

**ANALISIS FILOGENETIK VIRUS INFLUENZA A H5N1 ISOLAT ITIK
DI KABUPATEN SIDENRENG RAPPANG**

*PHYLOGENETIC ANALYSIS OF INFLUENZA A H5N1 VIRUS ISOLATED
FROM DUCK IN SIDENRENG RAPPANG REGENCY*

**DEWI MUTISARI
P062191008**



**MAGISTER ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2021

**ANALISIS FILOGENETIK VIRUS INFLUENZA A H5N1 ISOLAT ITIK
DI KABUPATEN SIDENRENG RAPPANG**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi
Ilmu Biomedik

Disusun dan diajukan oleh

DEWI MUTISARI

Kepada

**SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2021

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

**ANALISIS FILOGENETIK VIRUS INFLUENZA A H5N1 ISOLAT ITIK
DI KABUPATEN SIDENRENG RAPPANG**

Disusun dan diajukan oleh

DEWI MUTISARI

P062191008

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Ilmu Biomedik
Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 28 Juli 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D
NIP. 19670910 199603 1 001

Pembimbing Pendamping,

Dr. drh. Dwi Kesuma Sari
NIP. 19730216 199903 2 001

Ketua Program Studi
Ilmu Biomedik,

Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc
NIP. 19770121 200312 2 003

Dekan Sekolah Pascasarjana
Universitas Hasanuddin,



Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc
NIP. 19670308 199003 1 001

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Dewi Mutisari
Nomor Mahasiswa : P062191008
Program Studi : Ilmu Biomedik (Mikrobiologi)
Jenjang : S2

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya tulisan saya berjudul:

Analisis Filogenetik Virus Influenza A H5N1 Isolat Itik di Kabupaten Sidenreng Rappang

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilalihan tulisan orang lain dan bahwa Tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 30 Juli 2021

Yang menyatakan



Dewi Mutisari

PRAKATA

Bismillaahirrahmaanirrahiim

Alhamdulillah Puji Syukur senantiasa penulis panjatkan kehadiran **Allah SWT** atas segala berkah, Rahmat, Hidayah dan Nikmat-Nya, serta salam dan salawat tercurah kepada junjungan **Nabiullah Muhammad SAW** sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini dengan baik.

Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah membantu penulis. Dengan penuh rasa hormat penulis menyampaikan terima kasih kepada Prof dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D selaku pembimbing pertama dan Dr. drh. Dwi Kesuma Sari selaku pembimbing kedua, yang senantiasa meluangkan waktu, pikiran, tenaga dalam membantu dan memotivasi penulis menyelesaikan penelitian tesis ini.

Terima kasih penulis ucapkan kepada Prof. Dr. Ahyar Ahmad, Dr. Rizalinda Sjahril, Ph.D., Sp.MK, dan Dr. dr. Risna Halim Mubin, Sp.PD, KPTI sebagai tim penguji yang telah banyak memberi masukan. Dalam kesempatan ini penulis juga tulus mengucapkan terima kasih kepada Ketua Program Studi S2 Ilmu Biomedik Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc, yang telah memberikan bimbingan dan ilmunya dengan ikhlas sehingga tesis ini dapat penulis selasaikan dengan baik.

Penghargaan penulis sampaikan kepada Kepala Balai Besar Veteriner Maros, Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan, Kementerian Pertanian RI yang telah memberikan kesempatan bagi

penulis untuk dapat menjalani proses pendidikan magister (S2) di Sekolah Pascasarjana Unhas. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Badan Penyuluhan dan Pengembangan Sumber Daya Manusia Pertanian (BPPSDMP) Kementerian Pertanian RI atas dukungan beasiswa selama pendidikan ini.

Terima kasih penulis sampaikan kepada teman-teman Laboratorium Virologi dan teman-teman Biomedik angkatan 2019/1 kelas B atas doa, bantuan, kerjasama dan kebersamaannya selama perkuliahan, penelitian hingga penyusunan tesis ini.

Rasa syukur dan terima kasih yang tak terkira penulis ucapkan kepada Ibu, Mama, dan Bapak serta keluarga yang selalu mendoakan dan mendukung dalam menempuh pendidikan ini hingga selesai.

Terakhir penulis ucapkan terima kasih kepada suami tercinta drh. Adyatma Muhammad Nur serta anak-anak shaleh tersayang Akhtar Kamil Harimurti dan Aksa Hamizan Dwitama yang selalu berdoa, mendukung, dan menyemangati penulis dalam menempuh studi ini hingga selesai.

Akhirnya kepada semua pihak yang telah membantu yang tidak sempat saya tuliskan satu persatu, penulis sampaikan rasa terima kasih. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan Rahmat dan Karunia-Nya kepada semua pihak yang telah membantu penyelesaian tesis ini.

Makassar, Juli 2021

Dewi Mutisari

ABSTRAK

DEWI MUTISARI. *Analisis Filogenetik Virus Influenza A H5N1 Isolat Itik di Kabupaten Sidenreng Rappang* (dibimbing oleh **Muhammad Nasrum Massi** dan **Dwi Kesuma Sari**)

Analisis filogenetik virus influenza A H5N1 dilakukan terhadap isolat itik yang berasal dari kejadian luar biasa penyakit unggas di Kabupaten Sidenreng Rappang. Influenza A H5N1 merupakan virus penyebab penyakit infeksi pada unggas yang mengakibatkan kerugian ekonomi yang signifikan serta bersifat zoonosis.

Sampel berupa usap orofaring dan organ (otak, paru-paru, limpa, hati, pankreas) diambil dari unggas (itik dan ayam buras) yang menunjukkan gejala klinis berupa tortikolis, gangguan saraf, kornea mata terlihat keruh, dan kematian terjadi kurang dari satu hari setelah terlihat gejala. Sampel disatukan ke dalam tabung berisi cairan viral transport medium (VTM): 4 tabung usap orofaring itik, 1 tabung usap ayam buras, dan 1 tabung organ itik, selanjutnya diinokulasi pada telur ayam berembrio specific antibody negative (TAB-SAN). Virus kemudian diisolasi dari cairan korioalantois telur ayam dan diidentifikasi menggunakan uji hemaglutinasi dan hemaglutinasi inhibisi. Isolat positif influenza A H5 kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan sekuensing keseluruhan genom dengan teknik next generation sequencing (NGS) (Illumina).

Dari 6 isolat yang diperiksa teridentifikasi 2 positif influenza A H5. Dipilih 1 isolat dengan titer virus tertinggi untuk dilakukan sekuensing. Hasil menunjukkan bahwa keseluruhan segmen gen virus memiliki homologi tertinggi dengan virus influenza A H5N1 clade 2.3.2.1c dari Indonesia. Analisis penyejajaran ganda gen HA isolat sampel dengan isolat-isolat referensi pada daerah pemotongan menunjukkan pola PQRERRRK-RGLF yang merupakan karakteristik virus influenza unggas patogenesitas tinggi. Kemudian pada posisi 222 diisi oleh glutamin (Q222) dan posisi 224 diisi oleh glisin (G224) yang menunjukkan afinitas tinggi terhadap reseptor unggas (SA α 2,3 Gal). Analisis filogenetik gen HA, NA, PB1, PB2, PA, NP, M, dan NS menunjukkan tidak adanya reassortment genetik virus ini.

Penyebab kejadian luar biasa penyakit unggas di Kabupaten Sidenreng Rappang secara filogenetik terbukti sebagai virus influenza A H5N1 clade 2.3.2.1c.

Kata kunci: *filogenetik, influenza A H5N1, isolat, itik, sidenreng rappang*



ABSTRACT

DEWI MUTISARI. Phylogenetic Analysis of Influenza A H5N1 Virus Isolated from Duck in Sidenreng Rappang Regency (supervised by **Muhammad Nasrum Massi** and **Dwi Kesuma Sari**)

A phylogenetic study of influenza A H5N1 virus was carried out on duck isolate obtained from a poultry disease outbreak in Sidenreng Rappang Regency. Influenza A H5N1 is a virus that causes infectious diseases in poultry which causes significant economic losses and is a zoonotic disease.

Oropharyngeal swabs and organs (brain, lungs, spleen, liver, pancreas) samples were taken from poultry (ducks and native chickens) that showed clinical symptoms: torticollis, fascial oedema, neurological disorders, and the cloudy corneas, and death occurs less than one day after symptoms appear. The samples were pooled into a viral transport medium (VTM) tube: 4 duck oropharyngeal swab tubes, 1 native chicken swab tube, and 1 duck organ tube and then inoculated on specific antibody-negative chicken embryonated eggs. After that, the virus was isolated from the chorioallantoic fluid of chicken egg and identified using hemagglutination and hemagglutination inhibition tests. A positive result of influenza A H5 virus then continued with whole-genome sequencing test with *next-generation sequencing* (NGS) (Illumina) technique.

From 6 samples, we found 2 samples positive influenza A H5 virus. 1 isolate selected based on the highest virus titer to continue the sequencing test. We found that all genes segment virus was closely related to Indonesian influenza A H5N1 clade 2.3.2.1c virus. Multiple alignments of the sample hemagglutinin (HA) gene with the AI references virus showed that the pattern of amino acid arrangement in the cleavage site PQRERRRK-RGLF is characteristic of the highly pathogenic avian influenza (HPAI) virus. The HA gene contained Q222 (glutamine) and G224 (glycine), indicating a high affinity to the avian receptor (α 2,3 Gal). Furthermore, based on the phylogenetic analysis of HA, NA, PB1, PB2, PA, NP, M, and NS genes, there was no genetic reassortment of this virus.

The cause of the poultry disease outbreak in Sidenreng Rappang District was phylogenetically proven as influenza A H5N1 clade 2.3.2.1c virus.

Keywords: *phylogenetic, influenza A H5N1, isolate, duck, sidenreng rappang*

 GUGUS PENJAMINAN MUTU (GPM) SEKOLAH PASCASARJANA UNHAS	
Abstrak ini telah diperiksa.	Paraf Ketua / Sekretaris.
Tanggal : <u>04/06/2021</u>	

DAFTAR ISI

PRAKATA	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Virus AI	6
1. Klasifikasi dan Morfologi Virus AI	6
2. Hospes Virus AI.....	8
3. Epidemiologi.....	9
4. Patogenesis.....	11
5. Patogenesitas.....	11
6. Diagnosis Virus AI	13
7. Pengendalian Virus AI di Indonesia.....	14
B. Hemaglutinin.....	17
1. Struktur Hemaglutinin	17
2. Fungsi Hemaglutinin.....	17
C. Mutasi dan Perubahan Antigenik	21
D. Rerangka Teori.....	26
E. Hipotesis.....	26
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	28

A. Rancangan Penelitian.....	28
B. Waktu dan Tempat Penelitian.....	28
C. Sampel	28
D. Kerangka Konseptual	30
E. Definisi Operasional.....	30
F. Alat dan Bahan Penelitian	31
G. Cara Kerja	32
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	35
A. Hasil.....	35
B. Pembahasan.....	41
BAB V PENUTUP.....	55
A. Kesimpulan	55
B. Saran.....	55
DAFTAR PUSTAKA.....	56
LAMPIRAN	67

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Segmen genom virus AI serta fungsi protein yang disandinya.....	7
Tabel 2 Jenis dan jumlah sampel.....	36
Tabel 3 Hasil pengujian HA dan HI	36
Tabel 4 Homologi tertinggi nukleotida isolat virus sampel dibandingkan dengan isolat NCBI	37
Tabel 5 Analisis clade, susunan asam amino pada daerah TPR dan daerah pemotongan.....	38

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Struktur virus influenza A	6
Gambar 2 Pohon filogenetik gen HA virus HPAI H5N1.....	39
Gambar 3 Pohon filogenetik gen NA virus HPAI H5N1.....	39
Gambar 4 Pohon filogenetik gen PB1 virus HPAI H5N1	39
Gambar 5 Pohon filogenetik gen PB2 virus HPAI H5N1	39
Gambar 6 Pohon filogenetik gen PA virus HPAI H5N1	40
Gambar 7 Pohon filogenetik gen NP virus HPAI H5N1.....	40
Gambar 8 Pohon filogenetik gen M virus HPAI H5N1.....	40
Gambar 9 Pohon filogenetik gen NS virus HPAI H5N1.....	40

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Investigasi Outbreak Penyakit Unggas	67
Lampiran 2 Isolasi dan Identifikasi Virus AI	69
Lampiran 4 Gambaran Histopatologi Organ Unggas yang Terinfeksi Virus AI	72
Lampiran 5 Rekomendasi Persetujuan Etik	74
Lampiran 6 Surat Keterangan Jurnal	75
Lampiran 7 Surat Keterangan Bebas Plagiasi	76

DAFTAR SINGKATAN

Lambang/ Singkatan	Arti dan Keterangan
AI	<i>Avian Influenza</i>
Arg atau R	Arginin
BBVet	Balai Besar Veteriner
DOC	<i>Day Old Chicken</i>
DOD	<i>Day Old Duck</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
Glu atau G	Glutamin
HA	Hemaglutinin
HA/ HI	<i>Hemagglutination/ Hemagglutination Inhibition</i>
HAU	<i>Hemagglutination Unit</i>
HPAI	<i>Highly Pathogenic Avian Influenza</i>
H5N1	Subtipe virus AI berdasarkan dua glikoprotein permukaan, yaitu HA (5) dan NA (1)
IVM	<i>Influenza Virus Monitoring</i>
KNPFB	Komisi Nasional Pengendalian Flu Burung
Lys atau K	Lisin
LPAI	<i>Low Pathogenic Avian Influenza</i>
M	Matriks
NA	Neuraminidase
NCBI	<i>National Centre for Biotechnology Information</i>
ND	<i>Newcastle Disease</i>
NGS	<i>Next Generation Sequencing</i>
NKRI	Negara Kesatuan Republik Indonesia
NS	Nonstruktural
NS1	Nonstruktural 1
NS2	Nonstruktural 2

OIE	<i>Office des International Epizooties</i>
PA	<i>Polymerase Acid</i>
PB1	<i>Polymerase Basic 1</i>
PB2	<i>Polymerase Basic 2</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PHMS	Penyakit Hewan Menular Strategis
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i>
RT-PCR	<i>Reverse Transcription- Polymerase Chain Reaction</i>
SA	<i>Sialic Acid</i>
SAN	<i>Specific Antibodi Negative</i>
Ser tau S	Serin
SPF	<i>Spesific Pathogen Free</i>
TAB	Telur Ayam Berembrio
TPR	Tapak Perlekatan Reseptor
VTM	<i>Viral Transport Medium</i>
WGS	<i>Whole Genome Sequencing</i>
WHO	<i>World Health Organisation</i>

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Virus *Avian Influenza* (AI) merupakan virus influenza tipe A dalam famili *Orthomyxoviridae* yang menyebabkan penyakit infeksius pada unggas. Unggas seperti ayam, unggas air, angsa, kalkun, burung laut, dan burung liar merupakan hewan yang rentan terserang virus AI (Boyce *et al.*, 2009). Virus AI juga bersifat zoonosis, yaitu menular dari hewan ke manusia contohnya infeksi pada 18 orang di Hongkong yang menyebabkan 6 orang meninggal (Subbarao *et al.*, 1998).

Virus AI merupakan virus yang bersegmen: 8 segmen gen yang mengkode 10 protein yaitu 8 protein struktural (HA, NA, PB1, PB2, PA, NP, M1, dan M2) dan 2 protein non struktural (NS1 dan NS2). Protein hemagglutinin (HA) berperan dalam patogenesis, sifat antigenik, dan spesifisitas virus terhadap hospes (Asmara, 2007).

Protein HA dikode oleh segmen 4 yang mempunyai panjang sekitar 566 peptida atau sekitar 1778 basa (Mostafa *et al.*, 2018). Protein ini berfungsi untuk mengenali asam sialat yang terdapat pada reseptor sel hospes (Imai *et al.*, 2012) dan berperan dalam menentukan patogenesis virus AI H5N1 (Li *et al.*, 2011). Marka molekuler pada hemagglutinin yang sering dihubungkan karakter patogenesis virus dan juga spesifisitas hospes antara lain adalah motif asam amino polibasic pada bagian daerah pemotongan dan tapak perlekatan reseptor (TPR).

Virus influenza A pada unggas, manusia maupun spesies lain merupakan virus RNA yang mudah mengalami mutasi karena tidak mampu melakukan *proof reading* pada proses replikasi (Boyce, *et al.*, 2009). Hemagglutinin merupakan pusat yang berperan dalam *antigenic drift* (Takano *et al.*, 2009). Perubahan struktur genetik virus influenza pada manusia dapat disebabkan karena peranan virus AI unggas. Reassortment genetik dan *antigenic drift* mengakibatkan 5 pandemi influenza yang terdokumentasi sejak tahun 1900 dan menjadi penyakit epidemik musiman yang masing-masing berulang setiap tahun (Urbaniak & Markowska-daniel, 2014)

Wabah AI H5N1 di Indonesia awalnya terdeteksi di peternakan unggas pada Desember 2003 (Lam *et al.*, 2008) sedangkan kasus pertama pada manusia pada bulan Juli 2005 dan terus menyebabkan penularan zoonotik secara sporadis ke manusia (Asmara, 2007; Sedyaningsih *et al.*, 2007). Data *Food and Agricultural Organisation* (FAO) dan *World Health Organisation* (WHO) menunjukkan puncak wabah *highly pathogenic avian influenza* (HPAI) H5N1 pada unggas di Indonesia terjadi pada 2006-2009. Peningkatan kasus HPAI H5N1 pada unggas kembali dilaporkan pada 2016, namun tidak dilaporkan adanya kasus pada manusia (Wibawa, 2016). Berdasarkan data terakhir WHO 20 Januari 2020, total kasus sejak tahun 2003-2019 sebanyak 861 kasus dan 455 orang meninggal. Indonesia merupakan negara urutan pertama kasus kematian pada manusia yaitu 168 orang meninggal dari 200 kasus infeksi.

Namun demikian sudah tidak ada kasus infeksi pada manusia pada tahun 2018 dan 2019 di seluruh dunia (World Health Organisation, 2020).

Meskipun wabah AI H5N1 pada unggas telah berkurang, namun virus terus bermutasi serta memiliki potensi untuk melakukan adaptasi pada manusia dengan mutasi atau reassortment, sehingga perlu adanya analisis molekuler mengenai perubahan genetik pada unggas yang terkonfirmasi positif virus AI H5N1. Kabupaten Sidenreng Rappang dipilih karena memiliki populasi ayam petelur terbesar dan populasi keseluruhan unggas terbesar ketiga di Provinsi Sulawesi Selatan. Analisis filogenetik dan karakterisasi molekuler terhadap isolat yang berasal dari itik di Kabupaten Sidenreng Rappang masih sangat kurang. Penelitian ini dilakukan untuk menyediakan informasi molekuler pada isolat virus AI asal itik di Kabupaten Sidenreng Rappang. Analisis molekuler virus AI dilakukan sebagai bahan informasi yang berkaitan dengan genetik yang dapat digunakan sebagai dasar pertimbangan pemerintah dalam menentukan kebijakan untuk mengendalikan dan memberantas penyakit AI.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas maka didapatkan rumusan masalah penelitian sebagai berikut:

1. Apakah isolat virus AI H5N1 yang berasal dari itik merupakan virus yang spesifik terhadap reseptor unggas?

2. Apakah isolat virus AI H5N1 yang berasal dari itik termasuk virus HPAI?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah melakukan analisis filogenetik dan karakterisasi molekuler virus AI H5N1 yang diisolasi dari itik di Kabupaten Sidenreng Rappang.

2. Tujuan Khusus

Tujuan khusus penelitian ini adalah:

- a. Mempelajari spesifisitas virus AI H5N1 terhadap asam sialat hospes,
- b. Mengetahui patogenesitas virus AI H5N1,
- c. Melihat kekerabatan virus AI H5N1 asal itik secara molekuler, dan
- d. Melihat kemungkinan adanya reassortment genetik pada keseluruhan segmen gen virus AI H5N1

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan menambah pengetahuan bagi peneliti tentang karakteristik molekuler isolat virus AI H5N1 asal itik.

2. Manfaat Aplikatif

- a. Hasil yang diperoleh diharapkan dapat digunakan sebagai tambahan informasi molekuler isolat virus AI yang berasal dari itik sehingga dapat dilihat hubungan kekerabatannya dengan virus sebelumnya yang sudah terdaftar di genebank.
- b. Data yang diperoleh dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan gambaran molekuler virus AI isolat itik dalam rangka pengendalian dan pemberantasan penyakit AI di Indonesia.

BAB II

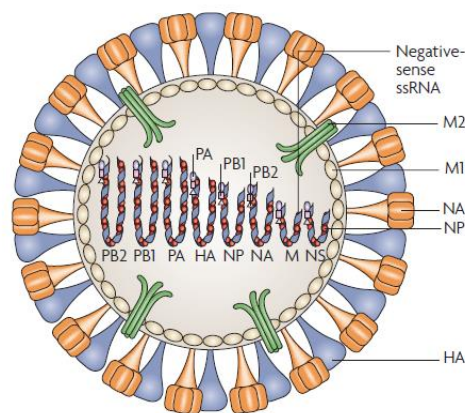
TINJAUAN PUSTAKA

A. Virus AI

1. Klasifikasi dan Morfologi Virus AI

Virus influenza termasuk dalam family *Orthomyxoviridae*. Berdasarkan perbedaan antigenik pada protein nucleoprotein (NP) dan matriks (M1) virus influenza diklasifikasikan sebagai influenza A, B, dan C. Dalam klasifikasi virus influenza, seluruh virus AI termasuk dalam influenza tipe A. Sampai sekarang telah teridentifikasi 18 HA (H1-H18) dan 11 NA (N1-N11). Pembagian ini didasarkan pada antigenesitas dua glikoprotein permukaan, hemagglutinin (HA) dan neuraminidase (NA) (Mostafa *et al.*, 2018; Tong *et al.*, 2013).

Virus influenza memiliki amplop, genom bersegmen dengan RNA untai tunggal, berpolaritas negatif, berbentuk filamen atau bola (sferoid), berdiameter 80-120 nm, mempunyai nukleokapsid heliks yang dibungkus oleh selubung lipoprotein (Harris *et al.*, 2006).



Gambar 1 Struktur virus influenza A (Martha & Edward, 2007)

Tabel 1 Segmen genom virus AI serta fungsi protein yang disandinya

Segmen/ gen	Ukuran (nukleotida)	Protein yang disandi	Fungsi
1/ PB2	2341	<i>Polymerase Basic 2</i>	Pengenalan dan pengikatan ke sekuen cap mRNA
2/ PB1	2341	<i>Polymerase Basic 1</i>	Menangkap <i>cap-structure</i> untuk menyiapkan transkripsi mRNA
3/ PA	2233	<i>Polymerase Acid</i>	Menginisiasi sintesis vRNA Endonuklease RNA untuk reassortment struktur cap kecil RNA digunakan untuk sintesis mRNA.
4/ HA	1778	Hemaglutinin	Pengikatan reseptor Fusi membran Antigen mayor
5/ NP	1565	Nukleoprotein	Pengikatan vRNA dan proteksi Sintesis vRNA oleh kompleks vRNP
6/ NA	1413	Neuraminidase	Impor nuklear dari vRNP Aktivitas sialidase untuk melepaskan progeni virion Membantu partikel virus untuk penetrasi ke barier mukus pada saluran pernafasan untuk mencapai dan menginfeksi sel hospes
7/ M	1027	Matriks 1 (M1)	Impor dan ekspor nuklear dari vRNP
		Matriks 2 (M2)	Penggabungan virus, <i>budding</i> , dan morfogenesis Aktivitas ion channel
8/ NS	890	Nonstruktural 1 (NS1)	Proses <i>uncoating</i> Respon antiviral antagonis seluler Mendukung <i>splicing</i> mRNA virus Menghambat maturasi mRNA dan translasi
		Nonstruktural 2 (NS2)	Penting untuk ekspor nuklear vRNP Regulasi transkripsi/ replikasi vRNA

Sumber: (Mostafa *et al.*, 2018)

Genom virus AI terdiri dari 8 segmen gen yang mengkode 10 jenis protein, yaitu 8 protein struktural dan 2 protein non struktural (Asmara, 2007). 10 protein tersebut terdiri dari 3 protein transkriptase yaitu PB2 (*polymerase basic protein*), PB1 (*polymerase basic protein*) dan PA (*polymerase protein*), dua glikoprotein permukaan HA (hemaglutinin) dan NA (neuraminidase), protein NP (nukleoprotein), protein M1 dan M2 (matriks protein) dan NS1 dan NS2 (nonstruktural protein) (Mostafa *et al.*, 2018; Pleska, 2013). Berdasarkan lokasinya fragmen gen virus influenza dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu gen eksternal (gen HA dan NA) dan gen internal (PB1, PB2, PA, NP, M dan NS) (Nidom, 2005).

2. Hospes Virus AI

Virus AI menginfeksi banyak jenis unggas termasuk ayam, unggas air, angsa, kalkun, burung liar, dan burung laut (Boyce *et al.*, 2009). Virus AI juga dapat menyerang manusia, babi, primata, sapi, kuda, musang, paus, dan anjing laut (Cardona *et al.*, 2009). Virus influenza tipe A umumnya bersifat lebih patogen daripada virus influenza tipe B dan C yang diisolasi dari manusia (Suzuki & Nei, 2002).

Secara alami, hospes serta reservoir virus AI adalah unggas air liar. Gejala pada unggas yang terserang virus AI menunjukkan infeksi pencernaan asimtomatik, namun melepaskan virus AI melalui feses dalam jumlah yang besar. Pada unggas liar jarang ditemukan adanya infeksi HPAI, namun dapat ditemukan pada unggas peliharaan (Asmara, 2007).

3. Epidemiologi

Virus HPAI H5N1 pertama kali diisolasi di Guangdong, Cina pada tahun 1996 (Xu *et al.*, 1999), dan menyebar ke pasar unggas hidup Hong Kong (Shortridge *et al.*, 1998), mengakibatkan 18 kasus infeksi manusia pada tahun 1997, 6 di antaranya berakibat fatal (Subbarao *et al.*, 1998). Gelombang pertama infeksi H5N1 berhenti setelah depopulasi semua unggas di Hong Kong, meskipun virus H5N1 kemudian ditemukan beredar terus menerus di Cina Selatan tanpa menyebabkan gejala penyakit yang jelas di antara unggas yang terinfeksi (Webster *et al.*, 2002). Wabah H5N1 berulang pada tahun 2003, secara terus menerus mempengaruhi peternakan unggas di banyak negara Asia Tenggara, seperti China, Thailand, Vietnam, Indonesia dan Kamboja. Virus juga menyebar ke luar Asia, termasuk ke beberapa negara Eropa (Hoffmann *et al.*, 2000). Potensi zoonosis HPAI merupakan perhatian kesehatan masyarakat global, khususnya dalam mencegah potensi pandemi (David L Suarez, 2016).

Wabah H5N1 di Indonesia awalnya terdeteksi di peternakan unggas di Jawa Barat dan Jawa Tengah di beberapa peternakan ayam komersil pada bulan Desember 2003 (Lam *et al.*, 2008). Kemudian virus menyebar ke beberapa propinsi di Indonesia termasuk Jawa Timur, DI Yogyakarta, Bali, Lampung, dan beberapa wilayah di Kalimantan dan Sumatera (Asmara, 2007). Virus ini dengan cepat menjadi endemik di Indonesia (Sedyaningsih *et al.*, 2007). Dibandingkan tahun 2003 dan 2004, jumlah

kematian unggas menurun drastis pada tahun 2005, meskipun terjadi perluasan daerah yang terserang (Asmara, 2007). Kasus penularan flu burung pertama pada manusia terjadi di Kabupaten Tangerang, Jawa Barat pada bulan Juli 2005 dan terus menyebabkan penularan zoonotik secara sporadis ke manusia. Kasus tersebut terjadi pada saat sudah terjadi penurunan kasus AI di peternakan unggas (Asmara, 2007; Sedyaningsih *et al.*, 2007).

Data FAO dan WHO menunjukkan puncak wabah HPAI H5N1 pada unggas di Indonesia terjadi pada 2006-2009. Jumlah kasus pada unggas dan manusia berangsur menurun sejak 2010 seiring dengan upaya intervensi dan kontrol dari pemerintah maupun masyarakat (peternak). Akhir 2012 dunia peternakan dikejutkan wabah HPAI pada itik dengan angka kematian tinggi, fenomena kasus AI yang sebelumnya tidak pernah terjadi di Indonesia. Peningkatan kasus HPAI H5N1 pada unggas kembali dilaporkan pada 2016, namun tidak dilaporkan adanya kasus pada manusia (Wibawa, 2016).

Berdasarkan data terakhir WHO 20 Januari 2020, total kasus sejak tahun 2003-2019 sebanyak 861 kasus dan 455 orang meninggal. Indonesia merupakan negara urutan pertama kasus kematian pada manusia yaitu 168 orang meninggal dari 200 kasus infeksi. Namun demikian sudah tidak ada kasus infeksi pada manusia pada tahun 2018 dan 2019 di seluruh dunia (World Health Organisation, 2020).

4. Patogenesis

Patogenesis merupakan proses masuknya virus hingga menimbulkan gejala klinis. Virus AI masuk ke dalam hospes melalui ikatan antara protein HA dengan reseptor membran sel hospes. Protein NA selanjutnya akan membantu partikel virus yang telah menempel untuk masuk dan menyebar ke dalam sel hospes untuk selanjutnya mengalami proses replikasi. Virus AI tidak hanya bereplikasi pada mukosa di sekitar tempat infeksi, tetapi juga menyebar ke permukaan epitel lain seperti epitel gastrointestinal atau ginjal (Swayne *et al.*, 2013). Replikasi virus di dalam endotelium menyebabkan peningkatan permeabilitas vaskular, edema, perdarahan, microthrombosis, dan koagulopati yang akan mengakibatkan rusaknya sistem vaskular dan kematian (Perkins & Swayne, 2001).

5. Patogenesitas

Virus AI dapat dibagi menjadi 2 berdasarkan tingkat infeksi, yaitu HPAI dan *low pathogenic avian influenza* (LPAI). Menurut OIE *Terrestrial Animal Health Code (Terrestrial Code)* AI merupakan penyakit unggas karena infeksi virus influenza A dengan patogenisitas tinggi (HPAI) dan patogenesitas rendah subtipe H5 dan H7 (H5/H7 LPAI) (OIE, 2018).

HPAI yang terjadi secara alami adalah subtipe H5 dan H7 dan studi genomik sudah dapat menentukan virus HPAI yang muncul karena mutasi virus LPAI H5/H7, semua LPAI H5/H7 telah diakui berpotensi patogen. Perubahan patogenesitas virus AI disebabkan karena perubahan pada

daerah pemotongan proteolitik hemaglutinin, yaitu 1) penggantian protein *non-basic* dengan protein *basic* (lisin atau arginin), 2) insersi protein *basic*, 3) perubahan urutan nukleotida berupa penambahan segmen gen lain sehingga daerah pemotongan bertambah panjang, 4) delesi penahan situs glikosilasi pada residu-13 disertai protein polibasic pada daerah pemotongan (OIE, 2018).

Analisis sekuens daerah pemotongan antara protein prekursor HA0 dapat menjadi penentu patogenesitas virus AI apabila dilihat secara molekuler (Alexander, 2007). Pada virus HPAI, replikasi virus dipengaruhi oleh perubahan susunan asam amino pada daerah pemotongan (Boyce *et al.*, 2009). Virus HPAI dapat menyebabkan kerusakan jaringan maupun organ yang serius hingga menyebabkan kematian, hal ini disebabkan karena virus dapat bereplikasi pada seluruh organ unggas (Alexander, 2007). Virus AI yang memiliki hemaglutinin H5, H7, dan kadang-kadang H9 biasanya menyebabkan penyakit serius pada unggas (Asmara, 2007).

Reservoir virus LPAI adalah unggas air liar (Gall *et al.*, 2009) dan diduga sebagai asal mula wabah virus HPAI yang menyerang unggas komersil (Cheung *et al.*, 2009). Virus AI yang menyebabkan penyebaran penyakit yang lebih luas dengan mortalitas tinggi serta infeksi sistemik yang parah pada HPAI berasal dari LPAI subtipe H5 dan H7 (Gall *et al.*, 2009).

Gejala klinis pada infeksi virus LPAI tidak terlalu terlihat. Hal ini disebabkan karena biasanya bersifat lokal pada saluran pernapasan

maupun pencernaan. Berdasarkan analisis molekuler pada daerah pemotongan HA0, virus LPAI terdiri dari asam amino monobasic dan HA0-nya dibelah oleh enzim protease *like-trypsin* secara ekstrasel (Gall *et al.*, 2009).

6. Diagnosis Virus AI

Diagnosa kejadian AI bisa dilakukan dengan beberapa cara yaitu dengan mengamati gejala klinis, mengamati perubahan patologi, dan melalui pengujian laboratorium (isolasi, pengujian serologi, dan molekuler). Virus HPAI biasanya menyebabkan penyakit parah pada ayam, kalkun, dan beberapa unggas pada kawanan yang terinfeksi biasanya dapat bertahan hidup (Acha & Zsyfres, 2003; Swayne, 2008). Unggas tampak depresi, penurunan nafsu makan dan minum, sering kali terlihat adanya tanda-tanda sistemik, pernapasan dan/ atau neurologis lainnya, tetapi tidak ada tanda-tanda yang patognomonik, dan dapat terjadi kematian mendadak (Swayne, 2014, 2008; Tsukamoto *et al.*, 2007). Tanda-tanda yang sering dilaporkan termasuk batuk, bersin, sinusitis, kotoran mulut dan hidung yang diwarnai darah, ekimosis pada betis dan kaki, edema dan sianosis kulit kepala yang tidak berbulu, jengger dan pial, serta diare. Produksi telur menurun atau berhenti, telur mengalami depigmentasi, cacat dan tanpa cangkang. Unggas air lebih bersifat sebagai pembawa (*carrier*) (Spackman, 2008), namun ketika terjadi outbreak pertama kali di Indonesia virus AI H5N1 telah menyebabkan kematian pada itik (Asmara *et al.*, 2005).

Sampel untuk diagnosa AI diambil dari hewan yang menunjukkan gejala klinis AI atau yang mati dalam waktu 24 jam. Sampel yang digunakan dapat berupa darah, hasil swab, maupun pemeriksaan organ berupa otak, trakea, paru-paru, pankreas, proventrikulus, dan usus. Pengambilan swab dilakukan pada trakea atau kloaka. Hasil swab harus ditempatkan dalam wadah steril yang berisi cairan antibiotik (Tablante, 2012). Sampel organ digerus kemudian disentrifugasi bersama PBS steril. Hasilnya berupa cairan supernatan yang digunakan sebagai bahan untuk isolasi virus.

Isolasi virus AI dilakukan dengan cara inokulasi dalam TAB umur 9-11 hari. Cairan alantois dipanen setelah 7 hari masa inkubasi untuk selanjutnya dilakukan uji serologis. Pemeriksaan serologis dilakukan menggunakan uji hemaglutinasi (HA) dan hemaglutinasi inhibisi (HI) yang mengacu pada standar OIE. Pengujian menggunakan serum anti virus AI sub tipe H5N1 (OIE, 2018). Metode lain yang bisa digunakan adalah pemeriksaan secara molekuler menggunakan metode RT-PCR (Tablante, 2012).

7. Pengendalian Virus AI di Indonesia

Perhatian pemerintah terhadap wabah AI telah dilakukan sejak tahun 2004. Sebagai buktinya, diterbitkan SK yang mengatur budidaya ayam ras. Menurut SK Dirjen Peternakan No. 17 tahun 2004 dinyatakan bahwa prioritas nasional untuk pengendalian wabah flu burung adalah dengan sembilan strategi pengendalian AI yaitu: 1) meningkatkan biosekuriti, 2)

dilakukan vaksinasi pada daerah tertular dan tersangka, 3) depopulasi terbatas dan kompensasi, 4) dilakukan pengendalian lalu-lintas unggas dan produknya, 5) surveilans dan penelusuran kembali, 6) kandang diisi kembali, 7) dilakukan *stamping out* pada daerah tertular baru, 8) dilakukan KIE pada masyarakat, serta 9) monitoring dan evaluasi (Badan Litbang Pertanian. Kementerian Pertanian., 2004). Kemudian pada tahun 2006 dibuat PP nomor 7 tahun 2006 tentang pembentukan Komite Nasional Pengendalian Flu Burung (KNPFB) (Romadhoni & Haryadi, 2012).

Selanjutnya pada tahun 2013 berdasarkan Permentan Nomor 4026/Kpts/OT.140/4/2013 AI ditetapkan sebagai Penyakit Hewan Menular Strategis (PHMS). UU Nomor 18 Tahun 2009 juncto UU Nomor 41 Tahun 2014 tentang Peternakan dan Kesehatan Hewan Pemerintah mengatur tentang pengamanan PHMS. Pemerintah pusat dan daerah berdasarkan kewenangannya melaksanakan pengamanan terhadap PHMS, yang juga wajib dilakukan oleh semua yang memelihara dan / atau mengusahakan hewan. Hal tersebut antara lain meliputi penerapan biosekuriti, pengebalan (vaksinasi) hewan, serta mengawasi lalu lintas hewan dan produknya (Trobos Livestock, 2019).

Saat ini Kementerian Pertanian telah mengembangkan model “Biosekuriti 3 Zona”, membina peternakan percontohan dan melakukan edukasi peternak. Penilaian biosekuriti diterapkan pula pada sertifikasi kompartemen bebas AI yang menjamin pengadaan *day old chicken* (DOC/ ayam umur sehari) pada peternakan unggas komersial dipasok dari

peternakan pembibit bersertifikat kompartemen bebas AI. Kementerian Pertanian melakukan penjaminan kualitas vaksin AI melalui mekanisme registrasi dan pengawasan peredaran obat hewan. Pemerintah juga melaksanakan jejaring *Influenza Virus Monitoring (IVM)* untuk melakukan monitoring dinamika sirkulasi virus AI dan memetakan karakter virus AI sehingga strainantang yang digunakan untuk pengujian dan sertifikasi mutu vaksin AI tetap mutakhir, serta merekomendasikan *seed* vaksin termutakhir. IVM juga bertujuan untuk deteksi dini virus AI pada hewan subtipe atau strain eksotik (HxNx). Selain itu Kementerian Pertanian juga melakukan pengendalian importasi unggas serta produk unggas untuk mencegah masuknya virus AI subtipe eksotik, serta pengawasan lalu lintas unggas serta produk unggas di dalam wilayah Negara Kesatuan Republik Indonesia (NKRI) dilakukan untuk mencegah penyebaran penyakit antar wilayah (Trobos Livestock, 2019).

Dilakukannya sertifikasi kompartemen bebas AI dan peningkatan biosekuriti peternakan merupakan usaha dalam pengendalian kejadian AI. Strategi tersebut mampu menekan kejadian AI di peternakan rakyat dan bagi peternakan komersial diberikan sertifikasi kompartemen bebas AI. Selain itu, pemantauan produksi dan penggunaan vaksin juga dilakukan oleh Kementerian Pertanian untuk melindungi peternakan melalui pemantauan dinamika virus (Kementerian Pertanian, 2019).

B. Hemagglutinin

Hemagglutinin adalah protein penting yang berperan dalam replikasi serta adaptasi virus AI ke hospes (Bocher-Friebertshauser *et al.*, 2014) sehingga bertanggung jawab atas pengikatan reseptor virus AI ke membran sel hospes. Protein hemagglutinin (HA) berperan dalam patogenesis, sifat antigenik, dan spesifisitas virus terhadap hospes (Asmara, 2007). Glikoprotein ini dikode oleh segmen 4 dan mempunyai panjang sekitar 566 peptida atau sekitar 1778 basa (Pleska, 2013). Protein hemagglutinin mempunyai epitop yang terpapar dengan sistem kekebalan inang sehingga mengalami banyak modifikasi atau mutasi yang menyebabkan terbentuknya banyak varian di lapangan (Plotkin & Dushoff, 2003).

1. Struktur Hemagglutinin

HA adalah glikoprotein dengan berat molekul sekitar 76.000 dan terdiri dari 2 dari 3 situs glikosilasi (Gurtler, 2006). HA dapat mengalami glikosilasi dan asilasi. Kepala membran distal memiliki bentuk bulat, daerah eksternal menyerupai bentuk tombol serta mempunyai kemampuan mengikat reseptor sel (Werner & Harder, 2006).

2. Fungsi Hemagglutinin

Protein HA berfungsi untuk mengenali asam sialat reseptor pada permukaan sel hospes (Imai *et al.*, 2012). Protein HA juga berperan dalam menentukan patogenesis virus AI H5N1 (Li *et al.*, 2011). Marka molekuler pada hemagglutinin yang sering dihubungkan dengan inisiasi

infeksi dan interaksi dengan reseptor hospes serta karakter patogenesis virus antara lain adalah asam amino pada TPR dan motif asam amino polibasic pada daerah pemotongan.

a. TPR

Protein HA berfungsi dalam pengenalan asam sialat reseptor pada permukaan sel. Pengenalan ini akan menyebabkan pengeluaran nukleokapsid ke sitoplasma karena adanya fusi amplop virus dengan membran endosomal sel hospes, sehingga mempengaruhi kemampuan transmisi virus antar spesies (Imai *et al.*, 2012). Bagian dari HA pada TPR yang berikatan dengan reseptor hospes memiliki motif asam amino yang khas (Asmara, 2007). Lebih lanjut dijelaskan bahwa virus AI akan berikatan dengan glikoprotein gugus *sialyl galactosyl* [Neu5Ac(α 2-3)Gal] atau [Neu5Ac(α 2-6)Gal]. Salah satu yang mempengaruhi adanya infeksi virus AI adalah spesifisitas virus dengan reseptor di permukaan sel hospes (Matrosovich *et al.*, 2004). Spesifisitas virus terhadap hospes dipengaruhi oleh ikatan tersebut (Matrosovich *et al.*, 2004; Mostafa *et al.*, 2018).

Sasaran virus AI pada unggas adalah jaringan epitel endodermik (usus, paru-paru). Pada jaringan tersebut didominasi oleh α 2,3-SA yang akan menunjukkan afinitas tinggi terhadap virus AI pada unggas (Gambaryan *et al.*, 2005). Selain itu, juga terdapat pada saluran pernapasan bagian bawah manusia (saluran pernafasan bawah, alveoli dan sel bronkiolus dan alveoli) dan sel konjungtiva (Kumlin *et al.*, 2008).

Sedangkan virus AI manusia lebih sering menempel pada asam sialat dengan ikatan α 2,6 (α 2,6-SA) yang dominan dalam saluran pernapasan bawah manusia termasuk epitel sel yang melapisi rongga hidung, sinus paranasal, faring, laring, trakea, dan bronkus (Kumlin *et al.*, 2008; Shinya *et al.*, 2006). Ikatan α 2,3-SA dan α 2,6-SA juga telah terdeteksi di saluran pernafasan atas babi serta pada burung puyuh yang menimbulkan replikasi virus AI yang efisien dengan afinitas pada reseptor asam sialat tipe manusia dan unggas (Ito *et al.*, 1998; Wan & Perez, 2006). Perubahan spesifisitas hospes mungkin terjadi akibat mutasi genetik yang menyebabkan perubahan asam amino pada TPR (Asmara, 2007).

b. Daerah pemotongan

Patogenesitas virus AI secara molekuler ditentukan oleh protein HA pada daerah pemotongan. Enzim protease pada inang akan memecah asam amino tunggal pada daerah pemotongan gen HA secara terbatas sehingga tidak menyebabkan infeksi yang parah (asimtomatik). Sedangkan infeksi sistemik yang parah disebabkan oleh pemecahan asam amino polibasic pada daerah pemotongan gen HA oleh ubiquitous protease sel hospes (Li *et al.*, 2011).

Infektivitas dan menyebarnya virus ke seluruh tubuh disebabkan karena aktivasi enzim proteolitik pada protein HA. Virus AI akan melepaskan ribonukleoprotein setelah mengikat reseptor sel pada awal infeksi. Protein tunggal HA0 ditranslasi oleh HA yang merupakan glikoprotein permukaan utama virus influenza. Gen HA diaktivasi di daerah

yang spesifik yaitu pada daerah pemotongan oleh enzim hospes yaitu proteolitik *endoprotease serine*. Daerah tersebut secara normal dikode oleh asam amino monobasic (arginin) (Puthavathana *et al.*, 2005). Hemagglutinin (HA0) terbagi menjadi dua domain yaitu HA1 dan HA2 yang dipisahkan oleh daerah pemotongan agar teraktivasi (Puthavathana *et al.*, 2005; David L Suarez, 2016). Reseptor sel hospes akan berikatan dengan protein HA1 dan fusi antara virus (bagian amplop) dengan membran endosomal hospes akan dilakukan oleh ujung protein HA2 yang merupakan daerah fusigenik. Tingkat virulensi virus berhubungan dengan kepekaan protein HA virus AI yang berbeda-beda terhadap protease hospes (Puthavathana *et al.*, 2005).

Patogenesitas virus AI dapat ditentukan secara molekuler berdasarkan analisis sekuens pada daerah pemotongan antara protein prekursor HA0 (Alexander, 2007). Replikasi virus HPAI dipengaruhi oleh pola asam amino yang berubah pada daerah pemotongan HA (Boyce *et al.*, 2009). Pada HPAI akan ditemukan adanya daerah asam amino polibasic. Ciri tersebut mengandung 5 (lima) arginin dan 2 (dua) lisin. Susunan asam amino yang menyusun *regio* tersebut adalah Arg (arginin), Glu (glutamin), Arg (arginin), Arg (arginin), Lys (lisin), Lys (lisin) dan Arg (arginin) (PQRERRRKKRGLF). Asam amino tersebut dapat digunakan untuk membedakan virulensi virus AI (Asmara, 2007; Nidom, 2005).

Residu asam amino polibasic bisa dipecah di berbagai tempat di dalam sel hospes dan mengekspresikan proprotein convertase “furin” dan

furin like protease yang mengakibatkan infeksi sistemik yang parah pada unggas serta mamalia (Luczo *et al.*, 2015; Stieneke-grober *et al.*, 1992). Pemecahan tersebut terdapat pada susunan asam amino RRRKKR//G. R adalah asam amino Arginin, K adalah asam amino Lisin dan G adalah asam amino Glisin. Tanda // adalah daerah pemotongan antara gen HA1 dan HA2 (Dharmayanti *et al.*, 2005).

C. Mutasi dan Perubahan Antigenik

RNA-polimerase virus influenza menunjukkan kurangnya fungsi *proofreading*, sehingga integrasi nukleotida yang salah sering terjadi selama proses replikasi virus dengan kecepatan 10^{-3} hingga 10^{-4} akan menghasilkan tingkat mutasi yang tinggi (Ahlquist, 2002; Smith *et al.*, 2006). Protein influenza harus menghindari pengenalan sistem kekebalan dan mempertahankan kemampuannya dalam berfungsi dan berinteraksi dengan faktor seluler hospes (Taubenberger & Kash, 2010). Tiga mekanisme perubahan evolusioner yang dialami virus influenza yaitu, mutasi (*antigenic drift*), reassortment (*antigenic shift*), dan dalam kasus yang jarang, rekombinasi. Garis keturunan virus yang berbeda sebagian besar merupakan hospes spesifik, tetapi terdapat pertukaran segmen gen virus influenza secara berkala antar spesies yang menimbulkan peningkatan pandemik penyakit pada manusia, hewan, dan burung (Webster *et al.*, 1992).

Antigenic drift adalah alasan utama munculnya varian baru dan menyebabkan wabah influenza tahunan. Meskipun perubahan ini mungkin tidak menyebabkan pandemi, *antigenic drift* selama periode waktu tertentu dapat menyebabkan sebuah strain sangat berbeda dari virus pandemi asli (Shao *et al.*, 2017). Mutasi yang signifikan pada situs antigenik akibat mutasi titik konstan pada virus influenza berkontribusi pada evolusi virus secara bertahap yang mengarah pada migrasi antigen untuk menghasilkan virus influenza subtipe baru untuk menghindari tekanan kekebalan populasi (Carrat & Flahault, 2007). Semua subtipe virus influenza A dapat mengalami *antigenic drift*, namun lebih sering terjadi pada influenza yang umum pada manusia. Pelepasan kekebalan dapat dicapai dengan mutasi pada protein virus AI misalnya HA dan/ atau NA. Perubahan struktural minimal dapat terjadi pada protein permukaan tersebut dan perlindungan kekebalan hospes (diperoleh melalui infeksi atau imunisasi sebelumnya) menjadi tidak efektif melawan serangan virus. Sehingga sistem kekebalan tidak dapat mengidentifikasi varian virus yang baru dan pola pengenalan interaksi antigen-antibodi tidak berfungsi penuh lagi. Selain itu, substitusi asam amino dalam protein HA dapat mengubah preferensi reseptor virus influenza. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa mutasi G186V pada protein HA tercatat sebagai potensi adaptasi burung H7 ke reseptor tipe manusia (Dortmans *et al.*, 2013; Xiong *et al.*, 2013).

Reassortment merupakan pertukaran segmen RNA antara virus influenza yang berbeda secara genotip untuk menghasilkan strain dan/ atau subtipe virus baru, hal ini dapat terjadi karena genom virus influenza yang bersegmen (Reid & Taubenberger, 2003). Pandemi virus AI dapat terjadi melalui penularan dari hewan ke manusia atau dengan konfigurasi ulang antara virus flu burung dan virus influenza manusia (De Clercq, 2006). Karena virus influenza memiliki genom bersegmen, reassortment merupakan mekanisme penting untuk menghasilkan virus "baru" (Vergara-Alert *et al.*, 2014). Sehingga reassortment virus mencapai pola antigenik baru yang dikenal sebagai *antigenic shift*. Pandemi influenza muncul sebagai akibat dari perubahan genetik yang besar seperti virus AI. Modifikasi ini terjadi karena kesalahan mekanistik selama replikasi virus RNA polimerase, tekanan evolusioner, lingkungan baru dari inang, tekanan kekebalan, atau tekanan obat antivirus (Landolt & Olsen, 2007).

Selain mutasi dan reassortment, virus AI masih memiliki cara lain yang relatif langka untuk evolusi yang disebut rekombinasi. Rekombinasi genetik adalah salah satu proses utama yang menghasilkan keragaman genetik melalui seleksi alam. Rekombinasi pada virus AI dapat terjadi melalui dua mekanisme utama, yaitu rekombinasi non-homolog yang terjadi antara dua mekanisme yang berbeda fragmen RNA (Orlich *et al.*, 1994; Suarez *et al.*, 2004) dan rekombinasi homolog yang kontroversial, yang sering dianggap tidak ada atau sangat jarang (Chare *et al.*, 2003). Rekombinasi berkontribusi pada generasi keragaman genetik hanya dapat

terjadi di antara virus yang mereplikasi di dalam sel yang sama (Shao *et al.*, 2017).

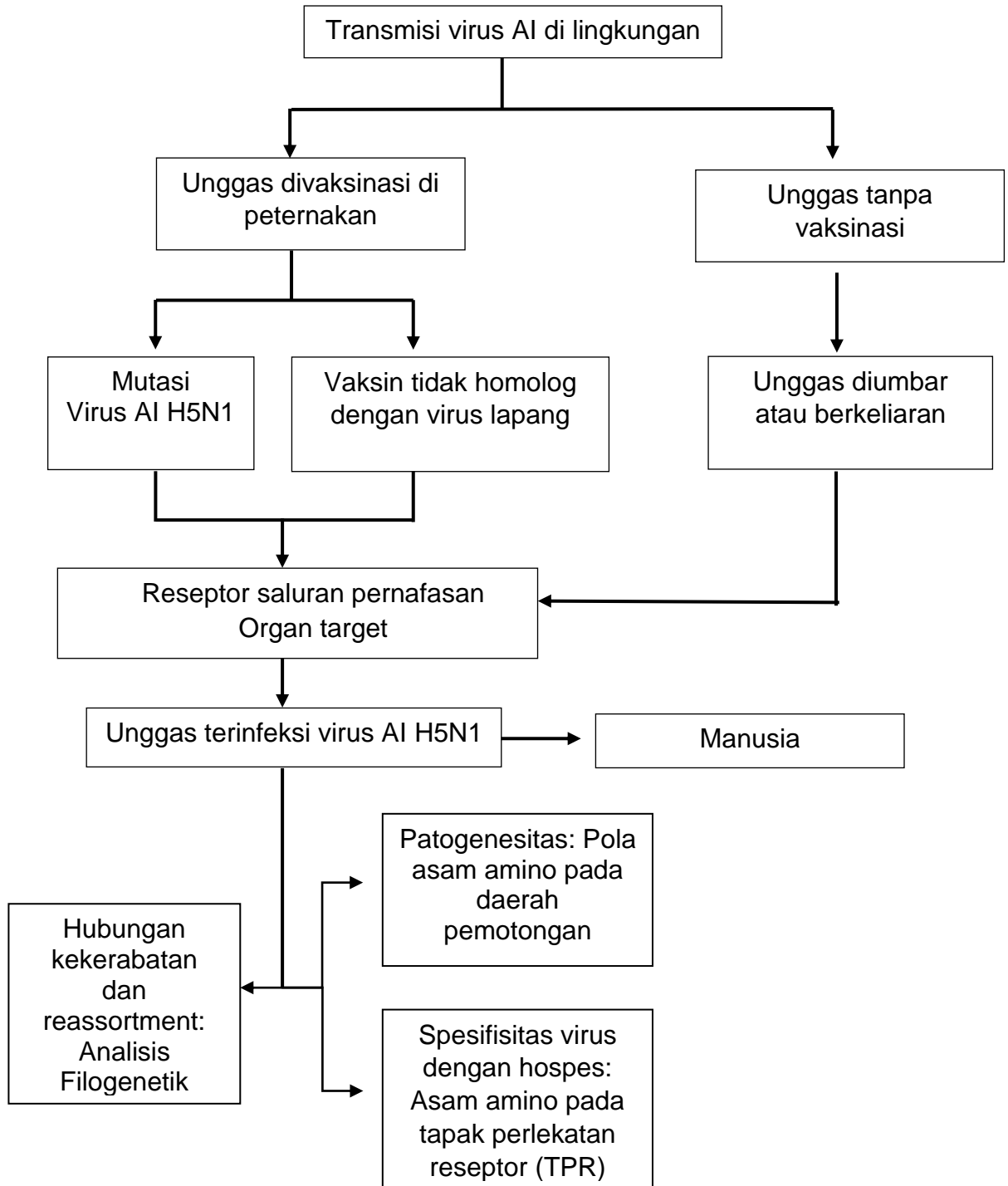
Evolusi virus influenza menghasilkan bermacam-macam virus dan mutasi, dan evolusi semacam itu dapat mempengaruhi spesifisitas dan patogenisitas inang dari virus-virus ini (Mehle *et al.*, 2012). Evolusi virus influenza A terutama dimediasi melalui mutasi virus itu sendiri dan reassortment genom virus yang berasal dari berbagai strain telah diungkapkan pada sejumlah besar penelitian. Evolusi virus melalui mekanisme ini menyebabkan epidemi tahunan di seluruh dunia dan terkadang menjadi pandemi. Virus influenza A dapat berevolusi dari virus yang menginfeksi hewan menjadi menginfeksi manusia dan dapat menyebabkan pandemi (Shao *et al.*, 2017). Reassortment dan *antigenic drift* mengakibatkan 5 pandemi influenza yang terdokumentasi sejak tahun 1900 dan menjadi penyakit epidemik musiman yang masing-masing berulang setiap tahun (Urbaniak & Markowska-daniel, 2014).

Tidak seperti epidemi, pandemi dapat tersebar di suatu wilayah geografis yang relatif luas dalam waktu yang singkat mengakibatkan ribuan atau bahkan jutaan infeksi yang fatal. Pandemi tahun 1918 terjadi dari hasil adaptasi virus dari unggas dan manusia akibat mutasi titik (Jia-hai *et al.*, 2006). Pandemi influenza tahun 1957 di Asia terdapat gen PB1, HA dan NA dari unggas dan tahun 1968 di Hongkong virus influenza di dapatkan dari gen HA dan PB1 unggas dari proses reassortment. Pada tahun 1977, terjadi influenza Rusia yang diduga disebabkan oleh virus

H1N1 yang muncul kembali kemudian menyebar ke seluruh dunia, dan menyebabkan infeksi parah pada manusia dengan tingkat kematian 50% diantara anak-anak usia sekolah (Ozawa & Kawaoka, 2013). Pada tahun 2009 terjadi pandemi H1N1 *swine-origin influenza virus* (S-OIV) yang merupakan hasil *triple* reassortment dari virus avian, manusia dan babi, yang dikenal sebagai "Flu babi". Segmen PB2 dan PA berasal dari virus Amerika Utara, segmen PB1 dari virus H3N2 manusia, segmen NA dan M dari virus flu burung Eurasia, dan segmen HA, NP, NS dari virus babi klasik tipe H1N1 (Garten *et al.*, 2009; Medina & García-sastre, 2011).

Pandemi H5N1 pada manusia belum terjadi tetapi beberapa penelitian Kim *et al.*, (2010) yang dilakukan secara *in vivo* pada hewan model *ferret* menunjukkan perubahan asam amino pada protein virus hospes yaitu HA, PA, dan NP yang berfungsi sebagai pencetus terjadinya adaptasi virus H5N1 ke manusia dan mengakibatkan terjadinya pandemi H5N1.

D. Rerangka Teori



E. Hipotesis

Adapun hipotesis dalam penelitian ini yaitu:

1. Hipotesis Nol (Ho)

Virus AI isolat itik yang berasal dari Kabupaten Sidenreng Rappang merupakan virus AI subtipe H5N1 yang termasuk ke dalam HPAI.

Virus AI isolat itik yang berasal dari Kabupaten Sidenreng Rappang merupakan virus AI subtipe H5N1 yang berikatan spesifik terhadap reseptor unggas.

2. Hipotesis Alternatif (Ha)

Virus AI isolat itik yang berasal dari Kabupaten Sidenreng Rappang merupakan virus AI subtipe H5N1 yang tidak termasuk ke dalam HPAI.

Virus AI isolat itik yang berasal dari Kabupaten Sidenreng Rappang merupakan virus AI subtipe H5N1 yang tidak berikatan spesifik terhadap reseptor unggas.