

SKRIPSI

**DETEKSI ANTIBODI AVIAN INFLUENZA SUBTIPE H5 PADA
KUCING JALANAN (*Felis silvestris catus*) DI BEBERAPA PASAR
DAN PERUMAHAN DI SURABAYA DENGAN UJI
HEMAGLUTINASI INHIBISI (HI TEST)**



Oleh

CITRA SARI

NIM 060433394

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2008

**DETEKSI ANTIBODI AVIAN INFLUENZA SUBTIPE H5 PADA KUCING
JALANAN (*Felis silvestris catus*) DI BEBERAPA PASAR DAN
PERUMAHAN DI SURABAYA DENGAN UJI HEMAGLUTINASI INHIBISI
(HI TEST)**

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



Oleh

CITRA SARI
NIM 060433394

Menyetujui

Komisi Pembimbing,

Nanik Sianita Widjaja, S. U. drh
Pembimbing Pertama

Dr. Hardijanto, M. S. drh
Pembimbing Kedua

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

**DETEKSI ANTIBODI AVIAN INFLUENZA SUBTIPE H5 PADA KUCING
JALANAN (*Felis silvestris catus*) DI BEBERAPA PASAR DAN PERUMAHAN
DI SURABAYA DENGAN UJI HEMAGLUTINASI INHIBISI (HI TEST)**

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, 1 Desember 2007

Citra sari
NIM. 060433394

**DETECTION OF AVIAN INFLUENZA ANTIBODY SUBTYPE H5 ON
STRAY CATS
(*Felis silvestris catus*) IN SEVERAL TRADITIONAL MARKET AND
HOUSING COMPLEX IN SURABAYA BY HAEMAGGLUTINATION
INHIBITION TEST (HI TEST)**

Citra sari

ABSTRACT

The aim of this study is to detect the presence of *Avian Influenza* antibody subtype H5 on stray cats (*Felis silvestris catus*) in several place in Surabaya such as Keputran traditional market, Turi traditional market, Pacar Keling traditional market, Wonokromo traditional market, Pucang traditional market, Keputih housing complex dan Sukomanunggal housing complex. Samples for HI test were isolated from sera of stray cats that have been added RDE (Reseptor Destroying enzyme) (3:1). HI test is positive when inhibition of agglutination is shown, that is signed by the erytrosite's precipitation on the base of microplate's wells. The result showed that from 40 samples, there were 7 samples (Keputeran traditional market, Wonokromo traditional market dan Sukomanunggal housing complex) that have *Avian Influenza* antibody subtype H5. The percentage of the presence of *Avian Influenza* antibody subtype H5 is 17,5.

Keys words: *Avian Influenza*, antibody, stray cats

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur Kehadirat Allah SWT atas rahmat dan karunia yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi ini dengan judul **“Deteksi Antibodi Avian Influenza Subtipe H5 Pada Kucing Jalanan (*Felis silvestris catus*) Di Beberapa Pasar dan Perumahan Di Surabaya Dengan Uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI Test)”**.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

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

Ibu Nanik Sianita Widjaja, S. U. Drh., selaku dosen pembimbing pertama dan Bapak Dr. Hardijanto, M. S, Drh., selaku dosen pembimbing kedua, atas segala saran dan bimbingannya sampai dengan selesainya skripsi ini.

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

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

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

Kedua orang tua dan adik-adik tercinta yang telah memberi bantuan doa, dorongan dan semangat serta teman-teman seperjuangan di laboratorium Avian Influenza Tropical Disease Center (TDC) Universitas Airlangga.

Seluruh Warga kos DB 53 dan rekan-rekan Alih Jenjang angkatan 2004 serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas bantuan yang telah diberikan hingga penyusunan skripsi selesai.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu kritik dan saran yang membangun dari semua pihak sangat penulis harapkan. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi semua pihak yang berkepentingan dan bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Surabaya, Juli 2007

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PERNYATAAN.....	ii
ABSTRACT	iii
UCAPAN TERIMA KASIH	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG.....	xi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar belakang	1
1.2. Rumusan masalah	4
1.3. Tujuan penelitian	4
1.4. Manfaat penelitian	4
1.5. Hipotesis.....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Virus <i>Avian Influenza</i> (AI).....	6
2.1.1. Etiologi dan morfologi virus AI	6
2.1.2. Sifat virus AI	9
2.1.3. Penularan	9
2.1.4. Gejala klinis dan patologi anatomi	10
2.1.5. Diagnosa	12
2.1.6. Pengendalian dan pencegahan	12
2.2. Kucing (<i>Felis silvestris catus</i>).....	13
2.3. <i>Avian Influenza</i> pada kucing.....	16
2.4. Uji Hemaglutinasi (<i>HA Test</i>).....	16

2.5. Uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI <i>test</i>).....	17
BAB 3 MATERI DAN METODE	18
3.1. Tempat dan waktu penelitian	18
3.2. Alat dan bahan penelitian	18
3.3. Metode penelitian	19
3.3.1. Penentuan lokasi pengambilan sampel	19
3.3.2. Teknik pengambilan sampel	19
3.3.3. Penanganan sampel di laboratorium	20
3.3.3.1 pembuatan suspensi eritrosit marmut 0,75 %	20
3.3.3.2. Uji Hemaglutinasi (HA) mikroteknik	21
3.3.3.3. Retitrasi Antigen 8HA Unit/0,05 ml	22
3.3.3.4. Uji Hemaglutinasi inhibisi (HI) Mikroteknik.....	23
3.3.4. Analisis Data	24
BAB 4 HASIL PENELITIAN	25
BAB 5 PEMBAHASAN	31
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	36
6.1. Kesimpulan	36
6.2. Saran	36
RINGKASAN	37
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN	42

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1. Titer antibodi <i>Avian Influenza</i> subtipe H5 pada kucing jalanan (<i>Felis silvestris catus</i>) di Pasar Keputran Surabaya	25
4.2. Titer antibodi Avian Influenza subtipe H5 pada kucing jalanan (<i>Felis silvestris catus</i>) di Pasar Pucang	26
4.3. Titer antibodi Avian Influenza subtipe H5 pada kucing jalanan (<i>Felis silvestris catus</i>) di Pasar Pacar Keling	26
4.4. Titer antibodi Avian Influenza subtipe pada kucing jalanan (<i>Felis silvestris catus</i>) di Pasar Turi	26
4.5. Titer antibodi Avian Influenza subtipe H5 pada kucing jalanan (<i>Felis silvestris catus</i>) di Perumahan Sukomanunggal.....	27
4.6. Titer antibodi Avian Influenza subtipe H5 pada kucing jalanan (<i>Felis silvestris catus</i>) di Pasar Wonokromo.....	27
4.7. Titer antibodi Avian Influenza subtipe H5 pada kucing jalanan (<i>Felis silvestris catus</i>) di Perumahan Keputih.....	28
4.8. Titer antibodi Avian Influenza subtipe H5 pada kucing jalanan (<i>Felis silvestris catus</i>) secara keseluruhan.....	29

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Virus influenza A subtipe H5N1	7
2.2. Struktur virion influenza	8
2.3. Spesies yang pernah terinfeksi oleh virus <i>Avian Influenza</i>	10
2.4. Kucing jalanan (<i>Felis silvestris catus</i>)	14
4.1 Titer antibodi terhadap virus <i>Avian Influenza</i> setelah uji HI.....	30

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Gambar pengambilan sampel darah kucing jalanan (<i>Felis silvestris catus</i>)	41
2. Gambar alat dan bahan penelitian	42
3. Skema Uji HA Mikroteknik.....	45
4. Skema Uji HI Mikroteknik.....	47
5. Gambar hasil penelitian retitrasi antigen dan uji HI.....	48

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG



AI	= <i>Avian Influenza</i>
EDTA	= <i>Ethylen Diamine Tetraacetic Acid</i>
ELISA	= <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
H	= <i>Haemagglutinin</i>
HA	= <i>Haemagglutination/ hemagglutinas</i>
HI	= <i>Haemagglutination Inhibition/ hemagglutinas</i>
M	= Matriks
NA	= Neuraminidase
NP	= Nukleoprotein
NS	= <i>Non Structural</i>
PA	= <i>Polymerase Acidic</i>
PB	= <i>Polymerase Basic</i>
PBS	= <i>Phospat Saline Buffer</i>
PCR	= <i>Polymerase Chain Reaction</i>
RDE	= <i>Reseptor Destroying Enzyme</i>
STRAY CAT	= Kucing liar yang berkeliaran

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Avian Influenza (AI) adalah penyakit viral pada unggas yang disebabkan oleh virus influenza tipe A. Penyakit ini dikenal juga dengan nama *Avian flu* dan masyarakat luas lebih mengenal *Avian Influenza* dengan nama flu burung (*bird flu*) yang merupakan suatu penyakit influenza dengan derajat keparahan yang bervariasi, mulai dari infeksi yang bersifat asimtomatik sampai penyakit yang fatal dan bersifat multisistemik. Hospes alami dan reservoir virus *Avian Influenza* adalah unggas air liar. Pada unggas tersebut biasanya menunjukkan infeksi asimtomatik, tetapi dapat mengekskresikan virus *Avian Influenza* dalam jumlah yang besar melalui feses. Selain pada unggas, virus *Avian Influenza* dapat pula menyerang mamalia, seperti manusia, anjing dan kucing. Mamalia-mamalia tersebut bukanlah hospes alami bagi virus *Avian Influenza* sehingga masuknya virus tersebut ke mamalia dapat dianggap sebagai melintas batas spesies (Asmara, 2007). Hal tersebut ditunjang dengan kenyataan yang menunjukkan bahwa beberapa spesies mamalia di beberapa negara Eropa dan Asia terinfeksi virus *Avian Influenza* (Kuiken *et al.*, 2004).

Pada bulan Desember 2003, dua ekor macan tutul dan dua ekor harimau di sebuah kebun binatang di Thailand ditemukan mati setelah memakan bangkai ayam yang masih segar dari rumah pemotongan unggas setempat. Setelah dilakukan pengujian dari sampel jaringan hewan tersebut teridentifikasi bahwa sampel terinfeksi

virus *Avian Influenza* H5N1. Ini merupakan kasus pertama yang menyebabkan penyakit dan kematian pada mamalia (*Felidae*) (FAO, 2006). Pada Februari 2004, virus *Avian Influenza* terdeteksi pada seekor leopard yang mati di kebun binatang dekat Bangkok kemudian pada bulan Maret 2004 di kebun binatang yang sama, seekor harimau putih ditemukan mati yang disebabkan oleh virus yang sama (WHO, 2006). Pada Oktober 2004, harimau yang diberi makan bangkai ayam segar ditemukan mati dalam jumlah besar di kebun binatang di Thailand, 147 ekor dari 441 ekor harimau mati akibat virus atau dimusnahkan, diduga telah terjadi penularan dari satu harimau ke harimau lainnya (FAO, 2006).

Pada awal Februari 2004 di Thailand, ditemukan bangkai seekor kucing jantan (*Felis catus*) berumur dua tahun yang terinfeksi *Avian Influenza* subtipe H5N1 setelah memakan bangkai burung merpati (*Columba levia*) lima hari sebelum kucing tersebut mulai sakit. Virus yang diisolasi dari kucing tersebut menunjukkan dari tipe virus yang sama dengan virus yang terdeteksi pada burung merpati yaitu *Avian Influenza* H5N1 (Songserm *et al.*, 2006). Pada akhir Pebruari 2006, di sebelah utara pulau Baltic di Reugen, Jerman, lebih dari 100 ekor unggas liar ditemukan mati akibat infeksi virus *Avian Influenza* subtipe H5N1 dan virus tersebut juga ditemukan pada seekor kucing. Kasus tersebut merupakan kasus pertama yang terjadi di Eropa (FAO, 2006).

Pada bulan September sampai dengan Desember 2006, dilakukan penelitian oleh drh. Mahardika (Universitas Udayana) dengan mengambil serum dan usapan

kloaka pada 225 ekor anjing dan 80 ekor kucing di seluruh kabupaten di Bali. Hasil penelitian tersebut menunjukkan adanya Virus *Avian Influenza* pada usapan kloaka dan hasil uji serum darah dari dua ekor anjing di kabupaten Buleleng, seekor anjing dan seekor kucing di Jembrana. Pada penelitian tersebut, ditemukan pula adanya antibodi spesifik terhadap AI pada dua ekor anjing lain di Buleleng, dua ekor kucing di Jembrana, serta seekor kucing di Gianyar, Bali (Kompas, 2006).

Berdasarkan beberapa penemuan mengenai terinfeksi mamalia (kucing) oleh virus *Avian Influenza* maka FAO mengatakan bahwa kucing harus dimonitor secara seksama terkait dengan infeksi virus *Avian Influenza* sub tipe H5N1 (FAO, 2007).

Oleh karena itu, maka perlu dilakukan suatu penelitian lebih lanjut untuk mendeteksi adanya antibodi terhadap infeksi virus *Avian Influenza* pada kucing jalanan (*Felis silvestris catus*) di beberapa lokasi dengan tingkat penularan *Avian Influenza* sub tipe H5N1 yang tinggi yaitu pasar Keputran, pasar Turi, pasar Pacar Keling, pasar Wonokromo, pasar Pucang, perumahan Keputih dan perumahan Sukomanunggal dengan uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI Test) .

1.2 Rumusan Masalah

Kucing yang berada di daerah berisiko tinggi terhadap infeksi virus *Avian Influenza* (pasar Keputran, pasar Turi, pasar Pacar Keling, pasar Wonokromo, pasar Pucang, perumahan Keputih dan perumahan Sukomanunggal) mempunyai kemungkinan kontak langsung, menyerang atau memakan unggas (ayam) maka yang menjadi permasalahan adalah: apakah kucing yang berada di daerah tersebut mempunyai antibodi *Avian Influenza* subtype H5?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi ada tidaknya antibodi spesifik terhadap *Avian Influenza* pada kucing jalanan di daerah berisiko tinggi terhadap infeksi virus *Avian Influenza* di Surabaya (pasar Keputran, pasar Turi, pasar Pacar Keling, pasar Wonokromo, pasar Pucang, perumahan Keputih dan perumahan Sukomanunggal) dengan menggunakan uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI Test).

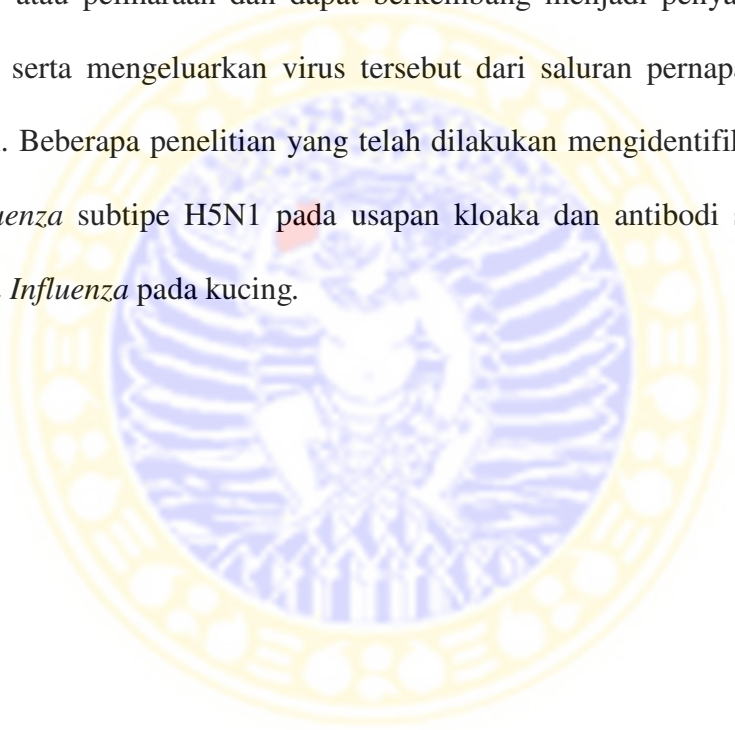
1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat sebagai peringatan atau indikasi awal terhadap semakin meluasnya penularan virus *Avian Influenza* pada hewan yang bukan hospes alami virus *Avian Influenza*, salah satunya adalah kucing jalanan yang berada di lokasi dengan tingkat penularan *Avian Influenza* H5N1 yang tinggi dan memberikan

informasi untuk bahan kajian lanjutan tentang peranan kucing dalam mata rantai penyebaran virus *Avian Influenza*.

1.5 Hipotesis

Kucing dapat terinfeksi virus *Avian Influenza* subtipe H5N1 karena memakan unggas liar atau peliharaan dan dapat berkembang menjadi penyakit parah hingga mematikan serta mengeluarkan virus tersebut dari saluran pernapasan dan saluran pencernaan. Beberapa penelitian yang telah dilakukan mengidentifikasi adanya virus *Avian Influenza* subtipe H5N1 pada usapan kloaka dan antibodi spesifik terhadap virus *Avian Influenza* pada kucing.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Virus Avian Influenza (AI)

2.1.1 Etiologi dan Morfologi Virus AI

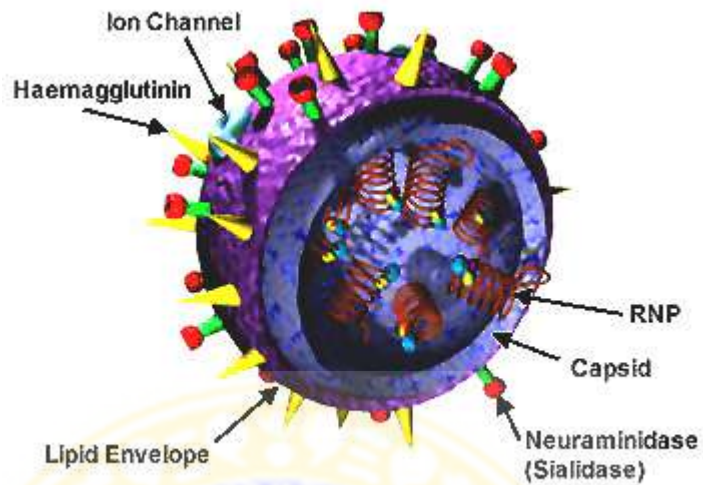
Avian Influenza merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh virus influenza yang tergolong famili *Orthomyxoviridae* (Ressang, 1986). *Orthomyxoviridae* merupakan virus RNA dan mempunyai aktivitas hemaglutinin dan neuraminidase (Tabbu, 2000). Istilah Myxo (dari mukos, Yunani=lendir) berhubungan dengan sifat beberapa virus untuk menguraikan mukoprotein (antara lain pada membran eritrosit) secara enzimatis dengan menggunakan *Neuraminidase* (Ressang, 1986). Virus influenza terdiri dari tiga tipe antigenik yang berbeda yaitu tipe A, tipe B, dan tipe C. Setiap tipe dari virus influenza ditentukan oleh struktur antigenik protein nuklei dan matrik antigen yang saling berhubungan erat di antara virus (Tabbu, 2000; Harimoto dan Kawaoka, 2001). Virus influenza A ditemukan pada ayam, babi, kalkun, bebek, mentok, angsa, burung, ikan paus dan manusia. Virus influenza B ditemukan pada manusia sedangkan virus influenza C di temukan pada manusia dan babi (Rantam, 2005; Wikipedia, 2006^a). *Avian Influenza* merupakan jenis virus Influenza tipe A.



Gambar 2.1 Virus Influenza A sub tipe H5N1(Wikipedia, 2006^a).

Bentuk virus influenza tipe A adalah pleomorfik, ovoid, atau sferik dengan ukuran diameter 80-120 nm dan ada beberapa bentuk filament (Wikipedia, 2006^a). Virus ini mempunyai amplop dengan lipid bilayer yang berasal dari hospes dan ditutupi dengan sekitar 500 tonjolan glikoprotein yang mempunyai aktivitas hemaglutinasi dan neuraminidase serta memiliki genom ss RNA bersegmen sehingga dapat terjadi *genetic reassortment* (Rahardjo, 2004; Asmara, 2007).

Berdasarkan atas struktur antigen permukaan, yaitu *Hemagglutinin* (H) dan *Neuraminidase* (N), maka Virus influenza tipe A dikelompokkan lagi menjadi beberapa sub tipe. Saat ini, Virus influenza tipe A dikelompokkan menjadi 16 sub tipe H (H1-H16) dan 9 sub tipe N (N1-N9) (Tabbu, 2000; Harder *et al.*, 2006). Kandungan kedua protein tersebut yang menentukan apakah virus tersebut dari jenis yang mematikan atau tidak. Protein N, selain menentukan tingkat patogenitas virus juga sebagai determinator (penentu) jenis hospes virus (Winarno, 2007).



Gambar 2.2 Struktur virion Influenza (Wikipedia, 2006^a)

Virus influenza tipe A mempunyai genom yang terdiri dari delapan gen RNA dan menghasilkan sepuluh macam protein. Kedelapan fragmen gen tersebut terbagi menjadi dua bagian, yaitu gen eksternal dan gen internal. Gen eksternal terdiri dari gen hemagglutinin (HA) dan gen neuraminidase (NA) yang bersifat antigenik dan berfungsi dalam perlekatan pada sel hospes (Horimoto dan Kawaoka, 2001). Gen internal terdiri dari gen *Polymerase Basic 2* (PB2), *Polymerase Basic 1* (PB1), *Polymerase Acidic* (PA), *Nucleoprotein* (NP), *matriks* (M) serta *non-structural* (NS). Gen internal ini berfungsi dalam replikasi dan transkripsi virus. Masing-masing fragmen gen virus influenza A menghasilkan satu macam protein, kecuali fragmen M dan fragmen NS, yaitu masing-masing menghasilkan dua macam protein, yaitu protein M1 dan M2 serta protein NS1 dan NS2 (Horimoto dan Kawaoka, 2001).

2.1.2 Sifat Virus AI

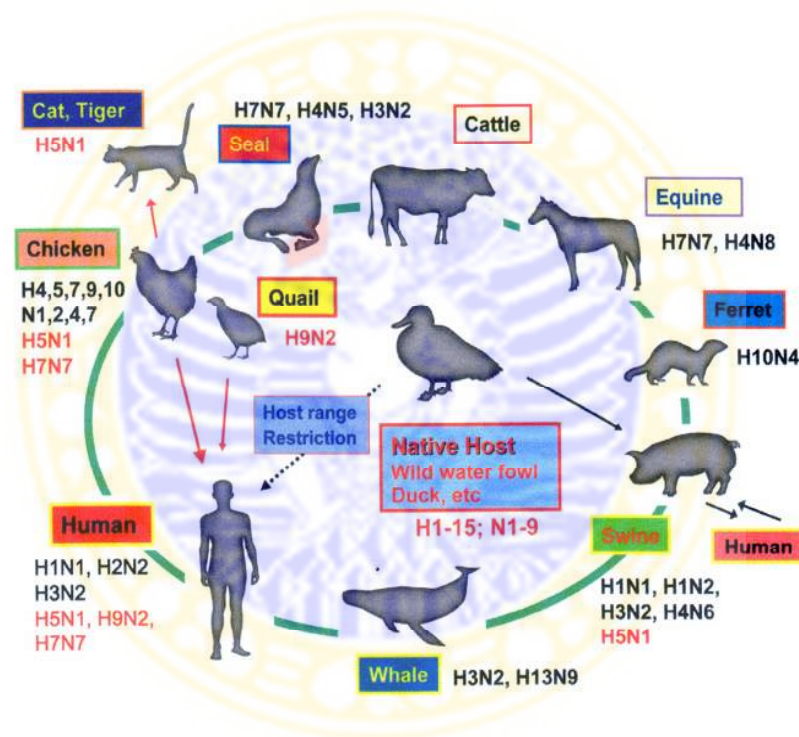
Virus Avian Influenza bersifat inaktif pada suhu 56 °C selama tiga hari dan suhu 60 °C selama tiga menit. *Virus Avian Influenza* mempunyai *envelope* sehingga relatif sensitif terhadap inaktivasi oleh solven lipid, misal detergen. Infektifitas Virus ini dapat dirusak dengan cepat oleh formalin, beta-Propiolakton, agen yang bersifat oksidan, asam encer, eter, Na-desoksikolat, hidroksilamin, Na-dodesilsulfat dan ion amonium. *Virus Avian Influenza* dapat diinaktivasi oleh panas, pH terlalu tinggi, kondisi non-isotonik dan kekeringan (Tabbu, 2000).

Virus Avian Influenza dikeluarkan bersama leleran dari hidung dan feses sehingga virus akan terlindungi oleh adanya material organik. Keadaan tersebut akan meningkatkan resistensi dari virus *Avian Influenza* terhadap inaktivasi. *Virus Avian Influenza* masih tetap infektif dalam feses selama 30-35 hari pada suhu 4 °C dan selama tujuh hari pada suhu 20 °C. Virus ini dapat bertahan lama di lingkungan terutama pada kondisi lembab dan dingin. Virus influenza yang bersifat infeksius dapat diisolasi dari cairan kotoran ayam selama 105 hari setelah depopulasi ayam pada saat terjadinya letupan *Avian Influenza* (Rahardjo, 2004).

2.1.3 Penularan

Penularan virus *avian influenza* dapat terjadi melalui kontak langsung dan tidak langsung (Tabbu, 2000). Secara laboratorik, kucing dapat mati akibat virus AI yang diinfeksi melalui trakhea maupun lewat makanan yang tercemar. Beberapa

penelitian menunjukkan bahwa kucing dapat mengeksresikan virus AI baik lewat lendir hidung, urine maupun feses, dan dapat menularkan virus ke kucing sehat yang dikandangkan bersama. Data tersebut menunjukkan bahwa anjing dan kucing dapat terinfeksi virus AI akibat mengonsumsi daging unggas tercemar virus dan berpotensi dapat menularkan virus ke kucing di dekatnya (Rimmelzwaan, 2006).



Gambar 2.3 Spesies yang pernah terinfeksi oleh Virus *Avian Influenza* (Suzuki, 2005)

2.1.4 Gejala Klinis dan Patologi Anatomi

Masa inkubasi virus AI berkisar antara beberapa jam sampai 3 hari, masa inkubasi tersebut tergantung pada dosis virus, rute kontak dan spesies yang terserang. Gejala penyakit sangat bervariasi dan tergantung pada spesies yang terinfeksi, galur

virus dan faktor lingkungan. Virus influenza tipe A dari berbagai sub tipe dapat menimbulkan penyakit dengan derajat keparahan yang berbeda, mulai dari penyakit yang menyebabkan mortalitas yang tinggi dengan kematian yang mendadak tanpa didahului oleh gejala klinik tertentu atau hanya menunjukkan gejala yang ringan sampai pada bentuk penyakit yang sangat ringan atau tidak tampak secara klinis (Tabbu, 2000).

Menurut Leschnik (2007), berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada 194 ekor kucing ditemukan gejala klinik pada beberapa kucing berupa demam tinggi, depresi, *pneumonia*, edema pada paru-paru, *nonsuppurative encephalitis* dan kematian tiba-tiba. Selama masa observasi, ditemukan juga gejala klinik lainnya yaitu gangguan pernapasan, lesi pada mukosa mulut dan diare pada kucing.

Menurut Songserm *et al.* (2006), kucing yang terinfeksi virus *Avian influenza* (H5N1) mempunyai gejala klinik berupa temperatur tubuh 41 °C, kesakitan, depresi, konvulsi, ataksia dan dapat terjadi kematian. Nekropsi yang telah dilakukan menunjukkan adanya kongesti pada cerebral, konjungtivitis, edema pada paru-paru, *pneumonia*, kongesti pada ginjal dan hemorhagi di serosa intestinal. Pada histopatologi menunjukkan adanya *vasculitis*, *nonsuppurative encephalitis*, *gliosis* dan kongesti pada cerebrum maupun cerebellum. Secara mikroskopis, adanya lesi pada jantung yang disebabkan oleh adanya edema pada paru-paru, *interstitial pneumonia* dan kongesti.

2.1.5 Diagnosa

Adanya gejala klinis dan perubahan patologis yang bervariasi maka diagnosis definitif hanya didasarkan atas isolasi dan identifikasi virus. Diagnosa sangkaan dapat didasarkan atas riwayat kasus, gejala klinis, perubahan patologis dan tidak adanya penyakit pernafasan yang lain (Tabbu, 2000).

Pengujian diagnostik secara serologik dilakukan untuk mengetahui adanya pembentukan antibodi terhadap virus avian influenza. Pemeriksaan serologik yang sering dipakai adalah uji hemaglutinasi inhibisi (HI) untuk mengetahui adanya antibodi terhadap *hemagglutinin* (H) dan agar gel presipitasi (AGPT) untuk mengetahui adanya antibodi terhadap *neuraminidase*. Uji serologik lain yang dipakai untuk mengetahui adanya antibodi adalah uji netralisasi virus (VN), uji *neuraminidase-inhibition* (NI), uji *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) (Tabbu, 2000).

2.1.6 Pengendalian dan Pencegahan

Biosekuriti yang ketat dan pelaksanaan aspek manajemen lainnya secara optimal diperlukan untuk menghilangkan faktor pendukung atau sumber infeksi. Dalam hal ini, biosekuriti adalah pertahanan yang paling depan (Tabbu, 2000).

Biosekuriti merupakan hal yang penting dalam pengendalian dan pencegahan penyakit. Menurut FAO (2006), daerah yang terinfeksi atau diduga terinfeksi *Avian influenza* sebaiknya: (1) Mewaspadaai resiko penyakit flu burung dengan perspektif

yang wajar dan tidak berlebihan; (2) Mencegah kucing kontak dengan ayam, burung, burung liar dan kotorannya (feses) dan menghindarkan dari kucing liar; (3) Memberi kucing makanan daging ayam yang telah dimasak dengan sempurna, jangan diberi daging mentah; (4) Menggunakan kantong plastik dan sarung tangan bila menyingkirkan bangkai ayam atau burung; (5) Selalu menjaga kebersihan dan kesehatan kucing serta lingkungannya; (6) Selalu mencuci tangan dengan sabun setelah memegang hewan; (7) Mengawasi dan mengkonsultasikan kucing yang menunjukkan gejala penyakit pernapasan dengan dokter hewan terdekat.

2.2 Kucing (*Felis silvestris-catus*)

Kucing adalah sejenis karnivora kecil dari keluarga Felidae yang sudah dijinakkan selama ribuan tahun (Wikipedia, 2006^b). Pada zaman dahulu kucing merupakan binatang liar. Nenek moyang kucing adalah *miacis* (sejenis musang yang hidup liar pada 60 juta tahun silam). Perkembangan evolusi keluarga kucing terbagi tiga kelompok, yaitu Panthera, Acynonyx, dan Felis (Budiana dkk., 2006). Kata "kucing" biasanya merujuk kepada "kucing" yang dijinakkan, tetapi bisa juga merujuk kepada "kucing raksasa" seperti singa, harimau, macan dan sebagainya. Kucing telah berasosiasi dengan kehidupan manusia sejak 3.500 tahun yang lalu, ketika orang Mesir kuno menggunakan kucing untuk menjauhkan tikus atau hewan pengerat lain dari hasil panen mereka. Saat ini, kucing merupakan salah satu hewan peliharaan paling populer di dunia. Kucing yang garis keturunannya dicatat secara

resmi disebut sebagai kucing ras atau galur murni (*pure breed*). Jumlah kucing ras hanyalah 1% dari seluruh kucing di dunia dan sisanya adalah kucing dengan keturunan campuran seperti kucing liar atau kucing kampung (Wikipedia, 2006^b).

Klasifikasi dari kucing secara lengkap adalah sebagai berikut :

Kingdom : Animalia
Phylum : Chordata
Kelas : Mammalia
Ordo : Carnivora
Famili : Felidae
Genus : Felis
Spesies : *Felis silvestris*
Subspesies : *Felis silvestris catus*



Gambar 2.4 Kucing jalanan (*Felis silvestris catus*)

Kucing adalah salah satu predator terhebat di dunia tetapi karena ukurannya yang kecil, kucing tidak berbahaya bagi manusia. Kucing menyergap dan melumpuhkan mangsa dengan cara yang mirip dengan singa dan harimau yaitu dengan menggigit leher mangsa dengan gigi taring yang tajam sehingga melukai saraf tulang belakang atau menyebabkan mangsa kehabisan napas dengan merusak tenggorokan (Wikipedia, 2006^b). Menurut Budiana *dkk.* (2006), mengemukakan bahwa kucing memiliki beberapa keistimewaan diantaranya adalah: 1) Kemampuan kucing beradaptasi di suatu daerah dengan sangat baik. Kucing mampu bertahan hidup dalam berbagai habitat (mulai dari daerah panas hingga daerah dingin, dari daerah tandus hingga hutan belantara); 2) Kucing diciptakan sebagai pemburu ulung. Hal itu ditunjang oleh stuktur tulang yang ramping, mempunyai ukuran panjang serta lebar tubuhnya seimbang dan proporsional dan otot yang kuat sehingga menjadikan tubuh kucing ringan untuk bergerak, lincah dan mampu berlari kencang; 3) Kucing merupakan binatang karnivora (pemakan daging) dan dilengkapi dengan cakar yang kuat untuk menangkap mangsanya. Cakar dan telapak kaki tersebut berguna untuk melompat, lari dan menahan tubuhnya serta sebagai alat peraba yang sangat sensitif. Struktur gigi kucing yang dilengkapi dengan taring yang kokoh dapat menunjang aktivitas kucing sebagai hewan dalam mengoyak mangsanya. Menurut Wikipedia (2006^b), gigi premolar dan molar pertama pada kucing membentuk sepasang taring di setiap sisi mulut yang bekerja efektif seperti gunting untuk merobek daging. Meskipun ciri ini juga terdapat pada famili Canidae atau anjing, tapi ciri ini

berkembang lebih baik pada kucing. Kucing hampir tidak memakan apapun yang mengandung tumbuhan, kucing hanya memakan daging dan biasanya buruan segar.

2.3 Avian Influenza pada Kucing

Pada tahun 2003-2004 telah terjadi *outbreak* virus *Avian Influenza* subtipe H5N1 di Asia tenggara dan dilaporkan terdapat 24 kasus fatal pada manusia karena terjadi penularan virus *Avian Influenza* dari burung ke manusia (Keawcharoen, 2004). Selama terjadi *outbreak*, telah dilaporkan virus *Avian Influenza* subtipe H5N1 menginfeksi kucing dan jenis *felidae* lain secara alami di kebun binatang setelah memakan bangkai ayam. Hal tersebut menimbulkan fenomena baru karena hewan-hewan tersebut sebelumnya tidak pernah dilaporkan rentan terhadap infeksi *Avian Influenza* (Kuiken *et al.*, 2004).

2.4 Uji hemaglutinasi (HA Test)

Uji hemaglutinasi (HA Test) dapat digunakan untuk mendeteksi virus yang memiliki hemaglutinin. Adanya hemaglutinin dapat mengaglutinasi eritrosit dari beberapa spesies, seperti unggas, mamalia maupun manusia. Selain dapat mendeteksi adanya virus yang memiliki hemaglutinin, uji hemaglutinasi juga bisa digunakan untuk mengukur titer antigen. Uji hemaglutinasi dipengaruhi oleh pH, suhu, dan sumber eritrosit. Kondisi tersebut sangat penting untuk terjadinya reaksi hemaglutinasi virus. Hemaglutinin bersifat imunogenik dan antigenik, dapat merangsang terbentuknya antibodi spesifik, dan antibodi yang dihasilkan mempunyai

kemampuan menghambat terjadinya hemaglutinasi oleh hemaglutinin virus. Virus dari golongan Myxovirus, Enterovirus, Arbovirus dan Poxvirus dapat mengaglutinasi eritrosit dari spesies unggas dan mamalia. Pada golongan Myxovirus, hemaglutinasi adalah partikel virus itu sendiri (virion). Disamping itu juga mempunyai enzim neuraminidase yang dapat melepas ikatan antara hemaglutinin dengan permukaan eritrosit. Hal inilah yang menyebabkan ikatan antar virus dengan eritrosit (hemaglutinasi) sifatnya hanya sementara atau reversibel (Ernawati dkk., 2004).

2.5 Uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI Test)

Antibodi spesifik terhadap hemaglutinin virus dapat menghambat terjadinya hemaglutinasi. Reaksi penghambatan ini kemudian disebut uji hambatan hemaglutinasi (*Haemagglutination Inhibition Test*). Reaksi hambatan hemaglutinasi 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 atau antiserum. Uji HI selain bermanfaat untuk mengidentifikasi virus, dapat juga digunakan untuk mengetahui titer antibodi baik antibodi hasil vaksinasi maupun hasil infeksi (Ernawati dkk., 2004).

BAB 3 MATERI DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasi atau survey lapangan. Pengambilan sampel dilakukan di Surabaya yaitu pasar Keputran, pasar Turi, pasar Pacar Keling, pasar Wonokromo, pasar Pucang, perumahan Keputih dan perumahan Sukomanunggal. Pengujian sampel dilakukan di Laboratorium Avian Influenza, Tropical Disease Center (TDC), Universitas Airlangga Surabaya. Penelitian dilaksanakan pada bulan September 2006 sampai bulan Maret 2007.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Alat dan bahan yang digunakan dalam pengambilan sampel antara lain sarung tangan, jaring, spuit 1ml dan jarum ukuran 26 x ½ g, kapas beralkohol, *cooler box*, lemari pendingin, *freezer*, *ependorf*, sentrifuse, tips dan *tube+EDTA*.

Alat dan bahan yang digunakan untuk uji Hemaglutinasi (HA Test) dan Uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI Test) adalah eritrosit marmut konsentrasi 0,75%, larutan *Phosphat Saline Buffer* (PBS), antigen *Avian Influenza* sub tipe H5N1 (Balitvet), serum darah kucing, larutan *Reseptor Destroying Enzyme* (RDE) untuk menghilangkan substansi non spesifik dari serum yang mampu mengaglutinasi eritrosit, erlenmeyer 50 ml, *microplate* U, *micropipet* (50 µl, 100 µl, 1000 µl) dan *micropipet multi channel* 25 µl.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Penentuan Lokasi Pengambilan Sampel

Pemilihan lokasi pengambilan sampel dilakukan di daerah yang memiliki risiko tinggi terhadap virus *Avian Influenza* di Surabaya, antara lain di sekitar pasar yaitu pasar Keputran (sebanyak 8 sampel), pasar Turi (sebanyak 3 sampel), pasar Pacar Keling (sebanyak 3 sampel), pasar Wonokromo (sebanyak 7 sampel) dan pasar Pucang (sebanyak 3 sampel), dimana merupakan tempat berkumpulnya atau penampungan unggas dari berbagai daerah sehingga bila unggas tersebut membawa atau terinfeksi virus *Avian Influenza* maka timbul dugaan bahwa hewan lain di sekitar pasar juga dapat terinfeksi oleh virus tersebut, salah satunya adalah kucing. Pengambilan sampel juga dilakukan di lingkungan pemukiman masyarakat yaitu perumahan Keputih (sebanyak 6 sampel) dan perumahan Sukomanunggal (sebanyak 10 sampel), dimana pada pemukiman tersebut banyak ditemukannya unggas mati dalam waktu berdekatan, diduga terinfeksi virus *Avian Influenza*. Total sampel yang diambil sebanyak 40 sampel serum.

3.3.2 Teknik Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah serum darah kucing. Pengambilan sampel dimulai dengan penangkapan kucing di lapangan dengan maupun tanpa bantuan jaring penangkap, setelah kucing ditangkap dan di *restrain* dengan kuat kemudian dilakukan pengambilan darah pada vena femoralis dengan

menggunakan spuit 1 ml kemudian darah disimpan dalam *cooler box* sebelum disimpan dalam lemari pendingin suhu 4° C. Kucing yang telah diambil darahnya kemudian ditandai dengan menyemprotkan cat ke punggungnya lalu dilepaskan kembali.

3.3.3 Penanganan Sampel di Laboratorium

Sampel darah yang diperoleh disimpan dalam *cooler box* kemudian disimpan di lemari pendingin pada suhu 4 °C selama 24 jam agar serum dan sel-sel darah terpisah. Setelah 24 jam, serum dikeluarkan dari spuit dan ditempatkan pada *ependorf* kemudian disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama lima menit agar serum dan sisa-sisa sel darah benar-benar terpisah. Serum kemudian diambil dan dipindahkan pada *ependorf* yang baru dan disimpan dalam freezer pada suhu -20° C sampai dilakukannya pengujian dengan uji Hemaglutinasi Inhibisi (*HI Test*).

3.3.3.1 Pembuatan Suspensi Eritrosit Marmut 0,75 %

Sel darah merah yang digunakan dalam uji HA dan HI adalah sel darah merah marmut yang diambil langsung dari jantung marmut sebanyak 5 ml. Darah kemudian dimasukkan ke dalam *tube* yang mengandung antikoagulan EDTA. Darah yang telah diberi EDTA kemudian dipindahkan ke *conical* 15 ml dan ditambahkan PBS 10 ml untuk proses pencucian. Selanjutnya darah disentrifus dengan kecepatan 2500 rpm selama 5 menit kemudian supernatan dibuang dan ditambahkan PBS lagi lalu

disentrifus kembali dengan kecepatan 2500 rpm selama 5 menit. Kegiatan ini dilakukan sampai tiga kali atau sampai supernatan jernih. Supernatan lalu dibuang sehingga didapatkan eritrosit marmut 100 %. Eritrosit 100% kemudian diambil sebanyak 0,15 ml dan ditambah dengan 19,85 ml PBS untuk membuat eritrosit marmut 0,75 % sebanyak 20 ml. Selain eritrosit marmut, eritrosit lain yang dapat digunakan dalam pengujian serum darah kucing pada uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI Test) adalah eritrosit kuda, karena antigen *Avian Influenza* yang berasal dari kucing lebih berespon terhadap eritrosit kuda daripada eritrosit ayam yang ditunjukkan dengan adanya peningkatan titer (Ningtyas, 2007).

3.3.3.2 Uji Hemaglutinasi (HA) Mikroteknik

Uji HA mikrotiter (mikroteknik) digunakan untuk mengetahui titer antigen dan retitrasi antigen. Menurut WHO (2002) dan Pusat Veterinaria Farma (2006), metode uji HA yang digunakan yaitu mengisi lubang pada mikroplat (A2-A8 dan B2-B8) dengan PBS sebanyak 50 µl kemudian antigen dimasukkan sebanyak 100 µl ke dalam lubang A1, kecuali lubang B1 yang dimasukkan 100 µl PBS, digunakan sebagai kontrol eritrosit, kemudian dilakukan pengenceran secara serial dengan cara mengambil 50 µl dari lubang pertama kemudian dilanjutkan ke lubang berikutnya, demikian seterusnya sampai lubang akhir, lalu sisa 50 µl di buang. Semua lubang (A dan B) kemudian diisi dengan eritrosit marmut 0,75% sebanyak 50 µl dan dicampur dengan menggunakan *mechanical vibrator* lalu diinkubasi pada suhu ruangan

(22-25° C) selama 60 menit, kemudian titer antigen dibaca. Hemaglutinasi terlihat jelas berupa lapisan eritrosit secara merata (diffuse) pada dasar lubang dan penjernihan dari cairan bagian atas tanpa terjadinya pengendapan eritrosit berbentuk cincin di tengah lubang. Uji ini menggunakan mikroplat berbentuk “U”. Setelah titer antigen diketahui kemudian dilakukan pengenceran antigen. Antigen yang diperlukan pada pengenceran adalah antigen yang memiliki titer 8HA Unit/50 µl. Sebagai contoh, bila hasil dari pembacaan titer pada uji HA didapatkan hasil 32 HA unit maka 32 dibagi 8, hasilnya adalah empat yang berarti antigen harus diencerkan sebanyak empat kali untuk mendapatkan antigen 8HA Unit/50 µl yaitu dengan mencampur satu bagian antigen dengan tiga bagian PBS.

3.3.3.3 Retitrasi Antigen 8HA unit/0,05 ml

Untuk menguji ketepatan pengenceran perlu dilakukan retitrasi dengan metode yang sama seperti pada uji HA di atas dengan menggunakan antigen yang telah diencerkan. Retitrasi dilakukan dengan mengisi lubang pada mikroplat (A2-D6) dengan PBS sebanyak 50 µl kemudian antigen yang telah diencerkan dimasukkan sebanyak 100 µl ke dalam lubang A1-C1, kecuali lubang D1 yang dimasukkan 100 µl PBS, digunakan sebagai kontrol eritrosit, kemudian dilakukan pengenceran secara serial dengan cara mengambil 50 µl dari lubang pertama kemudian dilanjutkan ke lubang berikutnya, demikian seterusnya sampai lubang akhir, lalu sisa 50 µl di buang. Semua lubang kemudian diisi dengan eritrosit marmut 0,75% sebanyak 50 µl dan

dicampur dengan menggunakan *mechanical vibrator* lalu diinkubasi pada suhu ruangan (22-25° C) selama 60 menit, kemudian titer retitrasi antigen dibaca. Bila pengenceran pada uji HA tepat, maka pada lubang I-IV (lubang A-C) akan terjadi hemaglutinasi (WHO, 2002; Pusat Veterinaria Farma, 2006).

3.3.3.4 Uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI) Mikroteknik

Uji hambatan hemaglutinasi adalah pemeriksaan serologis untuk mendeteksi adanya antibodi spesifik *Avian Influenza* sub tipe H5 dalam darah. Sampel yang diperiksa adalah serum kucing yang telah diambil sebelumnya.

Sebelum dilakukan pengujian, serum harus diberi *Reseptor Destroying Enzyme* (RDE) untuk menghilangkan substansi non spesifik dari sampel serum yang mampu mengaglutinasi eritrosit. Terlebih dahulu RDE diencerkan dengan 20 ml NaCL fisiologis kemudian RDE ditambahkan pada serum dengan perbandingan satu volume serum dengan tiga volume RDE lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-20 jam dalam *waterbath*. Setelah itu, serum yang telah diberi RDE dipanaskan dengan *waterbath* bersuhu 56 °C selama 30-60 menit untuk menghentikan kerja RDE.

Metode uji HI yang digunakan yaitu dengan memasukkan 25 µl PBS ke baris B-H (B1-H12) dan 50 µl serum ke baris A (A1-A12), kemudian dilakukan pengenceran serial dengan cara memindahkan 25 µl dari baris A ke baris B, demikian seterusnya hingga baris G, buang sisa 25 µl, Kecuali baris H (H1-H12) ditambahkan serum 25 µl sebagai kontrol serum. Isi semua lubang plate dengan antigen standard

sebanyak 25 μ l, kecuali pada baris H (H1-H12). Pada lubang H tidak ada antigen di dalamnya, sehingga eritrosit akan mengendap. Setelah penambahan antigen, isi plate dicampur dengan *mechanical vibrator* selama 10 detik kemudian inkubasi pada suhu ruangan (22-25 °C) selama 30-45 menit. Setelah diinkubasi, semua lubang diisi dengan eritrosit marmut 0,75 % sebanyak 50 μ l lalu campur dengan *mechanical vibrator* dan inkubasi kembali selama 60 menit pada suhu ruangan kemudian baca titer HI. Pada uji HI menggunakan mikroplat berbentuk “U”. HI dinyatakan positif bila terdapat endapan eritrosit berbentuk cincin ditengah lubang atau sumur (Pusat Veterinaria Farma, 2006).

Menurut OIE (2005), uji HI dengan antigen 4HA unit dapat dinyatakan positif *Avian Influenza* sub tipe H5N1 apabila titer yang dihasilkan adalah 16 (2^4 atau $\log_2 4$) atau lebih. Jika menggunakan antigen 8HA unit, uji HI dapat dinyatakan positif apabila titer yang dihasilkan adalah 8 (2^3 atau $\log_2 3$) atau lebih.

3.3.4 Analisis Data

Data yang terkumpul disajikan dalam bentuk persentase kejadian virus *Avian Influenza* pada kucing jalanan yang ditampilkan dalam bentuk tabel.

$$\text{Persentase kejadian adanya antibodi terhadap } \textit{Avian influenza} \text{ H5N1} = \frac{\Sigma \text{ sampel positif}}{\Sigma \text{ sampel keseluruhan}} \times 100 \%$$

BAB 4 HASIL PENELITIAN

Sampel dalam penelitian berasal dari kucing di wilayah Surabaya yaitu yaitu pasar Keputran, pasar Turi, pasar Pacar Keling, pasar Wonokromo, pasar Pucang, perumahan Keputih dan perumahan Sukomanunggal. Jumlah sampel yang diperiksa sebanyak 40 sampel. Pengujian sampel dilakukan di Laboratorium Avian Influenza, Tropical Disease Center (TDC), Universitas Airlangga, Surabaya. Hasil uji HI terhadap serum kucing yang diperiksa menggunakan antigen *Avian Influenza* sub tipe H5N1 dapat dilihat pada tabel-tabel berikut.

Tabel 4.1. Titer antibodi *Avian Influenza* sub tipe H5 pada kucing jalanan (*Felis silvestris catus*) di Pasar Keputran Surabaya

No	Kode sampel	Titer antibodi dengan uji HI	Keterangan
1	KP1	2 ⁰	Positif
2	KP2	2 ³	Negatif
3	KP3	-	Negatif
4	KP4	2 ³	Negatif
5	KP5	2 ²	Negatif
6	KP6	2 ²	Negatif
7	KP7	-	Negatif
8	KP8	2 ⁵	Positif

Tabel 4.2. Titer antibodi *Avian Influenza* subtipe H5 pada kucing jalanan (*Felis silvestris catus*) di Pasar Pucang

No	Kode sampel	Titer antibodi dengan uji HI	Keterangan
1	PC1	–	Negatif
2	PC2	–	Negatif
3	PC3	–	Negatif

Tabel 4.3. Titer antibodi *Avian Influenza* subtipe H5 pada kucing jalanan (*Felis silvestris catus*) di Pasar Pacar Keling

No	Kode sampel	Titer antibodi dengan uji HI	Keterangan
1	PK2	–	Negatif
2	PK3	–	Negatif
3	PK5	–	Negatif

Tabel 4.4. Titer antibodi *Avian Influenza* subtipe H5 pada kucing jalanan (*Felis silvestris catus*) di Pasar Turi

No	Kode sampel	Titer antibodi dengan uji HI	Keterangan
1	T1	–	Negatif
2	T2	–	Negatif
3	T3	–	Negatif

Tabel 4.5. Titer antibodi *Avian Influenza* subtipe H5 pada kucing jalanan (*Felis silvestris catus*) di Perumahan Sukomanunggal

No	Kode sampel	Titer antibodi dengan uji HI	Keterangan
1	TL1	2 ⁴	Positif
2	TL2	–	Negatif
3	TL3	–	Negatif
4	TL4	2 ⁵	Positif
5	TL6	–	Negatif
6	TL7	2 ⁴	Positif
7	TL8	–	Negatif
8	TL9	2 ³	Negatif
9	TL10	2 ⁵	Positif
10	TL11	–	Negatif

Tabel 4.6. Titer antibodi *Avian Influenza* subtipe H5 pada kucing jalanan (*Felis silvestris catus*) di Pasar Wonokromo

No	Kode sampel	Titer antibodi dengan uji HI	Keterangan
1	W2	2 ³	Negatif
2	W3	2 ²	Negatif
3	W5	2 ³	Negatif
4	W7	–	Negatif
5	W11	–	Negatif

6	W12	2 ⁴	Positif
7	W13	–	Negatif

Tabel 4.7. Titer antibodi *Avian Influenza* subtipe H5 pada kucing jalanan (*Felis silvestris catus*) di Perumahan Keputih

No	Kode sampel	Titer antibodi dengan uji HI	Keterangan
1	K1	–	Negatif
2	K4	–	Negatif
3	K5	–	Negatif
4	K6	–	Negatif
5	K7	–	Negatif
6	K9	–	Negatif

Berdasarkan tabel hasil uji HI tersebut diatas diketahui bahwa jumlah sampel kucing jalanan (*Felis silvestris catus*) yang dianalisa dalam penelitian sebanyak 40 sampel dengan hasil sero positif sebanyak 7 sampel.

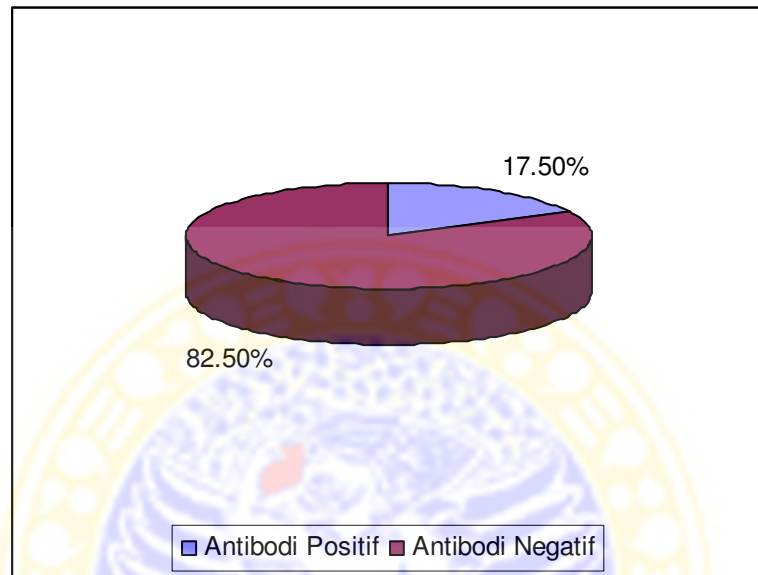
Tabel 4.8. Titer antibodi *Avian Influenza* subtipe H5 pada kucing jalanan (*Felis silvestris catus*) secara keseluruhan

No	Asal sampel	Titer antibodi dengan uji HI		Total serum
		Positif (+)	Negatif (-)	
1	Pasar Keputeran	2	6	8
2	Pasar Pucang	–	3	3
3	Pasar Pacar Keling	–	3	3
4	Pasar Turi	–	3	3
5	Perumahan Sukomanunggal	4	6	10
6	Pasar Wonokromo	1	6	7
7	Perumahan Keputih	–	6	6
Total		7	33	40

Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa persentase kejadian adanya antibodi terhadap virus *Avian Influenza* adalah sebesar 17,5 %. Persentase tersebut diperoleh berdasarkan rumus:

$$\begin{aligned}
 \text{Persentase kejadian adanya antibodi terhadap virus } Avian \text{ influenza subtipe H5} &= \frac{\Sigma \text{ sampel positif}}{\Sigma \text{ sampel keseluruhan}} \times 100 \% \\
 &= \frac{7}{40} \times 100 \% = 17,5\%
 \end{aligned}$$

Hasil uji HI pada beberapa sampel kucing jalanan (*Felis silvestris catus*) tersebut diatas, dapat ditunjukkan pula dengan Gambar 4.1 seperti berikut ini :



Gambar 4.1. Titer antibodi terhadap virus *Avian influenza* setelah uji HI.

BAB 5 PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dengan uji HI terhadap 40 sampel serum kucing jalanan (*Felis silvestris catus*) di beberapa wilayah Surabaya diketahui bahwa 7 sampel kucing jalanan (*Felis silvestris catus*) memiliki antibodi *Avian influenza* subtipe H5 dengan persentase sebesar 17,5 %. Daerah yang terdeteksi memiliki antibodi *Avian influenza* subtipe H5 yaitu Pasar Keputran (tabel 4.1), perumahan Sukomanunggal (tabel 4.5) dan pasar Wonokromo (tabel 4.6).

Hasil tersebut merupakan hasil pemeriksaan serum tunggal. Sampel yang menunjukkan hasil uji HI positif, berarti bahwa dalam serum kucing tersebut telah terbentuk antibodi *Avian Influenza* subtipe H5 tetapi tidak diketahui apakah kucing yang diperiksa dalam fase akut (antibodi masih dapat meningkat) atau fase penyembuhan (antibodi menurun tetapi titer masih tinggi sehingga dapat dikategorikan HI positif). Begitu juga dengan sampel yang menunjukkan hasil uji HI negatif belum tentu menunjukkan bahwa kucing yang diperiksa tidak terinfeksi virus. Hal tersebut kemungkinan disebabkan titer virus masih rendah sehingga antibodi belum terbentuk atau pada saat serum diambil kucing sedang dalam masa penyembuhan sehingga antibodinya menurun. Pengambilan sampel serum sebaiknya dilakukan pada saat timbul gejala (fase akut) sampai tujuh hari dan pada fase penyembuhan yang diambil dua sampai empat minggu kemudian. *Single serum* dapat

digunakan sebagai diagnosa sangkaan (WHO, 2002; Buletin Veterinaria Farma, 2006).

Sampel HI positif yang berasal dari pasar Keputran dan pasar Wonokromo menunjukkan bahwa kemungkinan kucing yang terdapat di dua pasar tempat penampungan ayam tersebut telah terinfeksi virus oleh unggas (ayam) yang terinfeksi atau membawa virus *Avian Influenza* sub tipe H5N1. Sampel HI positif juga ditemukan di perumahan Sukomanunggal. Hal tersebut dapat terjadi karena pada perumahan Sukomanunggal banyak ditemukan ayam mati dalam waktu yang berdekatan, dimana bila ayam-ayam tersebut terinfeksi Virus *Avian Influenza* sub tipe H5N1 maka kucing-kucing yang berkeliaran di sekitar lingkungan perumahan tersebut juga dapat terinfeksi virus *Avian Influenza* sub tipe H5N1. Terdeteksinya antibodi *Avian Influenza* sub tipe H5 menunjukkan bahwa kemungkinan penularan virus *Avian Influenza* pada kucing dapat terjadi. Kemungkinan penularan virus *Avian Influenza* melalui unggas ditunjang oleh penelitian yang dilakukan oleh Kuiken *et al.* (2006), yang dalam penelitiannya virus *Avian Influenza* sub tipe H5N1 diinokulasikan pada beberapa kucing domestik secara intratrachea yaitu dengan pemberian pakan unggas yang terinfeksi *Avian Influenza* sub tipe H5N1 maupun secara *horizontal* untuk mengetahui pola penyebarannya. Kucing-kucing tersebut tidak hanya dapat mengekskresikan virus *Avian Influenza* melalui saluran pernapasan tetapi juga saluran pencernaan. Hal ini menunjukkan bahwa penularan virus *Avian Influenza* sub tipe H5N1 dari ayam ke kucing dapat terjadi jika kucing tersebut memakan ayam

yang terinfeksi virus tersebut sedangkan penularan virus *Avian Influenza* subtipe H5N1 antar kucing (horisontal) belum dapat diketahui dengan jelas. Diduga penyebaran virus *Avian Influenza* subtipe H5N1 antar kucing adalah melalui feses karena kucing dapat mengekskresikan virus tersebut melalui rektum kemudian feses yang mengandung virus termakan oleh kucing lainnya.

Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Nidom *dkk.* (2006), dengan menggunakan metode PCR dari isolat lapangan (*swab* hidung dan trakea) pada kucing di Surabaya mengidentifikasi adanya virus *Avian Influenza* subtipe H5N1 di pasar Wonokromo (W3), pasar Pucang (PC1) dan perumahan Keputih (K4 dan K6). Hal ini bertolak belakang dengan tidak ditemukannya antibodi *Avian Influenza* subtipe H5 pada ketiga lokasi tersebut dalam penelitian ini. Tidak terdeteksinya antibodi *Avian Influenza* subtipe H5, kemungkinan disebabkan karena belum terbentuknya antibodi terhadap virus tersebut. Terdeteksinya antibodi *Avian Influenza* subtipe H5 pada beberapa sampel tetapi tidak ditemukannya virus *Avian Influenza* subtipe H5N1 pada sampel tersebut, kemungkinan disebabkan karena kucing dalam fase penyembuhan namun masih terdapat antibodi *Avian Influenza* dengan titer yang masih dapat dikategorikan HI positif. Antibodi terhadap AI pada semua spesies hewan dapat dideteksi melalui uji HI dan uji netralisasi virus yang timbul dalam waktu tiga sampai tujuh hari setelah infeksi dan mencapai puncak pada minggu kedua (Fenner *et al.*, 1995).

Respon Antibodi yang muncul saat terjadi infeksi dari virus influenza antara lain adalah *Cytolytic T Lymphocytes* yang bertanggung jawab mengeluarkan virus dari tubuh hospes setelah terjadinya infeksi dan serum darah mengandung antibodi yang berfungsi untuk menghancurkan protein permukaan dari virus tersebut. Antibodi terhadap hemagglutinin berfungsi mencegah perlekatan virus ke sel dan menetralkan sifat infeksi dari virus. Sifat ini mampu mencegah masuknya infeksi virus *Avian Influenza* ke dalam tubuh suatu organisme. Antibodi terhadap neuraminidase mencegah virus keluar dari sel yang telah diinfeksi sehingga mencegah penyebarannya ke sel lain serta dapat mencegah penularan ke organisme yang lainnya (Mills, 2001).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan di beberapa kota besar (Surabaya, Semarang, Jakarta dan Bandung) diperoleh hasil penelitian dengan persentase sebagai berikut: 1) wilayah Surabaya memiliki antibodi *Avian influenza* subtipe H5 dengan persentase sebesar 17,5%; 2) Semarang memiliki antibodi *Avian influenza* subtipe H5 dengan persentase sebesar 33,3% (Dwiyanto, 2008); 3) Jakarta memiliki antibodi *Avian influenza* subtipe H5 dengan persentase sebesar 67,4% (Dewisavitry, 2007); 4) Bandung memiliki antibodi *Avian influenza* subtipe H5 dengan persentase sebesar 25% (Mubin, 2007).

Kucing dapat terinfeksi virus *Avian Influenza* subtipe H5N1 karena memakan unggas liar atau peliharaan dan dapat berkembang menjadi penyakit parah hingga mematikan serta mengeluarkan virus tersebut dari saluran pernapasan dan saluran

pencernaan. Hal tersebut menimbulkan kekhawatiran bahwa kucing dapat bertindak sebagai perantara (*intermediary host*) penyebaran virus *Avian Influenza* subtipe H5N1 di antara spesies dan dapat membuat virus tersebut beradaptasi menjadi jenis virus (strain) yang mudah menyebar dan dapat memicu terjadinya pandemi influenza (FAO, 2007).



BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Kucing jalanan (*Felis silvestris catus*) yang berada di Pasar Keputran, pasar Wonokromo dan Perumahan Sukomanunggal mempunyai antibodi terhadap virus *Avian Influenza* sub tipe H5 sebesar 17,5 %. Hal tersebut berarti bahwa secara alami, kucing-kucing yang berada di lokasi tersebut dapat dan telah terinfeksi oleh virus *avian influenza* sub tipe H5N1.

6.2 Saran

Saran yang dapat diambil dari hasil penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai peranan kucing dalam penyebaran virus *Avian Influenza* sub tipe H5 dan pada hewan lainnya.
2. Perlu dilakukannya biosekuriti sebagai salah satu upaya pencegahan dan pengendalian penyebaran virus *Avian Influenza* sub tipe H5N1 di daerah-daerah yang beresiko tinggi terhadap virus tersebut.

RINGKASAN

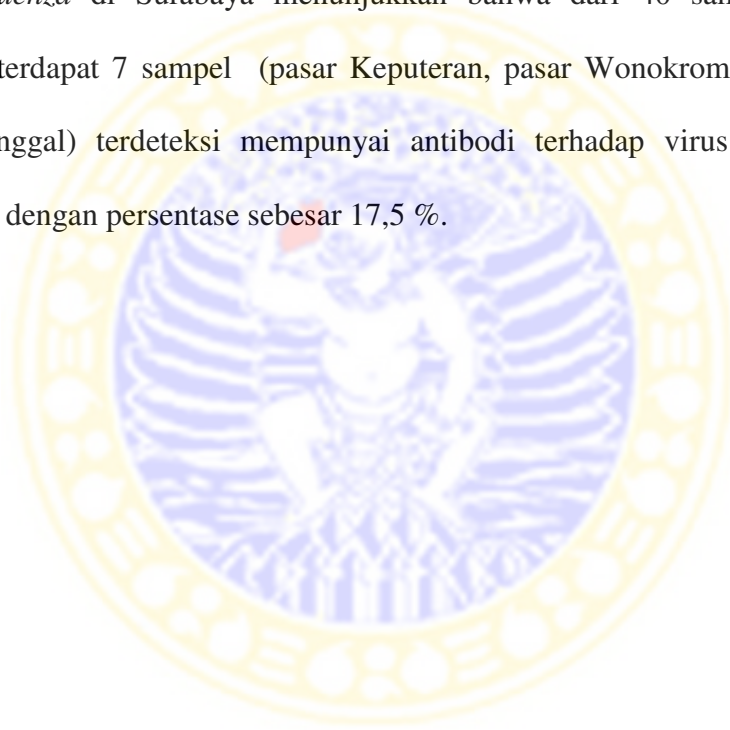
Citra sari. Deteksi Antibodi *Avian Influenza* Subtipe H5 pada Kucing jalanan (*Felis silvestris catus*) di beberapa pasar dan perumahan di Surabaya dengan Uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI). Penelitian ini dibawah bimbingan Ibu Nanik Sianita Widjaja, S. U. Drh., selaku pembimbing pertama dan Dr. Hardijanto, M. S, drh., selaku pembimbing kedua.

Avian Influenza (AI) disebabkan oleh virus influenza tipe A dan termasuk famili *Orthomyxoviridae*. Bentuk virus influenza tipe A adalah pleomorfik, ovoid, atau sferik dengan ukuran diameter 80-120 nm dan ada beberapa bentuk filament. Berdasarkan atas struktur antigen permukaan, yaitu *Hemagglutinin* (H) dan *Neuraminidase* (N), maka dikelompokkan lagi menjadi beberapa subtipe. Dewasa ini, Virus dikelompokkan menjadi 16 subtipe H (H1-H16) dan 9 subtipe N (N1-N9). Kandungan kedua protein tersebut yang menentukan apakah virus tersebut dari jenis yang mematikan atau tidak.

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi ada atau tidaknya antibodi terhadap *Avian Influenza* pada kucing jalanan di daerah berisiko tinggi terhadap infeksi virus *Avian Influenza* di Surabaya yaitu pasar Keputeran, pasar Turi, pasar Pacar keling, pasar Wonokromo, pasar Pucang, perumahan Keputih dan perumahan Sukomanunggal dengan menggunakan uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI Test). Jumlah

sampel serum kucing yang diperiksa sebanyak 40 sampel kemudian dilakukan pengujian dengan uji HI mikroteknik di Laboratorium Avian Influenza, Tropical Disease Center (TDC), Universitas Airlangga Surabaya.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dengan mendeteksi antibodi terhadap *Avian Influenza* sub tipe H5 di daerah berisiko tinggi terhadap infeksi virus *Avian Influenza* di Surabaya menunjukkan bahwa dari 40 sampel serum yang diperiksa, terdapat 7 sampel (pasar Keputeran, pasar Wonokromo dan perumahan Sukomanunggal) terdeteksi mempunyai antibodi terhadap virus *Avian Influenza* sub tipe H5 dengan persentase sebesar 17,5 %.



DAFTAR PUSTAKA

- Asmara, W. 2007. Peran Biologi Molekuler Dalam Pengendalian Avian Influenza dan Flu Burung. http://www.komnasfbpi.go.id/files/naskah_pidato_GuruBesarUGM_Widya_Asmara_.pdf+kajian+avian+influenza. [31 Maret 2007].
- Budiana, N.S dan Muhammad A.S. 2006. Membiakkan Kucing Ras. Penebar Swadaya. Jakarta. 8-10.
- Dewisavitry, M. I. 2007. Deteksi Antibodi Virus Avian Influenza H5N1 Pada Kucing Jalanan (*Felis silvestris catus*) di Jakarta [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Ernawati, 2004. R., A. P. Rahardjo., N. Sianita., J. Rahmahani., F. A. Rantam., W. Tjahjaningsih dan Suwarno. 2004. Petunjuk Praktikum Pemeriksaan Virologik dan Serologik. Laboratorium Virologi dan Imunologi Bagian Mikrobiologi Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- FAO. 2006. H5N1 in Cats. In: Animal Health Special Report. http://www.fao.org/AG/AGAINFO/SUBJECT/en/health/disease-cards/avian_cats.html-27k [4 Februari 2007]
- FAO. 2007. Flu Burung Pada Kucing Harus Dimonitor Dengan Teliti, FAO Akan Teliti Kawasan Indonesia. http://www.berita_bumi.or.id/berita3.php?idberita:687
- Fenner, F.J., E. P. J., Gibss, F. A., Murphy, R., Rott, M. J., Studdert and D. O. White. 1995. Veterinary Virology 2nd Ed. Semarang: IKIP Semarang Press.
- Harder TC. and Werner O., 2006. Avian Influenza. N. Engl. J. Med.
- Horimoto, T., Kawaoka, Y. 2001. Pandemic Threat Posed By Avian Influenza A Viruses. Clin.Microbiol. Rev.14:129-149.
- Kuiken, T., Keawcharoen, J., Oraveerakul, K., Payungpong, S., Poovorawan, Y., Rimmelzwaan, G. F., Riel, D. V., Amerongen, G. V., Fouchier, R. A. M., Osterhaus, A. 2004. Avian Influenza H5N1in Tigers and Leopards. Emerging Infec. Dis. 10:2189-2191.

- Kuiken, T., Rimmelzwaan, G. F., Riel, D. V., Amerongen, G. V., Fouchier, R. A. M., Osterhaus, A. 2006. Influenza A Virus (H5N1) Infection in Cats Causes Systemic Disease with Potential Novel Routes of Virus Spread within and Between Hosts. *Emerging Infec. Dis.* 10:168-183
- Kompas. 2006. Flu burung ditemukan pada anjing dan kucing di Bali. <http://www.kompas.co.id/ver1/kesehatan/0701/18/195016.htm> [22 Maret 2007]
- Leschnik M., Weikel J., Revilla F.S., Wodak E., Bago Z. 2007. Subclinical Infection with Avian Influenza A (H5N1) Virus in Cats. *Emerg Infect Dis.* ISSN: 1080-6059. <http://www.cdc.gov/EID/content/13/2/243.htm>
- Mills, j. 2001. *Viral Infection : Medical Immunology*. 10th ed. The McGraw-Hill Companies, Inc. United State. 617-635.
- Mubin, A. 2007. Deteksi Antibodi Avian Influenza H5N1 Pada Kucing Jalanan (*Felis silvestris catus*) di Wilayah Bandung [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Muller, A. 2007. Food and Agrikulture Organization. <http://www.kompas.com/utama/news/0603/01/061429.htm>
- Nidom, C. A., Priyatna, Y., Zarkasie, K. 2006. Surveilans Virus Avian Influenza H5N1 pada Babi dan Kucing serta Analisis Filogenetik dengan Virus yang Menginfeksi Ayam dan Manusia. *Dikti Depdiknas. Inpres.*
- Ningtyas, N. H. 2007. Perbedaan Titer Antigen dari Virus Avian Influenza Subtipe H5N1 yang Menginfeksi Kucing Jalanan pada Uji Hemaglutinasi dengan Sel Darah Merah Ayam dan Sel Darah Merah Kuda [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- OIE. 2005. *Manual of Diagnostic Test and Vacciness for Terrestrial Animals*. <http://www.oie.int/eng/maladies/fitches/a A150.htm-10k> [22 April 2007]
- Pusat Veterinaria Farma. 2006. Pengawasan dan Diagnosa Avian Influenza. *Buletin Veterinaria Farma* 3 (6). Direktorat Jenderal Peternakan. Departemen Pertanian.
- Rahardjo, Y. 2004. *Avian Influenza; Pencegahan, Pengendalian dan Pemberantasannya*. GITA. Jakarta
- Rantam, F. A. 2005. *Virologi*. Airlangga University Press. Surabaya.

- Ressang, A. A. 1986. Penyakit Viral Pada Hewan. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. 343-345.
- Rimmelzwaan, G.F., Van Riel, D., Baars, M., Bestebroer, T. M., Van Amerongen, G., Fouchier, R., Osterhaus, A. D. M. E., and Kuiken, T. 2006. Influenza A Virus (H5N1) Infection in Cats Causes Systemic Disease with Potential Novel Routes of Virus Spread within and between Host. *A. J. Pathol* 168 : 176-183
- Dwiyanto, R. 2008. Deteksi Antibodi Avian Influenza H5N1 Pada Kucing Jalanan (*Felis silvestris catus*) di Semarang [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Songserm, T., Amonsin, A., Jam-on, R., Sae-Heng, N., Meemak, N., Pariyothorn, N., Payungporn, S., Theamboonlers, A. and Poovorawan, Y. 2006. Avian Influenza H5N1 in Naturally Infected Domestic Cats. *Dis. CDC EID*. Vol 12(4).
- Suzuki Y. 2005. Sialobiology of Influenza Molecular Mechanism of Host Range Variation of Influenza Viruses *Biol.Pharm.Bull.* 28.
- Tabbu, C. R. 2000. Penyakit Ayam dan Penanggulangannya : Penyakit Bakterial, Mikal, dan Viral. Kanisius. Yogyakarta
- Tizard, I. R. 1987. Pengantar Imunologi Veteriner. Airlangga University Press. Suarabaya.
- WHO. 2002. WHO Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance. WHO/CDS/CSR/NCS/2002.5. <http://www.who.int>.
- Whittaker GR.2001. Intercellular Trafficking of Influenza Virus : Clinical Implications for Molecular Medicine. Cambridge University Press
- Wikipedia. 2006^a. Influenza. The free enzylopedia. <http://en.wikipedia.org/wiki/influenza>. [15 Desember 2006]
- Wikipedia. 2006^b. Cat. The free enzylopedia. <http://en.wikipedia.org/wiki/cat>. [15 Desember 2006]
- Winarno. 2007. Mengantisipasi Penyakit Flu Burung. http://www.dispernak.go.id/artikel_16.htm-20k.pdf+kajian+avian_influenza. [31 Maret 2007].

Lampiran 1. Gambar pengambilan sampel darah kucing jalanan (*Felis silvestris catus*)



Restrain Kucing



Vena
Femoralis

Pengambilan darah melalui v. Femoralis

Lampiran 2. Gambar alat dan bahan penelitian



Sentrifugase



Alat : *Blue tips, yellow tips, multichanel pipet, mikropipet, mikroplat "U", RDE (Reseptor Destroying Enzyme)*



Mechanical vibrator



Vortex

Lampiran 3. Skema Uji HA Mikroteknik

A. Titrasi Antigen

Sumuran no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
PBS (50 μ l) dimulai lubang A2-A8 dan B2-B8		50	50	50	50	50	50	50				
Antigen (100 μ l) pada lubang A1, PBS (100 μ l) pada lubang B1	100	50	50	50	50	50	50	50				
Lubang B1-B12 sebagai kontrol eritrosit												
Eritrosit marmut 0,75% (50 μ l) pada semua lubang A dan B	50	50	50	50	50	50	50	50				
Campur dan inkubasikan pada suhu ruangan selama 60 menit												
Pengenceran	1	2	4	8	16	32	64	128				

Interpretasi hasil:

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



B. Retitrasi Antigen 8HA unit/0,05 ml

Sumuran no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
PBS (50µl) dimulai lubang A2 - D6		50	50	50	50	50						
antigen (100µl) pada lubang A1 - C1, PBS (100µl) pada lubang D1	0,1	50	50	50	50	50	dicampur dan dibuang 50 µl					
Lubang D1-D6 sebagai kontrol eritrosit												
Eritrosit marmut 0,75% (50µl) pada semua lubang A dan B	50	50	50	50	50	50						
Campur dan inkubasikan pada suhu ruangan selama 60 menit												
Pengenceran	1	2	4	8	16	32						

Interpretasi hasil:

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



Lampiran 4. Skema Uji (HI) Mikroteknik

Lubang no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
PBS (25 μ l) dimulai lubang B1-H12	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Serum (50 μ l) pada lubang A1-A12	50	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25 dicampur dan dibuang 25 μ l
Antigen standard (25 μ l) pada semua lubang kec.H1-H12 sebagai kontrol serum	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Campur dan inkubasi pada suhu ruangan selama 30-45 menit												
Eritrosit marmut 0,75% (50 μ l) pada semua lubang	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Inkubasikan pada suhu kamar selama 60 menit												

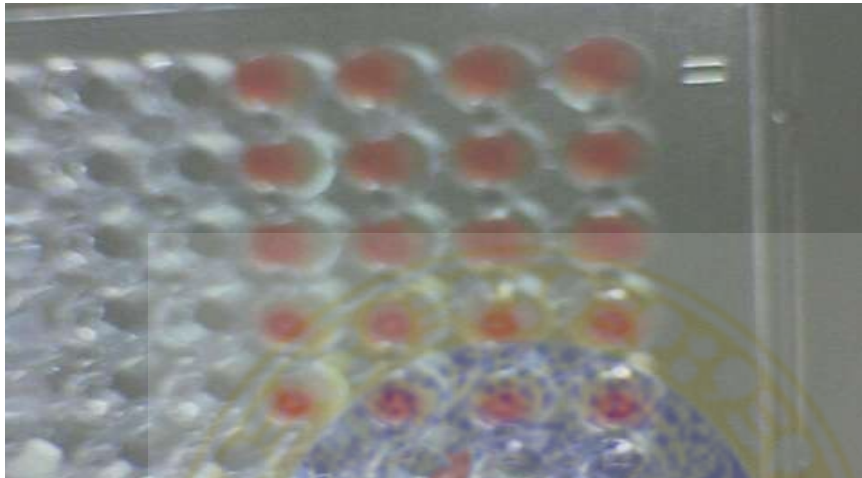
Interpretasi hasil:

Hambatan aglutinasi sempurna (100 %) adalah adanya pengendapan eritrosit berbentuk

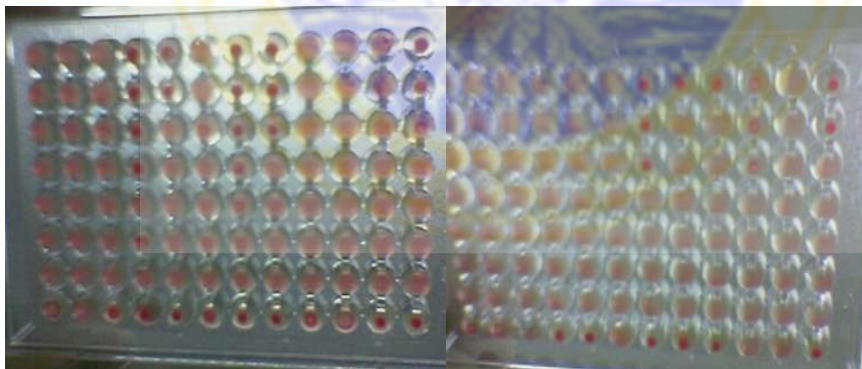
cincin di tengah lubang yang terlihat seperti pada kontrol



Lampiran 5. Gambar Hasil Penelitian Retitrasi Antigen dan Uji HI



Retitrasi antigen 8HA unit/0,05 ml



Hasil uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI Test)