

# PENELITIAN SEROLOGIS JAPANESE ENCEPHALITIS PADA BABI DAN KELELAWAR DI SINTANG, KALIMANTAN BARAT

I. Winoto\*, R.R. Graham\*, Ima Nurisa\*\*, S. Hartati\*, C. Ma'roof\*

## ABSTRACT

### A SEROLOGICAL STUDY OF JAPANESE ENCEPHALITIS IN PIGS AND BATS IN SINTANG, WEST KALIMANTAN

*Serological surveys of pigs (*Sus scrofa*) and bats (*Chiroptera*) were conducted in Sintang over 3 subdistricts (Kayanhulu, Kayanhilir, Kotabaru) during the period of 17 July to 2 August 1994. Blood samples were collected from 68 pigs and 157 bats and tested for JEV antibody. Antibody to JEV were found in 39 (57%) pig sera and 24 (15.3%) bat sera using a hemagglutination inhibition (HI) test. This study gives more information on the geographic and host distribution of JEV in Indonesia, and increased knowledge about potential risk of JEV to public health.*

## PENDAHULUAN

Japanese B encephalitis (JE) adalah penyakit yang disebabkan oleh arbovirus dari genus flavivirus. Penyakit ini bersifat zoonosis dan ditularkan melalui gigitan nyamuk. Di Jakarta, vektor untuk JE adalah nyamuk *Culex tritaeniorhynchus* dan *Culex gelidus*.<sup>1</sup> Infeksi pada manusia bervariasi dari subklinis sampai ensefalitis akut yang fatal.<sup>2</sup> Dari penelitian serologis yang dilakukan pada manusia diketahui bahwa antibodi terhadap virus JE telah terdistribusi secara luas, tetapi laporan kasus secara klinis masih sedikit sekali.<sup>1,3</sup> Pada hewan, virus ini bisa menyerang kuda, babi sapi dan domba.<sup>4,5</sup> Infeksi pada babi yang sedang mengandung bisa ditularkan ke fetus melalui plasenta, mengakibatkan kematian fetus sebelum lahir atau lahir lemah. Sedangkan pada

kuda bisa menimbulkan gejala ensefalitis. Babi bertindak sebagai induk semang penguat (amplifier host).<sup>2</sup> Viremia bisa terjadi pada babi. Hal ini dibuktikan oleh penelitian yang dilakukan oleh Van Peenen dkk ternyata babi yang diteliti tidak hanya positif mengandung antibodi terhadap JE pada uji HI, namun juga menunjukkan adanya viremia.<sup>1</sup> Di negara beriklim sedang kelelawar diduga bertindak sebagai pembawa virus selama musim dingin.<sup>4</sup>

Virus Japanese B encephalitis merupakan virus yang bersifat endemic di Indonesia. Virus ini berhasil diisolasi dari nyamuk pertamakali pada tahun 1972 oleh Van Peenen dkk.<sup>3</sup> Namun demikian, kasus Japanese B. Encephalitis pada hewan belum pernah dilaporkan di Indonesia. Epidemiologi JE telah banyak diketahui di negara-negara tetangga

\* U.S. Naval Medical Research Unit No. 2, Jakarta, Indonesia.

\*\* Pusat Penelitian Ekologi Kesehatan - Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta

seperti halnya Thailand dan Serawak. Tetapi masih sedikit sekali informasi dari Indonesia.<sup>4</sup> Survei ini dimaksudkan untuk menambah pengetahuan mengenai epidemiologi dari JE di Indonesia dengan mendeteksi titer antibodi terhadap virus JE pada babi dan kelelawar.

## MATERI DAN METODA

### Pengambilan sampel

Sampel darah babi diambil melalui pre-vena cava anterior menggunakan jarum no.18 dan *Syringe* 3 ml, atau melalui vena telinga menggunakan jarum no.21 atau 22 dan *syringe* 3 ml. Kulit pada daerah pengambilan darah dibersihkan sebelumnya menggunakan alkohol 70%, setiap *syringe* dan jarum hanya dipakai untuk satu ekor babi untuk menghindarkan kontaminasi. Sampel darah yang diambil adalah 3 ml dari tiap ekor babi, dimasukkan ke dalam vacutainer.

Penangkapan kelelawar dilakukan dengan menggunakan jaring perangkap (misnets) yang dipasang di sekitar rumah dan hutan. Kelelawar yang tertangkap dibius dengan anestesi inhalan (fluothane), kemudian dilakukan pengambilan darah dari jantung menggunakan *syringe* 3 ml dan jarum no.21 atau 22. Kulit pada daerah pengambilan darah dibersihkan sebelumnya menggunakan alkohol 70%, setiap *syringe* dan jarum hanya dipakai untuk satu ekor kelelawar. Darah diambil sebanyak-banyaknya dari tiap ekor kelelawar sampai kelelawar mati. Kemudian dilakukan pengukuran terhadap kelelawar tersebut untuk keperluan identifikasi species. Setelah selesai kelelawar direndam di dalam formalin 10% untuk kemudian ditiriskan sebelum dikirim ke laboratorium NAMRU-2. Di laboratorium NAMRU-2 cairan pengawetnya diganti dengan alkohol (ethyl-alcohol) 70 % lalu dikirim ke Laboratorium Mamalogi, Puslit . Ekologi

Kesehatan, Badan Litbangkes, Depkes, Jakarta untuk konfirmasi identifikasi species dan koleksi.

Sampel darah babi dan kelelawar di dalam vacutainer dibiarkan selama  $\pm$  1 jam dalam suhu ruangan sampai serumnya terpisah dari jendolan darah. Darah disentrifus dengan kecepatan 1500 rpm selama 10 menit. Serum dipisahkan dengan menggunakan pipet plastik *disposable*, dimasukkan ke dalam *cryovial*, diberi label nomor identifikasi, kemudian disimpan dalam nitrogen cair untuk dikirim ke laboratorium NAMRU-2 dan dilakukan pemeriksaan terhadap serum tersebut.

### Pemeriksaan laboratorium

Uji HI (*hemagglutination inhibition test*) dilakukan terhadap serum sampel tersebut untuk mengetahui adanya antibodi terhadap virus Japanese Encephalitis menurut metode Ksiazek et al<sup>7</sup> yang merupakan hasil modifikasi dari metode Lenette and Schmidt (1969) dan Clarke and Casals (1958). Serum dengan titer antibodi  $\geq$  10 dianggap positif. PRNT (Plaque Reduction Neutralization Test) dilakukan terhadap serum yang positif pada uji HI. Hal ini dimaksudkan untuk konfirmasi hasil uji HI karena diketahui bahwa PRNT bersifat lebih spesifik dan bisa untuk membedakan virus dalam satu famili.<sup>8</sup> Hewan dengan titer antibodi  $\geq$  10 dianggap positif

## HASIL DAN DISKUSI

Sampel darah babi (*Sus scrofa*) sebanyak 68 telah dikumpulkan dari 10 desa meliputi 3 kecamatan di Kabupaten Sintang, Kalimantan Barat.<sup>6</sup> Dua puluh empat ekor dari kecamatan Kayanhilir, 6 ekor dari kecamatan Kayanhulu, dan 38 ekor dari kecamatan Kotabaru (Tabel 1).

**Tabel 1. Jenis dan jumlah hewan yang didapat.**

No	Kecamatan	Kelelawar							Babi
		A	B	C	D	E	F	Jml	
1	Kayanhilir	11	-	-	-	-	6	17	24
2	Kayanhulu	41	3	3	3	5	-	55	6
3	Kotabaru	80	5	-	-	-	-	85	38
Jumlah		132	8	3	3	5	6	157	68

Catatan:

- A : *Cynopterus sp.*
- B : *Eonycteris sp.*
- C : *Macroglossus sp.*
- D : *Murina sp.*
- E : *Myotis sp.*
- F : Belum diketahui.

Sebanyak 157 ekor kelelawar (Chiroptera) yang terdiri dari genus *Cynopterus sp.* 132 ekor, *Eonycteris sp.* 8 ekor, *Macroglossus sp.* 3 ekor, *Myotis sp.* 5 ekor, *Murina sp.* 3 ekor, dan 6 ekor belum diketahui genusnya, telah dikumpulkan dari 3 kecamatan tersebut di atas.<sup>6</sup> Dari kecamatan Kayanhilir berhasil ditangkap 17 ekor, dari kecamatan Kayanhulu 55 ekor, dan dari kecamatan Kotabaru 85 ekor (Tabel 1).

Seperti yang tampak pada Tabel 2 dan 3, 39 (57.3%) serum babi, dan 24 (15.3%) serum kelelawar memberikan reaksi positif pada uji HI (*hemagglutination inhibition test*). Titer antibodi pada babi berkisar antara 10 sampai dengan 320, dengan frekuensi tertinggi terletak pada titer 40 sebanyak 11 babi. Titer antibodi pada kelelawar berkisar antara 10 sampai dengan 160.

Dari 39 ekor babi yang positif, 14 ekor dari kecamatan Kayanhilir (58.3%), 3 ekor dari Kayanhulu (50%) dan 22 ekor dari Kotabaru (57.9%). Sedangkan dari 24 serum kelelawar yang positif, 5 (29.4%) berasal dari kecamatan Kayanhilir, 3 (5.5%) dari kecamatan Kayanhulu, dan 16 (18.8%) dari kecamatan Kotabaru.

Dari pembagian kelelawar menurut genusnya, 16.7% dari *Cynopterus sp.*, 12.5 % dari *Eonycteris sp.* dan 20 % dari *Myotis sp.* yang berhasil ditangkap, menunjukkan hasil positif pada uji HI (Tabel 4). Tidak ditemukan individu yang positif dari genus *Macroglossus sp.* dan *Murina sp.* Hal ini mungkin disebabkan jumlah hewan yang berhasil ditangkap terlalu sedikit. Sedangkan dari 6 ekor kelelawar yang belum berhasil diketahui genusnya, semuanya memberikan reaksi negatif pada uji HI.

**Tabel 2. Titer antibodi terhadap virus JE pada uji HI.**

**Babi**

Titer	Jml serum
<10	29
10	6
20	10
40	11
80	8
160	3
320	1

**Kelelawar**

Titer	Jml serum
<10	133
10	2
20	6
40	6
80	6
160	4
320	0

**Tabel 3. Prevalensi antibodi terhadap virus JE pada uji HI menurut lokasi dan jenis hewan.**

Jenis	Uji	Kayanhilir	Kayanhulu	Kotabaru	Jumlah
Babi	Sampel	24	6	38	68
	HI pos	14	3	22	39
	(%)	58.3	50	57.9	57.4
Kelelawar	Sampel	17	55	85	157
	HI pos	5	3	16	24
	(%)	29.4	5.5	18.8	15.3

**Tabel 4. Prevalensi antibodi terhadap virus JE dari uji HI menurut spesies.**

	Kelelawar							Babi
	A	B	C	D	E	F	Jml	
Jml sampel	132	8	3	3	5	6	157	68
Uji HI (+)	22	1	0	0	1	0	24	39
Prevalensi (%)	16.7	12.5	0	0	20	0	15.3	57.4

**Catatan:**

- A : *Cynopterus sp.*
- B : *Eonycteris sp.*
- C : *Macroglossus sp.*
- D : *Murina sp.*
- E : *Myotis sp.*
- F : Belum diketahui.

Uji netralisasi hanya bisa dilakukan terhadap 38 serum babi dan 23 serum kelelawar yang memberikan reaksi positif pada uji HI karena jumlah serum dari masing-masing individu yang tidak mencukupi. Dari 38 serum babi hanya 27 (71%) yang positif mengandung antibodi yang secara spesifik bisa menetralkan virus JE. Sedangkan dari 23 serum kelelawar hanya 4 (17.4%) yang positif pada uji netralisasi, yang semuanya dari spesies *Cynopterus sp.* Dengan demikian bisa diketahui adanya arbovirus lain dari genus Flavivirus selain virus JE yang menginfeksi babi dan kelelawar di 3 kecamatan tersebut. Prevalensi antibodi pada babi yang memberikan reaksi spesifik terhadap virus JE adalah 40.3% (27/67), pada kelelawar 2.6% (4/156).

Dari hasil uji HI terhadap virus JE pada serum babi, diketahui bahwa tidak ada perbedaan tingkat prevalensi yang bermakna pada ketiga kecamatan tersebut ( $p > 0.05$ ). Sedangkan pada kelelawar, ditemukan perbedaan tingkat prevalensi yang bermakna antara ketiga kecamatan tersebut ( $p < 0.01$ ). Pada kecamatan Kayanhulu mempunyai tingkat prevalensi yang terendah dan Kayanhilir mempunyai tingkat prevalensi yang tertinggi. Bahkan pada kecamatan Kotabaru, dimana jumlah sampel yang diperoleh paling banyak di antara 3 kecamatan tersebut, tidak ditemukan kelelawar yang mempunyai antibodi yang secara spesifik bisa menetralkan virus JE. Apabila dilihat pada masing-masing spesies kelelawar, tidak ditemukan perbedaan tingkat prevalensi yang bermakna ( $p > 0.05$ ) pada uji HI terhadap virus JE.

Walaupun sampai sekarang belum ada laporan kejadian secara klinis, tetapi ancaman dari virus JE pada daerah-daerah tersebut tidak bisa diabaikan begitu saja mengingat efek yang bisa ditimbulkan baik pada babi maupun hewan lain, bahkan pada manusia. Dilaporkan di Jepang dan Korea, kematian yang ditimbulkan oleh virus ini mencapai 50 % pada anak babi yang dilahirkan.<sup>2</sup> Hal ini menimbulkan kerugian ekonomi yang tidak sedikit. Mengingat dekatnya lokasi babi yang ditenak dengan rumah penduduk pada ketiga kecamatan tersebut di atas, perlu dipikirkan juga ancaman penularan virus tersebut kepada manusia. Dengan ditemukan antibodi pada kelelawar, dapat disimpulkan bahwa kelelawar juga memegang peranan dalam pemeliharaan dan penyebaran virus JE pada Kecamatan Kayanhilir dan Kayanhulu di Kabupaten Sintang, Kalimantan Barat.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Kepada Dr. Richard How dari Western Australian Museum, Australia yang telah banyak membantu dalam proses pengumpulan dan identifikasi kelelawar kami ucapkan terima kasih.

Selain itu kepada Dr Bambang Suherman, Pejabat Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Sintang; Dr. Kodasi, dokter Puskesmas Kecamatan Sungai Durian Kabupaten Sintang; Dr. Handanu, dokter Puskesmas Kecamatan Kayan Hilir Kabupaten Sintang; Dr. Ketut, dokter Puskesmas Kecamatan Kayan Hulu Kabupaten Sintang; dan Dr. Subuh, dokter Puskesmas Kecamatan Kotabaru Kabupaten Sintang; kami sampaikan terima kasih karena telah membantu pelaksanaan penelitian di lapangan.

### DAFTAR RUJUKAN

1. Van Peenen, P.F.D., Joseph, P.L., Atmosoejono, S., Irsiana, R., and Saroso, J.S. (1975). Japanese encephalitis virus from pigs and mosquitoes in Jakarta, Indonesia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 69: 477-479.
2. Lim, T.W. and Beran, G.W. (1981). Handbook series in zoonoses - Japanese encephalitis. Vol I. CRC Press Boca Raton, Flo 449-456.
3. Van Peenen, P.F.D., Irsiana, R., Saroso, J.S. (1974). First isolation of Japanese encephalitis virus from Java. *Military Medicine* 139 (10): 821-823.
4. Anonim. (1984). Pedoman pengendalian penyakit hewan menular - Japanese equine encephalitis. Direktorat Kesehatan Hewan Direktorat Jenderal Peternakan Departemen Pertanian Jakarta V: 1-4.
5. Van Peenen, P.F.D., Koesharjono, C., Joseph, S.W., Saroso, J.S., Irving, G.S. (1974). Serological survey of cattle from a slaughterhouse in Jakarta, Indonesia. *Bulletin Penelitian Kesehatan* 1 (1): 1-8.
6. Walker, E.P., Wamick, F., Hamlet, S.E., Lange, N.I., Davis, M.A., Uible, H.E., Wright, P.F. (1968). *Mammals of the world*. The John Hokins Press Baltimore 2 ed., 1 & 2: 182-372, 1357-1366
7. Ksiazek, T.G., Olson, J.G. (1978). Protokol: Performance of the hemagglutination inhibition test for serologic diagnosis of arboviruses.
8. Widjaya, S., Soekotjo, W., Hartati, S., Corwin, A.L., Jennings, G.B. Prevalence of hemagglutination-inhibition and neutralizing antibodies to arboviruses in horses of Java. Telah diterima untuk dipublikasikan oleh *Southeast Asian Journal of Tropical medicine and Public Health, Thailand*.