

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

a. Data Kuesioner

Hasil penelitian diperoleh sampel serum dari kelompok orang beresiko rendah kontak dengan unggas sebanyak 45 orang. Adapun 45 orang tersebut memiliki karakteristik yang berbeda-beda, baik karakteristik responden, karakteristik paparan dengan unggas, karakteristik lingkungan, dan karakteristik gejala klinis.

1. Karakteristik Responden

Pada penelitian kali ini, peneliti membagi kelompok resiko rendah kontak dengan unggas sebagai berikut :

- a. Dokter Hewan.
- b. Tetangga dari peternak unggas.
- c. Konsumen yang memakan produk (daging dan telur) unggas.

Tabel 1. Kelompok Umur Responden.

KELOMPOK UMUR RESPONDEN					
17 - 39 TAHUN		40 - 62 TAHUN		63 - 85 TAHUN	
JUMLAH	%	JUMLAH	%	JUMLAH	%
23	51.11	20	44.44	2	4.44

Dari data di dapatkan kelompok umur 17-39 tahun sebagai persentase terbanyak yaitu 51,11%. Sedangkan kelompok umur 40-62 tahun sebagai

persentase kedua sebanyak 44,44% dan kelompok umur 63-85 tahun sebagai persentase terakhir sebanyak 4,44%.

Tabel 2. Kelompok Konsumsi Unggas dan Produknya dalam Seminggu.

KELOMPOK KONSUMSI UNGGAS DAN PRODUKNYA DALAM SEMINGGU							
TIDAK PERNAH		1-3 KALI		4-6 KALI		SETIAP HARI	
JUMLAH	%	JUMLAH	%	JUMLAH	%	JUMLAH	%
3	6,67	23	51,11	5	11,11	14	31,11

Pada kelompok konsumsi unggas dan produknya dalam seminggu diambil secara acak dengan syarat memenuhi karakteristik pencegahan terhadap resiko kontak dengan unggas yaitu mengkonsumsi dengan matang dan mencuci peralatan yang digunakan untuk memasak produk unggas dan tangan dengan sabun. Kelompok konsumsi paling banyak adalah 1-3 kali seminggu sebanyak 51,11%. Hal ini dikarenakan, peneliti melakukan penelitian di wilayah kecamatan dan desa dengan tingkat perekonomian yang rendah sehingga daya beli terhadap unggas dan produknya sangat terbatas. Sebagai persentase kedua adalah setiap hari sebanyak 31,11%. Diikuti 4-6 kali sebanyak 11,11% dan tidak pernah sebanyak 6,67%.

Tabel 3. Kelompok Tetangga Peternak Unggas.

KELOMPOK TETANGGA PETERNAK UNGGAS									
<1 TAHUN		2-5 TAHUN		6-10 TAHUN		11-15 TAHUN		>15 TAHUN	
JUMLAH	%	JUMLAH	%	JUMLAH	%	JUMLAH	%	JUMLAH	%
10	22,22	8	17,78	1	2,22	2	4,44	24	53,33

Pada kelompok tetangga peternak unggas yang diambil secara acak dengan persentase terbanyak adalah > 15 tahun sebanyak 53,33% karena sebagian besar responden adalah penduduk asli yang sudah tinggal di wilayah penelitian sejak lahir. Tingkat imunitas dari responden yang sudah lama tinggal di wilayah dengan unggas diharapkan lebih tinggi dengan asumsi sudah terbentuk imunoglobulin yang lebih tinggi dibandingkan responden dengan waktu tinggal di wilayah peternakan unggas yang lebih rendah yaitu < 1 tahun sebanyak 22,22%, 2-5 tahun sebanyak 17,78%, 11-15 tahun sebanyak 4,44% dan 6-10 tahun sebanyak 2,22%.

2. Karakteristik Paparan Dengan Unggas

Tabel 4. Intensitas Kontak dengan Unggas dalam Seminggu.

INTENSITAS KONTAK DENGAN UNGGAS DALAM SEMINGGU							
TIDAK ADA		< 5 KALI		6 - 10 KALI		> 10 KALI	
JUMLAH	%	JUMLAH	%	JUMLAH	%	JUMLAH	%
22	48,89	9	20,00	12	26,67	2	4,44

Intensitas kontak dengan unggas dalam seminggu dimaksudkan untuk mengetahui seberapa besar tingkat kesempatan kelompok beresiko rendah kontak dengan unggas dapat terpapar unggas dengan kemungkinan AI positif maupun negatif, yang dapat mempengaruhi tingkat imunoglobulin pada tiap responden. Hasil terbesar tidak ada sebanyak 48,89%. Diikuti 6-10 kali sebanyak 26,67% serta < 5 kali sebanyak 20,00% dan > 10 kali sebanyak 4,44%.

3. Karakteristik Lingkungan dan Higienitas

Pencegahan terhadap resiko kontak dengan unggas sangat penting dilakukan mengingat virus AI merupakan virus yang lemah yang tidak tahan panas dan zat desinfektan.

Tabel 5. Mencuci Tangan dengan Sabun Setelah Kontak dengan Unggas.

MENCUCI TANGAN DENGAN SABUN SETELAH KONTAK DENGAN UNGGAS			
YA		TIDAK	
JUMLAH	%	JUMLAH	%
40	88,89	5	11,11

Mencuci tangan dengan sabun setelah kontak dengan unggas merupakan cara paling mudah serta langkah awal yang sangat berperan untuk pencegahan terhadap virus AI. Dari data didapatkan responden yang mencuci tangan dengan sabun setelah kontak dengan unggas sebagai persentase terbesar sebanyak 88,89%. Hal ini menunjukkan tingkat kesadaran responden yang tinggi terhadap higienitas dan pengetahuan responden tentang manfaat mencuci tangan dengan sabun untuk mencegah penularan virus AI. Sedangkan responden yang tidak mencuci tangan dengan sabun setelah kontak dengan unggas sebanyak 11,11%. Hal ini disebabkan karena tingkat kesadaran yang rendah terhadap higienitas, walaupun responden memiliki tingkat pengetahuan yang cukup tentang pencegahan terhadap penularan virus AI.

Tabel 6. Mengkonsumsi Unggas dan Produknya dengan Matang.

MENGKONSUMSI UNGGAS DAN PRODUKNYA DENGAN MATANG					
YA		RAGU-RAGU		TIDAK	
JUMLAH	%	JUMLAH	%	JUMLAH	%
38	84,44	1	2,38	6	14,29

Mengkonsumsi unggas dan produknya dengan matang sangat berpengaruh terhadap resiko tertular virus AI. Virus AI mati pada suhu 80°C selama satu menit atau 70°C selama 30 menit. Pada telur ayam, virus AI mati pada suhu 64°C selama 4,5 menit. Persentase terbanyak didapatkan responden mengkonsumsi unggas dan produknya dengan matang sebanyak 84,44%. Diasumsikan responden memiliki tingkat resiko yang rendah tertular virus AI dari unggas dengan kemungkinan AI positif. Peringkat kedua didapatkan responden tidak memasak unggas dan produknya dengan matang sebanyak 14,29%. Hal ini disebabkan kebiasaan responden yang mengkonsumsi telur ayam mentah dengan alasan meningkatkan stamina. Persentase terakhir adalah responden ragu-ragu memasak unggas dan produknya dengan matang sebanyak 2,38%. Hal ini disebabkan kebiasaan responden mengkonsumsi telur setengah matang. Pada responden dengan persentase peringkat kedua dan ketiga dimasukkan pada kelompok beresiko rendah kontak dengan unggas dengan pertimbangan memenuhi karakteristik kelompok tetangga peternak unggas.

Tabel 7. Mencuci Peralatan Dapur yang Digunakan Untuk Mengolah Unggas dan Produknya dengan Sabun.

MENCUCI PERALATAN DAPUR UNTUK MEMASAK UNGGAS DAN PRODUKNYA DENGAN SABUN			
YA		TIDAK	
JUMLAH	%	JUMLAH	%
45	100	0	0

Mencuci peralatan dapur yang digunakan untuk mengolah unggas dan produknya dengan sabun dimaksudkan sebagai tindakan pencegahan kontak dengan unggas dan produknya dengan kemungkinan AI positif dari unggas yang dibersihkan maupun dimasak dengan peralatan dapur. Dari hasil didapatkan sebanyak 100% responden mencuci peralatan yang digunakan untuk mengolah unggas dan produknya dengan sabun.

Tabel 8. Penyemprotan Virus Flu Burung.

PENCEGAHAN VIRUS FLU BURUNG DENGAN PENYEMPROTAN DESINFECTAN							
TIDAK ADA		1-5 KALI		6-10 KALI		>10 KALI	
JUMLAH	%	JUMLAH	%	JUMLAH	%	JUMLAH	%
30	66.67	15	33.33	0	0	0	0

Penyemprotan terhadap virus AI dapat mencegah penyebaran virus AI karena virus AI mati dengan desinfektan seperti yang terdapat didalam bahan penyemprotan. Dari data didapatkan, sebanyak 66,67% tidak melakukan penyemprotan pada lingkungan tempat tinggal responden. Hal ini dikarenakan kesadaran responden yang rendah terhadap pencegahan virus AI bila di lingkungannya belum didapatkan unggas dengan AI positif atau orang dengan

AI positif. Selain itu, sebagian responden pada kelompok persentase ini tidak melaporkan pada dinas Kesehatan untuk dilakukan tindak lanjut pencegahan terhadap virus AI walaupun telah terdapat unggas dengan AI positif pada lingkungan responden. 33,33% melakukan penyemprotan pada lingkungan responden sebanyak 1-5 kali dan 0% responden tidak melakukan penyemprotan yang lebih banyak dan berkala yaitu 6-10 kali serta > 10 kali.

4. Karakteristik Gejala Penyakit

Karakteristik gejala penyakit menjadi pertimbangan resiko terjangkitnya virus AI karena gejala klinis yang sering ditemukan pada orang yang terjangkit virus AI yaitu demam dengan influenza, batuk, pendarahan gusi dan hidung, nyeri perut, nyeri dada dan nyeri sendi dan sesak nafas yang dalam waktu singkat dapat berkembang menjadi radang paru-paru (pneumonia), *encephalopathy* dan gastroenteritis. Untuk itu dinilai responden dengan riwayat gejala penyakit tersebut.

Tabel 9. Riwayat Demam Tinggi disertai Influenza.

RIWAYAT DEMAM TINGGI DISETAI INFLUENZA			
YA		TIDAK	
JUMLAH	%	JUMLAH	%
4	8,89	41	91,11

Pada data didapatkan responden yang tidak mengalami riwayat demam disertai influenza sebanyak 91,11% dan demam sebanyak 8,89%.

Tabel 10. Riwayat Batuk.

RIWAYAT BATUK			
YA		TIDAK	
JUMLAH	%	JUMLAH	%
11	24,44	34	75,56

Pada responden dengan riwayat batuk didapatkan persentase terbesar tidak mengalami batuk sebanyak 75,56% sedangkan responden yang mengalami batuk sebanyak 24,44%.

Tabel 11. Riwayat Pendarahan Gusi dan Hidung.

RIWAYAT PENDARAHAN GUSI DAN HIDUNG			
YA		TIDAK	
JUMLAH	%	JUMLAH	%
0	0	45	100

Sedangkan untuk riwayat pendarahan gusi dan hidung, didapatkan sebanyak 100% responden tidak memiliki riwayat pendarahan gusi dan hidung.

Tabel 12. Riwayat Nyeri Perut, Nyeri Dada dan Nyeri Sendi.

RIWAYAT NYERI PERUT, NYERI DADA DAN NYERI SENDI			
YA		TIDAK	
JUMLAH	%	JUMLAH	%
4	8,89	41	91,11

Untuk riwayat nyeri dada, nyeri perut dan nyeri sendi didapatkan persentase terbesar pada responden yang tidak mengalami riwayat nyeri dada,

nyeri perut dan nyeri sendi sebanyak 91,11% diikuti responden yang mengalami nyeri dada, nyeri perut dan nyeri sendi sebanyak 8,89%.

Tabel 13. Riwayat Sesak Nafas.

RIWAYAT SESAK NAFAS			
YA		TIDAK	
JUMLAH	%	JUMLAH	%
4	8,89	41	91,11

Responden yang mengalami riwayat sesak nafas dengan persentase terbesar sebanyak 91,11% dan tidak sesak nafas sebanyak 8,89%.

Tabel 14. Riwayat Radang Paru-Paru (Pneumonia).

RIWAYAT RADANG PARU-PARU (PNEUMONIA)			
YA		TIDAK	
JUMLAH	%	JUMLAH	%
1	2,22	44	97,78

Responden yang mengalami riwayat pneumonia, mempunyai persentase terbesar sebanyak 97,78% dan yang tidak mengalami riwayat pneumonia sebanyak 2,22%.

Tabel 15. Riwayat *Encephalopathy* dan Gastroenteritis.

RIWAYAT ENCEPHALOPATHY DAN GASTROENTERITIS			
YA		TIDAK	
JUMLAH	%	JUMLAH	%
1	2,22	44	97,78

Responden yang mengalami riwayat *encephalopathy* dan gastroenteritis mempunyai persentase terbesar sebanyak 97,78%, dan yang tidak mengalami riwayat, *encephalopathy* dan gastroenteritis sebanyak 2,22%.

b. Pemeriksaan Laboratorium

Selama masa penelitian, pada bulan Agustus 2007 hingga Desember 2007, telah terkumpul sebanyak 45 sampel serum dari kelompok orang beresiko rendah kontak dengan unggas. Pemeriksaan ELISA dilakukan di laboratorium penelitian FK UMY.

Hasil uji ELISA yang dibaca pada gelombang 450 nm diperoleh rerata nilai titer Ig G kontrol negatif sebesar 1,327 (harus lebih sama dengan 1) dan rerata nilai titer Ig G kontrol positif sebesar 0,032 (harus kurang dari 0,1).

Setiap *microplate* harus terpisah saat mengkalkulasikan dan menginterpretasikan hasil ke dalam *assays*, tanpa melihat jumlah sumuran yang diproses secara bersamaan. Hasil dikalkulasikan dengan memperhatikan nilai *Optical Density* (OD) masing-masing sampel terhadap nilai *cut-off* dari sumuran. Apabila pembacaan *cut-off* didasarkan pada filter tunggal *plate reader*, hasilnya harus dikalkulasikan dengan nilai OD blanko dari nilai sampel dan kontrol. Dalam kenyataannya, pembacaan didasarkan pada filter ganda *plate reader*, dengan tidak mencampur nilai OD blanko dari nilai sampel dan kontrol.

1. Mengkalkulasikan nilai *cut-off*.

$$\text{Cut-off} = N_c \times 0,5.$$

N_c = rata-rata nilai absorbansi dari tiga sumuran negatif kontrol.

Dari Biomeriux Reader 250 versi 2.0.5 terhadap H5-HA didapat nilai negatif kontrol = 2,533 , 2,817 dan 2.612.

Dari hasil tersebut didapat rata-rata = $(2,533 + 2,817 + 2,612) : 3 = 7,962 : 3 = 2,654$. Oleh karena didapatkan hasil nilai OD negatif 2,654 (diatas 2,500) maka dianggap sebagai 2,500. Sedangkan, bila dibawah 2,500 maka harus memperhatikan *range* nilai kontrol (harus lebih sama dengan 1 untuk negatif, kurang dari 0,1 untuk positif dan kurang dari 0,08 untuk blanko).

$$\text{Cut-off} = 2,654 \times 0,5 = 1,327.$$

Jika salah satu dari ketiga nilai negatif kontrol tidak berada dalam *range* nilai kontrol negatif (harus lebih sama dengan 1), maka harus dibuang. Dan rata-rata nilai negatif kontrol hanya memakai 2 nilai yang tersisa. Apa bila dari hasil tersebut masih tidak memenuhi sarat lebih sama dengan 1, maka tes dianggap tidak valid dan harus diulang.

Dari hasil penelitian ini didapatkan nilai kontrol 1,327 (lebih dari 1). Oleh karena itu, tes dianggap valid.

2. Range nilai kontrol.

Hasil nilai kontrol dari blanko, negatif kontrol dan positif kontrol dianggap valid dengan ketentuan sebagai berikut :

1. Nilai absorbansi dari blanko yang hanya mengandung kromogen dan *stop solution* harus kurang dari 0,080 pada gelombang 450 nm. Pada penelitian ini dari Biomeriux Reader 250 versi 2.0.5 terhadap H5-HA didapat nilai blanko 0,053. Oleh karena itu, tes dianggap valid.

2. Nilai absorbansi OD dari positif kontrol harus kurang dari 0,100 pada gelombang 450 nm. Pada penelitian ini, dari Biomeriux Reader 250 versi 2.0.5 terhadap H5-HA didapat didapatkan rata-rata nilai kontrol positif = $(0,040 + 0,024) : 2 = 0,032$. Oleh karena itu, tes dianggap valid.

3. Nilai absorbansi OD dari negatif kontrol harus sama dengan atau lebih dari 1,000 pada gelombang 450 nm. Dari Biomeriux Reader 250 versi 2.0.5 terhadap H5-HA didapat nilai negatif rata-rata = $(2,533 + 2,817 + 2,612) : 3 = 7,962 : 3 = 2,654$. Oleh karena didapatkan hasil nilai OD 2,654 (diatas 2,500) maka dianggap sebagai 2,500. Sehingga, tes dianggap valid.

Nilai absorbansi diatas hanya dipakai bila nilai OD negatif dibawah 2,500.

3. Menginterpretasikan hasil.

Hasil negatif bila sampel memberikan nilai absorbansi sama dengan atau lebih dari nilai *cut-off* (1,327). Hasil ini mengindikasikan hemaglutinin dari H5 Avian Influenza tidak terdeteksi oleh kit.

Hasil positif bila sampel memberikan nilai absorbansi kurang dari nilai *cut-off* (1,327). Hasil ini mengindikasikan hemaglutinin dari H5 Avian Influenza terdeteksi oleh kit.

Borderline bila sampel memberikan nilai absorbansi antara 0,9 – 1,00.

Hasil ini direkomendasikan untuk diulang kembali. Pengulangan tes, memungkinkan nilai positif untuk H5-HA antibodi.

Tabel 16. Hasil Tes ELISA pada Kelompok Beresiko Rendah Kontak dengan Unggas.

Nilai Negatif ($\geq 1,327$)	Nilai Positif ($\leq 1,327$)	Borderline	OVFL
		(0,9 – 1,00)	
2,226			
2,913			
2,678			
2,911			
2,133			
1,892			
3,068			
2,812			
2,880			
3,162			
2,810			
2,705			
2,232			
2,731			
3,031			
2,495			
2,515			
3,200			
			OVFL
2,892			
2,919			
2,081			
2,229			
1,613			
2,372			
2,223			
1,598			
2,217			
2,428			
1,917			
2,104			
2,378			
2,415			
2,632			
2,075			
2,199			
1,776			
	1,144		
1,660			
2,126			
	1,260		
	1,203		
1,875			
	0,460		
2,357			

Dari tabel di atas, data nilai negatif dibagi menjadi 3 kelompok. Pembagian kelompok diperoleh berdasarkan interval data, dengan menggunakan rumus:

$$\frac{\text{nilai negatif tertinggi} - \text{nilai negatif terendah}}{3} = \text{nilai interval}$$

Maka diperoleh nilai interval:

$$(3,200 - 1,598) : 3 = 0,534$$

Sehingga diperoleh kelompok sampel sebagai berikut:

Kelompok I dengan batas nilai antara 1,598 – 2,132.

Kelompok II dengan batas nilai antara 2,133 – 2,666.

Kelompok III dengan batas nilai antara 2,667 – 3,20.

Tabel 17. Hasil Nilai Negatif Tes ELISA pada Kelompok Beresiko Rendah Kontak dengan Unggas.

I		II		III	
No. Sampel	Nilai Negatif	No. Sampel	Nilai Negatif	No. Sampel	Nilai Negatif
50	2,133	22	2,226	46	2,913
51	1,892	57	2,705	48	2,678
67	2,081	58	2,232	49	2,911
69	1,613	61	2,495	52	3,068,
72	1,598	62	2,515	53	2,812
75	1,917	68	2,229	54	2,880
76	2,104	70	2,372	55	3,162
80	2,075	71	2,223	56	2,810
82	1,776	73	2,217	59	2,731
84	1,660	74	2,428	60	3,031
85	2,126	77	2,378	63	3,200
88	1,875	78	2,415	65	2,892
		79	2,632	66	2,919
		81	2,199		
		90	2,357		

Empat puluh lima serum responden dari kelompok orang beresiko rendah kontak dengan unggas yang telah diperiksa dengan menggunakan ELISA didapatkan hasil negatif sebanyak 40 serum negatif dan 4 serum positif.

B. Pembahasan

Penelitian ini menggunakan metode Enzym-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yang mendeteksi antibodi spesimen pasien. Hal ini didasarkan pada hubungan kovalensi enzim untuk mengetahui antigen atau antibodi, reaksi materi enzim-linked dengan serum pasien, dan membaca aktivitas enzim dengan menambah substrat enzim. Untuk mengetahui kadar antibodi, antigen yang diinginkan (antigen AI) di fiksasi di permukaan sumuran lalu diinkubasi secara dilusi dengan serum pasien, dicuci, diinkubasi kembali dengan antibodi dalam hal ini Ig G yang dilabel dengan enzim. Kemudian, aktivitas enzim dihitung dengan menambahkan substrat untuk enzim dan lihat perubahan warna.

Ada beberapa hal yang mempengaruhi hasil penelitian:

1. Respon tubuh terhadap antibodi humoral.

Sintesis antibodi secara humoral terdapat dalam dua respon fase yaitu primer dan sekunder. Pada fase primer antibodi yang pertama kali muncul adalah Ig M lalu dilanjutkan Ig G dan Ig A. Paparan dengan antigen pada fase ini merupakan lag period yaitu masa reaksi tubuh membentuk antibodi ketika terpapar antigen yang panjang berkisar antara 7-10 hari atau bisa lebih lama tergantung sifat alami dari antigen, dosis antigen serta paparan masuk ke dalam tubuh melewati parenteral atau oral. Konsentrasi serum pada fase ini meningkat selama beberapa minggu dan kemudian menurun.

Pada paparan sekunder dari antibodi dengan antigen yang sama atau mirip dengan jenis antigen pada paparan primer, biasanya dalam masa bulan atau tahun setelah paparan primer, dapat terjadi lag period yang lebih pendek yaitu 3-5 hari. Dalam periode ini terbentuk respon antibodi yang cepat dan lebih tinggi dibanding fase primer. Hal ini dikarenakan di dalam tubuh telah terdapat antigen spesifik termemori sel. Memori sel ini berproliferasi menjadi sel B dalam jumlah yang besar kemudian memediasi fase antibodi sekunder. Ig M diproduksi dalam jumlah yang sama dengan fase respon primer sedangkan Ig G diproduksi dalam jumlah yang lebih besar dibandingkan pada fase respon primer dan jumlahnya menetap dalam waktu yang lama didalam tubuh. Jika terdapat paparan yang terus menerus antara antibodi yang sama dengan antigen bertipe sama atau mirip dengan dengan fase respon primer, maka antibodi akan mengikat antigen lebih kuat. Hal ini karena mutasi DNA yang mengkode *antigen-binding site* disebut *somatic hypermutation*. Kemudian, hasil mutasi diinsersi ke dalam asam amino yang berbeda dari plasma sel sehingga plasma sel dapat meningkatkan jumlah *antibody-producing cell*.

Induksi antibodi bisa secara aktif dan pasif. Berkaitan dengan penelitian ini, pada kelompok orang beresiko tinggi kontak dengan unggas, induksi antibodi terjadi secara aktif, artinya respon imun yang dihasilkan terjadi secara aktif. Perbedaan intensitas paparan dengan unggas akan menyebabkan kadar Ig G yang berbeda pada setiap orang. Kadar Ig G pada orang yang diinduksi secara aktif akan lebih tinggi daripada yang diinduksi secara pasif.

Pada hasil penelitian 4 serum menunjukkan hasil positif dan 40 serum menunjukkan hasil negatif. Hasil negatif tidak berarti bahwa dalam serum tidak ditemukan Ig G. Hal ini kemungkinan karena kadar Ig G yang terdapat pada serum tidak terdeteksi dengan pengukuran alat yang digunakan. Parameter kit yang digunakan pada penelitian ini, kadar Ig G yang terdeteksi pada serum jika jumlah kurang dari 1,327 menunjukkan hasil positif dan lebih sama dengan 1,327 menunjukkan hasil negatif.

2. Status anergy responden.

Pada respon imun yang normal antigen imunogenik menstimulasi proliferasi dan diferensiasi dari limfosit antigen spesifik. Antigen tolerogenik menginduksi fungsi yang tidak responsif atau kematian limfosit antigen spesifik membuat sel tidak mampu untuk melakukan toleransi terhadap antigen. Beberapa antigen tidak memperoleh respon tetapi limfosit dapat merespon substansi antigen tersebut tetapi tidak terdeteksi. Ilustrasi ini terdapat pada limfosit T yang mana prinsip hal ini sama dengan limfosit B. Dengan catatan limfosit T mengenali antigen dengan sel yang mempresentasikan antigen (APC). Proses ini disebut anergy.

Anergy adalah bentuk imunobiologi yang menggambarkan rendahnya mekanisme pertahanan tubuh terhadap substansi asing yang terdiri dari induksi langsung terhadap toleransi limfosit perifer. Individu dengan status anergy diindikasikan dengan sistem imun yang tidak dapat menghasilkan respon imun normal dalam jumlah yang cukup untuk melawan antigen spesifik, biasanya *self-antigen*. Limfosit dikatakan anergy ketika gagal merespon antigen spesifik.

Anergy adalah salah satu proses dari tiga proses penginduksian proses toleransi, yang memodifikasi respon imun untuk mempertahankan *self-destruction* (bentuk yang lain adalah *delesi clonal* dan *immunoregulasi*).

Status anergy responden sangat mempengaruhi titer Ig G yang dibaca ELISA. Pada hasil penelitian terdapat variasi tingkat Ig G setiap serum. Hal ini berarti bahwa semua serum mempunyai nilai titer Ig G, tetapi untuk dapat terdeteksi oleh ELISA harus mempunyai nilai yang kurang atau sama dengan 1,327. Jika titer Ig G kurang atau sama dengan 1,327 artinya positif terdeteksi adanya Ig G terhadap H5N1, dan jika lebih dari 1,327 artinya negatif tidak terdeteksi adanya Ig G terhadap H5N1. Nilai negatif menunjukkan kemungkinan lemahnya respon humoral tubuh dan status anergy responden.

3. Kit ELISA yang tidak spesifik.

Kit ELISA yang digunakan untuk mendeteksi antibodi pada hemaglutinin dari virus Influenza tipe A pada penelitian ini tidak spesifik, karena hanya mendeteksi hemaglutinin subtipe 5 (H5) secara umum. Pada penelitian, didapatkan 4 serum menunjukkan hasil positif, yang berarti, kadar Ig G yang terdeteksi pada serum kurang dari 1,327. Akan tetapi, tidak berarti antibodi yang dideteksi ELISA merupakan strain dari H5 dan N1. Karena, rantai hemaglutinin subtipe 5 (H5) tersebut, bisa berikatan dengan neurominidase subtipe 1 sampai 9 (N1 sampai N9). Sehingga kemungkinan variasi menjadi sangat besar. Sedangkan, virus AI merupakan Influenza tipe A dengan hemaglutinin subtipe 5 (H5) dan neuromidase subtipe 1 (N1).