

# SKRIPSI

## DETEKSI ANTIBODI VIRUS INFLUENZA PANDEMIK A/H1 2009 PADA SERUM BABI DI RUMAH POTONG HEWAN PEGIRIAN KOTA SURABAYA



Oleh :

**DIYANTORO**  
NIM 060710223

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2011**

Telah diuji pada

Tanggal : 11 Maret 2011

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Dr. Chairul A. Nidom, drh., M.S.

Anggota : Nanik Sianita W, drh., SU.

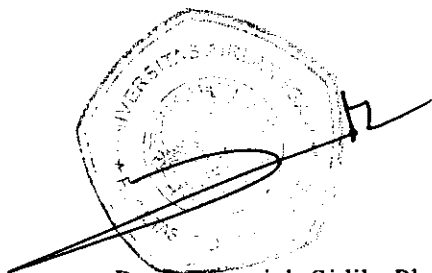
: Adi Prijo Rahardjo, drh., M.Kes.

: Agus Sunarso, drh., M.Sc.

: Emy Koestanti Sabdoningrum, drh., M.Kes.

Surabaya, 11 Maret 2011

Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Airlangga  
Dekan,



Prof. Römziah Sidik, Ph.D., drh  
NIP. 19531216 197806 2.001

**DETECTION OF PANDEMIC INFLUENZA VIRUS A/H1 2009  
ANTIBODY IN PIG SERA AT PEGIRIAN SURABAYA  
SLAUGHTERHOUSE**

DIYANTORO

**ABSTRACT**

The aim of this study was to detect the presence of Pandemic Influenza Virus A/H1 2009 antibody in pig sera at Pegirian Surabaya Slaughterhouse. This study represent of observational study. Sample used in this observational study were 120 sera of pig at Pegirian Surabaya Slaughterhouse. 120 samples were taken from Pegirian Surabaya Slaughterhouse from Juli 2010 until Desember 2010. The method used in this study was : Hemagglutination Inhibition (HI) test using antigen H1N1-2009. Before tested with HI test, the serum was treated with RDE and 0,75% of guinea pig RBC. An antibody titer of  $\geq 1:20$  dilution was considered positive. The result study showed that from 120 serum samples tested with HI test, all samples was negative from the infection of Pandemic Influenza Virus A/H1 2009. Therefore, it is suggested to do further research dealing with the sample from pig farms and using more specific testing method.

**Key Word** : HI test, Pandemic Influenza Virus A/H1 2009, Pig sera.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur Alhamdulillah ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat-Nya untuk kelancaran serta kemudahan yang diberikan sehingga penulis dapat menyusun dan menyelesaikan skripsi dengan judul **“Deteksi Antibodi Virus Influenza Pandemik A/H1 2009 Pada Serum Babi di Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya”** yang merupakan bagian dari proyek penelitian Laboratorium Avian Influenza, *Institute of Tropical Disease*, Universitas Airlangga Surabaya.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Hj. Romziah Sidik. Ph.D., drh., atas kesempatan mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Laboratorium Avian Influenza, *Institute of Tropical Disease*, Universitas Airlangga Surabaya, yang telah memberikan dana penelitian.

Bapak Dr. Chairul Anwar Nidom, MS., Drh. selaku kepala laboratorium Avian Influenza, *Institute of Tropical Disease*, yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti penelitian dan membimbing penulis selama proses penelitian berlangsung.

Agus Sunarso, drh., M.Sc. selaku pembimbing utama dan Emy Koestanti S., drh., M.Kes. selaku pembimbing serta, atas kesediannya dalam memberikan bimbingan, saran, dan nasehat yang berguna selama penelitian serta dalam

penyusunan naskah seminar hasil ini. Dr. C.A. Nidom, drh., MS. selaku ketua penguji, Nanik Sianita W., drh., SU. selaku sekretaris penguji dan Adi Prijo Rahardjo, drh., M.Si. selaku anggota penguji. Dr. I Komang Wiarsa Sardjana, drh., selaku dosen wali yang selalu memberi nasehat dan masukan akademis.

Terima kasih yang sebesar – besarnya kepada para staf Laboratorium Avian Influenza, *Institute of Tropical Disease*, Universitas Airlangga Surabaya, atas bantuan teknik selama proses penelitian.

Segala hormat dan terima kasih sebesar – besarnya penulis haturkan kepada keluarga, kedua orang tua, dan kakak yang selalu memberi doa, semangat dan nasehat kepada penulis.

Terima kasih juga penulis ucapkan kepada semua teman – teman satu penelitian (Bahtiar, Elsa, Enny, Lia, Lintang, dan Wibi), pembimbing di laboratorium (Bu Kadek, Mas Yusuf, Mas Kholik, Mas Surip, Mbak Vivin, Mbak Nani, Mbak Ema, Mbak Ire, Mbak Mia dan Mbak titi), teman – teman seperjuangan dan masih banyak lagi sehingga tidak dapat ditulis dan khususnya angkatan FKH 2007 serta semua pihak yang membantu terselesaikannya skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam tulisan ini masih banyak kekurangan dan masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk dijadikan koreksi demi penulisan skripsi ini.

Surabaya, Maret 2011

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN .....	i
HALAMAN PERNYATAAN.....	ii
HALAMAN IDENTITAS .....	iii
ABSTRACT.....	v
UCAPAN TERIMA KASIH .....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG.....	xiii
<b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Landasan Teori.....	3
1.4. Tujuan Penelitian .....	5
1.5. Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
2.1. Tinjauan Tentang Virus Influenza Pandemi H1N1-2009 .....	6
2.1.1. Karakteristik Virus .....	6
2.1.2. Patogenesis Virus .....	8
2.1.3. Gambaran Patologi.....	9
2.1.4. Respon Imun .....	10
2.1.5. Manifestasi Klinis Virus Influenza Pandemik H1N1-2009 .	11
2.1.5.1. Manifestasi Klinis pada Hewan Babi .....	11
2.1.5.2. Manifestasi Klinis pada Manusia .....	11
2.1.6. Diagnosis Virus Influenza Pandemik H1N1-2009.....	12
2.1.7. Pengobatan Infeksi .....	13
2.1.8. Pencegahan dan Penanganan.....	13

2.2. Tinjauan Tentang Babi.....	14
2.2.1. Virus Influenza Pandemi H1N1-2009 pada Babi.....	16
2.3. Tinjauan Tentang Rumah Potong Hewan Pegirian.....	16
2.4. Tinjauan Tentang Uji <i>Hemagglutination Inhibition</i> (HI test).....	17
2.4.1. Penggunaan <i>Receptor Destroying Enzyme</i> (RDE).....	18
BAB 3 METODE PENELITIAN .....	19
3.1. Jenis Penelitian.....	19
3.2. Waktu dan Tempat Penelitian .....	19
3.3. Alat dan Bahan Penelitian.....	19
3.4. Metode Penelitian.....	20
3.4.1. Lokasi Pengambilan Sampel .....	20
3.4.2. Teknik Pengambilan Sampel Darah.....	20
3.4.3. Penanganan Sampel Darah dan Serum di Laboratorium .....	20
3.4.4. Perlakuan Serum .....	21
3.4.4.1. Cara Pengambilan Darah Marmut .....	21
3.4.4.2. Pencucian <i>Red Blood Cell</i> (RBC) Marmut.....	21
3.4.4.3. Pembuatan Suspensi Eritrosit Marmut 0,75 %.....	22
3.4.4.4. Uji Hemaglutinasi (HA) Mikroteknik .....	22
3.4.4.5. Retitrasi Antigen Delapan HA Unit .....	23
3.4.4.6. Uji Hambatan Hemaglutinasi ( <i>Hemagglutination Inhibition, HI test</i> ) .....	24
3.5. Alur Metode Penelitian.....	27
3.6. Pengolahan Data .....	27
BAB 4 HASIL PENELITIAN .....	28
BAB 5 PEMBAHASAN.....	30
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN .....	34
6.1. Kesimpulan.....	34
6.2. Saran .....	34
RINGKASAN .....	35
DAFTAR PUSTAKA .....	37
LAMPIRAN .....	42

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4. 1. Persentase hasil uji HI terhadap Virus Influenza A/H1 pada Serum Babi di Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya .....	28



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Struktur Virus Influenza Pandemi H1N1-2009 .....	7
2.2. Skema Percampuran Terbentuknya Virus Influenza Pandemik H1N1-2009 .....	8
2.3. Babi.....	15
3.1. Alur Metode Penelitian .....	26
4.1. Histogram Hasil Uji HI pada Serum Babi di Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya .....	29

**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran	Halaman
1. Tabel Data Hasil Deteksi Antibodi Virus Influenza A/H1 Pada Serum Babi di Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya .....	42
2. Skema Uji HA Mikroteknik.....	46
3. Skema Uji HI Mikroteknik .....	48
4. Alat dan Bahan Penelitian.....	49
5. Pengambilan Darah Babi.....	49
6. Interpretasi Hasil Uji HA-HI.....	50

**SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG**

ARDS	: <i>Acute Respiratory Distress Syndrome</i>
AGPT	: <i>Agar Gel Presipitation Test</i>
BSL-3	: <i>Bio-Safety Level 3</i>
BSC-3	: <i>Bio-Safety Cabinet Class 3</i>
CDC	: <i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CFT	: <i>Complement Fixation Test</i>
EDTA	: <i>Ethylen Diamine Tetra Acetic Acid</i>
ELISA	: <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
HA	: <i>Hemagglutinin</i>
HA test	: <i>Hemagglutination test</i>
HAU	: <i>Hemagglutination Unit</i>
HI	: <i>Hemagglutination Inhibition</i>
ICU	: <i>Intensive Care Unit</i>
ion H <sup>+</sup>	: <i>Ion Hidrogen</i>
ITD	: <i>Institute of Tropical Disease</i>
KIE	: <i>Komunikasi Informasi dan Edukasi</i>
KKP	: <i>Kantor Kesehatan Pelabuhan</i>
M	: <i>Matriks</i>
MDCK	: <i>Madin-Darby Canine Kidney</i>
MSN	: <i>Micrisoft Sharing Networks</i>
ml	: <i>Milliliter</i>
NA	: <i>Neuraminidase</i>
NP	: <i>Nukleoprotein</i>
NS	: <i>Nonstructural</i>
OIE	: <i>Office International des Epizooties</i>
PA	: <i>Polymerase Acidic</i>
PB1, PB2	: <i>Polymerase Base 1 &amp; 2</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
pH	: <i>Power Hidrogen</i>

PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
RBC	: <i>Red Blood cell</i>
RDE	: <i>Reseptor Destroying Enzyme</i>
RNA	: <i>Ribonucleid Acid</i>
RPH	: <i>Rumah Potong Hewan</i>
rpm	: <i>Rotation per Minute</i>
RT-PCR	: <i>Reverse transcription-PCR</i>
RSPI	: <i>Rumah Sakit Penyakit Infeksi</i>
TAB	: <i>Telur Ayam Bertunas</i>
TNF $\alpha$	: <i>Tumor Necrosis Factor <math>\alpha</math></i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>
$\mu$ l	: <i>Mikroliter</i>
%	: <i>Persen</i>
$\alpha$	: <i>Alpha</i>
$^{\circ}$ C	: <i>derajat Celcius</i>

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Wabah virus influenza pandemik H1N1-2009 pertama kali terjadi pada manusia di Meksiko bulan April 2009 (CDC, 2009). Virus influenza pandemik H1N1-2009 telah menginfeksi babi dan manusia, dan tersebar hampir ke seluruh dunia hingga Maret 2010 (WHO, 2010). Penyebaran virus influenza pandemik H1N1-2009 pada manusia menimbulkan kekhawatiran dikalangan masyarakat setelah *World Health Organization* (WHO) mengumumkan bahwa wabah virus influenza pandemik H1N1-2009 berada dalam fase enam pandemik influenza, yaitu sudah terjadi penularan antar manusia dan telah terjadi kasus yang sama di beberapa negara (Sciencebiotech, 2009). Jumlah kasus kematian pada manusia yang terjadi di dunia sebanyak lebih dari 17.700 kasus mulai bulan April 2009 hingga Maret 2010 (Harris, 2010).

Virus influenza pandemik H1N1-2009 dinyatakan masuk ke Indonesia pada bulan Juni 2009, setelah dua orang pasien dinyatakan terinfeksi virus influenza pandemik H1N1-2009. Kedua pasien tersebut di rawat di RSPI Sulianti Saroso dan RS Sanglah Denpasar, Bali (Detikhealth, 2009). Kasus positif virus influenza pandemik H1N1-2009 sudah merambah 18 propinsi. Propinsi tersebut adalah Bali, Banten, Yogyakarta, Jakarta, Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, Kalimantan Selatan, Kepulauan Riau, Sulawesi Utara, Sumatera Selatan, Sumatera Utara, Kalimantan Timur, Sulawesi Selatan, Jambi, Riau, Kalimantan Tengah, dan Lampung (Kompas, 2009).

Beberapa negara di dunia telah meningkatkan prosedur pemantauan dan inspeksi terhadap babi yang ada di peternakan maupun di Rumah Potong Hewan. Hal itu dilakukan setelah ditemukannya kasus pada babi yang telah terdeteksi terjangkit virus influenza pandemik H1N1-2009 yang diekspor ke Singapura dari Pulau Bulan, Indonesia. *Singapore Agri-Food and Veterinary Authority (AVA)* mengatakan bahwa 12 babi telah dikonfirmasi memiliki virus influenza pandemik H1N1-2009. Berdasarkan hasil penyidikan secara epidemiologi, serta konfirmasi pemeriksaan laboratorium oleh Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Regional II Bukittinggi dan Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor serta konfirmasi oleh laboratorium rujukan influenza internasional (OIE) *Australian Animal Health Laboratory (AAHL)* terhadap sampel usapan hidung (*nasal swab*) ternak babi berasal dari usaha peternakan babi PT. Indotirta Suaka yang berlokasi di Pulau Bulan Kota Batam – Provinsi Kepulauan Riau ditemukan hasil positif mengandung virus *Pandemic Influenza A/H1N1 (OIE, 2009)*.

Berdasarkan pertimbangan tersebut, diperlukan adanya suatu penelitian mengenai kemungkinan babi di Indonesia khususnya di Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya juga terjangkit virus influenza pandemik H1N1-2009. Surabaya sebagai pusat pasar dan pusat konsumen, serta peredaran hewan khususnya babi sangatlah tinggi. Jalur lalu lintas ternak babi ke Surabaya berasal dari Tulungagung, Malang, Bayuwangi, dan beberapa kota di Jawa Timur (Dinkes Sby, 2009).

Penelitian ini dilakukan untuk mendeteksi adanya antibodi terhadap virus influenza pandemik A/H1 2009 pada babi di wilayah dengan peredaran hewan

babi yang tinggi, dengan cara memeriksa serum darah dari babi untuk mengetahui adanya infeksi yang diakibatkan oleh virus influenza pandemik A/H1 2009. Tabbu (2000) menyebutkan bahwa pemeriksaan serologik dapat dilakukan untuk mengetahui adanya pembentukan antibodi terhadap virus influenza pandemik A/H1 2009 dan pemeriksaan yang paling sering dipakai adalah uji hambatan hemaglutinasi (*Haemagglutination Inhibition, HI test*) untuk mengetahui adanya antibodi terhadap *hemagglutinin*.

## 1.2. Rumusan Masalah

Permasalahan yang didapat dari uraian latar belakang di atas adalah apakah terdapat antibodi terhadap virus influenza pandemik A/H1 2009 pada serum babi di Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya ?

## 1.3. Landasan Teori

Berdasarkan perbedaan sifat antigenik dari nukleoprotein dan matriks proteinnya, virus influenza pandemik H1N1-2009 tergolong dalam virus influenza tipe A. Virus influenza tipe A diketahui memiliki 16 macam HA (H1-H16) dan sembilan macam NA (N1-N9) (Neumann, *et al.*, 2009). Virus influenza mempunyai segmen gen RNA yang dapat berubah ketika sel terinfeksi lebih dari satu strain virus yang menyerang babi. Virus Influenza memiliki dua cara untuk menghindarkan diri dari respon imun inang, yaitu *antigenic drift* dan *antigenic shift* (Nidom, 2010).



Virus influenza pandemik H1N1-2009 memiliki antigen permukaan *Hemagglutinin* (HA) yang memungkinkan virus dapat mengaglutinasi eritrosit. *Hemagglutinin* memiliki kemampuan untuk terikat pada permukaan sel dan juga memiliki kemampuan dalam menimbulkan respons antibodi inang dalam memberikan perlindungan terhadap infeksi virus influenza (Suzuki, 2006).

Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya adalah pusat pemotongan ternak babi serta memiliki peredaran hewan babi yang tinggi. Babi yang ada berasal dari beberapa daerah di Jawa Timur. Menurut Dinas Kesehatan Kota Surabaya (2009) menyebutkan bahwa propinsi Jawa Timur adalah salah satu propinsi di Indonesia yang pernah ditemukan kasus positif virus influenza pandemik A/H1 2009.

Secara serologis, akan dideteksi adanya antibodi terhadap virus influenza pandemik H1N1-2009 dalam darah pada individu yang terinfeksi virus influenza pandemik H1N1-2009. Babi yang pernah terpapar atau telah terinfeksi virus influenza pandemik H1N1-2009 dalam serum darahnya dapat ditemukan adanya antibodi. Antibodi terhadap *hemagglutinin* virus influenza pandemik H1N1-2009 tersebut dapat diketahui dengan uji HI (Rello, 2009).

Identifikasi virus influenza pandemik H1N1-2009 yang digunakan adalah uji hemaglutinasi (*Hemagglutination*, *HA test*) dan dilanjutkan dengan uji hambatan hemaglutinasi. Dalam diagnosa antibodi dari virus influenza, peran protein *hemagglutinin* (HA) yang terdapat dalam amplop virus menjadi tumpuan dasar pada uji hambatan hemaglutinasi (HI), dikarenakan protein *hemagglutin* merupakan target awal dalam pembentukan antibodi inang (WHO, 2002).

#### **1.4. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi adanya antibodi terhadap virus influenza pandemik A/H1 2009 pada serum babi di Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya.

#### **1.5. Manfaat Penelitian**

Memberikan informasi kepada masyarakat dan pemerintah tentang keberadaan antibodi terhadap virus influenza pandemik A/H1 2009 pada babi yang dipotong di Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya

## **BAB 2**

# TINJAUAN PUSTAKA

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Tinjauan Tentang Virus Influenza Pandemi H1N1-2009

#### 2.1.1. Karakteristik Virus

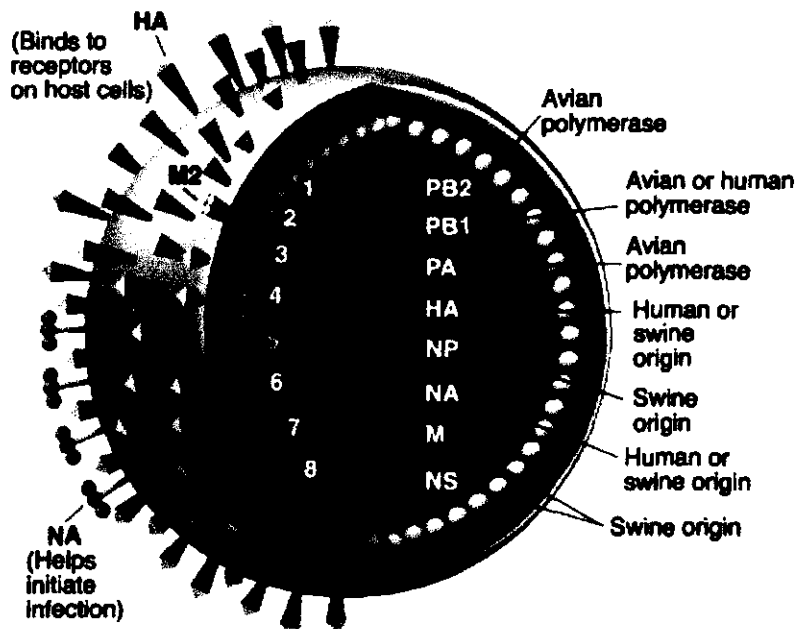
Virus influenza pandemi H1N1-2009 termasuk dalam virus influenza tipe A dari famili *Orthomyxoviridae* (Nidom, 2010). Virus influenza tipe A bersifat patogen pada manusia, kuda, unggas, dan babi, sangat mudah bermutasi (*drift* dan *shift*) serta menyebabkan ancaman epidemi dan pandemi (Rantam, 2005).

Genom virus influenza tipe A berupa RNA untai tunggal, sense negatif, sepanjang kurang lebih 13.588 nukleotida yang tersusun dalam 8 segmen yang menyandi 10 macam protein. Kedelapan segmen tersebut adalah PB1, PB2, PA, HA, NP, NA, M (M1 dan M2) dan NS (NS1 dan NS2) (Smith *et al.*, 2009).

Virus influenza tipe A mempunyai amplop dengan lipid bilayer yang berasal dari hospes dan ditutupi dengan sekitar 500 tonjolan *glikoprotein* yang mempunyai aktivitas *hemagglutinin* dan *neuraminidase*, aktivitas ini diperankan oleh dua *glikoprotein* utama pada permukaan virus yaitu *hemagglutinin* (HA) dan *neuraminidase* (NA). Analisis serologik dan genetik virus influenza pandemi H1N1-2009 dapat diketahui adanya 16 macam HA (H1-H16) dan sembilan macam NA (N1-N9) (Smith *et al.*, 2009; Nidom, 2010).

Selain protein *hemagglutinin* dan *neuraminidase*, juga terdapat protein *matriks* yang memiliki dua macam yaitu M1 dan M2. Protein *matriks* memiliki bentuk tetramer dan aktivitas sebagai saluran ion H<sup>+</sup> yang akan teraktivasi oleh

pH yang rendah dalam endosom. Akibatnya terjadi pengasaman di dalam virion dan akan memberikan fasilitas terhadap pelepasan virus dalam sel (Garten, 2009).

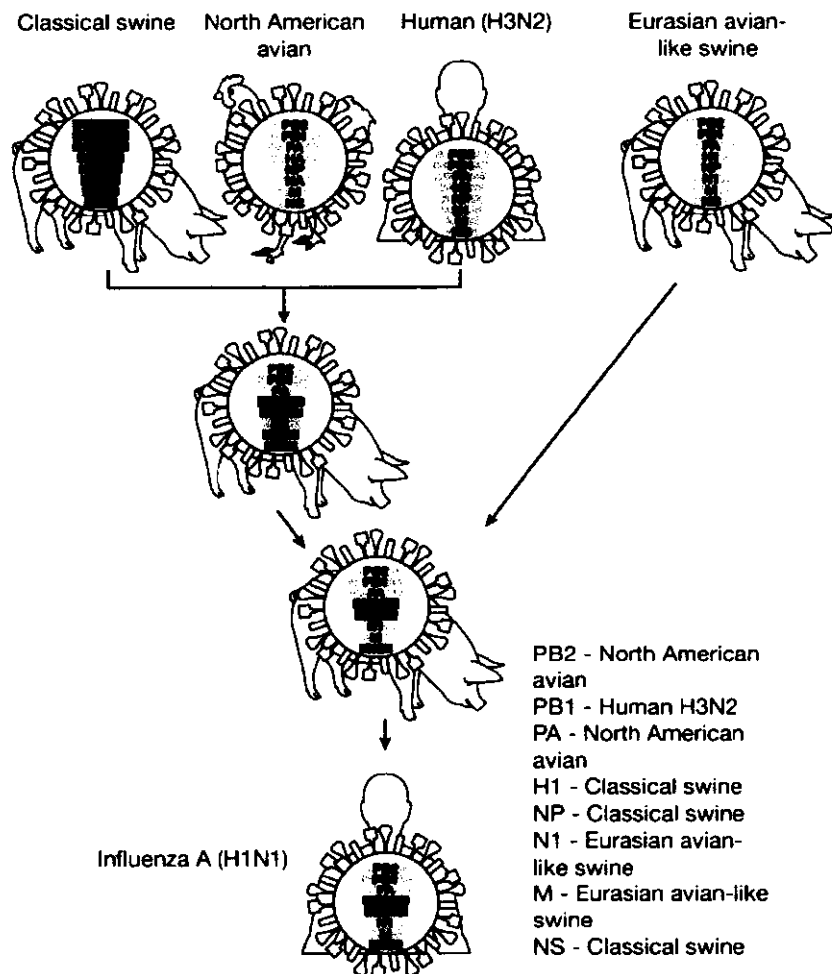


**Gambar 2.1.** Struktur virus influenza pandemik H1N1-2009.  
(Neumann, *et al.*, 2009)

Virus influenza pandemik H1N1-2009 merupakan hasil koalisi antara enam segmen gen dari koalisi tiga virus (*triple reassortant virus*), dan dua segmen gen dari influenza A (H1N1) tipe Eurasia (Zimmer, 2009; Garten, 2009; Erratum, 2009). Proporsi gen pada virus influenza pandemik H1N1-2009 adalah 48 % berasal virus flu babi, 34 % dari virus flu burung, dan 18 % dari virus flu manusia (Garten, 2009).

### 2.1.2. Patogenesis Virus

Patogenesis dan virulensi dari virus influenza dapat ditentukan oleh beberapa faktor, yaitu faktor inang dan virus. Childs (2009) menyebutkan bahwa pada sel saluran pernapasan atas babi terdapat dua jenis reseptor, yaitu  $\alpha$  2,6 sialic acid untuk virus influenza manusia dan babi, serta  $\alpha$  2,3 sialic acid untuk virus influenza burung. Karena itu, kemungkinan terjadinya pencampuran antara ketiga jenis virus tersebut lebih besar.



**Gambar 2.2.** Skema percampuran terbentuknya virus influenza pandemik H1N1-2009 (Neumann, *et al.*, 2009).

Transmisi virus lewat partikel udara dan terlokalisir pada saluran pernapasan. Penularan bergantung pada ukuran partikel (*droplet*) yang membawa virus tersebut masuk kedalam saluran pernapasan. Pada dosis infeksius,  $10^3$  virus / droplet, 50 % orang yang terserang dosis ini akan menderita influenza. Virus akan melekat pada epitel sel di hidung dan bronkus. Setelah virus berhasil menerobos masuk kedalam sel, dalam dua jam antigen virus dapat ditemukan dalam sel dan sudah mengalami replikasi. Partikel-partikel virus baru ini kemudian akan menggabungkan diri dekat permukaan sel, dan langsung dapat meninggalkan sel untuk pindah ke sel lain. Hampir seluruh organ yang terinfeksi dapat menimbulkan eksudat (Maines, *et al.*, 2009).

Virus pada nasofaring meningkat pada pasien dengan gejala pneumonia (To, 2010). Selama masa inkubasi, virus influenza pandemik H1N1-2009 telah dideteksi pada level yang lebih tinggi dan periode yang lama dalam saluran pernapasan bagian bawah daripada dalam saluran pernapasan bagian atas (Lee, 2010). Virus influenza pandemik H1N1-2009 dapat dideteksi dalam saluran pernapasan bagian bawah hingga 28 hari setelah timbul pneumonia dan lebih lama pada pasien dengan immunosupresi (Fleury, 2009).

### **2.1.3. Gambaran Patologi**

Gambaran patologi pada manusia dalam kasus yang fatal akibat virus influenza pandemik H1N1-2009 terdapat kerusakan pada paru-paru, kelenjar limpa, membran hyaline dan membran edema, dan nekrosis pada bronkhus (Gill, 2010; Mauad, 2010).

Perubahan patologi secara umum mengakibatkan jaringan pada paru-paru terjadi pembengkakan, edema pada daerah interlobular, fibrinous pleuritis, dan lesi mikroskopis menunjukkan saluran udara terisi dengan eksudat, adanya *alveolar atelectasis*, *interstitial pneumonia* dan *emphysema* (Nidom, 2010).

Pada babi yang terinfeksi influenza gambaran patologinya dapat berupa adanya lesi paru dengan tanda merah keunguan pada bagian lobus apikal dan lobus jantung. Lesi paru yang terjadi sama dengan lesi pada *Enzootic pneumonia* yang hanya bisa dibedakan dengan histopatologi. Pada pemeriksaan mikroskopis influenza babi, akan terdeteksi adanya *necrotizing bronchitis* dan *bronchiolitis* dengan eksudat yang dipenuhi neutrofil, terjadi penebalan septa alveolar dan perubahan epitel bronchial (Blood and Radositis, 1989).

#### **2.1.4. Respon Imun**

Virus influenza pandemik H1N1-2009 memberikan respon imun berupa respon imun bawaan (*innate*) dan respon imun adaptif (*adaptive*). Virus influenza pandemik H1N1-2009 mampu menginduksi respon mediator proinflamatori dalam sel manusia secara *in vitro* (Chan, 2010), tetapi tidak mampu mengaktivasi respon imun seluler dalam sel dendrit dan makrofag (Osterlund, 2010).

Peningkatan level plasma pada interleukin-15, interleukin-12p70, interleukin-8, dan khususnya interleukin-6 sebagai tanda pasien dalam keadaan kritis (Bermejo-Marten, 2009; Lee, 2010). Pada pasien yang telah meninggal atau menderita *acute respiratory distress syndrome* (ARDS) menunjukkan peningkatan level plasma pada interleukin-6, interleukin-10, interleukin-15, interleukin-1 $\alpha$ ,



interleukin-8, interferon-inducible protein 10, dan *tumor nekrosis factor  $\alpha$*  (TNF $\alpha$ ) selama fase akhir kesakitan (To, 2010).

### **2.1.5. Manifestasi Klinis Virus Influenza Pandemi H1N1-2009**

#### **2.1.5.1. Manifestasi Klinis pada Hewan Babi**

Pada kejadian wabah penyakit, masa inkubasi sering antara satu sampai dua hari, tetapi bisa dua sampai tujuh hari dengan rata-rata empat hari (Cauchemez, 2009). Virus Influenza pandemi H1N1-2009 dapat menyebar dengan cepat hampir 100 % babi yang rentan terkena, ditandai dengan apatis, sangat lemah, tidak ingin bergerak atau bangun karena gangguan kekakuan otot dan nyeri otot, eritema pada kulit, anoreksia, dan demam sampai 41,8°C. Batuk sangat sering terjadi apabila penyakit cukup hebat, bersamaan dengan muntah eksudat lendir, bersin, dispnea yang diikuti kemerahan pada mata dan terlihat adanya cairan mata. Terjadi tingkat kematian tinggi pada anak-anak babi yang dilahirkan dari induk babi yang tidak kebal dan terinfeksi pada waktu beberapa hari setelah dilahirkan. Tingkat kematian pada babi tua umumnya rendah, apabila tidak diikuti komplikasi. Total kematian babi sangat rendah, biasanya kurang dari 1 % (Nidom, 2010).

#### **2.1.5.2. Manifestasi Klinis pada Manusia**

Gejala klinis umumnya mirip dengan gejala influenza pada umumnya, yaitu dengan tanda-tanda klinis seperti demam, batuk, pilek, lesu, letih, nyeri tenggorokan, sesak napas, mungkin disertai mual, muntah, dan diare (CDC,

2010). WHO (2010) mengklasifikasikan gejala klinis berdasarkan kasus ringan dijumpai flu dan kondisi berat dijumpai terdapat infeksi bakteri sehingga penderita mengalami sesak napas, batuk darah, pusing secara tiba-tiba, bingung, nyeri dada, kejang, dan muntah terus-menerus. Gejala klinis penyakit influenza pandemik H1N1-2009 tidak spesifik, karena itu sangat sulit untuk dideteksi apabila penderita hanya menunjukkan gejala flu (CDC, 2010).

#### **2.1.6. Diagnosis Virus Influenza Pandemik H1N1-2009**

Identifikasi virus influenza pandemik H1N1-2009 pada babi dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai macam teknik meliputi deteksi secara imunohistokimia, uji HI dan hambatan NA, ELISA, PCR, dan beberapa teknik harus mengkombinasikan subtipe HA dan NA. Pengambilan sampel dapat dilakukan dari *swab* bagian nasal dan bagian faring dari babi yang masih hidup, dan darah dari babi yang mengalami infeksi virus influenza pandemik H1N1-2009 secara akut maupun kronis (McCracken, 2009).

Diagnosa influenza pandemik H1N1-2009 ditegakkan berdasarkan gejala klinis dan dengan RT-PCR yang dilakukan hanya untuk pasien yang dirawat, kluster, dan kasus-kasus influenza yang tidak lazim. Pemeriksaan penunjang yang diperlukan pada pasien yang dirawat adalah laboratorium berupa darah perifer lengkap, tes fungsi hati, tes fungsi ginjal, dan pemeriksaan lainnya tergantung indikasi (McCracken, 2009).

### 2.1.7. Pengobatan Infeksi

Direkomendasikan pemberian oseltamivir (Tamiflu) dan zanamivir (Relenza), tetapi sering resisten bila diberi amantidin dan rimantidin sebagai penghambat neuraminidase (Ito, *et al.*, 2009; Erratum, 2009).

Pemberian antibiotik direkomendasikan untuk diberikan bila terjadi pneumonia berdasarkan *evidence based* dan pedoman pneumonia komunitas. Tidak direkomendasikan pemberian antibiotik profilaksis. Antibiotik untuk pasien dewasa rawat inap non ICU yang dianjurkan adalah fluorokuinolon atau  $\beta$ -laktam + makrolid. Pasien yang alergi penisilin dapat diberikan fluorokunolon atau aztreonam (Nidom, 2010).

### 2.1.8. Pencegahan dan Penanganan

Vaksin influenza musiman A dan B (*seasonal influenza vaccine*) yang tersedia tidak bermanfaat untuk mencegah virus influenza pandemik H1N1-2009 pada manusia. Pencegahan penyebaran virus influenza pandemik H1N1-2009 dimasyarakat perlu diupayakan pembuatan vaksin influenza pandemik H1N1-2009 (Neuman, *et al.*, 2009).

Pencegahan untuk terjadinya infeksi influenza pada babi, yaitu melakukan biosekuriti yang ketat. Segera memisahkan babi yang tampak tidak sehat, peternakan didesinfeksi secara berulang dengan menggunakan sistem rotasi bahan desinfektan. Babi yang sakit diobati dengan antibiotik untuk mencegah terjadinya infeksi ikutan oleh kuman-kuman yang lebih ganas. Orang menderita influenza sebaiknya dihindarkan berada di sekitar ternak babi. Beberapa negara secara rutin

melakukan vaksinasi untuk mencegah terjadinya flu babi pada peternakan babi (Depkes RI, 2009).

Dalam rangka pencegahan dan penanggulangan flu babi untuk mencegah pandemik influenza A H1N1 di Indonesia, pemerintah melalui Departemen Kesehatan Republik Indonesia yang menetapkan enam strategi Indonesia dalam kesiapsiagaan pandemik influenza sebagai berikut : penguatan Kantor Kesehatan Pelabuhan (KKP), logistik terutama obat, penyiapan rumah sakit, penguatan surveilans epidemiologi, penguatan laboratorium, komunikasi informasi dan edukasi (KIE) (Depkes RI, 2009).

## **2.2. Tinjauan Tentang Babi**

Babi termasuk hewan mamalia yang berbadan besar, mempunyai moncong yang fleksibel, berkaki dan ekor yang pendek. Babi memiliki kulit yang tebal tetapi sangat sensitif (MSN, 2010). Babi adalah hewan 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 dengan lingkungannya. Babi sering digunakan sebagai hewan coba produk untuk manusia, karena mempunyai beberapa kesamaan pada organ digesti, urogenital dan kardiovaskular (Lumb, 2003).

Masalah yang paling umum terjadi pada babi adalah stress. Stress bisa karena pengangkutan dan adaptasi dengan lingkungan yang baru. Ketika seekor

babi stress, 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 pseudorabies dan disentri babi (Rouche and Systma, 2007).

Klasifikasi dari babi secara lengkap adalah sebagai berikut (Lumb, 2003) :

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Artiodactyla
Famili	: Suidae
Upafamili	: Suinae
Genus	: <i>Sus</i>
Spesies	: <i>Sus barbatus</i> , <i>Sus bucculentus</i> , <i>Sus cebifrons</i> , <i>Sus celebensis</i> , <i>Sus domesticus</i> , <i>Sus heureni</i> , <i>Sus philippensis</i> , <i>Sus salvanius</i> , <i>Sus scrofa</i> , <i>Sus timoriensi</i> , dan <i>Sus verrucosus</i> .

### 2.2.1. Virus Influenza Pandemi H1N1-2009 pada Babi

Virus Influenza pandemi H1N1-2009 adalah strain baru dari virus influenza pandemi A/H1 2009 yang bersifat patogen pada manusia, unggas, kuda, dan babi (Flemming, 2005). Virus influenza A (H1N1) pertama kali ditemukan pada babi pada tahun 1930. Babi tersebut menunjukkan adanya antigen yang mirip dengan virus A (H1N1) 1918 pada manusia (Tumpey, *et al.*, 2005).

Tahun 1930 hingga akhir tahun 1990 virus flu babi klasik relatif menunjukkan antigen yang stabil (Vincent, 2006).

Penelitian genetika telah menunjukkan bahwa virus influenza pandemik H1N1-2009, yang pertama kali diidentifikasi pada april 2009 kenyataannya gen virus influenza A/H1 telah beredar selama 10 tahun terakhir pada babi. Beragam studi dalam satu tahun terakhir telah menunjukkan babi di Kanada dan negara lain tertular virus influenza pandemik H1N1-2009, yang terbukti dibawa ke hewan oleh manusia. Virus influenza pandemik H1N1-2009 pada umumnya hanya menyerang babi, tetapi karena adanya mutasi maka virus ini berubah sifat sehingga mampu menginfeksi manusia.

### **2.3. Tinjauan Tentang Rumah Potong Hewan Pegirian**

Propinsi Jawa Timur adalah salah satu propinsi di Indonesia yang pernah ditemukan kasus positif dan termasuk memiliki kasus tinggi penyakit Avian Influenza ataupun Influenza A-H1N1. Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya adalah pusat pemotongan ternak babi yang berasal dari Jawa Timur seperti Tulungagung, Malang, Banyuwangi, dan kota lain dengan kisaran 125 ekor babi yang dipotong tiap hari. Oleh karena itu, Surabaya sebagai kota dengan penduduk yang sangat besar harus waspada terhadap munculnya Influenza A-H1N1 (Dinkes Sby, 2009).

#### 2.4. Tinjauan Tentang Uji *Hemagglutination Inhibition* (HI test)

Terbentuknya antibodi spesifik terhadap *haemagglutinin* virus dapat menghambat terjadinya haemagglutinasinya. Reaksi penghambatan ini kemudian disebut uji hambatan hemagglutinasinya (*Hemagglutination Inhibition / HI test*). Uji HI biasanya dilakukan setelah uji hemagglutinasinya (*Hemagglutination / HA test*) dilakukan. Reaksi hambatan hemagglutinasinya ini dapat membantu diagnosis laboratorium dalam melakukan identifikasi virus. Selain itu, juga 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 hasil infeksi (Ernawati dkk, 2004). Uji HI antigen kontrol yang positif dan antiserum yang sesuai seharusnya memberikan hasil yang tetap ketika dibandingkan dengan uji sebelumnya.

Uji HI pertama kali dijelaskan oleh Hirst pada tahun 1942 yang selanjutnya dimodifikasi dengan menggunakan mikropelat oleh Salk pada tahun 1994. Prinsip umum dari pengujian ini adalah bercampurnya antigen dengan jumlah tertentu dan antibodi yang telah diencerkan secara serial, sedangkan eritrosit yang ditambahkan berfungsi untuk menunjukkan ikatan spesifik antara antibodi dengan molekul *hemagglutinin* yang ada dalam virus (WHO, 2002).

Metode diagnosis yang dapat digunakan untuk pemeriksaan serologis antara lain *Complement Fixation Test* (CFT) dan *Agar Gel Precipitation Test* (AGPT), tetapi WHO (2002) lebih menyarankan menggunakan uji HI untuk mendeteksi adanya antibodi dalam serum darah.

#### 2.4.1. Penggunaan *Receptor Destroying Enzyme* (RDE)

Antibodi dalam tubuh tidak hanya mengandung antibodi spesifik terhadap *hemagglutinin* virus influenza A, tetapi juga komponen selain antibodi yang juga memiliki kemampuan untuk mengaglutinasi eritrosit. Agar hasil pengujian dengan uji HI menunjukkan hasil yang valid, substansi non spesifik ini harus dihilangkan (WHO, 2002).

Metode yang digunakan untuk menghilangkan substansi non spesifik dari serum yang mampu mengaglutinasi eritrosit adalah dengan menambahkan satu bagian volume serum darah dengan tiga bagian volume RDE (*Receptor Destroying Enzyme*). Dalam hal ini WHO lebih menganjurkan penggunaan RDE dalam sampel serum yang akan diuji dalam uji HI terhadap *hemagglutinin* virus influenza, agar dapat memperoleh hasil yang akurat (WHO, 2002).



## **BAB 3**

# **MATERI DAN METODE**

## BAB 3 MATERI DAN METODE

### 3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian deskriptif observasional. Pengambilan sampel dilakukan dengan metode *non random sampling*, jenis sampelnya adalah sampel terencana yaitu sudah ditentukan sejak awal pada babi yang di potong di Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya.

### 3.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Pengambilan sampel dilaksanakan pada bulan Juli 2010 hingga Desember 2010 di Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya. Pengujian sampel dilakukan pada bulan Februari 2011 di Laboratorium Avian Influenza, *Institute of Tropical Disease*, Universitas Airlangga Surabaya.

### 3.3. Alat dan Bahan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dalam *bio-safety level 3* (BSL-3) dengan peralatan *bio-safety cabinet class 3* (BSC-3), lemari es, pipet hisap, pipet pasteur, *autoclave*, *microtube* steril, gelas beker, tabung centrifuge, rak tabung reaksi, sentrifuge, *freezer*, *ice box*, *ice pack*, *microplate* "U", *micropipet* 100  $\mu$ l dan 1000  $\mu$ l, *micropipette multichannel*, eppendorf, selotip kertas, *yellow* dan *blue tip*, kasa pengapung, *timer*, gabus berlubang, *bolpoin*, *gloves* dan masker.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serum darah dari babi, antigen virus influenza pandemik H1N1-2009 aktif yang diisolasi manusia,

eritrosit marmut, larutan *Phosphat Buffer Saline* (PBS), larutan *Receptor Destroying Enzyme* (RDE), aquadest steril, alkohol 70 % dan *Etylen Diamin Tetra Acetic Acid* (EDTA).

### **3.4. Metode Penelitian**

#### **3.4.1. Lokasi Pengambilan Sampel**

Pengambilan sampel dilakukan di Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya.

#### **3.4.2. Teknik Pengambilan Sampel Darah**

Sampel serum didapatkan dari darah babi yang dipotong oleh seorang jagal, kemudian sampel darah ditampung di tabung vacutainer dan langsung dimasukkan dalam *ice box* yang telah berisi *ice packs*, dan secepatnya dikirim ke laboratorium.

#### **3.4.3. Penanganan Sampel Darah dan Serum di Laboratorium**

Sampel darah yang diperoleh, disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam keesokan harinya disentrifus dengan kecepatan 1500 rpm selama 10 menit, agar serum tersebut benar-benar terpisah dari sel-sel darah. Serum diambil dan dipisahkan pada eppendorf sedangkan endapannya dibuang. Sampel serum kemudian disimpan pada suhu - 20°C.

Sampel serum sebelum diuji dengan uji HI dilakukan treatment RDE terlebih dahulu dengan cara sampel serum ditambah RDE dengan perbandingan

satu bagian serum dan tiga bagian RDE, selanjutnya diinkubasi pada suhu 30°C selama 18 - 22 jam. Setelah itu sampel tersebut dinaktifkan pada suhu 56°C selama 30 menit, supaya zat yang tidak spesifik dan komplemen menjadi inaktif. Selanjutnya sampel diletakkan pada suhu ruang, kemudian ditambahkan enam bagian PBS sehingga didapatkan pengenceran 1 : 10.

### **3.4.4. Perlakuan Serum**

#### **3.4.4.1. Cara Pengambilan Darah Marmut**

Pengambilan darah marmut langsung dari jantung. Jarum suntik dimasukkan ke jantung melalui kartilago *xypoid* ke arah kiri bagian tengah. Arah jarum membentuk sudut 20-30 derajat dari arah *sternum* masuk ke dalam jantung. Penyedotan darah harus hati-hati dan pelan-pelan mengikuti tekanan jantung. Jarum suntik yang digunakan adalah 22 G (Joslin, 2009).

#### **3.4.4.2. Pencucian *Red Blood Cell* (RBC) Marmut**

Pencucian RBC ini bertujuan untuk mendapatkan RBC murni. Eritrosit marmut diperoleh dengan mengambil darah dari *intracardiac* sebanyak 1 ml, kemudian dimasukkan dalam tabung yang berisi antikoagulan EDTA. Darah yang telah terkumpul dipindahkan ke *conical* 15 ml dan ditambah dengan PBS sebanyak 10 ml, selanjutnya disentrifuse 1500 rpm selama 10 menit. Supernatan dibuang, kemudian ditambah PBS sampai 15 ml dan dilakukan sentrifuse lagi. Kegiatan ini diulang sampai tiga kali atau sampai supernatan jernih, hal ini dilakukan agar tidak ditemukan sel-sel lain yang lisis.

### 3.4.4.3. Pembuatan Suspensi Eritrosit Marmut 0,75%

Pembuatan suspensi eritrosit 0,75% dilakukan dengan cara;

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$100 \% \times V_1 = 0,75 \% \times 5 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{0,75 \% \times 5 \text{ ml}}{100 \%}$$

$$V_1 = 0,0375 \text{ ml}$$

$$V_1 = 37,5 \mu\text{l}$$

Dengan,  $N_1$  = Konsentrasi eritrosit awal

$V_1$  = Volume eritrosit awal

$N_2$  = Konsentrasi eritrosit akhir (yang diinginkan)

$V_2$  = Volume eritrosit akhir (yang diinginkan)

Jadi untuk membuat suspensi eritrosit 0,75% dari eritrosit 100% = 0,0375 ml eritrosit 100% + 4,9625 ml PBS per plate.

### 3.4.4.4. Uji Hemaglutinasi (HA) Mikroteknik

Uji hemaglutinasi (HA) digunakan untuk mengetahui titer awal antigen yang akan digunakan dalam uji hambatan hemaglutinasi. Selain itu juga digunakan untuk retitrasi antigen dengan tujuan memastikan titer antigen yang digunakan.

Bahan dan alat yang digunakan dalam uji ini adalah larutan PBS, antigen yang diperiksa merupakan isolasi virus influenza pandemik H1N1-2009 isolat

manusia yang berasal dari Surabaya, suspensi eritrosit marmut 0,75%, *microplate* “U”, *micropipet* 25  $\mu$ l dan 50  $\mu$ l.

Prosedur uji hemaglutinasi mikroteknik diawali dengan memasukkan PBS sebanyak 50  $\mu$ l tiap lubang *microplate* “U”, kecuali lubang pertama. Antigen dimasukkan sebanyak 100  $\mu$ l ke dalam lubang pertama, kemudian dibuat pengenceran secara serial dengan mengambil 50  $\mu$ l dari lubang pertama dan dituang ke lubang kedua, selanjutnya dicampur sampai rata dan diambil sebanyak 50  $\mu$ l dari lubang kedua ke lubang ketiga, demikian seterusnya sampai lubang sebelas, sisa 50  $\mu$ l dibuang dan semua lubang diisi dengan eritrosit marmut 0,75% sebanyak 50  $\mu$ l, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit sampai 60 menit. Langkah terakhir dilakukan penentuan titer uji HA dari sampel yang diperiksa. Hasil uji HA positif dinyatakan dengan terbentuknya aglutinasi pada lubang *microplate* “U” (WHO, 2002; OIE, 2010).

#### 3.4.4.5. Retitrasi Antigen Delapan HA Unit

Retitrasi adalah suatu metode untuk menguji ketepatan pengenceran antigen yang akan digunakan dalam uji hambatan hemaglutinasi. Cara pengujian yang dilakukan sama dengan metode hemaglutinasi.

Setelah mengetahui hasil titer hemaglutinasi antigen, kemudian diencerkan sampai mencapai delapan HA unit, dengan rumus  $N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$ , dengan keterangan  $N_1$  = titer antigen awal,  $V_1$  = volume antigen awal,  $N_2$  = titer antigen delapan HA unit, dan  $V_2$  = volume antigen akhir.

Prosedur untuk retitrasi antigen delapan HA unit adalah pengisian 50  $\mu$ l PBS ke dalam lubang *microplate* nomor satu sampai nomor lima, kemudian antigen yang telah diencerkan menjadi delapan HA unit dimasukkan pada lubang nomor satu sebanyak 50  $\mu$ l. Selanjutnya dilakukan pengenceran serial dengan mengambil 50  $\mu$ l dari lubang nomor satu dipindah ke nomor dua, dicampur sampai rata kemudian diambil dan dimasukkan pada lubang nomor tiga. Kegiatan ini dilakukan terus sampai lubang nomor empat, sisa 50  $\mu$ l dibuang. Pada lubang nomor lima digunakan sebagai kontrol negatif. Selanjutnya semua lubang ditambah dengan eritrosit marmut 0,75% sebanyak 50  $\mu$ l. Setelah itu inkubasi dalam suhu kamar selama 30 menit sampai 60 menit. Bila pengenceran antigen delapan HA tepat, maka pada lubang nomor satu sampai tiga akan terjadi aglutinasi.

#### **3.4.4.6. Uji Hambatan Hemaglutinasi (*Hemagglutination Inhibition, HI test*)**

##### **Mikroteknik**

Uji HI dapat digunakan untuk membantu diagnosis laboratorium dalam melakukan identifikasi virus, selain itu uji HI juga dapat digunakan untuk menentukan status kekebalan setelah vaksinasi, hewan sembuh dari penyakit, hewan baru terinfeksi penyakit atau sudah lama terinfeksi penyakit.

Uji HI adalah pemeriksaan serologis yang membuktikan pembentukan antibodi spesifik *hemagglutinin* (HA) dari virus influenza pandemik A/H1 2009 dalam serum darah. Sampel yang diperiksa adalah serum darah babi. Pada penelitian kali ini pengujian yang digunakan adalah uji HI dengan menggunakan

eritrosit marmut 0,75 %, sampel serum darah babi, antigen virus influenza pandemik H1N1-2009 aktif yang diisolasi dari manusia dan PBS. Sebelum dilakukan pengujian, serum harus mendapat perlakuan khusus dengan menambahkan *Receptor Destroying Enzyme* (RDE) untuk menghilangkan substansi non spesifik dari sampel serum yang mampu mengaglutinasi eritrosit (WHO, 2002). Serum sebanyak 50  $\mu$ l ditambah 150  $\mu$ l RDE dan dicampur hingga merata, kemudian diinkubasi dalam *waterbath* pada suhu 37°C selama 12 jam sampai 18 jam. Setelah itu dinaktivasi pada suhu 56°C selama 30 menit untuk menghentikan kerja RDE.

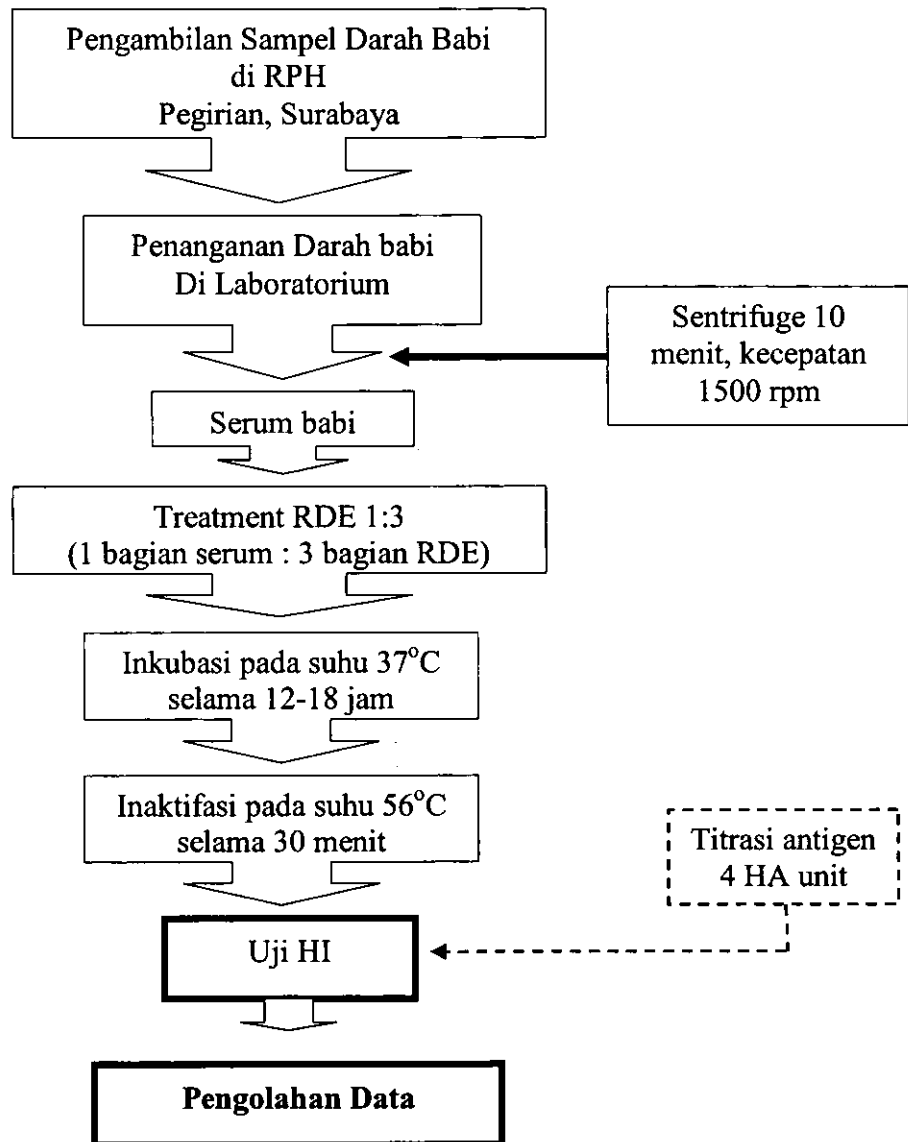
Langkah-langkah dalam uji HI mikroteknik diawali dengan memasukkan 25  $\mu$ l PBS kedalam tiap lubang *microplate* "U", kecuali lubang pertama. Sampel serum yang telah mendapatkan perlakuan dimasukkan kedalam lubang pertama sebanyak 50  $\mu$ l, kemudian dibuat pengenceran secara serial dengan cara mengambil 25  $\mu$ l dari lubang pertama kemudian dituang ke lubang kedua dan dihomogenkan, lakukan terus sampai lubang sebelas dan sisa 25  $\mu$ l dibuang. Selanjutnya semua lubang *microplate* diisi dengan antigen 4 HA unit sebanyak 25  $\mu$ l. Setelah penambahan antigen, *microplate* digoyang hingga serum dan antigen merata, kemudian diinkubasi pada suhu 22-25°C selama 30 menit. Selanjutnya semua lubang diisi dengan eritrosit marmut 0,75 % sebanyak 50  $\mu$ l, goyang perlahan kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit sampai 60 menit. Langkah terakhir dilakukan penentuan titer HI dari sampel yang diperiksa. (OIE, 2010).



Reaksi hambatan hemaglutinasi dinyatakan dengan terjadinya pengendapan eritrosit berbentuk cincin pada dasar lubang *microplate* "U".

Pembacaan hambatan aglutinasi dengan cara memiringkan *microplate* "U" dan hanya lubang - lubang dengan kecepatan aliran eritrosit yang cepat yang menunjukkan inhibisi. Titer uji HI dikatakan positif jika terdapat inhibisi pada pengenceran serum  $\geq 1: 20$  (Reeth *et al*, 2004).

### 3.5. Alur Metode Penelitian



Gambar 3.1. Alur metode penelitian.

### 3.6. Pengolahan Data

Data sampel positif yang didapat dan jumlah keseluruhan sampel yang diperoleh disajikan dalam bentuk deskriptif (Martin *et al.*, 1987), yaitu menghitung persentase hasil uji serologis positif dengan total keseluruhan sampel yang didapat.

## **BAB 4**

# **HASIL PENELITIAN**

## BAB 4 HASIL PENELITIAN

Sampel serum darah babi dalam penelitian ini diambil di Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya berasal dari beberapa daerah antara lain Kediri, Madiun, Tulungagung, Malang dan Solo. Pengambilan sampel dilakukan pada bulan Juli sampai bulan Desember. Sampel yang diperiksa berupa sampel serum darah sebanyak 120 sampel. Pengujian sampel dilaksanakan di Laboratorium Avian Influenza, *Institute of Tropical Disease*, Universitas Airlangga Surabaya. Pengujian dengan uji hambatan hemaglutinasi (HI) dilaksanakan pada tanggal 15 Februari 2011. Hasil pengujian serum darah babi dengan uji hambatan hemaglutinasi (HI) ditampilkan dalam tabel di bawah ini.

**Tabel 4.1.** Persentase hasil uji HI terhadap virus influenza pandemik A/H1 2009 pada serum babi di Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya.

Lokasi	Sampel Positif	Sampel Negatif	Total Sampel	Persentase Positif
RPH Pegirian	0	120	120	0%

\*RPH = Rumah Potong Hewan

Hasil yang didapatkan pada penelitian ini berdasarkan pada pemeriksaan serologis menggunakan uji HI.

Berdasarkan hasil pengujian dari 120 sampel yang diperiksa, ditemukan bahwa babi di Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya tidak mengandung antibodi terhadap virus influenza pandemik A/H1 2009 dalam serum darahnya.

Reaksi hambatan hemaglutinasi (HI) dinyatakan dengan terjadinya pengendapan eritrosit pada dasar lubang *microplate* "U" yang terlihat seperti pada

# **BAB 5**

## **PEMBAHASAN**

## BAB 5 PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa hasil pemeriksaan serum babi dari Rumah Potong Hewan Pergirian Kota Surabaya dengan uji hambatan hemaglutinasi (*Hemagglutination Inhibition, HI test*) dari 120 sampel yang diperiksa tidak mengandung antibodi terhadap virus influenza pandemik A/H1 2009 dalam serum darahnya.

Reaksi hambatan hemaglutinasi (HI) dinyatakan dengan terjadinya pengendapan eritrosit pada dasar *microplate* “U” yang terlihat seperti pada kontrol. Titer uji HI dikatakan positif jika terdapat inhibisi pada pengenceran serum  $\geq 1:20$  yang menunjukkan bahwa antibodi tersebut terbentuk akibat infeksi yang berasal dari subtipe virus yang sama dengan antigen yang digunakan dalam uji HI tersebut (Reeth *et al*, 2004).

Virus influenza pandemik H1N1-2009 disinyalir mulai beredar pada babi secara subklinis sejak November 2008 hingga Maret 2009. Virus influenza pandemi H1N1-2009 termasuk dalam kelompok virus influenza tipe A yang mudah mengalami perubahan minor pada struktur sekuensnya atau perubahan struktur antigen yang disebut *antigenic drift*. Sedangkan *antigenic shift* merupakan *reassortment* dari dua atau lebih jenis antigen.

Babi dapat terserang oleh virus influenza asal unggas maupun berasal dari manusia. Jika virus yang berasal dari unggas maupun manusia berhasil menginfeksi babi, maka bisa terjadi proses *reassortment* dan terbentuk virus baru.

Babi yang dijadikan sampel dalam penelitian ini adalah babi yang berada di Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya dan berasal dari beberapa kota di Jawa Timur yang meliputi Kediri, Madiun, Tulungagung, Malang, dan Solo. Jenis sampelnya adalah sampel terencana yaitu sudah ditentukan sejak awal pada babi yang dipotong di Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya karena merupakan pusat pemotongan hewan babi yang berasal dari beberapa daerah di Jawa Timur. Metode pengambilan sampelnya adalah *non random sampling* / tidak acak karena peneliti tidak mempunyai data pasti tentang ukuran populasi dan informasi lengkap tentang setiap elemen populasi. Jumlah sampel yang diambil belum bisa dijadikan ukuran untuk mengestimasi populasi karena pada penelitian yang menggunakan pengolahan data kualitatif, ukuran sampel bukan menjadi nomor satu.

Tidak terdeteksinya antibodi dalam serum babi yang diambil dari beberapa lokasi di Jawa Timur yang dipusatkan di RPH Pegirian Kota Surabaya menunjukkan bahwa kemungkinan tidak terjadinya penularan influenza A/H1 pada babi yang potong. Seperti laporan sebelumnya, munculnya wabah pandemi mulai tahun 1918, virus influenza pandemik A/H1 2009 juga sering menginfeksi pada babi. Pandemi pada babi ini pertama dikenal sejak tahun 1918, pada saat itu didunia sedang terdapat wabah penyakit influenza secara pandemik pada manusia yang menelan korban sekitar 21 juta orang meninggal dunia (Hampson, 1996). Kemudian pada tahun 1977 juga ditemukan wabah pandemik virus influenza H1N1 pada babi di Rusia, dan ditemukannya virus influenza pandemik H1N1-2009 pada babi di meksiko.

Dari pengamatan yang dilakukan di Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya bahwa Pemerintah Provinsi Jawa Timur telah melakukan pengawasan ketat terhadap Rumah Potong Hewan (RPH) babi di Pegirian, Kota Surabaya. Setiap hewan yang masuk langsung mendapat pemeriksaan dokter hewan setempat dan juga melalui proses karantina. Pihak Rumah Potong Hewan Pegirian juga melakukan koordinasi dengan daerah pemasok, yaitu Madiun, Kediri, Malang, Tulungagung, dan Solo, agar setiap babi yang dikirim ke RPH Pegirian harus disertai dengan surat keterangan kesehatan dari Dokter Hewan.

Pengamatan terhadap serum babi yang diambil pada bulan Juli 2010 hingga Desember 2010 menunjukkan hasil yang negatif. Hal itu mungkin dikarenakan pada pertengahan tahun 2010 jumlah total kasus influenza pandemik H1N1-2009 sudah mengalami penurunan dibandingkan pada awal munculnya kasus influenza H1N1-2009 pada bulan April 2009, setelah WHO menyatakan bahwa kasus influenza pandemik H1N1-2009 sudah memasuki fase pasca-pandemi pada bulan Agustus 2010. Kemungkinan lain tidak ditemukannya antibodi dikarenakan virus belum mengalami replikasi ke dalam sel dan menempel pada dinding rongga hidung sehingga tidak ditemukan antibodi di dalam serum darah yang di uji.

Tidak ditemukannya titer antibodi dari hasil uji HI yang telah dilakukan terhadap 120 sampel serum babi yang berada di Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya belum bisa menunjukkan bahwa babi yang dipotong tersebut sedang terinfeksi virus influenza pandemik A/H1 2009, dikarenakan proses terbentuk antibodi terhadap virus influenza pandemik A/H1 2009 membutuhkan



waktu 3 – 7 hari setelah infeksi dan akan mengalami puncak pada minggu kedua serta masih dapat terlihat selama 4 -7 minggu setelah infeksi. Selain itu juga belum bisa menunjukkan bahwa babi yang dipotong pernah terinfeksi virus influenza pandemik A/H1 2009 karena antibodi terhadap infeksi virus influenza pandemik A/H1 2009 dapat hilang atau tidak ditemukan setelah beberapa tahun mengalami infeksi.

Tidak ditemukannya antibodi terhadap terhadap virus influenza pandemik A/H1 2009 pada babi yang dipotong di Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya berdasarkan uji HI dengan menggunakan RBC marmut sebesar 0,75% menunjukkan bahwa babi yang dipotong tidak terinfeksi virus influenza pandemik A/H1 2009. Hal ini berarti juga tidak ditemukan gejala klinis yang biasa disebabkan karena infeksi virus influenza pandemik A/H1 2009 pada babi seperti peningkatan suhu tubuh, depresi, batuk, keluar cairan dari hidung atau mata, bersin, susah bernafas, mata merah, nafsu makan berkurang, dan mengakibatkan kematian.

## **BAB 6**

# **KESIMPULAN DAN SARAN**

## **BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN**

### **6.1. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

Hasil pemeriksaan serum darah babi dari Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya dengan uji HI menunjukkan bahwa tidak ditemukan adanya antibodi terhadap virus influenza pandemik A/H1 2009 pada 120 sampel serum babi yang diperiksa.

### **6.2. Saran**

Berdasarkan hasil penelitian dan kesimpulan yang telah dilakukan, saran yang dapat dikemukakan adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui infeksi virus influenza pandemik A/H1 2009 di peternakan babi.
2. Perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut terhadap infeksi H1 pada babi dengan pengujian menggunakan usapan hidung.
3. Perlu dilakukannya penelitian yang berkelanjutan karena mudahnya virus influenza A, terutama H1N1 mengalami mutasi.

# RINGKASAN

## RINGKASAN

**Diyantoro.** Penelitian dengan judul “ Deteksi Antibodi Virus Influenza Pandemik A/H1 2009 pada serum babi di Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya” di bawah bimbingan Dr. Chairul Anwar Nidom, drh., M.S., selaku pembimbing pemilik penelitian, Agus Sunarso, drh., M.Sc selaku Dosen Pembimbing Utama dan Emy Koestanti S., drh., M.Kes selaku Dosen Pembimbing Serta. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi adanya antibodi terhadap virus influenza pandemik A/H1 2009 pada serum babi di Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya.

Virus influenza pandemik H1N1-2009 termasuk dalam virus influenza tipe A dari famili *Orthomyxoviridae* (Nidom, 2010). Virus influenza tipe A bersifat patogen pada manusia, kuda, unggas, dan babi, sangat mudah bermutasi (*drift* dan *shift*) serta menyebabkan ancaman epidemi dan pandemi (Rantam, 2005).

Virus influenza pandemik H1N1-2009 memiliki antigen permukaan *Hemagglutinin* (HA) yang memungkinkan virus dapat mengaglutinasi eritrosit. *Hemagglutinin* memiliki kemampuan untuk terikat pada permukaan sel dan juga memiliki kemampuan dalam menimbulkan respons antibodi inang dalam memberikan perlindungan terhadap infeksi virus influenza (Suzuki, 2006).

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi adanya antibodi terhadap virus influenza pandemik A/H1 2009 pada serum darah yang didapat dari babi yang dipotong di Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya.

Secara serologis, akan dideteksi adanya antibodi terhadap virus influenza pandemik H1N1-2009 dalam darah pada individu yang terinfeksi virus influenza pandemik H1N1-2009. Babi yang pernah terpapar atau telah terinfeksi virus influenza pandemik H1N1-2009 dalam serum darahnya dapat ditemukan adanya antibodi (Rello, 2009).

Jenis penelitian ini termasuk dalam penelitian *observasional study*, sampelnya terencana dan pengambilan sampelnya dilakukan dengan metode *non random sampling*. Koleksi sampel serum darah diperoleh dari babi yang dipotong oleh seorang jagal di Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya. Penelitian ini telah dilaksanakan selama 8 bulan, dimulai pada bulan Juli 2010 hingga Februari 2011. Pemeriksaan terhadap sampel serum menggunakan uji hambatan hemaglutinasi (HI). Antigen yang digunakan harus memiliki titer 8 HAU/50 $\mu$ l. Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk data deskriptif.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa hasil pemeriksaan serum babi dari Rumah Potong Hewan Pergirian Kota Surabaya dengan uji hambatan hemaglutinasi (HI) dari 120 sampel yang diperiksa tidak mengandung antibodi terhadap virus influenza pandemik A/H1 2009 dalam serum darahnya. Untuk itu disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui infeksi influenza pandemik A/H1 2009 dipeternakan babi dan perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut terhadap infeksi HI pada babi dengan pengujian yang lebih spesifik.

# DAFTAR PUSTAKA

## DAFTAR PUSTAKA

- Agri-Food and Veterinary Authority (AVA)*. 2009. H1N1 virus found in pigs. <http://footsafety.suencs.com/archives/5726>. [diakses 12 desember 2010].
- Bermejo-Martin, J.F., Ortiz de Lejarazu, R., Pumarola, T., 2009. Th1 and Th17 hypercytokinemia as early host response signature in severe pandemic influenza. *Crit Care* 2009 ;13: R201-R201.
- Blood, D.C., and Radostits, O.M. 1989. Swine Influenza. In “*Veterinary Medicine*”. A Textbook of the disease of cattle, sheep, pigs, goats, and horses, 7<sup>th</sup> ed. Bailliere Tindall, London, Philadelphia, Sydney, Tokyo, Toronto : 888-890.
- Cauchemez, S., Donnelly, C.A., and Reed, C. 2009. Household transmission of 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus in the United States. *N Engl J Med* 2009;361: 2619-2627.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2009. Swine influenza A (H1N1) infection in two children-southern California, March–April 2009, *MMWR Morb. Mortal Wkly. Rep.* 58 (2009) 400–402.
- Centers for Disease Control, Prevention (CDC). 2010. Estimates of 2009 H1N1 influenza cases, hospitalizations and deaths in the United States. [http://flu.gov/individualfamily/about/h1n1/estimates\\_2009\\_h1n1.html](http://flu.gov/individualfamily/about/h1n1/estimates_2009_h1n1.html). [diakses 15 agustus 2010]
- Chan, M.C., Chan, R.W., Yu, W.C., 2010. Tropism and innate host responses of the 2009 pandemic H1N1 influenza virus in ex vivo and in vitro cultures of human conjunctiva and respiratory tract. *Am J Pathol* 2010;176:1828-1840.
- Childs, R.A., Palma, A.S., and Wharton, S., 2009. Receptor-binding specificity of pandemic influenza A (H1N1) 2009 virus determined by carbohydrate microarray. *Nat Biotechnol* ;27:797-799
- Detikhealth. 2009. Flu Babi, Virus Paling heboh di 2009. <http://www.ilunfk83.com/kesehatan> - ilmu - kedokteran - f8 / influenza-penyakit-virus-lain-t179-15.htm [diakses 15 agustus 2010]
- Dinkes Sby, 2009. Waspada Terhadap Kemungkinan Munculnya Strain Virus Baru. 29 Oktober 2009. <http://www.surabaya-ehealth.org/dkksurabaya/berita/rapat-koordinasi-lintas-sektor-penanggulangan-virus-influenza.htm> [diakses 21 agustus 2010].



- Ernawati, R., Rahardjo, A.P., Sianita, N., Rahmahani, J., Rantam, F.A., Tjahjaningsih, W., dan Suwarno. 2004. Petunjuk Praktikum Pemeriksaan Virologik dan Serologik. Laboratorium Virologi dan Imunologi Bagian Mikrobiologi Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Erratum. 2009. Novel Swine-Origin Influenza A (H1N1) Virus Investigation Team Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans. *N Engl J Med* 2009;360:2605-2615.
- Fleming, D., 2005. Influenza pandemics and avian flu. *BMJ* 2005; 331: 1066–1069.
- Fleury, H., Burrel, S., and Weber, C.B., 2009. Prolonged shedding of influenza A(H1N1) virus : two case reports from France 2009. *Euro Surveillance* 2009;14:pii19434-pii19434
- Garten, RJ, Davis, CT, and Russell, CA. 2009. Antigenic and genetic characteristics of swine-origin 2009 A (H1N1) influenza viruses circulating in humans. *Science* 2009; 325:197.
- Gill, J.R., Sheng, Z., and Ely, S.F., 2010. Pulmonary pathologic findings of fatal 2009 pandemic influenza A/H1N1 viral infections. *Arch Pathol Lab Med* 2010;134:225-243
- Hampson, A. 1996. Influenza-Dealing with acontinually emerging disease. *In Communicable Diseases Intelligence.* (20) 9:212-216.
- Harder, T.C., and Werner, O., 2006. Avian Influenza. *N. Engl. J. Med.*
- Harris, R., 2010. Clinical Aspects of Pandemic (H1N1) 2009 Influenza. *New England Journal of Medicine* 2010; 362:1708-1719.
- Itoh, Y., Shinya, K., and Kiso, M., 2009. In vitro and in vivo characterization of new swine-origin H1N1 influenza viruses. *Nature* 2009;460:1021-1025.
- Joslin, J.O. 2009. Blood Collection Techniques in Exotic Small Mammals. *J. Of Exotic Pet Medicine* 18 : 117-139.
- Kompas, 2009. A-H1N1 Rambah 18 propinsi. *Kompas.* 4 Agustus 2009. <http://www.kompas.com/kesehatan - ilmu - kedokteran - f8 / influenza-penyakit-virus-lain-t179-15.htm> [diakses 15 agustus 2010]

- Lee, N., 2010. Pathogenesis of pandemic H1N1 in humans. Presented at the XII International Symposium on Respiratory Viral Infections, Taipei, Taiwan, March 11–14, 2010.
- Lumb, S. 2003. Internatonal pig Topics. Vol 18. East Yorkshire England.
- Maines, T.R., Jayaraman, A., Belser, J.A., *et al.*, 2009. Transmission and pathogenesis of swine-origin 2009 A(H1N1) influenza viruses in ferrets and mice. *Science*. 2009 Jul 24;325 (5939):484-7. Epub 2009 Jul 2.
- Martin, A.W., Meek, A.H., and Willeberg, P. 1987. *Veteriner Epidemiologi : Principales And Methods*. Iowa State University Press/Ames.
- Mauad, T., Hajjar, L.A., Callegari, G.D., 2010. Lung pathology in fatal novel human influenza A (H1N1) infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;181:72-79
- McCracken, J. 2009. Diagnosis of Swine-lineage influenza A (H1N1) virus infection. *The Lancet*. Vol 373 : 2107.
- MSN. 2010. Hog (Animal). <http://www.msn.com> [22 Juni 2010]
- Neumann, G., Noda, T., and Kawaoka, Y. 2009. Emergence and pandemic potential of swine-origin H1N1 influenza virus. doi:10.1038/nature08157. Vol 459
- Nidom, 2010. *Pandemik Influenza H1N1 2009*. Airlangga University Press. Surabaya.
- OIE, 2005. *Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animal*. Chapter 2.1.14. Avian Influenza. [http://www.oie.int/eng/norms/manual/A\\_00037.htm](http://www.oie.int/eng/norms/manual/A_00037.htm). Officer International des Epizooties.
- OIE, 2009. *Terrestrial Manual Chapter 2.8.8-Swine Influenza*. [http://www.oie.int/eng/norms/manual/A\\_00037.htm](http://www.oie.int/eng/norms/manual/A_00037.htm) Officer International des Epizooties.
- Osterlund, P., Pirhonen, J., Ikonen, N., 2010. Pandemic H1N1 2009 influenza A virus induces weak cytokine responses in human macrophages and dendritic cells and is highly sensitive to the antiviral actions of interferons. *J Virol* 2010;84:1414-1422.
- Rantam, F. A. 2005. *Virologi*. Airlangga University Press. Surabaya. 213-214.

- Reeth, K.V., Labarque, G., and Pansaert, M. 2004. Seroprevalence of swine influenza in Europe and interpretation of serological findings. *International Society for Animal Hygiene-Saint-Malo-2004*. 323-324.
- Rello, J., Rodrigues, A., Ibanez, P., *et al.*, 2009. Intensive care adult patients with severe respiratory failure caused by Influenza A (H1N1) virus in Spain. *Crit Care*. 13 (5) : R148.
- Ross, T., Zimmer, S., Burke, D., 2010. Seroprevalence following the second wave of pandemic 2009 H1N1 influenza. *PLoS Curr Influenza* 2010;24:RRN1148-RRN114.
- Rouche, A. and Systma, M. 2007. Feral Swine Action Plan for Oregon. Environmental Science and Resources. Portland State University.
- Russel, *et al.*, 2008. The global circulation of seasonal influenza A (H3N2). *Science* 320 (5874), 340-346.
- Science Biotech (2009). Fase pandemic influenza WHO 2009. <http://www.sciencebiotech.com/fase-pandemic-influenza.htm> [diakses 15 agustus 2010]
- Seth, J., Sullivan, M.D., Robert, M., Jacobsen, M.D. 2010. 2009 H1N1 Influenza. Mayo Foundation Medical Education and Research. ISSN : 0025-6196.
- Smith, G.J., Vijaykrishna, D., Bahl, J., Lycett, S.J., Worobey, M., Pybus, O.G., Ma, S.K., Cheung, C.L., Raghwani, J., Bhatt, S., Peiris, J.S., Guan, Y., Rambaut, A., 2009. Origins and evolutionary genomics of the 2009 swine-origin H1N1 influenza A epidemic. *Nature*. 2009 Jun 25;459 (7250) :1122-5.
- Sommerville, R.G. 1983. *Essential Clinical Virology*. Blackwell Scientific Publication. Oxford. 97-109.
- Stephenson I, Wood J.M, Nicholson K.G, Zambon M.C, 2004. Detection of Anti-H5 Responses in Human Sera by Using Horse Erythrocytes Following MF59-adjuvanted Influenza A/Duck/Singapore/97 vaccine. *Virus Research* 103 (2004) 91-95.
- Sugirahman, A. 2009. Analisis Perbandingan Penggunaan Eritrosit Monyet dan Eritrosit Kuda Dalam Pengujian Antibodi *Avian Influenza* Subtipe H5 pada Serum Babi. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Suzuki, Y., 2006. Natural selection on the influenza virus genome. *Molecular Biology and Evolution* 23 (10); 1902-1911.

- To, K.K., Hung, I.F., and Li, I.W., 2010. Delayed clearance of viral load and marked cytokine activation in severe cases of pandemic H1N1 2009 influenza virus infection.. *Clin Infect Dis* 2010;50:850-859
- Tumpey, T.M., *et al.*, 2005. Characterization of the Reconstructed 1918 Spanish Influenza Pandemic Virus. *Science*. Vol. 310 : 5745.
- WHO. 2002. WHO Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance. WHO/CDS/CSR/NCS/2002. 5. Rev. 1. <http://who.int>. [diakses 20 September 2010]
- WHO. 2010. Pandemic (H1N1) 2009 – update 94. Geneva. [http://www.who.int/csr/don/2010\\_04\\_01/en/index.html](http://www.who.int/csr/don/2010_04_01/en/index.html) [diakses 22 September 2010]

# LAMPIRAN

**Lampiran 1 : Tabel Data Hasil Deteksi Antibodi Virus Influenza A/H1 pada Serum Babi di Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya.**

<b>NO</b>	<b>KODE SAMPEL</b>	<b>HASIL UJI HI</b>	<b>ASAL</b>
1	B07-001	-	MADIUN
2	B07-002	-	MADIUN
3	B07-003	-	MADIUN
4	B07-004	-	MADIUN
5	B07-005	-	MADIUN
6	B07-006	-	MADIUN
7	B07-007	-	MADIUN
8	B07-008	-	MADIUN
9	B07-009	-	MADIUN
10	B07-010	-	MADIUN
11	B07-011	-	MADIUN
12	B07-012	-	MADIUN
13	B07-013	-	MADIUN
14	B07-014	-	MADIUN
15	B07-015	-	MADIUN
16	B07-016	-	MADIUN
17	B07-017	-	MADIUN
18	B07-018	-	MADIUN
19	B07-019	-	MADIUN
20	B07-020	-	MADIUN
21	B08-021	-	MALANG
22	B08-022	-	MALANG
23	B08-023	-	MALANG
24	B08-024	-	MALANG
25	B08-025	-	MALANG
26	B08-026	-	MALANG
27	B08-027	-	MALANG
28	B08-028	-	MALANG
29	B08-029	-	MALANG
30	B08-030	-	MALANG
31	B08-031	-	MALANG
32	B08-032	-	MALANG
33	B08-033	-	MALANG

34	B08-034	-	MALANG
35	B08-035	-	MALANG
36	B08-036	-	MALANG
37	B08-037	-	MALANG
38	B08-038	-	MALANG
39	B08-039	-	MALANG
40	B08-040	-	MALANG
41	B09-041	-	TULUNG AGUNG
42	B09-042	-	TULUNG AGUNG
43	B09-043	-	TULUNG AGUNG
44	B09-044	-	TULUNG AGUNG
45	B09-045	-	TULUNG AGUNG
46	B09-046	-	TULUNG AGUNG
47	B09-047	-	TULUNG AGUNG
48	B09-048	-	TULUNG AGUNG
49	B09-049	-	TULUNG AGUNG
50	B09-050	-	TULUNG AGUNG
51	B09-051	-	TULUNG AGUNG
52	B09-052	-	TULUNG AGUNG
53	B09-053	-	TULUNG AGUNG
54	B09-054	-	TULUNG AGUNG
55	B09-055	-	TULUNG AGUNG
56	B09-056	-	TULUNG AGUNG
57	B09-057	-	TULUNG AGUNG
58	B09-058	-	TULUNG AGUNG
59	B09-059	-	TULUNG AGUNG
60	B09-060	-	TULUNG AGUNG
61	B10-061	-	KEDIRI
62	B10-061	-	KEDIRI
63	B10-061	-	KEDIRI
64	B10-061	-	KEDIRI
65	B10-061	-	KEDIRI
66	B10-061	-	KEDIRI
67	B10-061	-	KEDIRI
68	B10-061	-	KEDIRI
69	B10-061	-	KEDIRI
70	B10-070	-	KEDIRI

71	B10-071	-	KEDIRI
72	B10-072	-	KEDIRI
73	B10-073	-	KEDIRI
74	B10-074	-	KEDIRI
75	B10-075	-	KEDIRI
76	B10-076	-	KEDIRI
77	B10-077	-	KEDIRI
78	B10-078	-	KEDIRI
79	B10-079	-	KEDIRI
80	B10-080	-	KEDIRI
81	B11-081	-	SOLO
82	B11-082	-	SOLO
83	B11-083	-	SOLO
84	B11-084	-	SOLO
85	B11-085	-	SOLO
86	B11-086	-	SOLO
87	B11-087	-	SOLO
88	B11-088	-	SOLO
89	B11-089	-	SOLO
90	B11-090	-	SOLO
91	B11-091	-	SOLO
92	B11-092	-	SOLO
93	B11-093	-	SOLO
94	B11-094	-	SOLO
95	B11-095	-	SOLO
96	B11-096	-	SOLO
97	B11-097	-	SOLO
98	B11-098	-	SOLO
99	B11-099	-	SOLO
100	B11-100	-	SOLO
101	B12-101	-	MADIUN
102	B12-102	-	MADIUN
103	B12-103	-	MADIUN
104	B12-104	-	MADIUN
105	B12-105	-	MADIUN
106	B12-106	-	MADIUN
107	B12-107	-	MADIUN



<b>108</b>	<b>B12-108</b>	<b>-</b>	<b>MADIUN</b>
<b>109</b>	<b>B12-109</b>	<b>-</b>	<b>MADIUN</b>
<b>110</b>	<b>B12-110</b>	<b>-</b>	<b>MADIUN</b>
<b>111</b>	<b>B12-111</b>	<b>-</b>	<b>MADIUN</b>
<b>112</b>	<b>B12-112</b>	<b>-</b>	<b>MADIUN</b>
<b>113</b>	<b>B12-113</b>	<b>-</b>	<b>MADIUN</b>
<b>114</b>	<b>B12-114</b>	<b>-</b>	<b>MADIUN</b>
<b>115</b>	<b>B12-115</b>	<b>-</b>	<b>MADIUN</b>
<b>116</b>	<b>B12-116</b>	<b>-</b>	<b>MADIUN</b>
<b>117</b>	<b>B12-117</b>	<b>-</b>	<b>MADIUN</b>
<b>118</b>	<b>B12-118</b>	<b>-</b>	<b>MADIUN</b>
<b>119</b>	<b>B12-119</b>	<b>-</b>	<b>MADIUN</b>
<b>120</b>	<b>B12-120</b>	<b>-</b>	<b>MADIUN</b>

**Lampiran 2 : Skema Uji HA Mikroteknik**

Lubang no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
PBS	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Antigen	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Eritrosit 0,75%	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Inkubasi pada suhu ruang selama 30 – 60 menit

Pengenceran	2	4	8	16	32	64	128	256	512	dst	kont.eri
-------------	---	---	---	----	----	----	-----	-----	-----	-----	----------

- Keterangan :
- PBS 1 = 50 µl
  - Antigen 1 = 50 µl
  - Eritrosit marmut 0,75 % 1 = 50 µl

Interpretasi hasil :

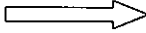
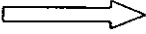
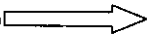
- Hasil HA + : aglutinasi sempurna (100%), terlihat jelas berupa tanpa adanya pengendapan eritrosit berbentuk cincin pada dasar lubang *microplate*.
- Hasil HA - : pengendapan eritrosit pada dasar lubang

**Gambar 2.1.** Skema titrasi antigen virus influenza pandemik H1N1-2009

Lubang no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
PBS	1	1	1	1	1							
Antigen	1	1	1	1	1	dibuang	1					
Eritrosit 0,75%	1	1	1	1	1							

Inkubasi pada suhu ruang selama 30 – 60 menit

Pengenceran	2	4	8	16	kont. eri
-------------	---	---	---	----	-----------

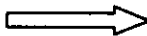
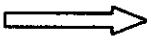
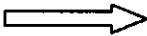
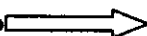
- Keterangan :
- PBS  1 = 50 µl
  - Antigen  1 = 50 µl
  - Eritrosit marmut 0,75 %  1 = 50 µl

Catatan: Ketepatan titer antigen 8 HAU apabila pada lubang nomor satu hingga tiga terjadi aglutinasi.

**Gambar 2.2.** Skema retitrasi titer antigen 8 HAU.

**Lampiran 3 : Skema Uji HI mikroteknik**

Lubang no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
PBS	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Serum	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Antigen	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Inkubasi pada suhu 22-25°C selama 30 menit												
Eritrosit 0,75%	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Inkubasi pada suhu ruang selama 30 - 60 menit												
Pengenceran	2	4	8	16	32	64	128	256	216	dst	kont.	kont.
											serum eri	

- Keterangan :
- PBS  1 = 25 µl
  - Serum  1 = 25 µl
  - Antigen  1 = 25 µl
  - Eritrosit marmut 0,75 %  1 = 50 µl

Interpretasi hasil :

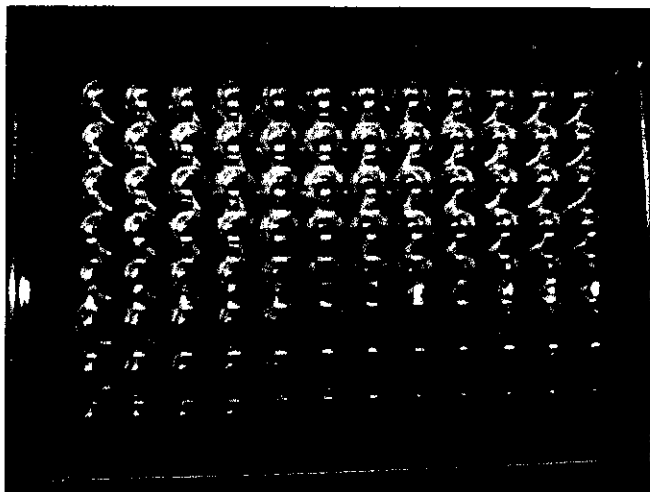
Hambatan aglutinasi sempurna (100 %) adalah adanya pengendapan eritrosit berbentuk cincin pada dasar lubang *microplate* yang terlihat seperti pada kontrol.



**Gambar 3.1. Skema Uji HI**

**Lampiran 4 : Alat Dan Bahan Penelitian**

(A) yellow tips, (B) blue tips, (C) mikroplate U,  
(D) multichanel mikropipet, (E) Mikropipet



Mikroplate "U"

**Lampiran 5 : Pengambilan Darah Babi**

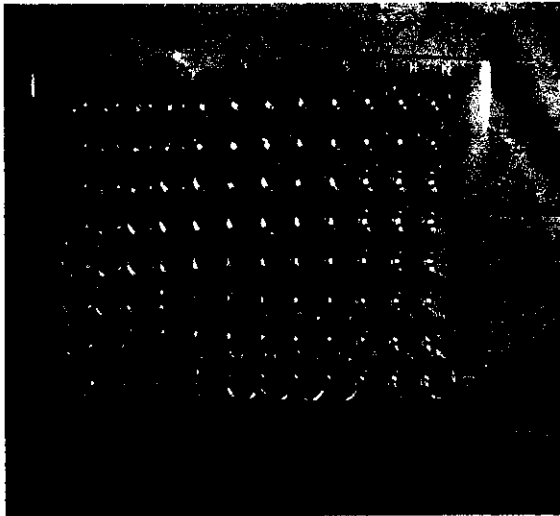


Tabung  
vacutainer

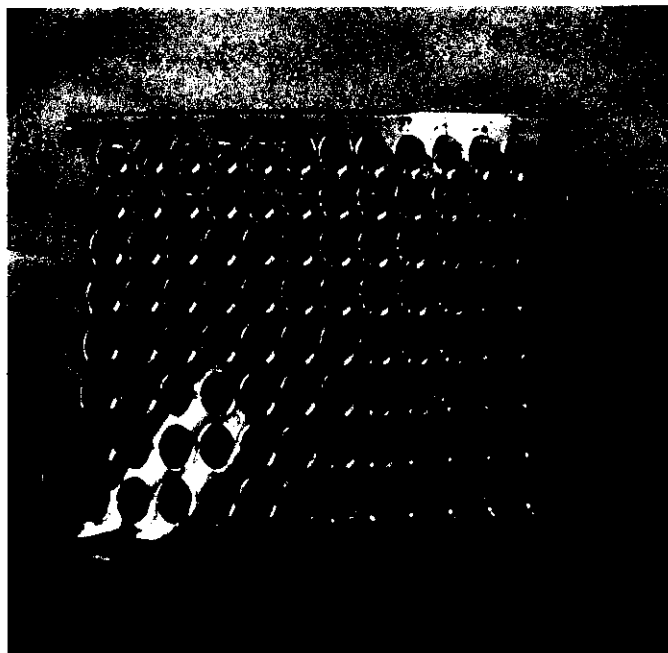
**Lampiran 6 : Babi di Kandang Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya**



**Lampiran 7 : Interpretasi Uji HA-HI**



**Gambar 6.1** Interpretasi hasil uji hemaglutinasi



**Gambar 6.1.** Interpretasi hasil uji HI