

Pola Perubahan Urutan Asam Amino pada Hemagglutinin Virus H5N1 Indonesia

Idar Idar^{1,*}, Soni Muhsinin¹, Umi Baroroh², Muhammad Yusuf³

¹Fakultas Farmasi, Universitas Bhakti Kencana, Jl. Soekarno Hatta No. 754 Bandung

²Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia, Jl. Soekarno Hatta No. 354 Bandung

³Departemen Kimia, FMIPA, Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung-Sumedang Km. 21 Bandung

*Penulis korespondensi: idar@bku.ac.id

DOI: <https://doi.org/10.24198/cna.v7.n3.26314>

Abstrak: Wabah virus flu burung tipe A, H5N1 yang memiliki patogenisitas tinggi diketahui telah menginfeksi dan mematikan jutaan unggas di Indonesia sehingga menimbulkan kerugian yang besar secara ekonomi pada peternakan unggas. Hemagglutinin pada virus ini merupakan salah satu faktor penentu patogenisitas virus. Selain itu, komponen virus ini rentan mengalami mutasi dan dapat menyebabkan pergeseran dan penataan ulang antigen virus sehingga tercipta clade virus yang baru. Kemudian peranan HA dalam penempelan virus ke sel inang menyebabkan HA ini menjadi target untuk pengembangan obat maupun vaksin. Dengan demikian, penelitian ini bertujuan mencari pola urutan asam amino hemagglutinin yang khas pada H5N1 yang memiliki patogenisitas tinggi di Indonesia. Penelitian ini dilakukan dengan cara mengumpulkan urutan asam amino hemagglutinin H5N1 yang menginfeksi unggas di Indonesia mulai 2006 sampai 2016. Kemudian untuk mengetahui pola urutan asam amino hemagglutinin yang khas pada H5N1, dilakukan analisis penjarangan. Berdasarkan analisis tersebut diketahui bahwa urutan asam amino bagian loop hemagglutinin yang berada pada daerah asam amino posisi 341-346 memiliki pola -RRK-.

Kata kunci: H5N1, hemagglutinin, penataan ulang, virus flu burung, Indonesia

Abstract: In Indonesia, high pathogenic avian influenza virus, H5N1 has been endemic in poultry since 2003 and continues to cause major economic losses to poultry industry. Hemagglutinin was an one of the determinants of avian influenza virus pathogenicity. In addition, it was susceptible to mutations and can cause rearrangement of virus antigens to create a new virus clade. The role of hemagglutinin in attaching the virus to the host cell causes this hemagglutinin to be a target for drugs and vaccines development. Thus, this study aims to find the sequence pattern of the amino acid hemagglutinin which is typical of H5N1 which has a high pathogenicity in Indonesia. This research was conducted by collecting and analyzing the amino acid sequence of H5N1 hemagglutinin which infected poultry in Indonesia from 2006 to 2016. Based on the analysis it was found that the amino acid sequence of the hemagglutinin loop section in the 341-346 amino acid region had a pattern of -RRK-.

Keywords: H5N1, hemagglutinin, penataan ulang, avian influenza virus, Indonesia

PENDAHULUAN

Wabah virus flu burung tipe A, H5N1 yang memiliki patogenisitas tinggi (HPAI H5N1) diketahui telah menginfeksi hewan dan manusia. Virus ini ditemukan pertama kali di Guangdong, China pada tahun 1996. Kemudian menyebar luas ke berbagai negara, menginfeksi peternakan unggas sehingga menyebabkan kerugian secara ekonomi. Di Indonesia, H5N1 ini menjadi endemik sejak tahun 2003. Virus ini tercatat menyebabkan kematian jutaan unggas di 34 provinsi dalam jangka waktu tujuh tahun setelah pertama kali ditemukan dan terus menerus bersirkulasi sampai saat ini (Yusuf *et al.* 2013; Primadi 2017; Karo-karo *et al.* 2019).

Transmembran hemagglutinin (HA) mampu mengaktifkan respons imun dan respons yang spesifik terhadap subtipe virus. Hemagglutinin (HA) merupakan salah satu faktor penentu dalam patogenitas virus flu burung (Gallagher *et al.* 2018). Komponen virus ini merupakan bagian yang rentan mengalami mutasi yang akan menyebabkan pergeseran dan penataan ulang antigen virus sehingga tercipta clade virus yang baru. Penataan ulang virus flu, terjadi ketika satu inang diinfeksi oleh dua atau lebih virus dengan genom yang berbeda yang kemudian menghasilkan genotif hibrid hasil kombinasi segmen-segmen tiap virus. Probabilitas penataan ulang ini tinggi jika infeksi inang oleh

berbagai variasi virus flu virus terjadi secara simultan. Dengan demikian, pasar yang memperjual-belikan unggas hidup berpotensi besar menciptakan virus hibrid karena tempat ini merupakan tempat berkumpulnya berbagai unggas dari berbagai peternakan yang kemungkinan membawa jenis virus yang berbeda (Fuller *et al.* 2013; Zhou *et al.* 2015; Karo-karo *et al.* 2019).

Hemagglutinin (HA) sebagai salah satu faktor penentu patogenisitas, memiliki peranan penting pembentukan ikatan dengan reseptor sel inang (Brooks *et al.* 2010). Pada awal infeksi HA virus akan berikatan dengan reseptor sel dan melepaskan ribonukleoprotein. Hemagglutinin sebagai glikoprotein permukaan utama virus influenza ditranslasi sebagai protein tunggal, HA0. HA0 harus dibagi menjadi HA1 dan HA2 agar virus teraktivasi. Pengaktifan Hemagglutinin dilakukan oleh enzim proteolitik endoprotease serine dari hospes di tempat spesifik yang secara normal dikode oleh asam amino dasar tunggal (biasanya arginin). Protein HA1 akan berikatan dengan reseptor pada sel hospes dan merupakan target utama untuk respon imun. Sedangkan protein HA2 dengan bagian fusigenik di ujung HA2 akan memfasilitasi fusi antara amplop virus dengan membran endosomal hospes. Oleh karena itu, aktivasi proteolitik protein hemagglutinin merupakan faktor penting untuk infektivitas dan penyebaran virus ke seluruh tubuh. Perbedaan kepekaan protein HA VAI terhadap protease hospes akan berhubungan dengan tingkat virulensinya (Gallagher *et al.* 2018; Widjadja dkk. 2019). Peranan HA dalam penempelan virus ke sel inang menyebabkan HA ini menjadi target untuk pengembangan obat maupun vaksin (Yusuf *et al.* 2013; Sano *et al.* 2017).

Decha *et al.* (2008) menyatakan bahwa asam amino dengan pola -RRRKK- selalu ditemukan pada HPAI H5N1. Hal ini telah dibuktikan dengan kenaikan patogenisitas virus yang memiliki patogenisitas rendah, setelah hemagglutinin virus tersebut di insersi dengan -RRRKK-. Karo-karo *et al.* (2019) melakukan penelitian di Indonesia mengenai penataan ulang hemagglutinin virus H5N1 yang bersirkulasi di tahun 2015-2016. Penelitian tersebut menghasilkan data bahwa pola asam amino yang ada pada HPAI H5N1 adalah -Q-R-E-R-R-R-K-R-G-L-F-.

Berdasarkan hal tersebut, pada penelitian ini dilakukan analisis penajajaran asam amino pada hemagglutinin virus flu burung dengan patogenisitas tinggi sehingga diketahui pola penataan ulang asam amino virus H5N1 pada unggas di Indonesia dari tahun 2006 sampai 2016. Perubahan pola asam amino ini dapat menjadi studi pendahuluan dalam penyusunan obat atau vaksin untuk mengatasi infeksi virus tersebut.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 59 set urutan asam amino hemagglutinin virus influenza H5N1 dengan patogenitas tinggi galur Indonesia yang diperoleh melalui situs www.fludb.org dan NCBI.

Metode

Sebanyak 59 set urutan asam amino hemagglutinin virus influenza H5N1 galur Indonesia yang diambil mulai dari tahun 2006 sampai tahun 2016, dianalisis kedekatannya melalui pohon filogenetik menggunakan bantuan situs www.fludb.org. Kemudian untuk menacari daerah lestarti pada setiap urutan asam amino hemagglutinin tersebut dilakukan analisis penajajaran menggunakan BIOVIA Discovery Studio visualizer. Setelah itu pada daerah lestarti tersebut, dilakukan analisis pencarian pola asam amino -RRRKK- (Decha *et al.* 2008).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan fakta di lapangan, diketahui bahwa virus influenza dengan patogenisitas tinggi, H5N1 menyerang berbagai unggas di Indonesia, seperti ayam, bebek, burung puyuh dan elang. Hasil penelusuran data dari www.fludb.org dan NCBI, diperoleh urutan asam amino hemagglutinin virus influenza H5N1 dari unggas di Indonesia, mulai tahun 2006 sampai 2016. Urutan asam amino hemagglutinin virus influenza H5N1 galur Indonesia yang diambil mulai dari tahun 2006, dikarenakan sebelum tahun 2006 kemungkinan variasi genetiknya sudah jauh berbeda dengan virus yang bersirkulasi saat ini. Jika dilihat dari pohon filogenetik (data tidak ditunjukkan), virus yang memiliki kekerabatan yang dekat ditemukan tersebar pada berbagai daerah. Secara umum, urutan asam amino hemagglutinin dari berbagai unggas, memiliki homologi yang tinggi. Berdasarkan analisis penajajaran tersebut dan penelitian Panita dkk. (2008), diperoleh bahwa urutan asam amino bagian loop hemagglutinin dari unggas, berada pada daerah asam amino antara posisi 341-346. Urutan asam amino hemagglutinin relatif conserved sampai tahun 2011. Namun mulai tahun 2012, mulai terlihat variasi (terutama setelah daerah loop). Hal ini kemungkinan disebabkan mutasi yang menyebabkan antigenik drift yang terjadi secara terus-menerus.

Analisis dilanjutkan pada daerah loop hemagglutinin yang berperan penting dalam proses proteolitik oleh enzim furin, yaitu suatu enzim serin endopeptidase yang mirip subtilisin. Proses ini sangat penting karena membantu masuknya virus ke dalam sel inang (Panita dkk. 2008). Daerah loop hemagglutinin H5N1 asal Indonesia, berada pada asam amino nomor 341-346. Daerah ini diberi lambang S1-S6 dengan urutan asam amino terbalik, yaitu S1 untuk asam amino urutan ke 346 sampai S6 untuk urutan asam amino urutan ke 341. Terbaliknya

Tabel 1. Pola asam amino pada daerah loop tempat pemotongan protease dari hemagglutinin virus influenza patogenisitas tinggi, H5N1 dari unggas yang ditemukan di Indonesia

Tahun	Jenis Unggas	Pola/Posisi asam amino ke-						Persentase pola asam amino terhadap jenis unggas (%)
		341 (S6)	342 (S5)	343 (S4)	344 (S3)	345 (S2)	346 (S1)	
2006	Ayam	R	R	R	K	K	R	86
		S	R	R	K	K	R	14
	Bebek	S	R	R	K	K	R	100
2007	Ayam	R	R	R	K	K	R	55
		S	R	R	K	K	R	45
2008	Ayam	S	R	R	K	K	R	100
		Bebek	S	R	R	K	K	R
2009	Ayam	S	R	R	K	K	R	50
		G	R	R	K	K	R	50
2010	Ayam	S	R	R	K	K	R	100
2011	Ayam	S	R	R	K	K	R	100
2012	Ayam	S	R	R	K	K	R	75
		R	R	R	K	R	G	25
	Bebek	R	R	R	K	R	G	78
		R	R	R	K	K	R	22
2013	Ayam	S	R	R	K	K	R	33
		R	R	R	K	R	G	67
	Bebek	R	R	R	K	R	G	80
		R	R	R	K	K	R	10
		S	R	R	K	K	R	10
2014	Ayam	R	R	R	K	R	G	50
		S	R	R	K	K	R	50
	Bebek	R	R	R	K	R	G	100
2015	Burung puyuh	R	R	R	K	R	G	100
2016	Ayam	R	R	R	K	R	G	91
		K	R	R	K	R	G	9
	Bebek	R	R	R	K	R	G	75
		K	R	R	K	R	G	25
	Burung puyuh	S	R	R	K	K	R	100
	Elang	R	R	R	K	R	G	100

penandaan ini berdasarkan pada proses proteolitik yang dimulai dari bagian S1 pada daerah loop tersebut. Kemudian S menandakan bahwa asam-asam amino ini sebagai substrat untuk enzim proteolitik. Berdasarkan Panita dkk. (2008), Tingkat patogenisitas H5N1, ditandai dengan adanya urutan asam amino arginin-arginin-arginin-lisin-lisin (-RRRKK-) pada daerah loop hemagglutinin nya. Tabel 1, menunjukkan bahwa di Indonesia, setiap tahun ditemukan pola tersebut, kecuali empat tahun yaitu 2008, 2009, 2010 dan 2011. Namun, tidak ditemukannya pola -RRRKK- di keempat tahun tersebut, kemungkinan lebih kepada terbatasnya proses sampling untuk koleksi data. Hal ini ditandai

dengan munculnya kembali pola -RRRKK- di tahun 2012 sampai 2016. Penelitian Panita dkk. (2008) menyatakan bahwa asam amino arginin sebagai substrat di posisi S4 dan S6 memegang peran penting karena membantu memposisikan hemagglutinin agar dapat dipotong oleh furin melalui terbentuknya ikatan hidrogen antara arginin pada S4 dan S6 dengan furin. S4 pada hemagglutinin H5N1 Indonesia, semuanya merupakan asam amino arginin. Namun pada S6 terdapat dua variasi asam amino, yaitu serin dan glisin. Berdasarkan strukturnya, ikatan hidrogen yang terbentuk dengan serin lebih lemah dibanding ikatan hidrogen dengan arginin. Kemudian ikatan hidrogen dengan glisin lebih lemah dibanding ikatan hidrogen

dengan serin. Sehingga diperkirakan bahwa patogenisitas H5N1 yang paling tinggi adalah yang memiliki urutan -RRRKK-. Patogenisitas H5N1 menengah yang memiliki urutan -SRRKK- dan patogenisitas H5N1 yang paling rendah adalah yang memiliki urutan -GRRKK-. Namun, secara umum, semua hemagglutinin H5N1 Indonesia memiliki urutan -RRK- (ditandai arsir warna abu-abu). Kemudian untuk melihat banyaknya penyebaran pola urutan asam amino tersebut, dihitung melalui prosentasi tiap pola urutan asam amino H5N1 Indonesia untuk setiap unggas dalam setahun.

KESIMPULAN

Urutan asam amino hemagglutinin H5N1 dari berbagai unggas di Indonesia, memiliki homologi yang tinggi. Urutan asam amino bagian loop hemagglutininnya, berada pada daerah asam amino antara posisi 341-346 dengan semuanya memiliki pola -RRK-. Berdasarkan polanya, diperkirakan tingkat patogenisitas virus influenza H5N1 Indonesia adalah -RRRKK- > -SRRKK- > -GRRKK-.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya diberikan kepada Hibah Penelitian Internal, Universitas Bhakti Kencana tahun anggaran 2018 yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Brooks, G.F., Carroll, K.C., Butel, J.S., Morse, S.A. & Mietzner, T.A. (2013). *Medical Microbiology*. 26th ed. 2013. Mc Graw Hill. North America.
- Decha, P., Rungrotmongkol, T., Intharathep, P., Malaisree, M., Aruksakunwong, O., Laohpongpaian, C., Parasuk, V., Sompornpisut, P., Pianwanit, S., Kokpol, S. & Hannongbua, S. (2008). Source of high pathogenicity of an avian influenza virus H5N1: why H5 is better cleaved by furin. *Biophysical Journal*. 95(1): 128-134.
- Fuller, T.L., Gilbert, M., Martin, V., Cappelle, J., Hosseini, P., Njabo, K.Y., Aziz, S.A., Xiao, X., Daszak, P. & Smith, T.B. (2013). Predicting hotspots for influenza virus reassortment. *Emerging Infectious Diseases*. 19(4): 581-588.
- Gallagher, J.R., McCraw, D.M., Torian, U., Gulati, N.M., Myers, M.L., Conlon, M.T. & Harris, A.K. (2018). Characterization of hemagglutinin antigens on influenza virus and within vaccines using electron microscopy. *Vaccines*. 6(2): 31.
- Karo-Karo, D., Bodewes, R., Hendra Wibawa, I., Artika, M., Priyadi, E.S., Diyantoro, D., Pratomo, W., Sugama, A., Hendrayani, N., Indasari, I. & Wibowo, M.H. (2019). Reassortments among avian influenza A (H5N1) viruses circulating in Indonesia, 2015-2016. *Emerging Infectious Diseases*. 25(3): 465-472.
- Primadi, O. (2017). Influenza A Mewabah di Hongkong, Indonesia Harus Waspada. <http://sehatnegeriku.kemkes.go.id/baca/rilis-media/20170724/1721820/influenza-a-mewabah-hong-kong-indonesia-harus-waspada/>
- Sano, K., Ainai, A., Suzuki, T. & Hasegawa, H. (2017). The road to a more effective influenza vaccine: Up to date studies and future prospects. *Vaccine*. 35(40): 5388-5395.
- Widjadja, M.J., Rachmawati, K., Rizal, M.F. & Samjaya, D.F. (2019). Peran gen hemagglutinin virus avian influenza H5N1. In Prosiding Seminar Nasional Pakar ke 2 Tahun 2019. (pp. 1.63.1-1.63.7).
- Yusuf, M., Konc, J., Bing, C.S., Konc, J.T., Khairudin, N.B.A., Janezic, D. & Wahab, H.A. (2013). Structurally conserved binding sites of hemagglutinin as targets for influenza drug and vaccine development. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 53(9): 2423-2436.
- Zhou, X., Li, Y., Wang, Y., Edwards, J., Guo, F., Clements, A.C., Huang, B. & Magalhaes, R.J.S. (2015). The role of live poultry movement and live bird market biosecurity in the epidemiology of influenza A (H7N9): A cross-sectional observational study in four eastern China provinces. *Journal of Infection*. 71(4): 470-479. www.fludb.org