

Variasi Genetik Parvovirus Anjing Di Bali

(GENETIC VARIATION OF CANINE PARVOVIRUS IN BALI)

Ayu Widya Nareswari¹, I Gusti Ngurah Kade Mahardika², I Nyoman Suartha³

¹Mahasiswa Pendidikan Profesi Dokter Hewan,

²Laboratorium Virologi Veteriner,

³Laboratorium Penyakit Dalam Veteriner,

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana,

Jln. PB. Sudirman, Denpasar, Bali;

Tlp. (0361) 223791, Faks. (0361) 701808.

E-mail: nareswari.widhya@gmail.com

ABSTRAK

Infeksi parvovirus anjing (*Canine Parvovirus/CPV*) pada umumnya terjadi pada hewan muda, walau dapat juga terjadi pada hewan yang lebih tua. Parvovirus telah berevolusi menjadi berbagai strain. Strain yang bersirkulasi di Indonesia umumnya, Bali khususnya, belum diketahui. *Deoxyribose-nucleic Acid* (DNA) diisolasi dari organ usus halus dan jantung dalam delapan ekor anjing yang diduga terinfeksi CPV dan diamplifikasi dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan primer yang telah dipublikasi untuk memperbanyak VP2. Hasil PCR disekuensing. Sekuen yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan program MEGA5. Variasi genetik ditentukan dari analisis situs polimorfik dengan menyetarakan sekuens standar yang tersedia di *GenBank*. Tujuh dari delapan produk PCR berhasil disekuensing dan terbaca dengan baik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa virus CPV yang bersirkulasi di Bali adalah homogen serta mempunyai sekuens yang mirip strain S5. Satu virus berbeda dengan virus lainnya yaitu mengalami substitusi G menjadi R pada asam amino nomor 370 gen VP2. Kajian lebih lanjut diperlukan untuk klarifikasi strain yang bersirkulasi di Bali.

Kata kunci : variasi genetik, parvovirus anjing, Bali.

ABSTRACT

Canine parvovirus (CPV) infection occurs in generally young, although it might infect old animals too. Parvovirus has evolved into variety of strains. Strains, which are circulating in Indonesia, particularly in Bali, yet are still unknown. The whole DNA was isolated from internal organs of eight dogs, that were suspected to be CPV infected, and amplified using Polymerase Chain Reaction (PCR) applying published primer set targeting VP2 gene fragment. The PCR product was sequenced. The deduced sequences were edited using MEGA5. Genetic variation is determined by the analysis of polymorphic site of amino acid sequence to that of database available in GenBank. Of eight samples, seven could be sequenced properly. The results indicate that CPV circulating in Bali are homogeneous and have similar sequence with that of S5 strain. One virus has a substitution of amino acid G into R at the residue number 370. Further study is needed to clarify the strain of CPV circulating in Bali.

Key Words: Genetic variation, canine parvovirus, Bali.

PENDAHULUAN

Tingkat kegagalan vaksinasi CPV di Indonesia, Bali khususnya tampaknya masih tinggi. Terbukti anjing bisa terinfeksi walaupun sudah divaksinasi sebelumnya. Kegagalan vaksinasi diperkirakan sekitar 20-25% pada anjing ras tertentu (Mochizuki *et al.*, 1996;

Parrish, 1991; Parrish *and* Carmichael, 1986). Adanya berbagai strain CPV di lingkungan turut berkontribusi pada fenomena itu. Kegagalan vaksinasi yang masih cukup tinggi mungkin dipicu oleh munculnya varian baru dari CPV akibat mutasi di alam (Mochizuki *et al.*, 1996; Parrish, 1991; Parrish *and* Carmichael, 1986). Bila serotipe CPV dalam bibit vaksin berbeda dengan virus di lapangan, memungkinkan terjadinya reaksi silang (*cross reactive*) namun belum tentu memberikan proteksi silang (*cross protective*) (Suaryana, 1990).

Canine Parvovirus (CPV) berkerabat sangat dekat dengan *Feline Panleukopenia Virus* (FPV), *Mink Enteritis Virus* (MEV), dan *Raccoon Parvovirus* (RPV) (Parrish *and* Carmichael, 1983). *Canine Parvovirus* tipe 2 (CPV-2) merupakan virus paling penting penyebab enteritis pada anak anjing umur dua bulan (Appel *et al.*, 1980). Berdasarkan pendekatan antigenisitas dan genetika, CPV tidak berhubungan dengan *Canine Minute Virus* (CnMV) yang sebelumnya diketahui sebagai CPV-1. Virus CPV-1 dapat menyebabkan kematian pada anak anjing yang baru dilahirkan (Decaro *and* Buonavoglia, 2012).

Parvovirus telah berevolusi menjadi berbagai strain. Strain yang bersirkulasi di Indonesia umumnya, Bali khususnya, tidak diketahui. Strain yang dominan di Nanjing Cina adalah CPV-2a (Zhao *et al.*, 2013), di India CPV-2b (Nandi *et al.*, 2010b), sementara di Taiwan (Lin *et al.*, 2014) kedua strain menunjukkan tingkat infeksi yang hampir sama. Strain yang dominan di Eropa dan Amerika adalah CPV-2c (Decaro *et al.*, 2014). Pengetahuan tentang strain ini sangat penting dalam memprediksi keganasan virus. Strain baru, misalnya CPV-S5 disebutkan sangat virulen dan ditemukan pertama kalinya di Shenzhen, Cina pada tahun 2010 (Zhu *et al.*, 2014). Atas dasar pemaparan tersebut diatas maka penelitian ini perlu dilakukan di Indonesia.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan sampel DNA organ usus halus dan jantung dari anjing penderita parvovirus koleksi Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana. Cara isolasi DNA Virus dilakukan dengan Kit Invitrogen sesuai dengan protokol dalam Mahardika *et al.*, (2015). Ringkasnya adalah sebagai berikut: jaringan dimasukkan ke dalam tabung ukuran 1,5 ml. Kemudian 180 µl buffer ATL ditambahkan dan dihomogenkan serta ditambahkan lagi dengan 20 µl proteinase K lalu divorteks hingga tercampur baik. Campuran dipanaskan pada suhu 56°C selama satu sampai tiga jam. Selanjutnya, campuran divorteks kembali 15 detik sebelum ditambahkan 200 µl buffer AL. Sebanyak 200 µl ethanol 96-100% dimasukkan kedalamnya. Semua campuran itu

dimasukkan ke dalam *DNeasy Mini spin column (mini spin column)* dalam tabung ukuran 2 ml yang sudah disediakan kemudian disentrifuse dengan kecepatan 8000 rpm selama satu menit. *DNeasy Mini Spin Column* diletakkan dalam tabung ukuran 2 ml yang baru (sudah disediakan dalam KIT), kemudian 500 µl *buffer AW1* ditambahkan, lalu sentrifuse dengan kecepatan 8000 rpm selama satu menit. *DNeasy Mini Spin Column* diletakkan dalam tabung ukuran 2 ml yang baru (sudah disediakan dalam kit) dan 500 µl *buffer AW1* ditambahkan, lalu sentrifuse dengan kecepatan 8000 rpm selama satu menit. *DNeasy Mini Spin Column* dimasukkan dalam tabung ukuran 1,5 ml atau 2 ml yang baru serta ditambahkan dengan 200 µl *buffer AE* (langsung ke *DNeasy membrane*), lalu diinkubasikan pada suhu ruangan selama satu menit. Tabung disentrifuse dengan kecepatan 800 rpm selama satu menit. Larutan yang ditampung itu siap digunakan untuk PCR.

Adapun langkah-langkah PCR, seperti dimuat dalam Mahardika *et al.* (2015) adalah sebagai berikut: Uji PCR dilakukan dengan mencampurkan 5 µl Rmix (*invitrogen*) (mengandung 0,2 mM dNTP, 1,6 mM MgSO₄, dan buffer), sepasang primer dengan volume masing-masing primer 0,6 µl (10 mM), 0,25 µl enzim *Platinum[®] Taq Polimerase (invitrogen)*, 1 µl DNA cetakan, dan aquabidest sampai volume menjadi 10 µl ke dalam tabung PCR. Campuran tadi kemudian dimasukkan ke dalam mesin *Termocycler* yang telah diprogram dengan kondisi 1) 95°C selama tujuh menit, 2) 94°C selama 45 detik, 3) 52°C selama 45 detik, 4) 72°C selama satu menit, siklus kemudian diulang dari tahapan kedua sampai tahapan keempat sebanyak 39 kali, 5) 72°C selama lima menit, dan 6) 22°C selama tak terhingga. Primer yang digunakan adalah HAFOR dan VPR yang dikombinasikan dari Lin *et al.*, (2014) dan Buonavoglia *et al.*, (2001).

Untuk mengetahui hasil uji PCR maka dilakukan elektroforesis. Pembuatan media elektroforesis dilakukan dengan melakukan pelarutan media berupa satu gram agarose dengan 100 ml *Tris Acetate EDTA Buffer (TAE IX)* sehingga menghasilkan gel agarose 1%. Larutan kemudian dipanaskan sampai mendidih dan berwarna bening. Tiga mikroliter *etidium bromide* ditambahkan ke dalam larutan. Larutan kemudian dicetak pada cetakan agar. Setelah mengeras gel agarose diletakkan ke dalam mesin elektroforesis yang telah mengandung TAE IX. Produk hasil PCR sebanyak 4 µl ditambahkan dengan 1 µl 10X *BluejuiceTM Gel Loading Buffer (invitrogen)*. Lubang pertama pada gel agarose dimasukkan 100 bp DNA *ladder* (*invitrogen*), lubang selanjutnya dimasukkan DNA hasil amplifikasi. Mesin elektroforesis kemudian diberi tegangan 100 volt selama 30 menit. Visualisasi DNA dilakukan dengan meletakkan gel agarose di atas *UV Transluminator*. Hasil positif ditandai

dengan adanya pita yang sejajar dengan pita kontrol positif. Panjang DNA yang teramplifikasi dapat diketahui dengan membandingkan antara pita yang timbul dengan marker berupa 100 bp DNA *ladder*. Hasil elektroforesis kemudian didokumentasikan menggunakan kamera digital (Mahardika *et al.*, 2015).

Primer yang digunakan untuk amplifikasi digunakan juga untuk sekuensing. Produk PCR dimurnikan dengan *QIAquick PCR Purification Kit* (Qiagen). Reaksi sekuensing dilakukan dengan *Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit* menggunakan *universal M13 primers* dan dijalankan pada *Automatic DNA sequencer Applied Biosystem 3130/3130x Genetic Analyzer* yang tersedia Eijkman Institut, Jakarta. Penyepadan sekuens dilakukan dengan *MEGA 5 Software* (Tamura *et al.*, 2011).

Rincian proses penyiapan sekuensing sebagai berikut. Sebanyak 20 µl produk PCR ditambahkan 100 µl buffer PB (*Binding Buffer*) dan dipindahkan ke dalam *cartridge column* volume 2 ml yang disediakan dalam kit. *Cartridge* disentrifugasi selama satu menit dengan kecepatan 13.000 rpm. Sebanyak 750 µl *buffer PE (Wash of Buffer)* ditambahkan ke dalam *cartridge* dan disentrifugasi selama 30-60 detik dengan kecepatan 6000 rpm. *Cartridge* dimasukkan kembali ke dalam *column* 2 ml, disentrifugasi selama satu menit dengan kecepatan 13.000 rpm. *Cartridge* dimasukkan ke dalam tabung mikro 1,5 ml steril dan ditambahkan 50 µl *Elution Buffer (buffer EB)* ke dalamnya. *Eluat* DNA ditampung setelah disentrifugasi selama satu menit.

Protokol sekuensing dilakukan sesuai dengan prosedur yang direkomendasikan oleh produsen. Produk PCR yang telah dimurnikan itu dicampur dengan *Ready Reaction Mix* dan *sequencing buffer 5x (Big Dye Terminator Kit)* serta 1 µl primer yang direncanakan. Siklus dilakukan pada *Thermocycler 0,5 GenAmp PCR System* dengan kondisi 96°C selama tiga menit, 25 siklus 96°C selama sepuluh detik, 50°C selama lima detik dan 64°C selama empat menit.

Sebanyak 5 µl larutan 125 mM *Ethylenediaminetetraacetic Acid* (EDTA) dan 60 µl etanol 100% ditambahkan ke tabung hasil *cycle sequencing*. Campuran tersebut diinkubasikan pada suhu kamar selama 15 menit dan selanjutnya disentrifugasi pada kondisi 4°C dengan kecepatan 6.500 rpm selama 30 menit. Endapannya ditambahkan dengan 60 µl etanol 70%. Disentrifugasi pada kecepatan 13.000 rpm selama 20 menit, supernatannya dibuang dengan hati-hati, dan peletnya dikeringkan dengan oven atau *mini spin* selama 10 sampai 15 menit.

Pelet ditambahkan dengan 20 µl *Hi Dye* dan divorteks selama satu menit. Campuran tersebut dipanaskan menggunakan pemanas suhu 95°C selama tiga menit kemudian didinginkan dengan es selama tiga menit. 15 µl campuran tersebut dipindahkan ke dalam *plate sequencing* dan dimasukkan pada *tray* di *Automatic DNA Sequencer*.

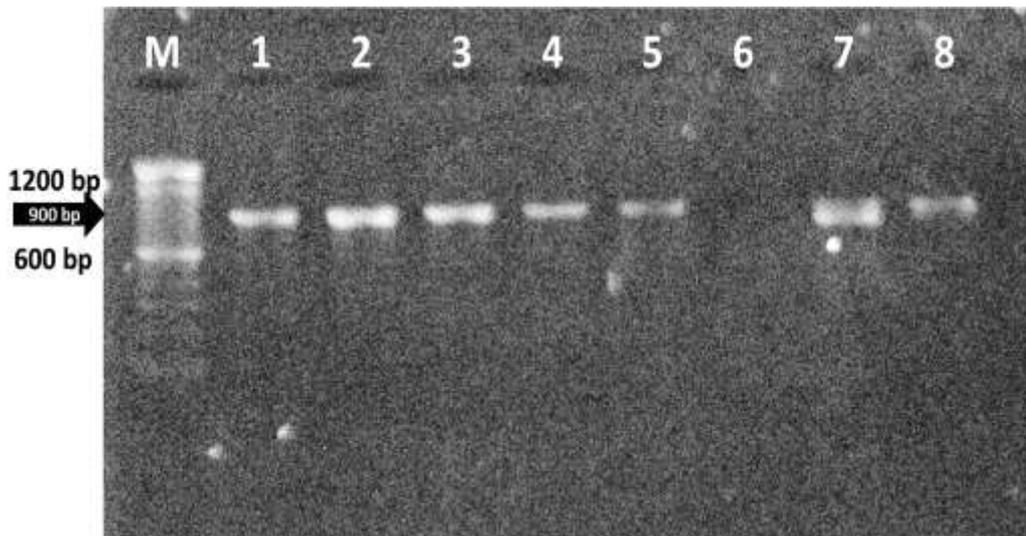
Delapan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah koleksi dari Laboratorium Biomedik FKH Unud. Data klinis spesimen yang dipakai dalam penelitian ini dimuat pada Tabel 1. Sekuens yang diperoleh dibandingkan dengan berbagai strain yang tersedia di GenBank. Kode isolat, nama strain, dan kode akses dimuat pada Tabel 2.

Tabel 1. Kode isolat, tahun isolasi, dan data klinis spesimen

No	Kode Isolat	Tahun	Data Klinis
1	Magri	2011	anoreksia, demam, diare berdarah, dehidrasi.
2	Hesti	2013	demam, diare berdarah, dehidrasi, muntah.
3	Arur	2014	demam, diare berdarah, muntah.
4	Bayu	2014	demam, diare, dehidrasi, muntah.
5	N12	2015	demam, diare, dehidrasi, muntah.
6	K1	2015	demam, diare, nafsu makan hilang.
7	K9	2015	diare berdarah, dehidrasi, lemas, bulu kusam.
8	K11	2015	anoreksia, diare berdarah, dehidrasi, lemas.

Sumber: Laboratorium Biomedik FKH Unud

Polymerase Chain Reaction (PCR) menggunakan primer *HAFOR* dan *VPR*, serta tujuh sampel yang dapat diamplifikasi. Tujuh sampel yang positif tersebut menunjukkan pita (*band*) yang tajam dan selanjutnya dilakukan sekuensing di Lembaga Eijkman Jakarta . Hasil PCR dimuat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil elektroforesis produk PCR VP2 dari CPV-2 koleksi Lab Biomedik FKH Unud

Keterangan: Dari sampel 1 sampai 8, semua menunjukkan pita yang jelas pada posisi 900 bp, kecuali sampel pada lajur 6. Lajur M adalah 100 bp ladder (Invitrogen). Posisi 600 dan 1200 bp dari marker ditunjukkan pada gambar.

Dari tujuh sampel yang disekuensing di Lembaga Eijkman Jakarta, setelah dilakukan editing menggunakan program MEGA5, sekuens yang terbaca dengan baik adalah 770- 870 bp.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis asam amino polimorfik dengan kode akses, dan asal negara, serta klasifikasi strain dapat dilihat pada Tabel 2 yang menampilkan rangkuman asam amino polimorfik protein VP2 dari berbagai isolat yang sekuensnya tersedia di GenBank serta strainnya diketahui, yang antara lain satu isolat tahun 1978 disertakan sebagai sekuens asal mula virus CPV-2 ditambah dengan masing-masing dua strain 2a, 2b, 2c, dan satu strain S5. Tabel 2 menunjukkan bahwa asam amino pembeda dalam strain itu adalah asam amino nomor 426.

Tabel 2. Rangkuman asam amino polimorfik protein VP2 dari berbagai isolat yang sekuensnya tersedia di GenBank dan strainnya diketahui

		Posisi Asam Amino Polimorfik																														
		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2						
Canine parvovirus 1978 M38245	1	Q	P	N	T	E	T	H	N	N	M	I	N	V	S	V	P	K	V	Y	N	D	S	I	D	S	T	Q	F	L	S	G
JQ743898.1 china 2011.2a	a	R	.	.	.	L	T	A	.	.	.	A	.
JQ743895.1 china 2011.2a	a	.	.	D	L	T	R	T	A	R
JQ743891.1 china 2010.2b	b	L	T	Y	.	A	.
EU483517.1 china 2008.2b	b	L	T	A	.
KM457130.1 uruguay 2011.2c	c	L	T	A	.
Canine parvovirus 2c strain 53/00 Italy	c	L	T	A	.
KF638400.1 china 2010.s5(1)	5	B	L	T	F	.	.	A	.

		Posisi Asam Amino Polimorfik																																		
		3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5			
Canine parvovirus 1978 M38245	1	A	F	D	V	N	T	Y	A	V	S	P	N	Y	R	A	R	I	I	V	N	P	T	Q	D	L	E	D	F	V	Q	N	K	K	R	
JQ743898.1 china 2011.2a	a	G	.	Y	.	.	.	I	D	H
JQ743895.1 china 2011.2a	a	G	L	Y	.	.	.	I	D	.	.	.	K	
JQ743891.1 china 2010.2b	b	G	.	Y	.	.	.	I	D	D	.	A	
EU483517.1 china 2008.2b	b	G	.	Y	.	.	.	I	D	D	
KM457130.1 uruguay 2011.2c	c	G	.	Y	D	E	
Canine parvovirus 2c strain 53/00 Italy	c	G	.	Y	D	E	
KF638400.1 china 2010.s5(1)	5	G	.	Y	.	.	.	I	D	A	

Keterangan : Posisi asam amino dibaca dari atas ke bawah. Titik berarti sekuens di posisi tersebut sama dengan isolat yang ditulis paling atas. Huruf D = aspartat (Asp), S = serin (Ser), L = leusin (Leu), I = isoleusin (Ile), E = glutamate (Glu), H = histidin (His), Q = glutamin (Gln), M = metionin (Met), T = treonin (Thr), P = prolin (Pro), R = arginine (Arg), K = lisin (Lys), V = valin (Val), A = alanin (Ala), Y = tirosin (Tyr), N = asparagin (Asn), G = glisin (Gly), F = fenilalanin (Phe), T = treonin (Thr), W = triptofan (Trp).

Analisis asam amino polimorfik dari data tersebut dimuat pada Tabel 3 menunjukkan bahwa semua isolat mempunyai N pada posisi 426 serta A pada posisi 440 yang sama dengan asam amino strain S5.

Tabel 3. Asam amino polimorfik CPV asal Bali dibandingkan dengan berbagai strain CPV yang dikenal didunia

Isolat	Posisi asam amino polimorfik											
	1	1	2	3	3	3	3	3	4	4	4	5
	8	0	9	9	0	0	0	2	7	2	4	5
	7	1	2	7	0	5	7	4	5	6	0	5
Canine parvovirus 1978 M38245	M	I	S	S	A	D	G	Y	N	N	T	V
Canine parvovirus type 2a isolate CPV-31 1983 M24000	L	T	.	.	G	Y	.	.	D	.	.	I
Canine parvovirus isolate BR8155-00 DQ340434 New 2a	L	T	.	A	G	Y	.	.	D	.	.	.
Canine parvovirus strain 2013-BJ-P34 2a	L	T	.	A	G	Y	.	I	D	.	.	.
Canine parvovirus isolate CPV/Gray wolf/MI/832/2012 2b	L	T	.	A	G	Y	.	.	D	D	.	.
Canine parvovirus 2c strain 56/00 Italy	L	T	.	A	G	Y	.	.	D	E	.	.
Canine parvovirus isolate s5	L	T	F	A	G	Y	.	I	D	.	A	.
A2266	-	-	-	A	G	Y	.	I	D	.	A	-
A2264	-	-	-	A	G	Y	.	I	D	.	A	.
A2265	-	-	-	A	G	Y	.	I	D	.	A	.
A2228	-	-	-	A	G	Y	.	I	D	.	A	-
A2267	-	-	-	A	G	Y	.	I	D	.	A	.
A2270	-	-	-	-	G	Y	R	I	D	.	A	.
A2263	-	-	-	A	G	Y	.	I	D	.	A	.

Keterangan : Posisi asam amino dibaca dari atas ke bawah. Titik berarti sekuens di posisi tersebut sama dengan isolat yang ditulis paling atas. Huruf D = aspartat (Asp), S = serin (Ser), L = leusin (Leu), I = isoleusin (Ile), E = glutamate (Glu), H = histidin (His), Q = glutamin (Gln), M = metionin (Met), T = treonin (Thr), P = prolin (Pro), R = arginine (Arg), K = lisin (Lys), V = valin (Val), A = alanin (Ala), Y = tirosin (Tyr), N = asparagin (Asn), G = glisin (Gly), F = fenilalanin (Phe), T = treonin (Thr), W = triptofan (Trp).

Tabel 4. Perbedaan variasi CPV asal Bali dibandingkan dengan berbagai strain CPV yang dikenal dunia

Isolat	Posisi asam amino polimorfik												
	1	1	2	3	3	3	3	3	4	4	5		
Canine parvovirus 1978 M38245	8	0	9	9	0	0	0	2	7	2	4	5	
Canine parvovirus type 2a isolate CPV-31 1983 M24000	7	1	2	7	0	5	7	4	5	6	0	5	
Canine parvovirus isolate BR8155-00 DQ340434 New 2a	M	I	S	S	A	D	G	Y	N	N	T	V	1
Canine parvovirus strain 2013-BJ-P34 2a	L	T	.	.	G	Y	.	.	D	.	.	I	2
Canine parvovirus isolate CPV/Gray wolf/MI/832/2012 2b	L	T	.	A	G	Y	.	.	D	.	.	.	3
Canine parvovirus 2c strain 56/00 Italy	L	T	.	A	G	Y	.	I	D	.	.	.	4
Canine parvovirus isolate s5	L	T	F	A	G	Y	.	I	D	.	A	.	7
A2266	-	-	-	A	G	Y	.	I	D	.	A	-	8
A2264	-	-	-	A	G	Y	.	I	D	.	A	.	8
A2265	-	-	-	A	G	Y	.	I	D	.	A	.	8
A2228	-	-	-	A	G	Y	.	I	D	.	A	-	8
A2267	-	-	-	A	G	Y	.	I	D	.	A	.	8
A2270	-	-	-	-	G	Y	R	I	D	.	A	.	9
A2263	-	-	-	A	G	Y	.	I	D	.	A	.	8

Keterangan : Posisi asam amino dibaca dari atas ke bawah. Titik berarti sekuens di posisi tersebut sama dengan isolat yang ditulis paling atas. Huruf D = aspartat (Asp), S = serin (Ser), L = leusin (Leu), I = isoleusin (Ile), E = glutamate (Glu), H = histidin (His), Q = glutamin (Gln), M = metionin (Met), T = treonin (Thr), P = prolin (Pro), R = arginine (Arg), K = lisin (Lys), V = valin (Val), A = alanin (Ala), Y = tirosin (Tyr), N = asparagin (Asn), G = glisin (Gly), F = fenilalanin (Phe), T = treonin (Thr), W = triptofan (Trp).

Tabel tersebut membuktikan bahwa strain yang ada di Bali hanya terdapat 2 varian. Varian-1 adalah virus dengan kode A2266, A2265, A2264, A2263, A2267, dan A2228. Sedangkan varian-2 adalah virus dengan kode A2270. Varian ini berbeda dengan varian-1 akibat substitusi asam amino G menjadi R pada posisi 370. Kedua varian itu mempunyai susunan asam amino VP2 yang sama dengan strain S5.

Penelitian ini membahas pentingnya pemahaman Genetika *Canine Parvovirus* dalam penentuan vaksin maupun tujuan diagnostik. Ini terbukti dari tujuh virus yang berhasil disekuensing memiliki susunan asam amino yang sama kecuali pada kode A 2270 yang mempunyai substitusi asam amino dari G menjadi R pada posisi 307. Dilakukan analisa terhadap virus parvo melalui isolat yang tersedia dan analisa GenBank untuk menunjukkan perubahan dari asam amino tersebut. Virus parvo merupakan virus DNA dengan materi genetik stabil. Meskipun virus DNA, CPV-2 memiliki tingkat mutasi yang tinggi mendekati

tingkat mutasi virus RNA (Parrish *et al.*, 1991; Trunyen *et al.*, 1995; Horiuchi *et al.*, 1998). Tingkat mutasi yang tinggi ini dikarenakan virus memiliki proses adaptasi yang cepat terhadap inang baru.

Tingginya tingkat mutasi dibuktikan dengan banyaknya variasi genetik yang tersebar di dunia. Strain CPV-2a dominan menginfeksi Negara Cina, Taiwan, dan beberapa negara di Asia Timur lainnya, strain CPV-2b dominan menginfeksi Asia Selatan, dan strain CPV-2c dominan menginfeksi anjing pada daerah di Eropa dan beberapa daerah di Amerika (Lin *et al.*, 2014). Dewasa ini, ditemukan lagi satu strain baru virulen yang diberi nama CPV-S5 dan pertama ditemukan di Shenzhen, Cina pada tahun 2010 (Zhu *et al.*, 2014).

Sekalipun demikian, perubahan minimum itu bisa saja menyebabkan perubahan keganasan. ini perlu dikaji lebih lanjut. Analisis polimorfik menunjukkan bahwa virus Parvo dari Bali memiliki asam amino N pada 426 dan asam amino A pada posisi 440. Sekuen itu mirip dengan isolat S5 yang ditemukan di Cina, hanya saja posisi asam amino no 192 yang unik pada S5, yaitu F, tidak terbaca pada penelitian ini. Data dari *GenBank* yang digunakan yaitu DNA yang berasal dari tahun 1979 yang belum diketahui strainnya, dua sampel dari strain CPV-2a, dua sampel dari strain CPV-2b, dua sampel dari strain CPV-2c, dan satu sampel dari strain CPV-S5. Analisis dari data tersebut menunjukkan adanya perbedaan pada posisi 192 pada tabel pertama dan posisi 426 pada tabel kedua. Hasil analisis tersebut menunjukkan perbedaan asam amino pada posisi tersebut dapat mempengaruhi karakteristik dari CPV, khususnya yang beredar di Bali.

Kebanyakan vaksin CPV yang beredar saat ini lebih dikhususkan untuk tipe strain 2a, 2b, dan 2c (Martella *et al.*, 2005; Truyen, 2006). Sedangkan hasil yang ditampilkan dalam penelitian ini, strain virus yang beredar di Bali lebih condong mirip dengan strain S5. Perlu adanya kajian lanjutan mengenai khasiat penggunaan vaksin yang beredar saat ini.

Primer yang digunakan dalam penelitian ini yang mengkombinasi dua penelitian terpisah ternyata dapat digunakan dengan hasil baik. Primer tersebut dapat digunakan untuk deteksi CPV dari kasus klinis. Primer khas yang spesifik virus Indonesia perlu dikembangkan berdasarkan sekuens yang diperoleh. Untuk maksud tersebut, upaya sekuensing berbagai CPV dari seluruh Indonesia perlu dilakukan.

SIMPULAN

Canine Parvovirus (CPV) yang bersirkulasi di Bali mempunyai sekuens asam amino fragmen VP2 bersifat homogen, yang mirip dengan strain S5.

SARAN

Perlu kajian lebih lanjut untuk mengetahui sekuen yang lebih panjang sehingga penentuan strain yang bersirkulasi dapat lebih meyakinkan dan primer yang digunakan dalam penelitian ini dapat digunakan untuk mendeteksi CPV dari kasus klinis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penelitian ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik

DAFTAR PUSTAKA

- Appel M, Carmichael J, McGregor LE, Pollock DD, RV. 1980. *Canine parvovirus vaccination*. Modern veterinary practice 61, 983-985.
- Buonavoglia C, Martella V, Pratelli A, Tempesta M, Cavalli A, Buonavoglia D, Bozzo G, Elia G, Decaro N, Carmichael L. 2001. Evidence for evolution of canine parvovirus type 2 in Italy. *The Journal of general virology* 82, 3021-3025.
- Decaro N, Buonavoglia C. 2012. Canine parvovirus--a review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. *Veterinary microbiology* 155, 1-12.
- Decaro N, Crescenzo G, Desario C, Cavalli A, Losurdo M, Colaianni ML, Ventrella G, Rizzi S, Aulicino S, Lucente MS, Buonavoglia C. 2014. Long-term viremia and fecal shedding in pups after modified-live canine parvovirus vaccination. *Vaccine* 32, 3850-3853.
- Lin CN, Chien CH, Chiou MT, Chueh LL, Hung MY, Hsu HS. 2014. Genetic characterization of type 2a canine parvoviruses from Taiwan reveals the emergence of an Ile324 mutation in VP2. *Virology journal* 11, 39.
- Mahardika IGNK, Astawa INM, Kencana GAY, Suardana IBK, Sari TK. 2015. *Teknik Lab Virus*. Udayana University Press, Denpasar, Bali.
- Mochizuki M, Horiuchi M, Hiragi H, San Gabriel MC, Yasuda N, Uno T. 1996. Isolation of canine parvovirus from a cat manifesting clinical signs of feline panleukopenia. *Journal of clinical microbiology* 34, 2101-2105.
- Nandi S, Chidri S, Kumar M, Chauhan RS. 2010b. Occurrence of canine parvovirus type 2c in the dogs with haemorrhagic enteritis in India. *Research in veterinary science* 88, 169-171.
- Parrish CR, Carmichael, LE. 1983. Antigenic structure and variation of canine parvovirus type-2, feline panleukopenia virus, and mink enteritis virus. *Virology* 129, 401-414.
- Parrish CR, Carmichael LE. 1986. Characterization and recombination mapping of an antigenic and host range mutation of canine parvovirus. *Virology* 148, 121-132.
- Parrish CR. 1991. Mapping specific functions in the capsid structure of canine parvovirus and feline panleukopenia virus using infectious plasmid clones. *Virology* 183, 195-205.
- Suaryana KG. 1990. Diagnosis of Canine Parvovirus Using Enzyme Immunoassay. (PhD Thesis). James Cook University of North Queensland, Australia.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. 2011. MEGA5 : Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance and Maximum Parsimony Methods. *Mol Biol Evol.* 28, 2731-2739.
- Zhao Y, Lin Y, Zeng X, Lu C, Hou J. 2013. Genotyping and pathobiologic characterization of canine parvovirus circulating in Nanjing, China. *Virology journal* 10, 272.

Zhu Y, Huang Y, Wang Y, Chen K, Niu X, Luo Y, Guo X. 2014. Genome Sequence of a Canine Parvovirus Strain, CPV-s5, Prevalent in Southern China. *Genome announcements* 2.