros karena memiliki keragaman dan populasi ternak terbanyak, banyak pohon randu dan memiliki banyak pusat perkebunan buah (kelapa, langsung dan lain-lain). Dari keterangan di lapangan lalu lintas perdagangan kelelawar dari Sulawesi Selatan dikirim ke Manado dan Gorontalo oleh pengumpul kelelawar. Satu kali pengiriman menggunakan kapal bisa mencapai bobot 10 ton dengan asumsi berat 1 kelelawar 1 kg.



Gambar 3. Lokasi habitat kelelawar di Desa Jenetaesa, Kecamatan Simbang Kabupaten Maros

Di Kabupaten Maros habitat kelelawar terletak di Desa Jenetaesa Kecamatan Simbang. Keanekaragaman hayati di Kabupaten Maros sangat memungkinkan untuk pengambilan sampel. Banyaknya gua di sepanjang karts Taman Nasional Bantimurung Bulusaraung dan Cagar Alam Karaenta sebagai lokasi habitat satwa liar yang terdaftar sedikitnya 730 jenis satwa liar. Kelelawar adalah jenis penting karena kedudukannya dalam ekosistem dimana terdapat genus *Pteropus*, selain itu terdapat *Macacamaura*, Tarsius dan satwa liar lainnya. Tingginya populasi ternak sapi di sekitar lokasi tersebut sehingga dilakukan pengambilan sampel di daerah sepanjang pergerakan kelelawar. Kabupaten Maros memiliki populasi ternak yang cukup tinggi yaitu sapi, kerbau, kuda dan kambing. Lokasi dan jumlah pengambilan sampel di Kabupaten Maros yaitu Kecamatan Simbang 10 sampel di Desa Jenetaesa 5 sampel dan Desa Bontotallasa 5 sampel, Kecamatan Tanralili 10 sampel,

Kecamatan Tompobulu 10 Sampel, Kecamatan Cenrana 10 sampel dan Kecamatan Camba 10 sampel.



Gambar 4. Jenis kelelawar di Desa Jenetaesa Kecamatan Simbang Kabupaten Maros (*Acerodon celebensis*)



Gambar 5. Jenis Kelelawar di Kabupaten Soppeng *Pteropus sp*

Kabupaten Sinjai merupakan daerah yang memiliki keanekaragaman tanaman dan buah. Vegetasi kelapa, jagung dan bakau sangat memungkinkan habitat kelelawar mencari sumber makanan di daerah tersebut. Salah satu habitat kelelawar yang ada di Kabupaten Sinjai, yaitu di hutan bakau Desa Tongke-Tongke Kecamatan Sinjai Timur. Populasi ternak sapi dan kambing sangat tinggi di daerah ini. Di Kecamatan Tellulimpoe merupakan salah satu lokasi dengan populasi ternak beragam dan *interface* dengan kelelawar cukup banyak dengan ciri lokasi banyak ditemukan kelapa, pohon randu dan buah-buahan lainnya.



Gambar 6. Habitat Kelelawar di Hutan Bakau Desa Tongke-Tongke Kecamatan Tellulimpoe dan Kecamatan Sinjai Timur Kabupaten Sinjai

Lokasi pengambilan sampel di Kabupaten Sinjai yaitu Kecamatan Sinjai Timur di Desa Pattalassang 10 sampel, Desa Biroro 10 sampel dan Desa Tongke Tongke 5 sampel. Di Kecamatan Tellulimpoe dilakukan pengambilan sampel di Kelurahan Mannanti 15 sampel dan Desa Bua 10 sampel.

### Kesimpulan

Kegiatan surveilans triangulasi kerjasama Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan, USAID EPT 2 dan FAO ECTAD ini diharapkan mampu memberikan informasi penting mengenai identifikasi virus dan ancaman biologis lainnya untuk meminimalisi risiko muncul dan menyebarnya ancaman penyakit pandemik. Informasi berguna untuk mengembangkan



*platform* surveilans penyakit dan untuk mengidentifikasi dan memonitor patogen yang dapat ditularkan antara hewan (domestik dan satwa liar) dan manusia.

Sampel yang sudah diambil, disimpan dalam *deep freezer* -80 °C kemudian akan dilakukan pengujian terhadap lima target family virus yaitu *Influenza (HPAI, Human Flu)*, *Paramyxovirus (Nipah, Hendra)*, *Coronavirus (SARS, MersCov)*, *Filovirus (Ebola)*, *Flavivirus (JE)* menggunakan protokol PREDICT dengan teknik PCR konvensional.

### Daftar Pustaka

- Anthony, S.J., Epstein, J.H., Murray, K.A., Navarette-Maclas, I., Torrelio, C.M.Z., Solovyov, A., Flores, R.O., Arrigo, N.C., Islam, A., Khan, A.A., Hosseini, P., Bogich, T.L., Olival, K.J., Leon, M.D.S., Karesh, W.B., Goldstein, Tracey., Luby, S.P, Morse, S.S, Mazet, J.A.K., Daszak, P., Lipkin, W.I. 2013. A strategy to Estimate Unknown Viral Diversity in Mammals. *mBio* 4(5) : e00598.13
- Carocci, M., Bakkali-Kassimi, L.. 2012. The encephalomyocarditis virus. *Virulence* 3:4, 351–367; July 1, 2012; G 2012 Landes Bioscience
- Lam, S. K., Chua K. B.. 2015. Nipah Virus Encephalitis Outbreak in Malaysia. *Clinical Infectious Diseases* 2002:34 (Suppl 2)
- Li, H., Wunschmann, A., Keller, J., D., Hall, G., Crawford, T. B. . 2003. Caprine herpesvirus-2-associated malignant catarrhal fever in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *J Vet Diagn Invest* 15:46–49 (2003)
- Naipospos, T. 2010. Perdagangan satwa liar dan risiko penyakit zoonosis. Blog Veterinerku
- Quan, P.L., Firth, C., Street, C., Henriquez, J. A., Petrosov, A., Tashmukhamedova A., Hutchison, S.K., Egholm, M., Osinubi, M.O.V., Ogunkoya, A.B., Briese, T., Rupprecht, C.E., Lipkin, W.I. 2010. Identification of a Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-like Virus in a Leaf-Nosed Bat in Nigeria. *mBio* 1(4) e00208-10
- Tong, S., Chern, S.W.W, Li, M., Pallansch, M.A., Anderson, L.J.. 2008. Sensitive and Broadly Reactive Reverse Transcription-PCR Assays To Detect Novel Paramyxoviruses. *Journal of Clinical Microbiology*, Aug 2008 p. 2652-2658.
- USAID PREDICT. Virus Detection and Discovery, Reducing Pandemic Risk, Promotion Global Health. <http://predict.global>