

KONTRIBUSI KAJIAN STRUKTUR MOLEKULER VIRUS AVIAN INFLUENZA (VAI) TERHADAP PERKEMBANGAN BIOTEKNOLOGI VAKSIN DAN ANTIBODI MONOKLONAL

Heru Nurcahyo

Jurusan Pendidikan Biologi, FMIPA, UNY

ABSTRAK

Virus *avian influenza* (VAI) tipe A yang sering menimbulkan penyakit serius pada unggas dan diduga dapat menular pada hewan lain dan manusia, sampai saat ini terus diteliti secara intensif untuk mengkaji struktur molekuler, sifat-sifat antigenik, virulensi, dan spesifitas virus terhadap hospes. Tujuan penulisan karya ilmiah ini adalah untuk mengkaji struktur molekuler virus *avian influenza* dan kontribusinya terhadap perkembangan bioteknologi produksi vaksin viral dan antibodi monoklonal.

Kajian ini difokuskan pada struktur molekuler VAI tipe A yang meliputi: sifat antigenik dari nukleoprotein (NP), matriks (M), genom, amplop lipid bilayer, dan glikoprotein hemagglutinin (HA) dan neuramiase (NA) yang berada dalam bentuk homotrimer dan homotetramer. Selain itu, juga analisis serologik dan genetik VAI untuk mengetahui susunan asam amino protein HA, NA dan protein nonstruktural (NS) serta sifat antigenik, virulensi, spesifitas virus terhadap hospes dan kemampuan virus untuk mutasi melalui mekanisme *reassortment genetic*.

Identifikasi, isolasi, dan karakterisasi peran dan fungsi komponen protein molekul VAI memberikan kontribusi yang sangat besar nilainya terhadap perkembangan produksi vaksin viral VAI dan antibodi monoklonal (MAb) terhadap antigen VAI. Perkembangan kultur jaringan dan teknik hibridoma sebagai teknik baru dalam bidang bioteknologi mempunyai kaitan erat dengan perkembangan produksi vaksin viral VAI yang bermanfaat untuk pencegahan penyakit *avian influenza*, dan MAb yang bermanfaat untuk tes serologis dalam rangka menegakkan diagnosa penyakit *avian influenza* secara tepat, cepat, dan relatif murah.

Katakunci: virus *avian influenza* (VAI), bioteknologi, vaksin viral, dan antibodi monoklonal (MAb).

PENDAHULUAN

Dalam kurun waktu 3 tahun terakhir ini, sejak 23 September 2003, virus *avian influenza* (VAI) telah menyita perhatian para ahli dari bidang kedokteran hewan maupun manusia, karena virus tersebut telah menyebabkan kematian unggas terutama ayam dan juga terbukti menyebabkan penyakit flu burung pada manusia. Wabah (*outbreaks*) yang telah ditimbulkan oleh VAI mengakibatkan kerugian yang sangat

besar mencapai milyaran rupiah. Oleh karena itu, di beberapa negara, VAI mendapat perhatian serius dan diteliti secara intensif dengan harapan dapat mencari solusi yang tepat untuk mengatasi berbagai permasalahan yang dihadapi manusia pada saat ini maupun yang akan datang yang menyangkut kebutuhan pangan, vaksin, dan obat-obatan.

Penyakit karena infeksi virus sampai saat ini belum ditemukan obatnya, sehingga cara yang paling tepat untuk pencegahan penularan penyakit viral hanya dapat dilakukan dengan melakukan program vaksinasi secara benar (*lege artis*). Salah satu persyaratan agar program vaksinasi dapat memperoleh hasil yang optimal (titer antibodi cukup tinggi) adalah menggunakan vaksin yang berkualitas. Kualitas vaksin dinilai baik manakala kuman bibit penyakit yang digunakan untuk bahan pembuatan vaksin dapat memberikan perlindungan terhadap ayam yang divaksinasi. Vaksin yang dibuat dari virus strain isolat lokal (lapang) secara teoritis lebih memberikan kekebalan yang dapat melindungi ternak ayam daripada strain lainnya. Selain itu, sampai saat ini belum ditemukan cara mendiagnosa keberadaan virus AI secara tepat dan cepat baik pada hewan maupun pada manusia. Salah satu, cara mendiagnosa penyakit *avian influenza* adalah dengan uji serologis menggunakan antibodi monoklonal yang sangat spesifik untuk mendeteksi keberadaan antigen VAI.

Kemajuan dan perkembangan biologi molekuler yang tidak dapat terlepas dari kemajuan dan dukungan ilmu-ilmu dasar seperti: mikrobiologi, biokimia, biologi molekuler, dan genetika dan kemampuan menguasai dan mengaplikasikan metode-metode mutakhir bioteknologi (*current methods of biotechnology*) seperti: kultur jaringan, rekayasa genetik, hibridoma, kloning, dan *polymerase chains reaction* (PCR) secara prospektif telah mampu menghasilkan produk-produk penemuan baru. Sebagai ilustrasi; penemuan-penemuan baru dibidang imunologi (ilmu yang mempelajari sistem kekebalan tubuh) telah berhasil diproduksi antibodi-monoklonal (MAb) secara massal. Penemuan MAb dengan metode klonasi (*clone*), memiliki kelebihan antara lain: peka (sensitivitas), khas (spesifitas), dan akurat. Dengan

demikian, MAb terhadap VAI dapat digunakan untuk mendiagnosis penyakit influenza unggas dengan akurat, cepat dan relatif murah melalui metode *enzymeimmunoassay* (EIA), dan immunositokimia (*immunocytochemistry*). Oleh karena itu, pada tulisan ini akan dikaji secara khusus peran struktur molekuler virus *avian influenza* dan kontribusinya terhadap perkembangan bioteknologi produksi vaksin viral dan antibodi monoklonal.

KAJIAN PUSTAKA

1. Biologi Molekuler Virus Avian Influenza (VAI)

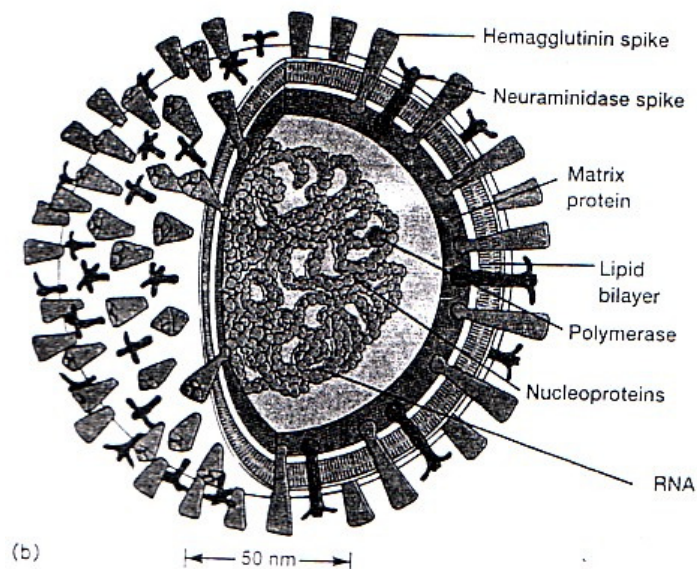
Virus avian influenza merupakan virus RNA yang digolongkan ke dalam famili *Orthomyxoviridae* dan termasuk jenis virus influenza tipe A. Dua tipe lainnya adalah VAI tipe B dan tipe C. Ketiga virus tersebut dapat dibedakan berdasarkan sifat antigenik yang terdapat pada nukleoprotein (NP) dan Matriks (M) (Horimoto & Kawaoka, 2001: 133). Genom VAI tipe A berupa RNA untai tunggal, sense negatif, panjang kurang lebih 13.588 nukleotida yang tersusun dalam 8 segmen yang menyandi 10 jenis protein. Nama segmen, jumlah nukleotida, dan fungsi protein yang disandi secara ringkas dapat dilihat pada tabel 1 (Horimoto & Kawaoka, 2001: 134).

Tabel 1: Segmen, ukuran, gen dan protein VAI tipe A

Segment	Ukuran	Protein	Fungsi
1	2341	PB2	Transkriptase: ikatan capsid
2	2341	PB1	Transkriptase: elongasi
3	223	PA	Transkriptase: aktivitas protease
4	1778	HA	Hemaglutinin
5	1565	NP	Nukleoprotein: ikatan RNA, Bagian dari kompleks transcriptase, transport vRNA
6	1413	NA	Neuroamidase: pelepasan virus
7	1027	M1	Protein matriks: komponen utama virion
		M2	Saluran ion
8	890	NS1	Nonstruktural: nucleus; berpengaruh pada transport RNA seluler, splicing, translasi, protein antiinterferon

		NS2	Nonstruktural: sitoplasma, nukleus, fungsi belum diketahui
--	--	-----	--

Virus AI memiliki amplop lipid bilayer yang berasal dari hospes dan diselaputi sekitar 500 tonjolan glikoprotein yang memiliki aktivitas hemaglutinasi dan neuramidase. Aktivitas ini diperankan oleh 2 glikoprotein utama pada permukaan virus yaitu hemaglutinin (HA) dan neuramidase (NA) yang berada dalam bentuk homotrimer dan homotetramer. Analisis serologik dan genetik pada VAI dapat diketahui ada 15 macam HA dan 9 macam NA (Donateli *et al.*, 2001: 626).



Gambar 1: Skema virus avian influenza

1.1. Peran Hemagglutinin VAI

Virus AI yang sering menimbulkan penyakit serius terutama memiliki hemagglutinin H5, H7 dan kadang-kadang H9. Meskipun faktor virulensi VAI ini poligenik, akan tetapi protein HA memiliki peranan penting. Pada awal infeksi protein HA akan berikatan dengan reseptor sel dan melepaskan ribonukleoprotein. Aktivasi precursor HA (HA0) menjadi HA1 dan HA2 oleh protease hospes. Protein HA1 akan berikatan dengan

reseptor sel hospes dan merupakan target utama untuk respon kekebalan dan protein HA2 dengan bagian fusigenik di ujung HA2 yang akan memfasilitasi fusi antara amplop virus dengan membran endosomal hospes. Oleh karena itu, aktivasi proteolitik protein HA merupakan faktor penting untuk infektivitas dan penyebaran virus ke seluruh tubuh. Perbedaan kepekaan protein HA VAI terhadap protease hospes berhubungan dengan tingkat virulensi. Virus AI dapat diklasifikasikan ke dalam 2 kelompok yaitu *Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI)* dan *Low Pathogenic Avian Influenza (LPAI)*. Hemagglutinin HPAI dan LPAI berbeda kepekaannya terhadap protease hospes. Virus yang tergolong kelompok HPAIV memiliki hemagglutinin yang sangat peka terhadap protease endogen/seluler hospes, sedangkan pemotongan hemagglutinin yang sangat peka terhadap protease ekstra seluler aktif spesifik seperti tripsin (Alexander, 2000: 9). Analisis molekuler menunjukkan adanya perbedaan susunan asam amino pada *hemagglutinin cleavage site*. Pada HPAIV akan ditemukan adanya *polybasic amino acid region*. Sebagai contoh perbedaan asam amino pada *hemagglutinin cleavage site* HPAIV dan LPAIV dapat dilihat ada table 2 (Horimoto dan Kawaoka, 2001: 137). Selain keberadaan *polybasic amino acid region*, *hemagglutinin cleavage site* juga dipengaruhi oleh glikosilasi disekitarnya. Sebagai contoh adalah hilangnya tapak glikosilasi pada asam amino ke 13 hemagglutinin VAI H5N2 yang menimbulkan wabah di Pennsylvania antara tahun 1983-1984. Dari data analisis disimpulkan bahwa keberadaan *polybasic amino acid region* dan posisi glikosilasi hemagglutinin dapat dipakai sebagai *pathotypic marker* VAI (Banks & Plowright, 2003: 948). Dalam banyak kasus seringkali dijumpai perubahan dari LPAIV ke HPAIV atau sebaliknya. Sebagai contoh dalam 3 kejadian wabah di Amerika Serikat tahun 1983-1984, Meksiko tahun 1994-1995 dan Itali tahun 1999-2000.

Pada setiap wabah tersebut keberadaan LPAIV terdeteksi beberapa bulan sebelum akhirnya berubah menjadi HPAIV. Perubahan sifat ini merupakan konsekuensi dari sifat VAI yang bergenom RNA bersegmen. Di dalam hospes yang baru VAI sering melakukan adaptasi baik melalui mutasi maupun *reassortment genetic* yang dapat mengakibatkan terjadinya *antigenic drift* ataupun *antigenic shift*, sehingga secara evolutif dapat memunculkan strain VAI baru yang lebih virulen (Swayne & Soarez, 2000: 465).

1.2. Peran Neuramidase Virus

Neuramidase dianggap ikut berperan dalam spesifitas VAI terhadap hospes. Neuramidase berperan untuk menghidrolisis ikatan antara galaktosa dan *N-acetylneuraminic* pada rantai ujung oligosakarida-glikoprotein. Fungsi NA ini harus berada dalam keseimbangan dengan HA. Hal ini agar aktivitas enzimatis dalam melepaskan asam sialat dari sel yang terinfeksi tidak menyebabkan penurunan efisiensi infeksi sel berikutnya. Sialiloligosakarida yang terdapat pada mukus di saluran respirasi mempunyai peran pada pembatasan hospes terhadap VAI. Neuramidase VAI isolat asal ayam tidak dapat mencegah 4-O-asetyl SA, sehingga oligosakarida ini dapat berperan sebagai inhibitor analog reseptor dalam saluran respirasi manusia. Oleh karena itu, VAI isolat asal ayam tidak dapat dengan mudah menginfeksi saluran respirasi manusia. Fungsi lain dari NA adalah untuk melepaskan partikel virus yang sudah selesai replikasi dalam sel, mencegah virion yang sudah terbentuk tersebut menempel kembali pada reseptor asam sialat melalui tonjolan HA dan NA dari virus (Suzuki & Nei, 2002: 505). Apabila 2 atau lebih strain VAI menginfeksi suatu sel secara bersama-sama, maka sangat dimungkinkan terjadinya pengacakan segmen genom virus (*genetic reassortment*), termasuk gen penyandi NA dan HA, yang akan berakibat munculnya

strain virus baru dengan kombinasi genom yang baru dan spesifitas hospes yang berbeda dengan virus asalnya.

1.3. Peran Protein nonstruktural virus AI

Pada dasarnya ada 2 sistem pertahanan tubuh dalam mencegah infeksi virus yaitu *innate immune system* dan *adaptive immune system*. Diantara komponen *innate immune response* akibat infeksi virus pada manusia adalah INF- α/β . Efek utama induksi INF- α/β setelah berikatan dengan reseptor adalah signal STAT1 dan STAT2 yang akan berakibat pada aktivasi 2-5(A) synthetase/ENase L dan p68 kinase, yang akan menimbulkan blocking replikasi virus. Protein nonstruktural dapat berperan dalam resistensi terhadap antiviral tersebut. Resistensi ini diduga ditentukan oleh asam amino 92 protein NS. Apabila posisi asam amino 92 protein NS berupa glutamat akan menyebabkan VAI tersebut resisten terhadap IFN dan TNF- α . Sedangkan apabila posisi 92 berupa asam aspartat, maka VAI menjadi sensitif terhadap IFN dan TNF- α . Analisis protein asam amino glutamat pada posisi 92 (Nidom, 2005: 6). Data ini memberikan indikasi adanya potensi yang perlu diwaspadai, meskipun faktor virulensi VAI tidak hanya ditentukan oleh protein NS semata.

1.4. Peran Protein Matriks Virus

Gen matriks VAI menyandi 2 macam protein yaitu protein M1 dan M2. Protein matriks mempunyai peran dalam penyusunan virion VAI. Bersama dengan protein HA dan NA protein M2 menyusun struktur amplop virus dan berperan sebagai saluran ion. Protein M1 tidak hanya sebagai komponen struktural virus, melainkan juga berperan pada awal infeksi dalam pemisahan protein M1 dari RNP untuk masuk ke dalam sitoplasma sel tropisma. Pemisahan ini dipicu pemindahan ion hidrogen melewati membran virus oleh protein M2. Pada protein M1 ditemukan

paling tidak ada 2 domain yang *conserved* yaitu antara asam amino 148 sampai 162 yang membentuk struktur *zinc finger motif* dan residu palindromik pada posisi 101 sampai 105. Ada perbedaan beberapa asam amino protein M antara virus avian influenza H5N1 dengan human influenza H5N1. Pada kasus di Hongkong protein M isolat asal manusia mempunyai asam amino glycin, valin, dan fenialalanin berturut-turut pada posisi 16, 28, dan 55. Penelitian pada protein M isolat Indonesia juga ditemukan susunan asam amino yang *conserved* untuk membentuk *zinc finger motif* dan *palindromic sequence* sebagai NLS. Meskipun demikian posisi asam amino 16, 28, dan 55 berturut-turut diisi dengan prolin, leucin, dan leucin yang berbeda dengan susunan asam amino protein M isolat asal manusia di Hongkong (Nidom, 2005: 6). Berdasarkan data ini VAI isolat asal ayam di Indonesia tidak mempunyai potensi untuk menimbulkan kefatalan pada manusia.

2. Bioteknologi

Bioteknologi dalam artian pemanfaatan mikroorganisme untuk mengolah makanan dan minuman, telah dikenal sejak jaman dahulu sebelum masehi. Orang mesir kuno telah mengenal pemanfaatan mikroorgansime untuk membuat bir, anggur, vinegar, keju, tuak, yoghurt dsb. Bioteknologi telah mengalami perkembangan sesuai jamannya untuk memproduksi; alkohol, penisilin, dan akhirnya antibodi monoklonal. Menurut Primrose (1987: 5), secara lebih sederhana bioteknologi merupakan eksploitasi komersial organisme hidup atau komponennya seperti; enzim. Prospek ke depan, terdapat indikasi bahwa perkembangan penerapan bioteknologi dalam segala bidang kehidupan akan semakin meningkat dengan didukung oleh penemuan-penemuan baru dan penerapan metode-metode baru. Kemajuan yang sangat menggembirakan dalam bioteknologi adalah penerapan rekayasa genetika dengan menyisipkan gen-gen tertentu yang dikehendaki kedalam sel yang telah

dikultur dengan tujuan untuk memproduksi insulin dan/atau beberapa hormon pertumbuhan dalam skala besar. Demikian pula penggunaan antibodi monoklonal sangat meluas baik untuk penelitian maupun uji klinis termasuk diagnosis dan bahkan upaya mencapai target spesifik untuk pengobatan. Ciri-ciri bioteknologi modern; steril, produksi dalam jumlah banyak (massal), kualitas standar dan terjamin. Selain itu, bioteknologi modern tidak terlepas dengan aplikasi metode-metode mutakhir bioteknologi (*current methods of biotechnology*) seperti: kultur jaringan, teknologi DNA rekombinan (*recombinant DNA technology*), hibridoma, dan kloning.

2.1. Produk-Produk Aplikasi Bioteknologi Pemanfaatan VAI

1. Vaksin. Vaksin untuk pencegahan dan melindungi ternak ayam dari serangan penyakit menular avian influenza. Vaksin dibuat dari VAI yang dikembangkan menggunakan teknik kultur jaringan hewan. Pada mulanya kultur jaringan/sel hewan merupakan suatu metode untuk mempelajari tingkah laku atau sifat-sifat sel hewan dalam keadaan fisiologis maupun dalam kondisi artifisial karena suatu perlakuan (*treatment*). Saat ini, kultur jaringan/sel hewan telah menjadi kebutuhan fundamental dalam pengembangan (penelitian) ilmu pengetahuan seperti; biologi, kedokteran, farmasi, imunologi, virologi, dan bioteknologi. Setelah periode 1970-an banyak penemuan-penemuan dalam berbagai disiplin ilmu yang tidak terlepas dari pemanfaatan kultur jaringan. Kultur jaringan dalam arti luas menyangkut pengertian umum yang meliputi: kultur organ (*organ culture*), kultur jaringan (*explant culture*), dan kultur sel (*cell culture*). Batasan mengenai kultur organ adalah kultur dari organ utuh atau sebagian organ yang secara histologis seperti halnya *in vivo* (dalam tubuh hewan). Sedangkan kultur jaringan dan/atau kultur sel merupakan kultur dispersi sel (sel yang telah dipisahkan) yang berasal atau yang didapat dari jaringan

orisinal setelah terlebih dahulu mengalami pemisahan (*disagregasi*) secara mekanis, atau kimiawi (enzimatis). Kultur sel yang didapat dari jaringan secara langsung disebut kultur sel primer, sedangkan kultur sel yang telah mengalami penanaman berulang-kali (*passage*) disebut kultur *cell line* atau sel strain. Semakin berkembangnya dukungan dan penguasaan teknologi laboratorium sangat memungkinkan membuat kultur sel primer dari berbagai jenis sel hewan maupun manusia. Perkembangan kultur jaringan sebagai teknik baru dalam bidang biologi mempunyai kaitan erat dengan perkembangan bioteknologi. Penerapan kultur jaringan dalam bidang industri (bioteknologi) antara lain: produksi virus yang kemudian dibuat vaksin, dan produksi antibodi-monoklonal (MAb).

2. Antibodi Monoklonal (MAb). Penemuan-penemuan baru dibidang imunologi (ilmu yang mempelajari sistem kekebalan tubuh) telah berhasil diproduksi MAb secara massal. Penemuan MAb dengan metode hibridoma dan kloning memiliki kelebihan antara lain: peka (sensitivitas), khas (spesifitas), dan akurat. Kontribusi pengaplikasian MAb telah dapat dirasakan manfaatnya khususnya dalam dunia riset (*research*) seperti: *enzymeimmunoassay* (EIA) dan immunositokimia (*immunocytochemistry*). Selain itu, MAb dapat pula digunakan untuk memberikan jasa pelayanan dalam berbagai hal seperti: diagnosis suatu penyakit dengan akurat dan cepat. Antibodi atau antiserum atau disebut juga sebagai immunoglobulin (Ig) merupakan molekul glikoprotein yang tersusun atas asam amino dan karbohidrat dan banyak dijumpai dalam serum atau plasma darah. Menurut Roitt (1990), secara sederhana molekul Ig dapat digambarkan menyerupai huruf Y dengan engsel (*hinge*). Molekul immunoglobulin dapat dipecah oleh enzim papain atau pepsin (protease) menjadi 2 bagian yakni Fab (*fragment*

antigen binding) yaitu bagian yang menentukan spesifitas antibodi karena berfungsi untuk mengikat antigen, dan Fc (*fragment crystalizable*) yang menentukan aktivitas biologisnya dan yang akan berikatan dengan komplemen. Sifat biokimiawi molekul Antibodi adalah memiliki spesifitas yang tinggi sehingga menjadi keunggulan yang kemudian dimanfaatkan menjadi suatu teknik untuk mendeteksi, mengukur, dan mengkarakterisasi molekul antigen spesifiknya (Shupnik, 1999: 4). Ada 2 macam antibodi yaitu antibodi poliklonal dan monoclonal. Antibodi poliklonal yaitu Ab yang dihasilkan oleh berbagai sel limfosit sehingga kurang spesifik karena memiliki imunokimia berbeda dan bereaksi dengan berbagai jenis epitope pada berbagai antigen. Sejak lama telah dikenal teknik pembuatan Ab poliklonal secara konvensional yaitu dengan memasukkan antigen ke tubuh organisme, maka akan merangsang pembentukan Ab yang sering dikenal dengan istilah vaksinasi (immunisasi). Antibodi yang dihasilkan secara konvensional mempunyai sifat poliklonal yakni mempunyai beberapa sifat yang disebabkan antigen yang digunakan belum dimurnikan, sehingga kurang spesifik untuk tujuan tertentu seperti riset dan terapi. Antibodi monoclonal yaitu Ab yang dihasilkan oleh sel limfosit (klone sel plasma) yang terpilih dan memiliki sifat sangat spesifik. Produksi molekul Ab merupakan tanggungan dari klon-klone sel limfosit B (sel plasma) yang masing-masing spesifik terhadap antigen. Menurut teori klonal, adanya interaksi antara antigen dengan klon sel limfosit B akan merangsang sel tersebut untuk berdiferensiasi dan berproliferasi sehingga diperoleh sel yang mempunyai ekspresi klonal untuk memproduksi antibodi. Produksi antibodi monoclonal merupakan gabungan penerapan teknik hibridoma dan kloning. Pada hakekatnya produksi antibodi monoclonal tetap mengikuti prinsip teori

seleksi klonal (Artama, 1990: 165). Antibodi monoklonal memiliki spesifitas dan sensitivitas yang sangat tinggi. Berdasarkan ikatan antigen-antibodi (Ag-Ab). MAb banyak digunakan untuk kepentingan penelitian misalnya dalam teknik: *radioimmunoassay* (RIA), *enzyme linkage immuno-sorbent assay* (ELISA), dan immunositokimia. Prospek ke depan, ada indikasi bahwa perkembangan pemanfaatan MAb dalam penelitian akan semakin meningkat dengan didukung oleh penemuan-penemuan reseptor hormon baru dengan teknik kloning cDNA untuk produksi reseptor spesifik hormon yang sangat murni dalam jumlah besar dan tetap konsisten sehingga tetap memiliki keunggulan spesifitas dan sensitivitas. Teknik tersebut akan sangat berarti terutama jika dihadapkan pada jumlah material yang sangat sedikit (*extremely small amount*) seperti: kadar hormon yang diproduksi oleh kultur sel granulosa folikel ovarium setelah diberi kurkumin (Heru Nurcahyo & Soejono, 2001: 9). Teknik khusus dengan memanfaatkan MAb dalam riset seperti: *enzyme immuno assay* (EIA), dan Immunositokimia.

PEMBAHASAN

1. Vaksin VAI

Produksi vaksin viral yang berasal dari isolat VAI sangat diperlukan untuk pencegahan melalui program vaksinasi massal pada daerah terserang atau daerah terancam. Virus AI yang sering menimbulkan penyakit serius pada unggas adalah yang memiliki HA H5, H7, dan kadang-kadang H9. Susunan asam amino protein HA, NA dan protein nonstruktural (NS) sangat menentukan sifat antigenik, virulensi, dan spesifitas virus terhadap hospes. Selain itu, yang perlu mendapat perhatian istimewa adalah kemampuan virus untuk mutasi melalui mekanisme *genetic reassortment* sehingga memungkinkan virus berubah sifat antigeniknya,

patogenisitasnya serta spesifitas hospesnya. Selain berperan dalam sifat antigenik dan tingkat patogenisitas virus, protein HA juga berperan dalam spesifitas hospes VAI.

Telah disebut dimuka bahwa VAI mempunyai genom RNA bersegmen 8. Sifat alami dari virus RNA adalah jauh lebih peka terhadap variasi genetik apabila dibandingkan dengan virus DNA. Pada VAI variasi genetik ini terutama melalui mekanisme mutasi dan *reassortment genetic* yang sering berakibat pada perubahan sifat imunogenisitas, patogenisitas maupun spesifitas hospes. Peristiwa mutasi pada VAI sering terjadi karena enzim polimerase RNA yang berperan dalam replikasi genom virus tidak mempunyai mekanisme *proof reading*. Pada VAI, mutasi titik terjadi pada *antigenic sites* yang dikenali oleh antibodi netralisasi, berakibat pada *antigenic drift*, dapat berperan sebagai cara untuk menghindarkan diri dari respon imun yang ada. *Antigenic drift* merupakan mekanisme mutasi virus secara perlahan akibat mutasi titik. Tekanan imunologis pada HA dan NA akan mengakibatkan *antigenic drift* ini, dan hal ini tidak hanya terjadi pada manusia akan tetapi dapat terjadi juga pada unggas. Antibodi yang dihasilkan tubuh dapat berikatan dengan 4-5 epitop sebagai antigenik determinan pada protein HA atau 3-4 epitop dari protein NA yang dapat melakukan *antigenic drift* untuk menghindarkan diri dari proses netralisasi oleh antibodi yang diinduksi oleh antigen virus sebelumnya. Hal inilah yang menjadi masalah utama kegagalan vaksinasi influenza. Mutasi pada gen HA dapat pula berupa insersi nukleotida pada saat replikasi yang berakibat pada insersi asam amino. Apabila insersi asam amino basic ini terjadi di *hemagglutinin cleavage site* dapat berakibat pada meningkatnya patogensitas virus. *Antigenic shift* merupakan suatu mekanisme yang menyebabkan perubahan struktur virus secara drastis yang diakibatkan oleh *reassortment genetic*. Genom VAI yang berupa RNA untai tunggal bersegmen ini memberi peluang besar terjadinya pertukaran informasi genetik diantara virus influenza A apabila 2 atau lebih strain virus menginfeksi suatu sel secara bersama-

sama. Proses ini dapat terjadi pada gen-gen HA, NA, maupun gen-gen internal yang berakibat pada meningkatnya diversitas virus, baik dalam sifat antigenik maupun virulensinya. Proses *reassortment genetic* ini pula yang diduga menyebabkan virus mampu menembus *species barrier* (Lin *et al.*, 1994: 560). Sebagai indikator keberhasilan program vaksinasi adalah titer antibodi yang cukup tinggi. Efikasi vaksin *avian influenza* isolat lokal kurang memberikan titer antibodi yang tinggi dan uji coba di lapangan menunjukkan hasil pengukuran titer antibodi masih dibawah program vaksinasi dengan menggunakan vaksin komersil (Dharmayanti *et al.*, 2005: 475).

2. Antibodi monoklonal (MAb) terhadap VAI

Produksi antibodi monoklonal terhadap VAI menggunakan teknik hibridoma dan cloning akan dihasilkan molekul antibodi monoklonal yang memiliki spesifitas dan sensitivitas yang sangat tinggi. Berdasarkan ikatan antigen-anibodi (Ag-Ab), saat ini MAb banyak digunakan untuk kepentingan penelitian misalnya dalam teknik: *radioimmunoassay* (RIA), *enzyme linkage immuno-sorbent assay* (ELISA), dan immunositokimia. Untuk memproduksi MAb terhadap VAI diperlukan isolate protein VAI yang sangat menentukan spesifitas virus tersebut. Diketahui bahwa salah satu faktor yang berperan dalam infeksi VAI adalah adanya kecocokan antara virus dengan reseptor pada permukaan sel hospes. Infeksi VAI ini terjadi melalui ikatan dengan glikoprotein atau glikolipid permukaan sel yang mengandung gugus terminal *sialyl-galactosyl* [*Neu5Ac(α2-3)Gal*] atau [*Neu5Ac(α2-6)Gal*]. Virus AI isolat asal ayam cenderung berikatan dengan [*Neu5Ac(α2-6)Gal*]. Kondisi ikatan ini ikut berperan dalam spesifitas virus dengan hospes [*Neu5Ac(α2-6)Gal*]. Bagian protein HA yang berikatan dengan reseptor hospes (*receptor binding site*, *RBS*) mempunyai susunan asam amino posisi 226 Gln dan posisi 228 Gly akan lebih mengenal [*Neu5Ac(α2-3)Gal*], sedangkan VAI isolat asal manusia dengan asam amino 226 Leu dan 228 Ser akan lebih mengenal [*Neu5Ac(α2-6)Gal*]. Dengan kondisi seperti ini, maka

VAI isolat asal ayam tidak dapat dengan mudah menginfeksi manusia. Perubahan spesifitas hospes dapat dimungkinkan akibat perubahan asam amino pada RBS melalui peristiwa mutasi genetik. Pada permukaan trakhea babi dapat ditemukan kedua jenis reseptor tersebut, sehingga babi dapat dengan mudah terinfeksi VAI baik isolat asal ayam maupun asal manusia.

PENUTUP

Simpulan

Berdasarkan hasil kajian teoritik diatas dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Virus *avian influenza* tipe A memiliki struktur molekuler yang tersusun atas nukleoprotein (NP), matriks (M), genom, amplop lipid bilayer, dan glikoprotein hemaglitinin (HA) dan neuramiase (NA) yang sangat menentukan sifat antigenik, virulensi, dan spesifitas virus AI terhadap hospes dan kemampuan untuk mutasi melalui mekanisme *reassortment genetic*.
2. Identifikasi, isolasi, dan karakterisasi peran dan fungsi komponen protein molekul VAI memberikan kontribusi yang sangat besar nilainya terhadap perkembangan produksi vaksin vaksin dan antibodi monoklonal (MAb) terhadap VAI. Perkembangan kultur jaringan dan teknik hibridoma sebagai teknik baru dalam bidang bioteknologi mempunyai kaitan erat dengan perkembangan produksi vaksin viral VAI yang bermanfaat untuk pencegahan penyakit *avian influenza*, dan MAb yang bermanfaat untuk tes serologis dalam rangka menegakkan diagnosa penyakit *avian influenza* secara tepat, cepat, dan relatif murah.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim (2006). Vaksin Flu Burung Terbaik Ditemukan. **Jawa Pos**. Kamis, 27 Juli 2006.
- Alexander, D.J. (2000). A Review of Avian Influenza in Different Bird Species. *Vet. Microbiol.* 74. Pp.: 3-13.
- Artama, W.T. (1990). *Teknik Hibridoma untuk Porduksi Antibodi Monoklonal*. Makalah Kursus Immuno-bioteknologi. Yogyakarta: PAU UGM.
- Banks, J., & Plowright, L. (2003). Additional Glycosylation at the Receptor Binding Site of The Hemagglutinin (HA) for H5 and H7 Viruses May Be an Adaptation to Poultry Hosts, but Does It Influence Pathogenicity?. *Avian Dis.* 47. Pp.: 942-950.
- Boenisch, T. (1989). Staining Methods. Dalam: Nais S.J., (ed.): *Immunochemical Staining Methods*. USA: Dako Corps.
- Dharmayanti, N.L.P.I., Indriani, R., Wiyono, A., & Adjid, R.M.A. (2005). Efikasi Lapangan Vaksin Avian Influenza Isolat Lokal pada Ayam Buras di Kabupaten Pandeglang dan Tangerang. *J. Biol. Indon.* Vol. III, No. 10. Hal: 466-473.
- Donateli, I., Campitelli, L., & Trani, L. (2001). Characterization of H5N2 Influenza Viruses from Italian Poultry. *J. Gen. Virol.* 82. Pp.: 623-630.
- Heru Nurcahyo & Soejono, S.K. (2001). Pengaruh Curcumin dan Pentagamavunon-0 (PGV0) terhadap Steroidogenesis yang Dihasilkan oleh Kultur Sel Granulosa Berbagai Ukuran Folikel. *Mediagama*. Vol. III, No. 3. Hal.: 1-11.
- Horimoto, T., & Kawaoka, Y. (2001). Pandemic Threat Posed by Avian Influenza A Viruses. *Clin. Microbiol. Rev.* 14. Pp.: 129-149.
- Lin, Y.P., Shu, L.L., Wright, S., Bean, W.J., Sharp, G.B., Shortridge, K.F., & Webster, R.G. (1994). Analysis of The Influenza Virus Gene Pool of Avian Species from Southern China. *Virology*. 198. pp.: 557-566.
- Nidom, C.A. (2005). Analisis Molekuler Genoma Virus Avian Influenza H5N1 di Indonesia. *Disertasi*. UNAIR
- Primrose, S.B. (1987). *Modern Biotechnology*. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Roitt, I.M. (1990). *Pokok-pokok Ilmu Kekebalan*. P.T. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Suzuki, Y., & Nei, M. (2002). Origin and Evolution of Influenza Hemagglutinin Genes. *Mol. Biol. Evol.* 19. Pp.: 501-509.
- Shupnik, M.A. (1999). Introduction to Molecular Biology. In: Fauser, B.C.J.M., Rutherford, A.J., Strauss, III., J.F., and Van Steirteghem, A. (eds.) *Molecular Biology in Reproductive Medicine*. The Parthenon Publishing Group.
- Swayne, D.E., & Soarez, D.L. (2000). Highly Pathogenic Avian Influenza. *Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties* 20. Pp.: 463-482.