

**FAKTOR YANG MEMPENGARUHI**  
**PENILAIAN HASIL UJI *Haemagglutination* dan *Haemagglutination Inhibition***  
**( Uji ulang terhadap antigen *Avian Influenza* subtipe H5N1 produksi Pusvetma )**

Andre Heryanto, Bambang Erwan.  
Pusat Veterinaria Farma Surabaya

**ABSTRAK**

Pengujian ulang terhadap antigen *Avian Influenza* (AI) subtipe H5N1 produksi Pusat Veterinaria Farma (Pusvetma) yang dipermasalahkan mutunya telah dilakukan bersama antara Pusvetma dengan pengguna (konsumen) pada bulan September 2007, Maret 2008 dan Desember 2008.

Berdasarkan uji tersebut ditemukan kesalahan prosedur kerja oleh pengguna, dengan tidak melakukan uji *Haemagglutination* (HA) untuk menentukan HA unit dan titrasi ulang untuk memastikan 4 HA unit, penggunaan PBS yang kurang tepat sebagai pelarut, penggunaan sel darah merah (SDM) ayam yang tidak homogen pada petridish, prosentase SDM yang terlalu tinggi (10 %), pencucian mikroplate dengan deterjen dan kesalahan penyimpanan antigen yang telah dilarutkan.

Prosedur kerja yang tidak tepat akan memberikan hasil berbeda pada HA unit dan titer antibodi pada *Haemagglutination Inhibition* (HI), sehingga menghasilkan interpretasi yang berbeda.

Kata kunci : antigen AI, uji HA/HI, 4 HAU, prosedur kerja.

**PENDAHULUAN**

Tahun 2003, masyarakat dunia, khususnya Asia "diteror" oleh suatu wabah penyakit saluran pernafasan yang diidentifikasi sebagai penyakit flu burung atau disebut pula *Avian Influenza* (AI). Wabah flu burung tersebut disebabkan oleh virus *Influenza* tipe A, subtipe H5N1. Penyakit ini bersifat sangat ganas bagi unggas berupa tingkat kematian yang tinggi, dan dapat berakibat fatal bagi manusia. Walaupun tindakan vaksinasi untuk penyakit AI sampai saat ini masih diragukan keberhasilannya (Akoso, 1993) namun pemberantasan dan pengendalian penyakit

AI pada unggas di Indonesia masih dapat secara efektif dilakukan melalui program vaksinasi dan penerapan biosekuriti yang ketat (Naipospos, 2004). Titer HI dianggap positif jika terjadi hambatan pada serum dengan pengenceran  $\geq 1 / 16$  ( $2^4$  atau  $\log 2^4$ ) atau lebih terhadap 4 HAU antigen (OIE, 2000). Deteksi antibodi dalam darah dilakukan dengan uji HI, sehingga dapat diketahui titer antibodi dan dapat ditentukan waktu yang tepat untuk revaksinasi. Karena vaksinasi yang benar sebaiknya dilakukan booster minimal tiga kali (Rantam,FA, 2006).

Uji HI memerlukan antigen AI yang sesuai dengan subtipe virus vaksin yang digunakan dalam vaksinasi, karena penggunaan vaksin dan antigen yang berbeda subtipenya (tidak homolog) akan mengakibatkan pembacaan hasil titer antibodi dari vaksinasi yang tidak akurat. Faktor lain yang mempengaruhi keakuratan hasil uji HA dan HI, adalah faktor penyimpanan dan prosedur kerja (Heryanto, belum publikasi)

Masih terdapat keluhan dari tiga konsumen atau pengguna yang berbeda terhadap antigen AI subtipe H5N1 produk Pusvetma untuk uji HA dan HI, sehingga dilakukan uji ulang antara Pusvetma bersama dengan pengguna antigen AI produksi Pusvetma pada hari senin tanggal 24 September 2007, hari rabu tanggal 26 Maret 2008 dan hari senin tanggal 22 Desember 2008 di Laboratorium Produksi Vaksin Unggas Pusvetma.

Dengan penulisan ini diharapkan pengguna antigen AI pusvetma memperoleh informasi tentang prosedur kerja HA/HI

yang benar sehingga mampu mendeteksi dan mengukur kandungan titer antibodi ternak yang telah divaksinasi secara akurat.

## MATERI DAN METODA

### Materi :

#### Antigen.

Antigen AI subtipe H5N1 berasal dari isolat Pare Kediri dalam bentuk kering beku. Antigen tersebut telah diuji oleh Bidang Pengujian Mutu Produksi Pusvetma dan telah lolos uji serta dinyatakan layak untuk dipasarkan.

#### Metoda :

Uji HA dan HI menggunakan metoda yang mengacu pada standar *Office International des Epizooties* (OIE)

## HASIL

Adanya keluhan dari konsumen direspon positif oleh Pusvetma dengan cara mengundang pihak yang kurang puas atas penggunaan antigen AI subtipe H5N1 untuk diuji ulang bersama di laboratorium produksi vaksin unggas Pusvetma.

Tabel 1 :

Perbandingan hasil uji titer HA terhadap antigen produk Pusvetma oleh konsumen dan hasil uji ulang titer HA bersama antara konsumen dan Pusvetma

No	Konsume n	Hasil Uji HA	Hasil uji ulang HA	Faktor Kesalahan
1	A	0	2 <sup>8</sup> (1:256)	Prosentase SDM 10%
2	B	2 <sup>3</sup> (1:8)	2 <sup>9</sup> (1:512)	Pembuatan PBS tidak sesuai standar
3	C	?	2 <sup>8</sup> (1:256)	Langsung diencerkan 200 dosis

### PEMBAHASAN

Pada uji ulang yang dilakukan, ditemukan beberapa hal yang tidak mengacu pada standar operasional prosedur (SOP), yang memungkinkan hasil uji HA dan pengukuran kandungan titer antibodi yang kurang akurat, misalnya 1) Antigen yang langsung diencerkan dalam jumlah tertentu tanpa melakukan uji HA dan titrasi ulang (*Back Titration*) untuk mencari 4 HA unit. Nilai 4 HA unit merupakan jumlah antigen yang telah ditentukan untuk uji HI (OIE, 2008). 2) Terdapat kesalahan komposisi bahan yang dipakai dalam pembuatan PBS yang tidak mengandung NaCl, hal ini dapat mempengaruhi atau menghambat proses aglutinasi SDM sehingga hasil pemeriksaan menjadi bias atau rendah titernya. 3)

Prosentase suspensi sel darah merah (SDM) terlalu tinggi (10%) yang seharusnya 1%, (OIE, 2008) hal ini dapat menyebabkan terhalangnya pandangan pemeriksa terhadap hasil reaksi aglutinasi oleh butir-butir Sel Darah Merah (SDM) yang cukup tinggi prosentasenya, sehingga nampak sebagai hambatan aglutinasi yang sempurna dan akibatnya hasil pemeriksaan sepertinya menjadi rendah titernya atau bahkan dapat mencapai nol. 4) Proses pencucian *microplate* dengan menggunakan deterjen yang seharusnya cukup dengan air kran saja lalu dibilas dengan aquades. Sisa deterjen yang tidak nampak dan sisa air kran dengan kesadahan tertentu, yang menempel pada plate dapat menyebabkan pecahnya sel darah merah ayam yang mengakibatkan terjadinya gangguan hambatan aglutinasi,

sehingga pembacaan hasil kurang tepat. 5) Penambahan SDM ayam yang seharusnya ditempatkan pada *microplate tray*, tetapi ditaruh pada *petridish* menyebabkan SDM cepat mengendap (tidak homogen). Faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi hasil pembacaan uji adalah kesalahan penanganan/ penyimpanan antigen yang telah dilarutkan (seharusnya disimpan pada temperature 4<sup>0</sup>C atau -20<sup>0</sup>C) dan dilakukan titrasi ulang.

Uji HI juga dipengaruhi oleh kesesuaian antigen AI dengan subtype virus vaksin yang digunakan dalam vaksinasi, karena penggunaan vaksin dan antigen yang berbeda subtipe (tidak homolog) akan menghasilkan titer antibodi yang lebih rendah dibanding dengan antigen dan vaksin yang homolog karena akan mempengaruhi epitop yang merupakan *antigenic determinant* yang menentukan hubungan antigen antibodi (*poultry Indonesia, 2007*).

Pemeriksaan awal antigen produk Pusvetma oleh pengguna dengan prosedur kerja yang kurang tepat menghasilkan 0 dan 8 HA unit. Uji ulang dengan prosedur yang tepat memberikan hasil titer antigen yang memenuhi syarat yaitu titer HA sebesar 2<sup>8</sup> (1 : 256) dan 2<sup>9</sup> (1 : 512) yang berarti bahwa

antigen tersebut mengandung 256 dan 512 HA Unit.

## KESIMPULAN

Prosedur Uji yang tidak mengacu pada *Standard Operational Procedure* (SOP) yang telah ditetapkan akan berpengaruh pada hasil uji HA dan HI sehingga dapat memberikan interpretasi hasil yang berbeda.

## DAFTAR PUSTAKA

- OIE, 2000. Manual of standards for Diagnostic Test and Vaccine. Office International des Epizooties. World Organisation for Animal Health.
- OIE, 2008. Manual of standards for Diagnostic Test and Vaccine. Office International des Epizooties. World Organisation for Animal Health.
- Naipospos, TSP., 2004. Vaksinasi Sebagai Strategi Pengendalian dan Pemberantasan AI Ditengah Tantangan Pandemi Asia. Rapat Evaluasi Kebijakan Vaksinasi AI. Jakarta 13 April 2004.
- Akoso, B.T., 1993. Manual Kesehatan Ungas. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Heryanto, A, *et al.* Belum dipublikasikan
- Rantam, F.A. 2006. Pengembangan dan Penyebaran Virus AI (Flu Burung). Poultry Indonesia. 2007. Evaluasi Vaksin AI