

53

BMF

LAPORAN AKHIR PENELITIAN

IDENTIFIKASI *NON POLIO ENTERO VIRUS* (NPEV) DENGAN
UJI NETRALISASI DARI KASUS *ACUTE FLACCID*
PARALYSIS(AFP) DI LABORATORIUM POLIO PUSAT
PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN BIOMEDIS DAN FARMASI
TAHUN 2007

Sinta Purnamawati, SKM
NIP. 196803151990032001

Pusat Penelitian Biomedis dan Farmasi
Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
Departemen Kesehatan 2010

LAPORAN AKHIR PENELITIAN

**IDENTIFIKASI *NON POLIO ENTERO VIRUS* (NPEV) DENGAN
UJI NETRALISASI DARI KASUS *ACUTE FLACCID
PARALYSIS*(AFP) DI LABORATORIUM POLIO PUSAT
PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN BIOMEDIS DAN FARMASI
TAHUN 2007**

Sinta Purnamawati, SKM

NIP. 196803151990032001

**Pusat Penelitian Biomedis dan Farmasi
Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
Departemen Kesehatan 2010**

Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan

PERPUSTAKAAN

Tanggal : _____

No. Induk : _____

No. Klass : 53
K112



KEMENTERIAN KESEHATAN RI
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN

Jalan Percetakan Negara No. 29 Jakarta 10560 Kotak Pos 1226
Telepon: (021) 4261088 Faksimile: (021) 4243933
Email : sesban@litbang.depkes.go.id, Website: <http://www.litbang.depkes.go.id>

KEPUTUSAN
KEPALA BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
NOMOR : HK.03.05 / I / 3128 / 2010

TENTANG
PEMBENTUKAN TIM PELAKSANA
RISET PEMBINAAN (RISBIN) BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN
KESEHATAN KEMENTERIAN KESEHATAN RI TAHUN 2010

KEPALA BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN

- Menimbang** : a bahwa untuk melaksanakan kegiatan Riset Pembinaan (Risbin) Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan R.I Tahun 2010 perlu dibentuk Tim Pelaksana Riset Pembinaan (Risbin) pada masing-masing Satuan Kerja di lingkungan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan;
- b bahwa berdasarkan pertimbangan sebagaimana dimaksud pada huruf a maka dipandang perlu menetapkan Keputusan Kepala Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan tentang Pembentukan Tim Pelaksana Riset Pembinaan (Risbin);
- Mengingat** : 1. Undang-undang Nomor 36 Tahun 2009 tentang Kesehatan (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2009 Nomor 144, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 5063);
2. Undang-Undang Nomor 18 tahun 2002 tentang Sistem Nasional Penelitian, Pengembangan, Penerapan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2002 Nomor 84, Tambahan Lembaran



KEMENTERIAN KESEHATAN RI
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN

Jalan Percetakan Negara No. 29 Jakarta 10560 Kotak Pos 1226

Telepon: (021) 4261088 Faksimile: (021) 4243933

Email : sesban@litbang.depkes.go.id, Website: <http://www.litbang.depkes.go.id>

- KELIMA** : Biaya pelaksanaan kegiatan penelitian ini dibebankan pada Daftar Isian Penggunaan Anggaran Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Tahun 2010;
- KEENAM** : Keputusan ini mulai berlaku sejak tanggal ditetapkan sampai dengan bulan Desember 2010, dengan ketentuan apabila dikemudian hari ternyata terdapat kekeliruan dalam penetapan ini, akan diadakan perubahan dan perbaikan kembali sebagaimana mestinya.

Ditetapkan di Jakarta
Pada tanggal 22 April 2010

Kepala Badan Penelitian dan
Pengembangan Kesehatan



Prof. Dr. dr. Agus Purwadianto, SH., M.Si., SpF(K)
NIP. 19541109 198003 1 004



KEMENTERIAN KESEHATAN RI
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN

Jalan Percetakan Negara No. 29 Jakarta 10560 Kotak Pos 1226

Telepon: (021) 4261088 Faksimile: (021) 4243933

Email : sesban@litbang.depkes.go.id, Website: <http://www.litbang.depkes.go.id>

| | | | | |
|----|--|----------------|--|--|
| | Demam Berdarah Dengue (DBD) Berdasarkan Ketinggian Tempat di Kabupaten Ciamis , Jawa Barat Tahun 2010 | | 2. Roy Nusa RES, M.Si 3. Rina Marina, S.Si 4. Heru Prasetya, Amd | Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti Sekretariat |
| 12 | Investigasi Kontaminasi Bakteri Patogen Pada Makanan dan Minuman di Dalam dan di Luar Kantin Balitbangkes | Puslitbang BMF | 1. Sunarno, S.Kep, MSi.Med 2. Dr. Fitriana 3. Dr. Nelly Puspandari 4. Melatiwati, Amd | Ketua Pelaksana Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti Sekretariat |
| 13 | Identifikasi Non Polio Enterovirus (NPEV) dengan Uji Netralisasi dari Kasus Accute Flaccid Paralysis (AFP) di Laboratorium Polio Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Farmasi Tahun 2007 | Puslitbang BMF | 1. Sinta Purnamawati SKM 2. Dr. Herna 3. Rulina, S.Si 4. Budi Rahayu | Ketua Pelaksana Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti Sekretariat |

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan ke Hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan Ilham dan PetunjukNya sehingga penulisan laporan akhir penelitian ini dapat saya selesaikan sesuai dengan waktu yang direncanakan. Penelitian ini merupakan awal pembelajaran bagi saya untuk bisa mengembangkan kemampuan dalam melakukan penelitian dan penulisan karya ilmiah.

Saya mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu sejak penyusunan proposal, protokol penelitian dan selama penelitian berlangsung serta penyusunan laporan akhir penelitian .

Saya berdoa semoga Allah SWT selalu memberikan Karunia dan RahmatNya kepada semua pihak yang telah membantu dengan secara ikhlas didalam menyelesaikan penelitian ini. Aamiien

Akhirnya saya menyadari masih adanya kekurangan didalam penulisan laporan akhir penelitian ini. Dengan rendah hati saya menerima kritik dan saran yang sifatnya membangun. Dengan segala keterbatasan yang ada, saya berharap semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat.

Penulis

RINGKASAN EKSEKUTIF

Kasus *Acute Flaccid Paralysis* (AFP) adalah semua anak berusia kurang dari 15 tahun dengan kelumpuhan yang sifatnya flaccid (layuh) terjadi secara akut (mendadak) bukan disebabkan oleh ruda pakda. Pada pemeriksaan kasus *Acute Flaccid Paralysis* yang dilakukan di laboratorium Polio Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Farmasi tahun 2007 selain untuk menemukan virus polio juga untuk menemukan adanya Non Polio Enterovirus (NPEV). Infeksi yang disebabkan oleh NPEV bervariasi gejala klinisnya, dari asimtomatik sampai berat seperti gejala panas, timbul ruam, *herpangina*, konjungtivitis sampai dengan gejala keterlibatan sistem saraf pusat seperti meningitis aseptik dan ensefalitis sampai paralisis. Penelitian non polio enterovirus dilakukan dengan menilai tingkat sensitivitas sel *Rhabdomyosarcoma* (RD) yang digunakan sebagai media pembiakan virus, menilai viabilitas isolat NPEV setelah disimpan pada freezer selama 3 tahun dan mengidentifikasi serotipe dengan metode netralisasi antigen dan antibodi. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi serotipe NPEV yang masih bersirkulasi di Indonesia.

Penelitian ini merupakan investigasi laboratorium dengan menggunakan arsip isolat dari kasus AFP tahun 2007. Sampel adalah isolat penderita AFP non polio yang menunjukkan positif Cytopathic Effect (CPE). Jumlah sampel sebanyak 88 kasus. Uji sensitivitas sel RD dilakukan dengan menghitung titer virus standar polio tipe 1, tipe 2 dan tipe 3. Sedangkan viabilitas isolat dilakukan dengan melakukan inokulasi kembali pada sel RD.

Dari hasil pemeriksaan didapatkan bahwa sel RD yang digunakan sebagai media pembiakan virus masih sensitif. Penyimpanan selama 3 tahun menunjukkan virus yang masih bisa terdeteksi (*viable*) sebanyak 55,6 %. Dari uji netralisasi paling banyak ditemukan virus dengan serotipe Echovirus 30. Dari antisera yang digunakan ternyata juga didapatkan virus unidentified. Pemeriksaan teknik PCR bisa dilakukan mendeteksi virus yang unidentified.

ABSTRAK

Penyebab *Acute Flaccid Paralysis* (AFP) selain virus polio juga *Non Polio Enterovirus* (NPEV), oleh sebab itu pada tahun 2010 telah dilakukan Identifikasi NPEV dari sampel kasus AFP tahun 2007.

Non Polio Enterovirus (terdiri dari empat kelompok yaitu virus polio, *coxsackie A*, *coxsackie B* dan *Echovirus*) telah menyebabkan wabah di beberapa negara tetangga dekat Indonesia seperti Malaysia, Singapura, Taiwan dan Australia. Selain itu beberapa spesies enterovirus juga dituding sebagai penyebab *Hand, Foot and Mouth Disease* (HFMD) antara lain *Coxsackie A16*, HEV-71, *Echo 6*, dan *Echo 4*. Dilaporkan bahwa beberapa virus ini tetap bersirkulasi sepanjang tahun walaupun tidak menimbulkan penyakit yang berat.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengidentifikasi serotipe NPEV dari isolat AFP yang tersimpan di Laboratorium Polio Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Farmasi tahun 2007.

Penelitian ini merupakan investigasi laboratorium. Sebagai sampel adalah arsip isolat NPEV dari kasus AFP tahun 2007 . Pemeriksaan dilakukan di Lab.Polio . Metode pemeriksaan dilakukan dengan uji netralisasi menggunakan antisera Enterovirus untuk mengetahui serotipe virus.

Dari hasil penelitian didapatkan enterovirus yang paling banyak ditemukan adalah virus dengan serotipe Echo 30.

Kata kunci : *Acute Flaccid Paralysis* (AFP)

SUSUNAN TIM PENELITI

| No | Nama | Keahlian/Kesarjanaan | Kedudukan dalam Tim | Uraian Tugas |
|----|------------------------|------------------------------|---------------------|---|
| 1 | Sinta Purnamawati, SKM | Sarjana Kesehatan Masyarakat | Ketua Pelaksana | Bertanggung jawab atas pembuatan laporan, penggunaan dana, dan kelancaran penelitian. |
| 2 | Dr. Herna | Kedokteran umum | Pembantu Peneliti | Bertanggung jawab dalam pemeriksaan lab. |
| 3 | Rulina | Sarjana Biologi | Pembantu Peneliti | Bertanggung jawab dalam data pemeriksaan lab. |
| 4 | Budi Rahayu | SMA | Administrasi | Keuangan dan administrasi penelitian |

DAFTAR ISI

| | Hal |
|---|-----|
| JUDUL | |
| SURAT KEPUTUSAN PENELITIAN | |
| KATA PENGANTAR | i |
| RINGKASAN EKSEKUTIF | ii |
| ABSTRAK | iii |
| SUSUNAN TIM PENELITI | iv |
| DAFTAR ISI | |
| I. PENDAHULUAN | 1 |
| II. TUJUAN | |
| 1. Tujuan Umum | 2 |
| 2. Tujuan Khusus | 2 |
| III. METODE | |
| 1. Kerangka konsep | 3 |
| 2. Tempat dan Waktu Penelitian | 3 |
| 3. Jenis Penelitian | 3 |
| 4. Disain Penelitian | 3 |
| 5. Populasi dan Sampel | 3 |
| 6. Cara Pemilihan dan Estimasi sampel | 4 |
| 7. Kriteria Inklusi dan Eksklusi Sampel | 4 |
| 8. Variabel | 4 |
| 9. Instrumen dan Cara Pengumpulan Data | 4 |
| 10. Bahan dan Prosedur Kerja | 4 |
| 11. Manajemen dan Analisis Data | 7 |
| 12. Definisi Operasional | 7 |
| IV. HASIL DAN PEMBAHASAN | 8 |
| V. KETERBATASAN | 14 |
| VI. KESIMPULAN DAN SARAN | 15 |
| VII UCAPAN TERIMA KASIH | 16 |
| VIII DAFTAR PUSTAKA | 17 |
| LAMPIRAN | |

I. PENDAHULUAN

Kasus *Acute Flaccid Paralysis* (AFP) adalah semua anak berusia kurang dari 15 tahun dengan kelumpuhan yang sifatnya *flaccid* (layuh), terjadi secara akut (mendadak), bukan disebabkan oleh ruda paksa. Kasus polio liar terakhir ditemukan pada tanggal 13 Maret 2005 di daerah Sukabumi. Kasus polio liar tersebut berkembang menjadi kejadian luar biasa (KLB) dimana pada kurun waktu tahun 2005 sampai awal tahun 2006 kasus polio berjumlah 305 orang. Namun sejak itu sampai sekarang tidak lagi ditemukan kasus polio liar¹.

Untuk membebaskan Indonesia dari penyakit poliomielitis, pemerintah Indonesia telah melaksanakan program Eradikasi Polio (ERAPO) yang terdiri dari pemberian imunisasi polio secara rutin, pemberian imunisasi tambahan pada anak balita, surveilans *Acute Flaccid Paralysis* (AFP) dan pengamanan virus polio di laboratorium (*Laboratory Containment*). Pada pemeriksaan spesimen kasus AFP selain virus polio juga dapat ditemukan *non polio entero virus* (NPEV).

Infeksi yang disebabkan oleh NPEV bervariasi gejala klinisnya. Walaupun biasanya infeksi oleh NPEV berupa penyakit dengan gejala yang ringan bahkan asimtomatik (tanpa gejala) sampai berat seperti gejala panas, timbul ruam, herpangina, konjungtivitis sampai dengan gejala keterlibatan sistem saraf pusat mulai dari meningitis aseptik dan ensefalitis sampai paralisis. Bahkan pada pasien imunodefisiensi bisa terjadi meningitis kronik sampai meningoensefalitis kronik. *Enterovirus* merupakan salah satu penyebab tersering terjadinya meningitis aseptik yang disebabkan oleh virus selain virus HIV, virus Herpes, virus *Mumps* dan *Adenovirus*.

Non Polio Entero Virus sekarang menjadi perhatian dunia karena ternyata NPEV telah menyebabkan wabah di beberapa negara tetangga dekat Indonesia seperti Malaysia, Singapura, Taiwan dan Australia. Salah satu spesies *Enterovirus* dinyatakan menjadi penyebab utama terjadinya wabah yang tidak sedikit merenggut nyawa manusia yaitu *Human Enterovirus 71* (HEV-71) yang dikaitkan dengan terjadinya meningitis aseptik, *brain stem encephalitis* dan *polio like illness*. Selain itu beberapa spesies *enterovirus* juga dituding sebagai penyebab *Hand, Foot and Mouth Disease* (HFMD) yaitu antara lain *Coxsackie A16*, HEV-71, Echo 6, dan Echo 4.^{2,3,4,5,6} Dilaporkan bahwa virus-virus ini tetap bersirkulasi

sepanjang tahun walaupun tidak menimbulkan penyakit yang berat. Penyebab kematian secara langsung selama ini diakibatkan oleh gagal jantung dan Edema Pulmoner yang diasosiasikan karena adanya kerusakan pada batang otak pasien yang disebabkan oleh salah satu virus tersebut.⁷

Selama ini data yang berkaitan dengan NPEV masih sangat terbatas sehingga tidak ada data yang dapat menggambarkan tentang serotipe NPEV yang bersirkulasi di Indonesia dan akibat infeksi yang ditimbulkan olehnya. Bervariasinya gejala klinis mulai dari yang ringan sampai dengan yang berat mengaburkan diagnosis klinis.

Identifikasi serotipe enterovirus yang didapatkan dari isolat NPEV yang berasal dari kasus AFP dilakukan untuk menyediakan informasi tentang serotipe NPEV yang bersirkulasi di Indonesia dan menjadi dasar untuk membuat pemetaan NPEV serta surveilans NPEV di Indonesia.

II. TUJUAN

1. Tujuan Umum

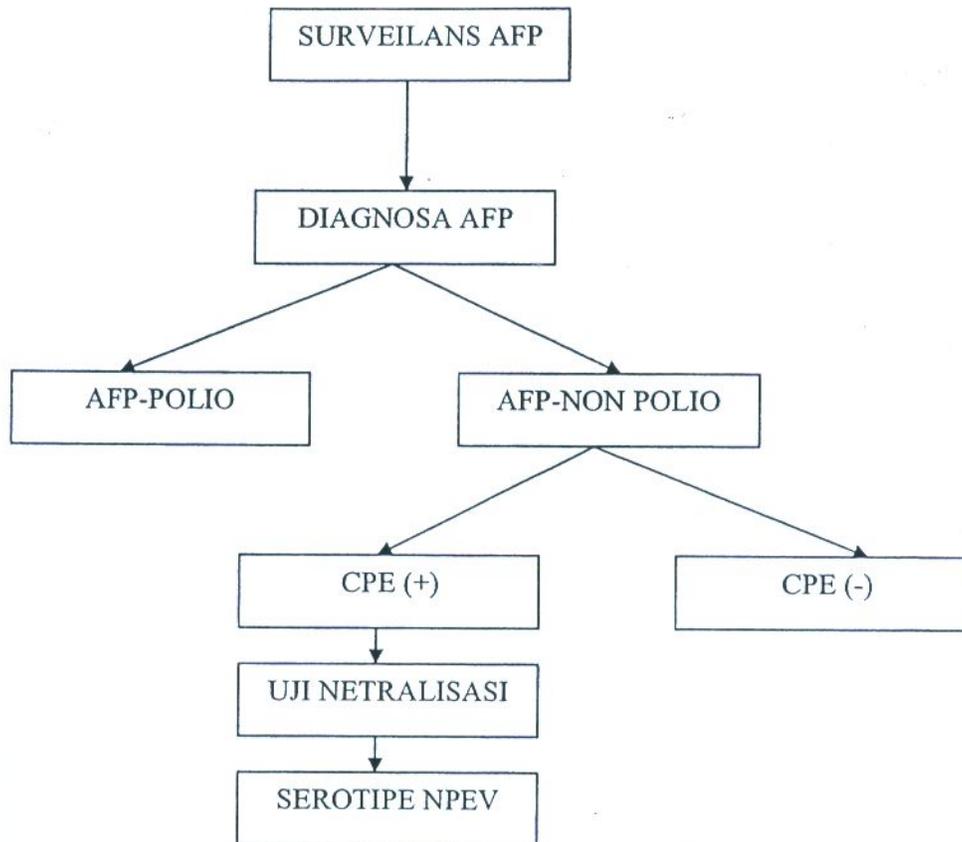
Mengidentifikasi serotipe NPEV dari isolat AFP yang tersimpan di Laboratorium Polio Pusat Penelitian dan Pengembangan kesehatan Biomedis dan Farmasi.

2. Tujuan Khusus

- a. Menilai tingkat sensitivitas sel Rhabdomyosarcoma (RD) yang digunakan sebagai media pembiakan virus
- b. Menilai viabilitas isolat NPEV setelah disimpan pada freezer dengan suhu -20°C selama 3 tahun
- c. Mengidentifikasi serotipe NPEV

III. METODE PENELITIAN.

1. Kerangka Konsep



2. Tempat dan waktu Penelitian :

Laboratorium Polio Puslitbang Biomedis dan Farmasi Badan Litbang Kesehatan, Departemen Kesehatan RI, dilakukan bulan April-November 2010 (8 bulan).

3. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian Laboratorium terapan dengan menggunakan arsip isolat sampel dari kasus AFP tahun 2007

4. Desain Penelitian

Penelitian ini adalah merupakan investigasi laboratorium.

5. Populasi dan Sampel

Populasi adalah seluruh spesimen penderita kasus diagnosa AFP (AFP-Polio dan AFP- Non Polio) yang diterima laboratorium pada tahun 2007.

Sampel adalah spesimen penderita AFP non polio yang menunjukkan positif CPE yang diterima laboratorium pada tahun 2007 yang berupa isolat. Jumlah isolat sebanyak 151 yang berasal dari 88 kasus. Untuk setiap 1 kasus AFP biasanya sampel yang dikirim sebanyak 2 sampel, namun ada beberapa kasus yang hanya mengirim 1 sampel saja dikarenakan petugas kesulitan saat pengambilan sampel kedua atau pasien sudah meninggal atau pindah tempat.

6. Cara Pemilihan dan Estimasi Sampel

Pemeriksaan dilakukan terhadap semua arsip isolat dari penderita AFP non polio tahun 2007.

7. Kriteria inklusi dan eksklusi

Kriteria inklusi : spesimen AFP dengan positif NPEV

Kriteria eksklusi : Spesimen isolat dengan titer rendah setelah dilakukan pasase

8. Variabel

Variabel terikat: hasil uji Netralisasi

Variabel bebas: hasil isolasi sampel pada sel hidup/ *tissue culture* dengan menggunakan sel *Rhabdomyosarcoma* (RD).

9. Instrumen dan cara pengumpulan data

Data dikumpulkan dengan cara pemeriksaan sampel arsip isolat tahun 2007 dengan teknik inokulasi virus dalam sel kultur lalu dilakukan pengamatan sel yang telah ditanam virus. Setelah ditemukan adanya kerusakan sel/ *Cytopathic Effect* (CPE) kemudian dilakukan pemeriksaan uji Netralisasi dengan menggunakan antisera *Enterotyping* terhadap isolat yang tumbuh. Alat-alat yang digunakan adalah mikroskop *inverted*, inkubator, antisera *Enterotyping*, sel *Rhabdomyosarcoma* (RD),

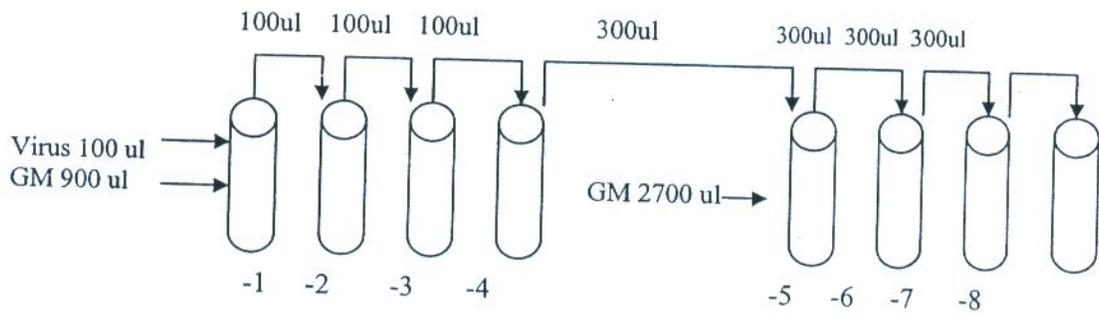
10. Bahan dan Prosedur Kerja

Bahan penelitian adalah arsip isolat tahun 2007 yang diduga NPEV, antisera *enterotyping*, suspensi sel RD, media pertumbuhan mengandung Foetal Bovine Serum (FBS) 10% (*growth medium*), media pemeliharaan mengandung FBS 2% (*maintenance medium*). Stock virus Polio tipe 1, tipe 2 dan tipe 3 (in house reference).

10.1 Uji Sensitivitas sel

Prosedur :

1. Cairkan virus P1, P2 dan P3 (in house reference) yang akan dilakukan tes dan shaker
2. Siapkan 8 vial dan beri nomor sesuai dengan pengenceran (-1, -2, -3, -4, -5, -6, -7,-8)
3. Isi medium 0,9 ml ke dalam vial 1 sampai vial 4 dan 2,7 ml untuk vial 5 sampai vial 8
4. Ambil suspensi virus P1 sebanyak 100 ul masukkan ke vial 1 Lakukan pengenceran seperti gambar di bawah ini, tiap pengenceran ganti tip dengan yang baru



5. Siapkan suspensi sel RD dengan jumlah $1.5 \times 10^{-5}/ml$
6. Ambil plate dan beri nomor, nama sel dan tanggal pada bagian bawah dan tutup plate
7. Masukkan suspensi virus pengenceran -5 ke dalam 20 tabung (lihat gambar) masing-masing sebanyak 100 ul (kekanan). Lakukan hal yang sama terhadap pengenceran -6, -7 dan -8.

→

| | CC | | | | | | | | | | | |
|-----------|----|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| 10^{-5} | | | | | | | | | | | | |
| 10^{-5} | | | | | | | | | | | | |
| 10^{-6} | | | | | | | | | | | | |
| 10^{-6} | | | | | | | | | | | | |
| 10^{-7} | | | | | | | | | | | | |
| 10^{-7} | | | | | | | | | | | | |
| 10^{-8} | | | | | | | | | | | | |
| 10^{-8} | | | | | | | | | | | | |

8. Untuk cell control masukkan medium 100 ul ,tambahkan suspensi sel masing-masing sebanyak 100 ul terhadap semua lubang.
9. Masukkan plate tersebut dalam incubator $37^{\circ}C$ amati selama 7 hari. Catat ke dalam worksheet.
10. Lakukan hal yang sama terhadap virus P2 dan P3 (mulai langkah 2 sampai 9)

11. Hitung jumlah well yang positif CPE berdasarkan masing-masing pengenceran dan hitung sensitivitas sel berdasarkan formula karber

$$\text{Log TCID}_{50} = 1 - d (E - 0.5)$$

- l** : Pengenceran terendah yang digunakan
d : Perbedaan log pengenceran (1)
E : Jumlah CPE Positif

Untuk uji sensitivitas ini kisaran titer yang dapat diterima yaitu polio tipe 1 (sebesar 6,7-7,7), polio tipe 2 (sebesar 6,6-7,6) dan tipe 3 (sebesar 6,3-7,23)

10.2 Inokulasi

- Siapkan tabung yang berisi sel RD yang sudah monolayer
- Beri nomor sesuai nomor isolat (1 isolat menggunakan 2 tabung sel RD)
- Isolat yang diduga NPEV diambil sebanyak 0,4 ml dengan menggunakan pipet
- Masukkan masing-masing ke tabung yang berisi sel RD sebanyak 0,2 ml
- Inkubasi pada suhu 36⁰ C
- Amati tabung tersebut dibawah mikroskop *inverted* selama 5 hari
- Jika terjadi kerusakan sel /cytopathic effect (cpe) sebanyak 75 -100% , simpan tabung tersebut dalam freezer untuk dilakukan tes netralisasi.
- Sebagai kontrol sel gunakan tabung yang tidak ditambahkan isolat.
- Jika pada hari terakhir pengamatan masih menunjukkan positif lemah atau negatif lakukan pasase lagi .

10.3 Tes Netralisasi

- Antisera dan isolat yang masih dalam keadaan beku dicairkan pada suhu kamar.
- Siapkan plate dan beri nomor pada bagian bawah dan tutup plate. Mis : no sampel dan tanggal.
- Buat pengenceran isolat dengan media pemeliharaan 10⁻² dan 10⁻³.
- Masukkan antisera enterotyping pada lubang plate sebanyak 50 ul .
- Tambahkan isolat yang sudah di encerkan, tutup plate dan goyangkan plate perlahan-lahan agar tercampur.
- Inkubasi selama 90 menit pada suhu 36⁰ C.
- Siapkan suspensi sel RD

- h. Setelah selesai inkubasi tambahkan suspensi sel RD sebanyak 100 ul kedalam campuran tersebut. Beri sealer dan tutup plate
- i. Masukkan inkubator.
- j. Amati plate tiap hari selama 3 hari.
- k. Untuk kontrol digunakan sel kontrol dan virus kontrol
- l. Interpretasi hasil sesuaikan dengan pola tabel enterovirus.

11. Manajemen dan Analisis Data

Hasil Netralisasi akan dipaparkan secara deskriptif

12. Definisi operasional.

Kasus AFP : Semua anak berusia kurang dari 15 tahun dengan kelumpuhan yang sifatnya flaccid (layuh), terjadi secara akut (mendadak), bukan disebabkan oleh ruda paksa. Dilakukan pengambilan 2 sampel tinja dengan tenggang waktu pengambilan antara sampel pertama dan kedua minimal 24 jam. Pengambilan 2 sampel diupayakan dalam kurun waktu 14 hari pertama setelah kelumpuhan.

Isolat: hasil dari pertumbuhan virus pada sel kultur yang telah menunjukkan adanya CPE

Sel RD : cell line derived from human rhabdomyosarcoma (suatu media kultur tempat tumbuhnya virus)

Netralisasi : Suatu teknik pemeriksaan dengan menggunakan prinsip reaksi antigen (isolat) dan antibodi (antisera enterotyping), apabila tidak timbul CPE maka terjadi kesesuaian antara isolat tersebut dengan antisera .

Inokulasi: Suatu teknik penanaman/perkembangbiakkan Virus pada sel kultur

Pasase : proses inokulasi ulang dengan tujuan untuk mendapatkan titer/konsentrasi virus yang tinggi

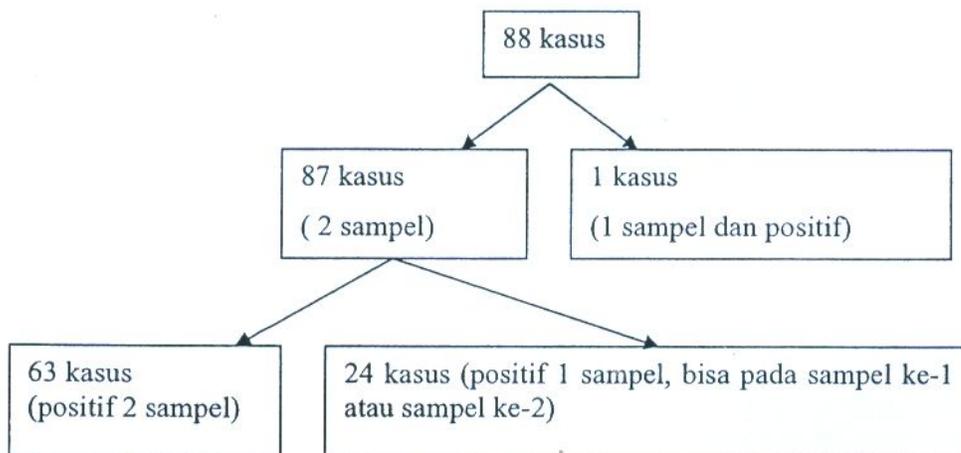
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Untuk menilai tingkat sensitivitas sel Rhabdomyosarcoma (RD) yang digunakan sebagai media pembiakan virus telah dilakukan uji sensitivitas sel. Dengan menggunakan virus standar Polio tipe 1, tipe 2 dan tipe 3.

Dalam hal ini WHO telah merekomendasikan bahwa perlunya dilakukan uji sensitivitas cell line dengan tujuan sebagai monitoring rutin dari sensitivitas cell lines yang digunakan dalam isolasi virus, yang merupakan komponen utama pada program quality assurance laboratorium.

Hasil yang ditemukan yaitu untuk titer Polio tipe 1 sebesar $10^{7,15}$, sedangkan tipe 2 sebesar $10^{7,0}$ dan tipe 3 sebesar $10^{6,8}$. Hasil ini masih berada dalam kisaran titer yang dapat diterima yaitu untuk polio tipe 1 (6,7-7,7), polio tipe 2 (6,6-7,6) dan tipe 3 (6,3-7,23).¹² Dalam hal ini dapat dikatakan bahwa sel RD yang digunakan masih sensitiv.

Selama tahun 2007 ditemukan sebanyak 151 sampel yang positif NPEV berasal dari 88 kasus AFP, dimana 63 kasus kedua sampelnya positif NPEV dan sebanyak 25 kasus yang hanya satu sampel yang positif NPEV. Dari jumlah tersebut dapat diuraikan sebagai berikut :



Dari 88 kasus ini terdapat 24 kasus dengan sampel berpasangan (sampel ke -1 dan ke-2) namun ditemukan NPEV pada salah satu pasangan tersebut. Selain itu ada 1 kasus yang hanya mengirim 1 sampel dimana ditemukan NPEV pada sampel tersebut. Hal ini kemungkinan terjadi karena kondisi pasien yang sulit untuk diambil sampel ke-2 nya, selain itu pada saat pengambilan sampel ke-2, pasien

sudah meninggal atau pindah tempat. Sedangkan dari 63 kasus yang mengirim sampel berpasangan ditemukan NPEV di masing-masing sampel berpasangan tersebut. Dari sampel berpasangan ini ditemukan type enterovirus yang sama antara sampel ke- 1 dan sampel ke- 2.

Tabel 1. Distribusi karakteristik Sampel yang positif mengandung NPEV 2007

| No | Karakteristik | Jumlah (%) |
|----|----------------|------------|
| 1 | Jenis Kelamin: | |
| | a. Laki-laki | 56 (64) |
| | b. Perempuan | 32 (36) |
| 2 | Umur : | |
| | a. 0-4 tahun | 68 (77) |
| | b. 5-9 tahun | 16 (18) |
| | c. 10-14 tahun | 4 (5) |
| | Total | 88 kasus |

Dari tabel di atas tampak bahwa sampel yang mengandung positif NPEV ternyata banyak ditemukan pada jenis kelamin laki-laki (64%).

Tabel 2. Distribusi NPEV dari kasus AFP tahun 2007

| No. | Serotipe virus | Jumlah kasus (%) |
|-----|-----------------------|------------------|
| 1 | Echo 1 | 3 (3) |
| 2 | Echo 3 | 1 (1) |
| 3 | Echo 4 | 3 (3) |
| 4 | Echo 6 | 2 (2) |
| 5 | Echo 7 | 1 (1) |
| 6 | Echo 11 | 3 (3) |
| 7 | Echo 12 | 1 (1) |
| 8 | Echo 13 | 2 (2) |
| 9 | Echo 20 | 1 (1) |
| 10 | Echo 25 | 5 (6) |
| 11 | Echo 30 | 13 (15) |
| 12 | Coxsackie B | 2 (2) |
| 13 | Tidak teridentifikasi | 8 (9) |
| 14 | Negatif | 39 (44) |
| 15 | Virus titer rendah | 4 (4) |
| | Total | 88 kasus |

Tabel 3. Distribusi NPEV dimana ditemukan tipe enterovirus yang sama antara sampel ke-1 dan sampel ke-2 (berasal dari 63 kasus)

| No. | Serotipe virus | Jumlah kasus (%) |
|-----|-----------------------|------------------|
| 1 | Echo 1 | 3 (4,7) |
| 2 | Echo 3 | 1 (1,5) |
| 3 | Echo 4 | 2 (3) |
| 4 | Echo 6 | 2 (3) |
| 5 | Echo 7 | 0 (0) |
| 6 | Echo 11 | 1 (1,5) |
| 7 | Echo 12 | 0 (0) |
| 8 | Echo 13 | 2 (3) |
| 9 | Echo 20 | 1 (1,5) |
| 10 | Echo 25 | 5 (7,9) |
| 11 | Echo 30 | 10 (15,8) |
| 12 | Coxsackie B | 1 (1,5) |
| 13 | Tidak teridentifikasi | 6 (9,5) |
| 14 | Negatif | 26 (41,3) |
| 15 | Virus titer rendah | 3 (4,7) |
| | Total | 63 kasus |

Tabel 4. Distribusi NPEV yang hanya ditemukan 1 sampel yang positif NPEV (berasal dari 25 kasus)

| No. | Serotipe virus | Jumlah kasus (%) |
|-----|-----------------------|------------------|
| 1 | Echo 1 | 0 (0) |
| 2 | Echo 3 | 0 (0) |
| 3 | Echo 4 | 1 (4) |
| 4 | Echo 6 | 0 (0) |
| 5 | Echo 7 | 1 (4) |
| 6 | Echo 11 | 2 (8) |
| 7 | Echo 12 | 1(4) |
| 8 | Echo 13 | 0 (0) |
| 9 | Echo 20 | 0 (0) |
| 10 | Echo 25 | 0 (0) |
| 11 | Echo 30 | 3 (12) |
| 12 | Coxsackie B | 1 (4) |
| 13 | Tidak teridentifikasi | 2 (8) |
| 14 | Negatif | 13 (52) |
| 15 | Virus titer rendah | 1 (4) |
| | Total | 25 kasus |

Dari tabel 2, 3 dan 4 terlihat bahwa serotipe yang paling banyak ditemukan yaitu Echovirus 30.

Tabel 5. Hasil Inokulasi Kembali Setelah Penyimpanan Pada Suhu - 20 ° C

| No | Hasil Inokulasi | Jumlah (%) |
|----|---------------------------|------------|
| 1 | Virus dengan titer tinggi | 45 (51,1) |
| 2 | Virus dengan titer rendah | 4 (4,5) |
| 3 | Negatif | 39 (44,3) |
| | Total | 88 kasus |

Dari tabel di atas setelah dilakukan inokulasi kembali dari sampel yang mengandung NPEV ditemukan virus yang masih bisa terdeteksi (*viable*) sebanyak 55.6 %. Dari jumlah tersebut hanya 51,1 % (45 kasus) yang bisa dilanjutkan dengan uji netralisasi karena mempunyai konsentrasi/titer virus yang tinggi. Virus dengan titer tinggi adalah virus yang setelah dilakukan pasase menunjukkan positif 4 CPE selama observasi (5 hari). Sedangkan virus dengan kategori titer rendah adalah yang menunjukkan positif 1 CPE selama observasi. Dalam hal ini sampel yang mempunyai titer rendah tidak dapat dilanjutkan dengan uji netralisasi, karena titer yang dibutuhkan untuk tes ini mengandung 10^5 - 10^6 CCID₅₀/50 ul yang berasal dari positif 3 sampai 4 CPE .¹²

Tabel 6. Hasil Netralisasi dari virus dengan titer tinggi (n =45 kasus)

| No. | Serotipe virus | Jumlah (%) |
|-----|-----------------------|------------|
| 1 | Echo 1 | 3 (6,6) |
| 2 | Echo 3 | 1 (2,2) |
| 3 | Echo 4 | 3 (6,6) |
| 4 | Echo 6 | 2 (4,4) |
| 5 | Echo 7 | 1 (2,2) |
| 6 | Echo 11 | 3 (6,6) |
| 7 | Echo 12 | 1 (2,2) |
| 8 | Echo 13 | 2 (4,4) |
| 9 | Echo 20 | 1 (2,2) |
| 10 | Echo 25 | 5 (11) |
| 11 | Echo 30 | 13 (28,9) |
| 12 | Coxsackie B | 2 (4,4) |
| 13 | Tidak teridentifikasi | 8 (17,7) |
| | Total | 45 |

Berdasarkan hasil tes Netralisasi tampak bahwa Non Polio Entero virus disebabkan oleh Echovirus yang bervariasi serotipenya. Echovirus 30 ternyata mendominasi serotipe NPEV sebanyak 28,9 %, diikuti Echovirus 25,11, 4 dan 1.

Hal ini sesuai dengan studi yang dilakukan oleh Stefania M et al 2002 di Italia dimana serotipe Enterovirus yang paling sering ditemukan adalah Echovirus 30. Sedangkan menurut penelitian yang dilakukan oleh Krisnanur AP di daerah Jawa Barat tahun 2006 menyatakan bahwa jenis enterovirus yang banyak ditemukan adalah Echovirus 20 (16,7%).

Tabel 7. Distribusi NPEV berdasarkan umur

| No. | Serotipe virus | Umur 0-4 thn (n=68) Jumlah (%) | Umur 5-14 thn (n=20) Jumlah (%) |
|-----|-----------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|
| 1 | Echo 1 | 3 (4) | 0 (0) |
| 2 | Echo 3 | 0 (0) | 1 (5) |
| 3 | Echo 4 | 2 (3) | 1 (5) |
| 4 | Echo 6 | 2 (3) | 0 (0) |
| 5 | Echo 7 | 0 (0) | 1 (5) |
| 6 | Echo 11 | 1 (1) | 2 (10) |
| 7 | Echo 12 | 1 (1) | 0 (0) |
| 8 | Echo 13 | 0 (0) | 2 (10) |
| 9 | Echo 20 | 1 (1) | 0 (0) |
| 10 | Echo 25 | 4 (6) | 1 (5) |
| 11 | Echo 30 | 9 (13) | 4 (20) |
| 12 | Coxsackie B | 2 (3) | 0 (0) |
| 13 | Tidak teridentifikasi | 7 (10) | 1 (5) |
| 14 | Negatif | 33 (49) | 6 (30) |
| 15 | Virus titer rendah | 3 (4) | 1 (5) |
| | Total | 68 kasus | 20 kasus |

Dari tabel di atas tampak bahwa distribusi NPEV berdasarkan umur, ternyata antara yang berumur 0-4 tahun dan 5-14 tahun ditemukan persentase yang terbanyak yaitu pada tipe Echovirus 30.

Tabel 8. Distribusi NPEV Berdasarkan Daerah Asal Kasus (n=88 kasus)

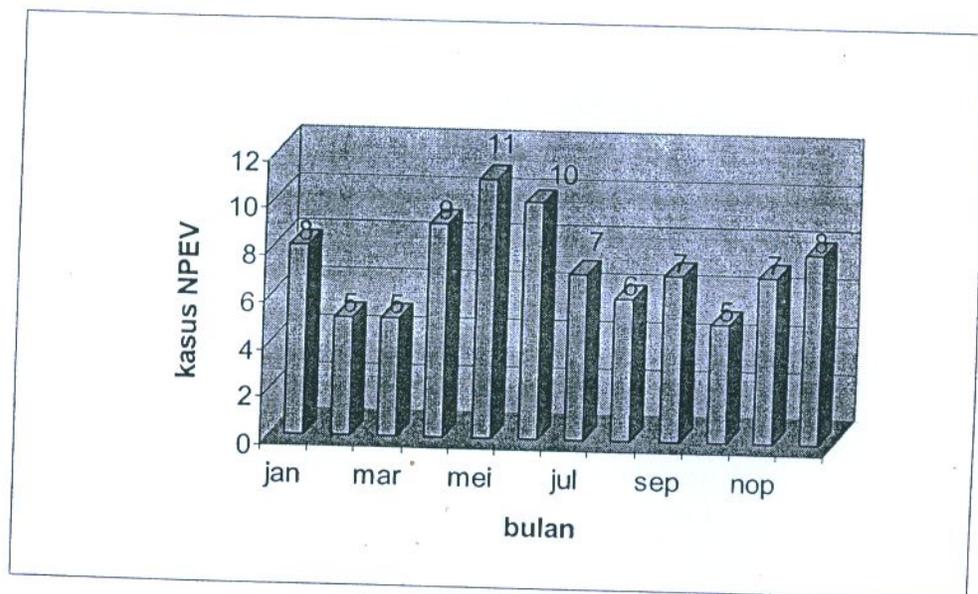
| No. | Daerah Asal | Jumlah NPEV (%) |
|-----|-------------|-----------------|
| 1 | Sumut | 18 (20) |
| 2 | Lampung | 8 (9) |
| 3 | Jakarta | 7 (8) |
| 4 | Serang | 9 (10) |
| 5 | Aceh | 11 (12) |
| 6 | Kalteng | 2 (2) |
| 7 | Riau | 5 (6) |

| | | |
|----|----------|----------|
| 8 | Kalsel | 3 (3) |
| 9 | Jambi | 2 (2) |
| 10 | Sumsel | 13 (14) |
| 11 | Kaltim | 1 (1) |
| 12 | Sumbar | 3 (3) |
| 13 | Bengkulu | 1 (1) |
| 14 | Kalbar | 1 (1) |
| 15 | Kepri | 2 (2) |
| 16 | Bangka | 2 (2) |
| | Total | 88 (100) |

Data pada tabel 7 menyatakan bahwa daerah asal kasus NPEV terjadi perbedaan dominasi strain antara satu daerah dengan daerah lain. Hal ini merupakan hal yang biasa, menurut Muir et al 1998 menyatakan bahwa Enterovirus sendiri tersebar amat luas di dunia, beberapa serotipe mungkin lebih endemis di suatu daerah namun mungkin jenis serotipe lain yang lebih endemis di daerah lain.

Hal yang sama juga ditemukan pada penelitian yang dilakukan oleh Mohammad Kargar dkk, mengenai surveilance lingkungan dari NPEV ditemukan Echo 11 (31.52%) , Coxs B (27.58%), Echo 7 (17.73%) dan Echo 4 (21.67%).

Gambar 1. Distribusi NPEV per bulan tahun 2007



Dari gambar di atas terlihat sebaran NPEV tertinggi pada bulan Mei sebanyak 11 kasus.

V. KETERBATASAN

Mengingat adanya beberapa virus yang tidak teridentifikasi setelah melalui uji netralisasi menggunakan antisera Entero maka diperlukan pemeriksaan lebih lanjut dengan menggunakan teknik PCR untuk dapat mendeteksi virus tersebut. Selain itu teknik PCR juga dapat mendeteksi virus dengan titer rendah. Hal ini disebabkan antisera yang ada tidak dapat memeriksa semua jenis enterovirus seperti Coxsackie A16, Enterovirus 70, Enterovirus 71. Sedangkan untuk sampel yang dinyatakan negatif setelah dilakukan inokulasi ini kemungkinan disebabkan adanya pengaruh perubahan suhu penyimpanan akibat adanya gangguan listrik selain itu juga tergantung pada titer virus pada saat penyimpanan. Meskipun viabilitas yang ditemukan 55.6% namun hanya 51.1% yang masih bisa dilakukan uji netralisasi.

VI. KESIMPULAN DAN SARAN

1. Kesimpulan

Dari penelitian ini didapatkan bahwa :

Viabilitas isolat dari kasus AFP setelah 3 tahun penyimpanan sebesar 55,6 % dan non polio entero virus yang paling banyak ditemukan/dominan adalah serotipe Echo 30.

2. Saran

Pemeriksaan dengan teknik PCR diperlukan untuk menunjang hasil yang lebih baik.

VII. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih saya sampaikan kepada :

1. Drs. Ondri Dwi Sampurno, MSi, Apt., Kepala Puslitbang Biomedis Dan Farmasi yang telah memberikan persetujuan untuk melakukan penelitian.
2. dr. Emiliana Tjitra MSc, PhD. sebagai reviewer yang telah mendampingi saya ketika pembuatan protokol, analisis dan penulisan pelaporan .
3. drg. Sekartuti MKes. sebagai reviewer yang juga telah memberi masukan , pengarahan selama proses pembuatan protokol, analisis dan penulisan pelaporan.
4. drh. Gendro Wahyuhono, MTH yang telah memberikan ijin penggunaan arsip isolat sebagai sampel penelitian.
5. Semua pihak yang namanya tidak dapat saya sebutkan satu per satu.

VIII.DAFTAR KEPUSTAKAAN

1. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta,2007. Pedoman Surveilans Acute Flaccid Paralysis (Surveilans AFP) hal:2-7
2. Chan LG, et al. Death in Children During an Outbreak of Hand, Foot and Mouth Disease in Sarawak, Malaysia. *Clinical Infectious Disease* 2000;31: 678-83
3. McMinn P, et al. Neurological manifestations of Enterovirus 71 infection in Children During an Outbreak of Hand, Food anf Mouth Disease in Western Australia. *Clinical Infectious Disease* 2001;32:236-42
4. Lin TY, et al. The 1998 Enterovirus 71 Outbreak in Taiwan: Pathogenesis and Management. *Clinical Infectious Disease* 2002;34 (supp2):s52-57
5. Chan KP, et al. Epidemic Hand, Foot and Mouth Disease Caused by Enterovirus 71, Singapore. *Emerging Infectious Disease* 2003;9:78-85
6. Ooi MH, et al. Human Enterovirus 71 Disease in Sarawak, Malaysia:A Prospective Clinical, Virological and Molecular Epidemiology Study. *Clinical Infectious Disease* 2007;44:646-656
7. Mellisa Conrad, MD, Enterovirus, Available from: <http://www.cdc.gov/ncidod.pdf> diunduh 1 februari 2010.
8. Penyakit-penyakit infeksi Enterovirus termasuk Poliomyelitis.Available from:<http://www.fk.uwks.ac.id> diunduh 21 april 2010
9. PA.Krisnanur. Etiologi kasus AFP di Provinsi Jawa Barat 2006
10. Muir Peter, et al. Molecular Typing Of Enteroviruses :Current Status and Future Requirements. *Clinical Microbiology Reviews*, Jan.1998. p.202-227
11. Manzara Stefania, et al. Molecular Identification and Typing of Enteroviruses Isolated from Clinical Specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, Dec.2003,p.4554-4560
12. World Health Organization, Polio Laboratory Manual, 4 th edition, 2004,p 93-100
13. Kargar Mohammad, dkk , Environmental surveillance of non-polio enteroviruses in Iran. Available from: <http://www.virologyj.com/content/6/1/149> diunduh 22 Juli 2010

LAMPIRAN

1. Daftar Pola Serotipe Enterovirus Pada Tes Netralisasi

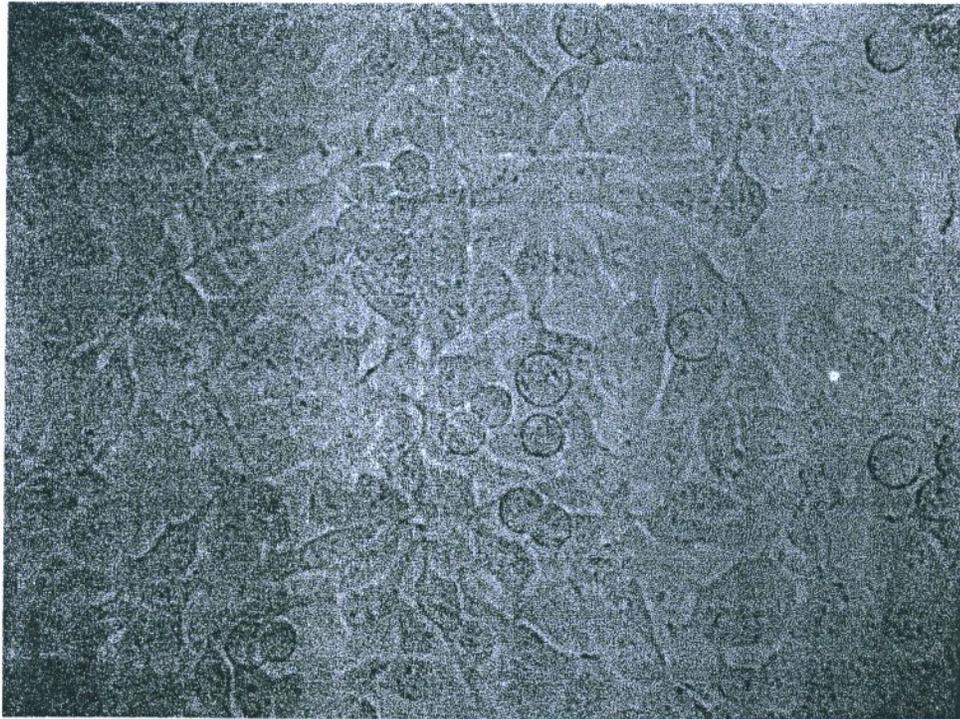
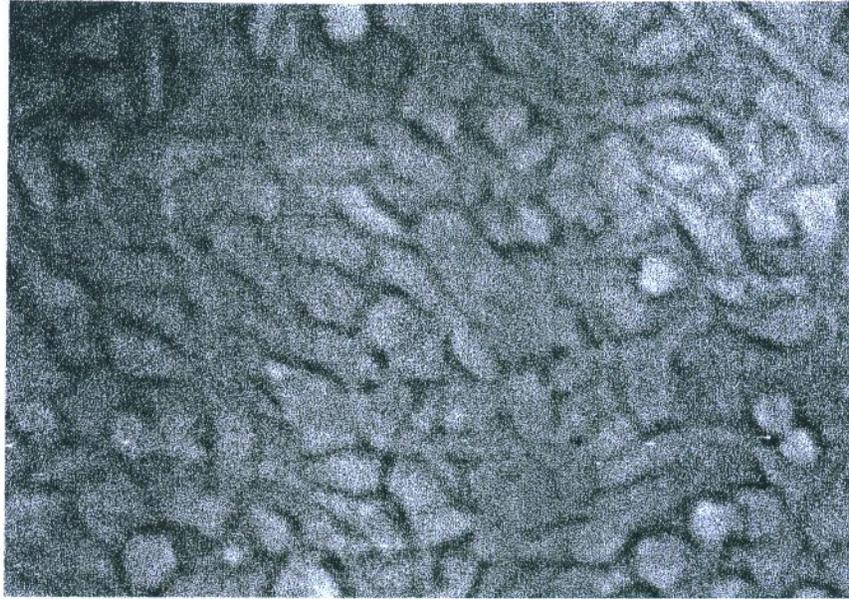
| Pattern | Virus | Homologous Nt-titers | Cross reaction |
|---------|------------------------|----------------------|---|
| AB | Echo 4 (Pemascek) | 10240-640 | Coxs B pool:20 |
| AC | Echo 7 | 10240-2560 | |
| AD | Echo 11 (60-3590) | 20480-2560 | |
| AE | Echo 14 | 10240-20480 | Pool G:20 |
| AF | Echo 9 (Heyer) | 1280-1280 | |
| AG | Echo 6 (dAmori) | 1280-10240 | |
| BC | Coxsackie A9 (60-3843) | 10240-320 | |
| BD | Echo 1 | 1280-10240 | Coxs B pool:20 |
| BE | Echo 27 | 10240-320 | Coxs B pool:20 |
| BF | Echo 3 | 5120-5120 | Pool G: trace |
| BG | Echo 25 | 5120 - >=10240 | Coxs B pool:40 |
| CD | Echo 21 | 1280-1280 | |
| CE | Echo 22 | 5120-640 | |
| CF | Echo 2 | 5120-2560 | Coxs B pool:20 Pool B:160, Pool G:20 |
| CG | Echo 5 | >=10240-1280 | Pool E:40 |
| DE | Echo 20 | 1280-5120 | Coxs B pool:320 |
| DF | Echo 12 | 1280-640 | Coxs B pool:20 |
| DG | Echo 30 | >=10240- >=10240 | |
| EF | Echo 33 | 80-320 | Coxs B Pool :20 |
| EG | Echo 28 (63-6771) | 80-2560 | Coxs B pool :20 |
| FG | Echo 13 | 1280-5120 | Pool B : trace |

2. SKEMA OBSERVASI

Tanggal tes :

| | | Cox B | A | B | C | D | E | F | G | Virus Cntr | Cell Cntr |
|-------|----------------|-------|---|---|---|---|---|---|---|------------|-----------|
| No :1 | Pengenceran -2 | | | | | | | | | | |
| | Pengenceran -3 | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | |
| No :2 | Pengenceran -2 | | | | | | | | | | |
| | Pengenceran -3 | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | |

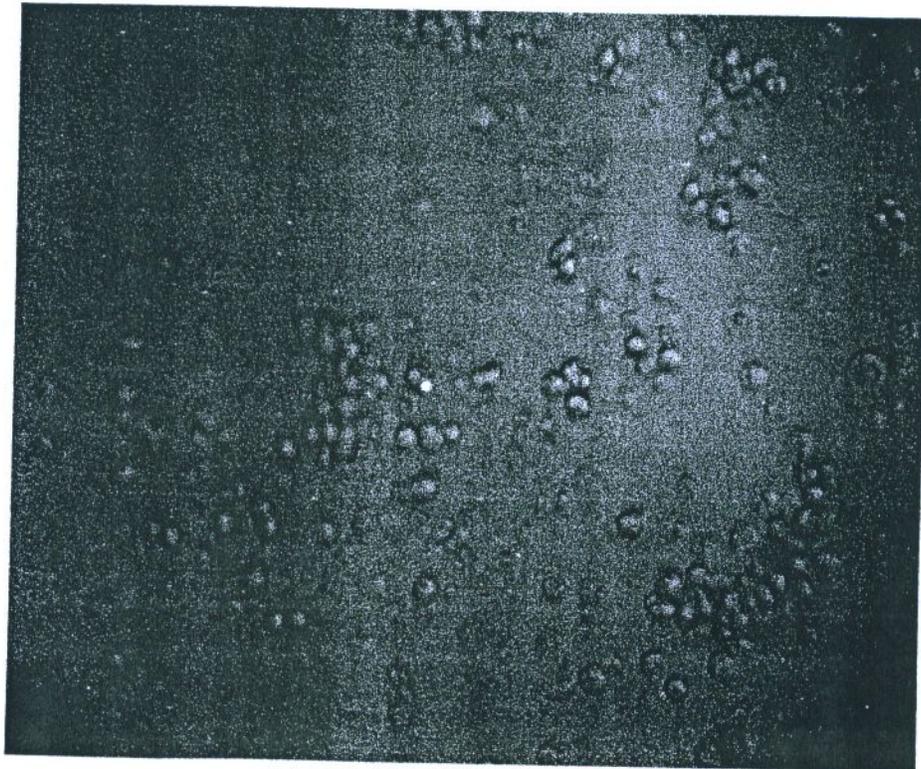
SEL RD NORMAL



SEL RD YANG MENGALAMI CYTOPHATIC EFFECT (CPE) 50 %



SEL RD YANG MENGALAMI CYTOPATHIC EFFECT (CPE) 100 %





KEMENTERIAN KESEHATAN
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN

Jalan Percetakan Negara No. 29 Jakarta 10560 Kotak Pos 1226

Telepon: (021) 4261088 Faksimile: (021) 4243933

E-mail: sesban@litbang.depkes.go.id, Website: <http://www.litbang.depkes.go.id>

PEMBEBASAN PERSETUJUAN ETIK (*EXEMPTED*)

Nomor : LB.03.02/KE/5223/2010

Yang bertanda tangan di bawah ini, Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan Badan Litbang Kesehatan, setelah dilaksanakan pembahasan dan penilaian, dengan ini memutuskan protokol penelitian yang berjudul :

"Identifikasi Non Polio Enterovirus (NPEV) dengan Uji Netralisasi dari Kasus Acute Flaccid Paralysis (AFP) di Laboratorium Polio Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Farmasi Tahun 2007"

dengan Ketua Pelaksana/Peneliti Utama: Sinta Purnamawati, SKM.

dapat dibebaskan dari keharusan memperoleh persetujuan etik (*Exempted*) untuk pelaksanaan penelitian tersebut. Pembebasan ini berlaku sejak dimulai dilaksanakannya penelitian tersebut di atas sampai dengan selesai sesuai yang tercantum dalam protokol.

Walapun demikian kami mengingatkan bahwa dalam pelaksanaan penelitian ini, peneliti tetap diminta untuk menjaga dan menghormati martabat manusia yang menjadi responden/informan dalam penelitian ini. Dengan demikian diharapkan masyarakat luas dapat memperoleh manfaat yang baik dari penelitian ini.

Pada akhir penelitian, laporan pelaksanaan penelitian harus diserahkan kepada KEPK-BPPK. Jika ada perubahan protokol dan / atau perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan kajian etik penelitian (amandemen protokol).

Jakarta, 30 Juni 2010

Ketua
Komisi Etik Penelitian Kesehatan
Badan Litbang Kesehatan,

Prof. Dr. M. Sudomo



KEMENTERIAN KESEHATAN RI
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN BIOMEDIS DAN FARMASI

Percetakan Negara No. 29 Jakarta 10560
Pos 1226 Jakarta 10012

Telepon (021) 4244375, 4259860, 4244693
Fax (021) 4245386, 4244693

Agustus 2010

Nomor :
Lampiran :
Perihal : Permohonan ijin penelitian

Yth. Penanggung jawab Lab. Polio

di Jakarta

Sehubungan dengan akan dilaksanakannya kegiatan penelitian dengan judul :
“ Identifikasi Non Polio Enterovirus (NPEV) dengan uji Netralisasi dari kasus Acute Flaccid Paralysis yang diterima Laboratorium Polio Puslitbang Biomedis dan Farmasi tahun 2007” oleh Puslitbang Biomedis dan Farmasi, Badan Litbang Kesehatan dengan Ketua Pelaksana : **Sinta Purnamawati**, dengan ini kami mohon ijin untuk dapat menggunakan sampel dari kasus AFP tahun 2007 sebagai subjek bahan penelitian kami, mulai Agustus 2010 sampai selesai.

Terkait kegiatan penelitian tersebut di atas kami telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan , Badan Litbang Kesehatan.

Atas perhatian dan kerjasama saudara diucapkan tarima kasih.

Ketua Pelaksana,

Sinta Purnamawati, SKM
NIP. 196803151990032001

Tembusan yth :
- Koordinator Lab. Virologi

See file
2/8/2010