

Isolasi Virus Bluetongue Serotipe 1, 6 dan 21 dari Serangga Nyamuk di Jawa Barat

INDRAWATI SENDOW

Balai Penelitian Veteriner, PO BOX 151, Bogor 16114, Indonesia
Email: indrawati@bogor.net

(Diterima dewan redaksi tanggal 22 Desember 2002)

ABSTRACT

SENDOW, I. 2002. Isolation of bluetongue serotypes 1, 6 and 21 from insects in West Java. *JITV* 7(4): 272-278.

Bluetongue virus is one of arbovirus diseases which is transmitted by insects, *Culicoides* spp. Insect collection was conducted weekly from 1991 to 1993 and fortnightly from 1993 to 1997 in West Java using Pirbright-type miniature light trap in to phosphate buffered saline for identification and viral isolation. A total of 1155 pools of insects were inoculated into embryonated chicken eggs before passaging in a mosquito cell line and three times blind passages in BHK-21 cells. Fourteen pools of insects produced cytopathic effect in BHK-21 cells. Four of the infected BHK-21 cells reacted in the antigen capture ELISA test using a specific monoclonal antibody to bluetongue (BTV) virus. Further identification into serotype in Reference Laboratory, indicated that BTV serotype 1 was isolated from *C. fulvus*, BTV serotype 6 was isolated from *C. peregrinus* and BTV serotype 21 from pools of *C. shortii* and *C. orientalis*.

Key words: Bluetongue viruses, isolation, insects

ABSTRAK

SENDOW, I. 2002. Isolasi virus bluetongue dari serangga nyamuk di Jawa Barat. *JITV* 7(4): 272-278.

Bluetongue merupakan salah satu penyakit arbovirus yang penyebarannya terjadi melalui serangga *Culicoides* spp. Dalam rangka mendapatkan isolat dari serangga maka koleksi serangga telah dilakukan setiap minggu dari tahun 1991 hingga tahun 1993 dan setiap 2 minggu dari tahun 1993 hingga 1997, di daerah Depok, Jawa Barat, dengan menggunakan lampu perangkap nyamuk "Pirbright type miniature light trap". Serangga tersebut ditampung dalam botol penampung berisi buffer berantibiotik untuk identifikasi spesies dan isolasi virus. Sebanyak 1155 pool serangga telah diproses untuk isolasi virus pada telur embryo tertunas secara *intra vena* sebelum dipasase pada biakan jaringan *Aedes albopictus* dan pasase buta tiga kali pada biakan jaringan BHK-21. Sebanyak 14 pool serangga menghasilkan *Cytopathic effect (CPE)* pada biakan jaringan *Baby Hamster Kidney (BHK-21)* dan pada uji identifikasi, 4 pool bereaksi pada uji Antigen – Capture ELISA. Identifikasi lanjutan untuk menentukan serotipe BTV dilakukan di Laboratorium Referen, menunjukkan bahwa isolat virus BT serotipe 1 berhasil diisolasi dari *C. fulvus*, BTV serotipe 6 dari *C. peregrinus*, dan BTV serotipe 21 dari *C. shortii*, dan *C. orientalis*.

Kata kunci: Virus Bluetongue, isolasi, serangga

PENDAHULUAN

Infeksi arbovirus baik pada manusia maupun hewan telah diketahui keberadaannya di Indonesia. Beberapa jenis penyakit arbovirus yang dapat menyebabkan gejala klinis pada ternak diantaranya Bovine ephemeral fever (BEF), Akabane dan bluetongue (BT) yang dapat menyebabkan kerugian pada petani ternak (RONOHARDJO dan RASTIKO, 1982; SUDANA dan MALOLE, 1982) sehingga penelitian epidemiologinya perlu untuk dikembangkan (OLSON *et al.*, 1985; SOLEHA *et al.*, 1993; SENDOW *et al.*, 1992a).

Isolat virus Arbovirus belum banyak diperoleh dan dilaporkan di Indonesia. Untuk itu penelitian pada sentinel sapi atau ternak telah dilakukan di beberapa Propinsi di Indonesia untuk mengetahui epidemiologi penyakit serta mendapatkan isolat virus bluetongue

(BTV) (SENDOW *et al.*, 1992a). Hingga saat ini 7 serotipe BTV telah berhasil diisolasi dari sapi sentinel di Jawa Barat dan Papua (SENDOW *et al.*, 1992b; 1993a,b). Dengan ditemukannya isolat BTV yang berasal dari darah sapi sentinel di Depok, Jawa Barat, maka penelitian lanjutan terhadap serangga sebagai vektor BT juga dilakukan.

Lebih dari 1.000 spesies *Culicoides* spp. telah diidentifikasi di dunia, namun hanya beberapa spesies saja telah terbukti bertindak sebagai vektor BT dan Arbovirus lainnya. Di Amerika, *C. variipennis* dan *C. insignis* telah dibuktikan bertindak sebagai vektor utama infeksi BT dan *Epizootic Haemorrhagic Disease (EHD)* (MELLOR, 1990). Di Afrika, dimana kasus klinis BT sering terjadi, *C. imicola*, merupakan vektor BT yang paling klasik teridentifikasi (MOHAMMED dan MELLOR, 1990). Selanjutnya di

Australia, *C. fulvus*, *C. wadai*, *C. actoni*, dan *C. brevitarsis* merupakan *Culicoides* spp. yang paling penting peranannya dalam penularan infeksi BT (STANDFAST *et al.*, 1985). Sedangkan di Indonesia, peranan *Culicoides* spp. sebagai vektor BT masih belum diketahui. Namun, satu serotipe BTV telah berhasil diisolasi yang berasal dari serangga *Culicoides* spp. yaitu BTV serotipe 21 (SENDOW *et al.*, 1993c) dan dari kelompok *Aedes* spp. dan *Anopheles* spp. (SENDOW *et al.*, 1994).

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran yang lebih jelas mengenai vektor terduga yang berperan pada infeksi BT di Indonesia, dengan melakukan isolasi BTV yang berasal dari serangga yang ditangkap di Jawa Barat.

MATERI DAN METODE

Lokasi penangkapan

Penangkapan serangga dilakukan di sekitar peternakan sapi perah, dimana tiap peternak mempunyai populasi hingga 60 ekor. Lokasi penangkapan terletak di daerah Depok, Jawa Barat yang mempunyai ketinggian 95 m di atas permukaan laut, dengan curah hujan per tahun antara 2.500 mm hingga 3.000 mm dan rata-rata suhu udara 27°C.

Koleksi serangga

Serangga nyamuk ditangkap dengan menggunakan perangkap lampu "Pirbright type miniature light trap" yang dioperasikan dengan aliran listrik rumah melalui *step down transformer* 12 Volt. Koleksi dilakukan mulai pukul 14.30 hingga 20.00 setiap minggu mulai tahun 1991 hingga 1993, dan mulai tahun 1994 penangkapan dilakukan setiap 2 minggu. Serangga yang tertangkap ditampung dalam botol penampung berisi cairan *Phosphate Buffer Saline* (PBS) yang mengandung 1000 µg Kanamisin, 500 µg Streptomisin dan 500 IU Penisilin per ml. Sebelum digunakan, larutan PBS berantibiotik tersebut diberi 0,1% sabun cair pencuci tangan. Hasil penangkapan disimpan dalam keadaan dingin dan keesokan harinya serangga tersebut diidentifikasi di Bagian Parasitologi, Balai Penelitian Veteriner. Identifikasi *Culicoides* spp. dilakukan berdasarkan kunci determinasi WIRTH dan HUBERT (1989).

Isolasi virus

Metoda yang digunakan berdasarkan yang telah dipaparkan oleh SENDOW *et al.* (1993c). Serangga yang telah diidentifikasi dipilih yang betina dan tidak mengandung darah (*unengorged female*) untuk

kemudian dikelompokkan dalam satu *pool* yang terdiri dari satu spesies. Tiap *pool* serangga mengandung paling banyak 250 ekor dari tiap spesies *Culicoides* untuk isolasi virus. Masing-masing serangga tersebut digerus dalam *tissue grinder* steril yang berisi 2,5 ml PBS berantibiotik 100 µg/ml Streptomisin, 100 IU/ml Penisilin dan 100 µg Kanamisin. Suspensi serangga tersebut kemudian dipusing dengan kecepatan 1.000 x g selama 10 menit dan supernatan setiap *pool* tersebut diinokulasikan pada 5 butir telur ayam embrio tertunas (TET) umur 11 hari secara *intra vena* sebanyak 100 ul tiap telur, kemudian diinkubasikan pada suhu 33,5°C. Pengamatan terhadap embrio dilakukan selama 5 hari dengan meneropong pergerakan embrio tersebut. TET yang mati pada hari pertama dibuang, sedangkan kematian mulai hari ke dua hingga ke lima, diambil jantungnya. Jantung embrio tersebut digerus dalam 2 ml media *Eagles minimum essential medium* (EMEM) (Flow Laboratories) yang mengandung antibiotik dan 2% *Foetal Bovine Serum* (FBS). Supernatan diperoleh dengan memusing suspensi tersebut pada kecepatan 1.000 x g selama 10 menit. Supernatan kemudian difilter dengan ukuran 450 nm milipore (Sartorius) sebelum dipasase pada biakan jaringan *Aedes albopictus* (C6/36). Inokulasi pada biakan jaringan C6/36 tidak menyebabkan terjadinya CPE dan diinkubasi pada suhu ruangan selama 7 hari. Supernatan pada biakan jaringan C6/36 dipanen setelah 7 hari, kemudian disonikasi dua kali dengan frekuensi 20 Hz selama 10 detik dan dilanjutkan dengan 3 kali pasase pada biakan jaringan BHK-21 pada tabung *tissue culture* berputar. Setelah itu pasase pada BHK-21 diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1 minggu. Pengamatan CPE dilakukan setiap hari. Suspensi yang menghasilkan CPE pada biakan jaringan (BHK-21) menunjukkan telah diperoleh isolat virus, sedangkan ketiadaan CPE hingga pasase ke-3 menunjukkan suspensi tersebut tidak mengandung isolat virus dan kemudian dapat dibuang. Isolat virus yang telah diperoleh memerlukan identifikasi lebih lanjut.

Identifikasi isolat virus

Identifikasi awal dari isolat virus yang diperoleh dilakukan dengan uji *antigen capture* ELISA (Ag-C-ELISA), yang menggunakan antibodi monoklonal (Mab) 20-E9/B7/G2 yang spesifik terhadap BTV. Mab tersebut diperoleh dari Australian Animal Health Laboratory (AAHL) Geelong Australia, dan telah dibuktikan tidak terjadi reaksi silang dengan Orbivirus lainnya seperti virus EHD (LUNT *et al.*, 1988). Prosedur uji Ag-C-Elisa dilakukan sesuai dengan yang diuraikan oleh BLACKSELL *et al.* (1994). Hasil positif pada uji ini menunjukkan bahwa isolat tersebut adalah BTV. Identifikasi terhadap serotipe dan konfirmasi isolat dilakukan di dua laboratorium Referen Bluetongue di

Australian Animal Health laboratory (AAHL), Australia dan Onderstepoort, Afrika Selatan.

HASIL

Sebanyak 1.155 *pool* spesies serangga telah diproses sejak tahun 1991 hingga 1997 untuk isolasi virus (Tabel 1). Isolat virus hanya diperoleh pada penangkapan serangga pada tahun 1991 hingga 1992, yakni sebanyak 14 isolat beserta 2 isolat yang telah diidentifikasi sebelumnya sebagai BTV serotipe 21 oleh SENDOW *et al.* (1993c; 1994). Ke-14 isolat tersebut berasal dari *Culicoides* spp. yang terdiri dari *C. orientalis*, *C. shortii*, *C. fulvus*, *C. trithecoides*, *C. peregrinus*, *C. maculatus* dan *C. actoni*, dan dari *Aedes* spp. (Tabel 2). Setelah tahun 1992, tidak satu isolat pun berhasil diisolasi. Hasil identifikasi pendahuluan dengan menggunakan uji Ag-C-ELISA menunjukkan bahwa hanya 4 isolat yang bereaksi dengan monoklonal antibodi terhadap BTV (Tabel 2). Hasil identifikasi lanjutan terhadap serotipe BTV di Laboratorium referen AAHL, menunjukkan bahwa BTV serotipe 1 telah berhasil diisolasi dari *C. fulvus*, BTV serotipe 6 diperoleh dari *pool C. peregrinus* dan BTV tipe 21 dari 2 *pool C. orientalis* dan *C. shortii* (Tabel 3).

Table 1. Jumlah *pool* serangga yang diproses untuk isolasi virus di Jawa Barat sejak tahun 1991 – 1997

Tahun koleksi	Jumlah <i>pool</i>	Isolat virus
1991	258	5*
1992	430	11
1993	323	0
1994	23	0
1995	29	0
1996	23	0
1997	69	0
<i>Total</i>	<i>1155</i>	<i>5</i>

*2 isolat telah diidentifikasi sebagai BTV serotipe 21 oleh (SENDOW *et al.*, 1993c dan 1994)

Hasil penangkapan di Depok sejak tahun 1991 hingga 1997, menunjukkan bahwa 25 spesies *Culicoides* telah berhasil ditangkap selama pengamatan berlangsung. Spesies tersebut adalah *C. actoni*, *C. brevitarsis*, *C. flavipunctatus*, *C. fulvus*, *C. jacobsoni*, *C. maculatus*, *C. orientalis*, *C. wadai*, *C. gemelus*, *C. insignispenis*, *C. peregrinus*, *C. sumatrae*, *C. albibasis*, *C. anophelis*, *C. barnetti*, *C. gewertzi*, *C. palpifer*, *C. parahumeralis*, *C. arakawai*, *C. guttifer*, *C. cameronensis*, *C. geminus*, *C. huffi*, *C. oxystoma* dan *C.*

shortii. Tabel 1 menunjukkan terjadinya penurunan jumlah *pool* sejak tahun 1993, dan hal ini diikuti dengan penurunan jumlah serangga yang diperoleh pada setiap kali penangkapan, yakni tiap spesies mengandung kurang dari 30 ekor pada tahun 1993. Bahkan sejak tahun 1994, setiap spesies dalam satu kali penangkapan hanya terdiri dari 1 hingga 18 ekor *Culicoides* spp. Tabel 4 menunjukkan penurunan jumlah serangga yang ditangkap pada tahun 1997 dibandingkan dengan penangkapan tahun 1992/1993.

Table 2. Isolat virus yang diperoleh dari berbagai *pool* spesies *Culicoides* spp. dan *Aedes* spp. di Depok, Jawa Barat

<i>Pool</i> Spesies	Tanggal koleksi	BTV uji Ag-C-ELISA
<i>C. trithecoides</i>	26-8-1991	-
<i>C. actoni</i>	26-8-1991	-
<i>C. peregrinus</i>	22-8-1991	-
<i>C. trithecoides</i>	1-2-1992	-
<i>avaritia</i>	6-1-1992	-
<i>C. trithecoides</i>	13-4-1992	-
<i>C. orientalis</i>	13-4-1992	+
<i>C. shortii</i>	13-4-1992	+
<i>C. peregrinus</i>	20-4-1992	+
<i>C. trithecoides</i>	15-4-1992	-
<i>C. maculatus</i>	15-4-1992	-
<i>C. trithecoides</i>	10-6-1992	-
<i>C. fulvus</i>	20-4-1992	+
<i>Aedes</i> spp.	20- 4- 92 .	-

-: bukan kelompok virus BTV

+: kelompok virus BTV

Table 3. Isolat virus BT yang telah diisolasi dari penangkapan serangga di Jawa Barat pada tahun 1991 – 1997

Tahun	Jenis serangga	Serotipe
1991	Kelompok <i>avaritia</i> ¹	BTV21
1991	Kelompok <i>mosquitoes</i> ²	BTV21
1992	<i>C. orientalis</i>	BTV21
1992	<i>C. shortii</i>	BTV21
1992	<i>C. peregrinus</i>	BTV6
1992	<i>C. fulvus</i>	BTV1

¹Kelompok *avaritia* yang terdiri dari 227 *C. fulvus* dan 20 *C. orientalis* (SENDOW *et al.*, 1993c)

²Kelompok *mosquitoes* yang terdiri dari 37 *Aedes* spp. dan 7 *Anopheles* spp. (SENDOW *et al.*, 1994)

Table 4. Jumlah *Culicoides* spp. yang ditangkap pada tahun 1992/1993 dan 1997 di Depok, Jawa Barat

Species	Oct. 92 – Sept. 93	April 97 – Nov. 97
<i>C. actoni</i>	5870	703
<i>C. parahumeralis</i>	4523	434
<i>C. sumatrae</i>	2091	3
<i>C. fulvus</i>	1401	12
<i>C. palpifer</i>	1173	6
<i>C. peregrinus</i>	957	125
<i>C. orientalis</i>	809	43
<i>C. oxystoma</i>	681	187
<i>C. shortii</i>	371	49
<i>C. barnetti</i>	92	-
<i>C. geminus</i>	41	16
<i>C. insignipennis</i>	40	3
<i>C. anophelis</i>	24	-
<i>C. guttifer</i>	21	24
<i>C. jacobsoni</i>	18	4
<i>C. gewrtzi</i>	18	-
<i>C. huffi</i>	16	-
<i>C. maculatus</i>	14	-
<i>C. arakawae</i>	8	7
<i>C. wadai</i>	3	-
<i>C. liui</i>	1	-
Total	18172	1616

PEMBAHASAN

Tabel 1 menunjukkan telah terjadi penurunan hasil penangkapan *Culicoides* spp. secara drastis sejak tahun 1994. Hal ini diikuti dengan sedikitnya jumlah serangga yang berhasil ditangkap, sehingga jumlah serangga per *pool* juga menurun. Bahkan jumlah *Culicoides* spp. yang berhasil ditangkap untuk satu kali pengambilan berkisar antara 1 hingga 18 ekor per spesies. Hal ini seiring dengan jumlah isolat yang diperoleh setelah tahun 1993. Dari data tersebut terlihat bahwa makin banyak *Culicoides* yang tertangkap, makin besar peluang untuk mendapatkan isolat virus.

Menurunnya jumlah *Culicoides* spp. yang tertangkap setelah tahun 1993 disebabkan oleh perubahan faktor lingkungan di daerah tersebut, seperti sanitasi kandang yang menjadi lebih baik, yakni dengan tidak ditemukannya tumpukan kotoran sapi dalam waktu lama yang merupakan media pertumbuhan

Culicoides spp. Faktor lain adalah telah berubahnya tanah pertanian di Depok menjadi perumahan untuk tempat pemondokan, sehingga banyak sekali sapi yang dijual akibatnya populasi ternak sapi pun menurun tajam. Hal ini mengakibatkan media perkembangbiakan nyamuk tersebut juga berkurang.

Isolat yang diperoleh dari penelitian ini umumnya berasal dari *pool* serangga yang berisi paling sedikit 30 ekor. Penangkapan serangga sejak tahun 1993, menunjukkan penurunan jumlah serangga yang ditangkap dari masing-masing spesies, yaitu kurang dari 30 ekor per spesies, dan pada saat yang sama hasil isolasi menunjukkan tidak diperolehnya isolat. Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa metode isolasi seperti ini dapat berhasil dengan baik bila setiap *pool* mengandung paling sedikit 30 ekor serangga per spesies.

Tidak diperolehnya isolat sejak tahun 1994, menyebabkan informasi yang diperoleh tidak cukup untuk membuktikan jenis vektor BT yang diduga. Sungguhpun demikian dari 25 spesies yang tertangkap di daerah Depok, hanya 4 spesies yang terdiri dari *C. fulvus*, *C. peregrinus*, *C. shortii* dan *C. orientalis*, yang mengandung BTV dan 3 spesies lainnya, yaitu *C. trithecoides*, *C. actoni*, dan *C. maculatus* mengandung virus Arbovirus lainnya yang masih belum teridentifikasi. Hal ini mengisyaratkan bahwa tidak semua *Culicoides* spp. dapat bertindak sebagai vektor BT.

Di Indonesia, diperolehnya BTV serotipe 1 yang berasal dari *C. fulvus*, dan BTV serotipe 6 yang berasal dari *C. peregrinus* merupakan isolat serotipe BTV yang baru setelah diisolasinya BTV serotipe 21 pada tahun 1991 (SENDOW *et al.*, 1993c; 1994). Dengan diperolehnya isolat BTV serotipe 6 yang berasal dari *C. peregrinus* memungkinkan *C. peregrinus* ikut berperan dalam penularan BT dari hewan ke hewan. Argumen ini ditunjang oleh penelitian STANDFAST *et al.* (1985) yang menyatakan bahwa di Australia *C. peregrinus*, berhubungan dengan ternak ruminansia yang juga dapat membantu pertumbuhan BTV serotipe 1 dan 20 setelah mengisap darah domba yang telah diinokulasi oleh kedua serotipe BTV secara percobaan, sehingga spesies tersebut diduga dapat memainkan peranannya sebagai vektor BT, meskipun peranannya sebagai vektor masih belum dibuktikan. Untuk itu uji vektor kompeten terhadap kedua spesies tersebut perlu ditindaklanjuti.

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa isolat BTV dan arbovirus lainnya yang masih belum teridentifikasi, berhasil diisolasi dari *C. peregrinus*. Hal ini mengindikasikan bahwa selain sebagai vektor terduga, *C. peregrinus* juga dapat berperan sebagai vektor terduga arbovirus lainnya. Lebih lanjut, SUKARSIH *et al.* (1996) melaporkan bahwa *C. peregrinus* merupakan spesies yang paling dominan di Jawa Barat dan keberadaannya telah tersebar hampir di

seluruh Indonesia dengan kepadatan populasi yang berbeda di tiap daerah.

Penelitian terdahulu melaporkan bahwa BTV serotipe 21 telah berhasil diisolasi dari *pool* Avaritia yang terdiri dari 227 ekor *Culicoides fulvus* dan 20 *Culicoides orientalis* (SENDOW *et al.*, 1993c), dan *pool* campuran 37 ekor *Aedes* spp. dan 7 ekor *Anopheles* spp. (SENDOW *et al.*, 1994). BROWN *et al.* (1992) juga melaporkan telah berhasil mengisolasi BTV yang belum teridentifikasi hingga serotipe yang berasal dari *Anopheles vagus* yang dikoleksi di Jawa Tengah pada tahun 1981. Meskipun BTV dapat diisolasi dari kelompok *Aedes* maupun *Anopheles* spp., akan tetapi peranannya masih belum diketahui dengan pasti.

Disamping *C. fulvus*, BTV serotipe 21 juga berhasil diisolasi dari *pool* *C. orientalis* dan *C. shortii*. Ketiga spesies tersebut juga termasuk dalam kelompok Avaritia yang merupakan vektor BT pada ternak di Australia (STANDFAST *et al.*, 1985). Bahkan GARD dan MELVILLE (1989), mengindikasikan bahwa *C. orientalis* dapat bertindak sebagai vektor yang potensial. STANDFAST *et al.* (1985) melaporkan bahwa ketiga spesies *Culicoides* spp. tersebut sangat membutuhkan kotoran sapi sebagai media perkembangbiakannya. Di Indonesia ketiga spesies tersebut telah ditemukan di Indonesia dan kepadatan populasinya berbeda dari daerah ke daerah lain (SUKARSIH *et al.*, 1993), meskipun peranannya sebagai vektor BT masih belum diketahui dengan pasti.

Selain isolat BTV tipe 21, BTV serotipe 1 juga berhasil diisolasi dari *C. fulvus*. Dari data tersebut terlihat bahwa beberapa serotipe BTV dapat diisolasi dari *C. fulvus*. Penelitian STANDFAST *et al.* (1992) menunjukkan bahwa rasio infeksi BTV 1 dan 20 pada *C. fulvus* melebihi 40% yang merupakan vektor BT yang paling efisien di Australia bagian Utara. Bahkan, *C. fulvus* dapat terinfeksi BT setelah menghisap darah domba yang mengalami viraemia terhadap BTV tipe 21 secara buatan. Lebih lanjut, penelitian STANDFAST *et al.* (1992), menunjukkan bahwa *C. fulvus* mempunyai derajat infeksi terhadap BT sangat tinggi dibandingkan dengan spesies *Culicoides* lainnya seperti tertuang pada

Tabel 5. Hal ini mengindikasikan bahwa apabila populasi *C. fulvus* meningkat maka akan terjadi infeksi beberapa serotipe BTV diantara ternak disekitar lokasi tersebut. Dari data tersebut, maka vektor kompeten dan kapasitas masing-masing spesies merupakan bagian terpenting dari penularan BT, sehingga daerah yang mempunyai resiko infeksi BT terbesar dapat teridentifikasi. Dengan demikian pada waktu pemasukan domba impor di suatu daerah dapat diantisipasi dengan lebih bijak dan efektif untuk menghindari terjadinya wabah BT seperti yang terjadi pada tahun 1981 di daerah Caringin Bogor. Secara serologis, infeksi BTV serotipe 1, 20 dan 21 merupakan serotipe yang paling sering terjadi di Indonesia.

Lebih lanjut STANDFAST *et al.* (1985) menyatakan bahwa 7 spesies *Culicoides* yaitu *C. Actoni*, *C. brevipalpis*, *C. brevitarsis*, *C. fulvus*, *C. oxystoma*, *C. peregrinus* dan *C. wadai*, telah terbukti mendukung perkembangbiakan BTV secara buatan di Australia dan *C. actoni* dan *C. fulvus* dapat menularkan infeksi BT dari domba ke domba lain. Bahkan *C. fulvus* merupakan vektor yang sangat efisien bagi penularan BT (STANDFAST *et al.*, 1992).

Hampir semua *Culicoides* spp. yang daripadanya berhasil diisolasi BTV telah tersebar di beberapa negara di Asia seperti, Indonesia, India, Papua Nugini dan Malaysia serta Australia (WIRTH dan HUBERT, 1989). SUKARSIH *et al.* (1993) melaporkan bahwa *C. brevitarsis*, *C. fulvus*, *C. orientalis*, *C. peregrinus* dan *C. oxystoma* dapat ditemukan hampir di seluruh wilayah Indonesia. Untuk itu pemahaman tentang epidemiologi infeksi bluetongue sebagai salah satu penyakit orbovirus perlu mendapat perhatian agar kemungkinan terjadinya wabah pada domba impor dapat diantisipasi.

SENDOW *et al.* (1993a), menunjukkan bahwa BTV serotipe 1 dan 21 juga telah berhasil diisolasi dari darah sapi sentinel di Irian Jaya pada tahun 1991. Data tersebut mengindikasikan bahwa BTV tipe 1 dan 21 telah menyebar di Indonesia. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui apakah isolat BTV yang diperoleh baik dari serangga maupun darah sapi, berasal dari suatu kelompok populasi virus yang sama.

Tabel 5. Derajat infeksi beberapa serotipe virus bluetongue terhadap beberapa spesies *Culicoides* spp. secara buatan (%)

Spesies	Serotipe virus BTV			
	1	15	20	21
<i>C. fulvus</i>	43	8	62	3,6
<i>C. wadai</i>	10,8	NT	4,2	NT
<i>C. actoni</i>	2,1	NT	1,0	NT
<i>C. brevipalpis</i>	0,8	NT	0	NT
<i>C. brevitarsis</i>	0,1	NT	0,3	0,4

NT = tidak dilakukan

Sumber: STANDFAST *et al.* (1992)

SENDOW *et al.* (1992b; 1993a, b) juga menunjukkan bahwa 6 serotipe BTV yaitu BTV serotipe 1, 7, 9, 12, 21, dan 23 yang telah berhasil diisolasi, berasal dari darah sapi sentinel yang secara klinis dinyatakan sehat. Sedangkan hasil isolasi BTV asal *Culicoides* spp. hanya diperoleh 3 serotipe BTV. Hal ini menunjukkan bahwa paling sedikit masih ada kemungkinan 3 serotipe BTV yang belum terjaring dengan metode ini.

Survei serologis yang dilakukan oleh SENDOW *et al.* (1991), melaporkan bahwa BTV serotipe 20 merupakan serotipe yang paling dominan. Lebih lanjut, Penelitian terdahulu melaporkan bahwa selain antibodi BTV tipe 20, antibodi terhadap BTV serotipe 1 dan 21 merupakan tipe yang paling sering ditemukan pada sapi sentinel di daerah Depok. Dari data tersebut, BTV serotipe 1, 20 dan 21 seharusnya dapat diisolasi baik dari hewan maupun serangga, namun pada kenyataannya hingga saat ini BTV tipe 20 belum berhasil diisolasi dari darah sapi maupun serangga. Untuk itu perlu diterapkan metode lain yang lebih sensitif guna dapat menjaring isolat BTV lebih banyak.

Menurut MAC LACHLAN *et al.* (1994), uji *Polymerase Chained reaction* (PCR), dapat digunakan untuk mendeteksi antigen BTV baik dari darah, organ maupun dari serangga. SCHOEPP *et al.* (1992), membuktikan bahwa dengan menggunakan teknik cDNA probe atau blot hybridization, dapat mendeteksi 1 ekor *Culicoides variipennis* yang mengandung virus BTV. WILSON dan CHASE (1993), juga membuktikan bahwa dengan uji PCR, dapat mendeteksi Ribonuclei acid (RNA) BTV yang mengandung 1 *plaque forming Unit* (PFU) dari *Culicoides imicola*, Selain sensitif, PCR dapat mendeteksi partikel BTV yang berasal dari *Culicoides* yang telah lama berada dalam alkohol 70% (WILSON pers. comm). Lebih lanjut SENDOW *et al.* (1997) juga menunjukkan bahwa uji PCR dapat digunakan untuk mendeteksi antigen BTV dalam darah sapi. Hal ini akan mempermudah dan mempercepat hasil yang akan diperoleh dan tidak memerlukan spesimen yang masih segar seperti halnya metode isolasi yang saat ini digunakan.

Untuk itu penerapan uji PCR atau uji biologi molekuler lainnya dalam mendeteksi antigen BTV dari berbagai spesies *Culicoides* spp. yang ada di Indonesia perlu diterapkan untuk mendapatkan gambaran vektor terduga yang lebih lengkap sehingga pemahaman tentang epidemiologi penyakit BT dapat lebih dimengerti.

KESIMPULAN DAN SARAN

Virus Bluetongue serotipe 1, 6 dan 21 telah berhasil diisolasi dari beberapa spesies *Culicoides* yang ditangkap di sekitar peternakan sapi di daerah Jawa Barat. Penerapan uji yang lebih sensitif perlu dikembangkan untuk mengetahui spesies vektor terduga

infeksi BT serta studi vektor kompeten perlu dilakukan untuk mengkonfirmasi vektor BTV di Indonesia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini disponsori oleh International Atomic Energy Agency joint FAO, Australian Quarantine Inspection Service, dan Balai Penelitian Veteriner.

Terima kasih yang sebesar-besarnya, penulis sampaikan kepada Mr. Ross Lunt (Australia), yang telah banyak membantu dalam identifikasi serotipe isolat BTV, Dra. Sukarsih MSc. untuk diskusi, data dan identifikasi serangga, Alm. Dra. Eha Soleha, yang telah banyak membantu dalam pekerjaan di Laboratorium dan lapang, serta Dr. Peter Daniels (Australia) atas diskusi dan saran sehingga tulisan ini dapat terlaksana dengan baik. Tanpa bantuan teman-teman sejawat dan teknisi di Bagian Virologi, Balai Penelitian Veteriner, penelitian ini tidak dapat terlaksana dengan baik, untuk itu penulis sangat menghargai bantuan, saran serta dukungannya.

DAFTAR PUSTAKA

- BLACKSELL, S.D., R.A. LUNT and J.R. WHITE. 1994. A rapid indirect ELISA for the serogrouping of Australian Orbiviruses. *J. Virol. Methods* 49 : 67-78.
- BROWN, S. E., B. M. GORMAN, R.B. TESH and D.L. KNUDSON. 1992. Isolation of bluetongue and epizootic haemorrhagic disease viruses from mosquitoes collected in Indonesia. *Vet. Microbiol.* 32 : 241 – 251.
- GARD, G. P., and L. F. MELVILLE. 1989. The evolution of Bluetongue in Northern Australia. In: "5 th Symposium Arbovirus Research in Australia". UREN, M.F., BLOK, J. and L.H. MANDERSON (Eds.). CSIRO and QIMR. pp: 303-305.
- LUNT, R. A., J. R. WHITE and S. D. BLACKSELL. 1988. Evaluation of a monoclonal antibody blocking ELISA for the detection of group specific antibodies to bluetongue virus in experimental and field sera. *J. gen. virol.* 69 : 2729 – 2740.
- MAC LACHLAN, N.J., R.A. NUNAMAKER, J.B. KATZ, M.M. SAWYER, G.Y. AKITA, B.I. OSBURN, and W.J. TABACHNICK. 1994. Detection of bluetongue virus in the blood of inoculated calves: comparison of virus isolation, PCR assay, and *in vitro* feeding of *Culicoides variipennis*. *Arch. Virol.* 136 (1-2): 1-8.
- MELLOR, P.S. 1990. The replication of bluetongue virus in *Culicoides* vectors. *Curr. Trop. Microbiol. Immunol.* 162: 143
- MOHAMMED, M.E.H. and MELLOR, P.S. 1990. Further studies on Bluetongue and bluetongue related orbivirus in the Sudan. *Epidemiol. Infect.* 105: 619.
- OLSON, J.G., KSIAZEK, T.G., LEE, V.L., TAN. R. and SHOPE, R, E. 1985. Isolation of Japanese encephalitis virus from *Anopheles annularis* and *Anopheles vagus* in Lombok,

- Indonesia. *Transect Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* 79 : 845 – 847.
- RONOHARDJO, P., and RASTIKO, P. 1982. Some epidemiological aspects and economic loss of bovine ephemeral fever outbreak in Tuban and surrounding areas, East Java, Indonesia. *Penyakit Hewan* 14 (24): 25–29.
- SCHOEPP, R.J., THOMPSON, L.H., HOLBROOK, F.R., BLAIR, C.D., ROY, P., and BEATY, B.J. 1992. Specificity of molecular hybridization techniques for the detection of bluetongue virus serotypes in *Culicoides variipennis*. *Mol. Cell Probes*, 6 (5) : 431- 438.
- SENDOW, I., D.H. CYBINSKI, P.W. DANIELS, P.L. YOUNG and P. RONOHARDJO. 1991. Antibodies against certain bluetongue and epizootic haemorrhagic disease viral serotype in Indonesian ruminants. *Vet. Microbiol.* 28 : 111.
- SENDOW, I., P.W. DANIELS, E. SOLEHA, and E. SUKARSIH. 1992a. Epidemiological studies of bluetongue viral infection in Indonesian livestock. In: “ Bluetongue, African Horse Sickness, and related Orbivirus”. Proc. 2nd International Symposium. WALTON, T.E and OSBURN, B.I. (Eds.). CRC Press Boca Raton. pp: 147-154.
- SENDOW, I., P.W. DANIELS, E. SOLEHA, N. HUNT and P. RONOHARDJO. 1992b. Isolation of Bluetongue viral serotypes 7 and 9 from healthy sentinel cattle in West Java, Indonesia. *Aust. Vet. J.* 68: 405.
- SENDOW, I., E. SOLEHA, P.W. DANIELS, D. SEBAYANG, J. ACHDIYATI, K. KARMA and B.J. ERASMUS. 1993a. Isolation of bluetongue viral serotypes 1, 21 and 23 from healthy sentinel cattle in Irian Jaya, Indonesia. *Aust. Vet. J.* 70: 229-230.
- SENDOW, I., P.W. DANIELS, E. SOLEHA, B. ERASMUS, SUKARSIH, and P. RONOHARDJO. 1993b. Isolation of bluetongue virus serotypes new to Indonesia from sentinel cattle in West Java. *Vet. Rec.* 133: 166-168.
- SENDOW, I., E. SUKARSIH, E. SOLEHA, B.J. ERASMUS, and P.W. DANIELS. 1993c. Isolation of bluetongue virus serotype 21 from *culicoides* spp. in Indonesia *Vet. Microbial.* 36:349-353. 26 (48): 21-25.
- SENDOW, I., E. SUKARSIH, E. SOLEHA and P.W. DANIELS. 1994. Isolation of bluetongue virus serotype 21 from mosquitoes in West Java, Indonesia. *Penyakit Hewan* 26: 21-25. (Edisi khusus).
- SENDOW, I., L.I. PRITCHARD and P. DANIELS. 1997. Detection of bluetongue virus in Indonesia using the reverse transcriptase polymerase chain reaction. *Indonesian J. Trop. Agric.* 8 (2): 29 – 33.
- SOLEHA, E., P.W. DANIELS, I. SENDOW and E. SUKARSIH. 1993. Bovine Ephemeral fever group viral infections in Indonesia- Seroepidemiological studies. In: ”Arbovirus research in Australia” Proc. sixth Symposium. UREN, M.F. and KAY, B.H. (Eds.). CSIRO/QIMR, Brisbane. pp. 179 – 183.
- STANDFAST, H.A., A. L. DYCE and M. J. MULLER. 1985. Vectors of bluetongue virus in Australia. In: “Bluetongue and related Orbiviruses”. BARBER, T.C., JOCHIM, M.C. and OSBURN, B.I. Allan R. Liss (Eds.). Inc. New York. pp : 177 – 186.
- STANDFAST, H.A., M. J. MULLER and A.L. DYCE. 1992. An overview of bluetongue virus vector biology and ecology in the Oriental and Australian Regions of the Western Pacific. In: “Bluetongue, African Horse Sickness, and related Orbivirus”. Proc. 2nd International Symposium. WALTON, T.E and OSBURN, B.I. (Eds.). CRC Press Boca Raton. pp: 253 – 261.
- SUDANA, I.G., dan M. MALOLE. 1982. Penyidikan penyakit hewan bluetongue di desa Caringin, Kabupaten Bogor. *Annual Report of Disease Investigation in Indonesia during the Period of 1975-1981*, Direktorat Kesehatan Hewan, Direktorat Jenderal Peternakan, Jakarta. pp:110-121.
- SUKARSIH, E., P.W. DANIELS, I. SENDOW and E. SOLEHA. 1993. Longitudinal studies of *Culicoides* spp. Associated with livestock in Indonesia. In: Proceedings Arbovirus Research in Australia the 6th Symposium. Brisbane, Australia. 12-18 December, 1992. pp: 203-208.
- SUKARSIH, E., I. SENDOW, S. BAHRI, M. PEARCE and P.W. DANIELS. 1996. *Culicoides* surveys in Indonesia. In: ”Bluetongue in South East Asia and the Pacific Region”. ST GEORGE, T.D. and PENG KEGAO (Eds.). Proc. No. 66. ACIAR Canberra. pp: 123-128.
- WILSON, W.C. and C.C. CHASE. 1993. Nested and multiplex polymerase chain reactions for the identification of bluetongue virus infection in the biting midge, *Culicoides variipennis*.
- WIRTH, W.W., and A.A. HUBERT. 1989. The *Culicoides* of Southeast Asia (Diptera: ceratopogonidae). The American Entomological Institute, Florida, USA.