

Identifikasi H1 dari Virus Pandemik H1N1-2009 pada Babi di Rumah Potong Hewan Pegirian Surabaya Melalui Uji HI**Identification Pandemic H1N1-2009 Virus on Pigs in Slaughterhouse Pegirian Surabaya By Using HI Test**

¹Enny Prasetyawati, ²C.A. Nidom, ²Nanik Sianita, ²Chairul Anwar, ²Rahayu Ernawati, ²Ngakan Made Rai Widjaja

¹PPDH Fakultas Kedokteran Hewan Unair

²Fakultas Kedokteran Hewan Unair

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya – 60115

Telp. 031-5992785, Fax. 031-5993014

Email : vetunair@telkom.net

Abstract

The aim of this study was to identify the pandemic H1N1-2009 virus on pigs in Pegirian Surabaya slaughterhouse by using HI test. Nasal swab of pig sampels were taken from Pegirian Surabaya slaughterhouse. Before the swab samples were tested by HA test, they were inoculated to 8-10 days embryoned chicken eggs, then they were incubated at 37 °C for 3-4 days. On 3rd-4th day, the isolates were harvested. The positive result of HA test was continued to HI test. HI test was positive when there was an inhibition of agglutination. It was shown by the forming of erythrocytes sedimen like ring on the bottom of microplate's wells. The result showed that from seventy samples, there was one sample infented by H1 of the pandemic H1N1-2009.

Keywords : *Swine Influenza, pandemic H1N1-2009, pigs*

Pendahuluan

Virus influenza A dengan sub tipe H1N1, H1N2 dan H3N2 merupakan tiga sub tipe virus influenza yang umum ditemukan pada babi yang mewabah di Amerika Utara (Webby *et al.*, 2000; Rotta *et al.*, 2001).

Kasus penyakit yang disebabkan oleh virus Influenza A kembali menggemparkan dunia pada tahun 2009 yang disebabkan virus pandemik H1N1-2009 yang sering terdengar sebagai flu babi atau *Swine Flu*. Virus pandemik H1N1-2009 pertama kali terdeteksi pada manusia di Amerika Serikat tepatnya di California pada April 2009, namun paling banyak terinfeksi adalah Meksiko sehingga disebut juga *Flu Mexico* (CDC, 2009). Penyebaran virus pandemik H1N1-2009 pada manusia menimbulkan keresahan di masyarakat setelah *World Health Organization* yang menyatakan bahwa virus pandemik H1N1-2009 berada pada fase enam pandemik yaitu sudah terjadi penularan antar manusia di beberapa negara (WHO, 2009).

Jumlah kasus pandemik H1N1-2009 di seluruh dunia pada bulan April 2009 sampai Juli 2010 yang diumumkan oleh WHO adalah 491766 (75,3% dari kasus Influenza A). Jumlah kumulatif kematian akibat H1N1 pandemi dilaporkan ke kantor regional WHO pada tanggal 18 Juli 2010, setidaknya 18366 orang meninggal karena virus pandemik H1N1-2009 (WHO, 2010).

Berdasarkan hasil penelitian yang dilaporkan ke CDC bahwa Virus pandemik H1N1-2009 yang menginfeksi manusia pada tahun 2009 berasal dari Virus H1 (Newman *et al.*, 2008; Shinde *et al.*, 2009). Virus pandemik H1N1-2009 juga telah menginfeksi babi dan merupakan penyebab terjadinya infeksi pada manusia, seperti yang dilaporkan oleh AVA (*Singapura Agri-Food and Veterinary Authority*) (AVA, 2009). Selain di Singapura, virus pandemik H1N1 telah menginfeksi babi yang ada di pulau bulan pada bulan November 2009. Hal ini telah dilaporkan secara resmi oleh pemerintah RI kepada OIE (OIE, 2009).

Virus H1N1 merupakan virus influenza A yang normal menginfeksi babi di Amerika, namun akhir-akhir ini ditemukan pada manusia. 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 subtipe H3N2 pada manusia dan virus Flu Burung (Garten *et al.*, 2009; WHO, 2009).

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. Virus H1N1 dan H3N2 sudah menjadi endemik pada populasi babi diseluruh dunia dan dianggap sebagai penyebab penyakit pernafasan yang paling berbahaya pada babi (Nidom, 2010).

Babi berperan dalam penularan pandemik H1N1-2009 antar spesies, karena hewan ini memiliki 2 jenis reseptor yaitu, α 2,3 asam sialat yang cenderung berikatan terhadap virus Influenza pada unggas dan α 2,6 asam sialat yang berikatan dengan virus influenza pada manusia. Konsekuensinya, babi dianggap sebagai induk semang perantara atau sebagai tabung pencampur (*mixing vessel*), di mana material genetik virus dapat dipertukarkan (Wahid, 2009).

Penelitian kali ini ditujukan untuk mengidentifikasi virus pandemik H1N1-2009 pada babi di Rumah Potong Hewan Pegirian Surabaya melalui uji HI sehingga pada hasil penelitian akan diketahui H1 dari virus tersebut. Uji HI (*Haemagglutination Inhibition*) merupakan uji laboratorium yang dapat digunakan untuk identifikasi virus yang memiliki hemagglutinin (H) (Ernawati dkk., 2004). Virus pandemik H1N1-2009 adalah virus yang memiliki antigen permukaan hemagglutinin (H) yang memungkinkan virus dapat mengaglutinasi eritrosit (Russel *et al.*, 2008; Seth, 2010).

Penelitian ini dilakukan dengan mengambil sampel di RPH (Rumah Potong Hewan) karena RPH merupakan tempat yang memungkinkan untuk terjadinya kontak antar babi dan manusia yaitu para pekerja, selain itu juga lebih efisien.

Surabaya merupakan pusat pasar, pusat konsumen sekaligus pusat peredaran babi. RPH yang ada di Surabaya yaitu RPH Pegirian. RPH Pegirian Surabaya merupakan pusat lalu lintas babi yang beredar di

Surabaya. Setiap hari ada 125 ekor babi berada di RPH Pegirian Surabaya. Babi yang berada di RPH Pegirian Surabaya dapat berasal dari Tulungagung, Lumajang, Kediri, Malang dan kota lainnya (Dinkes, 2009).

Sampai saat ini di belum pernah dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengidentifikasi H1 dari virus pandemik H1N1-2009 pada babi di RPH Pegirian Surabaya melalui uji HI.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka diperlukan penelitian lebih lanjut untuk memberikan penjelasan ilmiah mengenai kemungkinan babi yang berada di RPH Pegirian Surabaya telah terinfeksi virus pandemik H1N1-2009 dengan mengidentifikasi virus pandemik H1N1-2009 melalui uji HI.

Materi dan Metode Penelitian

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan di RPH Pegirian Surabaya. Sampel berupa usapan rongga hidung babi yang diambil dengan menggunakan *cottonbud* kemudian disimpan dalam tabung *venojec* yang berisi media transport M199 dan selama perjalanan menuju laboratorium disimpan dalam box es. Sampel usapan rongga hidung diambil dari 70 ekor babi. Sesampainya di laboratorium sampel disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam (WHO, 2002; OIE, 2010).

Penanganan Sampel

Sampel yang diperoleh dikeluarkan dari lemari es dan siap dipreparasi. Pertama semua sampel divortex, kemudian *cotton bud* dikeluarkan dari botol. Setelah itu tambahkan PBS 1000 μ l pada tiap sampel apabila cairan/sampel kurang dari 1ml. Lakukan sentrifuse pada sampel dengan kecepatan 1500 rpm selama 10 menit agar terpisah dari kotoran yang ada. Ambil supernatan sebanyak 400 μ l dan letakkan pada *ependof* yang berisi penstrebe sebanyak 50 μ l penstrebe dengan dosis 10.000 UI (WHO, 2002).

Isolasi virus

Pertama-tama yaitu *candling* pada telur ayam yang akan digunakan untuk inokulasi. Dengan bantuan *candling* ini, beri tanda batas dengan pensil antara ruang hawa dan isi telur. Pada kulit telur di daerah ruang hawa ($\pm$ 3-5 mm dari tanda batas ruang hawa) buat lubang dengan paku. Melalui lubang

tersebut, masukkan jarum suntik yang telah berisi sampel sedalam $\pm 1,5$ inchi jarum sejajar dengan sumbu panjang telur. Suntikkan sampel sebanyak 0,1-0,3 ml pada tiap telur. Tiap satu kode sampel diinokulasi pada dua telur. Setelah disuntik, lubang paku ditutup dengan *selotip*. Kemudian telur ayam diinkubasi pada suhu 37°C selama 3-4 hari. Lakukan *candling* setiap harinya telur ayam bertunas ini untuk mengamati embrionya. Telur yang embrionya mati lebih dari 24 jam atau yang masih hidup sampai akhir pengamatan, masukkan ke lemari es suhu 4°C. Setelah 24 jam TAB yang berada di lemari es, cairan alantoisnya dipanen

Uji HI (*Haemagglutination Inhibition*) Mikroteknik

Sebelum dilakukan uji HI secara mikrountuk identifikasi virus, dilakukan uji HA untuk mengetahui titer virus, sampel dengan titer HA 2² keatas yang bisa dilanjutkan dengan uji HI. Standar antigen yang digunakan pada uji HI adalah 4HAU/25 µl (WHO, 2002). Dalam uji HI dibutuhkan antiserum standart pandemik H1N1-2009. Langkah terakhir diadakan penentuan pembacaan titer sampel yang dibandingkan dengan kontrol. Hasil uji HI positif ditandai dengan adanya pengendapan eritrosit berbentuk cincin di dasar sumuran (WHO, 2002; OIE, 2010)

Hasil dan Pembahasan

Hasil pemeriksaan dengan menggunakan uji hemagglutinas (HA) menunjukkan bahwa terjadi hemagglutinas pada sembilan sampel isolat dari 70 sampel isolat dan menunjukkan titer HA 2¹-2⁴. Sampel isolat dengan titer HA 2¹ tidak dapat dilanjutkan dengan uji HI karena uji HI memerlukan isolat yang mempunyai titer 4HAU/0,025 ml atau setara 2² HAU/0,025 ml. Sampel isolat dengan titer HA 2²-2⁴ sebanyak lima sampel dilanjutkan dengan menggunakan uji HI. Sampel dengan titer HA 2³ dan 2⁴ diretritasi menjadi 2² HAU/0,025 terlebih dahulu sebelum dilanjutkan uji HI.

Tabel 1 Data hasil uji HA (*Haemagglutination*) isolat usapan rongga hidung babi di RPH Pegiriaan Surabaya

No.	Bulan	Jumlah Sampel		Titer HA
		Positif	Negatif	
1	Juli	1	19	2 ³
2	Agustus	0	15	2 ⁰
3	September	2	13	2 ¹
4	Oktober	6	14	2 ¹ -2 ⁴
Jumlah		9	61	

Keterangan : Hasil uji HA dengan titer dibawah 2² tidak dapat dilanjutkan uji HI karena uji HI memerlukan titer 8HA unit/0,05 ml atau 4HA unit/0,025 ml.

Tabel 2 Data hasil uji HI (*Haemagglutination Inhibition*) isolat usapan rongga hidung babi di RPH Pegirian Surabaya terhadap H1 dari virus pandemik H1N1-2009

No.	Bulan	Jumlah sampel hasil uji HA positif	Hasil uji HA (titer)	Hasil uji HI terhadap Pandemik H1N1-2009
1	Juli	1	2 ³	-
2	Oktober	4	2 ² , 2 ² , 2 ² , 2 ⁴	-, -, -, +

Keterangan : antiserum pandemik H1N1-2009 merupakan hasil imunisasi marmut dengan virus pandemik H1N1-2009 dari biofarma.
- : Negatif H1
+ : Positif H1

Interpretasi hasil uji HI ditemukan satu sampel isolat yang menunjukkan hasil positif H1 (tabel 4.2). Hasil dari pengujian tersebut dapat disimpulkan bahwa sampel isolat yang diperoleh dari usapan rongga hidung babi merupakan virus Pandemik H1N1-2009. Sampel isolat tersebut merupakan sampel babi di RPH Pegirian Surabaya pada bulan Oktober 2010. Adanya satu sampel yang positif H1 pada uji HI untuk identifikasi virus Pandemik H1N1-2009 menunjukkan bahwa babi terinfeksi Pandemik H1N1-2009.

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan mulai bulan Juli sampai Oktober 2010, dapat ditarik kesimpulan bahwa satu ekor babi dari tujuh puluh ekor babi di Rumah Potong Hewan Pegirian Surabaya positif H1 pada uji HI untuk identifikasi Virus Pandemik H1N1-2009.

Daftar Pustaka

- AVA(Agri-Food and Veterinary Authority). 2009.H1N1 virus found in pigs.
<http://footsafety.suencs.com/archives/5726>. [diakses 12 desember 2010].
- CDC (Centers 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 (2009) 400-402.
- Dinkes, 2009. Waspada Terhadap Kemungkinan Munculnya Strain Virus Baru. 29 Oktober 2009. <http://www.surabaya-ehealth.org/dkksurabaya/berita/rapat-koordinasi-lintas-sektor-penanggulangan-virus-influenza.htm> [diakses 21 agustus 2010].
- Ernawati, R., Rahardjo, A.P., Sianita, N., Rahmahani, J., Rantam, F.A., Tjahjaningsih, W., dan Suwarno.2004. Petunjuk Praktikum Pemeriksaan Virologik dan Serologik. Labolatorium Virologi dan Imunologi Bagian Mikrobiologi Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Garten RJ, Davis CT, Russell CA.2009. Antigenic and genetic characteristics of swine-origin 2009 A(H1N1) influenza viruses circulating in humans. Science 2009 Jul 10;325(5937):197-201
- Newman AP, Reisdorf E, Beinemann J, et al. Human case of swine influenza A (H1N1) triple reassortant virus infection, Wisconsin. 2008.Emerg Infect Dis 2008 Sep;14(9):1470-2
- Nidom, 2010. Pandemi Influenza H1N1 2009. Airlangga University Press. Surabaya.
- OIE (Office International des Epizooties). 2010. Terrestrial Manual Chapter 2.3.4-Swine Influenza. http://www.oie.int/eng/norms/manual/A_0037.htm [diakses 20 Agustus 2010].
- OIE (Office International des Epizooties). 2009. [2009 H1N1 Flu: International Situation Update](http://www.oie.int/eng/norms/manual/A_0037.htm).
- Rotta P.A., E.P.Rocha, M.W. Harmon, V.S.Hinshaw, M.G.Sheerar, Y.Kawaoka, N.J. Cox and T.F.Smith, 2001. Laboratory Characterization of a Swine Influenza Virus Isolated From A Fatal Case of Human Influenza. J. of Clin. Microb. (27) 6: 1413-1416
- Russel, et al., 2008. The global circulation of seasonal influenza A (H3N2). Science 320 (5874), 340-346.
- Wahid. 2009. Wabah dan Virus Flu A H1N1 2009, Suatu Pengertian Publik. <http://wahid.wordpress.com/feed/icod/85ee80be2624d8d1deb29846aab4e4c6/s> [diakses 15 Agustus 2010]
- Wahyono, Teguh. 2006. Analisis Data Statistik dengan SPSS 14.Jakarta : PT Elex Komputindo
- Webby R.J., S.L. Swenson, S.L.Krauss, P.J.Gerrish, S.M. Goyal and R.G.Webster, 2000. Evolution of swine H3N2 Influenza Viruses in The United States, J. of Virol. (74) 18 : 8243-8251
- WHO (World Health Organization). 2002. Who Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance. WHO/CDS/CSR/NCS/2002. 5. Rev. 1.
- WHO (World Health Organization). 2007. Interim Protocol : Rapid operations to contain the initial emergence of pandemic Influenza.
- WHO (World Health Organization).2009. Global Pandemic Influenza Surveillance April 2009.
- WHO (World Health Organization). 2010. Pandemic (H1N1) 2009.
- Zimmer, Bridges CB, Uyeki TM, et al. Triple-reassortant swine influenza A (H1) in humans in the United States, 2009. N Engl J Med 2009 Jun 18;360(25):2616-25