

PENGARUH *Neuraminidase Pretreatment* VIRUS SARS-CoV-2, *Polyethylene Glycol* DAN TEMPERATUR INKUBASI TERHADAP HEMAGLUTINASI SEL DARAH MERAH

Disusun oleh:
Yohanes Candra Gunawan
NPM: 170801862



UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2024

PENGARUH *Neuraminidase Pretreatment* VIRUS SARS-CoV-2, *Polyethylene Glycol* DAN TEMPERATUR INKUBASI TERHADAP HEMAGLUTINASI SEL DARAH MERAH

SKRIPSI

**Diajukan kepada Program Studi Biologi
Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta
guna memenuhi sebagian syarat untuk memperoleh
derajat Sarjana S-1**

Disusun oleh:
Yohanes Candra Gunawan
NPM: 170801862



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2024**

PENGESAHAN

Mengesahkan Skripsi dengan judul:

PENGARUH *Neuraminidase Pretreatment* VIRUS SARS-CoV-2, *Polyethylene Glycol* DAN TEMPERATUR INKUBASI TERHADAP HEMAGLUTINASI SEL DARAH MERAH

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Yohanes Candra Gunawan

NPM: 170801862

Konsentrasi Studi Teknobiologi-Industri

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji pada hari Selasa,
20 Agustus 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat

SUSUNAN TIM PENGUJI

Dosen Pembimbing Utama,



(Dr. Dra. Exsyupransia Mursyanti, M.Si.)

Anggota Penguji,



(Dr. apt. Sendy Junedi, S. Farm., M.Sc.)

Dosen Pembimbing Pendamping,



(drh. Margaretha Prayudhi Novantiana, M.Si.)

Yogyakarta, 22 Agustus 2024

UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI

Dekan,



(apt. Ines Senti Arsiningtyas, S.Farm., M.Sc., Ph.D.)

FAKULTAS
TEKNOBIOLOGI
UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA

PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yohanes Candra Gunawan

NPM : 170801862

Judul Skripsi : Pengaruh *Neuraminidase Pretreatment* Virus SARS-CoV-2, *Polyethylene Glycol* dan Temperatur Inkubasi Terhadap Hemaglutinasi Sel Darah Merah

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul tersebut di atas adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan saya susun dengan sejujurnya berdasarkan norma akademik dan bukan merupakan hasil plagiat. Adapun semua kutipan di dalam skripsi ini telah saya sertakan nama penulisnya dan telah saya cantumkan ke dalam Daftar Pustaka.

Pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya dan apabila ternyata di kemudian hari ternyata terbukti melanggar pernyataan tersebut, saya bersedia menerima sanksi akademik yang berlaku (dicabut predikat kelulusan dan gelar kesarjanaan saya).

Yogyakarta, 1 Agustus 2024

Yang menyatakan,



Yohanes Candra Gunawan

NPM: 170801862

KATA PENGANTAR

Rasa penuh syukur penulis panjatkan kepada Tuhan atas belas Kasih, bimbingan dan kehendak-Nya, penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan naskah skripsi yang berjudul “Pengaruh *Neuraminidase Pretreatment* Virus SARS-CoV-2, *Polyethylene Glycol* dan Temperatur Inkubasi Terhadap Hemaglutinasi Sel Darah Merah” untuk memenuhi persyaratan kelulusan Sarjana Strata-1 Program Studi Biologi, Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta. Naskah ini ditulis berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh penulis.

Naskah skripsi ini ini penulis selesaikan dengan adanya bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Tuhan Yang Maha Pengasih atas Cinta dan belas kasih-Nya kepada penulis dalam rangkaian proses penelitian hingga terselesaikannya penulisan naskah ini.
2. Keluarga yang telah mengizinkan penulis melaksanakan penelitian yang berisiko terhadap kesehatan di masa pandemi COVID-19 dan selalu mendoakan penulis dalam setiap proses yang ditempuh.
3. Ibu M. P. Novantiana selaku *analytical manager* dan dosen pembimbing pendamping, Kak Ari, Mas Yudik, Mas Ambon, Pak Arif, Dokter Suryo, Mbak Helen, Bapak Irsan serta teman-teman staf di bagian *research and development* PT Biotis Pharmaceuticals Indonesia yang memberikan dukungan, bimbingan, nasihat, dan semangat kepada penulis.

4. Dr. Dra. Exsyupransia Mursyanti, M.Si. selaku dosen pembimbing utama yang dengan sabar dan perhatian memberikan bimbingan serta dukungan baik dalam masa penyusunan proposal, pelaksanaan hingga penyusunan naskah penelitian.
5. Bapak F.X. Sudirman, selaku presiden direktur dan Bapak Yulius Wahyu W. S. selaku *plant manager* PT Biotis Pharmaceuticals Indonesia yang telah mengizinkan penulis melakukan penelitian dan tinggal di dalam lingkungan perusahaan.
6. Segenap dosen, staf TU dan laboran FTb UAJY serta teman-teman dari KKACM UAJY yang memberikan perhatian, dorongan dan semangat kepada penulis untuk dapat melanjutkan dan menyelesaikan studi hingga tuntas.

Penulis berharap naskah yang disusun ini dapat memberi pengetahuan baru bagi para pembaca dan peneliti. Penulis menyadari kemampuan penulis dalam penyusunan naskah ini belum sempurna, oleh karena itu, segala saran dan kritik yang membangun penulis harapkan.

Yogyakarta, 1 Agustus 2024

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN MUKA.....	i
HALAMAN JUDUL	ii
PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
INTISARI.....	xii
ABSTRACT	xiii
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	5
C. Tujuan Penelitian.....	6
D. Manfaat Penelitian.....	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Virus SARS-CoV-2	7
B. Reseptor Sel Pengikat RBD SARS-CoV-2.....	9
C. Sel Darah Merah dan Virus SARS-CoV-2.....	9
D. Reseptor <i>Sialic acid</i> Pengikat Virus	11
E. Praperlakuan <i>Neuraminidase</i>	14
F. Hemaglutinasi, PEG dan Temperatur	16
G. Uji Hemaglutinasi	19
H. Hipotesis	20
III. METODE PENELITIAN	22
A. Tempat dan Waktu Penelitian.....	22
B. Populasi dan Sampel	22
C. Alat dan Bahan.....	22

D.	Rancangan Penelitian	23
E.	Cara Kerja.....	24
F.	Analisis Data.....	28
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
A.	PEG dan Hiperagregasi Sel Darah Merah	29
B.	Uji Hemaglutinasi	32
V.	SIMPULAN DAN SARAN.....	39
A.	Simpulan.....	39
B.	Saran.....	40
	DAFTAR PUSTAKA.....	41
	LAMPIRAN	46
A.	Lampiran Gambar	46
B.	Lampiran Data.....	64

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Patogen pengikat <i>sialic acid</i> pada permukaan sel manusia	13
Tabel 2. Rancangan Percobaan Desain Uji Hemaglutinasi Virus SARS-CoV-2 terhadap sel darah merah mencit (BALB/c)	24
Tabel 3. Pengaruh variasi konsentrasi PEG dan temperatur inkubasi terhadap sel darah merah ayam dan mencit (BALB/c)	30
Tabel 4. Uji hemaglutinasi virus <i>Newcastle Disease</i> (ND) terhadap sel darah merah ayam dengan variasi konsentrasi PEG dan temperatur inkubasi	33
Tabel 5. Hasil uji hemaglutinasi virus SARS-CoV-2 terhadap sel darah merah mencit (BALB/c)	35

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. <i>Phylogenetic tree of CoV nsp</i>	8
Gambar 2. Struktur virus SARS-CoV-2	8
Gambar 3. Empat genera utama (alpha-, beta-, gamma-, dan delta-) coronavirus dan resptor yang diikat	9
Gambar 4. Beberapa contoh anggota keluarga <i>sialic acid</i>	12
Gambar 5. Beberapa <i>sialic acid</i> utama pada manusia	12
Gambar 6. Pengikatan <i>sialic acid</i> oleh HA dan pemotongan SA oleh NA	15
Gambar 7. Penampakan formasi linier (<i>rouleaux</i>) 7 sel darah merah	17
Gambar 8. Gaya yang terlibat dalam pengikatan antigen-antibodi	18
Gambar 9. k_1 dan k_2 adalah konstanta laju untuk reaksi maju, dan reaksi balik	
Gambar 10. Prinsip hemaglutinasi dan uji penghambatan hemaglutinasi	19
Gambar 11. Hasil uji hemaglutinasi PEG (1-15% w/v) terhadap sel darah merah mencit (BALB/c) 1% pada temperatur 25°C selama 60 menit	31
Gambar 12. Hasil uji hemaglutinasi virus ND dengan penambahan PEG 5% (w/v) terhadap sel darah merah ayam 1% pada temperatur inkubasi 25°C selama 30 menit	34
Gambar 13. Hasil uji hemaglutinasi virus SARS-CoV-2 dengan praperlakuan neuraminidase 41 U/mL dan penambahan PEG 33,33% terhadap sel darah merah mencit (BALB/c) 1% pada temperatur 25°C	36

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Lampiran Gambar	46

INTISARI

Virus *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2) merupakan jenis baru dari marga β -*coronavirus* yang menyebabkan pandemi COVID-19. Salah satu jenis vaksin COVID-19 yang telah dikembangkan adalah vaksin inaktif yang memerlukan pengukuran titer virus. Uji hemaglutinasi (HA) merupakan salah satu metode pengukuran jumlah partikel virus, namun virus SARS-CoV-2 tidak menunjukkan aktivitas hemaglutinasi pada sel darah merah. Penelitian terdahulu menunjukkan keberhasilan aktivitas hemaglutinasi sel darah merah oleh virus *Infectious Bronchitis Virus* (IBV) dengan praperlakuan *neuraminidase* dan peningkatan kualitas aglutinasi dengan penggunaan *polyethylene glycol* (PEG), namun PEG dengan konsentrasi tinggi mampu menimbulkan hiperagregasi pada sel darah yang berpotensi memberi hasil *false positive* pada uji HA. Penelitian ini bertujuan mendapatkan informasi batas aman penggunaan konsentrasi PEG 4000 (% w/v) yang tidak menyebabkan hiperagregasi sel darah merah, pengaruh PEG terhadap hasil uji HA virus *Newcastle Disease* (ND) dan membuat desain uji HA oleh virus SARS-CoV-2 dengan kombinasi praperlakuan *neuraminidase*, PEG dan temperatur inkubasi. Hasil menunjukkan batas aman konsentrasi penggunaan PEG 4000 yang tidak menyebabkan hiperagregasi pada sel darah merah ayam yaitu 12% (w/v) dan pada mencit (BALB/c) yaitu 7% (w/v). Penambahan konsentrasi PEG 4000 dalam batas aman (5% w/v) tidak memberikan pengaruh terhadap uji hemaglutinasi virus ND terhadap sel darah merah ayam. Desain kombinasi perlakuan yang paling memberikan pengaruh terhadap aktivitas hemaglutinasi sel darah merah mencit (BALB/c) dalam uji hemaglutinasi virus SARS-CoV-2 yaitu kombinasi praperlakuan *neuraminidase* 41 U/mL terhadap virus SARS-CoV-2, penambahan PEG (4000) konsentrasi akhir 33% (v/v), waktu inkubasi selama 60 menit dengan nilai titer tertinggi yaitu $2^{7,58}$ HAU pada temperatur inkubasi 25°C dan 2^8 HAU pada temperatur inkubasi 37°C.

Kata kunci: SARS-CoV-2, Uji Hemaglutinasi, *Polyethylene Glycol*, Praperlakuan *Neuraminidase*, *Newcastle Disease*

ABSTRACT

Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) is a new type of β -coronavirus that caused the COVID-19 pandemic. One type of COVID-19 vaccine that has been developed is an inactivated vaccine that requires virus titer measurement. The hemagglutination assay (HA) is one method of measuring the number of virus particles, but the SARS-CoV-2 virus does not show hemagglutination activity on red blood cells. Previous studies have shown successful hemagglutination activity of red blood cells by Infectious Bronchitis Virus (IBV) with neuraminidase pretreatment and improved agglutination grade with the use of polyethylene glycol (PEG), but high concentrations of PEG can cause hyperaggregation of blood cells which has the potential to give false positive results in the HA test. This study aims to obtain information on the safe limit of the use of PEG 4000 concentration (% w/v) that does not cause hyperaggregation of red blood cells, the effect of PEG on the results of the Newcastle Disease (ND) virus HA assay and make a design SARS-CoV-2 virus HA assay with a combination of neuraminidase treatment, PEG and incubation temperature. The results of the study showed that the safe limit of PEG 4000 concentration that does not cause hyperaggregation in chicken red blood cells is 12% (w/v) and in mice (BALB/c) is 7% (w/v). The addition of PEG 4000 concentration within safe limits (5% w/v) did not affect HA assay of ND virus against chicken red blood cells. The treatment combination design that has the most influence on the hemagglutination activity of red blood cells of mice (BALB/c) in the SARS-CoV-2 virus hemagglutination test is a combination of 41 U/mL neuraminidase pretreatment against SARS-CoV-2 virus, the addition of PEG (4000) with a final concentration of 33% (v/v), incubation time for 60 minutes with the highest titer value of $2^{7.58}$ HAU at an incubation temperature of 25°C and 2^8 HAU at an incubation temperature of 37°C.

Keywords: SARS-CoV-2, Hemagglutination Assay, Polyethylene Glycol, Neuraminidase Pretreatment, Newcastle Disease