PERAN DIPTERA HEMATOFAGUS SEBAGAI VEKTOR *TRYPANOSOMA EVANSI*

ISMU PRASTYAWATI SUKANTO, L. SOLIHAT, F. POLITEDY, M. DACHLAN, A.H. WARDHANA, dan E. SATRIA

Balai Penelitian Veteriner
Jalan R.E. Martadinata 30, P.O. Box 151, Bogor 16114

ABSTRAK

Penyakit surra yang disebabkan oleh *Trypanosoma evansi* digolongkan dalam penyakit strategik yang menimbulkan kerugian ekonomik yang cukup besar. Beragam spesies lalat telah diketahui sebagai vektor *T. evansi*, yaitu lalat lalat dari genus *Tabanus* dan *Stomoxys*. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi spesies lalat yang mempunyai potensi sebagai vektor *T. evansi* di Kabupaten Sumbawa yang mempunyai ekosistem yang berbeda dari ekosistem di daerah Indonesia bagian Barat. Uji *polymerase chain reaction* (PCR) telah dipakai pada penelitian ini untuk deteksi DNA dari *T. evansi* yang berada di dalam isi abdomen lalat vektor. Untuk mengetahui keadaan epidemiologi penyakit surra di kabupaten Sumbawa, dilakukan pula uji *microhematocrit centrifugation technique* (MHCT) untuk deteksi infeksi *T. evansi* dan uji *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) untuk deteksi antibodi *T. evansi*. Secara umum penelitian ini menunjukkan bahwa prevalensi infeksi dan antibodi *T. evansi* bersifat fluktuatif mulai bulan Oktober 1998 sampai bulan November 1999 dengan prevalensi tertinggi pada bulan-bulan Oktober 1998 dan Juli 1999. *Haematobia irritans* adalah spesies lalat yang paling banyak ditemui selama pengumpulan sampel dilakukan. DNA *T. evansi* ditemukan dalam sampel serapan darah dari lalat *Haematobia irritans, Stomoxys calcitrans, Hippobosca sp., Musca domestica* dan *Sarcophaga sp.* Persentase sampel lalat yang mengandung DNA *T. evansi* yang tertinggi adalah sampel dari lalat *H. irritans* dimana lebih dari 20% dari lalat yang diuji mengandung DNA *T. evansi*. Hasil pengujian dengan PCR ini menunjukkan pula bahwa sebagian besar sampel lalat *H. irritans* yang diambil bulan November 1999 mengandung DNA *T. evansi*.

Kata kunci: Trypanosoma evansi, ELISA, MHCT, PCR, diptera, hematofagus, Stomoxys calcitrans, Haematobia irritans, Musca domestica, Hippobosca sp., Sarcophaga sp., vektor, DNA

PENDAHULUAN

Surra adalah penyakit yang disebabkan oleh parasit darah *Trypanosoma evansi* yang merupakan salah satu penyakit utama pada ternak sapi, kerbau dan kuda. Surra dapat menyebabkan turunnya produksi daging (PAYNE *et al.*, 1992a,b), keguguran (LOHR *et al.*, 1986) dan berkurangnya tenaga kerja (PAYNE *et al.*, 1991; PAYNE *et al.*, 1992b). Kerbau telah diketahui lebih sensitif terhadap infeksi *T. evansi* daripada sapi (SUKANTO *et al.*, 1988; PAYNE *et al.*, 1990) hal ini mungkin karena tempat pemeliharaan kerbau berada didekat daerah irigasi dan tempat lalat vektor berkembang biak.

Jenis lalat diptera telah banyak dilaporkan dapat bertindak sebagai vektor surra yaitu dari genus *Tabanus* (MIHOK *et al.*, 1995; LUCKINS, 1988) dan *Stomoxys* (MIHOK *et al.*, 1995; LUN *et al.*, 1992). Untuk mengetahui spesies lalat yang mempunyai potensi sebagai vektor surra, diperlukan cara yang sensitif dan spesifik yang dapat menganalisa kandungan darah yang telah dihisap oleh lalat. Telah diketahui bahwa dengan teknik amplifikasi DNA adalah cara yang sensitif dan spesifik untuk mendiagnosa suatu penyebab penyakit. Teknik amplifikasi dengan polymerase chain reaction atau PCR untuk mendiagnosa *T. evansi* di dalam kandungan isi abdomen lalat telah dikembangkan oleh BOID *et al.* (1997) dengan memakai primer yang berasal dari sekuensi ulangan dari DNA nuklir (WUYTS *et al.*, 1994) yang dapat dipakai untuk mendeteksi DNA *T. evansi*. Dengan cara ini maka

kandungan DNA *T. evansi* dalam darah yang telah dihisap oleh lalat akan dapat terdeteksi dan lalat tersebut dapat diduga menjadi vektor *T. evansi*.

Penelitian ini dilakukan di Kabupaten Sumbawa yang mewakili daerah surra yang mempunyai ekosistem berbeda dari daerah-daerah di Indonesia bagian Barat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui keragaman spesies lalat yang mempunyai potensi sebagai vektor *T. evansi* dan mengetahui perannya sebagai vektor *T. evansi* pada musim hujan dan kemarau.

MATERI DAN METODE

Koleksi sampel darah dan serum

Sampel darah dan serum dikoleksi dari sapi, kerbau dan kuda di kabupaten Sumbawa. Sampel serum dibawa kembali ke Balitvet untuk pengujian *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) (LUCKINS, 1983) dan sampel darah dipakai untuk pengujian dengan *microhematocrit centrifugation technique* (MHCT) (WOO, 1970) yang dilakukan di lapangan.

Koleksi sampel lalat

Lalat yang berada di sekeliling hewan dikoleksi dengan menggunakan jaring atau langsung menggunakan tangan untuk lalat yang sedang menghisap darah. Identifikasi spesies dan jenis kelamin lalat dilakukan pada lalat yang tertangkap setelah lalat dilumpuhkan dengan cara memasukkan sampel lalat di dalam *freezer* -10^0C. Setelah identifikasi kemudian dilakukan pemisahan antara bagian abdomen dan thorax dari lalat. Sampel isi abdomen lalat kemudian diproses dan disimpan seperti dilaporkan oleh SUKANTO *et al.* (2000).

Deteksi *T. evansi* pada darah lalat yang dikumpulkan dari lapangan dengan uji PCR

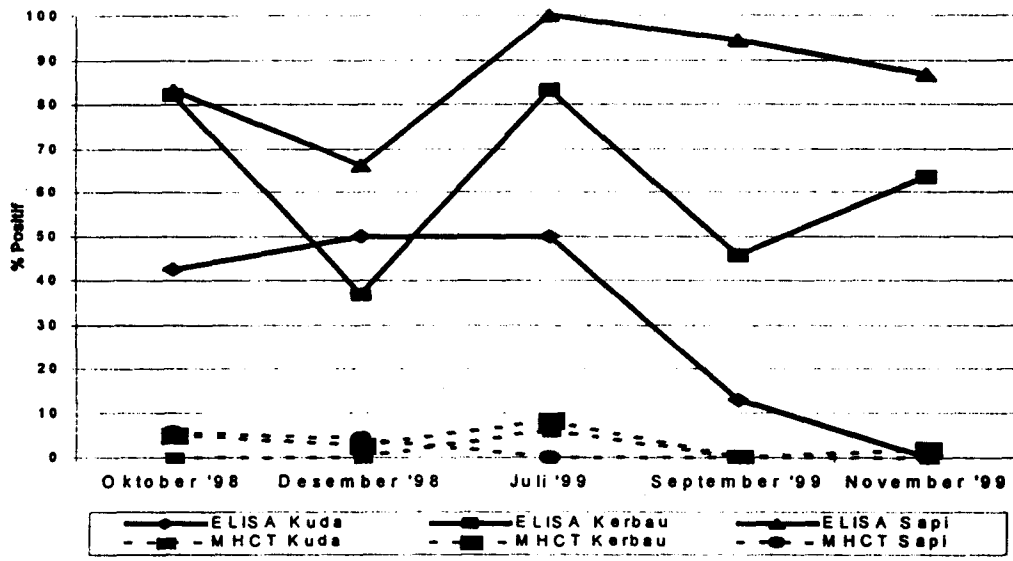
Uji PCR yang dilakukan untuk mendeteksi DNA *T. evansi* di dalam kandungan isi abdomen lalat dilakukan berdasarkan metoda yang telah dikembangkan oleh BOID *et al.* (1997). Proses elusi DNA *T. evansi* dilakukan menurut BOID *et al.* (1997) dan SUKANTO *et al.* (2000). Elusi sampel DNA ini kemudian digunakan untuk uji PCR dengan primer yang berasal dari DNA sekuensi ulang yang berasal dari inti sel *T. evansi,* yaitu: 5'CGAATGAATATTAAACAATGCGCAGT3' dan 5'AGAACCATTTATTAGCTTTGTTTGC3' (WUYTS *et al.*, 1994). Hasil uji PCR dilihat dengan gel agarose electrophoresis yang diwarnai dengan *ethidium bromide* dan hasilnya diamati diatas sinar ultraviolet. Berat molekul DNA yang telah diamplifikasi dibandingkan dengan penanda ukuran DNA 1 kb.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan parasitologik dan serologik

Hasil pemeriksaan sampel darah secara parasitologik dengan MHCT dan serum dengan ELISA seperti pada Gambar 1. Pemeriksaan dengan MHCT ini dapat mendeteksi infeksi *T. evansi, T. theileri* atau infeksi campuran antara *T. evansi* dan *T. theileri. Trypanosoma theileri* adalah salah satu spesies trypanosoma yang tidak patogen dan umumnya didapatkan pada sapi maupun kerbau. Kedua spesies trypanosoma ini dapat dibedakan secara morfologik, *T. theileri* jauh lebih besar (~50

μm) dibanding *T. evansi* (~20-30 μm) (HOARE, 1972) dan gerakan *T. theileri* terlihat lebih lambat dari *T. evansi*.



Gambar 1. Prevalensi antibodi ELISA dan infeksi T. evansi pada sapi, kerbau, dan kuda di Kabupaten Sumbawa

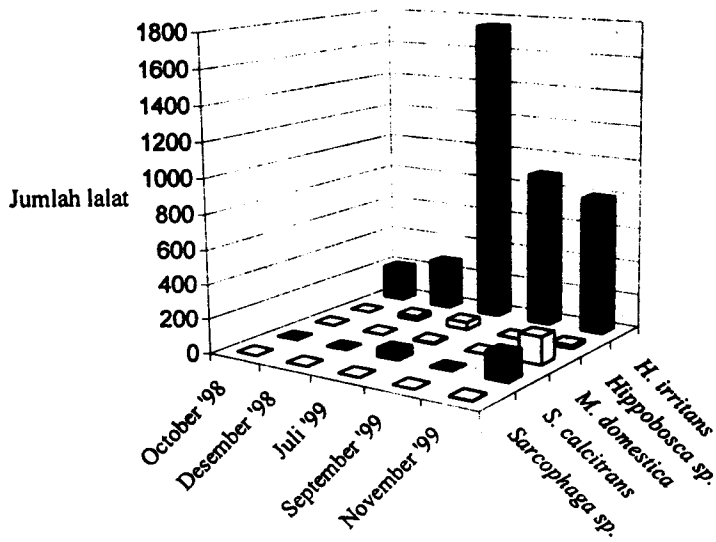
Pada umumnya prevalensi infeksi *T. evansi* yang diperiksa dengan MHCT pada kerbau lebih tinggi jika dibanding dengan sapi dan kuda. Prevalensi infeksi *T. evansi* pada kerbau dan sapi terlihat fluktuatif dari bulan Juli 1998 sampai bulan Desember 1999 dengan prevalensi yang tinggi ditemukan pada bulan Oktober 1998 dan Juli 1999. Infeksi *T. evansi* tidak terdeteksi pada hewan yang diambil sampelnya pada bulan September, dimana kondisi lapangan saat itu sangat kering, tetapi data curah hujan di lokasi pengambilan sampel tidak berhasil diperoleh dari instansi terkait. Infeksi *T. evansi* ditemukan pada seekor kuda yang dibawa ke Pos Kesehatan Hewan dengan gejala klinis surra. Infeksi *T. evansi* ini pada kuda menyebabkan akibat yang fatal, karena kuda sangat rentan terhadap infeksi *T. evansi*. Sejauh ini, uji parasitologik dengan MHCT masih merupakan uji lapangan yang cukup praktis untuk deteksi infeksi *T. evansi* jika dibandingkan dengan pemeriksaan preparat natif maupun ulas darah yang diwarnai dengan Giemsa.

Seperti halnya dengan prevalensi infeksi *T. evansi* pada pemeriksaan parasitologik, prevalensi antibodi pada hewan yang diperiksa juga menunjukkan hasil yang fluktuatif mulai bulan Oktober 1998 sampai Juli 1999. Secara umum terlihat bahwa prevalensi antibodi cukup tinggi pada awal

pengambilan sampel pada bulan Oktober 1998 dan bulan Juli 1999. Hal yang nyata dari hasil kedua uji ini adalah perbedaan yang menyolok antara angka prevalensi infeksi *T. evansi* dengan MHCT dan prevalensi antibodi dengan ELISA dimana prevalensi antibodi ELISA menunjukkan angka yang jauh lebih tinggi daripada angka yang ditunjukkan oleh hasil pemeriksaan MHCT. Uji ELISA yang dipakai pada penelitian ini adalah uji untuk deteksi antibodi dan karena antibodi dalam tubuh hewan dapat bertahan sangat lama, maka antibodi *T. evansi* masih bisa dideteksi walaupun hewan tersebut tidak terinfeksi pada saat pengambilan sampel.

Analisa isi abdomen lalat dengan PCR

Gambar 2 menunjukkan jumlah lalat yang berhasil ditangkap dari Kabupaten Sumbawa. Jumlah sampel yang diperoleh ini tidak menunjukkan jumlah populasi lalat di lapangan. Selain lalat *Haematobia irritans* yang paling banyak tertangkap dari sapi dan kerbau di kabupaten Sumbawa, lalat lain yang tertangkap adalah lalat dari spesies *Stomoxys calcitrans, Musca domestica* dan sejumlah lalat *Hippobosca sp.* Lalat *H. irritans* paling banyak tertangkap pada waktu pengambilan sampel bulan Juli 1999. Jumlah dan ragam spesies lalat paling banyak tertangkap pada bulan November 1999. Lalat Tabanus tidak ditemui di lapangan pada waktu pengambilan sampel dilakukan. Lalat Tabanus adalah vektor *T. evansi* yang paling potensial yang dapat menghisap 0,5 ml darah hewan; dapat terbang sampai sejauh 60 km serta *T. evansi* tetap dapat hidup di bagian mulut lalat dan masih infektif sampai 6 jam (NIESCHULZ, 1930).



Gambar 2. Jumlah dan ragam lalat yang tertangkap di Kabupaten Sumbawa

Tabel 1 adalah hasil pengujian sampel darah lalat dengan uji PCR. Persentase sampel lalat yang mengandung DNA *T. evansi* yang tertinggi adalah sampel dari lalat *H. irritans* dimana lebih dari

20% dari lalat yang diuji mengandung DNA *T. evansi*. Persentase tersebut kemudian menurun pada pengambilan sampel berikutnya dan meningkat kembali pada bulan September dan November 1999. Hasil pengujian dengan PCR ini menunjukkan bahwa sebagian besar sampel lalat yang diambil bulan November 1999 mengandung DNA *T. evansi*. Hal ini menunjukkan kemungkinan tingginya tingkat transmisi *T. evansi* diantara hewan-hewan di lokasi pengambilan sampel.

Peran lalat *H. irritans* dalam transmisi infeksi *T. evansi* belum diketahui sedangkan lalat *S. calcitrans* sudah diketahui sebagai vektor *T. evansi* (MIHOK *et al.*, 1995). Selain kedua jenis lalat tersebut, diketahui pula bahwa lalat *Hippobosca* dan *M. domestica* mengandung DNA *T. evansi* pada uji PCR. Peran lalat *M. domestica* sebagai vektor *T. evansi* diragukan karena bentuk alat makannya berbeda dari *S. calcitrans*. Lalat *H. irritans* dan *Hippobosca* belum pernah dilaporkan sebagai vektor *T. evansi*, oleh karena itu perlu diketahui peran kedua jenis lalat tersebut dalam penyebaran penyakit surra mengingat kedua jenis lalat tersebut sangat banyak ditemukan pada hewan sapi, kerbau maupun kuda di Kabupaten Sumbawa.

Tabel 1. Hasil pengujian DNA *T. evansi* dengan uji *polymerase chain reaction* (PCR) pada sampel darah lalat yang tertangkap di kabupaten Sumbawa

Kunjungan	Jumlah PCR +/Jumlah sampel yang diuji (%)				
	S. calcitrans	*H. irritans*	*M. domestica*	*Hippobosca sp*	*Sarcophaga*
Oktober '98	-	10/42	0/2	-	-
		23,8%	0,0%		
Desember '98	-	7/56	0/1	1/13	-
		12,5%	0,0%	7,7%	
Juli '99	2/17	5/134	0/1	6/35	-
	11,8%	14,7%	0,0%	17,1%	
September '99	0/2	21/83	2/6	0/2	-
	0,0%	25,3%	33,3%	0,0%	
November '99	23/30	5/10	8/21	8/12	1/2
	76,7%	50,0%	38,1%	66,7%	50,0%

Keterangan: -: Tidak ada sampel

KESIMPULAN DAN SARAN

Trypanosoma evansi terdapat secara endemik di lokasi penelitian di Kabupaten Sumbawa. Penelitian ini menunjukkan bahwa angka prevalensi infeksi dan antibodi *T. evansi* bersifat fluktuatif, dimana hal ini mungkin karena populasi lalat vektor yang juga fluktuatif menurut keadaan cuaca dan suhu udara. Rencana semula untuk mengetahui dinamika infeksi *T. evansi* pada musim kemarau dan hujan sulit dilakukan karena pengambilan sampel lapangan tidak dilakukan secara rutin pada musim yang tepat. Untuk pengumpulan informasi yang selengkapnya perlu diadakan studi yang lebih intensif dengan mengumpulkan data selengkap mungkin termasuk data curah hujan dan pengambilan sampel pada hewan pelacak.

Spesies lalat yang paling banyak tertangkap di kedua lokasi penelitian adalah lalat dari spesies *Haematobia irritans*. Lalat *Tabanus* tidak ditemukan di kabupaten Sumbawa sewaktu pengambilan sampel berlangsung. Lalat *Hippobosca sp.* banyak ditemui di kabupaten Sumbawa, sedangkan peran lalat dari spesies ini sebagai vektor *T. evansi* belum diketahui.

Pengendalian penyakit surra harus dilakukan secara efisien dan ekonomis, mengingat obat surra yang efektif sangat sulit diperoleh dan jika ada, harganya sangat mahal. Untuk mengatasi masalah ini, harus dicarikan obat alternatif yang murah, efektif, mudah aplikasinya dan mudah didapat. Cara pengendalian surra, baik memakai obat trypanosidal maupun insektisida untuk mengusir lalat selayaknya digunakan secara strategis yaitu pada awal mulai terjadinya infeksi *T. evansi* untuk mencegah penyebarluasan infeksi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Kepala Dinas serta Staf Kesehatan Hewan dari Dinas Peternakan Propinsi Daerah Tingkat I Nusa Tenggara Barat; Kepala Dinas Peternakan Kabupaten Sumbawa beserta staff Kesehatan Hewan serta petugas lapangan yang telah membantu pengambilan sampel di lapangan. Penelitian ini dapat dilakukan atas biaya dari dana APBN tahun anggaran 1998/1999 dan 1999/2000.

DAFTAR PUSTAKA

BOID, R., T.W. JONES, and A. MUNRO. 1997. Detection of parasite DNA in Haematophagus flies. Proc. of the first Symposium of New World Trypanosomes, 20-23 November, Georgetown, Guyana.

HOARE, C.A. 1972. *The Trypanosomes of Mammals. A zoological monograph*, Oxford: Blackwell Scientific Publications.

LOHR, K.F., S. PHOLPARK, SIRIWAN, N. LEESRIKUL, L. SRIKIITTJAKARN, and C. STAAK. 1986. *Trypanosoma evansi* infection in buffaloes in North–east Thailand. II. Abortion. *Trop. Anim. Health Prod.* 18:103-108.

LUCKINS, A.G. 1983. Development of serological assays for studies on trypanosomiasis of livestock in Indonesia. Report for consultancy undertaken January 26 to February 27, 1983. CTVM, Edinburgh, pp 1-68.

LUCKINS, A.G. 1988. *Trypanosoma evansi* in Asia. *Parasitology Today*. 4(5):137-142.

LUN, Z.R., R. BRUN, and W. GIBSON. 1992. Kinetoplast DNA and molecular Karyotypes of *Trypanosoma evansi* and *T. equiperdum* from China. *Mol. And Biochem. Parasit.* 50:189-196.

MIHOK, S.O. MARAMBA, E. MUNYOKI, and J. KAGOIYA. 1995. Mechanical Transmission of Trypanosoma spp by African Stomoxynae (*Diptera:muscidae*). *Trop. Med. Parasitol.* 46:103-105.

NIESCHULZ, O. 1930. Surraubertragungsversuche auf Java und Sumatera. *Veeartsenijkundige Mededeeling Departement van Landbouw, Nijverheid en Handel Nederlandsch-Indië* (Nr.75). Utrecht: Kemink en Zoon N.V.

PAYNE, R.C., D. DJAUHARI., S. PARTOUTOMO, T.W. JONES, and R.A. PEARSON. 1991. *Trypanosoma evansi* infection in worked and Unworked Buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Indonesia. *Veterinary Parasitology*. 40:197-206.

PAYNE, R.C., I.P. SUKANTO, R. GRAYDON, H. SAROSO, and S.H. JUSUF. 1990. An Outbreak of Trypanosomiasis Caused by *Trypanosoma evansi* on The Island of Madura, Indonesia. *Trop. Med. Parasitol.* 41:445.

PAYNE, R.C., I.P. SUKANTO, S. PARTOUTOMO, and T.W. JONES. 1992b. *Trypanosoma evansi* as a constraint to Livestock Productivity in Indonesia Proceedings of The First International Seminar on Tsetse Transmitted Trypanosomes. Annecy, France. October 14-15.

PAYNE, R.C., I.P. SUKANTO, S. PARTOUTOMO, and F. POLYTEDI. 1992a. xperimental Infection of Friesian Holstein Calves with Indonesian Isolate of *Trypanosoma evansi*. *Trop. Med. Parasitol.* 43:115-117

SUKANTO, I.P., R.C PAYNE, and R. GRAYDON. 1988. Trypanosomiasis di Madura : Survey Parasitologik dan Serologik. *Penyakit Hewan* 20(36):85-87.

SUKANTO, I.P., SUKARSIH, dan R. BOID 2000. Deteksi DNA *Trypanosoma evansi* pada lalat hematofagus. *J. Ilmu Ternak Vet.* In Press.

WOO, P.T.K. 1970. The hematocrit centrifuge for the detection of trypanosomes in blood. *Canadian J. Zoology*. 47:921-923.

WUYTS, N., N. CHOKESAJJAWATE, and S. PANYIM. 1994. A Simplified and Highly Sensitive Detection of *Trypanosoma evansi* by DNA Amplification. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public. Health.* 25(2):262-271.