
**PERBEDAAN ANTIBODI VIRUS *Avian influenza* SUBTIPE H5N1
DENGAN MENGGUNAKAN SERUM DAN PLASMA DARAH
PADA PENDONOR DI PMI SURABAYA**

Santi Astuti Dwi Putri , Evi Diah Woelansari , Ocky Dwi Suprobawati

ABSTRACT

Avian influenza is a zoonotic disease caused by type A influenza viruses of the family Orthomyxoviridae. The disease can be transmitted through inhalation, direct contact or indirect contact. Direct transmission through blood is not widely known yet as influenza viremia because it is very small. As long as the time, viremia symptoms may occur symptomatic and asymptomatic. This study aims to analyze the differences between antibody subtype H5N1 Avian influenza virus using serum and plasma of blood donors at PMI Surabaya.

This type of research is a descriptive study with a qualitative analysis method. The sample which used in this study were 50 blood donors at PMI Surabaya. Serum and blood plasma were taken from each donor and will be analyzed by Haemagglutination method (HA) and Haemagglutination Inhibition (HI). This study used the technique of quota sampling, is sampling which obtained without certain criteria until the desired number of quotas are completed. This research was conducted in the Laboratory of the Ministry of Poltekkes Kemenkes Surabaya on February 2014 until June 2014.

Based on the results of the Haemagglutination Inhibition (HI) using serum and plasma samples, it was not revealed any antibodies avian influenza virus subtype H5N1, so it can be concluded that there was no difference in antibody subtype H5N1 Avian influenza virus using serum or plasma donors at PMI Surabaya.

Keywords: *Avian influenza, serum, plasma***PENDAHULUAN**

Penyakit flu burung atau flu unggas (*Avian influenza*) adalah suatu penyakit menular yang disebabkan oleh virus *influenza* tipe A dan ditularkan oleh unggas. Flu Burung adalah penyakit *influenza* pada unggas, baik burung, bebek, ayam, serta beberapa binatang yang lain seperti babi (Santoso, 2005). Virus *Avian influenza* merupakan virus dengan materi genetik RNA *single-stranded sense* negatif dan ber *envelope* yang termasuk dalam famili *Orthomyxoviridae*. Virus yang pertama kali ditemukan oleh Proncinto di Italia pada tahun 1878 ini merupakan penyakit hewan menular yang bersifat zoonosis (Dewi, 2007). Sejak akhir tahun 2003, salah satu tipe virus *influenza* A yaitu *Avian influenza* (AI) subtipe H5N1 telah menyebar di peternakan unggas beberapa negara Asia termasuk China, Vietnam, Thailand, Kamboja, Korea, Jepang dan Indonesia, beberapa negara di Eropa dan Afrika (Pratama, 2012). Di Indonesia kasus *Avian influenza* pertama kali dijumpai pada ayam petelur di Pekalongan, Provinsi Jawa Tengah pada Agustus 2003. Dalam waktu 6 bulan penyakit telah mewabah di 8 provinsi di 56 kabupaten/ kotamadya di Indonesia (Sitepoe, 2009).

Penyakit ini menular dari burung ke burung, tetapi dapat juga menular ke manusia.

Penyakit ini dapat menular lewat udara yang tercemar virus H5N1 yang berasal dari kotoran atau sekreta burung atau unggas yang menderita *influenza* (Santoso, 2005). Penularan atau transmisi dari virus *influenza* secara umum dapat terjadi melalui inhalasi, kontak langsung, ataupun kontak tidak langsung (Radji, 2006). Virus AI subtipe H5N1 dilaporkan juga telah menyebabkan kematian pada manusia. Kasus pertama flu burung pada manusia ditemukan Juli 2005 (Sitepoe, 2009). Menurut Ditjen PP&PL, Kemenkes RI (2013) jumlah kasus flu burung pada manusia di Indonesia dari tahun 2005 sampai Desember 2012 tercatat sebanyak 192 kasus dengan 160 di antaranya meninggal. Virus *Avian influenza* berdasarkan patogenitasnya dapat dibedakan menjadi dua bentuk yaitu *Highly Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) dan *Low Pathogenic Avian Influenza* (LPAI). Di Asia, virus AI subtipe H5N1 termasuk virus *strain* HPAI yang ditandai dengan angka kematian 100% (Hewajuli, 2008). Sebagian besar kasus infeksi *Highly Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) pada manusia disebabkan penularan virus dari unggas ke manusia (Radji, 2006). Pada manusia virus ini paling utama menyerang reseptor-reseptor di paru-paru (Sitepoe, 2009). Selama ini penularan *Avian influenza* secara langsung melalui darah memang belum banyak diketahui. Hal ini

disebabkan keadaan viremia influenza sangat kecil, antara 2-3 hari setelah infeksi. Selain itu virus dalam darah jarang terdeteksi selama adanya gejala infeksi *Avian influenza*, tetapi viremia dapat terjadi simptomatik atau asimtomatik infeksi influenza (Woelansari, 2009)

Kemungkinan pendonor yang terdapat viremia dengan asimtomatik berpotensi dapat menularkan virus *Avian influenza* melalui darah atau produk darah. *Avian influenza* dalam darah menyebabkan terjadi peningkatan penularan virus *Avian influenza* melalui transfusi darah (AABB, 2006).

Menurut Woelansari (2009) pada hasil uji hambatan hemaglutinasi (HI) pada darah donor di UTD PMI Surabaya diketahui bahwa 13 dari 773 darah donor ditemukan antibodi *Avian influenza* subtipe H5. Hal ini menunjukkan adanya antibodi terhadap virus *Avian influenza* pada darah donor. Darah donor yang mempunyai antibodi menunjukkan adanya penularan virus *Avian influenza* ke manusia dari unggas yang terinfeksi yang dapat terjadi melalui kontak langsung atau dari faktor lingkungan yang terkontaminasi, namun apabila tidak ada kontak dengan unggas yang terinfeksi maka terdapat kemungkinan kontak fisik secara langsung dengan penderita yang dapat menyebabkan tertularnya virus *Avian influenza* H5N1 antar manusia.

Pada uji HI dengan menggunakan serum virus *Avian influenza* dapat terdeteksi karena imunogenitasnya rendah akan tetapi sensitifitas dalam mendeteksi antibodi dengan titer rendah dan antibodi yang terbentuk memiliki aviditas yang rendah pula (Woelansari, 2009). Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis adanya dan perbedaan antibodi virus *Avian influenza* Subtipe H5N1 dengan menggunakan serum dan plasma darah pada pendonor di PMI Surabaya. Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan dan pengetahuan bagi peneliti tentang virus *Avian influenza* pada darah pendonor sehingga dapat memberi informasi dan masukan kepada Unit Transfusi Darah PMI Surabaya tentang adanya antibodi virus *Avian influenza* Subtipe H5N1 pada darah pendonor. Dan diharapkan agar penelitian ini dapat menjadi referensi bagi penelitian selanjutnya.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan Penelitian

Tabung *vacutainer* dengan antikoagulan K₃EDTA, Tabung *vacutainer* tanpa antikoagulan, *microplate* "V", *micropipette* (25 µl, 50 µl, 100 µl, 1000 µl), sentrifuse, *yellow tip*, *blue tip*, tisu,

autoclave, *mechanical vibrator*, parafilm, labu erlenmeyer, *sample cup*, *reading mirror*, tabung *centrifuge*. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serum dan plasma darah pendonor di PMI Surabaya, antikoagulan EDTA, sel darah merah ayam 1%, *Phosphate Buffer Saline* (PBS), antigen *Avian influenza* dari Pusvetma Surabaya.

Pembuatan Suspensi Eritrosit Ayam 1%

Eritrosit yang digunakan dalam uji HA dan uji HI adalah eritrosit ayam yang diambil melalui vena brachialis. Darah diambil sebanyak 5 ml menggunakan *sprit* dan *needle*, kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang sudah diisi antikoagulan EDTA. Darah yang sudah terkumpul kemudian dimasukkan ke dalam tabung *centrifuge* dan ditambahkan PBS 10 ml untuk pencucian. Selanjutnya disentrifuse dengan kecepatan 2500 rpm selama 10 menit. Memipet supernatan lalu dibuang. Menambahkan PBS lagi setelah itu di sentrifuse. Pencucian tersebut dilakukan berulang-ulang sampai supernatan jernih. Jadi untuk membuat suspensi eritrosit ayam 1% dari eritrosit ayam 100% adalah mencampurkan eritrosit ayam sebanyak 0,1ml dengan PBS sebanyak 10 Uji

Uji Hemaglutinasi (HA) Mikroteknik

Uji HA mikroteknik digunakan untuk mengetahui titer antigen. Pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah mengisi lubang pada *microplate* "V" (A1-A12) dengan PBS sebanyak 25 µl. Kemudian dimasukkan 25 µl antigen pada lubang A1, lalu dibuat pengenceran antigen secara serial dengan cara mengambil 25 µl dari A1 kemudian dituang ke A2 sampai seterusnya A11 kemudian sisa 25 µl dibuang karena A12 sebagai kontrol negatif. Langkah berikutnya adalah mengisi semua lubang *microplate* (A1-A12) dengan eritrosit ayam 1% sebanyak 25 µl dan dihomogenkan dengan menggunakan *mechanical vibrator* kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit lalu melihat adanya hemaglutinasi menggunakan *reading mirror* (WHO, 2004).

Interpretasi Hasil :

Hasil HA positif : ditandai dengan adanya eritrosit yang menyebar pada dasar lubang di *microplate* dan berbentuk seperti endapan.

Hasil HA negatif : ditandai dengan adanya eritrosit yang mengumpul ditengah lubang di *microplate* dan bila digoyangkan berbentuk seperti kancing.

Uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI) Mikroteknik

Uji HI mikroteknik adalah pemeriksaan serologis yang digunakan untuk mendeteksi

adanya antibodi spesifik virus *Avian influenza* Subtipe H5N1. Spesimen yang diperiksa adalah serum dan plasma manusia yang berasal dari darah pendonor di PMI Surabaya yang telah diambil sebelumnya.

Uji HI yang pertama menggunakan serum darah donor. Pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah mengisi lubang pada *microplate* "V" (A1-A12) dengan PBS sebanyak 25 µl. Kemudian dimasukkan 25 µl serum (darah donor) pada lubang A1, lalu dibuat pengenceran serum secara serial dengan cara mengambil 25 µl dari A1 kemudian dituang ke A2 sampai seterusnya A10 kemudian sisa 25 µl dibuang. Menambahkan 25 µl serum ke lubang A11 sebagai kontrol positif. Kecuali lubang A12 sebagai kontrol negatif. Kemudian menambahkan 25 µl antigen 4HA unit pada lubang A1-A12 lalu inkubasi 30 menit pada suhu kamar. Langkah berikutnya adalah mengisi semua lubang *microplate* (A1-A12) dengan eritrosit ayam 1% sebanyak 50 µl dan dihomogenkan dengan menggunakan *mechanical vibrator* kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 45 menit lalu melihat adanya hemaglutinasi menggunakan *reading mirror*.

Uji HI yang kedua menggunakan plasma darah donor. Pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah mengisi lubang pada *microplate* "U" (A1-A12) dengan PBS sebanyak 25 µl. Kemudian dimasukkan 25 µl plasma (darah donor) pada lubang A1, lalu

dibuat pengenceran plasma secara serial dengan cara mengambil 25 µl dari A1 kemudian dituang ke A2 sampai seterusnya A10 kemudian sisa 25 µl dibuang. Menambahkan 25 µl plasma ke lubang A11 sebagai kontrol positif. Kecuali lubang A12 sebagai kontrol negatif. Kemudian menambahkan 25 µl antigen 4HA unit pada lubang A1-A12 lalu inkubasi 30 menit pada suhu kamar. Langkah berikutnya adalah mengisi semua lubang *microplate* (A1-A12) dengan eritrosit ayam 1% sebanyak 50 µl dan dihomogenkan dengan menggunakan *mechanical vibrator* kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 45 menit lalu melihat adanya hemaglutinasi menggunakan *reading mirror* (WHO, 2004).

Interpretasi Hasil :

Hasil HI positif : ditandai dengan adanya eritrosit yang mengumpul ditengah lubang di *microplate* dan bila digoyangkan berbentuk seperti kancing.

Hasil HI negatif : ditandai dengan adanya eritrosit yang menyebar pada dasar lubang di *microplate* dan berbentuk seperti endapan.

HASIL PENELITIAN

Berdasarkan hasil penelitian pemeriksaan antibodi virus *Avian influenza* subtipe H5N1 dengan menggunakan serum dan plasma darah pada pendonor di PMI Surabaya secara kualitatif menggunakan metode Hemaglutinasi Inhibisi (HI) didapatkan hasil sebagai berikut.

Tabel 1. Data hasil pemeriksaan Hemaglutinasi Inhibisi (HI) terhadap antibodi virus *Avian influenza* subtipe H5N1 menggunakan serum darah pendonor.

Sampel No.	Barcode PMI	Kode Sampel	Hasil Pemeriksaan <i>Avian influenza</i>
1	14052352	S1	Negatif
2	14052173	S2	Negatif
3	14052211	S3	Negatif
4	14052280	S4	Negatif
5	14052174	S5	Negatif
6	14052236	S6	Negatif
7	14052237	S7	Negatif
8	14052238	S8	Negatif
9	14052239	S9	Negatif
10	14052240	S10	Negatif
11	14052176	S11	Negatif
12	14051326	S12	Negatif
13	14052350	S13	Negatif
14	14052278	S14	Negatif
15	14052230	S15	Negatif
16	14052229	S16	Negatif
17	14052177	S17	Negatif
18	14052270	S18	Negatif

19	14052279	S19	Negatif
20	14052276	S20	Negatif
21	14052277	S21	Negatif
22	14052353	S22	Negatif
23	14051324	S23	Negatif
24	14051268	S24	Negatif
25	14052175	S25	Negatif
26	14052203	S26	Negatif
27	14052341	S27	Negatif
28	14052342	S28	Negatif
29	14052343	S29	Negatif
30	14052364	S30	Negatif
31	14052368	S31	Negatif
32	14052365	S32	Negatif
33	14052367	S33	Negatif
34	14052366	S34	Negatif
35	14052204	S35	Negatif
36	14052206	S36	Negatif
37	14048580	S37	Negatif
38	14051323	S38	Negatif
39	14052207	S39	Negatif
40	14052205	S40	Negatif
41	14048061	S41	Negatif
42	14049305	S42	Negatif
43	14048660	S43	Negatif
44	14048662	S44	Negatif
45	14048663	S45	Negatif
46	14048664	S46	Negatif
47	14047968	S47	Negatif
48	14047969	S48	Negatif
49	14047967	S49	Negatif
50	14048661	S50	Negatif

Tabel 2. Data hasil pemeriksaan Hemaglutinasi Inhibisi (HI) terhadap antibodi virus *Avian influenza* sub tipe H5N1 menggunakan plasma darah pendonor.

Sampel No.	Barcode PMI	Kode Sampel	Hasil Pemeriksaan <i>Avian influenza</i>
1	14052352	P1	Negatif
2	14052173	P2	Negatif
3	14052211	P3	Negatif
4	14052280	P4	Negatif
5	14052174	P5	Negatif
6	14052236	P6	Negatif
7	14052237	P7	Negatif
8	14052238	P8	Negatif
9	14052239	P9	Negatif
10	14052240	P10	Negatif
11	14052176	P11	Negatif
12	14051326	P12	Negatif
13	14052350	P13	Negatif
14	14052278	P14	Negatif
15	14052230	P15	Negatif
16	14052229	P16	Negatif
17	14052177	P17	Negatif
18	14052270	P18	Negatif
19	14052279	P19	Negatif

20	14052276	P20	Negatif
21	14052277	P21	Negatif
22	14052353	P22	Negatif
23	14051324	P23	Negatif
24	14051268	P24	Negatif
25	14052175	P25	Negatif
26	14052203	P26	Negatif
27	14052341	P27	Negatif
28	14052342	P28	Negatif
29	14052343	P29	Negatif
30	14052364	P30	Negatif
31	14052368	P31	Negatif
32	14052365	P32	Negatif
33	14052367	P33	Negatif
34	14052366	P34	Negatif
35	14052204	P35	Negatif
36	14052206	P36	Negatif
37	14048580	P37	Negatif
38	14051323	P38	Negatif
39	14052207	P39	Negatif
40	14052205	P40	Negatif
41	14048061	P41	Negatif
42	14049305	P42	Negatif
43	14048660	P43	Negatif
44	14048662	P44	Negatif
45	14048663	P45	Negatif
46	14048664	P46	Negatif
47	14047968	P47	Negatif
48	14047969	P48	Negatif
49	14047967	P49	Negatif
50	14048661	P50	Negatif

Berdasarkan tabel 4.1 dan 4.2 didapatkan 50 sampel yang berasal dari darah pendonor di PMI Surabaya. Dari setiap pendonor diambil serum darahnya yang diisi pada tabung *vacutainer* tanpa antikoagulan dan diambil plasma darahnya yang diisi pada tabung *vacutainer* dengan antikoagulan K₃EDTA. Melakukan uji Hemaglutinasi (HA) yang bertujuan untuk mengetahui titer antigen. Pada uji HA didapatkan titer 1 : 512 . Hasil uji HA ini digunakan untuk pembuatan antigen 4HA unit lalu dilanjutkan dengan uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI) untuk mendeteksi adanya antibodi virus *Avian influenza* subtipe H5N1. Dari hasil pemeriksaan seluruh sampel diperoleh 50 sampel serum dan 50 sampel plasma negatif atau tidak ditemukan adanya antibodi virus *Avian influenza* subtipe H5N1.

PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan di Laboratorium Terpadu Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya, bahwa pada 50 sampel serum dan 50 sampel plasma yang didapat dari pendonor di PMI Surabaya tidak ditemukan adanya antibodi virus *Avian influenza* subtipe H5N1. Pada pemeriksaan ini menggunakan metode Hemaglutinasi (HA)

yang ditandai dengan adanya ikatan antara antigen yang berasal dari virus *Avian influenza* subtipe H5N1 dengan antibodi yang berada pada eritrosit. Reaksi hemaglutinasi berakhir pada *well* nomor 9 atau ($\frac{1}{512}$) yang ditandai dengan adanya eritrosit yang mengendap pada dasar lubang di *microplate* dan berbentuk kancing. Hasil yang diperoleh dari uji hemaglutinasi selanjutnya digunakan untuk melakukan pembuatan antigen 4HA unit. Pada uji hemaglutinasi didapatkan hasil $\frac{1}{512}$ maka 4HA unitnya adalah $4 \times (\frac{1}{512}) = \frac{1}{128}$. Dari perhitungan tersebut maka mengambil 1 bagian antigen ditambah dengan 127 bagian PBS. Pemeriksaan selanjutnya dengan menggunakan metode Hemaglutinasi Inhibisi (HI). Uji ini merupakan salah satu uji serologi standar yang direkomendasikan OIE (*Office International des Epizooties*) untuk mendeteksi keberadaan antibodi yang terdapat pada serum atau plasma yang diperiksa (Hewajuli, 2008). Pada pengujian pertama dengan menggunakan 50 sampel berupa serum menunjukkan hasil yang negatif karena tidak terjadi hemaglutinasi. Hal ini ditandai dengan adanya eritrosit yang menyebar pada dasar lubang di *microplate*,

berbentuk seperti endapan dan untuk pembacaan pada *reading mirror* terlihat dengan jelas.

Pada umumnya uji ini cukup sensitif dan mampu memberikan hasil yang spesifik terhadap subtipe antigen virus *Avian influenza*. Reaksi silang heterolog kemungkinan bisa terjadi antara subtipe-subtipe virus Influenza tipe A. Namun demikian, reaksi homolog akan selalu menunjukkan hasil yang lebih sering terjadi daripada reaksi heterolog.

Berbeda dengan metode yang lain, metode ini mempunyai beberapa kelebihan yaitu relatif simpel, murah reagen dan RBC yang diperlukan, mudah mempersiapkannya, dan tidak membutuhkan alat yang canggih untuk membacanya cukup dengan melihat ada tidaknya aglutinasi yang terjadi antara antibodi sampel dan antigen *Avian influenza* dengan menggunakan *reading mirror*. Sedangkan untuk kekurangan yang dimiliki uji ini diantaranya titrasi antigen harus dilakukan setiap pengujian, interpretasi hasil uji memerlukan keahlian khusus serta adanya prosedur yang berbeda dari masing-masing laboratorium dapat memberikan hasil yang berbeda pula (Hewajuli, 2008). Pada pengujian kedua dengan menggunakan 50 sampel berupa plasma menunjukkan hasil yang negatif pula karena tidak terjadi hemaglutinasi. Hal ini ditandai dengan adanya eritrosit yang menyebar pada dasar tabung lubang di *microplate*, berbentuk seperti endapan dan untuk pembacaan pada *reading mirror* terlihat kurang jelas.

Menurut Fiqri dkk (2011) pada pengujian Hemaglutinasi Inhibisi (HI) dengan menggunakan sampel serum, plasma, yolksac dinyatakan positif (eritrosit mengumpul ditengah dasar lubang di *microplate* dan bila digoyangkan berbentuk seperti kancing) jika mempunyai titer 2^4 . Nilai ini dibaca pada lubang terakhir yang tidak ditemukan adanya lisis sel darah merah. Maka sebaiknya untuk pemeriksaan uji Hemaglutinasi Inhibisi menggunakan sampel berupa serum sehingga hasil hemaglutinasi yang dapat dibaca terlihat dengan jelas dan perlu penambahan RDE (*Reseptor Destroying Enzyme*) untuk menghilangkan substansi non spesifik dari sampel yang mampu mengaglutinasi eritrosit.

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa tidak ditemukan antibodi virus *Avian influenza* subtipe H5N1 dengan menggunakan serum dan plasma darah. Serta tidak ada perbedaan antibodi virus *Avian influenza* subtipe H5N1

dengan menggunakan serum maupun plasma darah pada pendonor di PMI Surabaya.

DAFTAR PUSTAKA

- AABB Interorganizational Task Force on pandemic Influenza and The Blood Supply, 2006. *Pandemic Influenza Planning, Efforts to Ensure a safe, Available Blood Supply*. <http://www.dhs.gov/interweb/assetlibrary/NRP FullText.pdf>.
- Dewi, Ary Ratna Susana. 2007. *Deteksi Virus Avian Influenza Subtipe H5 Pada kucing jalanan (Felis silvestris catus) di Wilayah Kota Bandung*. Surabaya. Universitas Airlangga.
- Fiqri, Anna Januar dkk. 2011. *Hasil Survey lansir Penyakit Avian Influenza di Kalimantan Tahun 2011*. Banjarbaru. Dilavet Volume 21 Nomor 4 Desember 2011
- Hewajuli, Dyah Ayu. 2008. *Karakterisasi dan Identifikasi Virus Avian Influenza (AI)*. Bogor. Departemen Virologi, Balai Besar Penelitian Veteriner.
- Hewajuli, Dyah Ayu. 2012. *Sirkulasi Virus Flu Burung Subtipe H5 pada Unggas di Jawa Barat, Banten, dan Jawa Timur Sepanjang Tahun 2008-2009*. Bogor. Departemen Virologi, Balai Besar Penelitian Veteriner.
- Kementerian Kesehatan RI. 2013. *Profil Kesehatan Indonesia 2012*. Jakarta. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
- Pratama, Junianto Wika Adi. 2012. *Identifikasi Virus Influenza subtipe H5 Pada Burung Puyuh Dalam Kasus Kematian Mendadak di Kabupaten Lamongan*. Surabaya. Universitas Airlangga.
- Radji M. 2006. *Avian Influenza A (H5N1) : Patogenesis, Pencegahan dan Penyebaran Pada Manusia*. Majalah Ilmu Kefarmasian Vol III No 2 hal 55-65.
- Sitepoe, Mangku. 2009. *Melawan Influenza A (H1N1)*. Jakarta : PT Grasindo.
- Woelansari, Evy Diah. 2009. *Survey serologis Antibodi Virus Avian influenza Subtipe H5N1 Pada Darah Donor Sehat (Healthy Blood Donor) Di Surabaya*. Surabaya. Universitas Airlangga.