

SKRIPSI

**PERBEDAAN TITER ANTIBODI VIRUS *AVIAN INFLUENZA H5*
PADA BABI DENGAN UJI HEMAGLUTINASI INHIBISI
(UJI HI) MENGGUNAKAN ERITROSIT BABI**



Oleh :

NOVIANA FITRIA GUSMAN
NIM 060533558

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2008**

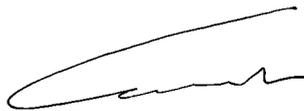
**PERBEDAAN SENSITIVITAS TITER ANTIBODI VIRUS
AVIAN INFLUENZA H5 PADA BABI DENGAN
UJI HEMAGLUTINASI INHIBISI (UJI HI)
MENGUNAKAN ERITROSIT BABI**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
pada
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

Noviana Fitria Gusman
NIM 060533558

Menyetujui,
Komisi Pembimbing



(Sri Chusniati, MKes., Drh)
Pembimbing Pertama



(Dr. Bambang Poernomo S. MS., Drh)
Pembimbing Kedua

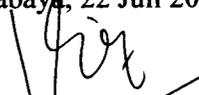
PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

PERBEDAAN TITER ANTIBODI VIRUS AVIAN INFLUENZA H5 PADA BABI DENGAN UJI HEMAGLUTINASI INHIBISI (Uji HI) MENGGUNAKAN ERITROSIT BABI

tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 22 Juli 2008



Noviana Fitria Gusman
NIM. 060533558

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 7 Juli 2008

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua : Dr. Chairul Anwar Nidom MS., Drh

Sekretaris : Jola Rahmani Mkes., Drh.

Anggota : Dr. Mustafa Helmi Effendi DTAPH., Drh

Pembimbing I : Sri Chusniati Mkes., Drh.

Pembimbing II : Dr. Bambang Poernomo S. MS., Drh.

Telah diuji pada

Tanggal : 14 Juli 2008

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

ua

: Dr. Chairul Anwar Nidom MS., Drh.

ngota

: Jola Rahmani Mkes., Drh.

Dr. Mustafa Helmi Effendi DTAPH., Drh.

Sri Chusniati Mkes., Drh.

Dr. Bambang Poernomo S. MS., Drh.

Surabaya, 22 Juli 2008



Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga
Dekan,

Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph.D., drh.

NIP. 130 687 305

**COMPARISON TITER ANTIBODY AVIAN INFLUENZA H5 VIRUSES
ON PIGS BY HAEMAGLUTINATION INHIBITION TEST (HI TEST)
WITH PIG ERYTHROCYTE**

Noviana Fitria Gusman

ABSTRACT

Avian influenza is a viral disease caused by type A influenza virus, it belongs to the virus family *Orthomyxoviridae*. HI test can be used for detecting virus which have haemagglutinin such as Avian Influenza virus. So far there are not any literature mention about the concentration of pig erythrocyte. The aim of this research was to find out and to compare titer antibody to Avian Influenza viruses on pigs with different pig erythrocyte concentration (0,5% and 0,75%).

HI test were done with 18 samples of pigs sera. Samples for HI test were isolated from sera of pigs that have been added RDE (Receptor Destroying Enzyme) (3:1). Positive result show if the titer reach 2^3 ($\log_2 3$) or more. On this HI test result from 0,5% erythrocyte concentration were shown at 12 samples and at all samples from 0,75% erythrocyte concentration.

The avarage of Avian Influenza viruses antibody titer on pigs using 0,5% and 0,75% erythrocyte concentration is 3,67:6,11. The conclusion from this research was that 0,75% pig erythrocyte more respon to Avian Influenza viruses of pigs.

Key words: Avian Influenza, antibody, erythrocyte, pigs

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penelitian dan penyusunan skripsi dengan judul **“Perbedaan Titer Antibodi Virus *Avian Influenza* H5 Pada Babi Dengan Uji Hemaglutinasi Inhibisi (uji HI) Menggunakan Eritrosit Babi”** selesai pada waktunya.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terimakasih kepada:

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Hj. Romziah Sidik, PhD., Drh. Atas kesempatan yang telah diberikan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Ibu Sri Chusniati, MKes., Drh., selaku bimbingan pertama dan Dr. Bambang Poernomo S, MS., Drh., selaku pembimbing kedua atas segala saran dan bimbingannya sampai dengan selesainya skripsi ini.

Dr. Chairul Anwar Nidom, MS., Drh., selaku kepala Laboratorium *Avian Influenza* Tropical Disease Center Universitas Airlangga yang telah membimbing penulis selama proses penelitian berlangsung.

Seluruh staf pengajar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Seluruh staf Laboratorium *Avian Influenza* Tropical Disease Center Universitas Airlangga atas saran, bimbingan dan bantuan tehnik dalam proses penelitian ini.

Kepada Ayah Agus Supratman (Alm), mama, papa, serta adik Yogi dan Cindy tercinta yang selalu memberikan do'a, kasih sayang, dan dukungan yang tiada henti selama ini. Serta keluarga besar di Cianjur dan Jambi atas semua do'anya.

Kepada mas Fu`ad yang selalu dengan setia dan sabar mendampingi serta memberi support selama ini.

Terakhir tetapi bukan yang terkecil kepada semua saudara, sahabat dan teman yang tidak dapat disebut satu persatu atas partisipasinya dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Penyusun menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan, sehingga memerlukan perbaikan dan penyempurnaan. Untuk itu penyusun mengharapkan saran dan kritik dari para pembaca demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Surabaya, 09 Juli 2008

Penyusun,

Noviana Fitria Gusman

DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAN	ii
ABSTRAK	v
UCAPAN TERIMAKASIH	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Manfaat Penelitian	3
1.5. Hipotesis	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Virus <i>Avian Influenza</i>	4
2.1.1 Etiologi Dan Morfologi	4
2.1.2 Sifat Virus <i>Avian Influenza</i>	6
2.1.3 Sumber dan Cara Penularan	7
2.1.4 Patogenesis.....	9
2.1.5 Gejala klinis	10
2.1.6 Diagnosis dan Diagnosis Banding.....	11
2.1.7 Pencegahan dan Pengendalian... ..	12
2.2. Tinjauan Tentang Babi.....	12
2.3. <i>Avian Influenza</i> Pada Babi	14
2.4. Sel Darah Merah Babi	15
2.5. Sel Darah Merah Marmut.....	16
2.6. <i>Haemagglutinin Inhibition Test</i> (Uji HI)	16
BAB 3 MATERI DAN METODE	18
3.1. Jenis Penelitian	18
3.2. Waktu dan Tempat Penelitian	18

3.3. Alat dan Bahan	18
3.4. Metode Penelitian	19
3.4.1. Teknik Pengambilan Sampel	19
3.3.2. Preparasi Sampel di Laboratorium	19
3.5. Pemeriksaan Sampel	19
3.5.1 Pembuatan Suspensi Eritrosit Babi 0,5% dan Eritrosit Babi 0,75%	19
3.5.2 Uji Hambatan Hemaglutinasi (HI) Mikroteknik.....	21
BAB 4 HASIL PENELITIAN	23
BAB 5 PEMBAHASAN	25
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	28
6.1 Kesimpulan	28
6.2 Saran	28
RINGKASAN	29
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN	35

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1. Data hasil titer antibodi pada uji HI dengan eritrosit babi 0,5% dan 0,75%.....	25

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1.1. Virus <i>Avian Influenza</i>	6
2.1.3. Spesies yang dapat terinfeksi oleh virus <i>Avian Influenza</i>	9
2.1.5. Ayam yang terinfeksi virus <i>Avian Influenza</i>	12
2.2. Babi	14

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data hasil titer antibodi pada uji HI dengan eritrosit marmut 0,75%.....	35
2. Hasil uji Non Parametik	36
3. Gambar alat dan bahan penelitian	37
4. Skema Uji HA Mikroteknik	40
5. Skema Uji HI Mikroteknik	41
6. Gambar hasil penelitian retitrasi antigen dengan uji HI	42

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

AI	= <i>Avian Influenza</i>
EDTA	= <i>Ethylen Diamine Tetraacetic Acid</i>
HA	= <i>Haemagglutination/</i> hemaglutinasi
HI	= <i>Haemagglutination Inhibition/</i> hemaglutinasi inhibisi
M	= Matriks
NA	= Neuraminidase
NP	= <i>Nucleoprotein</i>
NS	= <i>Non Structural</i>
PA	= <i>Polymerase Acid</i>
PB	= <i>Polymerase Basic</i>
PBS	= <i>Phospat Salline Buffer</i>
PCR	= <i>Polymerase Chain Reaction</i>
RDE	= <i>Receptor Destroying Enzime</i>

BAB I
PENDAHULUAN

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Avian Influenza atau flu burung adalah suatu penyakit menular yang disebabkan oleh virus *Influenza* tipe A yang menyerang hewan terutama unggas, babi, kuda, kucing, manusia dan hewan mamalia lainnya. (Kristina dkk., 2004). Penyakit *Avian Influenza* pertama kali ditemukan oleh Perroncito pada tahun 1878 di Italia (Akoso, 2006). Reservoir alami virus *Avian Influenza*, yaitu burung-burung liar. Infeksi yang terjadi biasanya berlangsung tanpa gejala (asimtomatik) karena virus *Influenza* A berpatogenisitas rendah dan hidup bersama secara seimbang dengan reservoirnya (Webster *et al.*,1992).

Mengingat banyaknya wabah H5N1 yang terjadi di Asia dan kemampuan virus *Avian Influenza* menginfeksi spesies lain, tidak dapat dihindarkan lagi bahwa virus *Avian Influenza* H5 dapat dideteksi pada babi. Babi merupakan bagian yang penting dalam ekologi virus *Influenza* karena babi sangat peka terhadap virus *Avian Influenza* maupun virus *Influenza* yang berasal dari manusia. *Influenza* pada babi diamati pertama kali pada tahun 1918 di Amerika Serikat, Hungaria dan China. Kasus tersebut bersamaan dengan terjadinya pandemik virus *Influenza* pada manusia, dan menyebabkan terjadinya kematian lebih dari 20 juta manusia diseluruh dunia. Pengamatan yang dilakukan menyimpulkan bahwa telah terdapat persamaan etiologi antara virus *Influenza* pada babi dengan virus *Influenza* pada manusia. Berdasarkan uji serologis secara retrospektif penyakit *Influenza* pada babi memiliki hubungan yang erat dengan virus yang menyebabkan *Influenza* pada manusia. Agen yang menyebabkan *Influenza* pada

babi adalah virus *Influenza* H1N1 yang telah ada sejak dahulu (Brown, 2005). Studi pengamatan terhadap gen hemagglutinin (HA) virus *Influenza* pada manusia menunjukkan kemungkinan penyebaran dari manusia ke babi maupun sebaliknya dapat terjadi.

Babi merupakan hewan yang unik karena pada sel epitelnya ditemukan kedua jenis reseptor, yakni *glycans* dengan terminal alpha 2, 3 *sialic acid* dan alpha 2, 6 *sialic acid*. Ini berarti bahwa babi dapat tertular oleh virus *Avian Influenza* dan virus *Human Influenza* sekaligus. Meskipun babi dapat tertular virus *Avian Influenza*, gejala klinis yang ditimbulkan relatif ringan bahkan sering tidak terlihat (subklinis). Itulah sebabnya tidak ada berita kematian babi oleh virus *Avian Influenza* meskipun telah ada yang berhasil menemukan virus H5N1 pada babi (Soeharsono, 2005). Berdasarkan uraian diatas, maka diperlukan penelitian lebih lanjut untuk memberikan penjelasan ilmiah mengenai peranan babi sebagai sumber dan perantara yang terkait dalam mata rantai penularan infeksi virus *Avian Influenza* H5N1 terhadap manusia dan hewan.

Pengukuran titer antibodi pada tubuh babi yang diambil dari Rumah Potong Hewan Surabaya (RPH) menggunakan uji hemagglutinasin inhibisi tes (HI). Sejauh ini belum ada sumber yang menyebutkan seberapa besar konsentrasi yang harus digunakan untuk eritrosit babi dalam uji HI, namun pada penelitian ini digunakan eritrosit babi 0,5% dan 0,75%.

Penggunaan eritrosit 0,5% berdasarkan penelitian yang telah ada. Pada uji HI yang menggunakan eritrosit unggas, digunakan konsentrasi 0,5% dan penggunaan eritrosit 0,75% berdasarkan standar WHO tahun 2002 yang menyatakan bahwa standar penggunaan eritrosit mamalia adalah 0,75%.

1.2 Rumusan Masalah

“Apakah terdapat perbedaan titer antibodi terhadap virus *Avian Influenza* pada babi dengan menggunakan sel darah babi 0,5% dan 0,75% pada uji hemaglutinasi inhibisi (uji HI) ?”.

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui dan membandingkan titer antibodi terhadap virus *Avian Influenza* H5 pada babi dengan uji HI menggunakan konsentrasi sel darah merah babi yang berbeda (0,5% dan 0,75%).

1.4 Manfaat Penelitian

Dapat digunakan sebagai landasan untuk melakukan penelitian terutama uji hemaglutinasi inhibisi (uji HI) yang menggunakan eritrosit babi.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Virus Avian Influenza

2.1.1 Etiologi dan Morfologi

Penyakit *Avian Influenza* pertama kali ditemukan oleh Perroncito pada tahun 1878 di Italia. Pada tahun 1880, Rivolto dan Delprato menyebutnya sebagai *fowl plaque* dan mereka menggunakan istilah *thypus exudatious gallinarum*, yang dalam perkembangannya sekarang disebut sebagai *Highly Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) atau dikenal juga sebagai penyakit flu burung (Akoso, 2006). Selain unggas, virus *Influenza* juga dapat menginfeksi beberapa spesies mamalia dan manusia (WHO, 2005; Nidom, 2005).

Penyakit *Avian Influenza* disebabkan oleh virus *Influenza A* (virus RNA) yang termasuk family *orthomixoviridae* dan mempunyai aktifitas *Hemagglutinin* dan *Neuraminidase*. Virus *Influenza* terdiri dari tiga tipe *antigenic* yang berbeda yaitu tipe A, tipe B dan tipe C. Setiap tipe dari virus *Influenza* ditentukan oleh struktur *antigenic nucleoprotein* (NP) dan *matriks* (M) antigen yang saling berhubungan erat diantara virus *Influenza* tertentu (Tabbu, 2000; Harimoto dan Kawaoka, 2001). Virus *Influenza* tipe A ditemukan pada ayam, babi, kalkun, bebek, mentok, angsa, burung dan ikan paus. Virus *Influenza* tipe B ditemukan pada manusia dan babi (Nidom, 2005).

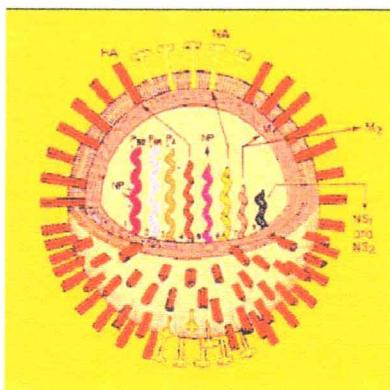
Virus *Influenza* tipe A dapat berubah-ubah bentuk (*Antigen Drift* dan *Antigen Shift*), dan dapat menyebabkan epidemi dan pandemi (Horimoto dan Kawaoka, 2001; Nidom, 2005). Virus *Influenza* mengalami mutasi secara terus menerus pada antigennya. Mutasi ini dinamakan *antigenic drift*. Lebih dari itu

virus *Influenza* bisa melakukan perubahan pada protein, terutama protein H dan N, sehingga melahirkan virus sub tipe baru yang dinamakan *antigenic shift*. Baik *antigenic drift* maupun *antigenic shift* ini melahirkan virus dengan karakter baru, sehingga bisa menginfeksi berbagai makhluk hidup (Ferguson *et al.*, 2003).

Virus *Influenza* merupakan virus RNA rangkaian tunggal dan *negative-stranded* (Tabbu, 2000; Akoso, 2005). Tipe virus *Influenza* A dan B mempunyai delapan macam fragmen gen yang dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu gen eksternal dan gen internal. Gen eksternal terdiri dari gen *hemagglutinin* (H) dan gen *neuraminidase* (N) yang bersifat *antigenic* dan berfungsi dalam perlekatan pada hospes (Horimoto dan Kawaoka, 2001; Harder dan Werner, 2006). Gen internal terdiri dari gen *polymerase basic 2* (PB2), *polymerase basic 1* (PB1), *polymerase acid* (PA), *nucleoprotein* (NP), *matriks* (M) dan *non-structural* (NS). Gen internal ini berfungsi dalam replikasi dan transkripsi virus. Masing-masing fragmen menghasilkan satu macam protein, kecuali fragmen M dan fragmen NS, yaitu masing-masing menghasilkan dua macam protein, yaitu protein M1 dan M2 serta protein NS1 dan NS2 (Horimoto dan Kawaoka, 2001).

Berdasarkan struktur antigen permukaan atau gen eksternal, yaitu *hemagglutinin* (H) dan *neuraminidase* (N), maka virus *Influenza* A dikelompokkan menjadi banyak sub tipe. Sampai saat ini, virus *Influenza* tipe A dikelompokkan ke dalam 16 macam protein H (H1-H16) dan 9 macam protein N (N1-N9) (Horimoto dan Kawaoka, 2001). Pada kelompok-kelompok tersebut dilakukan analisis filogenetik terhadap nukleotida dan penetapan urutan (*sequence*) gen-gen H dan N melalui cara dedukasi asam amino (WHO, 2005; Fouchier *et al.*, 2005).

Virus *Influenza* tipe B dan C dapat diisolasi dari manusia dan sifatnya kurang patogen (*low pathogenic*) dibandingkan dengan virus *Influenza* tipe A. Perbedaan virus *Influenza* A dan B terdapat pada protein permukaan yang berfungsi sebagai saluran ion. Virus *Influenza* C mempunyai tujuh macam gen dan hanya mempunyai satu macam *glikoprotein* yaitu *Haemagglutinin-esterase-fusion* (HEF) yang berfungsi seperti protein *haemagglutinin* (H) dan *neuraminidase* (N) pada tipe virus yang lain.



Gambar 2.1.1 Virus *Avian Influenza* (Dikutip dari Webster, 1992)

2.1.2 Sifat Virus *Avian Influenza*

Virus *Avian Influenza* masih tetap infeksius dalam feses selama 30-35 hari pada suhu 4°C dan selama 7 hari pada suhu 20°C. Virus ini dapat bertahan lama di lingkungan terutama pada kondisi lembab dan dingin. Virus *Influenza* yang bersifat infeksius dapat diisolasi dari cairan kotoran ayam selama 105 hari setelah depopulasi ayam pada saat terjadinya wabah *Avian Influenza* (Rahardjo dan Nidom, 2004). Virus *Avian Influenza* dapat bertahan lama pada jaringan hewan, feses dan air (Treanor, 2004).

Virus *Avian Influenza* bersifat inaktif pada suhu 56°C selama 3 jam atau pada suhu 60°C selama 3 menit, pH asam, bahan kimia (oksidator, *sodium*

deodecyl sulphate, *Lipid solven*, *B propiolakton*), desinfektan (formalin dan senyawa iodium) (Rahardjo dan Nidom, 2004; Treanor, 2004). Virus ini mempunyai *envelope* sehingga relatif peka terhadap inaktivasi oleh *solven lipid*, misalnya deterjen. Infektivitas virus ini juga dirusak dengan cepat oleh formalin, *beta-propiolakton*, agen yang bersifat oksidan, asam encer, eter, *Na-dioksilonat*, hidroksilamin, *Na-dodesilsulfat* dan ion-ion ammonium. Virus ini inaktif oleh faktor-faktor lingkungan seperti panas, pH yang terlalu tinggi, kondisi non isotonik dan kekeringan (Tabbu, 2000). Virus *Avian Influenza* bersifat sangat mudah mutasi, terutama pada H dan N. hal ini disebabkan virus tersebut mempunyai kemampuan untuk melakukan *genetic drift* dan *genetic shift*, sehingga membentuk varian-varian baru yang lebih pathogen yang tidak dikenal oleh sistem kekebalan tubuh yang ada (Radji, 2006).

2.1.3 Sumber dan Cara Penularan

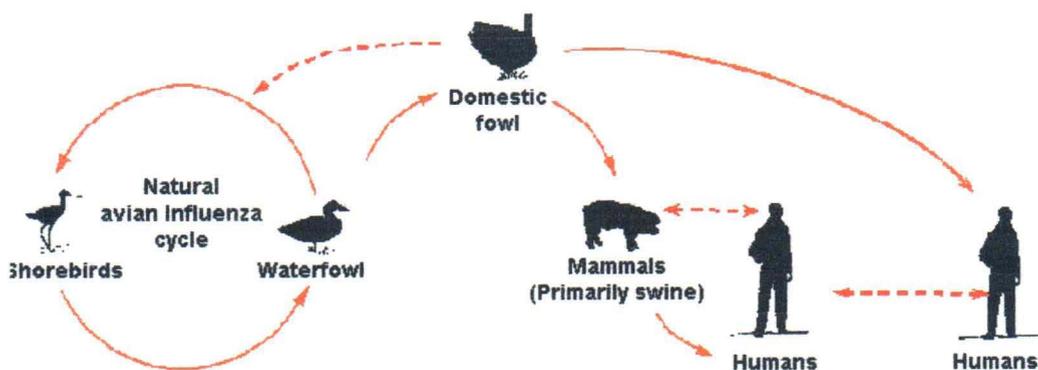
Unggas air merupakan *reservoir* virus *Avian Influenza*, virus ini dapat bersembunyi di saluran pernafasan dan saluran pencernaan. Virus *Avian Influenza* menyebar ke unggas lain yang peka melalui udara atau inhalasi, kemudian masuk ke hidung dan saluran pernafasan, juga karena adanya kontak dengan feses yang terinfeksi (Rahardjo dan Nidom, 2004). *Avian Influenza* dapat bereplikasi pada saluran pencernaan dan mengekskresikan virus tersebut dengan titer tinggi dalam feses (Hariomoto dan Kawaoka, 2001).

Resiko penularan dari burung liar ke unggas peliharaan terjadi terutama jika unggas dibiarkan bebas menggunakan air yang juga digunakan oleh burung liar atau makan dan minum dari sumber yang tercemar feses burung liar pembawa

virus (Shortridge *et al.*, 1998). Pasar unggas yang menjual unggas dalam jumlah besar dan unggas ditempatkan saling berdesakan merupakan multiplikator penyebaran penularan (Capua *et al.*, 2003; Henzler *et al.*, 2003).

Penularan atau transmisi virus *Influenza* secara umum dapat terjadi melalui inhalasi, kontak langsung ataupun kontak tidak langsung (Radji, 2006). Menurut Nadesui (2005), penularan melalui inhalasi dapat terjadi apabila manusia menghirup udara yang mengandung virus ke dalam saluran pernafasan. Selain itu, virus flu burung dapat ditularkan melalui kontak langsung dari unggas yang terinfeksi dengan unggas yang peka. Unggas yang terinfeksi mengeluarkan cairan yang berasal dari hidung, mulut, mata (konjungtiva) dan kloaka (feses). Penularan juga dapat secara tidak langsung melalui pekerja kandang, alat transportasi yang tercemar virus *Avian Influenza* (Dirjenak, 2007).

Babi banyak dipelihara oleh manusia, babi dapat terinfeksi virus *Avian Influenza* dari unggas peliharaan melalui kontak langsung, kontaminasi pakan dan minum, dan kontaminasi lingkungan.



Gambar 2.1.3. Spesies yang dapat terinfeksi oleh virus *Avian Influenza* (Dikutip dari USGS, 2007)

2.1.4 Patogenesis

Mutasi genetik virus *Avian Influenza* seringkali terjadi sesuai dengan kondisi lingkungan replikasinya. Mutasi gen ini tidak hanya untuk mempertahankan diri tetapi digunakan untuk meningkatkan sifat patogenitasnya.

Infeksi virus H5N1 dimulai ketika virus memasuki sel hospes setelah terjadi penempelan *spikes* virion dengan reseptor spesifik yang ada di permukaan sel hospesnya. Virion akan masuk ke sitoplasma sel dan akan mengintegrasikan materi genetiknya di dalam inti sel hospesnya, kemudian virus dapat bereplikasi membentuk virion-virion baru dan virion-virion ini dapat menginfeksi kembali sel-sel disekitarnya. Virus *Avian Influenza* H5N1 dapat bereplikasi di dalam nasofaring dan di dalam gastrointestinal. Virus ini juga dapat dideteksi di dalam darah, cairan serebrospinal dan feses.

Fase penempelan (*attachment*) adalah fase yang paling menentukan apakah virus dapat masuk atau tidak ke dalam sel hospesnya untuk melanjutkan replikasinya. Virus *Influenza A* melalui *spikes hemagglutinin* (H) akan berikatan dengan reseptor yang mengandung *sialic acid* (SA) yang ada pada permukaan sel hospesnya.

Terdapat perbedaan penting antara molekul reseptor yang ada pada manusia dengan molekul reseptor yang ada pada unggas atau hewan lain. Virus *Avian Influenza* dapat mengenali dan terikat pada reseptor yang hanya terdapat pada jenis unggas yang terdiri dari oligosakarida yang mengandung *N-acetylneuraminic acid α -2,3 galactase* (SA α -2,3-Gal) sedangkan reseptor yang ada pada permukaan sel manusia adalah *SA α -2,6 galactose* (SA α -2,6-Gal) (Radji, 2006).

Kerusakan yang disebabkan oleh virus *Avian Influenza* ini berasal dari satu dari tiga proses berikut (1) proses replikasi virus secara langsung dalam sel, jaringan dan organ, (2) efek secara tidak langsung dari mediator seluler seperti *cytokines*, (3) *ischemia* (suplai darah tidak mencukupi) akibat adanya bekuan darah (*thrombus*) dalam jantung dan pembuluh darah (Rahardjo dan Nidom, 2004).

2.1.5 Gejala Klinis

Masa inkubasi virus *Avian Influenza* bervariasi antara 2-21 hari. Kematian dapat terjadi antara 12 jam dari tanda awal dan sering terjadi 48 jam atau dapat sampai 1 minggu (Akoso, 2006). Masa inkubasi tergantung pada dosis virus, rute kontak dan spesies unggas yang terserang (Tabbu, 2000).

Gejala penyakit sangat bervariasi dan tergantung pada spesies yang terinfeksi, galur (*strain*) virus dan faktor lingkungan (Tabbu, 2000). Virus *Avian Influenza* menimbulkan gejala atau sindrom yang bervariasi pada bangsa burung, mulai dari *asymptomatic*, infeksi ringan pada saluran pernafasan, produksi telur menurun sampai penyakit sistemik parah yang fatal (Hariomoto dan Kawaoka, 2001). Virus *Avian Influenza* tipe A yang menyerang unggas dapat digolongkan dalam dua bentuk berbeda berdasarkan dampak patogenitasnya terhadap unggas yang terserang serta kemampuannya menyebabkan sakit, yaitu bentuk akut (*Highly Pathogenic Avian Influenza*, HPAI) dan bentuk ringan (*Lower Pathogenic Avian Influenza*, LPAI) (Akoso, 2006).

Gejala yang tampak pada unggas yang terinfeksi HPAI adalah penurunan produksi telur, gejala respirasi, lakrimasi yang berlebihan, sinusitis, *cyanosis* pada

kulit yang tidak berbulu khususnya pada jengger dan pial, oedema pada kepala dan muka, bulu berdiri, diare, dan gangguan sistemik saraf. Kadang-kadang burung akan mati tanpa menunjukkan gejala penyakit (Horimoto dan Kawaoka, 2001). Virus HPAI tertentu dapat menyebabkan penyakit yang pathogen pada satu spesies unggas tertentu tetapi tidak pada spesies yang lain. Misalnya, pada pasar unggas hidup di Hongkong sebelum terjadi pemusnahan di tahun 1997, 20% dari ayam terinfeksi, tetapi hanya 2,5% bebek dan angsa yang terinfeksi HPAIV H5N1 sedangkan spesies ayam yang lain, betet dan kakatua tidak dijumpai adanya virus pada pemeriksaan dan ayam yang menunjukkan gejala-gejala klinis (Shortridge *et al.*, 1998).

Bentuk ringan atau LPAI pada unggas akan terlihat adanya penurunan produksi telur atau produksi telur berhenti, gangguan pernafasan, anoreksia, depresi sinusitis dan mortalitas yang rendah. Selain itu, infeksi akibat LPAI biasanya tidak menimbulkan gejala klinis, ovarium mengecil, terjadi pembengkakan ginjal dan pengendapan asam urat (Tabbu, 2000).



Gambar 2.1.5. Ayam yang terinfeksi virus *Avian Influenza*
(Dikutip dari Direktorat Jendral Peternakan, 2007)

2.1.6 Diagnosis dan Diagnosis Banding

Sehubungan dengan adanya gejala klinis dan perubahan patologis yang bervariasi, maka diagnosis difinitif hanya didasarkan atas isolasi dan identifikasi

virus. Diagnosis dugaan dapat didasarkan atas riwayat kasus, gejala klinis, perubahan patologis dan tidak adanya penyakit pernafasan yang lain (Tabbu, 2000).

Penyakit yang mirip dengan *Avian Influenza* adalah *New Castle Disease* (ND), *Infectious Bronchitis* (IB), *Infectious Laringotrachitis* (ILT), *Swollen Head Syndrom* (SHS), *avian Micoplasmosis* dan penyakit *bacterial* yang akut seperti *Cholera* dan *escherichia Coli* (Tabbu, 2000).

2.1.7 Pencegahan dan Pengendalian

Pengamanan biologis (*biosecurity*), merupakan hal yang penting dalam kontrol dan pencegahan penyakit (bentuk pertahanan yang paling depan) (Tabbu, 2000). Hal tersebut meliputi: a) Tata letak peternakan terisolasi untuk menghindari kontak dengan burung liar terutama unggas air; b) Unggas lain selain ayam komersial dicegah masuk lokasi kandang, terutama ayam dari daerah yang diketahui terkena wabah *Avian Influenza*; c) Memberikan desinfektan pada kandang dan peralatan secara tepat dan cermat; d) Pemeliharaan ayam satu umur dan satu jenis di satu lokasi peternakan pada waktu bersamaan.

2.2 Tinjauan Tentang Babi

Klasifikasi ilmiah: Regnum Animalia, Filum Chordata, Kelas Mamalia, Ordo Artiodactyla, Familia Suidae, Genus *Sus Linnaeus*, Spesies *Sus barbitus*, *Sus bucculentus*, *Sus cebifrons*, *Sus celebensis*, *Sus domesticus*, *Sus heureni*, *Sus Philipensis*, *Sus salvanius*, *Sus scrofa*, *Sus timoriensis*, *Sus verrucosus*

Babi termasuk hewan mamalia yang berbadan besar, mempunyai moncong yang fleksibel, berkaki dan ekor yang pendek. Babi mempunyai kulit yang tebal, tetapi sangat sensitif (MSN, 2008). Babi adalah omnivora, yang berarti memakan daging maupun tumbuh-tumbuhan seperti kacang – kacangan. Babi suka berkubang dalam lumpur yang basah untuk mendinginkan tubuh dalam cuaca yang panas dan melindungi dari gigitan serangga (Rouche *and* Systma, 2007).

Babi termasuk mamalia yang paling pintar, dan mudah bosan (Lumb, 2003). Sering digunakan sebagai hewan coba produk untuk manusia, karena mempunyai beberapa kesamaan pada organ digesti, urogenital, *cardiovaskuler* dan lainnya (Swindel *and* Smith, 2000).



Gambar 2.2. Babi
(Dikutip dari Wikipedia, 2008)

Masalah yang paling umum terjadi pada babi adalah stres. Stres bisa karena pengangkutan dan adaptasi dengan lingkungan yang baru. Ketika seekor babi stres, babi akan menjadi lebih peka terhadap penyakit, tidak nafsu makan dan pertumbuhan menjadi lambat. Beberapa penyakit yang sering menyerang babi adalah radang paru paru, *Influenza*, penyakit pseudo rabies, dan disentri babi. Babi juga mempunyai parasit alami, seperti kutu.

2.3 *Avian Influenza* Pada Babi

Pada beberapa kejadian, virus *Avian Influenza* sudah menular ke berbagai spesies mamalia seperti kucing, harimau dan juga babi . Babi dapat menjadi tempat pencampuran (“*mixing vessel*”) dan adaptasi virus *Avian Influenza* dengan virus *Human Influenza*. (Mahardika dkk., 2005)

Pada populasi babi di Eropa, virus H1N1 yang serupa dengan virus *Avian Influenza* sangat banyak dijumpai, subtipe lain yang juga berasal dari unggas (H1N7, H4N6) beberapa kali dijumpai pada babi (Brown *et al.*, 1997; Karasin *et al.*, 2000). Pada tahun 2004, sebanyak 3.000 sampel serum yang diambil dari babi yang bebas berkeliaran di Vietnam telah diuji secara serologik untuk mengetahui seberapa jauh mereka telah terpapar oleh virus *Influenza* H5N1 (Olsen *et al.*, 2002).

Dalam suatu percobaan infeksi, nampak bahwa babi dapat terinfeksi virus H5N1 yang diisolasi di Asia di tahun 2004 dari manusia dan unggas. Gejala yang muncul setelah diobservasi selama empat hari pasca infeksi hanyalah batuk ringan dan suhu badan yang sedikit meningkat. Selanjutnya virus dapat diisolasi dari jaringan saluran pernafasan selama paling sedikit enam hari. Titer virus tertinggi dari usap jaringan hidung dijumpai pada hari kedua pasca infeksi, tetapi tidak satupun dari hewan yang diinfeksi melalui percobaan ini yang menularkannya ke babi lain yang bersentuhan dengan mereka. Nampaknya virus H5N1 ganas yang beredar di Asia dapat secara alami menginfeksi babi tetapi insidensi penularan seperti itu agaknya masih rendah. Tidak satupun virus H5N1 dari unggas dan manusia dalam uji coba tersebut dapat menular di antara babi dalam kondisi eksperimental ini (Choi *et al.*, 2005).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Nidom pada tahun 2005 bahwa virus H5N1 berhasil ditemukan pada babi (Soeharsono, 2005). Dari hasil penelitian Badan Penelitian Veteriner (Balitvet) kota Tangerang pada 107 ekor babi yang berasal dari Kecamatan Legok dan Panongan, 5 ekor babi dinyatakan positif terinfeksi *Avian Influenza* (Joniansyah, 2005).

Pada tahun 2006, tim Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana menemukan bukti bahwa virus *Avian Influenza* menular pada babi di Bali. Penemuan virus *Avian Influenza* pada babi di Bali, berawal dari penelitian sejumlah mahasiswa yang mendiagnosis babi yang sakit pada bulan Mei-Juni. Dari penelitian tersebut, 20 babi yang didiagnosis, 2 di antaranya positif terinfeksi H5N1. Saat ini sedang dilakukan penelitian yang lebih luas tentang penularan virus *Avian Influenza* di Bali (Hasan, 2006). Pada tahun yang sama, berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan di *Laboratorium Avian Influenza Tropical Disease Center* Universitas Airlangga Surabaya dengan uji *Real Time Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan *Rapid Test* ditemukan 3 ekor babi positif terinfeksi virus *Avian Influenza* (Alamudi dkk., 2006).

2.4 Sel Darah Merah Babi

Morfologi luar dari sel darah merah yang sudah matang pada anjing, kucing, kuda dan mamalia yang lain termasuk babi pada umumnya adalah mirip, yaitu tidak adanya *nucleus* atau inti sel darah, bintik merah sampai merah *orange*. Pada umumnya sel berbentuk *biconcav discoidal*. Perbedaan terbesar yaitu pada ukuran sel darah merah dan derajat *central pallor* atau daerah pucat eritrosit. *Central pallor* adalah bentukan lebih terang atau pucat di tengah sel.

Urutan ukuran *central pallor* sel darah merah pada mamalia dari terbesar sampai yang terkecil yaitu anjing, kucing, kuda, sapi, babi, biri-biri dan domba. Eritrosit babi mempunyai ukuran dengan diameter 4 – 8 mikrometer, dan sangat peka terhadap hemolysis. Pada eritrosit babi nampak jelas adanya *crenation* (Schalms, 2000)

2.5 Sel Darah Merah Marmut

Pada eritrosit marmut, bentukan *rouleaux* terlihat jelas. *Rouleaux* adalah bentuk seperti susunan uang logam bertumpuk. Eritrosit marmut mempunyai ukuran yang lebih besar dari pada eritrosit babi dengan diameter 7,0 – 7,5 mikrometer (Schalms, 2000).

2.6 Hemagglutination Inhibition Test (uji HI)

Terbentuknya antibodi spesifik terhadap *hemagglutinin* virus dapat menghambat terjadinya *hemagglutinas*i. Reaksi penghambatan reaksi ini kemudian disebut uji hambatan *hemagglutinas*i (*Haemagglutination Inhibition Test*). Reaksi hambatan *hemagglutinas*i ini dapat membantu diagnosis laboratorium dalam melakukan identifikasi virus dan dapat menentukan status kekebalan setelah vaksinasi atau setelah sembuh dari penyakit dengan mengetahui titer antibodi dan antiserum. Uji HI selain bermanfaat untuk mengidentifikasi virus, juga dapat digunakan untuk mengetahui titer antibodi virus (Ernawati *et al.*, 2004).

Uji hambatan aglutinasi antigen kontrol yang positif dan antiserum yang sesuai seharusnya memberikan hasil yang tetap ketika dibandingkan dengan uji sebelumnya. Peningkatan titer 2^2 diantara keadaan akut dan serum pada keadaan

hampir sembuh dapat dianggap sebagai diagnosa positif untuk tipe *Influenza* (WHO, 2004). Sedangkan menurut OIE (2005), untuk uji HI yang menggunakan antigen 4HA unit akan menunjukkan hasil positif apabila titer yang dihasilkan adalah $1/16$ (2^2 atau $\log_2 2$) atau lebih. Apabila menggunakan antigen 8HA unit akan menunjukkan hasil positif apabila titer yang dihasilkan adalah $1/8$ (2^3 atau $\log_2 3$) atau lebih.

BAB III
MATERI DAN METODE

BAB 3 MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksploratif laboratorik. Pengambilan sampel dilakukan dengan mengambil langsung darah babi yang berada di Rumah Potong Hewan (RPH) Surabaya dan dianalisis di laboratorium.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 3 bulan, dimulai bulan Februari hingga bulan Mei 2008. Pengambilan sampel dilakukan di RPH kota Surabaya yang memiliki resiko tinggi terhadap virus *Avian Influenza*. Pemeriksaan sampel dilakukan di laboratorium *Avian Influenza Tropical Disease Center* Universitas Airlangga Surabaya.

3.3 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Media Transport 199, rak tabung reaksi, tabung *sentrifugase*, *sentrifuse*, inkubator, *ice box*, tabung *conical* dan EDTA, *yellow tip* dan *blue tip*, *microplate* " U ", *micropipette*, 50 μ l dan 1000 μ l, *multichannel* pipet, *eppendorf*, *cottonbud*, sarung tangan (*glove*). Bahan yang digunakan adalah serum darah babi, antigen *Avian Influenza* subtype H5N1 (Balitvet), *Receptor Destroying Enzyme* (RDE), eritrosit babi 0,5%, eritrosit babi 0,75%, *Phospat Buffer Saline* (PBS), alkohol 70% dan aquades steril.

3.4 Metode Penelitian

3.4.1 Teknik Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah serum darah babi. Pengambilan dilakukan menggunakan tabung *conical* pada jantung babi sebanyak 5ml. Darah kemudian disimpan dalam *box* yang berisi es untuk selanjutnya di simpan dalam lemari es bersuhu 4°C.

3.4.2 Preparasi Sampel di Laboratorium

Sampel darah yang diperoleh, disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam agar serum dan se-sel darah terpisah. Dilakukan sentrifus 3000 rpm selama lima menit. Setelah serum dan sel-sel darah benar-benar terpisah, serum diambil dan dipindahkan pada *ependorf* yang baru dan disimpan pada suhu -80°C sampai digunakan pada *Haemagglutination Inhibition Test* (uji HI).

3.5 Pemeriksaan Sampel

3.5.1 Pembuatan Suspensi Eritrosit babi 0,5% dan Eritrosit Babi 0,75%

Pengujian HA mikroteknik pada antigen yang didapatkan dari Balitvet dan HI mikroteknik menggunakan suspensi eritrosit 0,5% dan 0,75%. Cara mendapatkan suspensi eritrosit dengan konsentrasi 0,5% dan 0,75% adalah sebagai berikut : darah babi diambil dari jantung dengan menggunakan tabung *conical* yang telah diisi dengan anti-koagulan EDTA sebanyak 5ml. Darah tersebut disentrifus selama 5 menit dengan kecepatan 2500 rpm. Supernatan dibuang dan endapannya dicuci dengan menambahkan PBS, kemudian disentrifus lagi selama 5 menit. Setelah terjadi endapan kembali, supernatan dibuang. Pencucian tersebut diulang sampai tiga kali dengan cara yang sama hingga

didapatkan suspensi eritrosit 100%. Suspensi eritrosit dengan konsentrasi 0,5% dan 0,75% didapatkan dengan menambahkan PBS hingga konsentrasi eritrosit 0,5% dan 0,75%. Eritrosit babi dengan konsentrasi 100% dibuat menjadi konsentrasi 5% terlebih dahulu dengan rumus:

$$N1 \times V1 = N2 \times V2$$

$$100\% \times V1 = 5\% \times 5 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{5\% \times 5 \text{ ml}}{100\%}$$

$$V1 = 0,25 \text{ ml} = 250 \mu\text{l}$$

Dengan, $N1$: Konsentrasi eritrosit awal

$V1$: Volume eritrosit awal

$N2$: Konsentrasi eritrosit akhir (yang diinginkan)

$V2$: Volume eritrosit akhir (yang diinginkan)

Jadi untuk membuat suspensi eritrosit 5% dari eritrosit 100% = 0,25 ml eritrosit 100% + 4,75 ml PBS. Untuk mendapatkan eritrosit dengan konsentrasi 0,5%, eritrosit diencerkan kembali dengan cara:

$$5\% \times V1 = 0,5\% \times 10 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{0,5\% \times 10 \text{ ml}}{5\%}$$

$$V1 = 1 \text{ ml} = 1000 \mu\text{l}$$

Jadi untuk membuat suspensi eritrosit 0,5% dari eritrosit 5% = 1 ml eritrosit 5% + 9 ml PBS. Untuk mendapatkan eritrosit 75%, eritrosit diencerkan dengan rumus :

$$5\% \times V_1 = 0,75\% \times 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,75\% \times 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{0,75\% \times 10 \text{ ml}}{5\%} = 1,5 \text{ ml} = 1500 \mu\text{l}$$

Jadi untuk membuat suspensi eritrosit 0,75% dari eritrosit 5% = 1,5 ml eritrosit 5% + 8,5 ml PBS.

3.5.2 Hemagglutination Inhibition Test (Uji HI) mikroteknik

Sebelum dilakukan pengujian, serum harus mendapat perlakuan khusus dengan penambahan RDE untuk menghilangkan substansi non-spesifik dari sampel serum yang mampu mengaglutinasi eritrosit (WHO, 2002). Untuk 1 ml serum ditambahkan 3 ml RDE, kemudian divortex homogen dan diinkubasi pada suhu 37° C selama *over night* dalam *waterbath*, selanjutnya dipanaskan dengan *waterbath* bersuhu 56° C selama 30-60 menit untuk menghentikan kerja RDE.

Langkah-langkah uji hambatan hemaglutinasi ini adalah sebagai berikut :
Lubang *microplate* "U" diisi PBS 0,025 ml dari lubang no 1-12 pada baris B sampai baris H. Masukkan antiserum H5N1 sebanyak 0,05 ml pada lubang no 1-12 pada baris A, kemudian dibuat pengenceran serial dengan cara mengambil 0,025 ml antigen H5N1 yang didapatkan dari Balitvet, pada lubang 1-12 baris A kemudian dipindahkan ke lubang no 1-12 pada baris B dan dicampur hingga rata, dari lubang no 1-12 pada baris B diambil 0,025 ml dan dipindahkan ke lubang no 1-12 pada baris C demikian seterusnya. Lubang no 1-12 pada baris H ditambahkan dengan antigen H5N1 sebanyak 0.025 ml sebagai kontrol antiserum H5N1. Semua lubang ditambahkan dengan isolat 8 HA unit/0,025 ml sebanyak 0,025 ml, kecuali lubang no 1-12 pada baris H. Setelah penambahan isolat 8 HA

unit/0,025 ml, *microplate* diletakkan di *mechanical vibrator* hingga antiserum dan antigen tercampur rata, kemudian diinkubasi pada suhu 22°C - 25°C selama 30 menit. Setelah diinkubasi semua lubang ditambahkan eritrosit babi 0,5% sebanyak 0,05 ml. Pembacaan hasil pengujian dilakukan setelah diinkubasi selama 30 menit. Hasil uji HI positif ditandai dengan adanya pengendapan eritrosit berbentuk cincin di tengah sumuran (WHO, 2002).

BAB IV
HASIL PENELITIAN

BAB 4 HASIL PENELITIAN

Serum dari 18 ekor babi yang dianalisa di Laboratorium *Avian Influenza Tropical Disease Center* pada uji HI yang menggunakan eritrosit babi 0,5% dan yang menggunakan eritrosit babi 0,75% didapatkan sebagai berikut:

Tabel 4.1. Data hasil titer antibodi pada uji HI dengan eritrosit babi 0,5% dan 0,75%.

NO	Titer Antibodi Pada uji HI	
	Eritrosit Babi 0,5%	Eritrosit Babi 0,75%
1	2 ⁶	2 ⁶
2	2 ⁵	2 ⁶
3	2 ⁵	2 ⁶
4	2 ⁵	2 ⁶
5	2 ⁵	2 ⁶
6	2 ⁶	2 ⁶
7	2 ⁶	2 ⁶
8	2 ⁵	2 ⁷
9	2 ⁵	2 ⁷
10	2 ⁵	2 ⁵
11	2 ⁶	2 ⁶
12	2 ⁷	2 ⁷
13	2 ⁰	2 ⁶
14	2 ⁰	2 ⁶
15	2 ⁰	2 ⁵
16	2 ⁰	2 ⁵
17	2 ⁰	2 ⁷
18	2 ⁰	2 ⁷
Rata-rata	3,67	6,11

Dari tabel hasil uji HI diatas menunjukkan hasil 12 serum menggunakan eritrosit babi 0,5% dan 18 serum babi positif yang menggunakan eritrosit babi 0,75%. Hasil kemudian di rata-rata dan didapatkan bahwa rata-rata titer antibodi pada babi yang menggunakan eritrosit babi 0,75% lebih tinggi dibandingkan yang menggunakan eritrosit babi 0,5%, yaitu 6,11:3,6.

BAB V
PEMBAHASAN

BAB 5 PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dengan uji HI terhadap 18 serum babi dari RPH Surabaya menggunakan eritrosit babi 0,5% dan eritrosit babi 0,75%, didapatkan bahwa rata-rata titer antibodi pada babi yang menggunakan eritrosit babi 0,75% lebih tinggi dibandingkan yang menggunakan eritrosit babi 0,5%, yaitu 6,11:3,67. Kemungkinan kelebihan eritrosit terjadi karena tidak teraglutinasinya eritrosit, sehingga akan memungkinkan titer yang lebih tinggi pada eritrosit babi 0,75% dibandingkan dengan eritrosit babi 0,5%.

Adanya perbedaan titer antibodi virus *Avian Influenza* H5 pada babi yang diuji HI menggunakan eritrosit babi 0,5% dan eritrosit babi 0,75% adalah sesuai hipotesis. Selama ini belum ada sumber yang menjelaskan bahwa penggunaan eritrosit babi pada uji HI pada virus yang memiliki *hemagglutinin*, digunakan konsentrasi berapa. Pada beberapa penelitian yang dilakukan, konsentrasi penggunaan eritrosit mamalia berbeda-beda. Pada sebuah penelitian terhadap virus New Castle Disease pada uji HI menggunakan eritrosit marmut dengan konsentrasi 1% (Mettler *et al.*, 1971) sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Sari (2008) terhadap virus *Avian Influenza* yang menggunakan eritrosit marmut, digunakan konsentrasi 0,75% dan standar dari WHO (2002), untuk eritrosit mamalia menggunakan konsentrasi 0,75%.

Hemagglutinin yang dimiliki virus *Avian Influenza* memiliki kemampuan untuk mengaglutinasi eritrosit unggas dan mamalia. Sejauh ini eritrosit yang telah dan sering digunakan pada uji HI adalah eritrosit ayam, marmut, kuda, dan kucing. Eritrosit ayam lebih sering digunakan untuk pengujian *hemagglutinas* dan

hambatan *hemaglutinasi* karena waktu yang dibutuhkan eritrosit untuk turun ke dasar *plate* lebih cepat dan eritrosit ayam lebih mudah didapatkan. Eritrosit marmut lebih sensitif terhadap *Human Influenza* (Dewisavitri, 2007). Sebagai kontrol positif, pada penelitian ini menggunakan eritrosit marmut dan hasil yang didapatkan bahwa eritrosit babi menunjukkan sensitivitas yang lebih tinggi dari eritrosit marmut terhadap virus *Avian Influenza* pada babi. Menurut Ningtyas (2007), untuk mendapatkan hasil dari uji HI yang positif mutlak diperlukan penggunaan eritrosit dari hewan yang sejenis yang diambil serumnya.

Titer antigen yang didapat pada uji HA menggunakan eritrosit marmut 0,75% pada penelitian ini adalah 2^{11} sedangkan pada eritrosit babi adalah 2^{12} . Ini menunjukkan bahwa eritrosit babi dapat digunakan sebagai pengganti eritrosit mamalia yang telah sering digunakan, karena menurut OIE (2005) pada uji HI yang menggunakan eritrosit mamalia, nilai positif ditunjukkan apabila titer yang dihasilkan adalah $1/8$ (2^3 atau $\log_2 3$) atau lebih.

Serum yang menunjukkan hasil uji HI positif, berarti bahwa dalam serum babi tersebut telah terbentuk antibodi virus *Avian Influenza* subtipe H5 tetapi tidak diketahui apakah babi yang diperiksa dalam fase akut (antibodi masih dapat meningkat) atau fase penyembuhan (antibodi menurun tetapi titer masih tinggi sehingga dapat dikategorikan HI positif) (Sari, 2008). Antibodi terhadap *hemaglutinin* berfungsi mencegah perlekatan virus ke sel dan menetralkan sifat infeksi dari virus. Sifat ini mampu mencegah masuknya virus *Avian Influenza* ke dalam tubuh suatu organisme. Antibodi terhadap neuraminidase mencegah virus keluar dari sel yang telah diinfeksi sehingga mencegah penyebarannya ke sel lain serta dapat mencegah penularan ke organisme yang lainnya (Mills, 2001).

Rendahnya titer antibodi pada uji HI dapat disebabkan beberapa faktor, diantaranya adalah (1) Penyimpanan eritrosit yang terlalu lama. Untuk uji HI, eritrosit yang digunakan sebaiknya adalah eritrosit yang baru diambil, karena setelah 5-7 hari eritrosit akan mengalami hemolisis sehingga hasil yang didapat pada uji HI tidak akurat. (2) Jangan menunggu terlalu lama pembacaan hasil uji HI. Jika pada kontrol positif telah menunjukkan hasil maka pembacaan titer harus segera dilakukan. (3) Hasil yang salah juga dapat terjadi karena teknik *pipetting* yang salah.

BAB VI
KESIMPULAN DAN SARAN

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Perbandingan titer antibodi terhadap virus *Avian Influenza* H5 pada babi dengan uji HI menggunakan eritrosit babi 0,5% dan 0,75% memberikan hasil rata-rata titer antibodi pada babi yang menggunakan eritrosit babi 0,75% lebih tinggi dibandingkan yang menggunakan eritrosit babi 0,5%, yaitu 6,11:3,67. Eritrosit babi dapat dijadikan alternatif lain penggunaan eritrosit pada uji HI, tetapi dengan konsentrasi eritrosit yang tepat.

6.2 Saran

Untuk memperoleh titer antibodi pada babi, dapat digunakan eritrosit babi 0,75%. Perlu dilakukan penelitian lain untuk mengetahui komponen eritrosit babi dan sensitivitas eritrosit babi dan hewan lain, terutama yang berkaitan dengan uji HI.

RINGKASAN

Avian Influenza adalah penyakit menular yang disebabkan oleh virus *Influenza* tipe A. Virus *Influenza* pada babi pertama kali diamati pada tahun 1918 di Amerika Serikat, Hungaria dan China. Babi dapat tertular virus *Avian Influenza* dan *Human Influenza* karena pada sel epitel babi ditemukan dua jenis reseptor, yaitu glycans dengan terminal alpha 2,3 sialic acid dan alpha 2,6 sialic acid. Gejala klinis yang ditunjukkan pada babi relatif ringan bahkan sering tidak terlihat. Uji HI dapat digunakan untuk mendeteksi virus yang memiliki hemagglutinin seperti virus *Avian Influenza*. Hemagglutinin yang dimiliki virus *Avian Influenza* memiliki kemampuan mengaglutinasi eritrosit unggas dan mamalia. Sejauh ini belum ada sumber yang menyebutkan seberapa besar konsentrasi yang harus digunakan untuk eritrosit babi dalam uji HI. Eritrosit yang sering digunakan pada uji HI adalah eritrosit ayam, kuda, marmut dan kucing.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan membandingkan adanya titer antibodi virus *Avian Influenza* H5 pada babi dengan menggunakan eritrosit babi 0,5% dan 0,75%. Jumlah serum babi yang digunakan sebanyak 18 sampel, kemudian dilakukan pengujian dengan uji HI mikroteknik menggunakan eritrosit 0,5% dan eritrosit 0,75%. Penelitian dilakukan di Laboratorium *Avian Influenza* Tropical Disease Center, Universitas Airlangga Surabaya.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, menunjukkan bahwa eritrosit babi 0,75% lebih berespon terhadap virus *Avian Influenza* pada babi dan dapat disimpulkan bahwa perbedaan titer antibodi virus *Avian Influenza* H5 pada babi dengan uji HI menggunakan eritrosit 0,5% dan eritrosit babi 0,75% memberikan

hasil rata-rata sensitifitas titer antibodi pada babi yang menggunakan eritrosit babi 0,75% lebih tinggi dibandingkan yang menggunakan eritrosit babi 0,5%, yaitu 6,11:3,67. Eritrosit babi dapat dijadikan alternatif dalam penggunaan eritrosit pada uji HI, tetapi dengan konsentrasi eritrosit yang tepat.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Akoso, B. T. 2006. "Waspada Flu Burung" Penyakit Menular Pada Hewan dan Manusia. Kanisius. Yogyakarta.
- Alamudi, M. Y., Nidom, C. A., Nidom, R. K., Antari, A. L., Amin, L., Kandun, N., Faisal dan Okuno, Y. 2006. Deteksi Virus Avian Influenza Subtipe H5N1 dengan menggunakan Real Time PCR dan Rapid Test Pada Ayam, Babi dan Manusia. Seminar Nasional Perhimpunan Biologi Molekuler dan Biokimia. Jakarta.
- Brown. I. H., Ludwig. S., Olsen. C. W., Hannoun. C., Scholtissek. C. and Hinshaw. V. S, 1997. Antigenic and genetic analyses of H1N1 Influenza A viruses from European pigs. J Gen Virol.
- Brown, I. H., 2005. Reservoirs of Influenza A Viruses. Veterinary Laboratories.
- Capua. I., Marangon. S., Dalla Pozza M., Terregino. C. and Cattoli. G. 2003. Avian Influenza in Italy 1997-2001.
- Choi, Y. K., Nguyen, T. D., Ozaki, H., Webby, R. J., Puthavathana, P., Buranathal, C., Chaisingh, A., Auewarakul, P., Hanh, N. T., Ma, S. K., Hui, P. Y., Guan, Y., Peiris, J. S and Webster, R. G. 2005. Studies of H5N1 Influenza Virus Infection of Pigs by Using Viruses Isolated in Vietnam and Thailand in 2004. J Virol.
- Dewisavitri, M. I. 2007. Deteksi Antibodi Virus Avian Influenza H5N1 Pada Kucing Jalanan (*Felis silvestris catus*) di Jakarta [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Direktorat Jendral Peternakan. 2007. Gejala dan Cara Pencegahan Flu Burung (Avian Influenza). Direktorat Budidaya Ternak Non Ruminansia. Direktorat Jendral Peternakan. Jakarta.
- Ernawati, R., A., N. Sianita., Rahmani. J., F. A. Rantam., Tjahjaningsih. W dan Suwarno. 2004. Petunjuk Praktikum Pemeriksaan Virologik dan Serologik. Laboratorium Virologi dan Imunologi Bagian Mikrobiologi Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Ferguson, N. M., Galvani, A. P and Bush, R. M. 2003. Ecological and Immunological Determinants of Influenza Evolution. Nature; 422: 428-33.
- Fouchier, R.A., Munster, V. and Wallensten. A. 2005. Characterization of A Novel Influenza A Virus Haemagglutinin Subtype (H16) Obtained From Black-Headed Gulls. J. Virol.

- Harder, T. C and Werner, O. 2006. Avian Influenza. N. Engl. J. Med.
- Hasan. R. 2006. Virus Flu Burung Ditemukan pada Babi. Tempointeraktif.
- Henzler. D. J., Kradel. D. C. and Davison. S. 2003 Epidemiology, Production Losses, and Control Measures Associated With an Wabah of Avian Influenza Subtype H7N2 in Pennsylvania (1996-98).
- Horimoto, T., Y. and Kawaoka. 2001. Pandemic Threat Posed By Avian Influenza A Viruses. *Clinical Microbiology Reviews*. 14 (1): 129-149.
- Joniansyah. 2005. Ditangerang Ditemukan Flu Burung Pada Babi. Tempo Interaktif.
- Karasin. A. I., Brown. I. H., Carman. S and Olsen. C. W. 2000. Isolation and Characterization of H4N6 Avian Influenza Viruses from Pigs with Pneumonia in Canada. *J Virol*.
- Kristina., Ismiah dan Leny. W. 2004. Kajian Masalah Kesehatan. Badan Peneliti dan Pengembangan Kesehatan. Departemen Kesehatan. Jakarta.
- Lumbs, S. 2003. International Pig Topics. Vol 18. East Yorkshire England.
- Mahardika, I. G. N. K., Kencana, G. A. Y., Sibang, M., Suardana, I. B dan Winaya, I.B. O. 2005. Aspek Epidemiologi Virus Avian Influenza: Sifat Virus dan Peran Berbagai Spesies Hewan dalam Genesis Pandemi. Seminar dan Lokakarya Strategi Pencegahan dan Penanggulangan Avian Influenza (H5N1) pada Manusia di Bali. Denpasar.
- Mettler, E. N; Clark, H. D. and Casals, J. 1971. Yale Arbovirus Research Unit. American Society for Microbiology. Vol 22. Yale University.
- Mills, J. 2001. Viral Infection: Medical Immunology. 10 ed. The Mc Graw-Hill Companies, Inc. United State. 617-635.
- MSN. 2008. Hog (Animal).[5-06-2008]
- Nadesui, H. 2005. Virus Flu Burung Bisa Mnyebar Lewat Udara. Kompas Cyber Media. 21 September.
- Nidom, C. A. 2005. Analisis Molekuler Genoma Virus Avian Influenza H5N1 di Indonesia. Disertasi. Universitas Airlangga.
- Ningtyas, N. H. 2007. Perbedaan Titer Antigen Dari Virus Avian Influenza Subtipe H5N1 Yang Menginfeksi Kucing Jalanan Pada Uji Hemaglutinasi Dengan Sel Darah Merah Ayam Dan Sel Darah Merah Kuda [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.

- OIE. 2005. Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals.
- Olsen. C. W., Brammer. L., Easterday. B. C., Arden. N., Belay. E. and Baker. I. 2002. Serologic Evidence of H1 Swine Influenza Virus Infection in Swine Farm Residents and Employees.
- Radji, M. 2006. Avian Influenza A (H5N1): Patogenesis, Pencegahan dan Penyebaran Pada Manusia. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Edisi Bulan Agustus. 3 (2): 55-56. Depok.
- Rahardjo, Y dan Nidom, C. A. 2004. Avian Influenza: Pencegahan, Pengendalian dan Pemberantasannya. GITA. Jakarta.
- Rouche, A. and Systma, M. 2007. Feral Swine Action Plan for Oregon. *Enviromental Science and Resources*. Portland State University.
- Sari, C. 2008. Deteksi Antibodi Avian Influenza Subtipe H5 Pada Kucing Jalanan (*Felis silvestris catus*) Di Beberapa Pasar dan Perumahan di Surabaya Dengan Uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI Test) [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Schalm, O.W, Jain. N. C. and Carrol. E. 2000. *Veterinary Hematology*. 5th ed. Lea and Febiger. Philadelphia. 267-298.
- Shortridge, K. F., Zhou, N. and Guan, Y. Characterization of Avian Influenza Viruses From Poultry in Hongkong. 1998. *Virology* December 20.
- Soeharsono. 2005. Flu Burung dan Peran Babi Dalam Pandemi Flu Manusia.
- Swindel, M. M. and Smith, C. A. 2000. Information Resources on Swine in Biomedical Research. Department of Agriculture. United State. Virginia.
- Tabbu, C. R. 2000. Penyakit Ayam dan Penanggulangannya: Penyakit Bakterial, Mikal dan Viral. Kanisius. Yogyakarta.
- Treanor JJ., 2004. Influenza Virus, In: Mandel Gl., Bennet JE. and Dollin R., eds. *Mandell, Douglas and Bennet's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6th ed. Churchill Livingstone.
- USGS. 2007. Avian Influenza in Wild Birds. *Wildlife Health Bulletin* #04-01.
- Webster, R. G., Bean, W. J., Gorman, O., T., Chambers, T. M. and Kawaoka, Y. 1992. Evolution and Ecology of Influenza A Viruses. *Microbiol Rev*; February. 6 (2); 67-71.
- WHO. 2002. Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance.
- WHO. 2004. Avian Influenza.

WHO, 2005. Highly pathogenic H5N1 Avian Influenza Wabahs in Poultry and in Humans: Food Safety Implications.

Wikipedia, 2008. Pigs. <http://www.wikipedia.com>. [05-06-208]

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data hasil titer antibodi pada uji HI dengan eritrosit marmut 0,75%

No	Titer Antibodi
1.	2^4
2.	2^4
3.	2^5
4.	2^6
5.	2^8
6.	2^6
7.	2^4
8.	2^4
9.	2^4
10.	2^5
11.	2^6
12.	2^7
13.	2^4
14.	2^4
15.	2^1
16.	2^5
17.	2^4
18.	2^4

Lampiran 3. Gambar alat dan bahan penelitian



Sentrifugase



Alat : *Blue tips, yellow tips, multichanel pipet, mikropipet, mikroplat "U", RDE*

(Reseptor Destroying Enzyme)



Mechanical vibrator



Vortex

Lampiran 4. Skema Uji HA Mikroteknik

A. Titrasi Antigen

Sumuran no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
PBS (50 μ l) dimulai lubang A2-A8 dan B2-B8		50	50	50	50	50	50	50				
Antigen (100 μ l) pada lubang A1, PBS (100 μ l) pada lubang B1	100	50	50	50	50	50	50	50				
Lubang B1-B12 sebagai kontrol eritrosit												
Eritrosit (50 μ l) pada semua lubang A dan B	50	50	50	50	50	50	50	50				
Campur dan inkubasikan pada suhu ruangan selama 60 menit												
Pengenceran	1	2	4	8	16	32	64	128				

Interpretasi hasil:

Aglutinasi sempurna (100%) adalah aglutinasi terlihat jelas berupa lapisan eritrosit secara merata (difuse) pada dasar lubang dan penjernihan pada bagian atas tanpa terjadinya pengendapan eritrosit berbentuk cincin di tengah lubang



Lampiran 5. Skema Uji (HI) Mikroteknik

Lubang no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
PBS (25 μ l) dimulai lubang B1-H12	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Serum (50 μ l) pada lubang A1-A12	50	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Antigen standard (25 μ l) pada semua lubang kec.H1-H12 sebagai kontrol serum	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Campur dan inkubasi pada suhu ruangan selama 30-45 menit												
Eritrosit (50 μ l) pada semua lubang	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Inkubasikan pada suhu kamar selama 60 menit												

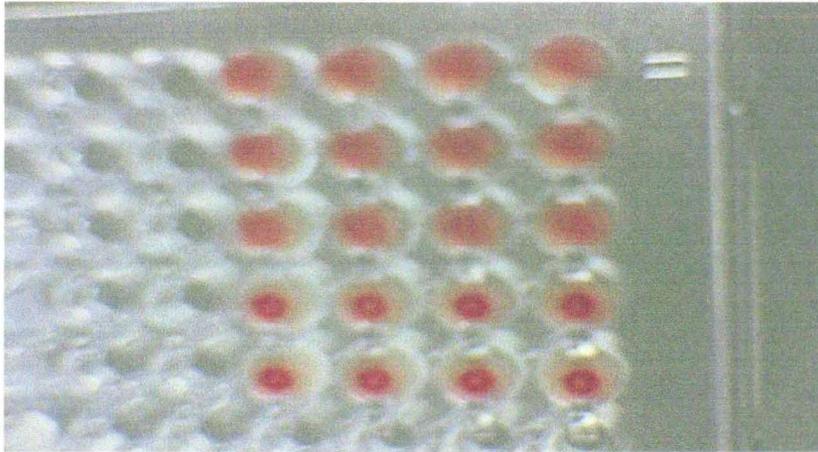
Interpretasi hasil:

Hambatan aglutinasi sempurna (100 %) adalah adanya pengendapan eritrosit

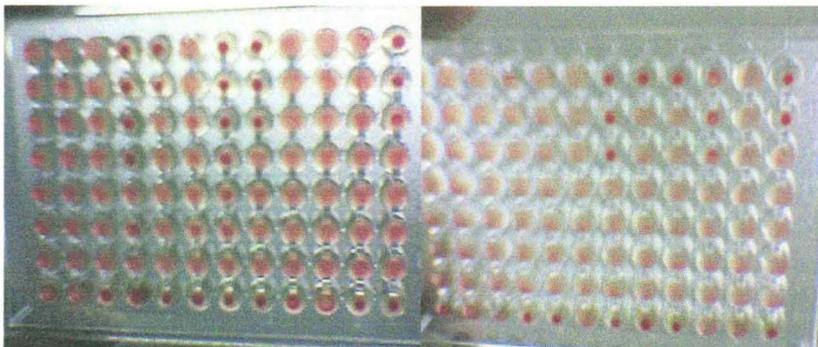
berbentuk cincin di tengah lubang yang terlihat seperti pada kontrol



Lampiran 6. Gambar Hasil Penelitian Retitrasi Antigen dan Uji HI



Retitrasi antigen 8HA unit/0,05 ml



Hasil uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI Test)