

## **II. TINJAUAN PUSTAKA**

### **A. Habitat dan Burung**

Sebagai salah satu faktor yang sangat penting dalam dunia keanekaragaman hayati, habitat yang meliputi kualitas dan kuantitasnya sangat penting untuk ditinjau. Terlebih jika berbicara mengenai kehidupan satwa liar. Menurut Alikodra (2010), kondisi habitat akan menentukan komposisi dan distribusi suatu satwa liar.

Apabila terjadi gangguan pada suatu habitat atau terjadi perubahan pada salah satu komponennya, maka hal ini dapat menyebabkan habitat tersebut tidak lagi layak untuk ditinggali (Indriyanto, 2006). Sebagai salah satu satwa yang banyak ditemukan di alam liar, burung dan habitat punya hubungan yang sangat kuat. Menurut Wahyuwigati (2010), burung merupakan salah satu satwa yang peka terhadap perubahan kondisi lingkungannya. Karena memiliki kemampuan untuk hidup pada hampir di semua tipe habitat pada berbagai ketinggian, burung sering dijadikan sebagai bioindikator terhadap perubahan iklim serta lingkungan (Sudjatnika, dkk., 1995).

### **B. Berkurangnya populasi burung**

Menurut Caughley (1977), penurunan populasi akan berpotensi terhadap kepunahan jika jumlah individu yang hilang baik melalui kematian maupun emigrasi jauh lebih tinggi daripada jumlah individu yang didapat melalui kelahiran dan imigrasi. Perburuan yang berlebihan, introduksi predator, kompetitor, perubahan

iklim dan penyakit adalah faktor nyata penyebab berkurangnya populasi burung dunia (Innes, 2009). Contoh nyata adalah pada negara Selandia Baru dengan sejarah kehilangan spesies burung. Sejak kedatangan manusia, Selandia Baru kehilangan sepertiga dari spesies burung asli, 41 % adalah burung endemik (Holdaway dkk., 2001; Worthy dan Holdaway, 2002).

Dalam pembahasan mengenai penurunan populasi, kondisi habitat pun menjadi salah satu faktor penting. Perubahan struktur habitat dan komponennya dapat menyebabkan terjadi penurunan populasi karena hilangnya organisme yang hidup di dalamnya. Perubahan komponen di dalam habitat yang terjadi dapat berupa bencana alam, misalnya letusan gunung berapi. Gunung Merapi sebagai sumber sampel yang digunakan di dalam penelitian ini, terletak di perbatasan Provinsi Jawa Tengah dan Daerah Istimewa Yogyakarta. Menurut Daryono (2010), sebagai salah satu gunung teraktif di Indonesia, Gunung Merapi ini sering mengalami erupsi, meskipun masa periodisasi terjadinya tergolong singkat yaitu berkisar 2 sampai 5 tahun.

Selain menyebabkan timbulnya kondisi habitat yang unik berupa perpaduan ekosistem gunung berapi dan hutan dataran tinggi, dampak erupsi juga mengakibatkan terjadinya perubahan kondisi lingkungan dan ekosistem yang akan berdampak pada kehidupan satwa liar, termasuk burung (Cassagranti dan Gatto, 2002; Gunawan, dkk., 2012). Di Indonesia, penurunan populasi terjadi karena penurunan kualitas habitat dan juga perburuan liar yang berlebihan seiring dengan meningkatnya permintaan pasar, lemahnya pengawasan, serta rendahnya kesadaran masyarakat tentang konservasi (Setio dan Takandjandji, 2007).

Jika dibandingkan dengan faktor lain seperti bencana alam, faktor parasit dan penyakit memberikan kontribusi kecil terhadap penurunan populasi burung di seluruh dunia. Menurut Newton (1998), jika dibandingkan dengan faktor lain misalnya predasi burung dan juga faktor kekurangan makanan yang sangat berkaitan dengan ulah manusia maka faktor ini masih dapat dikatakan tidak terlalu berkontribusi dalam berkurangnya populasi burung. Namun tidak menutup kemungkinan jika melihat semakin seringnya terjadi interaksi manusia terhadap habitat, dikombinasikan dengan translokasi burung antarpopulasi, faktor ini akan memiliki dampak besar dalam penurunan populasi burung di dunia (Deem dkk., 2010).

Secara khusus, saat ini terdapat 1.111 jenis burung (11%) di dunia yang secara global terancam punah. Ditambah dengan 11 jenis (0,1) dikategorikan dalam status tergantung aksi konservasi, 66 jenis (1%) kurang data, dan 877 jenis (9%) mendekati terancam punah. Dengan kata lain, lebih dari seperlima dari semua jenis burung yang ada di dunia harus mendapat perhatian. Keterancamannya tersebut diakibatkan oleh menurunnya kualitas lingkungan dan hilangnya habitat. ( Shahnaz., dkk.1995). Penyebab lainnya, termasuk penyakit, belumlah banyak diketahui perannya.

### **C. Malaria Burung**

Malaria adalah penyakit daerah tropis yang disebabkan oleh infeksi protozoa dari Filum Apicomplexa. Penyakit ini tidak hanya menyerang manusia, tetapi juga menyerang binatang seperti burung, primata, hewan melata, dan hewan pengerat. Menurut Valkiunas (2005), dengan metode mikroskopis telah teridentifikasi 200 jenis

dari tiga marga tersebut. Penyebarannya dari malaria burung sangat luas dan menginfeksi hampir semua marga burung.

Penyebab malaria burung adalah kelompok mikroskopik intraselular parasit protozoa yang ditemukan di dalam sel darah dan jaringan dari umumnya inang unggas. Parasit ini berasal dari filum Apicomplexa dan umumnya ditemukan pada burung liar, menginfeksi spesies yang sangat rentan dan menyebabkan kematian pada kelompok yang sudah tua (Atkinson dan van Riper, 1991). Hemosporidia disebarkan dari burung yang terinfeksi ke burung yang tidak terinfeksi melalui perantaran vektor serangga seperti beberapa jenis *biting flies*, nyamuk, *sand flies*, dan *louse flies* (Atkinson, 1993).

Saat ini, avian malaria atau malaria burung digunakan sebagai model untuk menyelidiki interaksi inang dan parasit, proses koevolusi, dan peran parasit dalam evolusi sejarah hidup inang. Satu spesies, *Plasmodium* spp. memainkan peranan yang sangat peniting sebagai suatu faktor pembatas dalam distribusi dan kelimpahan dari burung hutan di Hawaii. Parasit nya terdapat pada beberapa spesies burung akan tetapi paling umum menginfeksi *passerine birds* atau sejenis burung gereja. Nyamuk vektor malaria burung ini secara umum adalah *blood feeder* yang gemar untuk memindahkan parasit ini dari satu burung ke burung yang lain (LaPointe dkk., 2012).

Meskipun terdapat beberapa laporan mengenai gejala aku seperti anemia berat hingga kematian yang dialami oleh beberapa jenis burung dan juga infeksi patogenik oleh *Plasmodium*, akan tetapi pengaruh dari parasit darah ini pada ketahanan inang dan dinamika populasi inang pada spesies burung liar masih sulit dipahami. Pada

kasus ekstrim yang pernah terjadi, malaria burung menyebabkan mortalitas tinggi pada burung endemik Hawaii dan turut berperan dalam kepunahan, penurunan populasi, dan terbatasnya distribusi dari spesies-spesies burung Hawaii . Infeksi *Plasmodium* telah dilaporkan pada semua ordo burung kecuali Struthioniformes, Coliiformes, dan Trogoniformes, tapi hanya setengah dari semua spesies burung yang telah diperiksa. Diversitas terbesar dari *Plasmodium* ditemukan pada Galliformes, Columbiformes, dan Passeriformes. Nyamuk dari genus *Culex* dipercaya sebagai vektor paling umum penyebaran penyakit malaria burung ini (LaPointe dkk., 2012). Menurut Valkiunas (2005), burung yang telah terinfeksi malaria burung akan menunjukkan gejala anemia, lesu, kehilangan nafsu makan, bulu-bulu yang berdiri dan bahkan *hematocrits* yang turun sampai 50 %.

### **1. *Plasmodium* spp**

*Plasmodium* yang menginfeksi burung memiliki morfologi dan ciri-ciri perkembangan yang sama dengan parasit dari marga *Haemoproteus* dan *Leucocytozoon* perbedaannya hanya terletak pada adanya reproduksi aseksual di eritrosit yang beredar didalam darah (Atkinson dkk., 2008). *Plasmodium* disebarkan oleh nyamuk betina, umumnya dari marga *Culex* tersebar di seluruh daerah di dunia kecuali antartika, dan memiliki kisaran inang yang luas. Menurut LaPointe dkk., (2012), *P. relictum* adalah salah satu parasit dengan *range* inang paling luas, yakni lebih dari 400 spesies dalam 70 famili burung yang berbeda.

Daur hidup *plasmodium* diketahui dari percobaan yang dilakukan oleh Clay Haff dan kawan-kawan ketika menginfeksi *Plasmodium gallinaceum* pada ayam dan

beberapa burung (Atkinson dkk., 2008). Daur ini dimulai ketika infeksi *sporozoites* diinokulasi oleh vektor nyamuk ke inang yang rentan (Huff dan Coulston, 1944). *Sporozoites* kemudian menyerang makrofag dan fibroblast burung, menjalani generasi awal dari reproduksi aseksual sebagai *cryptozoites*. *Cryptozoites* menjadi dewasa dalam waktu kira-kira 36-48 jam dan melepaskan ovoid *merozoites* yang menyerang sel-sel limfoid sistem makrofag di otak, getah bening, ginjal, paru-paru, dan jaringan hati untuk memulai generasi kedua dari merogoni yaitu sebagai *metacryptozoites* (Valkiunas, 2005).

*Metacryptozoites* dewasa melepaskan *merozoites* yang mampu menyerang eritrosit yang beredar dalam darah dan sel-sel endothelium kapiler organ-organ utama tubuh. *Metacryptozoites* yang pertama dari merogon menjalani tahap infeksi preeritrositik. *Merozoites* yang terus sampai generasi ketiga dari merogoni di jaringan tetap inang disebut *phanerozoites*. Segera sesudah menyerang sel-sel endothelium kapiler dan memulai reproduksi aseksual, merogoni berubah menjadi meron eksoeritrositik (Valkiunas, 2005).

Menurut Valkiunas (2005), merozoit yang terlepas dari meron eksoeritrositik dapat menyerang eritrosit yang beredar dalam darah atau menyerang kembali sel-sel endothelium untuk melanjutkan generasi tambahan merogony di dalam jaringan tetap. *Merozoites* yang menyerang eritrosit kemudian menjadi merogoni dan berkembang selama 24-48 jam menjadi meronts dewasa yang mengandung 8-22 ovoid *merozoites* atau gametosit yang bersifat infeksius terhadap vektor nyamuk. Semua anggota dari

marga *Plasmodium* membentuk granula berwarna coklat keemasan atau pigmen hitam pada hemoglobin inang yang diserang.

## **2. *Haemoproteus* spp**

*Haemoproteus* tersebar luas pada daerah beriklim sedang dan tropis (Valkiunas, 2005). Luasnya penyebaran *Haemoproteus* kemungkinan besar disebabkan oleh kemampuan vektor nya yaitu dari ordo diptera dan hippoboscidae untuk dapat hidup pada habitat yang berbeda-beda (Grenier dkk., 1975).

Daur hidup *Haemoproteus* terdiri dari reproduksi seksual dan aseksual di dalam vektor dan reproduksi aseksual pada burung inang daur seksual terjadi ketika darah yang mengandung parasit yang telah matang secara seksual yakni makrogamet betina dan mikrogamet jantan terambil oleh vektor dari inang yang telah terinfeksi. *Sporozoites* terinjeksi ke dalam sirkulasi darah burung oleh vektor selama proses makan, mengawali perkembangan dari meron eksoeritrositik (Valkiunas, 2005).

Lebih dari 130 spesies *Haemoproteus* dilaporkan telah menginfeksi 72 suku burung (Valkiunas, 2005). *Haemoproteus* dilaporkan tidak banyak ditemukan di burung berbangsa primitif, tapi sangat umum dijumpai pada Passeriformes. Beberapa perbedaan ini secara jelas berhubungan dengan kelimpahan dan distribusi vektor. Prevalensinya rendah pada burung laut da burung pantai.

## **3. *Leucocytozoon* spp**

*Leucocytozoon* spp adalah salah satu penyebab malaria burung yang berasal dari filum Apicomplexa. Dalam perkembangannya, Leucocytozoonosis telah tersebar di Indonesia yang umumnya oleh *L. caulleryi* dan *L. sabrazezi*. Dalam stadium

skizogoni, sporozoit akan masuk kedalam aliran darah melalui gigitan *Culicoides*. Skizon menjadi dewasa dan pecah dan mengeluarkan merozoit. Merozoit kemudian akan masuk ke aliran darah dan berkembang menjadi gametosit selama 48 jam untuk pematangannya.

#### **D. Metode deteksi malaria burung**

Beberapa metode untuk mendiagnosis parasit malaria pada burung telah tersedia. Metode mikroskopis, yang paling awal dikembangkan, berdasarkan pada pengamatan morfologis parasit dalam darah. Metode ini banyak digunakan, namun kurang baik untuk mendeteksi keberadaan parasit dengan intensitas yang rendah. Selain itu metode ini memerlukan pengamat yang terlatih. Menurut Atkinson (2005), diagnosis parasit malaria burung dapat dilakukan secara langsung dan tidak langsung, yakni dengan mengidentifikasi parasit malaria burung dalam darah menggunakan mikroskop (metode langsung) atau dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Diagnosis secara tidak langsung dilakukan dengan mengidentifikasi keberadaan antibodi di dalam tubuh burung menggunakan metode *Enzyme Linked Immunosorbant Assay* (ELISA) atau *Western Blotting*.

Metode mikroskopik melalui pewarnaan darah dan metode PCR umum digunakan untuk diagnosis parasit malaria burung. Penggunaan metode mikroskopik dalam diagnosis parasit malaria burung dinilai kurang memberikan hasil yang maksimal karena metode ini sangat sulit untuk mendeteksi keberadaan parasit dengan intensitas yang rendah. Sedangkan metode PCR dinilai lebih sensitif karena hanya



mengamplifikasi bagian spesifik DNA parasit, namun demikian untuk memastikan jenis parasit perlu dilakukan sekuensing DNA (Atkinson dkk., 2001).

Metode lain yang digunakan di dalam penelitian mengenai malaria burung adalah metode LAMP atau *Loop-Mediated Isothermal Amplification*. Yuda (2014) melakukan deteksi malaria burung pada Elang Jawa (*Nisaetus bartelsi*), Elang (*Nisaetus cirrhatus*), dan Alap-alap tutul (*Falco moluccensis*) dengan sampel positif dari burung Berkik Ekor Lidi (*Gallinago stenura*). Suhu inkubasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 60°C selama 60 menit. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa teknik LAMP belum cukup andal dan mantap atau dengan kata lain masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk optimasi metode LAMP ini.

### **1. Polymerase Chain Reaction (PCR)**

Menurut Yuwono (2006), PCR adalah suatu metode enzimatik untuk melipatgandakan secara eksponensial suatu sekuens nukleotida tertentu dengan cara *in vitro*. Metode ini juga sering digunakan untuk memisahkan gen-gen berkopi tunggal dari sekelompok sekuens gen. Metode PCR sangat sensitif, sehingga dapat digunakan untuk melipatgandakan suatu molekul DNA spesifik.

Empat komponen utama pada proses PCR adalah (1) DNA cetakan, yaitu fragmen DNA yang akan dilipatgandakan, (2) oligonukleotida primer, yaitu sekuens oligonukleotida pendek (25 basa nukleotida) yang digunakan untuk mengawali sintesis rantai DNA, (3) deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP), terdiri atas dATP, dCTP, dGTP, dTTP, dan (4) enzim DNA polymerase, yaitu enzim yang mengkatalis reaksi rantai DNA. Komponen penting lain adalah senyawa *buffer* (Yuwono, 2006).

## 2. *Nested* PCR

*Nested* PCR sebagai salah satu metode molekuler memungkinkan penyaringan spesies *Leucocytozoon* dengan spesies *Haemoproteus* dan *Plasmodium* pada sampel darah unggas, sebagai tiga genus spesifik penyebab malaria burung. *Nested* PCR terdiri atas dua langkah yakni amplifikasi fragmen DNA sitokrom *b* dari tiga genus tersebut. Setelah itu mengamplifikasi hasil PCR langkah pertama dengan primer yang lebih spesifik. Langkah amplifikasi pertama dalam *nested polymerase chain reaction* menggunakan pasangan primer HaemNFI (5' -CATATATTAAGAGAAITATGGAG 3') dan primer HaemNR3 (5' -ATAGAAAGATAAGAAATACCATTC-3') untuk mengamplifikasi parasit mtDNA dari spesies *Haemoproteus*, *Plasmodium*, dan *Leucocytozoon*. Langkah kedua terdiri atas dua PCR yang terpisah, yakni yang pertama dengan primer HaemF dan HaemR2 untuk mendeteksi *Haemoproteus* spp. dan *Plasmodium* spp. dan yang kedua dengan primer HaemFL (5' -ATGGTGTTTT AGATACTTACATT-3') dan HaemR2L (5' -CATTATCTGGATGAGATAATG GIGC-3') untuk *Leucocytozoon* spp. (Hellgren dkk., (2004).

Kondisi kedua reaksi sama seperti pada PCR tahap pertama, perbedaannya ada pada jumlah siklusnya. Pasangan primer pertama mengamplifikasi fragmen DNA dengan cara kerja yang mirip dengan PCR pada umumnya sedangkan pasangan primer kedua atau *nested* primer akan mengamplifikasi fragmen DNA dari produk PCR pertama sehingga hasil fragmen yang diperoleh lebih pendek dari yang pertama (Anonim, 2009). Kelebihan metode ini adalah jika terdapat fragmen yang salah teramplifikasi maka kemungkinan bagian tersebut diamplifikasi untuk kedua kalinya

oleh primer kedua sangat rendah, oleh karena itu *nested* PCR lebih spesifik dalam melakukan amplifikasi.

Beberapa contoh aplikasi penelitian malaria burung menggunakan metode ini adalah penelitian untuk mendeteksi sporozoit parasit Hemosporidian di peripheral darah burung liar (Valkiunas dkk., 2005). Penelitian berikutnya adalah penelitian tentang ancaman potensial malaria burung terhadap penguin Galapagos (*Spheniscus mendiculus*) (Miler dkk., 2001).