

**DETEKSI DAN IDENTIFIKASI ENTEROVIRUS DARI ANAK-ANAK
BALITA DI DESA ANTAJAYA, KECAMATAN TANJUNGSARI,
KABUPATEN BOGOR**



RAMA DHENNI

0304040648



UNIVERSITAS INDONESIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

DEPARTEMEN BIOLOGI

DEPOK

2008

**DETEKSI DAN IDENTIFIKASI ENTEROVIRUS DARI ANAK-ANAK
BALITA DI DESA ANTAJAYA, KECAMATAN TANJUNGSARI,
KABUPATEN BOGOR**

**Skripsi diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains**

Oleh:

RAMA DHENNI

0304040648



DEPOK

2008

SKRIPSI : DETEKSI DAN IDENTIFIKASI ENTEROVIRUS DARI ANAK-
ANAK BALITA DI DESA ANTAJAYA, KECAMATAN
TANJUNGSARI, KABUPATEN BOGOR

NAMA : RAMA DHENNI

NPM : 0304040648

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, 15 DESEMBER 2008

Dr. ANDI UTAMA
PEMBIMBING I

Dr. ABINAWANTO
PEMBIMBING II

Tanggal lulus Ujian Sidang Sarjana: 23 Desember 2008

Penguji I : Ariyanti Oetari, Ph.D. (.....)

Penguji II : Dr. Upi Chairun Nisa (.....)

Penguji III : Retno Lestari, M.Si. (.....)

*Untuk kedua orang tua penulis
dan penduduk Desa Antajaya*

KATA PENGANTAR

Syukur alhamdulillah penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, karunia, dan ridho-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi ini merupakan hasil dari usaha dan kerja penulis yang tentunya tak akan sebanding dengan banyaknya bantuan, dukungan, dan pengorbanan dari orang-orang di sekitar penulis.

Penulis mengucapkan terima kasih dari lubuk hati terdalam kepada Dr. Andi Utama selaku Pembimbing I dan Dr. Abinawanto selaku Pembimbing II, atas ilmu, bimbingan, pengertian, dan waktu yang telah diberikan kepada penulis. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Ariyanti Oetari, Ph.D., Dr. Upi Chairun Nisa, Retno Lestari, M.Si., dan Dr. Wellyzar Sjamsuridzal, selaku penguji yang telah memberikan saran dan masukan yang berharga bagi penulis. Terima kasih pula kepada Dra. Sitaresmi, M.Sc. selaku Penasihat Akademik, Dr. rer nat Mufti P. Patria, M.Sc., Dra. Nining B. Prihantini, M.Sc., Dr. Andi Salamah, Dr. Dadang Kusmana, M.Si, Drs. Ellyzar I.M. Adil, M.S., Dr. rer nat Yasman, M.Sc., Dr. Boen S. Oemarjati, S.Si., dan Drs. Wisnu Wardhana, M.Si., serta kepada seluruh dosen dan staf karyawan Departemen Biologi FMIPA UI yang telah membuka mata penulis terhadap dunia biologi.

Terima kasih sebesar-besarnya penulis tujukan kepada Ahmad Jajuli dan keluarga besar Nahrudin, S.Pd. yang telah memberikan banyak bantuan serta mengizinkan penulis untuk singgah di kediaman selama penulis

mengumpulkan sampel. Terima kasih kepada Mba Rifqiyah Nur Umami yang telah menjadi orang pertama yang mengenalkan penulis kepada enterovirus serta memberikan begitu banyak bantuan walaupun terpisahkan jarak ratusan kilometer. Terima kasih pula kepada keluarga besar Lab. Virologi Molekular, Puslit Bioteknologi-LIPI (Mba Neneng, Mba Ainun, Mas Ridwan, Ibu Shanti, Ibu Lina, Asraf, Yuli, Marya, Fahmi, Agus, Nzom, Yoni, Yopi, Nadia, dan Mega), atas semua keceriaan, kebersamaan, rasa kekeluargaan dan ilmu yang telah diberikan kepada penulis, serta para peneliti di Lab. Molekular Hewan, Puslit Bioteknologi-LIPI (Mba Rere dan Mba Tika) yang tak pernah lelah diusik oleh penulis.

Terima kasih kepada keluarga besar Baliveau 2004 yang telah menjadi bagian paling berkesan di kehidupan penulis: Rasit, Afi, Aini, Allein, AE, Anshor, Ades, Aster, Aya, Ayu, Budi, Xty, Eko, Tufeil, Elly, Vk, Hema, Henry, Suci, Iin, Opunk, Ipank, Kitri, Tina, Jojo, Adam, Maryam, Ryan, Ais, Toto, Opan, Vita, Tia, Putra, Uthie, Ajeng, Rany, Ronggo, Shisil, Sulis, Yani, Chaqi, Toni, Tri, Wienda, Bancedz, Tari, dan terutama untuk para pembuat keributan di Lab. Genetika (Aldi, Ape, Toro, Eka, Cc, Wuri, Ina, Mm, Tika, Mariana, Acid, Melinda, Tini, Sance), Dinduth, teman seperjuangan yang senantiasa sabar menemani penulis menyelesaikan penelitian, serta Valentine yang selalu siap berdiskusi dengan penulis. Penulis tak akan berhenti bersyukur telah menjadi bagian dari masa-masa manis maupun pahit yang telah dilewati keluarga Baliveau hingga saat ini.

Tak lupa penulis mengucapkan terima kasih kepada para tetua (K'Heri, K'Dosul, K'Dhamar, K'Parto, K'Safran, K'Echa, K'Chika, K'Dinul, K'Niki, K'Has, K'Nunu, K'Dimas, K'Adiep, K'Ardhan, K'Time, K'Ina, K'Ncun, dan K'Sui), rekan-rekan asisten Lab. Keanekaragaman Hewan maupun Genetika, dan seluruh mahasiswa Departemen Biologi FMIPA UI angkatan Biroe (00), Komdis (01), Tukatu (02), Gothic (03), Bee05phere (05), Felix (06), dan Blossom (07) yang masing-masing telah menginspirasi penulis untuk semakin mencintai dunia biologi. Terima kasih juga penulis tujukan kepada rekan-rekan di SIGMA-B UI yang telah memberikan pengalaman paling berharga bagi penulis untuk menghargai kekayaan laut. Terima kasih pula untuk rekan-rekan di Mochtar Riady Institute for Nanotechnology (Bugi, Imelda, Dewi, Mba Susi, Andri, Mba Marlinang, Mba Wiwid, K'Tania, Adi, Gunawan, Benny, Mba Akter, dan Rica) yang selalu mengingatkan penulis untuk menyelesaikan skripsi ini serta Pak Indra dan Pak Sigit yang senantiasa memberikan dukungan dan motivasi.

Terima kasih yang teristimewa kepada Delta Fermikuri Akbar yang tak pernah lelah memberikan semangat, perhatian dan pengertiannya kepada penulis, serta untuk Mama, Papa, Uda Topik, dan Uda Yan serta seluruh keluarga yang tak pernah berhenti memberikan kasih sayang, dukungan, dan kepercayaan kepada penulis. Akhir kata, penulis berharap agar skripsi yang masih jauh dari sempurna ini dapat bermanfaat.

Penulis

2008

ABSTRAK

Keragaman enterovirus di Indonesia belum banyak diketahui, terutama enterovirus nonpolio spesies *Human enterovirus C* (HEV-C) yang dapat berekombinasi dengan poliovirus galur *oral poliovirus vaccine* (OPV). Penelitian bertujuan mendeteksi dan mengidentifikasi enterovirus pada anak-anak balita di Desa Antajaya yang memiliki fasilitas sanitasi minim. Sampel feses dikumpulkan selama bulan Februari--Juni 2008 dari 100 anak-anak balita partisipan serta dianalisis melalui metode CODEHOP VP1 RT-snPCR, *sequencing* parsial gen pengkode kapsid VP1, penelusuran BLAST, dan rekonstruksi pohon filogenetik. Prevalensi enterovirus paling tinggi yang terdeteksi dan teridentifikasi terdapat pada kelompok umur 12--23 bulan dengan kecenderungan penurunan prevalensi pada kelompok umur yang semakin besar. Analisis pohon filogenetik dari 65 sampel positif enterovirus memperlihatkan 14 *cluster* berbeda yang sesuai dengan 14 serotipe enterovirus hasil penelusuran BLAST, yaitu coxsackievirus A2 (CVA2), CVA5, CVA10 dari spesies HEV-A (16,92%); echovirus 1 (E1), E9, E14, E21, E25, coxsackievirus B3 (CVB3), CVB4 dari spesies HEV-B (38%); dan poliovirus 2 (PV2), CVA1, CVA20, CVA24 dari spesies HEV-C (24,62%). Prevalensi enterovirus nonpolio spesies HEV-C yang relatif tinggi dalam penelitian dapat menjadi salah satu dasar pertimbangan penggunaan *inactivated poliovirus vaccine* (IPV) di Indonesia untuk mencegah wabah poliomyelitis akibat

rekombinasi antara poliovirus galur OPV dan enterovirus nonpolio spesies HEV-C.

Kata kunci: CODEHOP; Desa Antajaya; enterovirus; keragaman serotipe; poliovirus; VDPV.

xii + 114 hlm.; gbr.; tab.; lamp.

Bibliografi: 97 (1962--2008)

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
ABSTRAK	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Enterovirus.....	5
1. Klasifikasi	5
2. Karakteristik fisik dan kimia, struktur, serta organisasi genom enterovirus	6
3. Epidemiologi dan patogenesis	8
4. Evolusi enterovirus	11
B. Vaksin polio dan <i>vaccine-derived poliovirus</i> (VDPV)	12
C. Desa Antajaya	14
D. Deteksi dan identifikasi molekular enterovirus	15
1. Sekuen pengkode kapsid VP1	15
2. Teknik-teknik biologi molekular dalam penelitian	17

	a. Ekstraksi RNA virus	17
	b. <i>Consensus-degenerate hybrid oligonucleotide primer VP1 reverse transcription-semi-nested PCR (CODEHOP VP1 RT-snPCR)</i>	18
	c. Elektroforesis gel	20
	d. Purifikasi DNA	21
	e. <i>Sequencing</i> DNA	22
	3. Analisis sekuen pengkode kapsid VP1	24
	a. <i>Basic local alignment search tool (BLAST)</i>	24
	b. Rekonstruksi pohon filogenetik	25
BAB III.	BAHAN DAN CARA KERJA	28
	A. Lokasi dan waktu penelitian	28
	B. Bahan	28
	1. Sampel	28
	2. Bahan	29
	C. Peralatan	31
	D. Perangkat lunak	32
	E. Cara kerja	32
	1. Preparasi sampel feses	33
	2. Ekstraksi RNA virus	33
	3. CODEHOP VP1 RT-snPCR	35
	4. Elektroforesis gel agarosa	36
	5. Purifikasi produk CODEHOP VP1 RT-snPCR	37

6. <i>Sequencing</i> parsial gen pengkode kapsid VP1	38
7. Analisis sekuen dan rekonstruksi pohon filogenetik	39
F. Penyusunan, pengolahan, dan analisis data	41
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	42
A. Hasil	42
B. Pembahasan	48
1. Prevalensi infeksi serotipe enterovirus di Desa Antajaya.....	48
a. Prevalensi infeksi serotipe enterovirus berdasarkan lokasi pengumpulan sampel	48
b. Prevalensi infeksi serotipe enterovirus berdasarkan kelompok umur	49
2. Keragaman serotipe enterovirus dari anak-anak balita di Desa Antajaya	51
a. Keragaman spesies <i>Human enterovirus A</i> (HEV-A)	55
b. Keragaman spesies <i>Human enterovirus B</i> (HEV-B)	57
c. Keragaman spesies <i>Human enterovirus C</i> (HEV-C)	59
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	64
A. Kesimpulan	65
B. Saran	66
DAFTAR ACUAN	67

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Representasi struktur enterovirus	83
2. Genom enterovirus	83
3. Negara-negara dengan transmisi poliovirus liar	84
4. Pelekatan primer CODEHOP	85
5. Representasi skematik lokasi primer-primer yang digunakan dalam CODEHOP VP1 RT-snPCR	85
6. Peta lokasi Desa Antajaya, Kecamatan Tanjungsari, Kabupaten Bogor, Provinsi Jawa Barat	86
7. Skema cara kerja penelitian	86
8. Kondisi masing-masing tahapan pada CODEHOP VP1 RT-snPCR dan <i>cycle sequencing</i>	88
9. Hasil elektroforesis gel agarosa dari produk CODEHOP VP1 RT-snPCR sampel H73--H92 dan H133--H152	89
10. Elektroferogram hasil <i>sequencing</i> sampel H84 dengan primer <i>reverse</i> AN88	90
11. Elektroferogram hasil <i>sequencing</i> sampel H111 dengan primer <i>reverse</i> AN88	91
12. Pohon filogenetik berdasarkan sekuen parsial VP1 dari sampel penelitian dan semua galur prototipe dari 85 serotipe enterovirus dengan metode <i>neighbor-joining</i> (NJ), parameter Kimura-2 dan uji <i>bootstrap</i> 1.000 kali	92
13. Prevalensi serotipe enterovirus dari anak-anak balita di Desa Antajaya berdasarkan lokasi pengumpulan sampel	93
14. Prevalensi serotipe enterovirus dari anak-anak balita di Desa Antajaya berdasarkan kelompok umur	93

15	Pohon filogenetik berdasarkan sekuen parsial VP1 spesies HEV-A sampel penelitian dan sekuen referensi dari beberapa negara yang diperoleh melalui GenBank	94
16	Pohon filogenetik berdasarkan sekuen parsial VP1 spesies HEV-B sampel penelitian dan sekuen referensi dari beberapa negara yang diperoleh melalui GenBank	95
17	Pohon filogenetik berdasarkan sekuen parsial VP1 spesies HEV-C sampel penelitian dan sekuen referensi dari beberapa negara yang diperoleh melalui GenBank	96

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Karakteristik demografi anak-anak balita partisipan di tujuh kampung di Desa Antajaya	98
2. Prevalensi serotipe enterovirus yang terdeteksi dan teridentifikasi dari anak-anak balita di Desa Antajaya	99
3. Prevalensi serotipe enterovirus dari anak-anak balita di Desa Antajaya berdasarkan lokasi pengumpulan sampel	100
4. Prevalensi serotipe enterovirus dari anak-anak balita di Desa Antajaya berdasarkan kelompok umur	101
5. Prevalensi serotipe enterovirus dari anak-anak balita di Desa Antajaya berdasarkan jenis kelamin	102
6. Hasil identifikasi sampel positif berdasarkan penelusuran BLAST dan analisis pohon filogenetik	103

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Klasifikasi enterovirus (genus <i>Enterovirus</i> , famili <i>Picornaviridae</i>)	107
2. Beberapa penyakit dan gejala klinis pada infeksi enterovirus	108
3. Komponen dan komposisi kit yang digunakan dalam penelitian	109
4. Primer yang digunakan dalam CODEHOP VP1 RT-snPCR dan <i>sequencing</i>	110
5. Komposisi larutan dan <i>buffer</i> yang digunakan dalam penelitian serta cara pembuatan dan penyimpanannya	111
6. Komposisi kit yang digunakan dalam CODEHOP VP1 RT-snPCR ..	112
7. Komposisi master <i>mix</i> yang digunakan dalam CODEHOP VP1 RT-snPCR	113
8. Komposisi master <i>mix</i> yang digunakan dalam <i>cycle sequencing</i>	114