

PENDEKATAN MOLEKULER KONFIRMASI VEKTOR JAPANESE ENCEPHALITIS (JE) DI KOTA SURABAYA JAWA TIMUR

Widiarti*✉, Rima Tunjungsari* dan Tri Wibowo Ambar Garjito*

*Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit

Jl. Hasanudin no. 123 Salatiga

Email: widiarti@litbang.depkes.go.id, widiarti123@gmail.com

MOLECULAR APPROACH ON JAPANESE ENCEPHALITIS (JE) VECTOR CONFIRMATION IN SURABAYA EAST JAVA

Abstrak

Dilaporkannya kejadian kasus Japanese B Encephalitis (JE) dari Kota Surabaya dan Kabupaten Jombang yang cukup tinggi yaitu 39 orang meninggal, 30 cacat, 39 sakit dan 66 sehat, maka penting dilakukan suatu konfirmasi tentang vektor JE yang berperan di Kota Surabaya. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui vektor JE di Kota Surabaya. Konfirmasi vektor JE digunakan metode secara molekuler yaitu Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) di Laboratorium Biologi Molekuler Lembaga Eijkman Jakarta. Pengambilan sampel nyamuk dilakukan di lingkungan dekat tersangka kasus JE yaitu di Sidotopo Wetan, Kecamatan Kenjeran dan Desa Kedurus, Kecamatan Karang Pilang, Surabaya. Spesies nyamuk tertangkap adalah *Culex tritaeniorhynchus*, *Culex quinquefasciatus*, *Culex bitaeniorhynchus*, *Culex vishnui* dan *Culex gelidus*. Semua nyamuk tertangkap diuji keberadaan virus JE dengan metode RT-PCR. Hasil uji RT-PCR diperoleh hanya spesies *Cx. tritaeniorhynchus* positif virus JE. Berdasarkan hasil tersebut *Cx. tritaeniorhynchus* merupakan vektor virus JE di daerah tersebut. Dengan diketahuinya vektor JE yang berperan di Kota Surabaya dapat merupakan informasi yang bermanfaat bagi program untuk melakukan tindakan pengendalian maupun pencegahan makin menjalarnya JE di kedua daerah tersebut.

Kata Kunci: Vektor JE , RT-PCR, *Culex tritaeniorhynchus*.

Abstract

The suspect cases of Japanese Encephalitis (JE) from Surabaya City and Jombang regency was reported remain high with 39 people died, 30 defects, 39 sick and 66 healthy. Due to the reason, it is important to conduct a confirmation of JE vectors that take an important role in Surabaya. A study on the confirmation of *Culex* sp mosquito as the vector of JE have been conducted in Surabaya by the aim to reveal the specific species of JE vectors. The confirmation of JE vectors was carried out using (a molecular methods) Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) in Molecular Biology Laboratory Eijkman Institute Jakarta. The sampling of mosquitoes and larva survey were conducted in the area where suspected JE cases stayed which were Sidotopo Wetan, Kenjeran Subdistrict and Kedurus Village, Karang Pilang District Surabaya. The *Culex* sp species that have been collected were *Culex tritaeniorhynchus*, *Culex quinquefasciatus*, *Culex bitaeniorhynchus*, *Culex gelidus* and *Culex vishnui*. All the mosquitoes suspected as JE vectors were tested using RT-PCR method. By this method, the result showed only *Cx. tritaeniorhynchus* was positive JE virus. Based on these results we conclude that *Cx. tritaeniorhynchus* is the vector of JE in those areas, so that it can be useful as information for the program to perform a control or prevention further spread of JE in both areas.

Keywords: JE vector, RT-PCR, *Culex tritaeniorhynchus*.

Submitted: 01 September 2014, Review 1: 08 September 2014, Review 2: 20 September 2014, Eligible article: 30 September 2014

PENDAHULUAN

Japanese Encephalitis (J.E.) merupakan penyakit radang otak yang disebabkan oleh suatu Arthropod-borne virus dari Grup B yang disebut virus *Japanese Encephalitis* dari famili Flaviviridae (dahulu Togaviridae). *Japanese Encephalitis* telah lama menjangkiti wilayah Asia Tenggara dan Pasifik Barat. Penyakit ini di negara Jepang, Korea dan Tiongkok banyak menyerang orang dewasa, terutama pada musim panas dengan angka kematian (CFR) sebesar 8,5 %. Sedangkan di Malaysia, Thailand, Philipina dan Singapura banyak menyerang golongan anak dengan angka kematian (CFR) sebesar 50,0 %. Wilayah Indonesia penyakit JE banyak menyerang golongan umur dibawah 10 tahun dan menyebabkan angka kematian berkisar 10-53 % (Dit. Jen. P2M & PL, 1999 dan Imran, 1986). Gejala klinik J.E. sulit dibedakan dengan penyakit encephalitis lainnya, sehingga diagnosis klinik perlu ditunjang dengan pemeriksaan serologi atau isolasi. Hal ini menyebabkan hambatan untuk mengetahui besarnya jumlah kasus J.E. di Indonesia secara pasti (WHO, 1989). Pada awalnya *Japanese Encephalitis* (J.E.) di Indonesia dilaporkan pada tahun 1995 di Propinsi Bali. Pada kurun waktu tahun 1997-1982 dilaporkan kasus J.E. dari berbagai Rumah Sakit di Indonesia (Ditjen. P2M & PL, 1999). *Japanese B Encephalitis* merupakan penyakit yang bersifat zoonosis dan ditularkan melalui gigitan nyamuk. Nyamuk yang berperan sebagai vektor adalah *Culex tritaeniorhynchus*, *Cx. gelidus* dan *Cx. vishnui*. Mamalia yang dilaporkan sebagai reservoir adalah Babi atau sebagai *amplifying host*, kemungkinan burung dan bangau (Imran, dan Suharyono, 1986). Virus J.E pertama kali diisolasi dari nyamuk *Cx tritaeniorhynchus* tahun 1972, sedangkan Van Peenen, dkk pada tahun yang sama mengisolasi virus J.E. dari Babi di Kapuk Jakarta Barat (Ditjen. P2M & PL, 1999). Tahun 2005-2006 telah dilaporkan adanya tersangka kasus JE dari Kota Surabaya dan Kabupaten Jombang yang cukup tinggi. Rumah sakit Dr. Sutomo melaporkan sebanyak 129 kasus sedangkan Rumah Sakit Jombang sebanyak 45 kasus. Dari sejumlah kasus yang dilaporkan 39 orang meninggal, 30 cacat, 39 sakit dan 66 sehat (Dinkes Jatim, 2006). Namun hasil serologi lebih lanjut melaporkan bahwa tidak semua kasus klinis yang dilaporkan terbukti mengandung virus JE. Mencermati tingginya kasus yang menimbulkan kematian maka penting dilakukan tentang vektor yang berperan di daerah Kota Surabaya. Penelitian dilakukan di Kota Surabaya, karena hasil serologi darah penderita positif mengandung virus JE. Mempertimbangkan tingginya kasus kemungkinan tidak hanya *Cx. tritaeniorhynchus* saja yang berperan sebagai vektor J.E. di kedua daerah tersebut. Konfirmasi vektor J.E. akan digunakan metode secara molekuler yaitu *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction*

(RT-PCR) (Winoto, *et. al.*, 1995 dan Cheryl, *et al*, 2002). Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui vektor JE di Kota Surabaya. Manfaat penelitian adalah sebagai masukan kepada program untuk digunakan dalam penentuan kebijakan pengendalian vektor JE.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat penangkapan nyamuk sekitar rumah kasus yaitu: (1). Desa Sidotopo Wetan III No. 28 A, Kecamatan Kenjeran, Surabaya. (2). Desa Kedurus IV C No. 30, Kecamatan Karang Pilang, Surabaya. (3) Laboratorium Biologi Molekuler Lembaga Eijkman Jakarta untuk isolasi RNA virus dengan metode Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR).

Waktu penangkapan nyamuk dilakukan pada bulan Mei-Nopember 2009.

Bahan

Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah untuk PCR RNA virus adalah QIAamp Viral RNA Mini Kit, 50 sampel; *grinding buffer*, potasium asetat 8 M ; etanol 70 % ; etanol absolut 100 %; *TE buffer*; 10x dapar PCR; $MgCl_2$ 50 mM; dNTP 10 mM; enzim DNA polimerase *Tag* [invitrogen]; bubuk agarosa [sigma]; tris-acetate EDTA (TAE) 0,5x; dapar loading 6x; etidium bromida (EtBr) 10 mg/ml; ladder marker 100 pb [New England Biolabs]; bahan-bahan dalam Wizard® SV Gel dan PCR Clean-Up System [Promega], yang terdiri dari *membrane binding solution*, *membrane wash solution* dan *nuclease-free water*, BigDye™ terminator v3.1 *Cycle Sequencing* [Applied Biosystems] yang dilengkapi dengan DNA polimerase [AmpliTaQ®]; EDTA 125 mM; sodium asetat 3 M (pH 5,2); enzim restriksi *Apo I*; *Tsp 5091*; gel agarosa 3,2 %; dan akuabides; tisu; es batu; parafilm [Pechiney]; sarung tangan karet [Sensi®]; plastik berpererekat dan aluminum foil [KlinPak]. Bahan lain adalah species nyamuk tertangkap dari hasil penangkapan dari daerah penelitian.

Metode

Penangkapan nyamuk dan larva survei (di lapangan).

Populasi penelitian adalah semua nyamuk tertangkap di lokasi penelitian. Nyamuk diperoleh dengan melakukan penangkapan di luar dan dalam rumah penduduk (tersangka kasus) sepanjang malam (18.00-06.00 WIB) dan pagi hari (06.00-08.00 WIB) sesuai dengan standar WHO (2003), yaitu metode hinggap pada manusia di dalam rumah (HMD) dan di luar rumah (HML) masing-masing selama 40 menit, penangkapan nyamuk yang istirahat di dalam rumah (IDR), dan istirahat di luar rumah /sekitar kandang ternak (ISKD) masing-masing selama 10 menit.

Penangkap nyamuk berjumlah 6 orang. Penangkapan nyamuk juga dilakukan pada pagi hari terhadap nyamuk yang istirahat di dalam rumah, di luar rumah dan di habitat aslinya. Larva survei dilakukan di seluruh tempat penampungan air di rumah penduduk pada pagi hari untuk mengetahui habitat perkembangbiakan nyamuk. Nyamuk tertangkap kemudian diidentifikasi menggunakan kunci identifikasi (Stojanovich and Scott, 1966).

Isolasi RNA virus dengan metode Reverse

Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR).

Bahan untuk isolasi virus digunakan QIAGEN. Nyamuk diperiksa atau diproses dilakukan pooling. Pada setiap vial diisi sebanyak 10 ekor nyamuk dengan spesies yang sama. Nyamuk yang berada pada vial dihancurkan dengan pestle dan ditambahkan 0,5 – 1 ml Elution Buffer, kemudian disentrifuge pada 6000 rpm selama 4 menit. Supernatan diambil dan sisa supernatan disimpan pada suhu -70°C. Pada sampel ditambahkan 310 µg AVE dan 310 µl Buffer AVE. Campuran tersebut kemudian diambil sebanyak 560 µl dan 140 µl RNA solution. Campuran tersebut kemudian divortex selama 15 detik dan diinkubasi pada suhu kamar (15-25°C) selama 10 menit. Setelah diinkubasi kemudian disentrifuge pada 8000 rpm selama 15 detik. Campuran ditambahkan 560 µl etanol absolut dan divortex 15 detik. Diambil Sebanyak 630 ml Qiagen dan dimasukkan ke dalam Qia mini Spin column. Selanjutnya dicentrifuge 8000 rpm selama 1 menit. Kedalamnya kemudian ditambahkan 500 µl buffer AW 1 kemudian disentrifuge 8000 rpm selama 1 menit. Kemudian ditambahkan 500 µl buffer AW 2 dicentrifuge full speed (12.000-14.000) rpm selama 3 menit. Selanjutnya dengan disentrifuge selama 3 menit 13.000 rpm. Buffer AVE 60 µl ditambahkan dengan cara diteteskan ditengah. Didiamkan dalam temperatur kamar selama 1 menit dan disentrifuge 8000 rpm selama 1 menit. Di atas es dilakukan penambahan enzin transkriptase. Ke dalam tiap-tiap sampel ditambahkan campuran bahan kimia sebanyak 20 µl (10 x RT Buffer, 10 unit Murin inhibitor 1 µl, Oligo dT (150 µg/µl) sebanyak 1 µl), dNTP 10 mm 2 µl, 10 unit AMV (RT) 1 µl, ddH₂O 2 µl dan primer 1 µl.

Campuran tersebut diinkubasi pada suhu 42° C selama 1 jam. Sampel nyamuk 1-20 ditambahkan primer JE dan sampel 21-40 dengan primer Universal.

Polymorase Chain Reaction RNA Virus

Pada saat melakukan PCR virus diperlukan enzim rever-transkriptase untuk mengubah inti RNA virus menjadi DNA sehingga mudah divisualisasi. Primer yang digunakan untuk PCR virus JE adalah Primer JEV. MF dan JEV.MR yang di design oleh Lembaga Eijkman. Sebelum dilakukan PCR, komponen-komponen pereaksi, yaitu 10 x PCR buffer 2,5; MgCl₂ 50mM1,5 ml; dNTP 10 mM 0,5 ml; primer JEV.MF 0,25; Primer JEV.MR 0,25 ml, enzim DNA polimerase *Taq* 0,25 m; ddH₂O; dan sampel DNA dicampur terlebih dahulu dalam tabung mikrosentrifus 0,2 ml. Setelah pembuatan campuran pereaksi PCR selesai, tabung dimasukkan ke dalam mesin *thermal cyclor*. Setelah selesai PCR kemudian divisualisasi dengan melakukan elektroforesis dan kemudian dilihat pada Gel Dokumentasi.

HASIL

A. Hasil Penangkapan Nyamuk

Lokasi penangkapan nyamuk di sekitar rumah kasus adalah : (1). Desa Sidotopo Wetan, Kecamatan Kenjeran, Surabaya. (2). Desa Kedurus, Kecamatan Karang Pilang, Surabaya, karena ternyata laporan uji serologi darah penderita dari rumah sakit positif mengandung virus JE. Hasil penangkapan nyamuk di dua daerah dapat dilihat pada tabel 1, yang menunjukkan bahwa ditemukan spesies *Cx. tritaeniorhynchus* sebanyak 16 ekor di dalam rumah, *Cx. quinquefasciatus* 10 ekor di dalam rumah dan 158 ekor diluar rumah. *Culex bitaeniorhynchus* hanya ditemukan di luar rumah sejumlah 5 ekor. Berbeda dengan di Sidotopo di daerah Kedurus Kecamatan Karang Pilang, nyamuk yang diperoleh dari sawah setelah diidentifikasi semuanya *Cx. tritaeniorhynchus* sejumlah 555 ekor diluar rumah dan 15 ekor di dalam rumah. Spesies *Cx. quinquefasciatus* sejumlah 35 ekor di dalam rumah dan 44 ekor di luar rumah, *Cx. vishnui* sejumlah 11 ekor diluar rumah, *Cx. gelidus* sejumlah 13 ekor diluar rumah dan *Cx. bitaeniorhynchus* sejumlah 10 ekor di luar rumah.

Tabel 1. Jumlah dan Spesies Nyamuk yang Diperoleh di Dua (2) Lokasi Penangkapan Desa Sidotopo Wetan, Kecamatan Kenjeran dan Desa Kedurus, Kecamatan Karang Pilang Kota Surabaya.

No.	Spesies nyamuk yang diperoleh	Desa Sidotopo Wetan, Kec Kenjeran		Desa Kedurus, Kec Karang Pilang	
		Jumlah (ekor)		Jumlah (ekor)	
		Dalam	Luar	Dalam	Luar
1.	<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	16	0	15	555
2.	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	10	158	35	44
3.	<i>Cx. vishnui</i>	0	0	0	11
4.	<i>Cx. gelidus</i>	0	0	0	13
5.	<i>Cx. bitaeniorhynchus</i>	0	5	0	10

B. Hasil Survei Jentik Nyamuk

Hasil survei jentik nyamuk di beberapa habitat yang ada dapat dilihat pada tabel 2. Pada tabel 2 tersebut terlihat bahwa habitat irigasi sawah paling banyak diperoleh adalah spesies *Cx. tritaeniorhynchus* (98,8%). Habitat selokan sebagian besar teridentifikasi sebagai *Cx. quinquefasciatus* (99,1%). Wilayah Kecamatan Kenjeran irigasi sawah banyak ditemukan jentik yaitu sebanyak 1235 ekor jentik nyamuk, setelah dipelihara menjadi dewasa di laboratorium B2P2VRP Salatiga dan teridentifikasi sebagian besar *Cx. tritaeniorhynchus*. Sedangkan di wilayah Kecamatan Karang Pilang juga populasi jentik sangat tinggi pada habitat saluran irigasi sawah dan diperoleh sejumlah 1.450.000 ekor jentik. Setelah dipelihara menjadi dewasa di laboratorium B2P2VRP Salatiga teridentifikasi sebagai *Cx. tritaeniorhynchus*.

Pada gambar 2 terlihat pita putih hanya pada sampel *Cx. tritaeniorhynchus* pada sumuran deretan ke 3. Pada sumuran deretan ke 8 sampai 12 juga terlihat pita samar dan juga pada sampel *Cx. tritaeniorhynchus*. Sedangkan pada sumuran yang lain tidak terlihat adanya pita. Terlihatnya pita menunjukkan bahwa contoh nyamuk uji mengandung virus. Pada sumuran 3 dan sumuran 8,9,10 serta 11, juga terlihat pita. Pada sumuran tersebut semuanya sampel nyamuk spesies *Cx. tritaeniorhynchus*. Sumuran lain berisi spesies *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. vishnui*, *Cx. gelidus*, dan *Cx. bitaeniorhynchus* tidak tampak adanya pita seperti sumuran 3. Berdasarkan hasil tersebut hanya *Cx. tritaeniorhynchus* yang terbukti mengandung virus atau sebagai vektor JE.

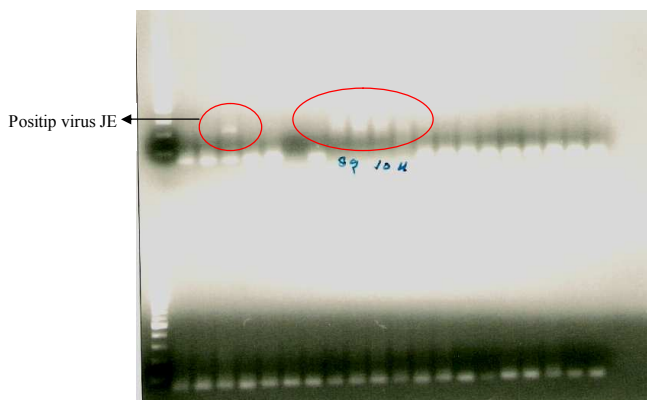
Tabel 2. Hasil survei jentik nyamuk di beberapa habitat yang ada di Kecamatan Kenjeran, Kecamatan Karang Pilang dan Abatoir di Surabaya.

No	Lokasi	Jenis Habitat dan Jumlah Jentik Nyamuk* yang Diperoleh				
		Sawah	Irigasi Sawah	Kolam Kangkung	Kolam lain	Selokan
1.	Kec. Kenjeran	3	1235	0	0	765
2.	Kec. Kr Pilang	0	1450	0	0	882
3.	Abatoir	0	0	0	0	0

* Sebagian besar jentik nyamuk yang diperoleh setelah dipelihara di laboratorium teridentifikasi sebagai *Cx. quinquefasciatus* (99,10 %) dari habitat selokan, dan *Cx. tritaeniorhynchus* (98,8%) dari habitat irigasi sawah.

C. Hasil Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT PCR).

Hasil *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) sampel nyamuk *Cx. tritaeniorhynchus*, *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. vishnui*, *Cx. gelidus* dan *Cx. bitaeniorhynchus* menggunakan primer JEV. MF dan JEV.MR dan setelah dielektroforesis dengan Agarosa 2,5 % dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Pada sumuran deret 3 (jelas) dan 8-11 (samar) terlihat pita yang menunjukkan contoh nyamuk uji positif virus JE.

PEMBAHASAN

Pada hasil penangkapan nyamuk di dua daerah yaitu (1). Sidotopo Wetan III No. 28 A, Kecamatan Kenjeran, Surabaya. (2). Desa Kedurus IV C No. 30, Kecamatan Karang Pilang, Surabaya ternyata nyamuk paling dominan adalah *Cx. tritaeniorhynchus*, kemudian *Cx. quinquefasciatus* dengan kepadatan berbeda pada tiap-tiap lokasi. Apabila dilihat dari lingkungan ternyata lingkungan persawahan dengan saluran irigasi cenderung populasi *Cx. tritaeniorhynchus* tinggi (WHO, 2006 dan Jolivet *et al*, 1975). Sedangkan lingkungan dengan banyak saluran irigasi/got dengan air tercemar buangan rumah tangga jenis *Cx. quinquefasciatus* tinggi. Hasil elektroforesis menunjukkan bahwa keberadaan pita pada sumuran sampel membuktikan bahwa nyamuk yang diuji tersebut mengandung virus. Ternyata adanya pita pada sumuran yang terlihat semuanya adalah spesies *Culex tritaeniorhynchus* dan membuktikan bahwa spesies tersebut merupakan vektor JE. Berdasarkan hasil analisis gambar 2, pita pada sumuran 3 terlihat lebih jelas dibandingkan sumuran 8,9,10 dan 11. Pita samar-samar pada sumuran 8,9,10 dan 11 dikarenakan nyamuk uji telah mengalami penyimpanan sebelum dilakukan pengujian. Pada pita yang jelas (sumuran 3) nyamuk yang diuji masih segar dan belum disimpan. Penyimpanan

sampel nyamuk di dalam freezer pada temperatur kurang dari -80°C sebelum diuji akan merusak virus (Noriega F.G. and M.A. Wells.A, 1993). Pada temperatur kurang dari -80°C RNA akan mengalami kerusakan. Seperti diketahui bahwa inti virus JE adalah RNA, sifat RNA tersebut kurang stabil sehingga mudah rusak karena panas. Sehingga apabila RNA rusak sulit terekspressi jelas pada proses elektroforesis dan RT-PCR (Cheryl, *et al*, 2002). Kemungkinan lain jumlah nyamuk yang mengandung virus sangat sedikit pada setiap sumuran atau dari pooling (25 ekor) hanya sedikit yang mengandung virus. Berdasarkan hasil tersebut proses penyimpanan perlu diperhatikan apabila akan melakukan isolasi RNA. Spesies nyamuk lain seperti *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. vishnui*, *Cx. gelidus* dan *Cx. tritaeniorhynchus*, tidak ditemukan positif virus kemungkinan juga telah rusaknya virus pada proses penyimpanan atau memang spesies tersebut tidak positif virus, karena menurut beberapa pakar entomologi *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. vishnui*, *Cx. gelidus* juga telah terbukti merupakan vektor JE (WHO, 2006). Hasil studi yang dilakukan Oslon *et al* (1985) melaporkan bahwa virus JE berhasil diisolasi dari spesies nyamuk *Culex tritaeniorhynchus*, *Cx. gelidus*, *Cx. vishnui* dan *Cx. fuscocephalus* yang dikoleksi dari Kapuk Indonesia. Meskipun pada penelitian ini tidak terbukti sebagai vektor, namun keberadaan spesies-spesies tersebut perlu diwaspadai. Lokasi sawah tempat penangkapan nyamuk *Culex tritaeniorhynchus* resting di rumput dekat kandang kerbau, sangat banyak ditemukan nyamuk berperan sebagai vektor JE. *Scientific Committee on Vector-borne Diseases Hongkong* melaporkan bahwa 5 spesies *Culex* yaitu *Cx. tritaeniorhynchus*, *Cx. gelidus*, *Cx. pseudovishnui*, *Cx. vishnui* dan *Cx. fuscocephalus* sebagai vektor JE di Distrik Kwai Tsing dan Yuen Long. Virus memang mungkin tumbuh pada nyamuk tersebut, namun tidak cukup efisien untuk menularkan karena masing-masing spesies mempunyai kapasitas vectorial berbeda (SCVB, 2004). Kewaspadaan ini perlu disosialisasikan kepada masyarakat karena nyamuk vektor JE sangat tinggi kepadatannya. Mencermati lingkungan tempat ditemukannya virus pada nyamuk *Cx. tritaeniorhynchus* yaitu di wilayah Kedurus Kecamatan Karang Pilang tidak ditemukan ternak babi, tetapi hanya ditemukan beberapa kerbau. Babi merupakan *amplifying host* atau reservoir virus JE, dengan demikian perlu dilakukan konfirmasi keberadaan ternak besar dan peranannya sebagai reservoir JE di daerah tersebut (Johanna *et al*, 2013 dan Koesharyono *dkk.*, 1973). Winoto melaporkan bahwa di daerah Kecamatan Kayanhilir, Kayanhulu dan Kotabaru Kabupaten Sintang Kalimantan Barat kelelawar *Cynopterus sp*, dapat berperan sebagai *amplifying host* virus JE berdasarkan

uji serologi. Wilayah lain yaitu Kecamatan Kayanhulu species kelelawar tidak hanya satu, tetapi terdapat species lain yaitu *Eonycteris sp*, *Macroglossus sp*, *Murina sp* dan *Myotis sp* terdeteksi mengandung virus JE (Winoto. *et al*, 1995). Penelitian lain dilakukan oleh Sendow dan Bahri *cit* Triwibowo Ambar Garjito (2014) dilaporkan bahwa virus JE terdeteksi pada hewan kerbau, sapi, kambing, domba, babi, ayam, itik, anjing, kelinci, kuda, tikus, kelelawar, kera, burung liar seperti Japanese tree sparrow, burung heron, burung gereja, burung dara, burung gagak, tikus rumah dan tikus hitam. Pada saat penangkapan nyamuk di daerah Kedurus Kecamatan Karang Pilang ditemukan juga jenis kelelawar sedang mencari buah talok yang tumbuh dipinggir sawah. Dengan demikian kemungkinan kelelawar menunjang untuk memegang peranan dalam pemeliharaan dan penyebaran virus JE di daerah penelitian.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Nyamuk berperan sebagai vektor *Japanese B Encephalitis* (JE) di Kota Surabaya terutama di Desa Kedurus Kecamatan Karang Pilang, adalah *Culex tritaeniorhynchus*. Habitat perkembangbiakan *Culex tritaeniorhynchus* vektor JE di Desa Kedurus Kecamatan Karang Pilang adalah sawah dan irigasinya.

Saran

Perlu sosialisasi ke masyarakat tentang penyakit JE, terutama di daerah beresiko/berdekatan dengan tempat berkembangbiaknya vektor (*Culex tritaeniorhynchus*) dan penderita JE. Kewaspadaan ini perlu ditingkatkan terutama pada saat populasi vektor tinggi yaitu pada saat tersedia air di daerah persawahan.

Dinas Kesehatan setempat perlu melakukan pengendalian vektor untuk mencegah terjadinya kejadian luar biasa (KLB) JE. Perlu dilakukan juga konfirmasi reservoir JE di dua daerah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada: Kepala Balai Besar Penelitian Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit, yang telah memberikan kesempatan melakukan penelitian, petunjuk, masukan dan dorongan dalam penulisan proposal, protokol serta penulisan laporan, Kepala Laboratorium Biologi Molekuler Lembaga EIKMAN beserta Staf terutama dr. Din Syafruddin PhD dan Mbak Puji BS Asih serta dik Anggi Puspa yang telah membimbing dan membantu terlaksananya penelitian ini. Kepala Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Timur di Surabaya beserta staf, atas izin dan bantuan selama penulis melakukan penelitian, semua

pihak yang telah membantu sehingga penelitian ini dapat berjalan lancar.

DAFTAR PUSTAKA

- Advanced Immunization Management. Mosquito Control. 2009. Consideration for Introduction of new and underutilized vaccines Japanese Encephalitis. 16 p
- Canada Communicable Disease Report. 2008. Statement on Protection Against Japanese Encephalitis. Advisory Committee Statement (ACS-4). 9 p
- Cheryl, A. Johansen; Roy A. Hall; Andrew F. Van Den Hurk; Scott A. Ritchie and John S. Mackenzie. 2002. Detection and Stability of Japanese Encephalitis Virus RNA and Virus Viability in Dead Infected Mosquitoes Under Different Storage Conditions. *Am. J. Trop. Med Hyg*, 67 (6) pp 656-661.
- Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Timur. Laporan Kasus JE/AES (*Acute Encephalitis Syndrome*) di Propinsi Jawa Timur. Tahun 2005-2006. Sub. Din P2P-PL.9 Hal.
- Dit. Jen. PPM & PLP. 1999. Japanese Encephalitis (JE) Pada Manusia di Indonesia. Sub. Dit Zoonosis dan Sub. Dit. SPP. 20 hal.
- Grant L Campbell, Susan L Hills, Marc Fischer, Julie A Jacobson, Charles H Hoke, Joachim M Hombach, Anthony A Marfin, Tom Solomon, Theodore F Tsai, Vivien D Tsu & Amy S Ginsburg. 2011. Estimated global incidence of *Japanese Encephalitis*: a systematic review. *Bulletin of the World Health Organization*. 89:766-774E
- Harun S. 2008. Pemeriksaan Imunoserologi. Bahan Kursus Singkat Biologi Molekuler Puslitbang Biomedis dan Farmasi. 10 halaman.
- Imran. L. 1986. Vektor Penyakit Japanese Encephalitis (JE) di Pontianak dan Denpasar, Indonesia. *Medika*, No 9 . September. Hal 839-843.
- Imran, L dan Suharyono, W. 1986. Faktor Nyamuk *Culex* dan Babi dalam Penyebaran Virus Japanese Encephalitis (JE) di Pontianak dan Solo. *Buletin Penelitian Kesehatan*. Vol 14. No. 1. Hal 8-15.
- Johanna F. Lindahl, Karl Stahl, Jan Chirico, Sofia Boqvist, Ho Thi Viet Thu, Ulf Magnusson. 2013. Circulation of Japanese Encephalitis Virus in Pigs and Mosquito Vectors within Can Tho City, Vietnam. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. Volume 7 Issue 4/e2153. p 1-8
- Jolivet, P., H.I. Ree, H.K. Hong and Yoshito Wada. 1975. Dispersal of *Culex tritaeniorhynchus* in Korea. *WHO/VBC/75.599*.
- Koesharyono C., Van Peenen P.FD, Josep S.W., Saroso JS., Irving G.S., and Durfee P.T. 1973. Serologic Surveys of Pigs from Slaughter House in Jakarta, Indonesia. *Bull Hlth Stud*. Indonesia. 1 : p 8-18.
- Noriega F.G. and M.A. Wells. 1993. Comparison of Three Methods for Isolating RNA from Mosquito. *Insect Molecular Biology*. 2 (1). 21-24.
- OIE. 2010. Terrestrial Manual. Chapter 2.1.7. *Japanese Encephalitis*. Version adopted by World Assembly of Delegates of the OIE. May. p.1-11
- Oslo J.G., Ksiazek T.G., Tan R., Atmosoejono S., Lee V.H., and Converse J.D. 1985. Correlation of Population Indices of Female *Culex tritaeniorhynchus* with Japanese Encephalitis Viral Activity in Kapuk Indonesia. *South Asian J. Trop Med. Pub.Hlth*. '16 (2): 337-342.
- Scientific Committee on Vector-borne Diseases. 2004. Vectors of Japanese Encephalitis in Hong Kong. Centre for Health Protection. Department of Health Hongkong. Desember. 7 p
- Scientific Committee on Vector-borne Diseases. 2004. Japanese Encephalitis in Hongkong Situation Update, Prevention and Control Strategy. Centre for health Protection. 9 p
- Stojanovich, C.J., Scott, H.G. 1966. Illustrated Key to Mosquitoes of Vietnam. US. Dept. of Health Education and Welfare, Public Health Service, Atlanta, Georgia. 157 p.
- Triwibowo Ambar Garjito, Widiarti, Farida Handayani, Arum Sih Joharina. 2014. Virus Japanese Encephalitis dan Masalahnya di Indonesia. Prosiding Seminar Nasional Mikrobiologi. Tema Keberagaman dan Pemanfaatan Sumberdaya Mikroba Tropika Indonesia. Fakultas Biologi Universitas Kristen Satya Wacana. p30-35.
- WHO. 1989. Geographical Distribution of Arthropod-Borne Diseases and Their Principal Vectors. Vector Biology and Control Division. WHO/VBC/89.967.
- WHO. 2006. Guidelines for Prevention and Control of Japanese Encephalitis. Zoonosis Division National Institute of Communicable Diseases. 2006. 22-Sham Nath Marg, Delhi – 110 054. 18 p.
- WHO. 2014. *Japanese Encephalitis*. Media Centre. Fact Sheet No. 386. March 2014. 3 p
- WHO. 2003. Malaria entomology and vector control. Leaner's guide. WHO HIV/AIDS, Tuberculosis and Malaria, rollback malaria. Trial Ed. WHO/CDS/CPE/SMT/2002. 18 Rev.1. Part 1.
- Winoto. I; R.R. Graham; Ima Nurisa; S. Hartati; C. Ma'roef. 1995. Penelitian Serologis Japanese Encephalitis pada Babi dan Kelelawar di Sintang, Kalimantan Barat. *Buletin Penelitian Kesehatan*. Vol. 23. No. 3. Hal 98-103.