

DINAMIKA VIRUS AVIAN INFLUENZA SUBTIPE H5N1 DI WILAYAH BALAI VETERINER TAHUN 2004-2017

Srihanto, E.A.¹⁾, Angeliya, L.¹⁾ dan Wahyuningtyas, A.S²⁾

1. Balai Veteriner Lampung
2. Stasiun Karantina Pertanian Tanjung Priok

Email : aguseko.dvmmsec@gmail.com

ABSTRAK

Penyakit Avian Influenza sejak masuk ke wilayah Lampung tahun 2003 sampai sekarang belum bisa diatasi dengan baik. Kematian unggas sampai saat ini masih sering dilaporkan dan ditemukan. Unggas yang terinfeksi dilaporkan tidak hanya ayam tetapi jenis unggas lainnya seperti puyuh, itik, entog, kalkun, walet dan burung liar. Perkembangan virus Avian Influenza sejak ditemukan pada tahun 2003 telah mengalami evolusi dan perubahan. Kajian ini bertujuan untuk melihat dinamika dan evolusi virus Avian Influenza di wilayah kerja Balai Veteriner tahun 2004-2016. Materi yang digunakan berupa data sekuens virus Avian Influenza dari genebank dan koleksi Balai Veteriner Lampung tahun 2004-2017. Asal isolat isolat diperoleh dari berbagai macam spesies meliputi ayam, puyuh, kalkun, itik, entog, walet dan burung liar. Metoda analisis dilakukan dengan melihat jarak genetik, homologi dan hubungan kekerabatan virus Avian Influenza. Analisis dilakukan menggunakan perangkat lunak MEGA 6.06 yang meliputi prediksi asam amino, homologi, jarak genetik dan pohon kekerabatan. Hasil analisis menunjukkan bahwa sejak tahun 2004-2017 sebaran virus Avian Influenza di wilayah kerja Balai Veteriner ditemukan adanya 2 *clade* yaitu *clade* 2.1 dan 2.3.2.1c. Jarak genetik antara *clade* 2.1 dengan *clade* 2.1.3 sekitar 3% dengan homologi berkisar 97%. Jarak genetik antara *clade* 2.1 dengan *clade* 2.3.2.1 sekitar 8 % dengan homologi sekitar 91 %. Jarak genetik antara *clade* 2.1.3 dengan *clade* 2.3.2.1 sekitar 4,5% dengan homologi sekitar 95,5%. Sebaran unggas yang terinfeksi mencakup multi spesies unggas meliputi ayam, puyuh, kalkun, itik, entog, walet dan burung liar.

Kata kunci : evolusi, virus Avian Influenza, *clade*

PENDAHULUAN

Avian influenza (AI) merupakan penyakit unggas menular yang disebabkan oleh virus *influenza* tipe A dari keluarga *Orthomyxoviridae*. Berdasarkan patogenisitas virus AI dibedakan menjadi *highly pathogenic avian influenza* (HPAI) dan *low pathogenic avian influenza* (LPAI). Sejauh ini infeksi pada unggas disebabkan oleh virus AI subtype H5 dan H7 yang termasuk HPAI. *Highly Pathogenic Avian Influenza* pada unggas mampu menyebabkan infeksi sistemik dan berakibat mortalitas pada unggas yang cukup tinggi (Alexander, 1982). Virion virus AI (Gambar 1) berbentuk bulat, filamentous atau kadang-kadang berbentuk pleomorfik dengan diameter 80-120 nm. Virus AI memiliki panjang 13,6 kb. Virus ini merupakan virus beramplop, genom virus memiliki delapan segmen yang mengkode 10 gen dan bermaterikan RNA untai tunggal 8 (ssRNA), polaritas negatif dan memiliki dua protein permukaan yang merupakan variabel perlekatan utamanya (Murphy *et al.*, 2008; Suarez, 2008).

Struktur protein struktural terdiri dari protein permukaan dan protein internal. Permukaan amplop virus tersusun atas *lipid bilayer* yang berasal dari membran sel hospes yang diperoleh pada saat *budding* yang tersusun oleh *hemagglutinin* (HA), *neuroamidase* (NA) dan *membran ion channel protein* (M2) (Suarez, 2008). *Haemagglutinine* (HA) merupakan glikoprotein pada amplop virus yang mampu berikatan dengan reseptor *sialic acid* pada permukaan sel hospes (De jong dan Hien, 2006). Protein internal tersusun oleh *nucleoprotein* (NP), *matrix proteins* (M1), *polimerase complex proteins* (PB1, PB2, PA). Selain itu terdapat tambahan dua protein non struktural (NS1, NS2) (Suarez, 2008). Virus *avian influenza* yang berhasil teridentifikasi sub tipe H5, H7, H4, H10 dan H11 (Lupiani and Reddy, 2009).

Wabah penyakit AI dilaporkan Indonesia pada akhir tahun 2003 dan dilaporkan secara resmi oleh pemerintah Indonesia pada tanggal 25 Januari 2004 melalui Keputusan Menteri Pertanian No. 96/Kpts/PD.620/2/2004. Wabah penyakit AI yang terjadi di propinsi Lampung ditemukan pertama kali di kabupaten Lampung Selatan pada bulan November 2003 dan dikonfirmasi disebabkan oleh virus AI sub tipe H5N1 pada bulan April 2004. Sampai dengan tahun 2016, penyakit AI sudah menjadi penyakit endemis di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung (Srihanto, 2013; Anonymous, 2016). Sejak akhir tahun 2012, di Indonesia telah terjadi introduksi virus AI baru yang homolog dengan virus AI di Vietnam (Wibawa dkk., 2012). Virus AI tersebut terdeteksi sebagai *clade 2.3.2*. Spesies yang diserang pada umumnya unggas air terutama itik dan entog. Virus AI *clade* baru dengan cepat menyebar ke seluruh wilayah Indonesia lainnya termasuk Lampung dan propinsi wilayah kerja Balai Veteriner lainnya. Sampai dengan tahun 2017 virus AI *clade 2.3.2* terus berkembang dan spesies yang terinfeksi tidak hanya pada unggas air tetapi sudah mulai menyerang ayam, puyuh dan beberapa jenis burung liar. Penelitian dan kajian tentang virus AI perlu dilakukan terutama tentang dinamika dan mutasi genetik yang terjadi. Hal ini sangat penting dilakukan untuk membantu melihat perkembangan virus dalam hubungannya dengan pengendalian dan program vaksinasi yang dilakukan. Kajian ini bertujuan untuk melihat dinamika dan evolusi virus *avian influenza* di wilayah kerja Balai Veteriner sejak tahun 2004-2016. Hasil yang didapatkan diharapkan dapat membantu mengetahui dinamika virus *Avian Influenza* lapangan dalam kerangka pengendalian penyakit *Avian Influenza* pada umumnya dan penerapan program vaksinasi pada khususnya.

MATERI DAN METODE

Materi

Data sekuens isolat yang digunakan berupa virus AI sub tipe H5N1 yang berasal dari *genebank* dan data sekuens isolat dari daerah di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung dari tahun 2004-2017. Sebanyak 40 data sekuens

digunakan untuk bahan kajian. Isolat berasal dari kabupaten/kota yang berada di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung. Data sekuens tersebut berasal dari berbagai macam spesies meliputi ayam, itik, entog, kalkun, walet, burung nuri dan puyuh.

Metode

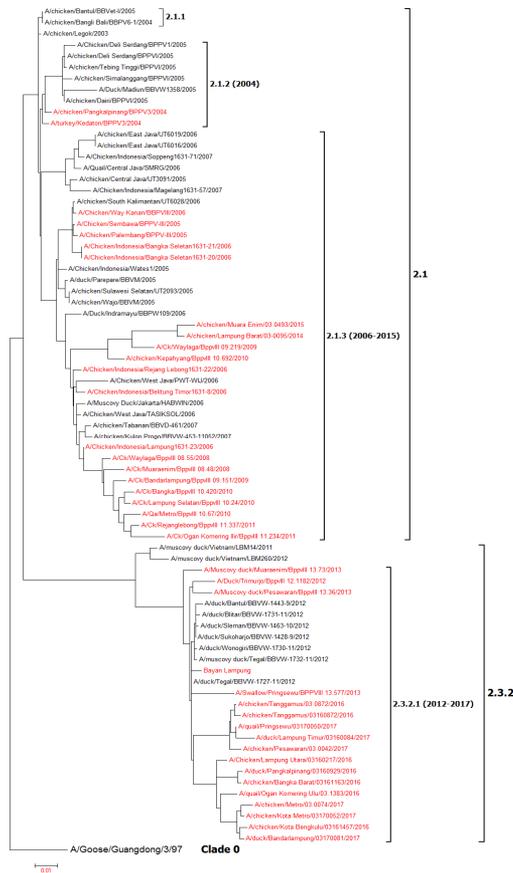
Analisis data menggunakan perangkat lunak *molecular evolution genetics analysis* (MEGA) versi 6.06. Analisis sekuens digunakan data fragmen gen HA sebagai materi analisis. Gen HA digunakan sebagai dasar penentuan hubungan kekerabatan (*clade*) dan untuk mengukur jarak genetik dan homologi antar *clade*. Data yang diperoleh berupa nilai jarak genetik (*distance*), nilai homologi dan gambaran pohon kekerabatan.

Kalkulasi *distance matrix* digunakan model *p-distance* untuk mendapatkan nilai jarak genetik. Konstruksi pohon kekerabatan dianalisis dengan metode *Neighbor-Joining* menggunakan model Kimura-2 parameter. Persentase replikasi pohon kekerabatan yang membentuk *clade* di setiap percabangan diuji menggunakan tes *bootstrap* dari 1000 kali replikasi (Tamura *et al.*, 2011; WHO, 2008).

HASIL dan PEMBAHASAN

Analisis data filogenik terhadap data sekuens virus AI subtype H5N1 isolat Lampung tahun 2004-2016 menunjukkan adanya 2 *clade* yang berkembang di lapangan yaitu *clade* 2.1 dan 2.3.2.1 (Gambar1). *Clade* 2.1 teridentifikasi pada tahun 2004-2015. Sub*clade* 2.1.2 ditemukan pada tahun 2005. Pada tahun 2005-2012, *clade* 2.1.3 lebih banyak teridentifikasi dan bersirkulasi. Sedangkan pada tahun 2012-2016, virus AI yang banyak teridentifikasi dan bersirkulasi adalah dari *clade* 2.3.2.1. Pada awal kasus *clade* 2.1 kebanyakan menyerang pada ayam, puyuh dan kalkun. Sedangkan pada awal kasus *clade* 2.3.2.1 hanya menginfeksi unggas air (itik dan entog). Tahun 2015 virus AI *clade* 2.3.2.1 sudah mulai menginfeksi ayam, puyuh dan beberapa burung liar.

Gambar 1. *Phylogenic tree* isolat Lampung 2004-2017



Ket : huruf merah adalah isolat penelitian

Analisis jarak genetik dan homologi antar *clade* ditunjukkan pada Tabel 2 menunjukkan terjadi perbedaan genetik sebanyak 3 % dengan homologi 97 % antara *clade* 2.1 dengan subclade 2.1.3. Jarak genetik antara *clade* 2.1.1 dengan subclade 2.3.2.1 sekitar 7,4% dengan homologi sekitar 92,6%. Jarak genetik antara subclade 2.1.3 dengan subclade 2.3.2.1 sekitar 4,5% dengan homologi sekitar 95,5%.

Tabel 2. Nilai jarak genetik dan homologi antar *clade*

Clade	2.1	2.1.3	2.3.2.1
2.1		0,97	0,91
2.1.3	0,03		0,955
2.3.2.1	0,09	0,045	

Sejak dideklarasikan tahun 2004 wabah penyakit AI telah menjadi penyakit endemis. Di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung penyakit AI juga menjadi ancaman yang serius dan merupakan penyakit unggas endemis di beberapa propinsi diantaranya Lampung, Bengkulu dan Sumatera Selatan (Srihanto, 2013; Anonimous, 2016). Sejak akhir tahun 2012, di Indonesia telah terjadi introduksi virus AI baru yang homolog dengan virus AI di Vietnam (Wibawa dkk., 2012). Di Lampung juga mengalami introduksi virus AI baru. Virus tersebut ditularkan dari pulau Jawa akibat adanya pemasukan unggas air yang terinfeksi virus (Srihanto, 2013). Virus AI tersebut diidentifikasi sebagai virus AI subtipe H5N1 *clade* 2.3.2.1. Takano *et al.* (2009), juga menyebutkan bahwa menyebarnya virus AI ke Sumatera dan pulau lainnya diakibatkan karena pola transportasi unggas pembawa virus yang tanpa kontrol.

Perkembangan virus AI di wilayah Lampung sejak tahun 2004-2017 didominasi oleh 2 subclade utama (Gambar 1). Pada awal kasus berkembang virus AI *clade* 2.1.1. Virus AI ini merupakan turunan dari virus *clade* 2.1 asal Jawa (Takano *et al.*, 2009). Subclade 2.1.3 dapat ditemukan dari tahun 2005-2014. Sedangkan *clade* 2.1.2 sudah tidak ditemukan lagi. Perkembangan subclade baru ini dikarenakan adanya mutasi virus lapang. Mutasi mudah dialami oleh virus avian influenza. Mutasi disebabkan karena faktor pengaruh penggunaan vaksinasi dan adanya perubahan internal gen berupa substitusi dan delesi. Mutasi pada virus AI yang merupakan virus golongan RNA disebabkan karena tidak adanya aktivitas *proofreading mechanism* pada waktu transkripsi (Liu *et al.*, 2009; Webster, 1999). Ketiadaan *proofreading mechanism* akan menyebabkan kesalahan 1 dari 10^4 basa pada waktu replikasi (Webster, 1999). Dalam setiap tahun diketahui perubahan rata-rata pada virus AI sebanyak 7,8 nukleotida per 1000 nukleotida dan 4,9 asam amino pada gen HA (Suarez and Senne, 2000; Spackman *et al.*, 2003). Substitusi asam amino pada *antigenic site* juga merupakan salah satu pendorong terjadinya mutasi pada gen HA. Substitusi asam amino pada *antigenic site* menyebabkan terjadinya seleksi positip (Duvvuri *et al.*, 2009). Menurut Plotkin *et al.* (2002), seleksi positip *antigenic site* disebabkan karena tekanan seleksi untuk menghindari dari respon imun hospes. Perubahan pada *antigenic site* akan mempengaruhi spesifitas netralisasi antibodi terhadap respon imun (Suarez, 2009).

Keragaman spesies yang peka terhadap virus AI juga mengalami perubahan. Unggas non air seperti ayam, puyuh, kalkun sangat peka terhadap infeksi virus AI *clade* 2.1. Sedangkan unggas air masih dianggap sebagai reservoir. Clade 2.3.2 yang mulanya hanya menginfeksi unggas air seperti itik dan entog, dalam perkembangannya mengalami perubahan terhadap unggas peka (Anonimous, 2016). Semua unggas diketahui sangat peka terhadap infeksi virus AI walaupun manifestasi klinis yang ditimbulkan berbeda-beda. Dalam hal ratio kematian, ketiga *clade* virus AI yang beredar

memiliki *case fatality rate* yang tinggi. Pencegahan dan pengendalian sangat sulit dilakukan dikarenakan sifat virus yang sangat mudah bermutasi.

KESIMPULAN

Berdasarkan analisis pohon kekerabatan, virus AI subtype H5N1 yang bersirkulasi di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung tahun 2004-2016 terdapat 2 *clade* yaitu 2.1 dan 2.3.2. Sebaran unggas yang terinfeksi meliputi ayam, unggas air, puyuh, kalkun dan burung liar.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 2016. Laporan Tahunan Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner Regional III Bandar Lampung
- Alexander, D.J., 2007. Summary of Avian Influenza Activity in Europe, Asia, Africa, and Australia 2002–2006, *Avian Diseases* 51:161–166
- de Jong, M.D. and Hien, T.T. 2006. Review Avian Influenza (H5N1), *Journal of Clinical Virology* 35 : 2-5
- Duvvuri, V.R.S.K., Duvvuri, B., Cuff, W.R., Wu, G.E., and Wu, J. 2009. Role of Positive Selection Pressure on the Evolution of H5N1 Hemagglutinin, *Genomics Proteomics Bioinformatics* Vol. 7 No. 1–2 June 2009 : 1-10
- Liu, Q., Ma, J., Kou, Z., Pu, J., Lei, F., Li T., and Liu, J. 2010. Characterization of a highly pathogenic avian influenza H5N1 clade 2.3.4 virus isolated from a tree sparrow, *Virus Research* 147 : 25–29
- Plotkin, J.B., Dushoff, J., and Levin, S.A. 2002. Hemagglutinin sequence clusters and the antigenic evolution of influenza A virus, *PNAS* 99 (9) : 6263–6268
- Srihanto, E.A. (2013). ANALISIS GENETIK GEN HEMAGLUTININ VIRUS AVIAN INFLUENZA SUBTIPE H5N1 ISOLAT LAMPUNG TAHUN 2008-2013, **Tesis**, FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS GADJAH MADA, YOGYAKARTA
- Suarez, D.L. 2008. Avian Influenza dalam Avian Influenza, Blackwell Publishing Blackwell Publishing Professional 2121 State Avenue, Ames, Iowa 50014, USA : 3-22
- Spackman, E., Senne, D.A., Davison, S., and Suarez, D.L. 2003. Sequence analysis of recent avian influenza viruses associated with three different outbreaks in commercial poultry in the United States, *J Virol* 77: 13399–133402

- Suarez, D.L., and Senne, D.A. 2000. Sequence analysis of related low-pathogenic and highly pathogenic H5N2 avian influenza isolates from United States live bird markets and poultry farms from 1983 to 1989, *Avian Dis* 44 : 356–364
- Takano, R., Nidom, C.A., Kiso, M., Muramoto, Y., Yamada, S., Tagawa, Y. S., Macken, C., and Kawaoka, Y. 2009. Phylogenetic characterization of H5N1 avian influenza viruses isolated in Indonesia from 2003–2007, *Virology* 390 :13–21
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., and Kumar, S. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods, *Mol. Biol. Evol.* 28 (10) : 2731–2739. doi:10.1093/molbev/msr121 : 1-9
- Webster, R.G. 1999. Antigenic Variation in Influenza Viruses dalam Origin and Evolution of Virus, Academic Press ISBN 0-12-220360-7 : 377-390
- Wibawa, H., Prijono, W.J., Dharmayanti, N.L.P.I., Irianingsih, S.H., Miswati, Y., Rohmah, S.N.R.A., Andesyha, E., Daulay, R.S.D., Safitria, K. 2012. Investigasi Wabah Penyakit Pada Itik di Jawa Tengah, Yogyakarta dan Jawa Timur : Identifikasi Sebuah Clade Baru Virus Avian Influenza Subtipe Baru di Indonesia. *Buletin Laboratorium Veteriner*, 12 (4) : 2-8
- WHO, 2008. Toward a Unified Nomenclature System for Highly Pathogenic Avian Influenza Virus (H5N1), *Emerg Infect Dis* 14(7) : e1