

**SKRIPSI**

**IDENTIFIKASI VIRUS INFLUENZA SUBTIPE H1 PADA  
KELELAWAR DI KEPULAUAN  
INDONESIA**



**Oleh**

**YUNITA GALUH INDRESWARI**  
**NIM 061311133224**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA**

**2018**

**IDENTIFIKASI VIRUS INFLUENZA SUBTIPE H1 PADA  
KELELAWAR DI KEPULAUAN  
INDONESIA**

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

oleh

**YUNITA GALUH INDRESWARI**

NIM 061311133224

Menyetujui

Komisi Pembimbing,



**(Dr. Kadek Rachmawati, M.kes.,drh.)**  
Pembimbing Utama



**(Suryanie Sarudji, M.kes.,drh.)**  
Pembimbing Serta

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang berjudul :

### **IDENTIFIKASI VIRUS *INFLUENZA* SUBTIPE H1 PADA KELELAWAR DI KEPULAUAN INDONESIA**

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, Januari 2018



Yunita Galuh Indreswari

NIM 061311133224

Telah diuji pada Sidang Skripsi

Tanggal : 15 Januari 2018

**KOMISI PENGUJI SKRIPSI**

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

Anggota : Nanik Sianita Widjaja, drh., SU

Dr. Kuncoro Puguh Santoso, M.Kes., drh

Dr. Kadek Rachmawati, drh., M. Kes

Suryanie Sarudji M.Kes., drh

Surabaya, 15 Januari 2018

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes.

NIP. 195601051986011001

# IDENTIFICATION OF INFLUENZA VIRUS SUBTYPE H1 ON BATS IN INDONESIA ISLAND

Yunita Galuh Indreswari

## ABSTRACT

The aim of the research was to identify the existence of *Influenza* virus subtype H1 which observed on bats respiratory organs in Indonesia Island. The study was begin on April – May 2017<sup>th</sup> conducted in *Avian Influenza Research Centre* (AIRC) Airlangga University Surabaya. Total of ninety nine samples was collected represent four archipelago consists of Bawean Island, West Borneo Island, Sumatera Island and Riau Island. Bats respiratory organs that were collected smoothed and mixed with streptomycin and inoculated in chicken embrionated egg. The allantoic fluid was used for haemagglutinin protein activity using microtechnique Haemagglutination test (HA). Sample of HA titre that had more  $2^2$  continue with Haemagglutination Inhibition (HI) test using H1 antisera. There are 13 samples that found as a positive samples with HA test from inoculated chicken embrionated egg. Which from total 99 of samples then continued with HI test. The result showed that one sample from Bawean Island (BW-3) positive has identified H1 virus.

**Key words :** *Influenza* virus subtype H1, Bats, Haemagglutination Assay, Haemagglutination Inhibition (HI), chicken embrionated egg.

Bapak Dr. Tjuk Imam Restiadi, M.Si.,drh. Selaku dosen wali yang selama ini meluangkan waktu kepada penulis serta memberikan bimbingan dan pengarahan kepada penulis selama kuliah di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Seluruh staff *Laboratorium Avian Influenza Research Center* Universitas Airlangga, Dr. Moh. Yusuf Alamudi, S.Si., M.Kes., Reviany V. Nidom, Apt., M. Farm., Rahmalia Dwi Siundarti, drh., M.Si., Elsa Bahar Putri, drh., M.Si., Anis F. Astutik, S.Si., M.Si., Surip, S.Si., dan Almira Lahay, S.Pi, mbak Setyarina, mbak Ulvie, mas Panjhat dan mas Arie yang sudah memberikan pengarahan dan bantuan pada penelitian ini.

Bapak dan Ibu staff kependidikan, Bagian Kemahasiswaan, Bagian Akademik, Bagian Keuangan, Bagian Tata Usaha dan Kerumah tanggaan serta Bagian Sistem Informasi yang telah banyak membantu selama penulis belajar di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Kedua orang tuasaya, Bapak Drs. Suyanto dan Ibu Emi Kustianingsih S.Pd yang telah memberikan dukungan, bimbingan, doa, cinta, semangat, motivasi, pengorbanan, serta kasih sayang yang tak terhingga bagi penulis selama ini. Tidak lupa juga kepada adik Nimas Ajeng Sitoresmi, yang senantiasa memberikan dukungan bagi penulis.

Teman-teman seperjuangan dalam penyelesaian penelitian ini, Khoirunnisa', Bintang Indriana P., Hanny Priskila K., M. Anas Wildanu, Wahyu Hidayat, Diana Nurjanah, Ricadona Raisa, Agastya Tri K., Malika Ulin N., RagilAndrya, Igor Hakan Z.F., NauraNydyda A., Dina Novitasari,

Lestari, Stefani Hapsari dan Amien, terimakasih atas bantuan, doa, semangat dan kebersamaan yang telah diberikan.

Sahabat tercinta, Febriana Sardi Ramadhani, Lia Amarufi maula, Felita Widyaningsih, Gilar Dwi kurnia yang selalu member keceriaan dan menemani penulis. Dan juga Tika Arsetya Putri yang senantiasa membantu penulis dalam segala hal termasuk dalam menyelesaikan skripsi ini. Teman-teman seluruh angkatan 2013 Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, terima kasih atas segala bentuk dukungan, doa, semangat, waktu, keceriaan, kebersamaan yang diberikan kepada penulis yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Semua pihak yang tidak disebutkan tetapi selalu berdoa dan sangat membantu dalam pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini. Penulis juga menyadari bahwa masih terdapat kesalahan dan kekurangan pada skripsi ini, sehingga perlunya kritik dan saran yang membangun demi perbaikan di masa mendatang. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya dan semua pihak yang membutuhkan untuk kemajuan dan perkembangan ilmu pengetahuan di bidang kedokteran hewan.

Surabaya, 23 Oktober 2017

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN IDENTITAS</b> .....	iv
<b>ABSTRAK</b> .....	vi
<b>UCAPAN TERIMA KASIH</b> .....	vii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	x
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiv
<b>SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG</b> .....	xv
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	4
1.3. Landasan Teori .....	4
1.4. Tujuan Penelitian .....	6
1.5. Manfaat Penelitian .....	6
1.6. Hipotesis Penelitian .....	6
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	7
2.1. <i>Virus Influenza</i> .....	7
2.1.1. Etiologi Dan Morfologi <i>Virus Influenza</i> .....	7
2.1.2. Sifat Virus.....	8
2.1.3. Penularan <i>Virus Influenza</i> Subtipe H1 .....	9
2.1.4. Patogenesis <i>Virus Influenza</i> Subtipe H1 .....	10
2.1.5. Gejala Klinis .....	12
2.1.6. Diagnosa .....	13
2.1.7. Pengobatan Dan Pencegahan .....	13
2.2. Kelelawar .....	14
2.3. Kepulauan Indonesia .....	17
2.4. Uji Hemaglutinasi (HA).....	18
2.5. Uji Hambatan Hemaglutinasi (HI) menggunakan Antisera H1 .....	19



<b>BAB 3 MATERI DAN METODE PENELITIAN .....</b>	<b>20</b>
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian .....	20
3.2. Alat dan Bahan .....	20
3.3. Rancangan Penelitian .....	21
3.4. Metode Penelitian .....	21
3.4.1. Pengambilan Sampel .....	21
3.4.2. Penanganan Sampel di Laboratorium .....	22
3.4.3. Inokulasi Sampel Pada Telur Ayam Berembrio (TAB) .....	22
3.4.4. Pembuatan Suspensi eritrosit (RBC) ayam 0,5% .....	23
3.4.5. Uji Hemaglutinasi (HA) Mikroteknik .....	24
3.4.6. Pembuatan Antigen 4HA Unit .....	25
3.4.7. Retitrasi Antigen 4 HA Unit .....	26
3.4.8. Uji Hambatan Hemaglutinasi (HI) dengan antisera H1 .....	26
3.5. Pengolahan Data .....	27
3.6. Diagram Alir .....	28
<b>BAB 4 HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>29</b>
<b>BAB 5 PEMBAHASAN .....</b>	<b>31</b>
<b>BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>34</b>
6.1 KESIMPULAN .....	34
6.2 SARAN .....	34
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>36</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>39</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>45</b>

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
2.1 Gambar Struktur Virus Influenza H1N1.....	8
2.2 GambarKelelawar, Genus <i>Pteropus</i> .....	15
2.3 Gambar Peta Kepulauan Indonesia .....	18
3.1 Gambar Diagram Alir Penelitian .....	29

## SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

$\mu$ l	= mikroliter
BSC	= <i>Biosafety Cabinet</i>
EDTA	= <i>Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid</i>
ELISA	= <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
<i>et al.</i>	= <i>etalii</i>
HA	= Hemaglutinasi
HAU	= Hemaglutinin Unit
HI	= Hemaglutinasi Inhibisi
LS	= Lintang Selatan
LU	= Lintang Utara
M	= <i>Matriks</i>
MDCK	= <i>Madine Darby Canine Kidney</i>
MERS-CoV	= <i>Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus</i>
mg	= milligram
ml	= mililiter
mm	= milimeter
PBS	= <i>Phosphat Buffer Saline</i>
Pusvetma	= Pusat Veterineria Farma
RBC	= <i>Red Blood Cellk</i>
rpm	= Rotation per Minute
RT-PCR	= <i>Reserve transcription polimerase chain reaction</i>
SAN	= Specific Antibody Negative
SARS-CoV	= <i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus</i>
TAB	= Telur Ayam Berembrio
WHO	= <i>World Health Organization</i>

**BAB 1**  
**PENDAHULUAN**

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Virus *influenza* beredar dan menyebabkan penyakit pada manusia setiap tahun. Terdapat tiga tipe virus *Influenza* yaitu A, B, dan C. Virus *Influenza* tipe A dibagi lagi menjadi subtype menurut berbagai spesifikasi dan kombinasi dari dua protein yang terjadi pada permukaan virus, hemagglutinin atau protein "H" dan neuraminidase atau protein "N". Saat ini, virus *Influenza* A (H1N1) dan A (H3N2) adalah penyebab *Influenza* musiman (CDC, 2009). Selain itu, ada dua virus tipe B yang juga merupakan virus *Influenza* musiman, yang dinamai sesuai dengan lokasi pertama kali diidentifikasi, yaitu *Victoria* dan *Yamagata*. Virus *Influenza* C jarang ditemukan walaupun dapat menyebabkan infeksi pada manusia dan hewan. Virus *Influenza* C jarang sekali atau tidak menyebabkan wabah pandemik (Horimoto T dan Kawaoka Y. 2005).

Virus *Influenza* menyebabkan penyakit pada manusia setiap tahun. Virus H1N1 merupakan virus yang menyebabkan penyakit *Swine Influenza* atau flu babi yang termasuk dalam golongan *Influenza* tipe A. *Swine influenza* merupakan penyakit viral yang menyerang saluran pernafasan dan sangat menular (Newman *et al.*, 2008). Babi merupakan induk semang utama virus flu babi, namun dapat juga menular pada manusia dan bangsa burung atau bahkan sebaliknya (Smith *et al.*, 2009).

Pada tahun 2009 muncul wabah pandemi flu baru yang disebabkan oleh virus H1N1. Virus H1N1 ini sekarang berubah nama menjadi virus pandemik

H1N1-2009 yang merupakan hasil *quadruple reassortment* antara flu babi H1N1 klasik tipe Amerika Utara dan tipe Eropa, virus *influenza* subtype H3N2 pada manusia dan virus Flu Burung (Garten *et al.*, 2009). Wabah penyakit epizootik pada babi di Amerika Tengah bagian utara yang mempunyai kesamaan gejala klinis dan patologi dengan *influenza* pada manusia. Kejadian penyakit ini muncul bersamaan dengan kejadian penyakit epidemik pada manusia (Syafiati, 2009). Pada tahun 2015 virus pandemi H1N1 telah menyebar ke lebih dari 215 negara dan menyebabkan ratusan ribu orang meninggal (Nelson *et al.*, 2015). Setelah pandemi itu berakhir, virus *influenza* H1N1 berubah menjadi satu musiman dan terus menyebar pada manusia (Kong, 2015).

Evolusi virus H1N1 ini ditentukan oleh peran serta babi yang merupakan reservoir utama virus *influenza* dan babi memainkan peranan penting dalam ekologi virus *influenza* manusia. Babi berperan dalam penularan pandemik H1N1 antar spesies, karena hewan ini memiliki 2 jenis reseptor yaitu,  $\alpha$  2,3 asam sialat yang cenderung berikatan terhadap virus *influenza* pada unggas dan  $\alpha$  2,6 asam sialat yang berikatan dengan virus *influenza* pada manusia. Konsekuensinya, babi dianggap sebagai induk semang perantara atau media pencampur (*mixing vessel*), di mana material genetik virus dapat dipertukarkan (Wahid, 2009).

Laboratorium *global influenza surveillance and response system* (GISRS) melaporkan dari 76 negara sebanyak 35.732 spesimen, 4.383 diantaranya positif terserang virus *influenza* selama 14 Desember hingga 27 Desember 2015. Dari jumlah tersebut 3.900 (89%) positif *influenza* tipe A yang mana 2.919 (93%) telah dikonfirmasi merupakan virus *influenza* pandemik H1N1-2009 (WHO, 2016). Hampir semua negara di dunia melaporkan telah terinfeksi virus H1N1 termasuk

Indonesia. Virus *influenza* pandemik H1-2009 dinyatakan masuk ke Indonesia pada bulan Juni 2009, setelah dua orang pasien dinyatakan terinfeksi virus *influenza* pandemik H1N1-2009 (Detikhealth, 2009). Di Indonesia, data jumlah kumulatif infeksi Flu A H1N1 sampai dengan 23 Agustus 2009 sebanyak 1.005 orang dengan 5 orang di antaranya meninggal dunia (Kompas, 2009). Hal ini harus diwaspadai karena Indonesia masih mempunyai masalah dengan virus *influenza* H5N1 dan telah menjadi endemis, sehingga dengan teridentifikasinya H1N1 pada manusia di Indonesia, tentu menjadi hal serius yang perlu diperhatikan diantaranya adalah kemungkinan terjadinya reassortant antara virus H5N1 dengan virus influenza lainnya termasuk virus H1N1.

Kelelawar merupakan mamalia yang mampu terbang dengan jarak 15-1800 kilometer sehingga kelelawar mampu mentransmisikan virus dengan mudah. Kelelawar mempunyai banyak spesies yang terdiri dari hampir 1.200 spesies di seluruh dunia (Turmelle and Olival, 2009). Kelelawar diketahui sebagai inang dari beberapa penyakit patogen sebagai berikut, Ebola virus, Hendra virus, Rabies virus, SARS-CoV (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus*) dan MERS-CoV (*Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus*) (Smith and Wang, 2013).

Berdasarkan uraian pada latar belakang tersebut, perlu dilakukan penelitian untuk mendeteksi adanya virus *Influenza* sub tipe H1 pada kelelawar di kepulauan Indonesia. Seperti yang diketahui bahwa kelelawar merupakan reservoir alami dari beberapa jenis virus. Diagnosa yang dapat memperkuat terhadap kasus Influenza H1 yaitu dengan melihat gejala klinis dan hasil pemeriksaan di laboratorium. Pemeriksaan secara cepat untuk menegakkan diagnosa virus *Influenza* dilakukan untuk mengontrol dan mengetahui penyebaran

virus ini (spackman, 2008). Rangkaian pemeriksaan yang akan digunakan yaitu uji Hemaglutinasi yang digunakan untuk mengetahui adanya protein permukaan hemaglutinin (HA) yang kemudian akan dilanjutkan dengan pengujian hambatan hemaglutinasi (HI) menggunakan antisera H1 (H1/09) untuk mengidentifikasi adanya protein H1 pada kelelawar.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, maka dapat dibuat suatu rumusan masalah sebagai berikut :

- Apakah ditemukan adanya Virus *Influenza* Subtipe H1 pada kelelawar di kepulauan Indonesia ?

## 1.3 Landasan Teori

Virus *influenza* pandemik H1N1 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 respon antibodi inang dalam memberikan perlindungan terhadap infeksi virus influenza (Russo, 2014).

Virus *Influenza* tipe A yang dapat menular ke manusia, termasuk virus RNA yang dapat bermutasi dalam famili *orthomyxoviridae*. Virus *Influenza* memiliki kemampuan tinggi dalam mutasi karena virus ini tergolong labil. Proses mutasi terjadi melalui mekanisme *antigenic shift* dan *antigenic drift*. *Antigenic shift* merupakan perubahan yang muncul akibat dari *genetic reassortment* antara virus *Influenza* yang berbeda, menghasilkan keberagaman varian baru dengan patogenisitas yang diluar dugaan dan berpotensi menimbulkan pandemik *Influenza*. Sedangkan *antigenic drift* merupakan perubahan yang terjadi secara



**BAB 2**  
**TINJAUAN PUSTAKA**

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Virus Influenza

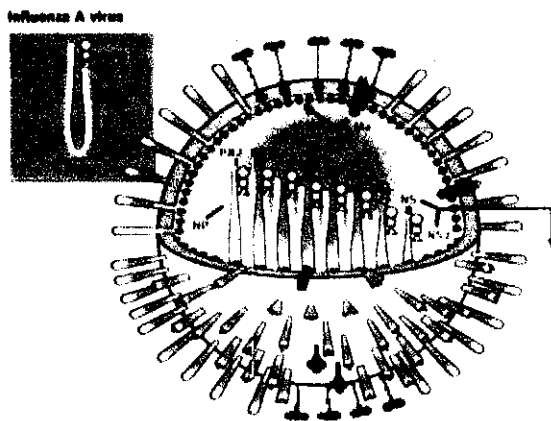
##### 2.1.1 Etiologi dan Morfologi Virus Influenza

*Influenza* babi merupakan penyakit yang disebabkan oleh virus *influenza* H1 yang dapat menyebabkan epidemik penyakit respirasi akut pada babi. Penyakit ini disebabkan oleh virus dari famili *orthomyxoviridae* tipe A. Ada tiga tipe *orthomyxoviridae*, A, B, dan C. Penyebab dari *influenza* pada babi sangat kompleks terutama variasi genetiknya dari virus penyebab penyakit, yaitu pada dua glikoproteinnya: Haemagglutinin(H) dan Neuraminidase (N). Ada 16Subtipe protein haemagglutinin yang berkepentingan dalam perlekatan virus pada sel induk semang. Sedangkan Neuraminidase sebanyak 9 subtipe protein yang berperan dalam pelepasannya dari eritrosit dan berperan juga pada pelepasan virus dari sel induk semang (Heinen, 2003;Woodlife, 1994).

Virus *influenza* merupakan virus RNA dalam famili *Orthomyxoviridae*. Asam nukleat virus ini berantai tunggal, terdiri dari 8 segmen yang mengkode sekitar 11 jenis protein (Harimoto and Kawaoka, 2001). Virus *influenza* H1N1 termasuk dalam virus *influenza* tipe A dengan genom RNA bersegmen (Nidom, 2010). Virus *influenza* A dapat menginfeksi unggas termasuk ayam, itik, angsa, kalkun, berbagai jenis burung seperti burung dara, burung camar, burung elang, manusia, babi, kuda, anjing laut, sementara itu virus *Influenza* B dan C hanya menginfeksi manusia. Virus *influenza* A ini dapat menyebabkan pandemik karena mudahnya mereka bermutasi, baik berupa *antigenic drift* ataupun *antigenic shift* sehingga membentuk varian-varian baru yang lebih patogen dan berpotensi

menimbulkan pandemi *influenza* (Raharjo dan Nidom, 2004; Horimoto and Kawaoka, 2005).

Virus *influenza* mempunyai selubung yang terdiri dari kompleks protein dan karbohidrat. Virus ini mempunyai tonjolan (*spikes*) yang digunakan untuk menempel pada reseptor yang spesifik pada sel-sel hospesnya pada saat menginfeksi sel. Terdapat 2 jenis *spikes* yaitu yang mengandung hemagglutinin (HA) dan yang mengandung neuraminidase (NA) yang terletak di virionnya (Horimoto and Kawaoka, 2005). Protein HA dan NA merupakan protein terpenting di dalam menimbulkan respons imun dan sebagai penentu subtipe virus *Influenza* (Wilschut *et al.*, 2006).



Gambar 2.1 Struktur virus *influenza* H1N1 (Heinen, 2009)

### 2.1.2 Sifat Virus

Virus *influenza* H1N1 termasuk dalam virus *influenza* A yang mempunyai amplop *lipid bilayer* yang berasal dari hospes dan terdapat kurang lebih 500 tonjolan *glikoprotein*. *Glikoprotein* ini terdiri dari protein permukaan hemagglutinin (HA) dan neuraminidase (NA) yang mempunyai aktivitas

hemagglutinin dan neuraminidase. Protein HA pada virus berperan sebagai perantara penempelan virus dan masuk membran endosom hospes. Neuraminidase berkontribusi dalam pelepasan partikel virus pada sel hospes yang terinfeksi (Smith *et al.*, 2009). Gen Matriks M1 berperan dalam awal infeksi yaitu saat pemisahan protein M1 dari RNP untuk masuk ke sitoplasma. Saat ini berdasarkan analisis serologis dan genetik virus *influenza* diketahui HA sebanyak 18 subtipe (H1-18) dan NA sebanyak 11 subtipe (N1-N11) (Tong *et al.*, 2013).

Virus H1 memiliki masa inkubasi antara 1-7 hari, sedangkan masa penularan berkisar antara satu hari sebelum mulai sakit (*onset*) sampai tujuh hari setelah *onset*. Namun puncak pengeluaran virus terjadi pada beberapa hari pertama sakit. Morbiditasnya tinggi dan mortalitas rendah (1-4 %) (Cauchemez *etal.*, 2009).

### **2.1.3 Penularan Virus Influenza Subtipe H1**

Virus H1N1 sangat umum terdapat pada babi, dengan sekitar separuh dari babi yang ditenakkan di AS dilaporkan memiliki virus ini. Antibodi terhadap virus ini juga sudah umum pada babi di negara lain. Bahkan, pada tahun 2015 virus pandemik H1N1 ini telah menyebar ke lebih dari 215 negara dan menyebabkan ratusan ribu orang meninggal (Nelson *et al.*, 2015).

Penyebaran virus H1N1 dari babi ke babi yaitu dapat melalui kontak moncong babi, melalui udara atau droplet. Faktor cuaca dan stres akan mempercepat penularan. Virus tidak akan tahan lama di udara terbuka. Penyakit bisa saja bertahan lama pada babi anakan. Kekebalan maternal dapat terlihat sampai 4 bulan tetapi mungkin tidak dapat mencegah infeksi, kekebalan tersebut

dapat menghalangi timbulnya kekebalan aktif. Transmisi inter spesies dapat terjadi, virus ini mempunyai kesanggupan menulari antar spesies terutama babi, bebek, kalkun dan manusia (Bradsher, 2009). Penularan pada manusia dapat terjadi akibat kontak dengan babi yang terinfeksi atau dengan benda-benda yang telah terkontaminasi. Misal para pekerja peternakan babi. Penularan sama seperti virus *influenza* pada umumnya yaitu melalui aerosol atau *respiratory droplets*. Virus menyebar dari orang ke orang melalui batuk ataupun bersin oleh penderita *influenza*. Kadangkala seseorang dapat terinfeksi karena bersentuhan dengan obyek yang sudah tercemar virus dan kemudian orang tersebut menyentuh hidung atau mulutnya. Virus sudah dapat ditularkan sehari sebelum penderita menampakkan gejala hingga hari ke tujuh atau lebih setelah muncul gejala sakit. Virus pandemik H1N1 tidak ditularkan melalui makanan sehingga seseorang tidak dapat tertular flu H1N1 akibat mengkonsumsi daging babi (Kong *et al.*, 2015).

#### **2.1.4 Patogenesis virus Influenza subtipe H1N1**

Patogenesis dan virulensi dari virus *influenza* ini dapat ditentukan oleh beberapa faktor, yaitu faktor inang dan faktor virus. Transmisi virus lewat partikel udara dan terlokalisir pada saluran pernapasan. Penularan bergantung pada ukuran partikel (*droplets*) yang membawa virus tersebut masuk ke dalam saluran pernapasan (Kong *et al.*, 2015). Pada dosis infeksius, orang yang terserang akan menderita *influenza*. Virus akan melekat pada epitel sel hidung dan bronkus. Setelah virus berhasil menerobos masuk ke dalam, 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

virus. Reproduksi virus di dalam sel peka bisa berlangsung sangat cepat (kurang dari sepuluh jam). Proses ini akan efisien, apabila genoptimal tersedia di sana (Rott *et al.* 1995). Akibat aktivitas Polimerase yang dependen terhadap RNA (RdRp), virus mudah mengalami mutasi dan siklus replikasinya cepat. Jika ada tekanan selektif seperti antibodi penetral, ikatan reseptor yang tidak optimal, atau obat antiviral yang bekerja selama proses replikasi virus pada inang, dapat menyebabkan terjadi mutan dengan keunggulan selektif dan kemudian menjadi varian yang dominan dalam spesies virus di dalam tubuh inang. Determinan antigenik dari glikoprotein HA dan NA yang dipengaruhi mekanisme yang dipicu oleh sistem kekebalan, prosesnya disebut sebagai *Antigenic drift* Sebaliknya, *Antigenic shift* menunjukkan adanya perubahan mendadak dalam determinan antigenik, yaitu pertukaran subtipe H dan atau N, dalam satu siklus tunggal replikasi. Hal ini terjadi dalam sebuah sel yang secara bersamaan terinfeksi oleh dua atau lebih virus *influenza A* dari subtipe yang berbeda. Karena distribusi segmen genomik virus yang sudah tereplikasi ke dalam progeni yang baru tumbuh berlangsung tanpa tergantung kepada subtipe asal dari tiap segmen, dan dapat muncul progeni yang berkemampuan untuk bereplikasi membawa informasi genetik dari virus induk yang berbeda-beda (disebut sebagai "*Reassortant*") (Webster & Hulse 2004, WHO 2005).

### **2.1.5 Gejala Klinis**

Gejala klinis yang muncul pada manusia berupa demam, gangguan keseimbangan, nyeri pada persendian, muntah dan hilangnya kesadaran dan dapat diakhiri dengan kematian (WHO, 2009). Tanda-tanda pertama adalah demam, suhunya dapat mencapai  $40,5^{\circ}$ – $41,7^{\circ}$ C (Woodlife, 1994), anoreksia sebelum

terjadi penurunan berat badan, tidak aktif. Selain itu, terjadi tanda respirasi akut yang tiba-tiba berupa batuk paroxymal, bersin, pernafasan abdominal yang tidak teratur, keluar cairan mata dan hidung (Woodlife, 1994)

### **2.1.6 Diagnosis**

Penegakan diagnosa yang dapat digunakan yaitu dengan isolasi dan identifikasi virus, uji serologis serta konfirmasi. Isolasi virus dapat menggunakan TAB (Telur Ayam Berembrio) atau kultur sel jaringan, menggunakan *permissive cells* seperti MDCK (*Madin-Darby Canine Kidney*) (Fouchier *et al.*, 2004). Uji serologis dilakukan dengan menggunakan uji *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI) (Spackman, 2008). Pada manusia, diagnosis infeksi influenza H1N1 dapat dikonfirmasi melalui RT-PCR menggunakan spesimen nasofaring atau swab tenggorokan (Ismail, 2014).

### **2.1.7 Pengobatan dan Pencegahan**

Direkomendasikan pemberian oseltamivir (Tamiflu) dan zanamivir untuk menghambat neuraminidase (*Inhibitor neuraminidase*) terhadap virus influenza A dan B. 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). Pada penanganan *influenza* terkait komplikasi neurologis, pemberian obat antivirus dalam 2 hari setelah timbulnya gejala ILI, telah terbukti mengurangi risiko komplikasi pernapasan dari *influenza* (Ismail, 2014).

Sedangkan 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 system rotasi bahan desinfektan. Babi yang sakit diobati dengan antibiotik untuk mencegah terjadinya infeksi ikutan. 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).

## 2.2 Kelelawar

Kelelawar merupakan mamalia yang dapat terbang yang jumlahnya sangat besar, yaitu tercatat 1.150 spesies kelelawar di seluruh dunia. Lebih dari 4.600 spesies mamalia yang tercatat, 925 spesies (sekitar 20%) adalah kelelawar. Subordo dari kelelawar ada 2, yaitu *Megachiroptera*, yang hanya terdiri dari 1 famili yaitu *Pteropidae* (42 genus, 166 spesies), dan *Microchiroptera*, yang terdiri dari 16 famili (135 genus, 759 spesies) (Simmons, 2005).

Kelelawar telah diidentifikasi sebagai *reservoir host* untuk banyak penyakit patogen yang akhir-akhir ini muncul. Penyakit patogen tersebut diantaranya adalah virus Hendra (Halpin *et al.* 2000), virus Nipah (Johara *et al.* 2001), virus SARS Corona (Li *et al.* 2005), virus Ebola (Leroy *et al.* 2005), virus *Lyssa Australian bat* (Fraser *et al.* 1996), dan virus Menangle (Philbey *et al.* 2008). Sejumlah virus patogen tersebut telah menimbulkan dampak yang signifikan terhadap kesehatan manusia dan ternak. Virus Nipah bahkan telah dilaporkan menular antar manusia di Bangladesh (Field *et al.* 2007).



Menurut Koopman (1993), 58 spesies kelelawar termasuk dalam ordo

*Chiroptera* dengan taksonomi sebagai berikut :

Kingdom : Animalia  
Filum : Chordata  
Sub Filum : Vertebrata  
Kelas : Mamalia  
Ordo : Chiroptera  
Sub Ordo : Megachiroptera  
Famili : Pteropodidae  
Genus : *Pteropus*



Gambar 2.2 Kelelawar, Genus *Pteropus*. Sumber: (Kunz, 2000)

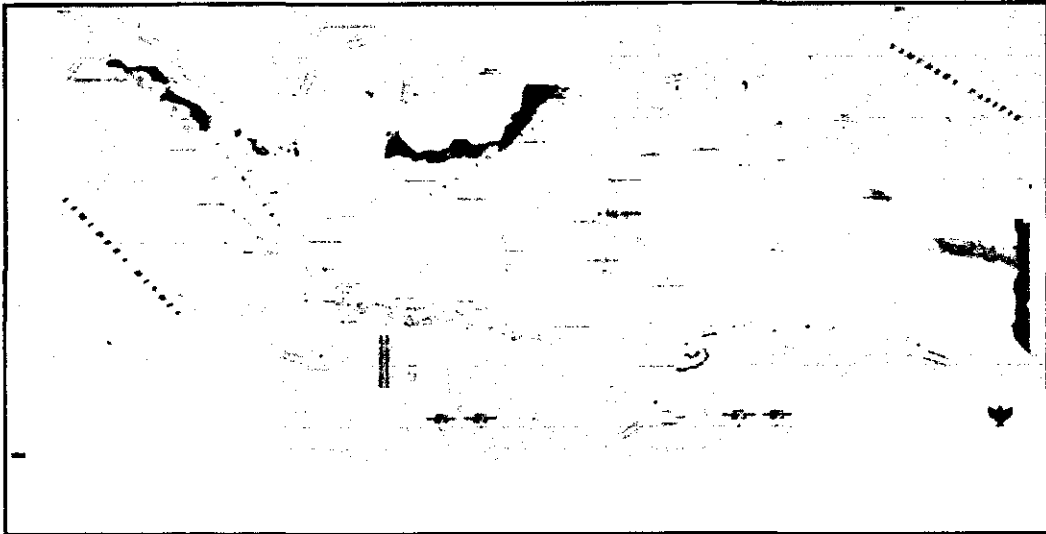
Salah satunya kelelawar buah (kalong) dari genus *Pteropus* yang lebih dikenal dengan nama *flying fox*. Kelelawar ini biasanya bertengger di pohon-pohon besar. Beberapa spesies memiliki penyebaran yang sangat luas dan hidup

kelelawar dalam bermigrasi maupun yang tidak bermigrasi mulai dibahas sebagai *mixing vessel* virus. Kelelawar buah yang telah diteliti selama ini, menunjukkan 59,4% dari 64 genus berpotensi menyebarkan penyakit zoonosis yang berbahaya bagi manusia (Schevarria *et al.*, 2001; Olson, 2002).

### **2.3 Kepulauan Indonesia**

Kepulauan Indonesia ditinjau dari letak astronomis terbentang dari 6° LU (Lintang Utara) - 11° LS (Lintang Selatan) dan antara 95° BT (Bujur Timur) - 141° BT (Bujur timur). Sementara apabila dilihat dari letak geografisnya, Indonesia terletak diantara Benua Asia dan Benua Australia, serta Samudra Hindia dan Samudera Pasifik. Deklarasi Djuanda menyatakan bahwa Indonesia menganut prinsip negara kepulauan (Archipelagic State), sehingga perairan antar pulau pun merupakan wilayah Republik Indonesia (RI) dan bukan kawasan bebas. Dengan perhitungan 196 garisbatas lurus (*straight baselines*) dari titik pulau terluar, tercipta garis maya batas mengelilingi RI sepanjang 8.069,8 mil laut (Ramdhan dan Arifin, 2013).

Luas wilayah perairan mencapai 5,8 juta km<sup>2</sup> atau sama dengan dua pertiga dari luas wilayah Indonesia, terdiri dari Zona Ekonomi Eksklusif (ZEE) 2,7 juta km<sup>2</sup> dan wilayah laut territorial 3,1 juta km<sup>2</sup>. Luas wilayah perairan Indonesia tersebut telah diakui sebagai Wawasan Nusantara oleh United Nation Convention of the Law of the Sea (UNCLOS, 1982).



Gambar 2.2 Peta Kepulauan Indonesia (Dewan Kelautan Indonesia, 2008)

#### 2.4 Uji Hemaglutinasi (HA)

Pengujian menggunakan Hemagglutination Assay (HA) merupakan teknik pengujian yang digunakan untuk mengetahui dan mendeteksi adanya virus yang memiliki protein permukaan hemaglutinin. Adanya hemaglutinin dapat mengaglutinasi eritrosit beberapa spesies seperti unggas, mamalia termasuk manusia. Apabila virus *Influenza* tipe A berada pada konsentrasi tinggi, maka akan terjadi reaksi aglutinasi dan eritrosit akan membentuk pola butir pasir. Sampel yang akan diuji diinokulasikan terlebih dahulu pada TAB (Telur Ayam Berembrio) kemudian dilakukan pengujian cairan alantois yang sudah diinokulasikan sebelumnya. Uji HA (*Hemagglutination Assay*) bukan merupakan uji identifikasi sebaiknya uji HA dilanjutkan dengan uji HI (*Haemagglutination Inhibition Test*) untuk menentukan tipe dan subtipe virus. Selain untuk mendeteksi adanya virus yang memiliki hemaglutinin, uji HA (*Hemagglutination Assay*) juga bisa digunakan untuk menghitung titer antigen (Spackman, 2008)

## 2.5 Uji Hambatan Hemaglutinasi (HI) Menggunakan Antisera HI

Uji Hambatan Hemaglutinasi (*Haemagglutination Inhibition Test*) menggunakan antisera HI, yaitu merupakan pengujian pada laboratorium yang digunakan untuk mengklasifikasikan virus yang mempunyai aktivitas hemaglutinasi. Protein hemaglutinin (HA) pada virus *Influenza* tipe A merangsang terbentuknya antibodi spesifik terhadap hemaglutinin virus tersebut. Untuk virus *Influenza*, uji HI ini digunakan untuk mengidentifikasi isolat virus yang belum diketahui subtipe hemaglutinin (HA) nya. Dasar dari uji hambatan hemaglutinasi (HI) menggunakan antisera HI adalah adanya hambatan aglutinasi karena adanya komplemmentasi antara antigen HA (sampel yang berasal dari lapangan dan sudah ditanam dalam media TAB) dengan antibodi/antisera spesifik HI yang sudah diketahui. Adanya hambatan hemaglutinasi ditunjukkan dengan adanya endapan eritrosit pada dasar *microplate* yang akan membentuk “*tear drop*” apabila *microplate* dimiringkan 45°. Keuntungan dari uji HI adalah mudah, murah, dan sederhana. Sebaliknya kelemahan uji HI adalah diperlukan penambahan *Receptor Destroying Enzyme* (RDE) untuk menghilangkan faktor inhibitor non-spesifik yang dapat mengacaukan interpretasi (Spackman, 2008).

**BAB 3**  
**MATERI DAN METODE**

## BAB 3

### MATERI DAN METODE

#### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium BSL-2 *Avian Influenza Research Centre* (AIRC) Surabaya. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan April 2017 sampai dengan Mei 2017.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Biosafety Cabinet* (BSC), masker, gloves, mikropipet, mikropipet multichannel, yellow tip, blue tip, vaccutiner tube, EDTA, conical 15 dan 50 mL, *cool box*, tabung *microtube* 1,5 ml, *tray*, *tissue ruptor*, microplate "V", mesin sentrifus, *freezer* - 20°C, gelas beker, vacuum pipet, lemari pendingin 4°C, inkubator telur 37°C, selotip, candler, spuit 1 mL dan *needle*, plastic wrap, *autoclave*, scalpel dan *blade*, gunting bedah, kertas label. TAB berumur 9-11 hari yang bersifat SAN (*Specific Antibody Negative*) yang diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma, Surabaya, eritrosit ayam 100% (RBC), larutan Phospat Buffer Saline (PBS), antibiotik (penstrep), alkohol 80%, antisera H1 dan aquadest steril.

Organ yang diteliti berupa saluran pernafasan (trakea, paru-paru). kelelawar dari berbagai daerah di Indonesia, yaitu berasal dari daerah Kepulauan Indonesia meliputi Pulau Bawean, Kalimantan Barat, Sumatra Barat, dan Kepulauan Riau. Antisera yang digunakan dalam penelitian menggunakan antisera H1/09 yang berasal dari AIRC (*Avian Influenza Research Center*) Surabaya.

### **3.3 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini menggunakan rancangan yang bersifat deskriptif. Pengambilan sampel dilakukan dengan bertempat di berbagai daerah di Indonesia. Penelitian berdasarkan metode *Snowball Sampling* yaitu teknik pengambilan sampel dimana keberadaannya tidak ditentukan dan jumlah sampel tidak terbatas (Faugier *et al.*, 1997). Kelelawar yang akan dijadikan obyek pengambilan sampel bukan merupakan hasil pemilihan dan tanpa perlakuan sebelumnya. Sampel yang diambil berupa organ respirasi (Trakea dan Paru-paru) merupakan hasil dari isolasi yang akan diuji dengan menggunakan metode uji HA dan uji hemaglutinasi inhibisi (HI) menggunakan antisera H1.

### **3.4 Metode Penelitian**

#### **3.4.1 Pengambilan Sampel**

Penangkapan sampel dilakukan di pepohonan dan loteng rumah dimana merupakan sarang kelelawar yang berasal dari beberapa daerah di Kepulauan Indonesia, diantaranya 27 sampel dari pulau Bawean (kode sampel BW1-BW27), 20 sampel dari Kalimantan Barat (kode sampel KW1-KW20), 20 sampel dari Sumatera Barat (kode sampel PDG1-PDG20), dan 32 sampel dari Kepulauan Riau (kode sampel RI1-RI20). Keempat daerah tersebut diharapkan sudah mewakili Kepulauan Indonesia karena kelelawar tersebar luas di Indonesia dan hidup nomaden dengan bermigrasi dari satu tempat ke tempat lain. Total jumlah sampel ada 99 sampel. Penangkapan dengan menggunakan jaring perangkap kelelawar yang dipasang diatas pohon selama 12 jam, kelelawar yang tertangkap dimatikan dengan cara didislokasi dan dimasukkan ke dalam *cool box* yang didalamnya terdapat *ice gel*. Sampel dibawa menuju BSL-2 *Avian Influenza Research Centre*

untuk dilakukan pengambilan organ dan pengujian. Bangkai kelelawar utuh dimasukkan ke dalam *freezer*  $-20^{\circ}\text{C}$  sampai siap untuk dinekropsi dan dilakukan pengujian selanjutnya.

### 3.4.2 Penanganan Sampel di Laboratorium

Sampel berupa bangkai kelelawar yang telah disimpan di dalam *freezer*  $-20^{\circ}\text{C}$ , dipindahkan padalemari pendinginan bersuhu  $4^{\circ}\text{C}$  selama 60 menit untuk *dithawing*. Organ respirasi yang sudah dipreparasi disimpan dalam konikel 15 ml berisikan 10%, larutan *Phospat Buffer Saline* (PBS) dengan perbandingan 1:10. Sampel berisikan organ respirasi kelelawar dihaluskan menggunakan *tissue ruptor* kemudian disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Setelah melakukan proses sentrifus, supernatan yang telah dihasilkankemudian dimasukkan kedalam tabung *microtube* berlabel sekaligus diberikan antibiotik (Penicilin 3000 IU/mL dan Streptomycin 3000 mg/mL). Lalu selanjutnya dipindahkan ke dalam tabung *microtube* 1,5 ml yang sudah di label.

### 3.4.3 Inokulasi Sampel Pada Telur Ayam Berembrio (TAB)

Supernatan hasil dari sentrifus diinokulasikan pada TAB berumur 9-11 hari yang telah didesinfeksi dengan alkohol 80%. TAB yang akan diinokulasi di *candling* terlebih dahulu untuk memastikan TAB tersebut masih hidup kemudian diberi tanda batas antara rongga hawa dan cairan alantois dengan bantuan *candler*. Pada saat *candling*, diberi tanda "x" pada cangkang TAB di daerah rongga hawa ( $\pm 2\text{mm}$  dari garis batas) untuk pembuatan lubang dan tidak boleh dekat dengan embrio maupun daerah yang banyak terdapat pembuluh darah. TAB yang sudah diberi tanda "x" dilubangi menggunakan gunting bedah kecil. Supernatan diinokulasikan sebanyak 0,2 ml dan ditambahkan 50  $\mu\text{l}$  *penstrep* pada tiap TAB



kemudian ditutup dengan menggunakan selotip. TAB diinkubasi pada inkubator dengan suhu 37°C selama tiga hari. Setiap hari TAB ini di *candling* untuk mengetahui ada tidaknya kematian pada embrio tersebut. Embrio yang mati sebelum hari ketiga dikeluarkan dan disimpan pada lemari pendingin 4°C selama 1 malam (WHO, 2011).

Pengambilan cairan *allantois* TAB yang sudah mati atau dimatikan dilakukan dengan cara melepas selotip pada cangkang telur, kemudian permukaannya dibersihkan dengan alkohol 80%. Menggantung cangkang telur pada bagian rongga hawa dengan hati-hati, kemudian diambil cairan *allantoisnya* dengan menggunakan mikropipet. Cairan *allantois* dimasukkan ke dalam tabung *microtube* 1,5 ml. Hasil isolasi virus disimpan pada suhu 4°C yang merupakan suhu optimal (WHO, 2011).

#### **3.4.4 Pembuatan Suspensi eritrosit (RBC) ayam 0,5%**

Pembuatan suspensi Sel Darah Merah (*Red blood Cell/RBC*) yang digunakan dalam pengujian HA dan HI menggunakan antisera influenza A sub tipe H1 adalah RBC ayam 0,5 %. RBC pada ayam didapatkan dengan pengambilan darah pada vena *brachialis* ayam dewasa menggunakan spuit 1 ml. Darah yang sudah terambil dimasukkan kedalam tabung yang berisi antikoagulan EDTA kemudian dipindahkan kedalam tabung konikel 15 mL dan ditambahkan larutan PBS sampai 13 mL. Lalu disentrifus 3000 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang dan sisa endapan ditambahkan PBS kembali sampai 13 mL, selanjutnya disentrifus kembali dengan kecepatan yang sama yaitu 3000 rpm selama 5 menit. Kegiatan ini dilakukan sampai dua kali, atau sampai supernatant berwarna jernih, hal ini merupakan indikasi bahwa tidak ada eritrosit yang lisis (WHO, 2011).

Pembuatan suspensi RBC ayam 0,5% adalah dengan cara mengubah konsentrasi RBC ayam 100% menjadi 0,5% dengan rumus :

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

$$100\% \times V_1 = 0,5\% \times 45 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{0,5\% \times 45}{100\%}$$

$$V_1 = 0,225 \text{ mL} = 225 \mu\text{L}$$

Keterangan :  $N_1$  = konsentrasi awal eritrosit

$V_1$  = volume awal

$N_2$  = konsentrasi akhir (yang dibutuhkan)

$V_2$  = volume akhir (yang dibutuhkan)

Jadi untuk membuat suspensi RBC ayam 0,5% sebanyak 45 mL yaitu dengan mencampurkan 225  $\mu\text{L}$  eritrosit ayam 100% + 44,775 mL PBS.

### 3.4.5 Uji Hemaglutinasi (HA) Mikroteknik

Uji Hemaglutinasi (HA) digunakan untuk mendeteksi virus yang memiliki hemaglutinin. Hemaglutinin dapat mengaglutinasi eritrosit beberapa hewan termasuk eritrosit unggas. Kegunaan uji HA adalah sebagai titer dasar untuk menentukan titer antigen virus AI sub tipe H1 pada uji hambatan hemaglutinasi (HI). Prosedur uji HA mikroteknik pada penelitian ini menggunakan *microplate* yang berbentuk "V". Pertama mengisi 96 lubang *microplate* dengan 25  $\mu\text{l}$  PBS yang dimulai dari nomor 1-12 pada baris A sampai H menggunakan *multi channel pipet*. Lubang *microplate* pada nomor 12 digunakan sebagai kontrol RBC (tanpa antigen sampel). Cairan allantois dimasukkan sebanyak 25  $\mu\text{l}$  kedalam lubang A1 sampai A11. Kemudian dibuat pengenceran secara dilusi dengan mengambil 25  $\mu\text{l}$

### 3.4.7 Retitrasi Antigen 4 HA Unit

Retitrasi merupakan suatu metode untuk menguji ketepatan pengenceran antigen yang akan digunakan dalam uji Hambatan Hemaglutinasi (HI) dengan menggunakan antisera H1. Cara kerja untuk retitrasi antigen 4 HA unit adalah mengisi semua lubang *microplate* dengan 25  $\mu$ L PBS, kemudian antigen yang telah diencerkan menjadi 4 HA unit (HAU) dimasukkan pada lubang nomor A1 sampai A11 sebanyak 25  $\mu$ L dan dicampur sampai rata. Selanjutnya dilakukan pengenceran dengan mengambil 25  $\mu$ L dari lubang nomor A1 dipindah ke B1, dicampur sampai rata, demikian seterusnya sampai lubang nomor D1 dan dari lubang D1 dibuang 25  $\mu$ L. Lubang nomor 12 digunakan sebagai kontrol negatif. Lalu ditambahkan RBC 0,5% sebanyak 50  $\mu$ L. Kemudian diinkubasikan selama 30 menit dalam suhu ruangan. Bila pengenceran antigen 4 HA unit sudah tepat, maka pada lubang nomor A1 dan A2 akan terjadi hemaglutinasi.

### 3.4.8 Uji Hambatan Hemaglutinasi (HI) menggunakan Antisera H1

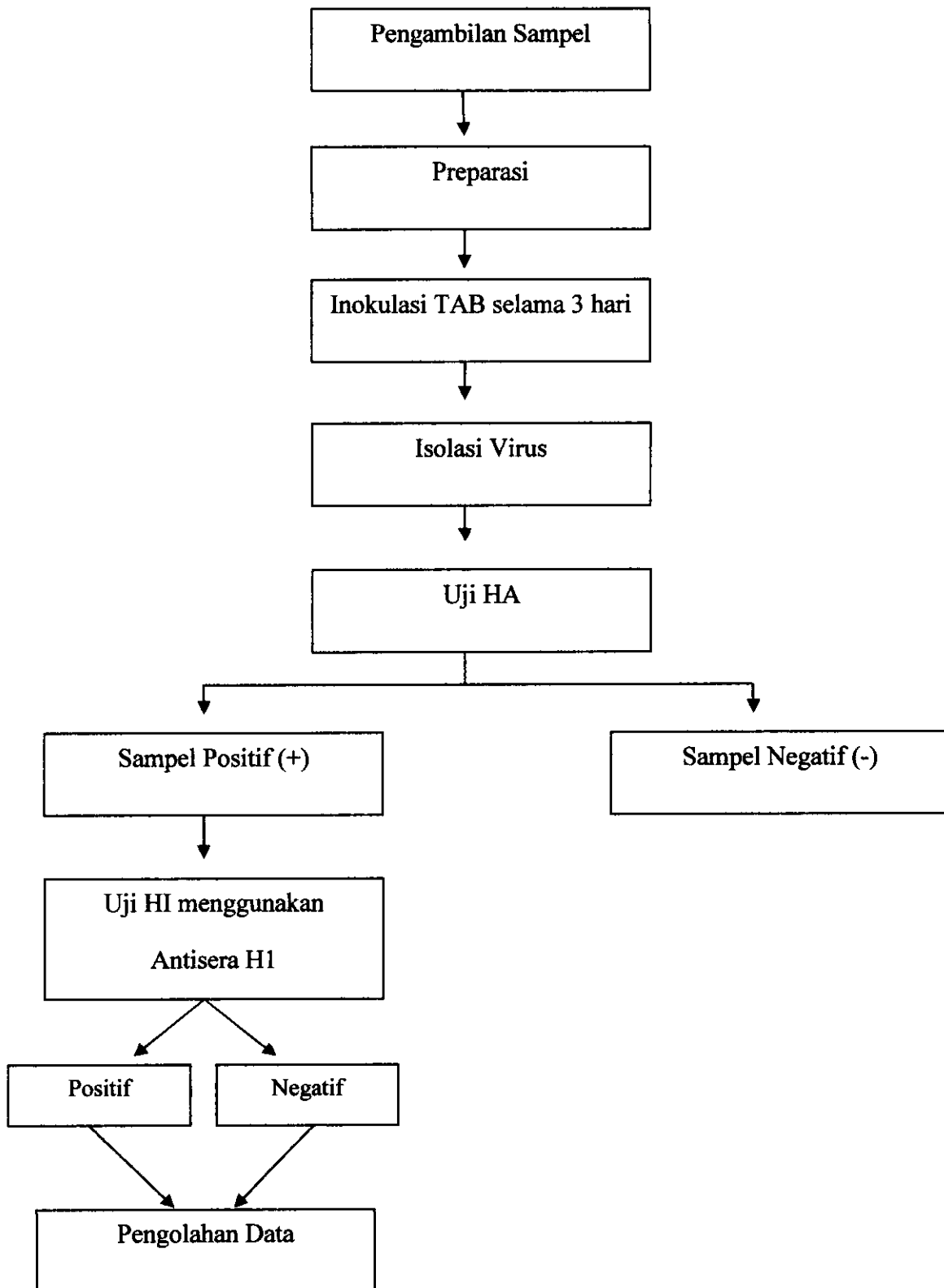
Uji hambatan hemaglutinasi (HI) dengan menggunakan antisera H1 dapat digunakan untuk mengidentifikasi adanya H1 pada sampel yang akan diuji. Langkah-langkah dalam uji hambatan hemaglutinasi (HI) sebagai berikut : menyediakan *microplate* dan diisi dengan PBS 25  $\mu$ L pada semua lubang kecuali baris A. Baris A diisi dengan 50  $\mu$ L antisera H1, dari A1 diambil 25  $\mu$ L dan didilusi pada lubang B1, pengenceran serial dilakukan sampai lubang ke H1, pada H1 dibuang 25  $\mu$ L. Pengenceran antisera dilakukan pada lubang A1 sampai A10. Semua antigen yang akan diuji dan sudah di retitasi 4HAU dimasukkan sebanyak 25  $\mu$ L pada lubang A1 sampai H10. Baris 11 dan 12 digunakan sebagai kontrol

positif dan negatif. Lubang nomor 11 sebagai kontrol positif yang berisi RBC 0,5% 50  $\mu$ l dan PBS 50  $\mu$ l sedangkan lubang nomor 12 sebagai kontrol negatif berisi antigen spesifik H1 25  $\mu$ l, PBS 25  $\mu$ l dan RBC 0,5% 50  $\mu$ l. *Microplate* diletakkan di *mechanical vibrator* hingga antisera dan antigen tercampur rata, kemudian diinkubasi selama 30 menit. Setelah diinkubasi semua lubang ditambahkan RBC ayam 0,5% sebanyak 50  $\mu$ l, kemudian diinkubasi pada suhu ruangan selama 30 menit. Langkah terakhir yaitu dilakukan melihat adanya aglutinasi atau tidak pada uji hambatan hemaglutinasi (HI) menggunakan antisera H1.

### **3.5 Pengolahan Data**

Data yang diperoleh dari hasil isolasi virus dan uji HA/HI disajikan dalam bentuk deskriptif, yaitu dengan menyajikan jumlah positif dan negatif dari hasil identifikasi adanya virus *Influenza* sub tipe H1 dari organ trakhea, paru-paru kelelawar.

### 3.6 Diagram Alir



Gambar 3.1 Diagram Alir penelitian

**BAB 4**  
**HASIL PENELITIAN**

## BAB 4 HASIL PENELITIAN

Pada penelitian ini, pengujian sampel dilakukan di Laboratorium *Avian Influenza Research Center* (AIRC). Sampel yang kami gunakan berasal dari kelelawar yang berada di beberapa pulau di Indonesia yaitu 27 sampel dari pulau Bawean, 20 sampel dari Kalimantan Barat, 20 sampel dari Sumatera Barat dan 32 sampel dari Kepulauan Riau. Total jumlah sampel yang diperiksa sebanyak 99 sampel. Organ yang diperiksa adalah organ respirasi berupa paru-paru dan trakhea. Jenis kelelawar yang kami dapatkan pada penelitian ini adalah *Pteropus sp.*

Sampel organ yang diperoleh dipreparasi dan dihaluskan dengan menggunakan *tissue ruptor* kemudian diinokulasikan pada Telur Ayam Berembrio (TAB) berumur 9-11 hari selama 3 hari setelah itu dilanjutkan dengan uji hemaglutinasi (HA). Telur ayam berembrio (TAB) *specific pathogen free* (SPF) umur 9-11 hari digunakan untuk isolasi, sedangkan untuk identifikasi virus digunakan uji hemagglutinasasi (HA) dan uji *haemagglutination inhibition* (HI) dengan spesifik antisera H1 (OIE, 2012).

Sampel yang mempunyai titer HA lebih dari  $2^2$  dilanjutkan dengan uji HI dengan menggunakan antisera H1. Uji HI memerlukan titer 4 HAU/0,025 ml (WHO, 2011).

Setelah dilakukan inokulasi pada TAB selama 3 hari, diketahui terdapat 13 sampel positif dari 99 sampel.

**Tabel 4.1** Hasil Uji HA Pada Sampel Kelelawar

Asal Sampel	Jumlah Sampel	Positif	Negatif
Bawean	27	2	25
Kalimantan Barat	20	8	12
Kepulauan Riau	32	3	29
Sumatera Barat	20	0	20
Total	99	13	86

Dilanjutkan dengan uji HI, hasil pemeriksaan yang tertera pada tabel 4.2 dan diperoleh hasil bahwa adanya satu sampel positif yang berasal dari Bawean (BW 3).

**Tabel 4.2** Hasil Uji HI Pada Sampel Kelelawar Menggunakan antisera H1

Asal Sampel	Jumlah Sampel	Positif	Negatif
Bawean	2	1	1
Kalimantan Barat	8	0	8
Kepulauan Riau	3	0	3
Total	13	1	12

Hasil uji hambatan hemaglutinasi menggunakan antisera H1 yang tersedia di *Avian Influenza Research Center (AIRC)* – Universitas Airlangga dan di produksi oleh PT. Bio Farma menunjukkan bahwa satu ekor spesimen kelelawar yang telah diuji teridentifikasi terinfeksi virus Influenza Subtipe H1 seperti pada tabel 4.2 di atas dan tercantum dalam lampiran.



**BAB 5**  
**PEMBAHASAN**

## BAB 5 PEMBAHASAN

Virus *Influenza* subtipe H1 mewabah pada tahun 1918 - 1920 yang membunuh lebih dari 20 juta orang di dunia dan saat itu dikenal sebagai Spanish flu (Kaplan dan Webster, 1977). Terjadi peningkatan kejadian dan perubahan virus influenza diantara induk semang babi, mamalia lainnya (termasuk mamalia laut) dan unggas, baik secara langsung atau setelah proses *genetic reassortment* atau mutasi (Heinen, 2003).

Virus *Influenza* H1N1 merupakan virus yang menyerang pada saluran pernafasan dan sangat menular (Newman *et al.*, 2008). Virus H1N1 yang menyebabkan flu musiman pada manusia ini sebenarnya sudah lazim terjadi secara rutin. Evolusi virus H1N1 ini ditentukan oleh peran serta babi yang merupakan reservoir utama virus influenza dan babi memainkan peranan penting dalam ekologi virus influenza manusia. Babi berperan dalam penularan pandemik H1N1 antar spesies, karena hewan ini memiliki 2 jenis reseptor yaitu,  $\alpha$  2,3 asam sialat yang cenderung berikatan terhadap virus Influenza pada unggas dan  $\alpha$  2,6 asam sialat yang berikatan dengan virus influenza pada manusia. Konsekuensinya, babi dianggap sebagai induk semang perantara atau media pencampur (*mixing vessel*), di mana material genetik virus dapat dipertukarkan (Wahid, 2009).

Kemampuan transmisi antar spesies dari virus ini membuatnya menjadi *emerging disease* sehingga dapat memberikan dampak besar ke lingkungan sekitar.

Kelelawar merupakan hewan liar dengan kemampuan terbang dapat berpindah tempat mudah dan jangkauan luas, meningkatkan potensi penyebaran virus lebih luas dan berbahaya. Kelelawar terbang untuk mencari makan setiap hari nya dan beberapa spesies mempunyai kemampuan terbang yang jauh selama musim imigrasi (Kunz and Pierson, 1994). Kelelawar juga semakin dikenal sebagai *reservoir host* untuk virus yang dapat menyeberangi *spesies-barriers* untuk menginfeksi manusia dan mamalia domestik maupun mamalia liar lainnya (Calisher *et al.*, 2006).

Identifikasi virus *Influenza A* subtipe H1 pada kelelawar di Kepulauan Indonesia merupakan tujuan dari penelitian ini. Persebaran sampel di Kepulauan Indonesia yang diteliti didapat dari daerah Pontianak yang mewakili populasi di Kalimantan Barat, daerah Bintan mewakili Kepulauan Riau, Agam mewakili Sumatera Barat, dan Pulau Bawean mewakili Pulau Jawa.

Berdasarkan hasil penelitian, dari 99 sampel terdapat 13 sampel positif uji HA. Hal ini berarti organ respirasi kelelawar tersebut terinfeksi virus yang mempunyai hemaglutinin, karena adanya aglutinasi dari eritrosit. Hasil uji HA dilanjutkan dengan uji HI untuk mendiagnosa lebih spesifik jenis virus yang mengaglutinasi eritrosit tersebut virus *Influenza* subtipe H1. Uji HI dilakukan dengan menggunakan antisera H1. Jika virus H1 dapat ditemukan pada kelelawar maka akan menjadi sebuah informasi yang dapat diberikan kepada masyarakat dan pemerinth agar dapat dijadikan sebagai pengendalian dan penanggulangan lebih lanjut.

Dari 13 sampel positif HA, yang kemudian dilanjutkan uji hambatan hemaglutinasi (HI) menunjukkan hasil satu spesimen kelelawar yang berasal dari pulau Bawean (BW 3) positif dengan uji HI menggunakan antisera HI. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dari penelitian ini. Penelitian serupa juga dilakukan oleh Wahyu (2017), Ragil (2017), Bitang (2017), Igor (2017), dan Rama (2017) dengan menggunakan kelelawar tetapi berbeda antisera.

Imron tahun 2016 membuktikan adanya virus *Influenza A* subtipe H1 pada kucing jalanan di beberapa daerah meliputi Surabaya, dan Sidoarjo. Virus *Influenza A* subtipe H1 berpotensi dapat menular pada hewan lain, seperti kelelawar karena kelelawar merupakan *reservoir* dari beberapa penyakit *zoonosis* yang dapat menularkan ke spesies lain atau sesama spesies.

Pulau Bawean merupakan Pulau yang letaknya di sebelah utara Gresik. Untuk bisa sampai Pulau Bawean setiap orang harus naik kapal dari pelabuhan penyeberangan sekitar 2-3 jam untuk sampai di Pulau Bawean. Bisa juga menggunakan pesawat terbang. Mengingat akses Pulau Bawean sedikit susah dan memakan waktu yang lama bisa saja virus *Influenza A* subtipe H1 yang telah positif ditemukan pada gerusan sampel organ respirasi kelelawar pulau Bawean (BW 3) dibawa oleh sekelompok mamalia terbang ini dan ditularkan pada manusia atau bisa jadi sebaliknya Walaupun cara penularannya masih belum diketahui secara jelas.

**BAB 6**  
**KESIMPULAN DAN SARAN**

## BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1 KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian menggunakan uji HA dan uji HI disimpulkan bahwa hasil pemeriksaan antigen dari gerusan organ respirasi (trakea dan paru-paru) hasil isolasi virus pada TAB pada kelelawar di Kepulauan Indonesia yang meliputi wilayah Pontianak, Bintan, Agam dan Pulau Bawean menunjukkan dari 99 sampel yang diisolasi dan diidentifikasi terdapat indikasi virus Influenza A subtipe H1 pada kelelawar dengan satu spesimen kelelawar dinyatakan positif uji HI bereaksi terhadap antisera H1.

### 6.2 SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka saran yang dapat dikemukakan sebagai berikut:

1. Perlu adanya kewaspadaan terhadap resiko zoonosis dikarenakan virus *influenza A H1* telah dinyatakan positif ditemukan pada gerusan organ respirasi kelelawar di pulau Bawean yang kemungkinan berasal dari manusia dan sebaliknya walaupun cara penularannya masih belum diketahui.
2. Perlu dilakukan tindakan *surveillance* dari virus *influenza A* subtipe H1 pada manusia dan kelelawar untuk memantau perkembangan *influenza A* subtipe H1 di Indonesia sehingga resiko zoonosis dapat terkendalikan

3. Perlu diadakan penelitian lebih lanjut lainnya untuk mengetahui peranan kelelawar sebagai pembawa virus influenza subtipe H1
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan identifikasi di tingkat molekuler virus seperti menggunakan RT-PCR.

# **RINGKASAN**



## RINGKASAN

**Yunita Galuh Indreswari.** Penelitian yang berjudul “Identifikasi Virus *Influenza* subtipe H1 pada Kelelawar di Kepulauan Indonesia”. Penelitian ini dilaksanakan di bawah bimbingan Prof. Dr. Chairul Anwar Nidom, drh., M.S., dan juga Dr. Kadek Rachmawati, M.kes.,drh. selaku dosen pembimbing utama juga Suryanie Sarudji, M.kes.,drh. selaku dosen pembimbing serta.

Penelitian ini dilakukan karena dilatar belakangi oleh kemungkinan kelelawar berperan sebagai reservoir virus *Influenza* subtipe H1 sehingga diperlukan suatu penelitian guna mengetahui adanya virus *Influenza* subtipe H1 pada gerusan organ respirasi kelelawar di Indonesia. Kelelawar dapat berperan sebagai reservoir alami dari beberapa virus, 59 diantaranya merupakan virus RNA, diantaranya virus Nipah, virus Hendra dan virus Ebola pada mamalia (Smith *et al.*, 2013).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya virus *Influenza* subtipe H1 pada kelelawar yang berada di Kepulauan Indonesia dengan menggunakan uji hemaglutinasi (HA) yang kemudian dilanjutkan dengan uji hambatan hemaglutinasi (HI) dengan menggunakan antisera H1 yang berasal dari PUSVETMA. Jumlah sampel kelelawar yang diperiksa sebanyak 99 sampel, yang kemudian organ pernapasannya (trakea dan paru-paru) digerus lalu diperiksa. Penelitian ini bertempat di *Laboratorium Avian Influenza Research Centre* (AIRC). Sampel diambil dari beberapa daerah yang diharapkan sudah mewakili Kepulauan Indonesia yaitu Kepulauan Riau, pulau Bawean, Sumatera Barat dan

Kepulauan Indonesia dengan menggunakan uji Hemaglutinasi dan uji HI menggunakan antisera H1 menunjukkan bahwa terdapat 1 sampel positif *Influenza A* subtipe H1 dari 99 sampel yang diperiksa, yaitu sampel positif dari Bawean.

## **DAFTAR PUSTAKA**

## DAFTAR PUSTAKA

- Bradsher, K. 2009. The naming of swine flu, a curious matter. *The New York Times*.
- Cauchemez, S., C.A. Donnelly and C. Reed. 2009. Household transmission of 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus in the United States. *N Engl J Med.* ; 361: 2619-2627
- CDC (Center for Disease Control and Prevention). 2009. Swine influenza A (H1N1) infection in two children-southern California, March-April 2009, *MMWR Morb. Mortal Wkly. Rep.* 58: 400-402
- CDC (Center for Disease Control and Prevention).2009. Deaths Related to 2009 Pandemic Influenza A (H1N1) Among American Indian/Alaska Natives – 12 States, 2009. *MMWR Morb. Mortal Wkly. Rep.* 58: 1341–1344.
- Calisher, C. H., James E. C., Hume E. F., Kathryn V. H., and Tony S. 2006. Bats: Important Reservoir Hosts of Emerging Viruses. *Clinical Microbiology Reviews Journal.* 19(3), pp. 531-545.
- Detikhealth. 2009. Flu Babi, Virus paling heboh di 2009. <http://health.detik.com/read/2009/12/31/130031/1269456/763/flu-babi-virus-paling-heboh-di-2009> [10 Mei 2017]
- Dinkes. 2009. Waspada Terhadap Kemungkinan Munculnya Strain Virus Baru.29Oktober2009.<http://www.surabayahealth.org/dkksurabaya/berita/rapat-koordinasi-lintas-sektor-penanggulangan-virus-influenza.htm> [Diakses 10 Mei 2017]
- Dewan Kelautan Indonesia. (2008). Evaluasi Kebijakan dalam Rangkaian Implementasi Konvensi Hukum Laut Internasional (UNCLOS 1982) di Indonesia. Departemen Kelautan dan Perikanan, Jakarta. 101 hal.
- Epstein, J.H., K.J. Olival, J. R. C. Pulliam, C. Smith, J. Westrum, T. Hughes, A. P. Dobson, Z. Akbar, S. A. Rahman, M.M Basir, H. E Field & P. Daszak. 2009. *Pteropus Vampyrus*, A Hunted Migratory Species with a Multinational Home-Range and a Need for Regional Management. *Journal of Applied Ecology*, 46: 991-1002.
- Field HE, AC Breed, J Shield, RM Hedlefs, K Pittard, B Pott. 2007. Epidemiological perspectives on Hendra virus infection in horses and flying foxes. *Aust Vet J* 85: 268–270.

- Fleming TH, P Eby. 2003. *Ecology of bat migration*. In: *Bat Ecology*, Kunz TH, Fenton MB (editors). Chicago: The University of Chicago Press.
- Fouchier RA, Schneeberger PM, Rozendaal FW, Broekman JM, Kemink SA, Munstar V. 2004. Avian Influenza A Virus (H7N7) associated with human conjunctivitis and a fatal case of acute respiratory distress syndrome. *Proc natl Acad Sci USA* 101 : 1356-1361.
- Fraser GC, PT Hooper, RA Lunt, AR Gould, LJ Gleeson, AD Hyatt. 1996. Encephalitis caused by a Lyssavirus in fruit bats in Australia. *Emer Inf Dis* 2:327-331.
- Garten, R. J., C. T. Davis, C. A. Russell, B. Shu, S. Lindstrom, A. Balish, W. M. Sessions, X. Xu, E. Skepner, V. Deyde, M. Okomo-Adhiambo, L. D. J. Smith, A. I. Klimov, and N. J. Cox. 2009. Antigenic and genetic characteristics of swine-origin 2009 A(H1N1) influenza viruses circulating in humans. *Science* 325:197-201.
- Halpin K, P Young, H Field, J Mackenzie. 2000. Isolation of Hendra virus from pteropid bats: a natural reservoir of Hendra virus. *J of Gene Vir* 81:1927-1932.
- Hampson, A. 1996. Influenza-Dealing with a continually emerging disease. In *Communicable Diseases Intelligence*. (20) 9:212-216
- HEINEN,P.P. 2003. Swine Influenza: a zoonosis. *Vet.Sciences Tomorrow*. ISSN 1569-0830.<http://worldcat.org/issn/1569-0830>.(09 Mei 2017).
- Harimoto, T., and Y. Kawaoka. 2001. Pandemic Threat Posed by Avian Influenza A Viruses. *Clin. Microbiol. Rev.* 14: 129-149.
- HarimotoTaisuke and Kawaoka Yoshihiro. 2005. Characterization of H5N1 influenza A viruses isolated during the 2003-2004 influenza outbreaks in Japan. 332:167-176
- Ismail, H. I. M., Tan, K. K., Haniff, J., Adnan, T. H., Supramaniam, P., and Bujang, M. A. 2015. Predictors of Severe Outcome in Hospitalized Malaysian Children with H1N1 Infection: Experience from a National Cohort. *International Medical Journal*, 22(3).
- Johara M, H Field, A Rashdi, C Morrissy, HB Vander, P Rota. 2001. Serological evidence of infection with Nipah virus in bats (order Chiroptera) in Peninsular Malaysia. *Emer Inf Dis* 7:439-441.
- KAPLAN, M.M. and WEBSTER, R. G. 1977. The epidemiology of Influenza. *Sci. Amer.* 237: 88 - 106.

- Schevarria, J. E., A. Avellon, J. Juste, M. Vera, and C. Ibanez. 2001. Screening of Active Lyssavirus Infection in Wild Bat Populations by Viral RNA Detection on Oropharyngeal Swabs. *J. Clin. Microbiol.* 39:3678–3683.
- Simmons, N. B. 2005. Order Chiroptera, p. 312–529. In D. E. Wilson and D. M. Reeder (ed.), *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference*, 3rd ed. Johns Hopkins University Press, Baltimore, Md.)
- Smith, G.J., D. Vijaykrishna, J. Bahl, S.J. Lycett, M. Worobey, O.G. Pybus, S.K. Ma, J. Raghwani, S. Bhatt, J.S. Peiris, Guan Y., and A. Rambaut. 2009.
- Smith, I. And Wang, L. F. 2013. Bats and Their Virome : An Important Source of Emerging Viruses Capable of Infecting Humans. *Curr. Opin. Virol.* 3:84-91.
- Spackman, E. 2008. *Avian Influenza virus*. *Methods Molecular Biology*. Humana press. 436
- Syafriati, T. 2009. Mengenal influenza babi : Lokakarya Nasional Penyakit Zoonosis. Bogor. 102-110
- Tong, Suxiang, Xueyong Zhu, Yan Li, Mang Shi, Jing Zhang, Melissa Bourgeois, Hua Yang, Xianfeng Chen, Sergio Recuenco, Jorge Gomez, Li Mei Chan, Adam Johnson, Ying Tao, Cyrille Dreyfus, Wenli Yu, Ryan McBride, Paul J. Carney, Amy T. Gilbert, Jessie Chang, Zhu Guo, Charles T. Davis, James C. Paulson, James Stevens, Charles E. Rupprecht, Edward C. Holmes. Ian A. Wilson, Ruben O. Donis. 2013. New World Bats Harbor Diverse Influenza A Viruses. *PloS Pathog* 9(10): e1003657
- Turmellet, AS., Olival, KJ. 2009. Correlates Of Viral Richness In Bats (Order Chiroptera). *EcoHealth* 6:522-539
- United Nations Convention on the Law of the Sea (UNCLOS).(1982).
- Wagner R, Herwig A, Azzouz N, Klenk HD. 2005. Acylation-Mediated Membrane Anchoring of Avian Influenza Virus Hemagglutinin is Essential for Fusion Pore Formation and Virus Infectivity. *J Virol.* 79: 6449-58.
- Wahid, 2009. Wabah dan Virus flu A H1N1 2009, suatu pengertian public. <https://wahid.wordpress.com/2009/07/29/wabah-dan-virus-flu-a-h1n1-2009-suatu-pengertian-publik/> [10 Mei 2017]
- Webster RG, Hulse DJ. 2004. *Microbial Adaptation and Change: Avian Influenza*.

- WHO World Health Organization. 2005. Avian Influenza: Assessing the Pandemic Threat. and Pathogenicity. *Am J Respir Crit Care Med.* 152: S16-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=7551406>. [10-05-2017].
- WHO. 2002. WHO Manual on Animal Avian Influenza Diagnosis Surveillance. WHO/CDR/CSR/NCS/2000.5
- WHO. 2011. Manual for the Laboratory Diagnosis and Virological Surveillance of Influenza. WHO Press. Switzerland. ISBN 978-92-154809-0
- WHO (WorldHealthOrganization).2016.Influenzaupdate. [http://www.who.int/influenza/surveillance\\_monitoring/updates/latest\\_update\\_GIP\\_surveillance/en/](http://www.who.int/influenza/surveillance_monitoring/updates/latest_update_GIP_surveillance/en/) [11 mei 2017]
- Wibawa, H., J. Bighama, H. Nuradjia, S. Lowthera, J. Paynea, J. Harpera, F. Wonga, R. Lunta, A. Junaidic, D. Middletona, J. Meers. 2012. The Pathobiology of Two Indonesian H5N1 Avian Influenza Viruses Representing Different Clade 2.1 Sublineages in Chickens and Ducks. *Comparative Immunologi, Microbiology and Infectious Diseases.* 36:175-191. *Virology* 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 1647-1689.
- Wilschut, CJ., J.E. McElhaney, A.M. Palache. 2006. *Influenza*, 2nd ed. Philadelphia, Elsevier: p.27-39.
- Wong S, Lau S, Woo P, Yuen KY. 2007. Bats as a continuing source of emerging infections in humans. *Wiley Interscience* 17 (2): 67-91. Doi: 10.1002/rmv.520.
- WOODLIFE,C.G.1994. Swine Influenza. Proc.NC Health Hogs Seminar. [http://mark.asci.ncsu.edu/healthy\\_hogs/book1994/woodlife.htm](http://mark.asci.ncsu.edu/healthy_hogs/book1994/woodlife.htm) retrieved on (09 Mei 2017).

## **LAMPIRAN**



**Lampiran 1. Data Hasil Uji HA dan Uji HI Menggunakan Antisera H1 Pada  
Kelelawar**

No	Asal Sampel	Kode Sampel	Titer HA	Hasil Uji HI antisera H1
1	Pontianak	KW 1	2 <sup>0</sup>	-
2	Pontianak	KW 2	2 <sup>0</sup>	-
3	Pontianak	KW 3	2 <sup>3</sup>	-
4	Pontianak	KW 4	2 <sup>0</sup>	-
5	Pontianak	KW 5	2 <sup>0</sup>	-
6	Pontianak	KW 6	2 <sup>2</sup>	-
7	Pontianak	KW 7	2 <sup>1</sup>	-
8	Pontianak	KW 8	2 <sup>0</sup>	-
9	Pontianak	KW 9	2 <sup>4</sup>	-
10	Pontianak	KW 10	2 <sup>0</sup>	-
11	Pontianak	KW 11	2 <sup>2</sup>	-
12	Pontianak	KW 12	2 <sup>0</sup>	-
13	Pontianak	KW 13	2 <sup>0</sup>	-
14	Pontianak	KW14	2 <sup>0</sup>	-
15	Pontianak	KW 15	2 <sup>4</sup>	-
16	Pontianak	KW 16	2 <sup>6</sup>	-
17	Pontianak	KW 17	2 <sup>4</sup>	-
18	Pontianak	KW 18	2 <sup>1</sup>	-
19	Pontianak	KW 19	2 <sup>3</sup>	-
20	Pontianak	KW 20	2 <sup>0</sup>	-

Pontianak (Kalimantan Barat)

No	Asal Sampel	Kode Sampel	Titer HA	Hasil Uji HI antisera H1
1	Bintan	RI 1	2 <sup>0</sup>	-
2	Bintan	RI 2	2 <sup>0</sup>	-
3	Bintan	RI 3	2 <sup>0</sup>	-
4	Bintan	RI 4	2 <sup>0</sup>	-
5	Bintan	RI 5	2 <sup>0</sup>	-
6	Bintan	RI 6	2 <sup>0</sup>	-
7	Bintan	RI 7	2 <sup>0</sup>	-
8	Bintan	RI 8	2 <sup>0</sup>	-
9	Bintan	RI 9	2 <sup>0</sup>	-
10	Bintan	RI 10	2 <sup>0</sup>	-
11	Bintan	RI 11	2 <sup>0</sup>	-
12	Bintan	RI 12	2 <sup>0</sup>	-
13	Bintan	RI 13	2 <sup>0</sup>	-
14	Bintan	RI 14	2 <sup>0</sup>	-
15	Bintan	RI 15	2 <sup>0</sup>	-
16	Bintan	RI 16	2 <sup>0</sup>	-
17	Bintan	RI 17	2 <sup>0</sup>	-
18	Bintan	RI 18	2 <sup>0</sup>	-
19	Bintan	RI 19	2 <sup>0</sup>	-
20	Bintan	RI 20	2 <sup>0</sup>	-
21	Bintan	RI 21	2 <sup>0</sup>	-
22	Bintan	RI 22	2 <sup>0</sup>	-
23	Bintan	RI 23	2 <sup>0</sup>	-
24	Bintan	RI 24	2 <sup>0</sup>	-
25	Bintan	RI 25	2 <sup>0</sup>	-
26	Bintan	RI 26	2 <sup>0</sup>	-
27	Bintan	RI 27	2 <sup>0</sup>	-
28	Bintan	RI 28	2 <sup>2</sup>	-
29	Bintan	RI 29	2 <sup>2</sup>	-
30	Bintan	RI 30	2 <sup>0</sup>	-
31	Bintan	RI 31	2 <sup>3</sup>	-
32	Bintan	RI 32	2 <sup>0</sup>	-

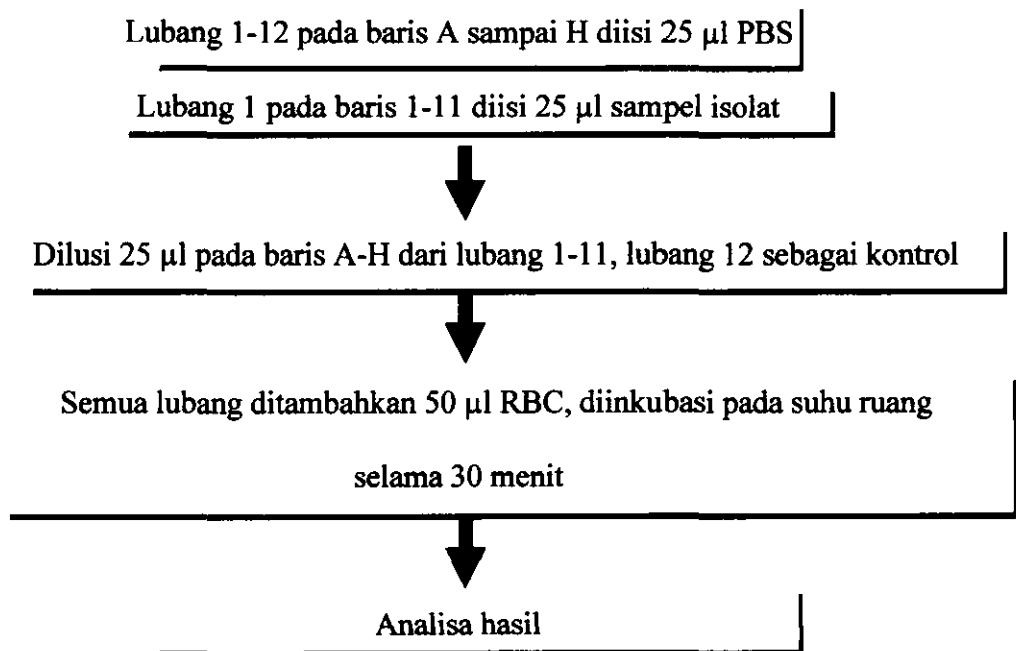
Bintan (Kepulauan Riau)

No	Asal Sampel	Kode Sampel	Titer HA	Hasil Uji HI antisera H1
1	Agam	PDG 1	2 <sup>0</sup>	-
2	Agam	PDG 2	2 <sup>0</sup>	-
3	Agam	PDG 3	2 <sup>0</sup>	-
4	Agam	PDG 4	2 <sup>0</sup>	-
5	Agam	PDG 5	2 <sup>0</sup>	-
6	Agam	PDG 6	2 <sup>0</sup>	-
7	Agam	PDG 7	2 <sup>0</sup>	-
8	Agam	PDG 8	2 <sup>0</sup>	-
9	Agam	PDG 9	2 <sup>0</sup>	-
10	Agam	PDG 10	2 <sup>0</sup>	-
11	Agam	PDG 11	2 <sup>0</sup>	-
12	Agam	PDG 12	2 <sup>0</sup>	-
13	Agam	PDG 13	2 <sup>0</sup>	-
14	Agam	PDG 14	2 <sup>0</sup>	-
15	Agam	PDG 15	2 <sup>0</sup>	-
16	Agam	PDG 16	2 <sup>0</sup>	-
17	Agam	PDG 17	2 <sup>0</sup>	-
18	Agam	PDG 18	2 <sup>0</sup>	-
19	Agam	PDG 19	2 <sup>0</sup>	-
20	Agam	PDG 20	2 <sup>0</sup>	-

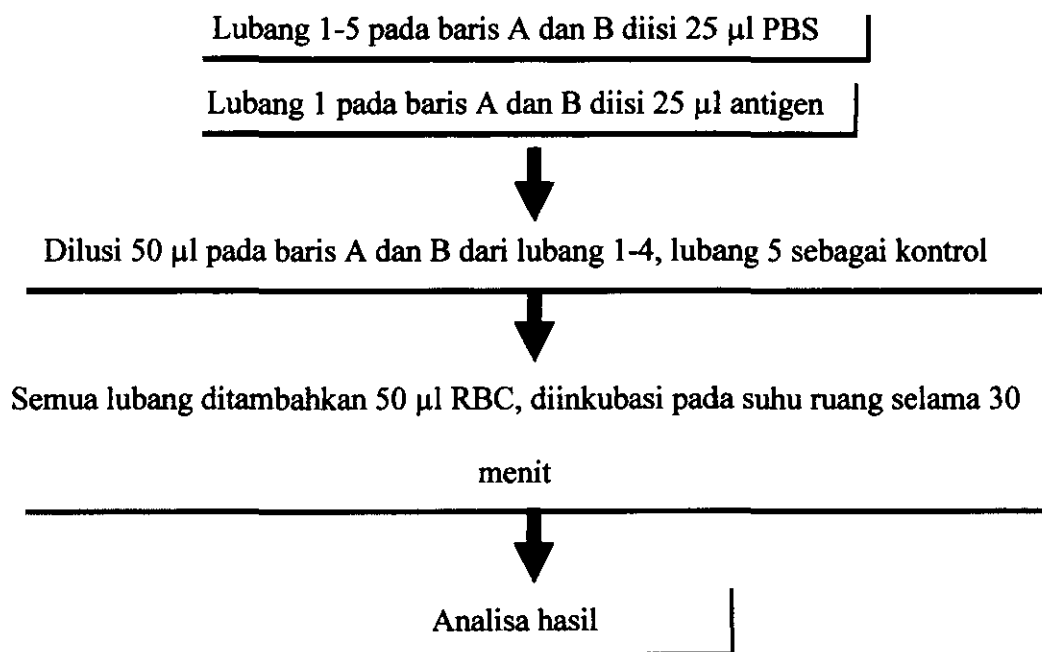
Agam(Sumatera Barat)

No	Asal Sampel	Kode Sampel	Titer HA	Hasil Uji HI antisera H1
1	Bawean	BW 1	2 <sup>0</sup>	-
2	Bawean	BW 2	2 <sup>0</sup>	-
3	Bawean	BW 3	2 <sup>4</sup>	+*
4	Bawean	BW 4	2 <sup>0</sup>	-
5	Bawean	BW 5	2 <sup>0</sup>	-
6	Bawean	BW 6	2 <sup>0</sup>	-
7	Bawean	BW 7	2 <sup>6</sup>	-
8	Bawean	BW 8	2 <sup>0</sup>	-
9	Bawean	BW 9	2 <sup>0</sup>	-
10	Bawean	BW 10	2 <sup>0</sup>	-
11	Bawean	BW 11	2 <sup>0</sup>	-
12	Bawean	BW 12	2 <sup>0</sup>	-
13	Bawean	BW 13	2 <sup>0</sup>	-
14	Bawean	BW 14	2 <sup>0</sup>	-
15	Bawean	BW 15	2 <sup>0</sup>	-
16	Bawean	BW 16	2 <sup>0</sup>	-
17	Bawean	BW 17	2 <sup>0</sup>	-
18	Bawean	BW 18	2 <sup>0</sup>	-
19	Bawean	BW 19	2 <sup>0</sup>	-
20	Bawean	BW 20	2 <sup>0</sup>	-
21	Bawean	BW 21	2 <sup>0</sup>	-
22	Bawean	BW 22	2 <sup>0</sup>	-
23	Bawean	BW 23	2 <sup>0</sup>	-
24	Bawean	BW 24	2 <sup>0</sup>	-
25	Bawean	BW 25	2 <sup>0</sup>	-
26	Bawean	BW 26	2 <sup>0</sup>	-
27	Bawean	BW 27	2 <sup>0</sup>	-

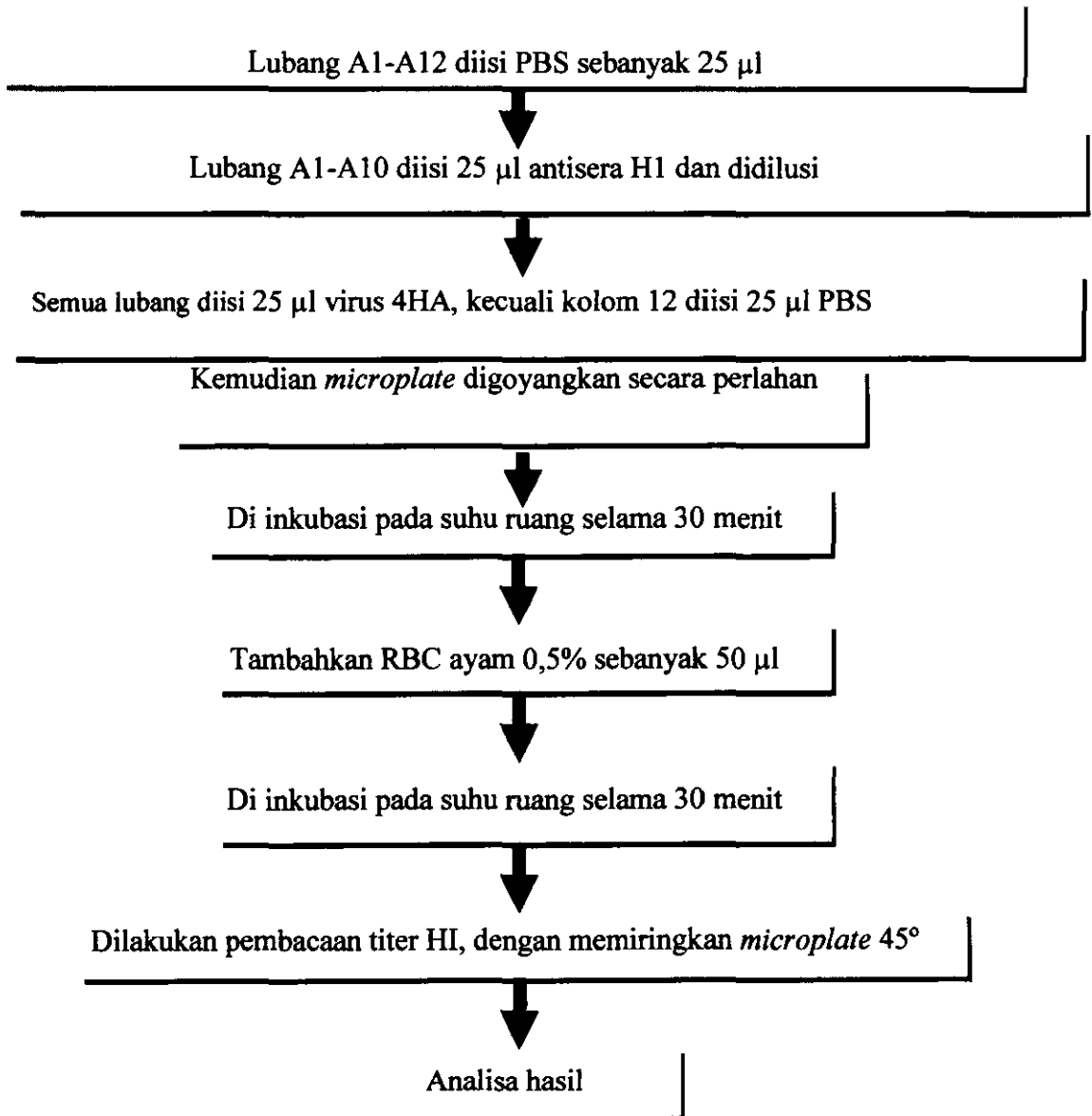
Pulau Bawean

**Lampiran 2. Skema Uji HA****Interpretasi hasil :**

- Hasil HA positif : aglutinasi sempurna (100%), terlihat jelas tidak adanya pengendapan eritrosit berbentuk titik pada dasar lubang plate (butiran pasir)
- Hasil HA negatif : adanya pengendapan pada dasar lubang

**Lampiran 3. Skema Retitrasi 4 HAU****Interpretasi hasil :**

- Hasil HAU positif : aglutinasi sempurna (100%), terlihat jelas tidak adanya pengendapan eritrosit berbentuk titik pada dasar lubang plate (butiran pasir)
- Hasil HAU negatif : adanya pengendapan pada dasar lubang

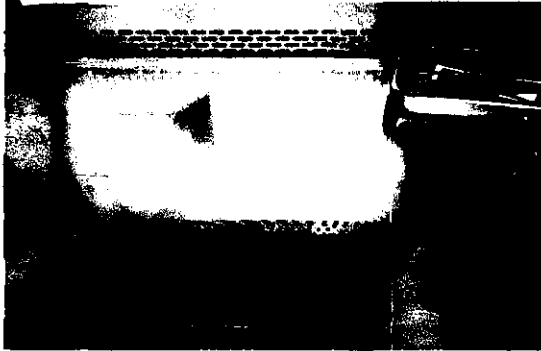
**Lampiran 4. Skema Uji HI**

- Hasil HI positif : adanya endapan eritrosit pada dasar lubang dan jika *microtiter plate* dimiringkan akan membentuk *tear drop*

- Hasil HI negatif: aglutinasi sempurna (100%) , terlihat butiran pasir.



Lampiran 5. Dokumentasi penelitian



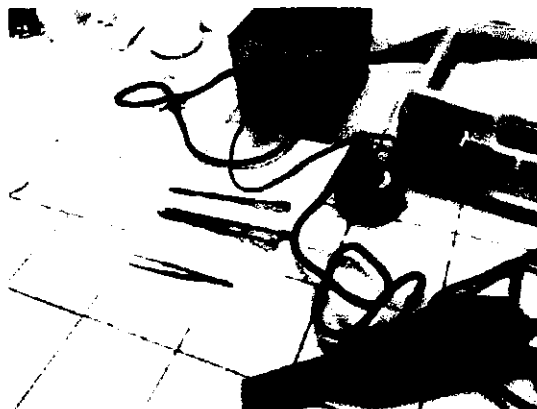
Pesiapan sampel



Penggerusan organ



Proses nekropsi sampel dan pengambilan organ respirasi kelelawar



Tissue raptor