



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Keberadaan virus flu burung H5N1 hingga saat ini masih menjadi masalah global serta masih menjadi perhatian dunia. Hal ini dikarenakan kemampuan mutasi virus yang sangat tinggi sebagai dampak sifat virus H5N1 yang mudah berubah dan kemampuan daya adaptasi pada jenis hewan yang diinfeksi. Saat ini virus H5N1 tidak hanya menyerang unggas (avian) tetapi juga satwa mamalia. Begitu luasnya keberadaan virus ini pada unggas yang dapat diserang, sehingga tidak terbatas pada unggas peternakan, pada burung liar pun banyak ditemukan positif terpapar virus ini (Forrest *et al.*, 2010).

Menurut beberapa penelitian wabah flu burung H5N1 terdeteksi pertama kali pada tahun 1996 di Propinsi Guangdong, ketika menginfeksi unggas air (*geese*), saat itu belum banyak menarik perhatian. Setelah menyebar dan menyerang peternakan ayam di Hongkong bahkan membunuh 6 orang dari 18 orang yang terinfeksi, barulah kasus virus H5N1 menjadi perhatian dunia (Wang, *et al.*, 2006). Berdasarkan analisa epidemiologi molekuler atas perkembangan gen HA, disimpulkan bahwa Guangdong merupakan awal dan sumber penularan virus H5N1. Pada tahun 1997 virus ini dari Guangdong menyebar ke Hongkong, antara tahun 2001-2004, dari Guangdong menyebar ke Yunnan dan Hunan (China selatan), kemudian dari Yunnan menyebar ke Vietnam, Thailand, dan Malaysia dan dari Hunan di antaranya menyebar ke Indonesia. Berdasarkan analisis filogenetik atas gen HA, awalnya virus yang menyerang negara Vietnam,

Thailand dan Malaysia masuk dalam *clade* 1, sedangkan yang menyebar ke Jepang, Korea dan Indonesia tergolong *clade* 2 (Wang *et al.*, 2006; Wallace *et al.*, 2008).

Pada tahun 1997 hingga 2005, virus influenza sub tipe H5N1 hanya terbatas menyerang beberapa negara Asia Tenggara, namun setelah menyebar dan menular dari unggas ternak hingga burung liar di danau Qinghai China barat, virus ini dengan cepat menyebar luas ke daerah barat dan selatan, diantaranya ke daratan India, Eropa dan Afrika. Pertengahan Oktober 2005 dilaporkan menginfeksi peternakan ayam di Turki dan dikonfirmasi juga menginfeksi manusia pada awal Januari 2006. Pada tahun 2012 virus ini dilaporkan telah menyebar ke lebih dari 65 negara dari berbagai di belahan benua (Kilpatrick *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2006; Wallace *et al.*, 2008; Ghosh, 2012).

Di Indonesia kejadian wabah Flu Burung H5N1 selain mengakibatkan kerugian ekonomi yang sangat tinggi karena kematian pada ternak unggas juga menimbulkan kepanikan karena terbukti dapat menular dan mematikan pada manusia. Di Indonesia sejak Agustus 2003 hingga 10 September 2008 telah menyebabkan kematian lebih dari 10 juta ayam dengan menimbulkan kerugian lebih dari 4 trilyun rupiah dan hingga bulan Januari 2012 tercatat 191 kasus pada manusia dengan kematian 159 orang (Hasan, 2009; Dharmawan dan Wahyuningsih, 2010; WHO, 2012).

Virus flu burung mempunyai 8 segmen gen yang menyandi 10 macam protein, yakni PB-2 (*Polymerase Basic-2*), PB-1(*Polymerase Basic-1*), PA (*Polymerase acidic*), HA (*Haemagglutinin*), NP (*Nucleo Protein*), NA

(*Neuraminidase*), M1 (*Matrix-1*), M2 (*Matrix-2*), NS1 (*Non Struktural-1*) dan NS2 (*Non Struktural-2*) (Rantam dkk., 2007).

Pathogenitas virus flu burung H5N1 dipengaruhi oleh banyak hal, namun pada umumnya sangat dipengaruhi oleh protein permukaan Haemagglutinin (HA) dan Neuraminidase (NA). Kombinasi kedua protein harus optimal. Protein HA berperan dalam dalam penempelan pada reseptor sel inang dan protein NA berperan dalam proses keluarnya virion dari sel inang. Kedua protein ini aktifitasnya berimbang. Beberapa asam amino pada protein HA yang berpengaruh terhadap pathogenitas di antaranya adalah urutan asam amino pada *receptor binding site* yang berpengaruh dalam menempati reseptor spesifik sel inang dan asam amino pada daerah *cleavage site*, yang menentukan jenis *protease host* yang dapat memecah HAO menjadi HA1 dan HA2 sehingga menentukan distribusi perkembangan virus pada organ sel inang. Di samping protein permukaan di atas, protein PB1 diketahui merupakan komponen penting yang menyusun polimerase virus diduga dapat meningkatkan patogenitas virus flu burung (Hulse *et al.*, 2004; Susanti dkk., 2008).

Salah satu persyaratan untuk dapat terjadinya infeksi virus adalah adanya reseptor spesifik pada sel inang. Reseptor spesifik flu burung adalah asam sialat $\alpha 2,3$ galaktosa, sedangkan reseptor spesifik flu manusia dan mamalia adalah asam sialat $\alpha 2,6$ galaktosa. Virus avian influenza dikenal sebagai virus yang gampang mengalami mutasi, yaitu perubahan yang menyangkut nukleotida di dalam gen. Pengaruh perjalanan waktu, lingkungan dan perbedaan hospes dapat menyebabkan perubahan tersebut terjadi. Peristiwa mutasi pada virus ini sering

terjadi karena enzim *polymerase* RNA yang berperan dalam replikasi genom virus tidak memiliki mekanisme *proof reading*. Tekanan imunologis pada HA dan NA juga dapat mengakibatkan terjadinya mutasi. Melalui mutasi ini virus dapat menghindarkan diri dari proses netralisasi oleh antibody yang diinduksi oleh antigen virus sebelumnya (Mahardika, 2006; Rantam, dkk.2007).

Mutasi dapat terjadi secara *antigenic drift* maupun secara *antigenic shift*. Dikatakan *antigenic drift* bila terjadinya mutasi tidak terjadi secara drastis. Perubahan dapat terjadi secara *delesi*, *insersi* atau *substitusi* yaitu pergantian nukleotida pada satu atau beberapa titik yang disebabkan perubahan lingkungan, perubahan inang, tekanan imunologis atau perjalanan waktu. Sedangkan *antigenic shift* merupakan suatu mekanisme yang menyebabkan perubahan struktur virus secara drastis yang diakibatkan oleh *genetic reassortment*. Genom virus flu burung yang berupa ss-RNA bersegmen ini memberi peluang besar terjadinya pertukaran informasi genetik di antara virus influenza apabila dua atau lebih strain virus menginfeksi satu sel secara bersama-sama. Proses ini dapat terjadi pada gen HA, NA maupun gen lainnya yang berakibat pada meningkatnya diversitas virus, baik dalam sifat antigenic maupun virulensinya. Proses *genetic reassortment* ini pula yang diduga menyebabkan virus mampu menembus *species barrier* (Horimoto dan Kawaoka, 2005; Rantam dkk., 2007).

Berdasarkan perkembangan variasi antigenik pada gen HA beberapa penelitian mengindikasikan bahwa isolat virus HPAI H5 yang berada di Indonesia awalnya masuk dalam *clade* 2.1 dan selanjutnya sekitar tahun 2003-2007 berkembang menjadi *sub clade* 2.1.1 (4%), menjadi *sub clade* 2.1.2 pada tahun

2005, dan *sub clade* 2.1.3 (80%) pada tahun 2005-2008 (Kawaoka, 2009; Dharmawan dan Wahyuningsih, 2010).

Di lapangan morbiditas dan mortalitas virus ini pada ayam sangat tinggi bahkan dapat mencapai 100 %. Kematian ayam akibat infeksi virus Avian Influenza A ini dikarenakan kerusakan beberapa organ. Ini karena terjadinya perdarahan yang bersifat ptekhie dan ekhomatik pada kulit dan jaringan serosa organ viseral, disertai terjadinya edema subkutan yang menyebar, juga nekrosis iskhemik pada pial dan jengger. Namun pengamatan terhadap beberapa ayam yang mati secara mendadak sering tidak terlihat adanya lesi yang mencolok. Hal ini diduga karena kematiannya akibat trombosis vaskuler akut pada beberapa organ penting, dan adanya perubahan biokimiawi tubuh serta arithmia jantung. Untuk infeksi virus yang berjalan lebih lama yaitu tiga sampai lima hari, virus mempunyai waktu melakukan replikasi lebih banyak sehingga terjadi perubahan morfologi seluler, seperti nekrosis pada beberapa sel parenkhim yang meliputi sel neuron, epitel acinar pankreas, epitel tubulus ginjal, otot kerangka, sel-sel kortikotropik adrenal dan sel hepatosit (Jones and Swayne, 2003; Capua and Terregino, 2009).

Secara fisik virus flu burung bersifat labil, di dalam air pada suhu 22°C tahan selama 4 hari dan pada suhu 0° tahan selama satu bulan. Virus menjadi inaktif pada pemanasan 56°C selama 3 jam, pada suhu 60°C selama 30 menit dan pada suhu 80°C selama 5 menit. Namun demikian virus dalam feses tahan sampai 35 hari. Seekor ayam yang terinfeksi virus AI mampu mengekskresikan sebanyak $10^{8,7}$ virus per gram feses dan mampu menulari 1.000.000 ekor ayam. Masalah

semakin rumit karena penularan virus flu burung juga dapat terjadi melalui udara (per inhalasi). Feses yang mengandung virus flu burung merupakan sumber penularan yang sering mencemari lingkungan, kandang, air, perlengkapan pekerja kandang atau dapat sebagai partikel debu yang terbawa oleh angin (Tabbu, 2000; Rantam dkk., 2007).

Pembrantasan penyakit ini tidak mudah karena selain mudah mutasi juga mudah disebar dan ditularkan melalui perdagangan ternak ayam serta migrasi burung liar (Kilpatrick *et al.*, 2006). Diantaranya dibuktikan oleh penelitian tahun 2007 yang menemukan virus ini pada burung air liar yang hidup di sekitar pantai Surabaya (Rantam dkk., 2007). Sebelumnya, pada wabah tahun 2002-2003 juga ditemukan pada burung liar di Hongkong. Ellis *et al.*, (2004) melaporkan bahwa virus flu burung selain menyerang unggas peternakan juga menyerang unggas liar air maupun unggas liar darat, diantaranya ditemukan pada burung gereja (*Passer montanus*).

Boon *et al.*, (2007) dalam penelitian yang membandingkan kepekaan antara burung yang hidup liar di Eropa yaitu antara burung gereja (*Passer domesticus*), jalak (*Sturnus vulgaris*) dan merpati (*Colomba spp.*) terhadap kepekaan penularan virus flu burung H5N1, menunjukkan bahwa burung gereja (*Passer domesticus*) yang hidup di Eropa ini paling rentan terhadap infeksi virus H5N1. Di propinsi Henan-China kejadian flu burung pada burung gereja dilaporkan tertinggi diantara burung liar lainnya (Kou *et al.*, 2009). Liu *et al.*, (2010) melaporkan, bahwa virus H5N1 yang telah berhasil di isolasi dari burung gereja (*tree sparrow*) di Cina Selatan (A/tree sparrow/Jiangsu/1/08) tergolong

dalam *Clade 2.3.4, genotype V* dan tercatat sangat dekat dengan A/Jiangsu/1/07 (H5N1) yang bertanggung jawab atas penularan antar manusia dalam suatu cluster keluarga di China pada tahun 2007, sehingga disimpulkan mempunyai potensi menularkan pada hewan dan manusia. Banyak ahli mengkhawatirkan bahwa penyebaran virus ini pada berbagai unggas dan mamalia dapat memfasilitasi adaptasi virus ini di antara populasi manusia.

Indonesia memiliki "koleksi" burung 1539 spesies dari sekitar 9052 spesies burung dunia (MacKinnon *et al.*, 2000) memiliki cukup banyak penelitian kasus flu burung pada ayam tetapi relatif sedikit penelitian pada burung, termasuk flu burung pada burung gereja.

Burung gereja (*Passer montanus*) tergolong keluarga burung yang makan biji-bijian. Jenis burung ini tersebar secara global di banyak tempat di dunia. Di Indonesia utamanya di pulau Jawa, Sumatera dan Bali hidup di dataran rendah hingga dataran tinggi (1500 m di atas permukaan air laut), hidup dan bersarang dari pedesaan hingga perkotaan, berasosiasi dekat dengan manusia, hidup berkelompok di sekitar rumah, pergudangan, peternakan dan persawahan terutama yang dekat dengan biji-bijian (Holmes dan Nash, 1999). Karena kedekatan jarak dengan peternakan dan manusia maka banyak ahli mengkhawatirkan burung ini dapat memfasilitasi adaptasi virus flu burung pada populasi manusia (Liu *et al.*, 2010).

Permasalahannya adalah apakah virus flu burung dapat diisolasi dari burung gereja yang hidup di Indonesia, Jawa Timur khususnya? Bagaimana karakter genotip, fenotip dan profil patogenitas isolat virus yang ditemukan?

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana karakter fenotip virus H5N1 isolat asal burung gereja yang ditemukan, khususnya antigenitas terhadap virus H5N1 yang mewabah pada unggas di Indonesia ?
2. Bagaimana karakter genotip virus isolat ini khususnya gen HA dan NA, terutama bila dibandingkan dengan virus H5N1 yang mewabah di Indonesia dan data virus di NCBI ?
3. Bagaimana profil patogenitas virus H5N1 isolat ini jika ditularkan kembali pada burung gereja dan ayam lokal, apakah ada perbedaan kepekaan diantara kedua jenis unggas ini serta bagaimana potensi dalam menyebarkan virus H5N1 ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengungkap karakter molekuler genotip, fenotip serta profil patogenitas virus flu burung H5N1 yang diisolasi dari burung gereja asal Jawa Timur.

1.3.2. Tujuan Khusus

- 1) Mengisolasi virus flu burung subtype H5N1 dari burung gereja yang terinfeksi di Jawa Timur.
- 2) Mengukur titer virus dalam satuan ELD_{50} (*Eggs Lethal Dose*50) isolat virus flu burung yang ditemukan.

- 3) Menganalisis karakter fenotip dengan melakukan uji antigenitas isolat virus ini terhadap beberapa panel antisera yang dianggap mewakili virus yang mewabah pada unggas di Indonesia.
- 4) Melakukan analisis urutan nukleotida dan asam amino atas gen/protein HA dan NA isolat virus yang ditemukan.
- 5) Melakukan analisis homologi dan pohon filogenetik (*Phylogenetic tree*) berdasarkan gen HA dan NA dari virus hasil isolasi.
- 6) Menentukan profil patogenitas virus yang ditemukan dengan menularkan kembali pada burung gereja dan ayam lokal serta menganalisis perbedaan kepekaan antara kedua jenis unggas ini sehingga dapat diketahui potensi penyebaran virus oleh kedua jenis unggas ini.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

- 1) Menginformasikan karakter antigenitas virus H5N1 isolat burung gereja terhadap virus yang mewabah di Indonesia.
- 2) Memberi informasi urutan nukleotida serta asam amino dari gen/protein HA dan NA virus H5N1 isolat asal burung gereja.
- 3) Menginformasikan perkembangan mutasi virus H5N1 di Indonesia berdasarkan analisis homologi dan pohon filogenetik (*phylogenetic tree*) atas gen HA dan NA.
- 4) Menunjukkan profil patogenitas virus terhadap ayam lokal dan burung gereja sehingga diketahui potensi penyebaran virus oleh kedua unggas ini.

1.4.2. Manfaat Operasional

- a) Menunjukkan potensi penyebaran, penularan dan perkembangan virus flu burung H5N1 melalui burung gereja sehingga dapat ditentukan arah kebijakan *Avian Influenza Surveillance* yang lebih baik khususnya dalam mencegah terjadinya bahaya pandemi.
- b) Menunjukkan gejala klinis dan perubahan patologis burung gereja yang terinfeksi virus flu burung subtipe H5N1 sehingga dapat dipergunakan sebagai penunjang *early warning system*.