

UJI BANDING DUA KIT ELISA UNTUK DETEKSI ANTIBODI TERHADAP VIRUS RABIES PADA ANJING*

(Comparison of Two Elisa Kits for The Detection of Anti-rabies Antibodies in Dog)

Ni Luh Dartini¹, IGNK Mahardika², AAG Putra¹, Helen Scott Orr³

¹Balai Besar Veteriner Denpasar, Bali

² **Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Denpasar, Bali**

³ **ACIAR project AH 2006 166, Australia**

ABSTRAK

Penentuan titer antibodi terhadap virus rabies sangat diperlukan untuk mengetahui status kekebalan terhadap penyakit rabies setelah vaksinasi. Beberapa metode telah dikembangkan untuk uji serologis untuk mendeteksi adanya antibodi terhadap rabies. Antibodi netralisasi dengan *rapid fluorescent focus inhibition test* (RFFIT) atau *fluorescent antibody virus neutralization* (FAVN) merupakan *gold standard*. Kedua uji tersebut memakai virus hidup sehingga sangat beresiko bagi pekerja laboratorium. *Enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) merupakan uji cepat yang tidak menggunakan virus hidup, sehingga tidak ada resiko bagi pekerja laboratorium. Saat ini kit ELISA sudah tersedia secara komersial. Pusat Veterinaria Farma (Pusvetma) Surabaya, telah memproduksi kit ELISA untuk deteksi antibodi rabies pada anjing. Sejauh ini informasi tentang kualitas kit ELISA rabies produksi Pusvetma tersebut belum tersedia. Untuk itu akurasi kit yang digunakan perlu dipelajari, dengan membandingkan dengan kit ELISA yang sudah diregistrasi oleh OIE (Platelia II rabies kit[®] produksi Bio-rad). Serum reference positif dan negatif, serta serum anjing dari lapangan diuji dengan kedua kit. Sebanyak 146 sampel serum anjing diuji bersamaan dengan kedua kit. Data hasil uji banding kit ELISA dianalisis berdasarkan *agreement beetwen test* (*Kappa*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa, kit ELISA Pusvetma mempunyai kekuatan kesepakatan yang baik dengan kit rabies Platelia II[®] (Bio-rad) dengan nilai *kappa* sebesar 0,68 (*Substantial agreement*), nilai sensitivitas 96,8% dan spesifisitas 73,5%.

Kata Kunci : ELISA, antibodi terhadap rabies, anjing.

ABSTRACT

Determination of antibody titers against rabies virus is necessary to know the status of immunity against rabies after vaccination. Several methods have been developed for serological tests to detect antibodies against rabies. Neutralizing antibodies by rapid fluorescent focus inhibition test (RFFIT) or fluorescent antibody virus neutralization (FAVN) is the gold standard. Live virus is used in both tests, so it is very risky for laboratory workers. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) is a quick test without the use of live virus, so there is no risk to laboratory workers. ELISA kits are available commercially. Pusat Veterinaria Farma (Pusvetma) Surabaya has produced an ELISA kit for detection of rabies antibodies in dogs. So far there has been no information about its quality. The accuracy of this kit needs to be evaluated, by comparing it with ELISA kits that have been registered by OIE (Platelia II rabies kit[®] of Bio-rad production). Test results showed that there is agreement between two kits with a Kappa value 0.68 (substantial agreement), the value of sensitivity it was 96,8% and specificity 73.5%.

Keywords: ELISA, antibodies against rabies, dogs.

* Diambil dari Tesis Master, Universitas Udayana

PENDAHULUAN

Penyakit rabies (penyakit anjing gila) merupakan penyakit *zoonosis* yang penting di Indonesia. Penyakit tersebut tersebar luas di beberapa provinsi, dengan jumlah kasus gigitan yang cukup tinggi setiap tahunnya. Pengendalian penyakit rabies umumnya dilakukan dengan vaksinasi, sosialisasi, eliminasi anjing tidak berpemilik/diliarkan, pengawasan lalu lintas hewan penular rabies (HPR) dan sebagainya. Upaya pemerintah untuk mengendalikan rabies dengan vaksinasi dan eliminasi anjing yang tidak optimal tidak banyak memberikan hasil, bahkan di daerah-daerah tertentu kasus rabies semakin meningkat (Adjid *et al.*, 2005). Hal itu terbukti dengan semakin luasnya wilayah yang terkena rabies. Hal ini mungkin disebabkan oleh beberapa hal antara lain: cakupan vaksinasi yang tidak memadai, vaksin yang digunakan memberikan kekebalan yang terlalu singkat, penanganan vaksin yang kurang memenuhi syarat, aplikasi yang kurang tepat dan lain sebagainya. Untuk mengetahui berapa lama vaksin yang digunakan memberikan kekebalan pada anjing, perlu dilakukan surveilans serologis untuk deteksi adanya antibodi protektif terhadap rabies.

Metode uji untuk deteksi antibodi terhadap rabies yang sering digunakan adalah serum netralisasi (SN) yaitu *Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test* (RFFIT) dan *Fluorescent Antibody Virus Neutralisation* (FAVN).

Untuk kedua metode uji tersebut menggunakan virus rabies hidup, sehingga dalam pengerjaannya memerlukan laboratorium dengan fasilitas biosecurity yang memadai dan staf yang telah terlatih baik serta sudah divaksinasi. Disamping SN, di beberapa negara sudah dikembangkan uji *Enzym Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) untuk deteksi antibodi terhadap rabies. ELISA merupakan salah satu metode yang digunakan untuk deteksi antibodi rabies pada serum hewan (anjing dan kucing) serta pada serum manusia (Meslin dan Kaplan, 1996). Kelebihan dari uji ELISA antara lain dapat dilakukan dalam empat jam, tidak menggunakan virus hidup, tidak memerlukan laboratorium dengan fasilitas biosecurity yang tinggi. Hal ini terbalik dengan FAVN maupun RFFIT yang memerlukan waktu pengujian beberapa hari, menggunakan virus rabies hidup, sehingga untuk mengerjakannya memerlukan laboratorium dengan fasilitas biosecurity yang memadai dan staf yang telah terlatih baik, serta sudah divaksinasi (McElhinney *et al.*, 2008; OIE, 2008; Shanker, 2009). ELISA sudah banyak digunakan untuk deteksi antibodi rabies pada program vaksinasi di beberapa negara antara lain di Nigeria, dengan hasil prevalensi antibodi tertinggi 87,5% ditemukan pada periode 3 – 6 bulan pascavaksinasi (Ohore *et al.*, 2007), di Botswana 54% (148/276) sampel yang diuji mempunyai antibodi protektif (Sebunya, 2007), di Bangkok, Thailand, Tanzania, dan negara

lain (Adriana *et al.*, 1999; Cleaveland *et al.*, 1999; Kasempimolporn, 2006; Salina *et al.*, 1992; Cliquet *et al.*, 2000; 2003; Servat and Cliquet, 2006; Servat *et al.*, 2006, 2007). Cliquet *et al.*, (2004), melaporkan *Agreement* ELISA dengan FAVN sebesar 93%. Dengan demikian ELISA bisa dipakai sebagai uji alternatif untuk deteksi antibodi terhadap rabies, karena lebih sederhana, lebih aman bagi pekerja, lebih cepat, lebih murah dan tidak memerlukan laboratorium dengan fasilitas biosekuriti yang tinggi.

Saat ini kit ELISA sudah tersedia secara komersial. Pusat Veterinaria Farma (Pusvetma) Surabaya, telah memproduksi kit ELISA untuk deteksi antibodi rabies pada anjing. Sejauh ini informasi tentang kualitas kit ELISA rabies produksi Pusvetma tersebut belum tersedia. Untuk itu akurasi kit yang digunakan perlu dipelajari, dengan membandingkan kit tersebut dengan kit ELISA yang sudah diregistrasi oleh OIE (Platelia II rabies kit produksi Bio-rad).

MATERI DAN METODE

1. Materi

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serum reference rabies positif (*Antirabies reference serum of dog origin, batch number 2010-1, Maret 2010, titer 3UI/ml, produksi ANSES, Nancy laboratory for rabies and wild life, Francis*). Serum reference rabies negatif (*Dog serum naive for rabies virus, batch number SR-07, 24/12/09, produksi ANSES,*

Nancy laboratory for rabies and wild life, Francis). Serum anjing yang diambil dilapangan, kit ELISA rabies produksi bio-rad (Platelia Rabies II KiT[®] Ref.: 355-0180) dan kit ELISA Produksi pusvetma Surabaya tahun 2010. Peralatan yang digunakan adalah mikropipet berbagai volume, inkubator (suhu 37°C dan 56°C), *plate washer* dan *plate reader* (Biomerieuk reader 250 version 2.0.5).

2. Metode

Semua serum diencerkan sesuai dengan prosedur dari masing-masing kit, kemudian diuji dengan Kit produksi Pusvetma Surabaya dan Platelia rabies II Kit produksi Bio-Rad, dengan prosedur yang sudah tersedia didalam masing-masing Kit. Selanjutnya hasil pembacaan *optical density* (OD) dikonversikan kedalam Ekuivalen Unit (EU) dengan menggunakan rumus yang sudah disediakan di dalam kit. Titer serum 0,5 EU atau lebih dianggap protektif.

3. Analisa data

Data hasil uji banding 2 kit ELISA dianalisa berdasarkan *agreement between test/kappa*, (Viera dan Garrett, 2005; Robertson, 2008).

HASIL

Nilai *kappa*, sensitivitas dan spesifisitas kit ELISA Pusvetma terhadap semua serum anjing (serum referens dan serum lapang yang divaksin dengan *Rabivet Supra92[®]* serta *Rabisin[®]*) adalah berturut-turut 0,68 (*substantial agreement*), 96,8%

dan 73,5%. Nilai-nilai tersebut dalam pengujian terhadap serum referens adalah 0,89 (*excellent agreement*), 92,3%, dan 96,29%. Dalam pengujian dengan serum anjing yang divaksinasi dengan *Rabivet Supra92*[®], nilai tersebut adalah 0,48 (*moderate agreement*), 96,77%, dan 61,22%. Dengan serum anjing yang divaksinasi dengan *Rabisin*[®], nilai tersebut adalah 0,91 (*excellent agreement*), 100%, dan 71,42%.

PEMBAHASAN

Hasil uji banding kit ELISA rabies produksi Pusvetma Surabaya dibandingkan dengan kit Platelia II rabies ELISA produksi Bio-rad, menunjukkan bahwa *agreement* kedua kit tersebut sebesar 0,68 (*Substantial agreement*), dengan sensitivitas 96,80% dan spesifisitas 73,05%. Nilai kesesuaian, sensitivitas dan spesifisitas Kit Pusvetma berbeda-beda tergantung serum yang diuji. *Agreement* yang baik (*excellent agreement*) diperoleh pada pengujian dengan serum anjing hasil vaksinasi Rabisin dan serum referens. Sensitivitas kit Pusvetma cenderung tinggi. Sedangkan nilai spesifisitasnya bervariasi tergantung serum yang diuji. Spesifisitas paling kecil diperoleh pada pengujian dengan serum hasil vaksinasi dengan *Rabivet Supra92*[®].

Hasil ini mengindikasikan adanya kesesuaian (kekuatan kesepakatan) yang baik diantara kedua kit tersebut. Spesifisitas hasil uji sebesar 73,05%,

mengindikasikan adanya reaksi yang kurang spesifik terhadap sampel serum negatif. Hal tersebut menyebabkan hasil uji positif dengan kit Pusvetma tetapi negatif dengan kit Platelia II Bio-rad. Hal ini mungkin disebabkan karena antigen yang dipakai untuk *coating plate* berbeda. Antigen yang dipakai oleh Pusvetma adalah *whole antigen* virus rabies. Sedangkan pada Platelia II antigen yang digunakan adalah glikoprotein. Sehingga kit platelia II Bio-Rad hanya bisa menangkap antibodi dari glikoprotein, sedangkan kit Pusvetma bisa bereaksi terhadap semua protein yang ada dalam virus rabies.

Hasil yang hampir sama dikemukakan oleh Simani (2011), bahwa rata-rata titer antibodi pada uji ELISA lebih rendah dibandingkan dengan pada uji MNT dan RFFIT. Hal tersebut disebabkan karena ELISA bereaksi spesifik terhadap glikoprotein virus rabies, sedangkan MNT dan RFFIT bisa bereaksi terhadap semua protein (*whole antigen*) virus rabies. Peneliti lain melaporkan bahwa sensitivitas 94,1%, spesifisitas 95,8%, dan *agreement* 95,1% Kit ELISA rabies dibandingkan dengan RFFIT (Welch *et al.*, 2009). Sensitivitas sebesar 87,5%, spesifisitas 92,4% dan *agreement* 88,5% antara uji ELISA dan *neutralizing antibodies* dengan metode *simplified fluorescent inhibition micro test* (SFIMT) dilaporkan oleh Piza *et al.* (1999). Lebih lanjut disimpulkan bahwa ELISA bisa digunakan sebagai uji skrining

untuk deteksi antibodi pada beberapa jenis vaksin yang digunakan. Adanya korelasi antara FAVN dengan *liquid-phase competitive* ELISA (LPC-ELISA) dan *sandwich competitive* ELISA (SC-ELISA), dengan nilai r 0,893 di laporkan oleh Fachin *et al.* (2005). Lebih lanjut di laporkan bahwa pada LPC-ELISA nilai spesifisitas 98,00%, sensitivitas 99,49% dan akurasi 100% untuk uji serum anjing. Nilai tersebut untuk uji serum sapi adalah spesifisitas 86,90% dan sensitivitas 98,43% (Fachin *et al.*, 2005). Servat *et al.* (2007) melaporkan hasil positif palsu sebesar 1 sampai 2% pada kit ELISA Platelia II (Bio-rad) dibandingkan dengan *Flourescent antibody virus neutralisation*. Selanjutnya Wattanapiron *et al.* (2008), melaporkan sensitivitas 64% dan spesifisitas 100% dari hasil uji banding kit ELISA Platelia II dengan RFFIT.

DAFTAR PUSTAKA

Adriana S.T.P., J.L.F.Santos, C.L. Botelho, and Z.C.Roberto. 1999. An ELISA suitable for the detection of rabies virus antibodies in serum samples from human vaccinated with either cell culture vaccine or sukling mouse brain vaccine. Rev. Inst. Med. Trop.S.Paulo.41(1).

Adjid.R.M.A., A.Sarosa, T.Syapriati, dan Yuningsih. 2005. Penyakit rabies di Indonesia dan pengembangan teknik diagnosis. Wartazoa 15(4):165-172

Cliquet F., T. Muller, F.Mutinelli, S.Geronutti, B.Brochier, T.Selhorst, J.L.Schereffer, N.Krafft, J.Burrow, A.Schmeitat,H.Schluter dan M.Aubert. 2003. Standardisation and

KESIMPULAN

Kit ELISA rabies Pusvetma mempunyai kekuatan kesepakatan yang baik dengan kit rabies Platelia II Bio-rad dengan nilai $kappa$ sebesar 0,68 (*Substantial agreement*), nilai sensitivitas 96,8%, dan spesifisitas 73,5%.

SARAN

Untuk meningkatkan nilai spesifisitas kit Elisa Rabies Pusvetma perlu dilakukan penelitian dan penyempurnaan lebih lanjut.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih yang sebesar-besarnya disampaikan kepada Direktur project ACIAR AH 2006 166 beserta staf atas bantuan dana yang diberikan untuk penelitian ini. Ucapan yang sama juga disampaikan kepada Kepala Balai Besar Veteriner Denpasar beserta staf, atas bantuan yang diberikan pada penelitian ini.

establishment of rabies ELISA test in European laboratories for assesing the efficacy of oral fox vaccination campaigns.Vaccine 21 (2003) : 2986 – 2993.

Cliquet F., L.Sagne, J.L. Schereffer dan M.F.A. Aubert. 2000. ELISA test for rabies antibody titration in orally vaccinated foxes sampled in the fields. Vaccine 18 (2000): 3272 – 3279.

Cliquet F., L.M.McElhinney, A.Servat, J.M.Boucher, J.P.Lowings, T.Goddard, K.L.Mansfield dan A.R.Fooks. 2004. Protocol. Development of a qualitative indirect ELISA for the measurement of rabies virus-specific antibodies from vaccinated dogs and cats. Journal of Virological Methods 117 (2004):1 – 8.

- Cleaveland S., J.Barrat, M.J.Barrat, M.Selve, M.Kaare, dan J.Esterhuysen. 1999. A Rabies Serosurvey of Domestic Dogs in Rural Tanzania: result of a Rapid Fluorescent focus Inhibition Test (RFFIT) and a Liquid-Phase Blocking ELISA Used in Parallel. *Epidemiol.Infect.*123 : 157 – 164.
- Fachin N., B.A.Carvalho, and T.C.Cardoso. 2005. A Comparison of Serological Methods for Detecting The Immune Response After Rabies Vaccination in Dogs and Cows from Rabies-Endemic Areas in Brazil. *Intern J Appl Res Med.* 3(3) : 199-206.
- Kasempimolporn.S., B. Sichanasai, W. Saengseesom, S. Pesempumpanich, S. Chatraporn, and V. Sitpsija. 2006. Prevalence of rabies virus infection and rabies antibody in stray dogs : A Survey in Bangkok, Thailand. *Preventive Veterinary medicine XXX (2006). PreVET* 2253: 1-8.
- McElhinney.L.M., A.R.Fooks, and A.D.Radford. 2008. Diagnostic tools for the detection of rabies virus.*EJCAP-*
- Robertson.I. 2008. *VET 641 Principles of Epidemiology Reader.* Murdoch University. Perth: 148-149.
- Salina J., F.Cuello, M.R.Coro, M.C.Gallego, M.J.Sanches, A.J.Buendia, J.Breton, B.Marsilla. 1992. Qualification and evolution of rabies antibodies level by ELISA in dog sera
- ELISA Test to Monitor The Effectiveness of Rabies Vaccination in Domestic
- Vol.18 (issue 3 December 2008): 224-231.
- Meslin.F.X, dan M.M.Kaplan, 1996. An overview of laboratory techniques in the diagnosis and prevention of rabies and in rabies research. Chapter 2, *Dalam Laboratory techniques in rabies.* Fourth edition. Edited by F.X. Meslin, M.M. Kaplan and H.Koprowski. World Health Organization, Geneva, 9-27.
- Ohore.O.G., B.O.Emikpe., O.O.Oke, and D.O.Oluwayelu. 2007. The seroprofile of rabies antibodies in companion urban dogs in Ibalan Nigeria. *Journal of animal and veterinary advance* 6 (1). 53-56.
- OIE . 2008. Rabies. Manual of standard for diagnostic techniques. Chapter 2.1.13. *Terrestrial manual* : 304-323.
- Piza A.S.T., J.L.F. Santos, L.B.Chaves and C.R.Zanetti. 1999. An ELISA Suitable for The Detection of Rabies Virus Antibodies In Serum Samples From Human Vaccinated With Either Cell-Culture Vaccine Or Suckling-Mouse-Brain Vaccine. *Rev.Inst.Med.trop. S. Paulo.*41 n(1). with different number of vaccination. *ANVET (Murcia)* (8): 3-6.
- Sebunya T.K., N.Ndabumbi and S.Mpuchane. 2007. A serosurvey of rabies antibodies in dogs in Gaborone, Botswana. *Journal of animal and veterinary advances* 6 (4):549-553.
- Servat A dan F. Cliquet . 2006. Review. Collaborative Study to Evaluated a New Carnivores. *Virus Research* 120 (2006) 17 – 27.

- Servat A., M.Feyssaguet, L.Blanchard, J.L.Morize, J.L.Schereffer, F.Boue dan F.Cliquet. 2007. Review. A Quantitative Indirect ELISA to Monitor the Effectiveness of Rabies Vaccination in Domestic and Wild Carnivores. *Dev. Biol (Basel)*. Basel Karger. 2006. 125 :91 – 94.
- Shanker, B.R. 2009. Advances in Diagnosis of Rabies. *Veterinary world*. 2(2):74-78.
- Simani S. 2011. Comparison of Tree Serological Tests For Titration Of Rabies In Immunized Individuals. Original article. WHO-Collaborating Center For Reference and Research On Rabies, Pasteur Institute of Iran. <http://www.ams.ac.ir/aim/9923/simani9923/html>. Diakses Maret 2011.
- Viera A.J. and J. M. Garrett. 2005. Understanding Interobserver Agreement: The Kappa Statistic. *Research series*. 37 (5) : 361-363.
- Wattanapiron P., U.Pantsiri, W.Wiriyakitja, P.Prasertmek, S.Suradhat. 2008. P22 Application Of An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for Determining The Present of Anti-Rabies Virus Antibodies In Thai Dogs. *Proceeding 7th Chula Univ. Vet. Sci. Ann. Con*, 1 May, 2008,78.
- Welch R.J., B.L.Anderson, and C.M.Litwin. 2009. An Evaluation of Two Commercially Available ELISAs and One in-house reference Laboratory ELISA For the Determination of human Anti-Rabies Virus Antibodies. *J.Med. Microbiol*. 58(2009):806-810.
- Domestic and Wild Carnivores. *Journal of Immunological Methods* 318 (2007) : 1 – 10.

**PROFIL RESPONS IMUN ANJING YANG DIVAKSINASI
DENGAN VAKSIN RABIES (*RABIVET SUPRA'92*[®] DAN *RABISIN*[®])
PADA KONDISI LAPANGAN DI BALI †**

(Profile of Immune Response in Vaccinated Dogs with Rabies Vaccine
(*Rabivet Supra '92*[®] and *Rabisin*[®]) in Field Condition in Bali)

Ni Luh Dartini¹, IGNK Mahardika², AAG Putra¹, Helen Scott Orr³

¹Balai Besar Veteriner Denpasar, Bali.

² Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Denpasar, Bali.

³ACIAR project AH 2006 166, Australia.

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui profil imun respon anjing yang di vaksinasi dengan vaksin *Rabivet Supra'92*[®] dan vaksin *Rabisin*[®], dengan satu kali dosis vaksinasi, dalam kondisi lapangan. Semua sampel serum dari lapangan diuji dengan ELISA kit produksi Pusvetma Surabaya. Sebanyak 53 sampel serum anjing yang belum divaksinasi, 463 sampel serum anjing pasca vaksinasi dengan vaksin *Rabivet Supra'92*[®] dan 267 sampel serum anjing pasca vaksinasi dengan vaksin *Rabisin*[®], di Provinsi Bali, diambil sejak Desember 2008 sampai Maret 2011.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase anjing yang mempunyai titer antibodi protektif yang divaksinasi dengan vaksin *Rabivet Supra92*[®] dan *Rabisin*[®] tidak berbeda nyata ($P=0,971$). Namun demikian, titer antibodi terhadap rabies pada anjing yang divaksinasi dengan vaksin *Rabisin*[®] sangat nyata lebih tinggi dibandingkan dengan yang divaksinasi dengan vaksin *Rabivet Supra92*[®] ($P=0,000$). Dalam penggunaan kedua vaksin tersebut, persentase antibodi protektif tertinggi diperoleh pada periode lebih dari tiga bulan sampai dengan enam bulan pasca vaksinasi.

Kata-kata kunci : Rabies, Respon imun, Anjing, *rabivet supra92*[®], *Rabisin*[®].

ABSTRACT

This study was conducted to determine the profile of immune responses in vaccinated dogs with *Rabivet Supra92*[®] and *Rabisin*[®] vaccines. All serum samples from the field were tested by ELISA kit Pusvetma. The number of samples was 53 dog sera that have not been vaccinated, 463 dog sera after vaccination with *Rabivet supra92*[®], and 267 dog sera after vaccination with the vaccine *Rabisin*[®]. The samples were collected in Bali Province from December 2008 until March 2011.

The results showed that the percentage of dogs that have a protective antibody titers that were vaccinated with *Rabivet Supra92*[®] and *Rabisin*[®] vaccines, was not significantly different ($P = 0.971$). However, antibody titers against rabies in dogs vaccinated with *Rabisin*[®] vaccine were significantly higher than those that were vaccinated with *Rabivet Supra92*[®] ($P=0.000$). Both vaccines generated the highest percentage of protective antibodies in the period of more than three months to six months post-vaccination.

Key words : Rabies, immune response, dog, *Rabivet Supra92*[®], *Rabisin*[®],

† Diambil dari Tesis Master, Universitas Udayana

PENDAHULUAN

Rabies atau penyakit anjing gila adalah penyakit hewan yang bersifat zoonosis (menular ke manusia). Lebih dari 55.000 kasus rabies pada manusia dilaporkan setiap tahun di dunia (Rupprecht *et al.*, 2001). Rabies disebabkan oleh virus rabies, dari genus *Lyssavirus*, famili *Rhabdoviridae* (OIE, 2008). Virus rabies dikeluarkan bersama air liur hewan yang terinfeksi dan ditularkan melalui gigitan, cakaran atau melalui kulit yang terluka (Bingham, 2005).

Kasus klinis rabies pada hewan maupun manusia selalu berakhir dengan kematian. Penyakit Rabies menimbulkan dampak psikologis seperti kepanikan, kegelisahan, kekhawatiran, kesakitan dan ketidaknyamanan pada orang-orang yang terpapar. Kerugian ekonomi yang ditimbulkan pada daerah tertular terjadi karena biaya penyidikan, pengendalian yang tinggi, serta tingginya biaya *post-exposure treatment*. Disamping itu, kerugian akibat pembatalan kunjungan wisatawan, terutama di daerah yang menjadi tujuan wisata penting di dunia, seperti Bali, dapat saja terjadi jika tingkat kejadian rabies sangat tinggi.

Rabies telah ada di Indonesia sejak abad ke-19 dan telah tersebar di sebagian besar wilayah. Rabies dilaporkan pertama kali oleh Stchorl pada tahun 1884, yaitu pada seekor kuda di Bekasi, Jawa Barat. Selanjutnya rabies dilaporkan semakin menyebar ke beberapa

wilayah di Indonesia. Pada dekade 1990-an dan 2000-an rabies masih terus menjalar ke wilayah yang sebelumnya bebas historis menjadi tertular, yaitu Pulau Flores tahun 1998, Pulau Ambon dan Pulau Seram tahun 2003, Halmahera dan Morotai tahun 2005, Ketapang tahun 2005, serta Pulau Buru tahun 2006. Kemudian Pulau Bali dilaporkan tertular rabies tahun 2008, (Direktorat Kesehatan Hewan, 2006; Kepmentan, 2008).

Bali merupakan propinsi terbaru tertular rabies di Indonesia dan Bali dinyatakan tertular secara resmi berdasarkan Keputusan Menteri Pertanian No.:1637.1/2008 tertanggal 1 Desember 2008. Secara laboratorium rabies pada anjing di Bali didiagnosis pertama kali pada tanggal 27 Nopember 2008 yaitu pada satu ekor anjing asal Kelurahan Kedonganan. Dengan mengkaji kasus pada manusia dan hewan serta masa inkubasi rabies, rabies diduga masuk ke Semenanjung Bukit, Kabupaten Badung, Propinsi Bali sekitar bulan April 2008 (Putra *et al.*, 2009). Berdasarkan data di BBVET Denpasar, dalam beberapa bulan rabies sudah ditemukan menyebar ke beberapa wilayah antara lain di Kota Denpasar pada 19 Desember 2008. Pada pertengahan tahun 2009 wabah sudah menyebar ke Kabupaten Tabanan, Kabupaten Karangasem, Kabupaten Buleleng, Kabupaten Bangli dan Kabupaten Gianyar. Kabupaten Klungkung tertular akhir Maret 2010, dan akhirnya bulan Juni 2010 Kabupaten Jembrana

dinyatakan tertular rabies. Dengan demikian, saat ini, semua kabupaten/kota di Propinsi Bali sudah tertular rabies.

Pengendalian penyakit rabies umumnya dilakukan dengan vaksinasi dan eliminasi anjing liar/diliarkan, disamping program sosialisasi, dan pengawasan lalu lintas hewan penular rabies (HPR). Vaksinasi massal merupakan cara yang efektif untuk pencegahan dan pengendalian rabies. Di Kabupaten Badung, Propinsi Bali, vaksinasi rabies pada anjing, sudah dilakukan sejak tanggal 4 Desember 2008, yang dilanjutkan dengan vaksinasi massal di semua kabupaten/kota di Provinsi Bali.

Upaya pemerintah untuk mengendalikan rabies dengan vaksinasi dan eliminasi anjing secara rutin setiap tahun tidak banyak memberikan hasil. Di daerah-daerah tertentu, kasus rabies bahkan semakin meningkat (Adjid *et al.*, 2005). Demikian juga halnya yang terjadi di Bali. Itu terbukti dengan semakin luasnya wilayah yang terkena rabies. Hal ini mungkin disebabkan karena cakupan vaksinasi yang tidak memadai. Cakupan vaksinasi merupakan salah satu hal yang sangat penting dalam pengendalian suatu penyakit, disamping kualitas vaksin, teknik aplikasi dan waktu pelaksanaan vaksinasi (Rahman dan Maharis, 2008; Touihri *et al.*, 2011). Vaksin rabies yang digunakan pada vaksinasi massal pertama di Bali adalah

vaksin *Rabivet Supra92*[®] (Pusvetma Surabaya) dan kemudian dipakai juga vaksin *Rabisin*[®]. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui berapa lama vaksin rabies tersebut memberikan kekebalan pada anjing di lapangan, untuk itu dilakukan monitoring antibodi pada anjing yang sudah di vaksinasi.

MATERI DAN METODE

Sampel serum diambil dari anjing yang belum dan sudah mendapatkan vaksinasi rabies. Serum anjing diambil pada saat akan dilakukan vaksinasi atau *booster* vaksinasi menggunakan metode *convenient sampling*, di Provinsi Bali. Sampel diambil sejak Desember 2008 sampai dengan Maret 2011. Serum dikelompokkan berdasarkan status vaksinasinya yaitu belum divaksinasi (pravaksinasi), tiga minggu sampai dengan tiga bulan pasca vaksinasi, lebih dari tiga bulan sampai dengan enam bulan pasca vaksinasi, lebih dari enam bulan sampai dengan sembilan bulan pasca vaksinasi, dan lebih dari sembilan bulan sampai dengan dua belas bulan pasca vaksinasi. Selanjutnya semua sampel serum diuji menggunakan Kit ELISA produksi Pusvetma. Selanjutnya hasil pembacaan *optical density* (OD) dikonversikan kedalam Ekuivalen Unit (EU) dengan menggunakan rumus yang sudah disediakan di dalam kit. Titer serum 0,5 EU atau lebih dianggap protektif.

HASIL

Pengujian terhadap 53 sampel serum yang diambil dari anjing yang belum divaksinasi, dan diuji dengan ELISA kit Pusvetma, menunjukkan bahwa 3 sampel (5,66%) mempunyai antibodi protektif terhadap virus rabies, dengan titer 0,5095EU, 0,529EU dan 0,5526EU.

Hasil pengujian antibodi terhadap rabies dari kelompok anjing yang divaksinasi *Rabivet Supra92*[®] dan *Rabisin*[®] yang diambil pada periode pasca vaksinasi (PV) yang berbeda ditampilkan pada Tabel 1. Tabel tersebut menunjukkan bahwa persentase anjing yang mempunyai kekebalan protektif tertinggi ditemukan pada kelompok anjing yang diambil 3 bulan sampai dengan 6 bulan PV (*Rabivet Supra92*[®] 75,83% dan *Rabisin*[®] 72,64%). Tabel tersebut juga menunjukkan bahwa persentase antibodi protektif yang diinduksi oleh vaksin *Rabisin*[®] pada periode >3 minggu sampai dengan 3 bulan pasca vaksinasi nyata lebih tinggi dibandingkan dengan persentase antibodi protektif anjing yang divaksinasi dengan *Rabivet Supra92*[®] ($P < 0,05$).

Perbandingan rata-rata titer antibodi terhadap rabies dan rata-rata persentase antibodi protektif terhadap rabies pada anjing yang divaksinasi *Rabisin*[®] dan *Rabivet Supra92*[®] ditampilkan pada Tabel 2. Data tersebut menunjukkan bahwa titer antibodi yang diinduksi oleh vaksin *Rabisin*[®] sangat nyata lebih tinggi

dibandingkan dengan titer antibodi yang diinduksi oleh vaksin *Rabivet Supra92*[®] ($P < 0,01$). Sedangkan persentase kekebalan menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata antara anjing yang divaksin dengan *Rabisin*[®] dan *Rabivet Supra92*[®] ($P > 0,05$).

Tabel 1.

Persentase Antibodi Protektif Anjing yang di Vaksinasi *Rabisin*[®] dan *Rabivet Supra92*[®] yang di Uji dengan Kit ELISA Pusvetma.

Pasca Vaksinasi	Persentase antibodi protektif	
	<i>Rabisin</i> [®]	<i>Rabivet Supra92</i> [®]
3 mg - 3 bln	64,91% ^a	40,35% ^b
>3 – 6 bln	72,64% ^a	75,83% ^a
>6 – 9 bln	45,28% ^a	25,24% ^b
>9 – 12 bln	37,25% ^a	35,29% ^a

Keterangan:

Nilai dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$), sedangkan nilai dengan huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$).

Tabel 2

Rata-rata titer antibodi (EU) dan persentase antibodiprotektif pada serum anjing yang divaksinasi *Rabisin*[®] dan *RabivetSupra92*[®] yang di Uji dengan kit ELISA Pusvetma

Hasil Uji	Jenis Vaksin	
	<i>Rabisin</i> [®]	<i>Rabivet Supra92</i> [®]
Rata-rata titer antibodi (EU)	2,8512 ^a	0,9622 ^b
Rata-rata antibodi protektif	58,8% ^a	57,24% ^a

Keterangan:

Nilai dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$), sedangkan nilai dengan huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$).

PEMBAHASAN

Vaksinasi merupakan salah satu strategi yang sedang diterapkan dalam pengendalian rabies di Bali. Pengujian respon imun dari hasil vaksinasi merupakan data yang sangat penting dalam mengkaji keberhasilan vaksinasi. Berbagai merek vaksin rabies juga digunakan dilapangan. Jenis vaksin yang berbeda juga perlu dikaji efektivitasnya.

Hasil penelitian terhadap antibodi protektif pada anjing yang sudah divaksinasi rabies menunjukkan bahwa, persentase antibodi protektif tertinggi ditemukan pada periode waktu lebih dari 3 bulan sampai dengan 6 bulan PV, baik pada anjing yang divaksinasi dengan vaksin rabies *Rabivet Supra'92*[®] maupun *Rabisin*[®]. Persentase antibodi protektif mengalami penurunan pada periode lebih dari 6 bulan sampai dengan 9 bulan PV. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilaporkan oleh Ohore *et al.* (2007). Hasil berbeda dengan hasil yang dilaporkan oleh Seghaier *et al.* (1999) bahwa persentase kekebalan protektif ditemukan pada anjing setelah satu bulan PV.

Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa vaksin rabies *Rabivet Supra92*[®] dan *Rabisin*[®] hanya mampu memberikan kekebalan sekitar 6 bulan, sehingga perlu dilakukan vaksinasi ulangan (*booster*). *Booster* penting dilakukan untuk mempertahankan titer antibodi protektif (Simani *et al.*, 2004). Hal ini sesuai dengan yang di

laporkan oleh Wilde dan Tepsumethanon (2010), bahwa satu dosis vaksinasi tidak menghasilkan antibodi netralisasi yang lama. Sistem pemeliharaan anjing di Bali yang kebanyakan masih diliarikan menyebabkan pelaksanaan vaksinasi ulangan secara massal mengalami kesulitan. Kesulitan dimaksud antara lain adanya kesulitan melakukan penangkapan anjing, karena aplikasi vaksin ini melalui suntikan. Selanjutnya perlu dipikirkan atau dicarikan alternatif penggunaan vaksin rabies lainnya yang lebih mudah aplikasinya dan mampu memberikan kekebalan lebih lama terutama untuk anjing-anjing yang diliarikan/tidak diikat. Anjing yang diliarikan perlu mendapatkan vaksinasi rabies karena anjing ini mempunyai potensi sangat besar untuk menyebarkan rabies. Anjing ini mempunyai kesempatan luas menyebarkan rabies ke hewan lain, bahkan juga ke manusia.

Jenis vaksin yang dipakai pada penelitian ini berpengaruh nyata terhadap titer antibodi yang diinduksi. Titer antibodi yang diinduksi oleh vaksin *Rabisin*[®] sangat nyata lebih tinggi dibandingkan dengan titer antibodi yang diinduksi oleh *Rabivet Supra92*[®] ($P < 0,01$). Persentase antibodi protektif yang diinduksi oleh vaksin *Rabisin*[®] pada periode lebih dari 3 minggu sampai dengan 3 bulan pasca vaksinasi nyata lebih tinggi dibandingkan dengan vaksin *Rabivet Supra92*[®] ($P < 0,05$). Jenis vaksin tampaknya

menghasilkan respon imun yang berbeda. Hasil penelitian Minke *et al.* (2009) menunjukkan bahwa titer antibodi >0,5IU sebesar 87% ditemukan pada hari 14 PV dengan vaksin *Rabisin*[®] dan sebesar 100% pada anjing yang divaksinasi dengan vaksin *Nobivac*[®]. Selanjutnya Kennedy *et al.* (2007) melaporkan bahwa vaksin yang diproduksi oleh perusahaan yang berbeda akan memberikan respon yang berbeda terhadap rata-rata titer antibodi dan tingkat kegagalan. Hal ini mungkin disebabkan karena formula dan perbedaan cara produksi, konsentrasi dan integritas kandungan antigen, serta adjuvan yang digunakan.

Berdasarkan dosis dan aturan pakai vaksin *Rabisin*[®] bahwa booster dilakukan setiap 2 tahun (Merial, 2011). Hal ini dapat diinterpretasikan bahwa vaksin *Rabisin*[®] bisa memberikan kekebalan selama 2 tahun. Hal ini berbeda dengan yang ditemukan di Bali, dimana persentase antibodi protektif sudah mengalami penurunan setelah 6 bulan sampai dengan 9 bulan pasca vaksinasi. Untuk itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut, apakah hal ini disebabkan oleh rantai dingin yang tidak terpenuhi dalam penanganan vaksin di lapangan, ataukah adanya kesalahan dalam aplikasi, waktu vaksinasi yang kurang tepat, atau mungkin data vaksinasi yang kurang akurat, misalnya anjing yang sebenarnya belum divaksin tetapi dilaporkan sudah divaksinasi.

Berdasarkan hasil penelitian ini diperoleh hasil bahwa secara keseluruhan persentase anjing yang disampling yang memiliki antibodi protektif kurang dari 70% (sekitar 58%). Hasil yang tidak jauh berbeda dikemukakan oleh Riasari (2009), bahwa anjing yang sudah divaksinasi rabies yang dilalulintaskan melalui pelabuhan penyebrangan Merak sebanyak 58,7% mempunyai antibodi tidak protektif terhadap rabies. Untuk itu perlu dilakukan upaya untuk meningkatkan persentase protektivitas tersebut menjadi 70% atau lebih. Untuk menghilangkan atau mencegah wabah rabies diperlukan setidaknya 70 persen populasi anjing harus mendapatkan kekebalan (Cleaveland *et al.*, 2003; Reece and Chawla, 2006; Balogh *et al.*, 1995.). Beberapa hambatan dalam memerangi rabies terjadi di Indonesia, antara lain sumberdaya tidak memadai, lemahnya konsensus terhadap strategi yang digunakan, lemahnya koordinasi lintas sektoral dan struktur manajemen serta kurangnya kerjasama masyarakat. Banyak faktor yang membuat kecepatan program vaksinasi anjing tidak mampu mengejar penularan penyakit, misalnya cakupan vaksinasi yang tidak mencapai batas minimal 70%, seperti yang terjadi di Bali pada awal terjadinya rabies, cakupan vaksinasi hanya berkisar 45% (Putra *et al.*, 2009).

Ditemukannya antibodi protektif pada anjing yang belum divaksinasi kemungkinan disebabkan oleh beberapa hal,

antara lain adanya maternal antibodi. Seperti yang dilaporkan oleh Minke *et al.* (2009), bahwa 2 ekor anak anjing yang belum divaksinasi mempunyai titer SN 0,66IU/ml. Penyebab lain adalah adanya informasi data vaksinasi yang kurang tepat, misalnya anjing yang diambil sampelnya tersebut sebenarnya sudah pernah di vaksinasi namun oleh pemiliknya dilaporkan belum. Dari data sampel pada penelitian ini diketahui bahwa ke tiga sampel serum yang mempunyai antibodi protektif tersebut diambil dari anjing yang berumur 5 bulan, 72 bulan, dan 12 bulan. Sampel diambil pada bulan Agustus 2009 di Kabupaten Badung. Vaksinasi rabies di Kabupaten Badung sudah dilakukan sejak akhir tahun 2008, sehingga ada kemungkinan bahwa anjing tersebut sudah pernah di vaksinasi rabies.

Kemungkinan lain adalah adanya reaksi positif palsu yang disebabkan oleh spesifisitas kit ELISA yang digunakan kurang dari 100%. Seperti hasil yang ditemukan oleh Piza *et al.* (1999), bahwa spesifisitas uji ELISA sebesar 92,4%. Spesifisitas sebesar 95,8% dilaporkan oleh Welch *et al.* (2009), serta hasil positif palsu sebesar 1 – 2% pada kit ELISA dilaporkan oleh Servat *et al.* (2007). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ada kemungkinan reaksi positif palsu pada uji ELISA walaupun dalam jumlah yang sedikit. Adanya anjing yang tidak divaksinasi rabies tetapi mempunyai antibodi terhadap rabies dengan titer $\geq 0,5$ EU/ml

juga dilaporkan oleh Suzuki *et al.* (2008).

KESIMPULAN

1. Persentase anjing yang mempunyai titer antibodi protektif yang divaksinasi dengan vaksin *Rabivet Supra92*[®] dan *Rabisin*[®] tidak berbeda nyata ($P=0,971$).
2. Persentase antibodi protektif yang diinduksi oleh vaksin *Rabisin*[®] pada periode lebih dari 3 minggu sampai dengan 3 bulan pasca vaksinasi nyata lebih tinggi dibandingkan dengan vaksin *Rabivet Supra92*[®] ($P<0,05$).
3. Rata-rata titer antibodi terhadap rabies pada anjing yang divaksinasi dengan vaksin *Rabisin*[®] sangat nyata lebih tinggi dibandingkan dengan yang divaksin *Rabivet Supra92*[®] ($P=0,000$).
4. Persentase antibodi protektif tertinggi diperoleh pada periode lebih dari tiga bulan sampai dengan enam bulan pasca vaksinasi.

SARAN

Untuk mendapatkan persentase titer antibodi rabies protektif yang memadai, disarankan untuk melakukan *booster* (vaksinasi ulangan) setelah 6 bulan vaksinasi pertama. Untuk memperkaya khasanah

pengetahuan terhadap respon imun vaksinasi rabies, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap faktor-faktor yang mempengaruhi efektifitas vaksin rabies di Bali.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih yang sebesar-besarnya disampaikan kepada Direktur project ACIAR AH 2006 166 beserta staf atas bantuan dana yang diberikan untuk penelitian ini. Ucapan yang sama juga disampaikan kepada Kepala Dinas Peternakan Propinsi Bali, Kepala Dinas Peternakan atau dinas yang membidangi fungsi-fungsi peternakan di seluruh kabupaten/kota se Propinsi Bali beserta staf, serta Kepala Balai Besar Veteriner Denpasar beserta staf, atas bantuan yang diberikan pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Adjid.R.M.A., A.Sarosa, T.Syapriati, dan Yuningsih. 2005. Penyakit rabies di Indonesia dan pengembangan teknik diagnosis nya. *Wartazoa*. 15(4) : 165-172

Balogh.K.K.L.M.D., F.Sabbe, and P.J.de Graaf.1995. Two Day Rabies Vaccination Campaign : A Sustainable Intervention?. *School of Veterinary Medicine, Lusaka, Zambia*. 125-133. <http://searg.info/fichiers/articles/1995126134L.PDF>.

Bingham J. 2005. Canine Rabies Ecology in Southern Africa. *Emerging Infectious Diseases*. 11(9) : 1337-1341. www.cdc.org. Diakses Maret 2011.

Cleaveland S., M.Kaare, P.Tiringa, T.Mlengeya, and J. Barrat. 2003. A dog rabies vaccination campaign in rural Africa: impact on the incidence of dog

rabies and human dog-bite injuries .*Vaccine*. 21(17-18):1965-1973. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X02007788>. di akses April 2011.

Direktorat Kesehatan Hewan. 2006. Pedoman Pengendalian Rabies Terpadu. Departemen Pertanian, Direktorat Jenderal Peternakan, Direktorat Kesehatan Hewan.

Hiswani. 2003. Pencegahan dan Pemberantasan Rabies. USU digital library. <http://library-usu.ac.id/download/fkm/fkm-hiswani10.pdf>. diakses 8 Juli 2010.

Kennedy L.J., M.Lunt, A.Barnes, L.McElhinney, A.R.Fooks, D.N.Baxter, and W.E.R.Ollier. 2007. Factor Influencing the Antibody Response of Dogs Vaccinated Against Rabies. *Vaccine*. 25(2007) : 8500-8507.

Menteri Pertanian. 2008. Surat Keputusan Menteri Pertanian Nomor 1637.1/Kpts/PD 640/12.2008. Tentang Pernyataan Berjangkitnya Wabah Penyakit Anjing Gila (Rabies) di Kabupaten Badung, Provinsi Bali.

Merial. 2011. Rabisin[®]. [http://uk.merial.com/data_sheet/Rabisin[®].asp](http://uk.merial.com/data_sheet/Rabisin%20.asp). Diakses April 2011.

Minke.J.M., J.Bauvet, F.Cliquet, M.Wasniewski, A.L.Gulot, L.Lemaiter, C.Cariou, V.Colette, L.Vergne dan P.M.Guigal. 2009. Comparison of Antibody Responses After vaccination with two inactivated rabies vaccines. *Short communication. Vet.Microbiology*. 133 (2009) : 283-286.

Ohore.O.G., B.O.Emikpe., O.O.Oke, and D.O.Oluwayelu. 2007. The seroprofile of rabies antibodies in companion urban dogs in Ibalan Nigeria. *Journal of animal and veterinary advance* 6 (1). 53-56. Medwell online.

OIE. 2008. Rabies. Manual of standard for diagnostic techniques. Chapter 2.1.13. Terrestrial manual.304-323.

Piza A.S.D.T., J.L.F.Santos, L.B.Chaves, and C.R. Zanetti. 1998. An

- ELISA Suitable For The Detection Of Rabies Virus Antibodies In Serum Samples From Human Vaccinated With Either Cell-Culture Or Suckling-Mouse-Brain Vaccine . 2009 Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo, Brazil.
- Putra.A.A.G., I.K.Gunata, Faizah., N.L.Dartini, D.H.W.Hartawan, G.Setiaji, A.A.G.Semara-Putra, Soegiarto, dan H.Scott-Orr. 2009. Situasi Rabies Bali: Enam bulan pasca program pemberantasan. Buletin Veteriner. XXI (74) : 13-26
- Rahman A. dan R. Maharis. 2008. Analisis Keberhasilan Vaksin Oral Rabies Sebagai Perbandingan Pengendalian Rabies di Indonesia. Buletin Pengujian Mutu Obat Hewan.13 (2008).
- Reece J.F. and S.K. Chawla. 2006. Control of Rabies in Jaipur, India, by The Sterilisation and Vaccination of Neighbourhood dogs. Vet.Record.16:379-383.http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/animalwelfare/Vet%20Record%20Paper.pdf. di akses April 2011.
- Riasari J.R.2009. Kajian Titer Antibodi terhadap Rabies pada Anjing yang di Lalulintaskan Melalui Pelabuhan Penyebrangan Merak. (Tesis) Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. http://repository.ipb.ac.id/bitstream/handle/123456789/4622/Cover_2009jrr.pdf?sequence=5. Diakses Maret 2011.
- Rupprecht C.E., M.D. Leonard-Blass, K. Smith, L.A. Orciari, M. Niezgod, S.G. Whitfield, R.V. Gibbons, M. Guerra, dan C.A. Hanion. 2001. Human Infection Due to Recombinant Vaccinia-Rabies Glycoprotein Virus. The New England Journal of Medicine: 345 (8): 582-586.
- Seghaier C., F.Cliquet, S.Hammami, T. Aouina, A. Tlatli, and M. Aubert. 1999. Rabies Mass Vaccination Campaigns In Tunisia : Are Vaccinated Dogs Correctly Immunized?. Am. J. Trop. Med. Hyg. 61(6) : 879 – 884.
- Servat A., M.Feyssaguet, L.Blanchard, J.L.Morize, J.L.Schereffer, F.Boue dan F.Cliquet. 2007. Review. A Quantitative Indirect ELISA to Monitor the Effectiveness of Rabies Vaccination in Domestic and Wild Carnivores. Journal of Immunological Methods. 318 : 1 – 10.
- Simani S., A.Amirkhani, F.Farahtaj, B.Hooshmand, A.Nadim, J.Sharifion, N.Howaizi, N.Eslami, A.Gholami, A.Janami, and A.Fayas. 2004. Evaluation of The Effectiveness of Pre Exposure Rabies Vaccination in Iran. Arch Med.7(4) : 251-255.
- Suzuki K., González, E. T., Ascarrunz, G., Loza, A., Pérez, M., Ruiz, G., Rojas, L., Mancilla, K., Pereira, J. A. C., Guzman, J. A. and Pecoraro, M. R. (2008), Abstrak, Antibody Response to an Anti-rabies Vaccine in a Dog Population under Field Conditions in Bolivia. Zoonoses and Public Health, 55: 414–420. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1863-2378.2008.01126.x/abstract>, diakses April 2011.
- Touihri L., I. Zaouia, K.Elhili, K.Dellagi, and C.Bahloul. 2011. Evaluation of Mass Vaccination Campaign Coverage Against Rabies in Dogs in Tunisia. Zoonoses and Public Health, 58: 110-118. Doi:10.1111/j.1863-2378.2009.01306.x
- Welch R.J., B.L.Anderson, and C.M.Litwin. 2009. An Evaluation of Two Commercially Available ELISAs and One in-house reference Laboratory ELISA For the Determination of human Anti-Rabies Virus Antibodies. J.Med. Microbiol. 58(2009):806-810
- Wilde H dan V. Tepsumethanon. 2010. Rabies and Thailand. www.cueid.org : 1-14. diakses Juni 2010.

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF LOCALLY ISOLATED RABIES VIRUS IN BALI[‡]

I Wayan Masa Tenaya^{a*}, Enuh Rahardjo Djusa^b and I Ketut Diarmita^a

^a **Balai Besar Veteriner Denpasar**

^b **Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan**

ABSTRACT

The first rabies case in Bali was reported in November 2008 in the South Peninsula and it has quickly spread to all districts in the island. An *in vitro* study was conducted to isolate and characterize street rabies virus obtained from brain of 15 rabies suspect dogs. A 10% of the brain suspension was firstly inoculated intra-cerebrally into balb/c mice to propagate and adapt the field virus. When the infected mice showed typical signs of rabies, they were killed to obtain brain tissues for the inoculation of N2A cells in tissue culture system. The infected cells were then tested by using a direct fluorescent antibody technique (FAT), and the culture supernatant was inoculated to balb/c mice to confirm the viral replication. Rabies virus was detected in the infected cells and all of the infected mice died with typical signs of rabies. This study providing evidence that street virus rabies could be isolated and characterized. Further work is under way to develop a serum neutralization test and the production of monoclonal antibodies to test the presence of neutralizing antibodies in vaccinated dogs and to prepare a more specific, sensitive and cheaper an indirect FAT respectively.

Keywords: Rabies, Murine neuroblastoma (N2A) cells, Fluorescent antibody techniques (FAT), Balb/c mice.

ABSTRAK

Kasus rabies di Bali pertama kali dilaporkan terjadi pada bulan Nopember 2008 di semenanjung selatan dan menyebar dengan cepat ke semua kabupaten di Bali. Suatu studi *in vitro* telah dilakukan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi virus rabies lokal yang ada di Bali yang diambil dari 15 sampel otak terduga mengandung virus rabies menggunakan sel *neuroblastoma* (N2A). Sepuluh persent suspensi otak anjing yang diduga terinfeksi rabies pertama tama diinokulasikan ke sepuluh ekor tikus percobaan (Balb/C mice) umur 4 minggu secara *intra-peritoneal*. Setelah satu minggu pasca inokulasi, ketika tikus tersebut menunjukkan gejala klinis rabies yang khas, tikus dibunuh dan disimpan pada suhu -80^oC sampai digunakan. Selanjutnya sepuluh persent suspensi otak tikus dibuat dari tikus yang mati tersebut untuk diinokulasikan ke sel N2A pada sistim tissue culture (STC). Tiga sampai empat hari kemudian, sel sel yang terinfeksi di uji menggunakan uji *fluorescent antibody technique* (FAT) and 10 pengenceran bertingkat dibuat dari cairan STC untuk inokulasi 7 kelompok (masing masing 5 ekor) tikus berumur 4 minggu. Virus rabies dapat terdeteksi pada sel sel yang terinfeksi rabies dengan FAT dan semua tikus percobaan mati dengan pengenceran virus terendah 10⁻⁵ /ml, dengan gejala klinis khas rabies dari hari 7-14 pasca inokulasi. Studi ini membuktikan bahwa virus rabies Bali dapat ditumbuhkan terkait dengan upaya isolasi dan karakterisasi virus rabies Bali. Studi lebih lanjut diperlukan untuk pembuatan serum netralisasi test, untuk mengetes adanya antiobodi yang protektif pada anjing anjing yang telah divaksin rabies dan pembuatan antibodi monoklonal untuk persiapan pembuatan uji FAT yang lebih spesifik, sensitive dan murah.

Keywords: Rabies, Murine neuroblastoma (N2A) cells, Fluorescent antibody techniques (FAT), Balb/c mice.

[‡] Presented at the "International Seminar on Strategy to Manage Bio-Eco-Health System for Stabilizing Animal Health and Productivity to Support Public Health" Organized by Faculty of Veterinary Medicine UNAIR on 19-20 June 2012 at Hotel JW Marriott, Surabaya.

INTRODUCTION

Since rabies was firstly reported in the Southern Peninsula of Bali in November 2008, it has spread quickly to all districts and now it is endemic in the island. Mass vaccination on dogs throughout the island has been applied, although more than one type of vaccines was used. It is unknown whether the vaccinations could stimulate the production neutralizing antibodies or not. It was believed that neutralizing antibodies could not be determined because serum neutralization test was not available. It was considered important to develop the test to evaluate which type of vaccine could provide neutralizing antibodies against rabies virus in Bali. As a consequence a reference local rabies virus should be obtained.

In tissue culture system, rabies virus could be grown in a number of cell lines. In 1978, Smith *et al* reported that street rabies virus could be maintained in murine neuroblastoma (N2A) cells. Cultivation of rabies related viruses (Lagos bat, Mokola and Duvenhage) in N2A cells caused more severe cytophatic effect (CPE) than using Baby Hamster Kidney-21 (BHK-21) cells (Clark, 1980). The BHK-21 could also be more sensitive to rabies virus with the addition of diethylaminoethyl-dextran (Largi *et al* 1975). However, N2A cells were considered to be more permissive compared with BHK-21 cells and CER cells for growing street rabies virus (Umoh *et al*, 1983).

Robert J.D and Charles, V.T (1987) also reported that N2A cells were more sensitive to the street strain rabies than BHK-21 cells. Infection of N2A with rabies virus could sensitively be demonstrated by using a direct fluorescent antibody technique (FAT) (OIE, 2011; Celestina G. R and Noel L.J. M, 1992), or mouse inoculation test Webster, W.A *et al* (1975). This study was conducted to isolate and characterize locally isolated rabies virus in Bali using tissue culture techniques, mouse inoculation test (MIT) and a direct fluorescent antibody technique (FAT).

MATERIAL AND METHODS

Virus source and mouse inoculation test (MIT).

The virus isolates were from 15 of naturally infected dogs submitted to the Veterinary Laboratory (Balai Besar Veteriner) Denpasar. All samples were tested with FAT for the presence of positive signals and only those with very strong reaction were used for further study. For the adaptation and propagation of virus rabies originated from dog specimens in mice, MIT was done using 10 of 4 weeks old balb/c mice as described by Webster, W.A *et al* (1975). A challenge virus standard (CVS) was kindly provided by Dr. Enuh (BPMSOH) and used as a positive control to inoculate 6 of 4 weeks old balb/c mice. As a negative control, 6 of 4 weeks old balb/c mice were injected with DMEM containing

no virus. All infected mice were observed daily and any animals that died with typical clinical sign of rabies one week post inoculation was considered positive and keep at -80°C until required.

Inoculation of rabies virus in N2A cells

A sample of murine neuroblastoma (N2A) cells used in this study was originated from The Australian Animal Health Laboratory (AAHL, Gelong). A total of 6.0×10^5 cells per ml was grown in 12 well tissue culture plates (Iwaki) with a complete DMEM (Sigma Aldrich) supplemented with a 10% foetal calf serum (FCS), 200 IU penicillin-G ml^{-1} and 200 $\mu\text{g ml}^{-1}$ streptomycin sulfate, in an incubator conditioned at 37°C with 7% CO_2 . Before the cells were dropped into the plates, a sterile cover slip was put on the bottom of each well. When the cells showing monolayer stages, 0.2 ml of a 10 % of mice brain suspensions stored at -80°C was used to infect the cells. A negative control culture was made by inoculating a plate with a complete DMEM containing no brain suspension. After further addition of a complete DMEM, the infected cells were then incubated, and when CPEs were observed, the culture supernatants were collected and keep at -80°C until tested and the cover slips were prepared for FAT staining.

Confirmation for the presence of adapted virus in tissue culture

A biological test was conducted to determine the presence of viral antigen in the infected culture supernatants, using MIT as above. A serial of 10 fall dilution of the supernatant, ranged from 10^{-1} to 10^{-7} per ml, was made and 0.2 ml of each the dilution was injected to five animals of 7 different groups intra-cerebrally. The infected mice were observed for the presence of clinical signs of rabies. The cover slips containing the infected cells were stained with FAT according to a standard protocol (Dean, D. J., and M. K. Abelseth. 1973).

RESULTS

Of the 15 brain specimens originated from the naturally infected dogs, 12 were positive FAT but only three of these (record no. 1266, 864 and 870) showing a very strong fluorescence signals and were selected to infect 10 mice. All of the mice that were infected with a 10% dog brain suspensions and control animals infected with CVS died with typical rabies 9-12 days after infection, but all of the negative control animals survived until the experiments were terminated. The N2A cells could be grown productively (Fig 1a) and the infection of the cells with rabies prepared from the infected-mice brain suspensions caused CPEs (Fig 1b). When the infected cells were tested with FAT, positive reactions were observed (Fig 2a), but no reaction

was detected with the non-infected cells (Fig 2b). Inoculation of the infected culture supernatant killed all infected mice with the lowest titer of 10^{-4} per ml with typical signs of rabies

which was similar to the positive CVS control (data not shown).

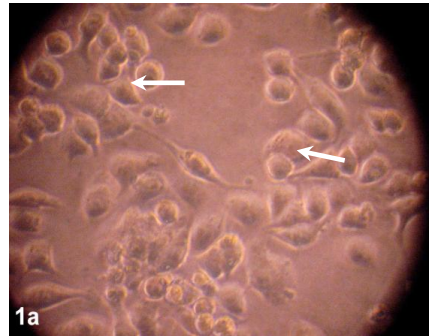


Figure: 1a.
Uninfected N2A cells (exampel cells are arrowed)

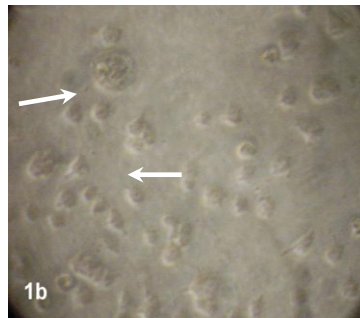


Figure 1b.
Rabies-infected N2A cells with CPEs (arrow)

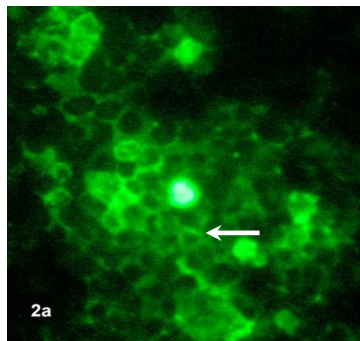


Figure 2a.
FAT positive virus rabies (arrowed)

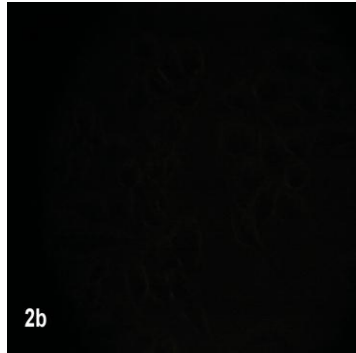


Figure 2b.
Negative FAT.



Figure 3.
Typical clinical signs of mice infected with infected tissue culture supernatant (left) and with CVS control rabies virus (right). All animals finally died 2-3 days later after taking the photographs.

DISCUSSION AND SUGESSTIONS

The mechanism of viral isolation is crucial in the adaptation of street virus rabies. The suspect dog brain suspensions should not be directly infected into N2A cells but to mice then from infected mice to N2A cells, to propagate and to sensitize the virus. In a preliminary study, direct infection of a suspect dog brain suspension into N2A cells resulted in very low viral concentration. In this study, the use of N2A cells for growing street rabies virus in Bali was appropriate and resulted in high concentration of viral titer in the supernatant. The presence of viral antigen in the infected N2A cells was confirmed by a direct FAT which showed strong positive signals. Further, inoculation of the infected culture supernatant to susceptible mice killed all the infected animals with the lowest titer of 10^{-4} per ml. Lower viral concentration of 10^{-6} per ml only killed 50% of the infected animals. Both the techniques, FAT and MIT demonstrated the presence of infectious rabies virus in the tissue culture system, thus providing evident of the successful isolation and characterization of locally rabies virus in Bali. Further works are required to increase viral concentration in the culture system, probably by incubating the infected cells longer until all cells dying. This work may be relevant to prepare locally rabies virus to develop SNT and monoclonal antibodies to test the

presence of neutralizing antibodies in vaccinated dogs and to prepare a more specific, sensitive and cheaper an indirect FAT respectively.

Therefore is was suggested to continue this work in order to provide better diagnostic tools and vaccine candidates for eradicating rabies in Bali.

REFERENCES

- Clark, H. F. 1980. Rabies serogroup viruses in neuroblastoma cells: propagation, "autointerference," and apparently random back-mutation of attenuated viruses to the virulent state. *Infect. Immun.* 27:1012-1022.
- Dean, D. J., and M. K. Abelseth. 1973. The fluorescent antibody test, p. 73-83. In M. M. Kaplan and H. Koprowski (ed.), *Laboratory techniques in rabies*, 3rd ed. World Health Organization, Geneva.
- Larghi, O. P., A. E. Nebel, L. Lazaro, and V. L. Savy. 1975. Sensitivity of BHK-21 cells supplemented with diethylaminoethyl-dextran for detection of street rabies virus in saliva samples. *J. Clin. Microbiol.* 1:243-245.
- Umoh, J. U., and D. C. Blenden. 1983. Comparison of primary skunk brain and kidney and raccoon kidney cells with established cell lines for isolation and propagation of street rabies virus. *Infect. Inimun.* 41:1370-1372.
- Robert J. R and Charles V.T 1987. Comparison of Sensitivity of BHK-21 and Murine Neuroblastoma Cells in the Isolation of a Street Strain Rabies Virus. *J. Clin. Microbiol*, p. 1456-1458
- Webster, W.A G. A. Casey and K. M. Charlton. 1975. The Mouse Inoculation Test in Rabies Diagnosis:Early Diagnosis in Mice During the Incubation Period.

EPIDEMIOLOGI CANINE RABIES DI PROVINSI BALI, 2008 – 2012 (Epidemiology of Canine Rabies in Bali Province, 2008 – 2012)

Ni Made Arsani, I Ketut Wirata, I Gde Agus Joni Uliantara
Balai Besar Veteriner Denpasar

ABSTRAK

Makalah ini menganalisis data Rabies di Provinsi Bali sejak Tahun 2008 sampai dengan Mei 2012 untuk mengetahui epidemiology dan factor risiko terinfeksi rabies berdasarkan hasil uji FAT di laboratorium Balai Besar Veteriner Denpasar. Sebanyak 656 (15,29%) sample didiagnosa positif rabies dari 4.290 sampel yang diuji. Sejak outbreak pertama kali pada tahun 2008, jumlah sample yang diuji dan jumlah positif rabies meningkat dan mencapai puncaknya pada tahun 2010, dan setelah itu cenderung menurun sampai dengan bulan Mei tahun 2012 ini. Kasus rabies telah menyebar ke 315 (43,99%) desa yang tersebar di seluruh kabupaten di Bali dan sebagian besar (98,48%) kasus rabies terjadi pada hewan anjing. Hewan yang tidak divaksin secara signifikan mempunyai peluang lebih tinggi terinfeksi rabies dibandingkan dengan yang divaksin (chi square=17,733, $p < 0,000$; OR=2,1). Demikian juga hewan yang mati secara alami berpeluang terdiagnosa positif rabies secara signifikan lebih besar dibandingkan dengan yang mati karena dibunuh (chi sq=72, $p < 0,000$; OD=13,8). Risiko terinfeksi rabies pada berbagai kelompok umur tidak berbeda secara signifikan (chi sq=8,205, $p < 0,145$), demikian juga risiko berdasarkan jenis kelamin (chi square=2,85, $p < 0,091$). Hewan dengan gejala menggigit yang disertai gejala saraf lain, hewan yang menggigit lebih dari satu kali, hewan yang mati setelah menggigit, hewan menggigit yang statusnya tidak divaksin perlu lebih diwaspadai karena lebih berpeluang menderita rabies.

Kata kunci: Canine Rabies, epidemiologi, faktor risiko, Provinsi Bali,

ABSTRACT

This paper analyzes the data Rabies in Bali Province since 2008 up to May 2012 to determine the epidemiology and risk factors of rabies infection based on FAT results in Disease Investigation Center of Denpasar. A total of 656 (15.29 %) samples diagnosed positive for rabies from 4.290 samples tested . Since the first outbreak in 2008 , the number of samples tested and the number of positive for rabies increased and reached its peak in 2010 , and thereafter tended to decline until May 2012. Cases of rabies has spread to 315 (43.99 %) villages scattered throughout the district in Bali and most (98.48 %) cases of rabies occur in dogs . The animals were not vaccinated had significantly higher odds infected with rabies than those vaccinated (chi square = 17.733 , $p < 0.000$; OR = 2.1) . Similarly, animals that die naturally likely positive for rabies diagnosis is significantly larger than that died were killed (chi sq = 72 , $p < 0.000$; OD = 13.8) . The risk of rabies infection in different age groups did not differ significantly (chi sq = 8.205 , $p < 0.145$) , as well as the risk by sex (chi square = 2.85 , $p < 0.091$). Animals with symptoms of biting plus neurological symptoms, bite more than once , the animals that died after biting , animal bite with not vaccinated status need to be aware of because it is more likely to infected of rabies.

Keywords: Canine Rabies, epidemiology, risk factor, Bali Province

I PENDAHULUAN

Rabies merupakan penyakit hewan menular zoonotik yang disebabkan oleh *neurotropic virus* dari genus *Lyssavirus* famili *Rhabdoviridae* yang dapat menulari semua jenis mamalia baik hewan domestik maupun hewan liar. Penyakit rabies menular ke manusia umumnya melalui gigitan hewan yang terinfeksi rabies (OIE, 2011; WHO, 2012).

Rabies terjadi di lebih dari 150 negara di dunia, menyebabkan lebih dari 55.000 orang meninggal setiap tahun terutama di Asia dan Afrika (WHO, 012). Di Provinsi Bali, Rabies dilaporkan pertama kali terjadi pada bulan November tahun 2008. Sejak muncul pertama kali sampai dengan saat ini, rabies telah menyebar ke seluruh wilayah kabupaten di Provinsi Bali dan sampai dengan bulan Oktober 2011 telah menimbulkan korban jiwa manusia sebanyak 133 orang (Anon., 2011). Walaupun penyakit telah muncul cukup lama dan masih menjadi masalah yang cukup pelik, namun data epidemiologi penyakit tersebut belum terdokumentasikan dengan baik. Pengetahuan akan epidemiologi dan factor risiko kejadian canine rabies diperlukan sebagai salah satu pedoman penanggulangan penyakit yang lebih terarah, juga sebagai data dasar dalam pelaksanaan kajian atau studi lebih lanjut tentang rabies. Makalah ini diharapkan dapat memberikan tambahan informasi untuk maksud tersebut.

Makalah ini merupakan rangkuman gambaran epidemiologi terhadap data sample dan hasil uji FAT di laboratorium di BBV Denpasar sejak November 2008 sampai dengan 21 Mei 2012.

II MATERI DAN METODE

Makalah ini merupakan studi retrospektif terhadap data selama kira-kira 4 tahun (November 2008-Mei 2012). Sumber data yang digunakan adalah data-data yang menyertai sample yang telah dikirim oleh petugas dinas peternakan atau masyarakat umum ke laboratorium BBVet Denpasar. Sampel yang dikirim diuji dengan FAT untuk menentukan diagnosa terhadap rabies.

Semua rekaman data mengenai sample sejak November 2008 sampai Mei 2012 dimasukkan ke dalam program infolab. Data selanjutnya dianalisis menggunakan program excel. Asosiasi antara jumlah positif rabies dengan kelompok umur, jenis kelamin, status vaksinasi, riwayat kematian, gejala klinis dan yang lainnya diuji menggunakan chi square test, dan odds ratio dihitung untuk mengetahui besarnya asosiasi antar variable tersebut. Nilai $p < 0,05$ dikategorikan sebagai nilai yang signifikan secara statistic.

Odds ratio adalah suatu rasio peluang dari yang terpapar terhadap yang tidak terpapar dalam kelompok spesifik penyakit atau rasio peluang dari yang sakit terhadap yang tidak sakit dalam kelompok yang spesifik paparan.

Odds ratio digunakan secara luas dan bermanfaat dalam semua jenis studi epidemiologi (Thrusfield, 2007; Anon., 2007)

III HASIL

BBVet Denpasar menerima sample untuk diagnosis rabies yang berasal dari hewan yang diduga tertular rabies. Sampel yang diterima dicatat data-datanya mengenai spesies, jenis kelamin, umur, sejarah klinis, sejarah gigitan, nama pemilik dan alamat lengkap.

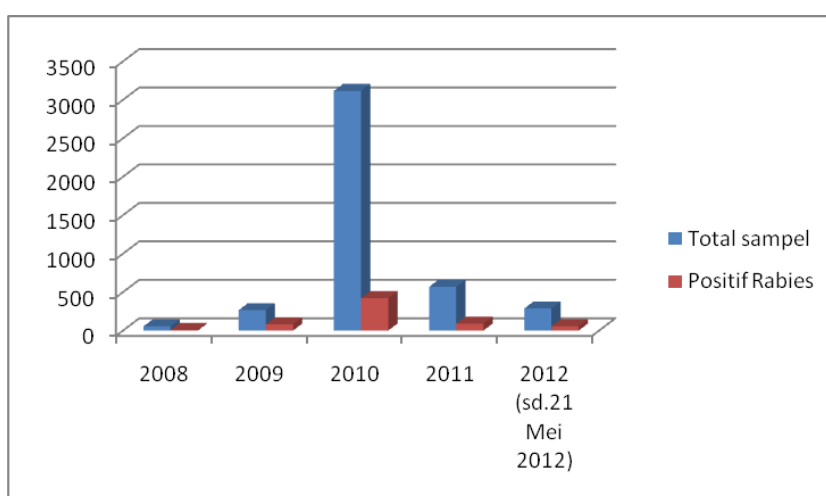
Sampel pada umumnya dikirim oleh petugas dari dinas peternakan/petugas PDSR, namun sebagian ada juga dikirim oleh yayasan pencinta anjing, dan dokter hewan praktisi. Ada beberapa alasan mereka mengirimkan sample yaitu antara lain: 1) karena hewannya menggigit orang/hewan/benda, 2) karena memperlihatkan gejala agresif, 3) memperlihatkan gejala saraf yang mengarah pada rabies, 4) merupakan hasil eliminasi pada anjing liar atau pada wilayah di sekitar kasus rabies. Untuk peneguhan diagnosa, sample diuji dengan menggunakan metode FAT (Flourescent Antibody Test).

Sejak Rabies muncul di Bali pada bulan November 2008 sampai dengan 21 Mei 2012, sebanyak 4.290 sampel telah diuji terhadap rabies. Jumlah sample setiap tahun bervariasi antara 54 sampai 3116. Dari keseluruhan sample, 656 (15,29%) diantaranya positif rabies, seperti yang terlihat pada table 1. Sampel yang positif rabies setiap tahun bervariasi dari 8 sampai

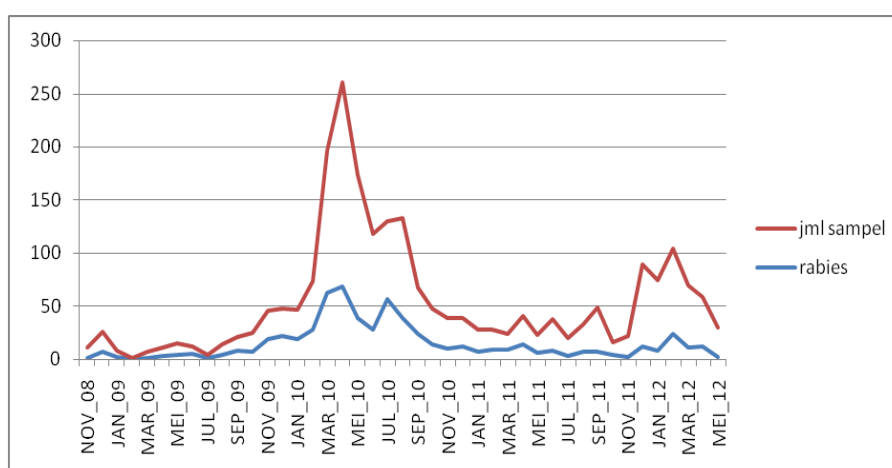
421, dengan persentase positif antara 13,51 % sampai 30,19 %. Sejak outbreak pertama kali pada tahun 2008, jumlah sample yang diuji dan jumlah positif rabies cenderung meningkat dan mencapai puncaknya pada tahun 2010. Setelah itu terlihat ada kecenderungan menurun seperti terlihat pada grafik 1 dan 2.

Tabel 1.
Kasus Rabies di Provinsi Bali Tahun 2008 – 2012

Tahun	Positif rabies	Total sampel	% positif
2008	8	54	14,8
2009	80	265	30,19
2010	421	3116	13,5
2011	90	568	15,8
2012 (sd. Mei 2012)	57	287	19,86
Total	656	4290	15,29



Grafik 1.
Jumlah Sampel dan Positif Rabies per tahun di Provinsi Bali



Grafik 2.
Jumlah sample dan positif rabies di Provinsi Bali per bulan (Nov. 2008 – Mei 2012)

Tabel 2.

Kasus Rabies per Kabupaten di Provinsi Bali (Nov 2008 – Mei 2012).

Kabupaten	Positif rabies	Total sample	% positif
Badung	76	636	11,95
Bangli	78	508	15,35
Buleleng	81	410	19,76
Denpasar	62	497	12,47
Gianyar	144	557	25,85
Jembrana	69	380	18,16
Karangasem	75	414	18,12
Klungkung	41	475	8,63
Tabanan	30	413	7,26
Total	656	4290	15,29

Data Spesies, Ras, Jenis kelamin, dan Umur

Kasus Rabies terbanyak terjadi pada hewan anjing yaitu sebanyak 646 kasus (98,48%) dari 656 kasus secara keseluruhan. Hewan lain yang pernah dilaporkan tertular yaitu kucing, sapi, babi dan kambing. Anjing yang tertular rabies sebagian besar (93%)

merupakan anjing local, sedangkan sisanya merupakan anjing ras atau hasil persilangan. Bila dilihat berdasarkan jenis kelamin, nampak kasus rabies lebih banyak terjadi pada hewan yang berjenis kelamin jantan dibandingkan dengan hewan betina, namun tidak ada asosiasi antara jenis kelamin dan kasus rabies ($\chi^2=2,85, p<0,091$)

Tabel 3.

Kasus Rabies di Provinsi Bali berdasarkan Jenis Kelamin

Jenis kelamin	Positif Rabies	Negatif rabies	Total sampel
Betina	155	228	383
Jantan	404	482	886
Tidak ada data	97	2924	3021
Total	656	3634	4290

Seperti terlihat pada Table 4, dari 521 kasus rabies yang tercatat data umurnya, kelompok umur yang terbanyak terinfeksi rabies yaitu umur >1 – 2 th dan >2-3th, masing-masing 20,1 % (105/521) dan 20,5% (107/521), namun

perbedaan pada kelompok umur ini tidak signifikan ($\chi^2=8,205$, $p<0,145$). Hewan umur 1-3 bulan juga cukup banyak yang terserang rabies, yaitu 12,5 % (65/521).

Tabel 4.
Kasus Rabies di Provinsi Bali berdasarkan Umur

Umur	Positif Rabies	Negatif rabies	Total sampel
1-3bl	65	92	157
>3-6bl	76	79	155
>6bl-1th	78	99	177
>1th-2th	97	162	283
>2th-4th	111	119	215
>4th	94	123	208
Tidak ada data	135	2960	3.095
Total	656	3634	4.290

Data Status vaksinasi

Hewan yang tidak divaksin yang terinfeksi rabies sebanyak 187 (28,50 %), sedangkan pada hewan yang telah divaksin yang terinfeksi rabies sebanyak 57 kasus (8,69 %), dan sisanya 412 (62,80 %) merupakan hewan positif rabies yang status vaksinasinya tidak diketahui seperti terlihat pada Table 5. Status vaksinasi memiliki asosiasi dengan kasus rabies ($\chi^2=17,733$, $p<0,000$), dimana hewan yang tidak

divaksin memiliki peluang terinfeksi rabies sebanyak 2,1 kali bila dibandingkan dengan yang divaksin ($OR=2,1$). Dari 57 kasus rabies yang terjadi pada hewan yang telah divaksin, 18 kasus (31,6%) terjadi pada hewan yang telah divaksin kurang dari 2 bulan, 7 kasus (12,3%) pada hewan yang telah divaksin antara 2 bulan sampai 6 bulan, dan 9 kasus (15,8%) pada hewan yang telah divaksin lebih dari 6 bulan, serta sisanya tidak diketahui waktu vaksinasinya.

Tabel 5.
Kasus Rabies di Provinsi Bali berdasarkan Status Vaksinasi

Status vaksinasi	Positif Rabies	Negatif rabies	Total	Odds ratio
Tidak divaksin	187	249	436	2,1
Divaksin	57	162	219	0,5
Tidak ada data	412	3223	3635	
Total	656	3634	4290	

Data Riwayat Kematian dan Status Kepemilikan

Sebanyak 3.453 sampel yang diuji berasal dari hewan yang mati karena dibunuh, dan 127 sampel berasal dari hewan yang mati sendiri (alami). Sampel yang mati karena dibunuh sebanyak 309 (8,9 %) positif rabies, sedangkan sample dari hewan yang mati sendiri positif rabies sebanyak 74 (58,3%). Peluang terdiagnosa positif rabies secara

signifikan lebih besar pada hewan yang mati secara alami dibandingkan dengan yang mati karena dibunuh (chi sq=72, $p < 0,000$; OD=13,8).

Berdasarkan status kepemilikan, dari 4.290 sampel yang diterima, 1.315 (30,65%) merupakan hewan yang berpemilik, 2686 (62,61%) tidak berpemilik, dan sisanya tidak ada data. Sampel yang berasal dari hewan yang tidak berpemilik sebagian besar merupakan hasil eliminasi.

Tabel 6.
Kasus Rabies di Provinsi Bali berdasarkan Riwayat Kematian

Pemilik	Positif Rabies	Negatif rabies	Total	Odds Ratio
Mati alami	74	53	127	13,8
Mati dibunuh	309	3144	3453	0,1
Tidak ada data	273	437	710	
Total	656	3634	4290	

Gejala klinis

Sampel yang diuji di laboratorium BBVet Denpasar tidak selalu berasal dari hewan yang menunjukkan gejala klinis. Ada beberapa alasan mengapa sampel dibawa untuk uji konfirmasi rabies yaitu antara lain: 1) telah menggigit

orang/binatang/benda-benda 2) menunjukkan gejala gangguan saraf yang diduga disebabkan oleh rabies, 3) pernah didigigit atau kontak dengan anjing yang diduga rabies, 4) merupakan hasil eliminasi anjing liar di daerah yang terancam (tanpa gejala klinis).

Data mengenai gejala klinis secara garis besar berdasarkan pengamatan petugas/customer dibagi menjadi 6 yaitu 1) agresif, 2) menggigit, 3) menggigit disertai gejala lain, 4) gejala saraf seperti paralisis, hipersalivasi, kejang, takut air, takut sinar, ekor melipat, suara parau, suara meraung, tidak responsive, sempoyongan, sembunyi, dan sulit menelan (gejala yang timbul peluang tertinggi terdiagnosa rabies yaitu 11,9 kali lebih tinggi dibandingkan dengan gejala lain, diikuti dengan gejala "menggigit" yaitu berpeluang 9,4 kali lebih tinggi dibandingkan dengan gejala lain, seperti terlihat pada tabel 7. Gejala lain yang

kadang-kadang tunggal atau merupakan gabungan beberapa gejala); 5) gejala tidak mencari, seperti kudisan, kurus, anoreksia; 6) tanpa gejala klinis, dan sebagian tidak ada data.

Peluang terdiagnosa positif bervariasi secara signifikan diantara berbagai gejala klinis yang teramati ($\chi^2 = 72$, $p < 0,000$). Gejala klinis "menggigit+gejala lain" memiliki umumnya menyertai gejala klinis menggigit pada kasus rabies yaitu: takut sinar, hipersalivasi, sempoyongan, paralisis, perubahan perilaku, ekor dilipat, suara serak/meraung, takut sinar, agresif, gelisah, sulit menelan, dan mati.

Tabel 7.
Gejala klinis dan Kasus Rabies

Gejala klinis	Positif Rabies	Negatif rabies	Total sampel	Odds Ratio
Agresif	34	128	162	1,3
Menggigit	290	274	564	9,4
Menggigit + gejala lain	128	67	195	11,9
Gejala saraf (tidak agresif)	43	90	133	2,5
Gejala tidak mencari	14	53	67	1,3
Tidak ada gejala klinis	84	2348	2342	0,04
Tidak ada data	63	647	697	
Total	656	3634	4290	

Sebagian besar sample yang berasal dari hewan dengan gejala menggigit (292/418, 69,9%) merupakan hewan yang berpeluang, namun peluang munculnya rabies lebih besar pada hewan yang menggigit yang tidak berpeluang (OR=1,67, $\chi^2 = 9,07$, $p < 0,003$).

Sampel dari hewan yang menggigit sebagian besar tidak pernah divaksin sebelumnya. Sampel dari hewan yang menggigit yang sebelumnya tidak divaksin sebanyak 62,4 %, sedangkan yang berasal dari hewan yang divaksin 38,6 %. Hewan yang menggigit yang

sebelumnya tidak divaksin secara signifikan berpeluang lebih besar didiagnosa rabies (OR= 3,68; chi square=72; p<0,00).

Seekor hewan dapat menggigit antara 1 sampai dengan 14 kali; gigitan lebih dari 5 kali hampir semuanya terdiagnosa positif rabies. Hewan yang menggigit lebih dari satu kali memiliki peluang terdiagnosa rabies 3,2 lebih besar secara signifikan dibandingkan hanya menggigit satu kali (chi square = 72; p<0,000; OR: 3,2).

Desa Tertular

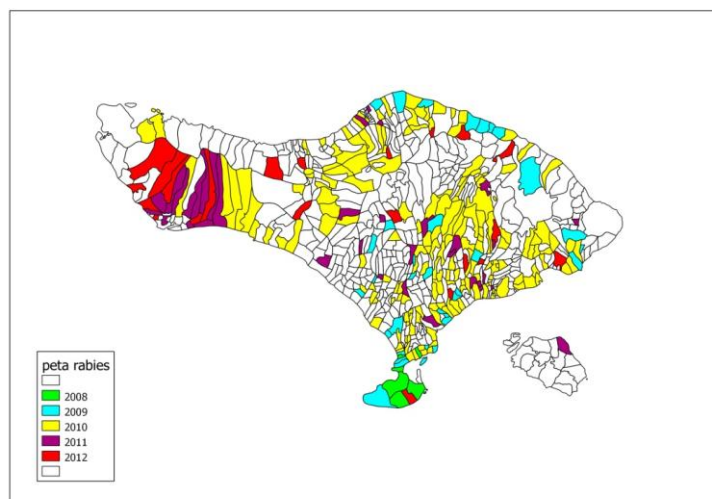
Dalam makalah ini definisi desa tertular adalah suatu desa yang merupakan asal sample hewan yang didiagnosa positif rabies pada setiap pengiriman sample untuk uji konfirmasi laboratorium. Sejak dilaporkan pertama kali di

Desa Kedonganan Badung, penyakit terus menyebar ke wilayah yang lebih luas, ke seluruh kabupaten di Bali. Saat ini, dari 716 desa yang ada di Provinsi Bali (Anon., 2011), 315 desa (43,99%) sudah tertular rabies. Sebanyak 170 desa tertular hanya sekali, selebihnya tertular lebih dari sekali bahkan ada yang sampai tertular 13 kali. Peta penyebaran rabies per desa di Provinsi Bali sejak tahun 2008 sampai dengan Mei 2012 dapat dilihat pada gambar 1. Kejadian rabies yang lebih dari 5 kali di suatu desa terjadi di 19 desa, masing-masing di Kabupaten Gianyar (6 desa), Badung dan Bangli (masing-masing 3 desa), Karangasem (3 desa), Kota Denpasar (2 desa), Jembrana dan Tabanan masing-masing 1 desa.

Tabel 8.

Jumlah Desa tertular Rabies 2008 – 21 Mei 2012

Kabupaten	Jumlah desa	Jumlah desa tertular	% tertular
Badung	62	35	56,45
Bangli	72	33	45.83
Buleleng	148	58	39.19
Denpasar	43	27	62.79
Gianyar	70	51	72.86
Jembrana	51	31	60.78
Karangasem	78	32	41.03
Klungkung	59	25	42.37
Tabanan	133	23	17.29
Total	716	315	43.99



Gambar1.

Peta Distribusi Rabies per Desa di Provinsi Bali Tahun 2008 – Mei 2012

IV PEMBAHASAN

Persentase positif rabies pada sample yang diuji FAT yaitu rata-rata 15,29%, hasil ini mirip dengan hasil diagnosa Rabies di Aracatuba Brazil yaitu 17,7% (Queiroz da Silva, et al., 2004), akan tetapi berbeda dengan di Santa Cruz, Bolivia yang mencapai 50,4 % (Widdowson, et al., 2002) dan di Bangkok 40 % (Mitmoonpitak, et al., 2002). Berdasarkan jumlah sample yang diuji dan jumlah sample yang positif rabies, maka nampak ada peningkatan sample dan kasus rabies sejak rabies pertama kali muncul sampai dengan tahun 2010, dan mulai tahun 2011 terlihat kecenderungan menurun. Penurunan kasus ini mungkin merupakan hasil vaksinasi massal yang dilaksanakan pada Oktober 2010, dan Mei-September 2011 (Anon., 2010, 2011). Seperti terlihat pada grafik

2, tidak ada pengaruh musim dalam kejadian rabies di Bali.

Kasus rabies di Bali terbanyak (98,5 %) terjadi pada species anjing, sama seperti yang terjadi di wilayah lain di dunia. Di Thailand kasus rabies pada anjing dilaporkan sebanyak 95-96% (Panichabhongse, 2011).

Peluang terinfeksi rabies berdasarkan jenis kelamin tidak berbeda secara signifikan pada kejadian rabies di Bali. Hal ini berbeda dengan di Santacruz Bolivia dimana anjing jantan berisiko 1,14 kali tertular rabies dibandingkan anjing betina. Demikian juga umur anjing tidak merupakan factor risiko di Bali, tapi sebaliknya di Santacruz Bolivia, umur anjing 1-2 tahun berisiko paling tinggi tertular rabies (OD: 1,73), dan umur 3 bulan –1 tahun berisiko tertular rabies 1,49 kali dibanding kelompok umur yang

lain (OD: 1,49) (Widdowson, 2002). Di Bali, hewan umur 1-3 bulan juga cukup banyak yaitu 12,5% (65 dari 521) yang terserang rabies. Berdasarkan data ini maka perlu dipertimbangkan untuk melakukan vaksinasi pada anak-anak anjing sebelum berumur 1 bulan. Brum (2012) menyatakan bahwa penting untuk melakukan vaksinasi pada anak anjing umur di atas 2 minggu. Anjing pada kisaran umur tersebut lebih banyak terjadi kontak dengan anak-anak sehingga patut diwaspadai untuk mencegah penularan penyakit. Edukasi yang terus menerus perlu dilakukan kepada masyarakat luas agar waspada terhadap gigitan anak anjing yang biasanya sering diabaikan.

Data mengenai status vaksinasi pada pengiriman sample sebagian besar (62,80%) datanya tidak jelas sehingga dikategorikan sebagai tidak diketahui status vaksinasinya atau "tidak ada data" vaksinasi. Dalam hal ini disarankan kepada petugas pengirim sample untuk tidak lupa mencatat data vaksinasi, atau pada saat mengisi formulir penerimaan sample agar mengisi kolom status vaksinasi dengan data yang jelas, apakah divaksin, tidak divaksin atau benar-benar tidak tahu. Sebagian pengirim sample mengisinya dengan tanda "-" yang maksudnya tidak jelas, apakah tidak divaksin atau tidak tahu. Data seperti itu penulis kategorikan sebagai "tidak ada

data". Data seperti itu diperkirakan sebagian besar merupakan data "tidak divaksin". Bila demikian halnya maka sebenarnya peluang terinfeksi rabies pada hewan yang tidak divaksin jauh lebih tinggi daripada hasil analisis terhadap data yang tercatat saat ini.

Diagnosa positif rabies yang cukup tinggi yang terjadi pada hewan yang tidak menunjukkan gejala klinis (12,8% atau 84 dari 656), demikian juga yang gejala klinisnya tidak menciri (2,1% atau 14 dari 656) patut diwaspadai dan perlu menjadi perhatian kita karena kelompok tersebut biasanya luput dari pengamatan. Kelompok ini mempunyai peranan dalam penyebaran penyakit pada HPR sehingga tindakan eliminasi terbatas pada anjing liar yang tidak berhasil ditangkap untuk divaksinasi perlu dilakukan.

Berulangnya kejadian di desa yang sama mungkin merupakan indikasi kurang berhasilnya tindakan penanggulangan penyakit di wilayah tersebut. Hal ini berkaitan dengan kurang optimalnya pelaksanaan vaksinasi dan edukasi. Disamping itu, hal ini juga menunjukkan tingginya lalu-lintas anjing ke wilayah desa tersebut. Suatu kajian epidemiologi perlu dilakukan untuk mengetahui factor risiko yang menyebabkan tingginya kejadian di wilayah tersebut.

Tanpa mengabaikan gejala klinis yang lain, gejala menggigit yang disertai gejala saraf lainnya, hewan yang menggigit lebih dari satu kali, hewan yang mati setelah menggigit, hewan menggigit yang statusnya tidak divaksin perlu lebih diwaspadai karena lebih berpeluang menderita rabies. Walaupun demikian yang lebih penting tentunya hasil konfirmasi laboratorium untuk memastikan seekor hewan positif menderita rabies.

Sebagian besar kasus gigitan (292/418 atau 69,9%) berasal dari hewan yang berpemilik. Hasil kajian ini mirip dengan yang terjadi di Sri Lanka dimana 77,0 % kasus gigitan berasal dari hewan yang berpemilik (Matibag, 2008). Namun peluang munculnya rabies lebih besar pada hewan yang menggigit yang tidak berpemilik (OR=1,67, $\chi^2=9,07$, $p<0,003$). Hal ini ada hubungannya dengan status vaksinasi, karena jumlah hewan yang tidak divaksin lebih besar pada hewan yang tidak berpemilik.

Bersama dengan data lainnya, seperti herd immunity dan kajian epidemiologi lainnya mudah-mudahan makalah ini bermanfaat dalam membantu tindakan pengendalian penyakit yang lebih terarah. Informasi ini juga setidaknya dapat dijadikan dasar dalam melakukan kajian lebih lanjut seperti analisis risiko atau kajian kerugian ekonomi.

V KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Sejak outbreak pertama kali pada tahun 2008, jumlah sample yang diuji dan jumlah positif rabies cenderung meningkat dan mencapai puncaknya pada tahun 2010, setelah itu terlihat ada kecenderungan menurun.
2. Kasus Rabies di Provinsi Bali sebagian besar (98,48%) terjadi pada hewan anjing.
3. Status vaksinasi dan riwayat kematian berasosiasi dengan kasus rabies, sedangkan jenis kelamin dan umur tidak berasosiasi dengan kasus rabies.
4. Gejala klinis menggigit yang disertai gejala saraf lainnya, hewan yang menggigit lebih dari satu kali, hewan yang mati setelah menggigit.
5. Hewan menggigit yang statusnya tidak divaksin perlu lebih diwaspadai karena lebih berpeluang menderita rabies.

Saran

1. Perlu dilakukan kajian epidemiologi untuk mengetahui penyebab kejadian rabies yang berulang di suatu desa sehingga dapat menjadi bahan masukan untuk melakukan upaya-upaya pengendalian yang efektif.
2. Kegiatan edukasi dan vaksinasi yang optimal perlu terus menerus dilakukan untuk menekan kasus sampai ke tingkat minimal.
3. Karena kasus rabies cukup banyak (12,5%) terjadi pada hewan umur 1-3 bulan, maka vaksinasi perlu dilakukan setelah anak anjing berumur 2 minggu.
4. Karena diagnosa positif rabies cukup tinggi terjadi pada hewan yang tidak menunjukkan gejala klinis (12,8%) dan yang gejala klinisnya tidak menciri (2,1%), maka tindakan eliminasi terbatas pada anjing liar yang tidak berhasil ditangkap untuk divaksinasi perlu dilakukan.
5. Data dasar yang menyertai pengiriman sampel ke laboratorium perlu lebih diperhatikan kelengkapannya agar lebih informatif.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima-kasih penulis sampaikan kepada Kepala Balai Besar Veteriner Denpasar atas kesempatan yang diberikan dalam penulisan makalah ini.

Terima-kasih juga disampaikan kepada semua pihak atas bantuan dan kerjasamanya dalam penanganan sample dan data rabies sejak di lapangan sampai dengan selesai diuji di laboratorium BBVet Denpasar.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimous, 2007. Veterinary Epidemiology. Provincial/District Training Workshop for Avian Influenza. Colorado State University, United States Department of Agricultural, Association for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine, Center for Indonesian Veterinary Analytical Studies.
- Anonimous, 2010. Laporan Situasi Penanggulangan Rabies. Dinas Peternakan Provinsi Bali.
- Anonimous, 2011. Laporan Situasi Penanggulangan Rabies. Dinas Peternakan Provinsi Bali.

- Anonimous, 2011. Nama Ibu Kota/Kabupaten, Jumlah kecamatan, desa, dan Satuan Lingkungan setempat di Bali Tahun 2011. Badan Pusat Statistik Provinsi Bali.
- Brum, E., 2012. Prinsip-prinsip Epidemiologi dalam Pengendalian Rabies. Disampaikan pada Rapat Koordinasi Rabies di Larantuka, NTT Tanggal 8 November 2012.
- OIE, 2011. Rabies. OIE Terrestrial Manual 2011. Chapter 2.1.13.
- Panichabhongse, P., 2011. The Epidemiology of Rabies in Thailand. A Thesis of Master of Veterinary Studies. Massey University.
- Queiroz da Silva, L.H., Bissoto, C.E., Delbem, A.C., Isabel de Lucca Ferrari, C., Venturoli Perri, S.H and Nunes, C.M., 2004. Canine rabies epidemiology in Aracatuba and neighbourhood, Northwestern Sao Paulo State-Brazil.
- Mitmoonpitak, C. and Tepsumethanon, V. 2002. Dog rabies in Bangkok. J.Med Assoc Thai. Jan;85(1):71-6
- Matibag, G.C., Ditungco, R.A., Kamigaki, T., Wijewardana, T.G., Kumarasiri, P.V.R., Niranjala De Silva, D., Panduka De S.Gunawardena, G.S., Obayashi, Y., Kanda, K., Tamashiro, H., 2008. Rabies-related risk factor and animal ownership in a community in Sri Lanka. The Internet Journal of Epidemiology. Vol.6 No.1.
- Thrusfield, M., 2007. Veterinary Epidemiology. Third edition. p:270-27. Blackwell Publishing Company.
- WHO, 2012. Rabies. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs099/en/>
- Widdowson, M.A., Morales, G.J., Chaves, S., and McGrane, J., 2002. Epidemiology of Urban Canine Rabies, Santa Cruz, Bolivia, 1972-1997. Emerging Infectious Disease. Vol.8, No.5

**TELAAH SINGKAT KOMPLEKSITAS PENANGANAN RABIES DAN
ANALISIS PERKEMBANGAN PEMBERANTASANNYA DI PROVINSI
BALI: SUATU PENDEKATAN *ECOHEALTH*[§]**

(Brief Review on the Complexity of Rabies and Progress of Rabies
Eradication in Bali: Ecohealth Approaches)

Anak Agung Gde Putra
Balai Besar Veteriner Denpasar

ABSTRAK

Secara teknis rabies adalah penyakit yang dapat dicegah dengan melaksanakan vaksinasi (*vaccine preventable disease*). Program vaksinasi massal pada anjing diterima secara luas sebagai program penting dalam pengendalian dan pemberantasan rabies. Namun demikian, karena keberadaan anjing di Bali melibatkan kondisi sosial, budaya, agama dan lingkungan maka dalam implementasi program vaksinasi massal pada anjing menjadi begitu kompleks, oleh karenanya diperlukan pendekatan *ecohealth* untuk mengoptimalkan program pemberantasan.

Kata kunci: rabies, eradikasi, ecohealth, Bali.

ABSTRACT

Technically, rabies is also known as vaccine preventable disease. Dog mass vaccination program has been widely accepted as one of important tool to control and to eradicate rabies virus. However, the presence of dogs in Bali are related with social, culture, religion and environment as such the implementation of island-wide mass vaccination program becoming complex and accordingly *ecohealth* approaches should be considered in order to optimize the control program.

Keywords: rabies, eradication, ecohealth, Bali.

[§] Makalah disunting dari makalah yang disampaikan pada "Lokakarya Temu Alumni FKH UGM Korwil Bali dengan Dekan FKH UGM dan Tim". Lokakarya diselenggarakan pada tanggal 9 Februari 2012 di Hotel Bali Handara Bedugul Bali.

I. PENDAHULUAN

Rabies diduga masuk Bali pada trimester pertama 2008, tidak terdeteksi beberapa bulan sampai dilaporkan adanya orang meninggal terkait gigitan anjing (Putra dkk., 2009a; Supartika dkk., 2009a). Keberadaan virus rabies di Bali, baik pada manusia maupun pada hewan, akhirnya dapat dikonfirmasi secara laboratorium pada bulan November 2008. Berbagai upaya pemberantasan telah dilaksanakan, namun belum berhasil mengeradikasi virus rabies dari daerah tertular. Sekitar 6 bulan penyebaran virus dapat dilokalisir di daerah Semenanjung Bukit, Kecamatan Kuta Selatan, Kabupaten Badung, daerah dimana rabies dideteksi pertama kali. Karena pergerakan lalu lintas anjing tidak dapat dikendalikan secara maksimal, akhirnya sejak rabies menyebar ke luar dari Semenanjung Bukit – yaitu ditemukan di Kabupaten Tabanan pada bulan Agustus 2009, penyebaran rabies selanjutnya sulit dikendalikan (Putra dkk., 2009b). Pada bulan Juni 2010 rabies dilaporkan muncul di Kabupaten Jembrana, sehingga dengan demikian dalam kurun waktu 19 bulan sejak dilaporkan secara resmi, seluruh kabupaten / kota di Bali telah tertular rabies.

Berbagai laporan/penelitian berkaitan dengan munculnya rabies di Bali telah dipublikasikan (Putra, 2009; 2011a,b,c; Putra dkk., 2009a,b,c; 2010; 2011a,b; 2012; Agustini dan Astawa, 2010; Supartika dkk., 2009a,b; Setiaji

dan Wirata, 2010; Setiaji dan Agustini, 2011; Wirata dkk., 2011). Makalah ini memaparkan kajian ringkas pemberantasan rabies dengan menggunakan pendekatan *ecohealth* serta menyajikan perkembangan hasil-hasil yang telah dicapai dalam pemberantasan rabies di Provinsi Bali, dengan maksud dapat mengoptimalkan upaya pemberantasannya.

II. PEMBERANTASAN RABIES SECARA HOLISTIK DAN TERINTEGRASI

Pemberantasan penyakit dapat memiliki dua makna, yang pertama meniadakan kasus penyakit walaupun agen penyakit belum hilang. Makna yang kedua adalah mengeliminasi agen penyebab penyakit, dengan demikian otomatis kasus penyakit juga hilang (ini yang paling ideal atau sebagai tujuan akhir). Di samping bersama bidang ilmu lainnya, bidang ilmu epidemiologi memegang peranan yang penting, karena bidang ilmu ini mempelajari interaksi antara tiga faktor penting untuk timbulnya suatu penyakit, yaitu interaksi antara agen penyakit dengan inang (*hospes*) dan dengan sistem lingkungan hidup. Pemberantasan rabies menggunakan pendekatan *ecohealth* adalah juga pendekatan secara epidemiologi dalam arti luas, dengan mempertimbangkan peran penting lingkungan dalam menunjang ekobiologi anjing sebagai *maintenance host* rabies.

Di Bali ada filsafat/ajaran yang disebut Tri Hita Karana, suatu kearifan lokal, yang pada dasarnya mengajarkan terwujudnya / terpeliharanya keseimbangan; hubungan antara manusia dengan Tuhan Yang Maha Esa, hubungan antara manusia dengan manusia, dan hubungan antara manusia dengan lingkungan hidupnya. Jadi, pendekatan *ecohealth* bukanlah suatu hal yang asing di Bali, bahkan *Tri Hita Karana* memiliki cakupan yang lebih luas dari *ecohealth*.

Sekurang-kurangnya ada 6 pilar penting dalam pendekatan *ecohealth*, yaitu: *complexity, systemic approach, transdisciplinarity, stakeholder participation, sustainability* dan *social & gender equity* (Hall, 2011). Ke 6 pilar ini akan ditelaah secara ringkas untuk mengkaji permasalahan rabies yang ada di Bali. Sebagai penyakit zoonosis, rabies memiliki kompleksitas tersendiri, memiliki keterkaitan erat dengan lingkungan hidup, oleh karena itu penanganannya harus dilakukan secara holistik, menggunakan pendekatan sistemik (*systems thinking*) dan terintegrasi, berbasis berbagai kepakaran serta melibatkan berbagai pemangku kepentingan.

1. Kompleksitas Rabies

Rabies sering disebut sebagai *vaccine preventable disease*, yang artinya penyakit dapat ditanggulangi dengan vaksinasi. Pernyataan ini sangat benar karena dalam beberapa tahun terakhir ini, vaksin rabies dengan

efikasi tinggi, baik untuk manusia maupun untuk hewan telah ditemukan. Anjing sebagai sumber risiko penularan, sepanjang divaksinasi dengan prosedur yang telah ditetapkan, maka ia akan terhindar dari serangan rabies.

Dalam kenyataannya di lapangan, terutama di Bali atau mungkin di daerah lainnya seperti di Flores, persoalan rabies yang nampak **sederhana** tersebut berubah menjadi hal yang **rumit** (*complicated*). Kerumitan terjadi berkaitan dengan keberadaan anjing yang bertautan erat dengan kondisi sosial, budaya, agama dan lingkungan. Mayoritas masyarakat Bali suka memelihara anjing, 90% atau lebih anjing dipelihara secara dilepas (*owned free-roaming dog*) dengan tingkat perawatan kesehatan yang sangat minimal. Keberadaan sampah yang belum ditangani secara baik sangat mendukung cara pemeliharaan anjing tersebut, karena anjing butuh makanan untuk kelanjutan hidupnya – sementara pemiliknya memberi makanan seadanya.

Cara pemeliharaan anjing yang lepas liar tersebut berakibat pada sulitnya memberikan vaksin rabies melalui suntikan, karena anjing sulit ditangkap dan dipegang. Pada awalnya, target cakupan vaksinasi minimal 70% dari estimasi populasi anjing sulit dicapai, sehingga banyak anjing yang berkeliaran adalah anjing-anjing yang belum kebal – hal ini sekaligus berperan sebagai pelestari siklus biologi rabies di lapangan. Meningkatnya kasus

rabies pada anjing otomatis meningkatkan pula peluang ancamannya terhadap kesehatan manusia. Pada saat wabah rabies pada anjing di Bali mencapai puncaknya, yaitu sekitar pertengahan tahun 2010, masalah yang sudah rumit berubah menjadi **kompleks**. Meningkatnya jumlah orang yang meninggal, yang mempunyai riwayat pernah digigit anjing, telah mengakibatkan kepanikan dan keresahan di masyarakat. Persediaan stock vaksin anti rabies (VAR) untuk manusia terganggu, karena tidak dapat memenuhi kebutuhan yang diperlukan pada saat rabies mencapai puncak wabah. Amuk pembantaian anjing terjadi di beberapa tempat dan hal ini memicu pergerakan anjing yang sekaligus berpotensi menyebarkan rabies (Putra, 1998). Anjing yang telah divaksin juga menjadi sasaran, sehingga tujuan untuk membangun *biological barrier* melalui program vaksinasi menjadi menurun manfaatnya.

Bersyukurlah persoalan rabies tidak berlanjut menjadi **chaos**, karena gerakan vaksinasi massal di seluruh Bali, terhadap anjing yang dipelihara secara lepas-liar segera dapat dilaksanakan. Secara bertahap dilakukan pelatihan penangkap anjing (*dog catcher*) yang dipelihara secara *lepas-liar*, selanjutnya duji cobakan di Kabupaten Gianyar sebelum diimplementasikan secara luas untuk seluruh Bali.

Setelah melakukan penangkapan anjing secara paksa

menggunakan *dog catcher* untuk mendukung program vaksinasi massal, memasuki program vaksinasi massal yang ke tiga (Maret 2012) nampaknya akan muncul permasalahan baru lainnya. Tanda kolar/penning anjing, sebagai penanda vaksinasi, banyak yang telah hilang sehingga memerlukan pemikiran untuk membuat penandaan yang lebih permanen dan tetap mudah dikenali. Anjing yang pernah tertangkap oleh *dog catcher* mengalami trauma sehingga lebih sulit untuk ditangkap. Setelah pelaksanaan dua kali vaksinasi massal di seluruh Bali, tingkat insidens rabies telah menurun secara drastis, kemudian muncul anggapan di kalangan masyarakat bahwa rabies telah hilang. Mereka yang anjingnya terbantai dimasa lalu, mulai berkeinginan memelihara anjing lagi, yang dapat diindikasikan oleh maraknya penjualan anak anjing. Kelahiran anak anjing di Bali terjadi sepanjang tahun (Putra dkk., 2011a), dengan jumlah kelahiran yang banyak mulai terjadi pada pertengahan tahun, sulit divaksin seluruhnya karena tersebar luas di seluruh 4.373 banjar di seluruh Bali. Sebagai populasi peka, selama tahun 2011 sebanyak 27% anjing rabies yang dikonfirmasi secara laboratorium ditemukan pada anak anjing umur ≤ 6 bulan, sekaligus hal ini meningkatkan peluang ancaman rabies pada anak-anak karena kebiasaannya suka bermain-main dengan anak anjing.

2. *Systemic Approach*

Memahami kompleksitas persoalan rabies seperti telah diuraikan di atas, maka elemen-elemen yang terkait dan berpotensi dalam timbulnya rabies seyogyanya dilihat secara utuh/keseluruhan (holistik), bukan parsial, karena elemen yang satu dapat mempengaruhi elemen yang lain, ada yang berpengaruh positif dan ada yang berpengaruh negatif. Ilustrasi keterkaitan antar elemen tersebut dengan pendekatan sistem telah disajikan (Putra, 2011b).

3. *Transdisciplinarity*

Hall (2010) menjelaskan istilah *transdisciplinarity* sebagai meleburnya (*merge*) berbagai keahlian / kepakaran menjadi satu kesatuan dalam menghadapi suatu persoalan, bukan multi disipliner. Dalam pendekatan multi disipliner dimaknai bahwa masing-masing pakar masih membawa *bendera* (ego) nya masing-masing, namun tidak demikian halnya dalam pendekatan *transdisciplinarity*. Dicontohkan pembuatan pesawat udara adalah suatu pendekatan *transdisciplinarity*, melibatkan berbagai disiplin ilmu yang melebur menjadi satu kesatuan kekuatan.

Memahami akan kompleksitas permasalahan rabies seperti telah dipaparkan, berbagai kepakaran/keahlian yang dibutuhkan, antara lain; dokter hewan, dokter, ahli epidemiologi, *dog ekolog*, ahli modeling, ahli statistik, ahli komunikasi, ahli

ekonomi, anthropologist, sociologist, budayawan, agamawan, politikus, dan mungkin keahlian lainnya. Idealnya, permasalahan rabies ditinjau dari berbagai sudut pandang dengan berbagai keahlian dengan satu kesatuan tujuan yaitu untuk memberantas rabies dari Provinsi Bali.

4. *Stakeholder Participation*

Kompleksitas permasalahan rabies di Bali juga memerlukan keterlibatan berbagai pemangku kepentingan (*stakeholder*), baik yang ada di lini pemerintahan, sektor swasta maupun masyarakat (tokoh desa, tokoh masyarakat, tokoh agama). Keterlibatan para pemangku kepentingan dalam mensukseskan upaya pemberantasan rabies di Bali dapat berperan penting dan secara periodik perlu ditinjau ulang dalam upaya penyempurnaannya.

5. *Sustainability*

Upaya pemberantasan rabies seyogyanya dapat dilaksanakan secara berkelanjutan dalam jangka waktu tertentu, dibawah komando pemerintah dengan dukungan penuh dari masyarakat dan swasta. Yang telah dapat dicapai saat ini adalah tahap pengendalian, dalam arti bahwa tingkat kejadian rabies telah dapat ditekan sampai cukup rendah sehingga ancaman penularannya ke manusia menjadi menurun (Putra dkk.,

2011c; 2012). Berapa lama waktu yang diperlukan untuk memberantas rabies di Bali, diperlukan suatu kajian misalnya dengan menggunakan pendekatan modeling. Yang jelas, penghentian program vaksinasi massal dapat berdampak serius, karena pergeseran populasi anjing berjalan begitu cepat, diperkirakan sekitar 30% terjadi kelahiran anak anjing baru dalam se tahun dengan angka kematian yang juga sangat tinggi (~25%) (Putra dkk., 2011a).

Seandainya rabies berhasil diberantas dari Provinsi Bali, upaya pencegahan masuknya virus rabies kembali harus selalu diupayakan. Telah banyak pelajaran yang diperoleh, terutama dari aspek sosial dan ekonomi, berkaitan dengan keberadaan rabies di Bali.

6. Social dan Gender Equity

Semua pihak wajib diberikan kesetaraan dalam ikut serta dalam program pemberantasan rabies. Laki-perempuan, tua-muda, kaya-miskin semua diberi peran sesuai tugas, kodrat dan peran yang dilakukan sesuai lingkungan dan kondisinya masing-masing.

III. ANALISIS PERKEMBANGAN KEMAJUAN PEMBERANTASAN RABIES DI BALI

Analisis perkembangan kemajuan pemberantasan rabies di Bali dibedakan menjadi dua periode,

yakni; periode I (November 2008-September 2010) yaitu sebelum vaksinasi massal diselenggarakan di seluruh Bali, periode II yaitu dimulainya vaksinasi massal di seluruh Bali. Selama Oktober 2010 - April 2011 adalah pelaksanaan vaksinasi massal pertama, dan selama Mei 2011 - Oktober 2011 adalah pelaksanaan vaksinasi massal rabies kedua – di seluruh Bali, dan mulai Maret 2012 (sedang berlangsung) adalah vaksinasi massal tahap ke tiga. Periodisasi pemberantasan rabies, terutama karena perbedaan cakupan vaksinasi anjing yang dicapai, sesuai dengan standar yang telah ditetapkan (Putra dkk., 2008; Putra, 2010). Ada beberapa indikator yang digunakan untuk melakukan penilaian terhadap keberhasilan (*progress marker*) program pemberantasan rabies, dan berdasarkan pada analisis data per Desember 2011 hasilnya seperti disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1
Analisis Perkembangan Pemberantasan Rabies di Provinsi Bali

Beberapa indikator yang digunakan untuk mengukur keberhasilan (<i>progress marker</i>)	Sebelum program vaksinasi massal di seluruh Bali (Nov'08-Sept'10)	Selama program vaksinasi massal 1 (Okt'10-April'11)	Selama program vaksinasi massal 2 (May'11-Des'11)
Periode pengamatan	22 bulan	7 bulan	8 bulan
Rata-rata jumlah anjing rabies	45 / bulan	11 / bulan	6 / bulan
Rata-rata <i>monthly attack rate</i>	0,027%	0,014%	0,007%
Jumlah desa yang pernah tertular rabies	221	269	282
Penambahan "desa tertular baru"	-	48	13
Percepatan penyebaran rabies berbasis desa	~ 10 / bulan	~ 6,8 / bulan	~ 1,6 / bulan
Jumlah desa tertular (%) terhadap seluruh 723 desa yang ada di Bali	140 (19,4%)	48 (6,6%)	30 (4,1%)
Jumlah gigitan anjing	6.256 / bulan 208 / hari	4.589 / bulan 153 / hari	4.197 / bulan 140 / hari
Rata-rata tingkat insidens anjing yang menggigit dalam populasi	1,55%	1,41%	1,29%
Rasio rata-rata anjing rabies terhadap rata-rata jumlah gigitan anjing per bulan	1 : 139	1 : 417	1 : 699
Kematian manusia yang memiliki riwayat pernah digigit anjing	94	34	9
Kematian manusia yang memiliki riwayat pernah digigit anjing, data disajikan berdasarkan saat digigit anjing	116	16	5
Rasio rata-rata anjing rabies terhadap kematian manusia yang memiliki riwayat pernah digigit anjing, data disajikan berdasarkan saat digigit anjing	1 : 2,6	1 : 1,45	1 : 0,83
Jumlah anjing yang dibunuh	~ 107.908	~40.455	~14.052
Perkiraan cakupan vaksinasi anjing	~ 40%	> 70%	> 70%

(1) **Jumlah rata-rata anjing rabies per bulan**, telah mengalami penurunan secara drastis. Sebelum program vaksinasi massal di seluruh Bali, jumlah rata-rata anjing rabies sebanyak 45 per bulan, kemudian turun menjadi 11 ekor pada saat vaksinasi massal pertama dan kemudian turun lagi menjadi 6 anjing rabies selama program vaksinasi massal ke dua. (2) **Attack rate rabies** juga mengalami penurunan drastis, dari 0,027% sebelum program vaksinasi massal menjadi 0,014% pada saat vaksinasi massal pertama dan kemudian turun lagi menjadi 0,007% selama program vaksinasi massal ke dua.

(3) **Jumlah desa** yang mempunyai riwayat pernah tertular rabies mengalami peningkatan, tetapi **jumlah desa tertular baru** telah mengalami penurunan. (4) **Percepatan penyebaran** berbasis desa juga mengalami penurunan, pada periode I dengan kecepatan menulari 10 desa per bulan, kemudian turun menjadi 6,8 dan 1,6 desa tertular per bulan, berturut-turut pada periode II dan III program vaksinasi massal di seluruh Bali. (5) Jumlah desa yang masih berstatus sebagai **desa tertular** juga telah mengalami penurunan secara drastis, dari 19,4% pada periode I turun menjadi 6,6% pada periode II, dan pada periode III menjadi 4,1% (30 desa) desa tertular.

Semua indikator tersebut di atas menunjukkan secara jelas bahwa daya tular (*basic reproductive number*, R_0) rabies di Bali telah

mengalami penurunan, sebagai hasil dari program vaksinasi massal rabies di seluruh Bali. Angka R_0 rabies umumnya ada dalam kisaran 1-2, angka R_0 2 artinya satu anjing rabies berpotensi menimbulkan dua anjing rabies baru, demikian seterusnya. Angka R_0 akan semakin tertekan oleh *herd immunity* menjadi dibawah 1 dan akhirnya virus rabies akan tereliminasi, jika besaran *herd immunity* dapat dipertahankan $\geq 70\%$ dari total populasi anjing se tiap tahun, dalam periode waktu beberapa tahun secara berkelanjutan.

(6) **Kasus gigitan anjing** di Bali sangat tinggi dengan rata-rata 4.500 an gigitan se tiap bulan. Namun demikian, data gigitan anjing harus secara cermat diinterpretasikan, karena tidak semua anjing rabies harus menggigit manusia dan tidak semua anjing yang menggigit manusia menderita rabies. Walaupun demikian, di daerah tertular rabies, setiap gigitan anjing wajib dicurigai sebagai rabies, dan pemberian VAR atau SAR mengikuti prosedur yang telah ditetapkan. Rata-rata gigitan anjing per bulan sebelum program vaksinasi massal sebanyak 6.256, selama program vaksinasi massal pertama sebanyak 4.589 dan selama program vaksinasi massal kedua sebanyak 4.197 gigitan anjing. Dari data tersebut nampak bahwa jumlah gigitan tidak memperlihatkan adanya kecenderungan penurunan yang signifikan, padahal jumlah anjing yang dokonfirmasi positif rabies

secara laboratorium telah menurun sangat drastis.

(7) Dengan menggunakan indikator **ratio jumlah rata-rata anjing rabies per bulan dengan jumlah rata-rata gigitan anjing per bulan**, nampak dengan jelas - misalnya pada periode II, apakah satu ekor anjing rabies menggigit 417 orang? Data ini nampaknya tidak mencerminkan keadaan yang sesungguhnya. (8) Jika menggunakan indikator **ratio jumlah rata-rata anjing rabies per bulan dengan jumlah orang yang meninggal terkait dengan gigitan anjing pada periode waktu yang sama**, rasionya memperlihatkan lebih mendekati kenyataan. Pada periode I, dan II (vaksinasi massal pertama dan ke dua) secara berturut-turut rasionya mengalami penurunan, dari 1 ekor anjing rabies menggigit 2,6 orang, kemudian menjadi 1:1,45 dan 1:0,83.

Jadi dengan demikian, dapat disimpulkan, sepanjang mengenai kasus gigitan anjing, data yang tersedia dapat diinterpretasikan; (a) tidak seluruh anjing yang menggigit, menderita rabies. Tingginya laporan kasus gigitan anjing lebih mencerminkan meningkatnya kesadaran masyarakat karena kekhawatiran dapat terserang rabies. Dalam konteks ini, penyuluhan yang gencar dilakukan dapat dinilai sudah berhasil. Untuk membedakan apakah gigitan tersebut sebagai gigitan anjing rabies atau gigitan anjing normal, perlu dibedakan apakah gigitan tersebut karena provokasi atau bukan provokasi.

Umumnya, anjing rabies, tanpa provokasi ia memiliki kecenderungan untuk menggigit. Selanjutnya, masa observasi pasca menggigit selama 14 hari yang akan menentukan. Apabila anjing mati dalam masa observasi 14 hari, kemungkinan besar ia menderita rabies, demikian sebaliknya jika masih hidup, kemungkinan besar bukanlah anjing rabies. (b) Kasus gigitan anjing yang tinggi, lebih mencerminkan perilaku anjing Bali yang memiliki kecenderungan suka menggigit (sekitar 1% dalam populasi, lihat Tabel 1), karena masih memiliki sifat-sifat sebagai anjing liar, atau cara pemeliharaan anjing yang kurang perhatian sehingga ia menjadi kurang bersahabat dengan orang, termasuk pemiliknya.

Dari hasil analisis seperti telah dipaparkan di atas, nampak dengan jelas manfaat dari program vaksinasi massal yang dilaksanakan di seluruh Bali dalam mengendalikan tingkat insidens rabies, seperti telah banyak dilaporkan di negara lain, dan bukan pada banyaknya anjing yang dimusnahkan tanpa strategi. Selama periode I program pemberantasan, sebanyak 107.908 ekor anjing telah dimusnahkan tetapi jumlah anjing rabies jauh lebih tinggi (rata-rata 45 ekor per bulan) apabila dibandingkan dengan pada saat vaksinasi massal kedua, dimana hanya 13.867 anjing dimusnahkan, dan anjing yang menderita rabies hanya ditemukan dengan rata-rata 6 ekor per bulan. Oleh karenanya, pemusnahan anjing seyogyanya

dilakukan secara selektif dan terarah, yaitu di desa tertular terhadap anjing yang memperlihatkan gejala klinis rabies atau yang diduga tertular rabies – sesuai prosedur yang telah ditetapkan.

(9) Efikasi vaksin rabies.

Selama tahun 2010, hanya ditemukan 4 ekor anjing yang telah divaksin masih tertular rabies, dan selama tahun 2011 hanya ditemukan pada 2 ekor anjing. Data ini mengindikasikan adanya kegagalan vaksinasi. Mengingat lebih dari 240 ribuan ekor anjing yang telah divaksin, angka kegagalan vaksinasi tersebut dapat diabaikan, meskipun perlu pemantauan yang terus menerus. Meskipun demikian, masih banyak spesimen otak anjing yang dikirim ke laboratorium dengan tidak disertai informasi lengkap mengenai status vaksinasinya. Oleh karenanya, pemantauan efikasi vaksin sebaiknya dilakukan dengan menyempurnakan pencatatan status vaksinasi anjing yang spesimennya akan diuji di laboratorium. Mempertimbangkan metode uji yang digunakan selama ini, dan belum adanya standar baku titer antibodi protektivitas untuk anjing, dianjurkan surveilans seroepidemiologi rabies tidak perlu dilaksanakan secara luas, kecuali dengan tujuan khusus di daerah yang terbatas. Secara umum, dapat disimpulkan bahwa vaksin yang digunakan telah cukup untuk melindungi populasi anjing dari serangan rabies.

Selama tahun 2011 ada kecenderungan peningkatan kasus rabies pada anak anjing umur 6 bulan atau lebih muda (27%) dibandingkan dengan tahun-tahun sebelumnya, mengindikasikan perlunya pengendalian kelahiran anak anjing, terutama di desa desa yang berstatus tertular, desa terancam di sekitarnya, dan desa dengan jumlah anjing tanpa pemilik yang banyak.

IV. PENUTUP

Dari paparan hasil yang telah dicapai, terlihat adanya indikasi bahwa Program Pemberantasan Rabies di Bali memiliki potensi untuk dapat mengeliminasi virus rabies dari Provinsi Bali, apabila kegiatan vaksinasi massal di seluruh Bali tetap dilanjutkan untuk memelihara *herd immunity* yang diperlukan.

Demikianlah telaah yang dapat disampaikan dalam rangka menghadapi permasalahan rabies di Bali dan upaya-upaya yang sedang dan telah diperjuangkan, dengan mempertimbangkan kaidah keilmuan. Bahan yang dipaparkan kiranya dapat diperkaya dan dibahas secara lebih mendalam di kalangan akademisi untuk menemukan cara terbaik untuk pemberantasan rabies, khususnya di Bali dan di Indonesia pada umumnya.

V. DAFTAR PUSTAKA

- Agustini, N.L.P. dan Astawa, N.M. (2010) Pengembangan Teknik Imunohistokimia Untuk Diagnosa Rabies Menggunakan Antibodi Monoklonal DG10. *Buletin Veteriner*, Vol. XXII, No. 77: 17-23.
- Hall, D. (2010) *Fundamentals of Ecohealth in Southeast ASIA Regional Workshop*, organized by IDRC, Canada at Hanoi, Vietnam, Thailand on 27-29 May 2010.
- Hall, D. (2011) *Workshop on Complexity and Ecosystem Approaches to Health*, organized by IDRC, Canada at Chiang Mai, Thailand on 27-31 Oktober 2011.
- Putra, A.A.G. (1998) Laporan Monitoring Rabies di Pulau Flores. Laporan Balai Penyidikan Penyakit Hewan Wilayah VI Denpasar, Oktober 1998.
- Putra, A.A.G. (2009) Laporan Surveilans Epidemiologi Rabies di Bali. Balai Besar Veteriner Denpasar, Desember 2009, 27 halaman.
- Putra, A.A.G. (2010) Strategi dan Program Pencegahan, Pengendalian dan Pemberantasan Rabies pada Hewan Penular Rabies. Menuju Bali Bebas Rabies 2012. Makalah disajikan pada Lokakarya Evaluasi Penanggulangan Rabies di Provinsi Bali, diselenggarakan oleh Dinas Peternakan Provinsi Bali, di Kantor Disnak Bali pada tanggal 28 Januari 2010.
- Putra, A.A.G. (2011a) Analisis Data Rabies Bali, Sebelum dan Sesudah Gerakan Vaksinasi Pertama Rabies di Seluruh Bali, Makalah/kajian disampaikan kepada Kepala Dinas Peternakan Provinsi Bali pada 24 Mei 2011.
- Putra, A.A.G. (2011b) Epidemiologi Rabies di Bali: Analisis Kasus Rabies Pada Semi Free-ranging Dog dan Signifikansinya Dalam Siklus Penularan Rabies Dengan Pendekatan Ekosistem. *Buletin Veteriner, BBVet Denpasar*, Vol. XXIII, No. 78: 44-54.
- Putra, A.A.G. (2011c) Epidemiologi Rabies di Bali: Hasil Vaksinasi Massal Rabies Pertama di Seluruh Bali dan Dampaknya Terhadap Status Desa Tertular dan Kejadian Rabies Pada Hewan dan Manusia. *Buletin Veteriner*, Vol. XXIII, No. 78: 55-67.
- Putra, A.A.G., Dharma, D.M.N., Mahardika, I G.N., Rompis, A.L.T., Muditha, I D.M., Asrama, I G., Sudarmono dan Windarto, W. (2008) Ringkasan Strategi Pemberantasan Rabies di Kecamatan Kuta Selatan dan Kecamatan Kuta, Kabupaten Badung, Provinsi Bali. Makalah disajikan dalam Pertemuan Koordinasi Teknis Kesehatan Hewan dan Workshop Rabies di Bali, diselenggarakan oleh Direktorat Jenderal Peternakan, di Hotel Bumiasih Denpasar pada tanggal 12-13 Desember 2008.
- Putra, A.A.G., Gunata, I K., Faizah, Dartini, N.L., Hartawan, D.H.W., Setiaji, G., Semara Putra, A.A.G., Soegiarto dan Scott-Orr, H. (2009a) Situasi Rabies di Bali: Enam bulan pasca program pemberantasan. *Buletin Veteriner*, Vol. XXI No. 74: 13-26.
- Putra, A.A.G., Gunata, IK., Supartika, I K.E., Semaraputra, A.A.G., Soegiarto dan Scott-Orr, H. (2009b) Satu Tahun Rabies di Bali. *Buletin Veteriner*, Vol. XXI No. 75: 14-27
- Putra, A.A.G., Dartini, N.L., Faizah, Soegiarto dan Scott-Orr, H. (2009c) Surveilans Seroepidemiologi Rabies di Bali. *Buletin Veteriner*, Vol. XXI No. 75: 52-61.
- Putra, A.A.G., Semaraputra, A.A.G., Gunata, IK., Supartika, IK.E., Urpini, S., Artama, K. dan Scott-Orr, H. (2010) Rabies di Bali: Analisis sensitivitas diagnosa lapangan versus hasil uji fluorescent antibody test dan signifikansinya dalam penggunaan vaksin anti rabies pada manusia. *Buletin Veteriner*, Vol. XXII, No. 76: 1-9.
- Putra, A.A.G., Gunata, IK., dan Asrama, IG. (2011a) Dog Demography in Badung District The Province of Bali and Their Significance to Rabies Control. *Buletin*

Veteriner, Vol. XXIII, No. 78: 14-24.

Putra, A.A.G., Mardiana, W., Scott-Orr, H., Hiby, E., Hampson, K., Haydon, D., Giardi, J., Knobel, D. and Townsend, S. (2011b) Progress of A Rabies Elimination Program In Bali, Indonesia. Prosiding dari The third Rabies in Asia Conference, 28-30 November 2011, Hotel Galadari Colombo, Sri Lanka, RIACON Foundation, India.

Putra, A.A.G., Smaraputra, A.A.G., Arsani, N.M. dan Diarmita, IK. (2012) Progress of Rabies Eradication Program in Bali, Following First and Second Island-Wide Mass Vaccination. Prosiding International Seminar on Strategy to Manage Bio-Eco-Health System for Stabilizing Animal Health and Productivity to Support Public Health Organized by Faculty of Veterinary Medicine UNAIR on 19-20 June 2012 at Hotel JW Marriott, Surabaya.

Supartika, I.K.E., Setiaji, G., Wirata, K., Hartawan, D.H. dan Putra, A.A.G (2009a) Kasus Rabies Pertama Kali di Putra, A.A.G., Mardiana, W., Scott-Orr, H., Hiby, E., Hampson, K., Haydon, D., Giardi, J., Knobel, D. and Townsend, S. (2011b) "Progress of A Rabies Elimination Program In Bali, Indonesia" Prosiding dari The third Rabies in Asia Conference, 28-30 November 2011, Hotel Galadari Colombo, Sri Lanka, RIACON Foundation, India.

Putra, A.A.G., Smaraputra, A.A.G., Arsani, N.M., dan Diarmita IK. (2012) Progress of Rabies Eradication Program in Bali, Following First and Second Island-Wide Mass Vaccination. Makalah dipresentasikan pada "International Seminar on Strategy to Manage Bio-Eco-Health System for Stabilizing

Provinsi Bali. Buletin Veteriner, Vol. XXI, No. 74: 7-12.

Supartika, I.K.E., Wirata, I.K., Nurlatifah, I., Saraswati, N.K.H., Dharma, D.M.N. dan Djusa, E.R. (2009b) Rabies Pada Sapi Bali. Buletin Veteriner, Vol. XXI, No. 75: 34-42.

Setiaji, G. dan Wirata, K. (2010) Investigasi Rabies di Kecamatan Mendoyo, Kabupaten Jembrana, Bali. Buletin Veteriner, Vol. XXII, No. 77: 24-28.

Setiaji, G. dan Agustini, N.L.P. (2011) Kajian Respon Antibodi Rabies Pada Anjing Post Vaksinasi di Pulau Bali. Buletin Veteriner, Vol. XXIII, No. 78: 36-44.

Wirata, I.K., Joni, U.G.A., Sudiarka, I.W., Sudira, I.W., Widia, I.K. (2011) Distribusi Rabies di Bali: Sebuah Analisa Berdasarkan Hasil Pengujian Laboratorium. Buletin Veteriner, Vol. XXIII, No. 78: 26-35

Animal Health and Productivity to Support Public Health", Diselenggarakan oleh Fakultas Kedokteran Hewan, UNAIR pada tanggal 19-20 Juni 2012 di Hotel JW Marriott, Surabaya.

Windyaningsih, C., Wilde, H., Meslin, F.X., Suroso, T. and Widarso, H.S. (2004) The Rabies Epidemic on Flores Island, Indonesia (1998-2003). Journal of Medical Association of Thailand, 87 (11): 1-5.

World Health Organization (2007) Guidance for research on oral rabies vaccines and field application of oral vaccination of dogs against rabies. World Health Organization, Geneva.