

# Motif Sekuens Asam Amino Pembentuk Kantong Pengikat Oseltamivir pada Protein Neuraminidase Virus Avian Influenza (H5N1) asal Manusia dan Hewan di Indonesia

(AMINO ACID SEQUENCE MOTIVE OF OSELTAMIVIR BINDING POCKET IN NEURAMINIDASE PROTEIN OF AVIAN INFLUENZA (H5N1) VIRUS FROM HUMAN AND ANIMAL IN INDONESIA)

I Gusti Ngurah Kade Mahardika<sup>1</sup>, I Made Sukada<sup>2</sup>,  
Made Suma Antara<sup>3</sup>, dan Ni Gusti Agung Ayu Suartini<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Lab Virologi; Lab Biomedik dan Biologi Molekuler, <sup>2</sup>Lab Kesehatan Masyarakat Veteriner, <sup>3</sup> Lab Farmakologi Veteriner, <sup>4</sup>Lab Biokimia Veteriner  
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana  
Jl PB Sudirman Denpasar Bali  
Telepon : 0361-8423061. Email: gnmahardika@indosat.net.id

## ABSTRACT

The previous finding on avian influenza (AI) virus of H5N1 subtype from Indonesia shows reduced sensitivity against oseltamivir is critically reviewed in this study based on observation of the amino-acid sequence motive of neuraminidase protein (NA) of all H5N1 virus human and animal isolates in Indonesia available in the GeneBank. Amino acid sequence of oseltamivir binding pocket of NA protein on all Indonesian viruses is typical for sensitive virus with a conserved motive of H274, E276, R292, and N294. Resistance issue could not be explained based on the available data.

Key words : avian influenza (AI) virus, oseltamivir, reduced sensitivity, amino-acid sequence motive

## PENDAHULUAN

Oseltamivir (nama generik Tamiflu®) merupakan obat antiinfluenza yang direkomendasikan untuk mencegah dan mengobati penderita infeksi virus *avian influenza* (AI) subtype H5N1 yang secara populer disebut penyakit flu burung (WHO 2007; 2008). Obat tersebut bekerja dengan menghambat protein virus neuraminidase (NA) melepas ikatan antara hemagglutinin (HA) virus influenza dengan komponen asam sialat dinding sel pada saat virus keluar dari sel yang terinfeksi (Moscona, 2005a). Dengan demikian, jumlah virus infeksius yang terlepas dari sel akan berkurang.

McKimm-Breschkin *et al.*, (2007) melaporkan bahwa pengujian yang dilakukan di laboratorium menunjukkan virus-virus asal Indonesia 20-30 kali kurang peka terhadap obat tersebut dibandingkan dengan virus-virus H5N1 yang berasal dari Kamboja beberapa tahun lalu. Menurutnya, mutasi-mutasi yang membuat virus kurang peka dengan oseltamivir terjadi secara spontan di alam dan bukan karena

pemberian oseltamivir. Virus-virus yang dipelajari dikumpulkan dari unggas tahun 2005 asal kasus tidak disebutkan.

Fakta tersebut ditelaah secara kritis pada tulisan ini, dengan mengamati motif asam amino protein NA virus AI subtype H5N1 yang diisolasi dari manusia dan hewan di Indonesia yang telah diregistrasi pada *data base* publik *GeneBank*.

## MATERI DAN METODE

Sekuens gen NA virus AI H5N1 asal manusia dan hewan unggas di Indonesia diperoleh dari *GeneBank* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/FLU/Database>, Akses tanggal 30 Maret 2008). Data tersebut selanjutnya dianalisis dengan piranti lunak Mega 3.1 (Kumar *et al.*, 2004). Hal yang dianalisis adalah sekuens asam amino pembentuk *oseltamivir binding pocket* E119, R224, H274, E276, R292 dan N294 (Moscona, 2005<sup>a</sup>; 2005<sup>b</sup>). E, R, H, dan N menunjukkan sandi asam amino masing-masing Glutamat (E), Arginin (R), Histidin (H) dan Asparagin (N). Angka setelah

sandi asam amino menunjukkan posisi asam amino yang bersangkutan pada protein NA. *Binding pocket* yang sama juga digunakan oleh Zanamivir, obat antiinfluenza yang lain (Moscona, 2005<sup>a</sup>).

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Resistensi suatu isolat virus influenza terhadap oseltamivir telah lama ditengarai menjadi hal yang harus diantisipasi. Mutasi asam amino yang pernah dilaporkan dan menyebabkan resistensi terhadap neuraminidase tapi tidak zanamivir H274Y, R292K, dan N294S (Ives et al., 2002; Herlocher et al., 2004; Moscona, 2005b; Ward et al., 2005; Wang et al., 2007;).

Tingkat resistensi yang tinggi terhadap oseltamivir terjadi karena substitusi satu asam amino pada NA, yaitu mutasi H274T. Varian tersebut telah dideteksi pada 16% anak-anak terhadap virus *human influenza A (H1N1)*

setelah memperoleh pengobatan oseltamivir (Ward et al., 2005). Fenomena serupa telah pula dilacak pada beberapa pasien yang positif flu burung H5N1 yang telah memperoleh pengobatan oseltamivir (de Jong et al., 2005; WHO 2008).

Hasil analisis yang ditampilkan pada Gambar 1 tampak bahwa secara molekuler, susunan materi genetik virus flu burung asal manusia dan hewan di Indonesia yang telah teregistrasi pada *GeneBank* menunjukkan bahwa semua isolat tersebut masih sensitif terhadap oseltamivir. Asam amino pembentuk *Oseltamivir Binding Pocket* yang dapat diidentifikasi pada virus AI sub tipe H5N1 isolat manusia dan hewan asal Indonesia adalah H274, E276, R292 dan N294. Asam amino-asam amino tersebut ternyata masih konstan pada semua virus AI asal Indonesia yang telah teregistrasi.

Fenomena resistensi yang diungkap dimuka tidak dapat dijelaskan dengan data yang

#I._A_virus_A/Indonesia/CDC595/2006_NA	Y	H	E	E	C	S	C	Y	D	A	G	E	I	T	C	V	C	R	D	N	W
#I._A_virus_A/Indonesia/CDC596/2006_NA	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
#I._A_virus_A/Indonesia/CDC624E/2006_NA	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
#I._A_virus_A/Indonesia/CDC625/2006_NA	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
#I._A_virus_A/Indonesia/CDC634/2006_NA	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
#I._A_virus_A/Indonesia/CDC634P/2006_NA	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
#I._A_virus_A/Indonesia/CDC634T/2006_NA	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
#I._A_virus_A/Indonesia/CDC759/2006_NA	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
#I._A_virus_A/Indonesia/CDC938/2006_NA	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
#I._A_virus_A/Indonesia/CDC938E/2006_NA	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
#I._A_virus_A/Indonesia/CDC940/2006_NA	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
#I._A_virus_A/Indonesia/CDC326/2006_NA	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
#I._A_virus_A/Indonesia/CDC194P/2005_NA	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
#I._A_virus_A/Indonesia/CDC594/2006_NA	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
#I._A_virus_(A/chicken/Gunung_A/chicke...	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
#I._A_virus_A/chicken/Purwakarta/BBVet...	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
#I._A_virus_A/quail/Tasikmalaya/BPPV42...	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
#I._A_virus_(A/chicken/Bangli_A/chicke...	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
#I._A_virus_A/chicken/Kupang-1-NTT/BPP...	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
#I._A_virus_A/chicken/Indonesia/77/200...	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
#I._A_virus_A/chicken/Indonesia/7/2003_NA	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
#I._A_virus_A/chicken/Indonesia/11/200...	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
#I._A_virus_A/Ck/Indonesia/BL/2003_NA	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
#I._A_virus_A/chicken/Indonesia/CDC25/...	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
#I._A_virus_A/chicken/Indonesia/CDC24/...	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
#I._A_virus_A/feline/Indonesia/CDC1/20...	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	

Gambar 1. Perbandingan Sekuens Asam Amino Protein Neuraminidase Beberapa Virus H5N1 dari Manusia (13 Virus yang pertama) dan dari Hewan pada Fragmen Kantong Pengikat Oseltamivir. Asam amino kritis H274, E276, R292 dan N294 diberi tanda kotak. Tanda (.) menunjukkan asam amino sama dengan A/Indonesia/CDC595.

tersedia. Memperhatikan laporan de Jong *et al.*, (2005) dan WHO (2008), fakta resistensi pada virus flu burung asal Indonesia dapat saja terjadi dan sangat perlu dimonitor. Data molekuler yang dipaparkan di atas perlu diuji secara fenotipe ketahanan terhadap oseltamivir.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Sekuens asam amino protein NA pembentuk *Oseltamivir Binding Pocket* pada virus AI subtipe H5N1 isolat manusia dan hewan asal Indonesia yang tersedia di *GeneBank* sampai 30 Maret 2008 adalah khas virus yang sensitif oseltamivir dengan motif H274, E276, R292 dan N294.

### Saran

Sensitivitas virus AI H5N1 terhadap oseltamivir perlu terus dipantau dengan melakukan sekuensing dan uji fenotipe.

## DAFTAR PUSTAKA

- de Jong MD, Tran TT, Truong HK, Vo MH, Smith GJ, Nguyen VC, Bach VC, Phan TQ, Do QH, Guan Y, Peiris JS, Tran TH, Farrar J., 2005. Oseltamivir resistance during treatment of influenza A (H5N1) infection. *N Engl J Med* 353(25):2667-72.
- Herlocher ML, Truscon R, Elias S, Yen HL, Roberts NA, Ohmit SE, Monto AS. 2004. Influenza viruses resistant to the antiviral drug oseltamivir: transmission studies in ferrets. *J Infect Dis* 190(9):1627-30.
- Ives JA, Carr JA, Mendel DB, Tai CY, Lambkin R, Kelly L, Oxford JS, Hayden FG, Roberts NA., 2002. The H274Y mutation in the influenza A/H1N1 neuraminidase active site following oseltamivir phosphate treatment leave virus severely compromised both in vitro and in vivo. *Antiviral Res* 55(2):307-17.
- McKimm-Breschkin J, Selleck P, Usman TB, Johnson M., 2007. Reduced sensitivity of influenza A (H5N1) to oseltamivir. *Emerg Infect Dis.* 13:1354-7.
- Moscona A, 2005a. Neuraminidase Inhibitors for Influenza. *N Engl J Med* 2005;353:1363-73.
- Moscona A, 2005b. Oseltamivir Resistance — Disabling Our Influenza Defenses. *N Engl J Med* 353;25
- Wang SQ, Du QS, Chou KC. 2007. Study of drug resistance of chicken influenza A virus (H5N1) from homology-modeled 3D structures of neuraminidases. *Biochem Biophys Res Commun* 354(3):634-40.
- Ward P, Small I, Smith J, Suter P, Dutkowski R., 2005. Oseltamivir (Tamiflu) and its potential for use in the event of an influenza pandemic. *J Antimicrob Chemother* 2005;55
- WHO, 2007. WHO interim protocol: rapid operations to contain the initial emergence of pandemic influenza. Updated October 2007. ([http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/guidelines/draftprotocol/en/index.html](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/draftprotocol/en/index.html).)
- WHO, 2008. Writing Committee of the Second World Health Organization Consultation on Clinical Aspects of Human Infection with Avian Influenza A (H5N1) Virus. Update on Avian Influenza A (H5N1) Virus Infection in Humans. *N Engl J Med* 2008;358:261-73