

**BAB 1**

**PENDAHULUAN**

## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang Masalah

Flu burung (*Avian Influenza* - AI) adalah penyakit unggas yang menular disebabkan virus *influenza* tipe A dari keluarga *Orthomyxoviridae*. Atas dasar tingkat keganasan virus, pengklasifikasian virus flu burung dibagi menjadi LPAI (*Low Pathogenic Avian Influenza*) dan HPAI (*Highly Pathogenic Avian Influenza*) (Whitworth *et al.*, 2008). Penyakit *Highly Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) pertama kali dicurigai sejak dilaporkan banyak terjadi kematian unggas pada bulan Agustus 2003 di Jawa Timur dan Jawa Barat, dengan angka mortalitas mencapai 100%. Wabah ini kemudian diikuti dengan wabah serupa di Jawa Tengah, DIY (Daerah Istimewa Yogyakarta), Sumatera Barat, Lampung, Bengkulu, Bali, Kalimantan Selatan, Kalimantan Barat, Sulawesi Tenggara dan Sulawesi Selatan (Damayanti dkk., 2005). Keputusan Menteri Pertanian No. 338.1/Kpts/PD.620/9/2005 menyatakan bahwa dari 33 provinsi, 31 diantaranya sudah tertular virus AI H5N1 (Basuno, 2008). Eagles *et al* (2009) menyebutkan virus H5N1 yang ditemukan pada 31 provinsi tersebut termasuk dalam *clade* 2.1. *Clade* adalah kelompok gen penyandi protein virus/mikroba atau individu yang mempunyai jarak kekerabatan (*phylogenetic*) yang dekat.

Masuknya AI di Indonesia telah menghancurkan sendi – sendi usaha peternakan unggas di Indonesia. Tercatat tidak kurang dari puluhan juta ekor ayam petelur, pedaging, burung puyuh dan ayam lokal mengalami kematian yang sangat cepat (Damayanti dkk., 2004). Dari berbagai sumber diperoleh informasi

bahwa angka kematian ternak unggas mencapai 6 – 10 juta ekor, produksi telur dan daging mengalami penurunan antara 30 – 40 persen dari Agustus 2003 sampai Januari 2004. Komite Nasional Flu Burung dan Kesiapsiagaan Menghadapi Pandemi Influenza (Komnas FBPI), memperkirakan besarnya kerugian di Indonesia akibat wabah AI dari 2004 – 2008 sebesar Rp. 4,3 triliun, di luar kerugian dari hilangnya kesempatan kerja dan berkurangnya konsumsi protein masyarakat. Kebijakan penanggulangan AI berdasarkan Surat Keputusan Dirjen Peternakan No. 17/Kpts/PD.640/F/02/04 antara lain peningkatan *biosecurity*, program vaksinasi, depopulasi, pengendalian lalu lintas ternak, *surveillance* dan *tracing* (penelusuran), *restocking*, *stamping out*, *public awareness* dan pelaporan, monitoring serta evaluasi (Basuno, 2008). Pemerintah Indonesia telah menetapkan program vaksinasi sebagai salah satu pilihan untuk penanggulangan wabah HPAI di Indonesia. Program tersebut telah digunakan dikarenakan Indonesia merupakan negara dengan daerah padat unggas terlebih lagi terdapat peternakan sambilan (*backyards farms*), sehingga *biosecurity* ketat tidak dapat dilaksanakan secara benar sehingga program vaksinasi merupakan pilihan utama untuk eradikasi HPAI (Syah, 2011).

Permasalahan kasus *clade* 2.1 sejak tahun 2003 yang belum selesai, muncul kasus baru pada bulan September 2012 yaitu kejadian penyakit *Avian Influenza* sangat ganas (*Highly Pathogenic Avian Influenza*) yang menyerang itik dan menyebabkan cukup banyak kematian di Jawa Tengah, Daerah Istimewa Jogjakarta dan Jawa Timur, kemudian merebak ke 13 provinsi di Indonesia dengan kematian itik lebih dari 200.000 ekor pada Januari 2013 (Laporan:

Direktorat Kesehatan Hewan, Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan, Kementerian Pertanian dalam Indriani dkk., 2014). Penyakit HPAI pada itik ini disebabkan oleh virus AI subtipe H5N1 yang termasuk ke dalam *clade* 2.3.2, sebelumnya itik dan unggas air lainnya relatif lebih tahan terhadap infeksi virus HPAI *clade* 2.1.3 yang beredar di Indonesia (Wibawa dkk., 2012).

Salah satu strategi pengendalian AI yang sangat diperlukan guna menekan tingkat kematian itik yang sangat tinggi akibat tertular virus H5N1 *clade* 2.3.2 dan mencegah penularannya pada ayam komersial adalah ketersediaan vaksin AI yang dapat melindungi itik dan ayam komersial dari serangan *clade* 2.3.2 (Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2013). Vaksin yang akan beredar di lapang secara antigenik harus sesuai dengan virus yang bersirkulasi di lapang sehingga vaksin tersebut dapat melindungi itik dan ayam dalam melawan H5N1 *clade* 2.3.2 (Emilia dkk., 2014).

Untuk melihat keberhasilan dalam vaksinasi, maka diperlukan tindakan monitoring dengan melihat titer antibodi yang terbentuk. Monitoring pada vaksin AI dilakukan dengan analisa serologi uji HI (*Haemagglutinin Inhibition*) (Sudarisman, 2006). Pemeriksaan uji HI memerlukan antigen yang sesuai dengan virus yang terkandung dalam vaksin H5N1, sedangkan laboratorium pengujian *Avian Influenza* di Indonesia menggunakan antigen AI standar *clade* 2.1.3. Apabila antigen yang digunakan tidak sesuai atau kurang spesifik dengan *clade* virus yang terkandung dalam vaksin, dikhawatirkan terjadi perbedaan titer antibodi yang semestinya. Hal ini bisa menimbulkan dampak bahwa hasil titer yang diperoleh menggambarkan tingkat kekebalan yang bukan sesungguhnya,

sehingga tidak sesuai dengan tujuan pengujian *monitoring* hasil vaksinasi. Untuk mengetahui agar antigen standar yang mengandung virus *clade* 2.1.3 masih bisa digunakan pada uji HI dalam *monitoring* vaksinasi *clade* 2.3.2, maka diperlukan penelitian tentang pengujian antigen *clade* 2.1.3 dalam uji HI serum ayam pasca vaksinasi AI *clade* 2.3.2.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah diuraikan, maka timbul permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah antigen H5N1 *clade* 2.1.3 dapat digunakan untuk uji HI serum ayam pasca vaksinasi H5N1 *clade* 2.3.2 ?
2. Apakah terdapat perbedaan antara antigen AI H5N1 *clade* 2.1.3 dengan antigen AI H5N1 *clade* 2.3.2 pada uji HI serum ayam pasca vaksinasi AI H5N1 *clade* 2.3.2 ?

## 1.3 Landasan Teori

Vaksinasi adalah suatu usaha untuk meningkatkan derajat imunitas, memberikan imunitas protektif dengan menginduksi respons memori terhadap patogen tertentu dengan menggunakan preparat antigen nonvirulen. Virus *Avian Influenza* mempunyai genom RNA yang terdiri dari 8 segmen dan menghasilkan 10 macam protein yaitu protein yang diekspresikan di permukaan virus (eksternal): hemaglutinin (HA), neuraminidase (NA), matriks 1 (M1), matriks 2 (M2) dan protein internal: *nucleoprotein* (NP), polimerase A (PA), polimerase B1 (PB1) dan polimerase B2 (PB2) serta non struktural 1 (NS1) dan non struktural 2

(NS2) (Rahardjo, 2004). Berdasarkan sumber dari Baratawidjaja (2006), protein – protein tersebut dapat berfungsi sebagai antigen di mana antigen internal dan eksternal menginduksi antibodi selama infeksi, namun hanya antibodi terhadap antigen eksternal yang dapat menetralisasi virus dan mencegah infeksi. Mengingat antigen permukaan merupakan komponen mikroba pertama yang berinteraksi dengan *host*, antigen eksternal biasanya merupakan antigen yang digunakan dalam vaksinasi.

Pada saat sel B distimulasi oleh antigen, maka sel B akan merespon dengan cara sekresi antibodi yang mampu mengikat antigen spesifik yang dikenal dengan imunitas humoral (*humoral immunity*) (Rantam, 2003). Antibodi merupakan efektor dalam imunitas spesifik humoral terhadap infeksi virus. Antibodi diproduksi dan hanya efektif terhadap virus dalam fase ekstra-selular. Virus dapat ditemukan ekstra-selular pada awal infeksi sebelum masuk ke dalam sel atau khusus untuk virus sitopatik bila virus dilepas oleh sel terinfeksi yang dihancurkan. Antibodi dapat menetralisasi virus, mencegah virus menempel pada sel serta masuk ke dalam sel *host*. Antibodi juga berperan sebagai opsonin yang meningkatkan eliminasi partikel virus oleh fagosit (Baratawidjaja, 2006).

Pengenalan antigen oleh antibodi melibatkan ikatan nonkovalen dan *reversible*. Kekuatan ikatan antara satu antibodi dan epitop disebut afinitas antibodi dimana hal ini yang membedakan antara H5N1 *clade* 2.3.2 dengan H5N1 *clade* 2.1.3. Epitop adalah bagian dari antigen secara langsung berikatan dengan molekul reseptor seperti antibodi. Antigen polivalen mempunyai lebih dari satu determinan. Kekuatan ikatan antibodi dengan epitop antigen keseluruhan disebut

afiditas. Antigen monovalen atau epitop masing – masing pada permukaan sel, akan berinteraksi dengan masing – masing ikatan tunggal molekul antibodi. Reaksi antigen antibodi bersifat spesifik, namun dapat terjadi reaksi silang yaitu reaksi dengan antigen yang memiliki stuktur kimia yang mirip (epitop mirip). Oleh karena itu interaksi antara antigen dan antibodi sangat penting dan banyak digunakan *in vitro* untuk tujuan diagnostik. Penggunaan reaksi *in vitro* antara antigen-antibodi disebut serologi (Baratawidjaja, 2006; Tizard, 2009).

Hasil pemetaan antigenik dalam Antigen Map 3D (3 Dimensi) menunjukkan perubahan antigenik secara bertahap (*gradual change*). Hasil karakterisasi antigenik mengindikasikan adanya mutasi lokal (*point mutation*) asam – asam amino pada protein HA. Mutasi asam – asam amino HA ini kemungkinan tidak saja terjadi di daerah pengenalan/perlekatan antibodi pada protein HA (epitop / *antigenic site*) HA, tetapi juga bisa terjadi pada asam – asam amino yang letaknya berdekatan dengan epitop HA. Mutasi asam amino terjadi secara terus menerus memungkinkan adanya perubahan antigenik virus HPAI H5N1 dari tahun ke tahun (Wibawa dkk., 2014).

Hasil analisis struktur 3D virus HPAI H5N1 *clade* 2.3.2 menunjukkan adanya substitusi asam – asam amino pada epitop (*antigenic site*) glikoprotein HA, penambahan gugus glikosilasi (oligosakarida) dan penghilangan gugus glikosilasi terjadi pada asam amino yang berdekatan dengan epitop. Penambahan maupun pengurangan oligosakarida pada epitop telah diketahui dapat mengganggu pengenalan antibodi terhadap virus AI karena glikosilasi dapat

menutup epitop antigenik yang menjadi target pengenalan antibodi (Matsuoka *et al.*, 2009; Schulze, 1997 dalam Wibawa dkk., 2014).

Hemaglutinasi merupakan cara untuk menemukan antibodi atas dasar aglutinasi sel darah merah. Hemaglutinasi dapat terlihat di dasar tabung dengan adanya lapisan eritrosit berupa bintik – bintik halus homogen dengan tepi yang difuse atau tepi yang tidak rata. Antibodi spesifik terhadap hemaglutinin virus dapat menghambat terjadinya hemaglutinasi. Reaksi penghambatan ini disebut uji hambatan hemaglutinasi (*Haemagglutination Inhibition, HI test*). OIE (*Office des Internationales Epizooties*) merekomendasikan uji HI sebagai salah satu uji serologi standar untuk mendeteksi keberadaan antibodi yang terdapat pada serum yang diperiksa (Hewajuli dan Dharmayanti, 2008). Apabila serum mengandung antibodi yang *homolog* dengan virus atau antigennya, maka hemaglutinasi tidak akan terjadi sebagai akibat terikatnya virus atau antigen oleh antibodi dalam serum. Dengan adanya antibodi dalam serum yang *homolog*, kemampuan virus atau antigen untuk mengaglutinasi eritrosit dihambat. Hal ini hanya terlihat jika serum cukup mengandung antibodi. Apabila antibodi ini lemah, maka akan terjadi hemaglutinasi oleh karena antibodi tidak mampu menghambat virus (Ernawati dkk., 2012).

#### **1.4 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui bahwa Antigen AI H5N1 *clade* 2.1.3 dapat digunakan dalam uji HI serum ayam pasca vaksinasi AI H5N1 *clade* 2.3.2.

2. Untuk mengetahui bahwa terdapat perbedaan antara antigen AI H5N1 *clade* 2.1.3 dengan antigen AI H5N1 *clade* 2.3.2 pada uji HI serum ayam pasca vaksinasi AI H5N1 *clade* 2.3.2.

### **1.5 Manfaat Hasil Penelitian**

Manfaat yang diharapkan dalam penelitian ini adalah :

1. Dapat memberikan informasi bagi peneliti dan laboratorium pengujian dalam penggunaan antigen untuk uji HI-AI yang tepat.
2. Dapat memberikan informasi bagi pemerintah untuk menyediakan antigen uji HI-AI yang sesuai.

### **1.6 Hipotesis**

1. Antigen AI H5N1 *clade* 2.1.3 dapat digunakan untuk uji HI serum ayam pasca vaksinasi H5N1 *clade* 2.3.2.
2. Terdapat perbedaan antara antigen AI H5N1 *clade* 2.1.3 dengan antigen AI H5N1 *clade* 2.3.2 pada uji HI serum ayam pasca vaksinasi *clade* 2.3.2.