

Penelitian Virus Entero Dari Anak-anak Usia Balita di Kotamadya Banjarmasin

Drs Eko Rahardjo

*Pusat Penelitian Penyakit Menular, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan,
Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta*

PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara anggota Badan Kesehatan Dunia (*World Health Organization*) yang ikut melaksanakan program-program dari Badan Kesehatan Dunia tersebut. Salah satu program itu dikenal sebagai Program Pengembangan Imunisasi (*Expanded Programme on Immunization = EPI*). Dalam program itu dicanangkan peningkatan cakupan imunisasi pada anak-anak usia balita. Salah satu dari program imunisasi ialah pemberian vaksin polio pada anak-anak usia 3-14 bulan agar timbul imunitas terhadap virus polio.

Jauh sebelum vaksinasi polio dilakukan di Indonesia (sejak tahun 1980), para ahli virologi dari negara maju sudah menyatakan bahwa virus polio sebagai anggota dari kelompok virus entero bisa berinterferensi dengan anggota virus entero lainnya (Sabin, 1963), Kono et al, 1963).

Berdasarkan pada pernyataan para ahli tersebut, bila akan dilaksanakan vaksinasi massal di suatu daerah, sebaiknya dilakukan penelitian pendahuluan yang tujuannya untuk mengetahui berapa banyak virus entero didapati pada anak-anak, juga jenis-jenis virus entero yang paling banyak dijumpai, perlu pula diselidiki seberapa jauh pencemaran air yang dipakai untuk keperluan sehari-hari oleh virus entero ini. Bila data dan penelitian itu sudah terkumpul dan dievaluasi maka dapatlah dilaksanakan vaksinasi dengan mempertimbangkan hasil penelitian yang sudah ada. Vaksinasi yang dilakukan diharapkan akan membawa hasil lebih baik.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah dan jenis virus entero di suatu daerah, untuk mengetahui apakah jumlah dan jenis virus entero itu berbeda untuk setiap musim.

CARA KERJA

Sampel berasal dari usapan rektum anak-anak usia balita dari Kotamadya Banjarmasin sebanyak 342 sampel, diambil pada bulan April 1981 (akhir musim hujan), sebagai peng-

ambilan sampel pertama. Pengambilan sampel kedua dilakukan pada bulan September/Oktobre (akhir musim kemarau) pada tahun yang sama dengan jumlah 341 sampel.

Sampel-sampel ini dilarutkan dalam larutan garam seimbang Hanks (*Hanks Balanced Salt Solution*). Di laboratorium kemudian diberi larutan fluoro carbon untuk memisahkan virus entero dengan virus lainnya atau dengan bakteri dari parasit. Setelah mengalami pemusingan selama 1 jam kecepatan 1062 g maka lapisan yang diduga mengandung virus entero akan terpisah, lapisan atas dari larutan inilah akan diambil untuk bahan isolasi.

Biak jaringan lestari dari ginjal monyet hijau (*established cell line green monkey kidney*) dikenal sebagai sel vero, dilarutkan ke dalam medium esensial minimum (*Minimum Essential Medium = MEM*) yang telah ditambah 10% serum anak sapi. Suspensi vero kemudian ditumbuhkan dalam tabung-tabung biakan jaringan. Setelah biakan jaringan memenuk selapis sel pada sisi bawah dari tabung biakan jaringan (biasanya 5-7 hari) maka bahan isolasi diinokulasikan ke dalam biakan jaringan, kemudian diamati setiap hari di bawah mikroskop khusus (*inverted microscop*). Sel yang menunjukkan adanya efek sitopatenik diartikan bahwa isolasi virus berhasil (bahkan isolasi mengandung virus positif).

Virus isolat yang positif dititer untuk mengetahui jumlah virus per mill liter caranya adalah virus isolat diencerkan dengan kelipatan 10 menggunakan PBS, mulai dari pengenceran sepuluh kali sampai seratus juta kali. Virus isolat yang diencerkan kemudian dimasukkan ke dalam tabung-tabung biakan jaringan yang sudah ditumbuhi biak sel vero. Efek sitopatik yang timbul pada biak jaringan dengan pengenceran virus isolat paling tinggi, menunjukkan titer dari virus isolat. Bila titer virus sudah diketahui baru dapat dilaksanakan identifikasi virus.

Identifikasi dimulai dengan mengencerkan virus isolat

dengan garam peyangga pospat sehingga mendapatkan konsentrat akhir 100 TCID₅₀. Antibodi terhadap virus entero yang Mime damn 13 kelompok sera dikenal sebagai kelompok sera Schmith (*Schmith pool sera*), diencerkan dengan garatn penyangga pospat sehingga didapatkan konsentrasi 25 unit. Uji netralisasi dilakukan dengan mencampurkan virus isolat (100 TCID₅₀) denim kelompok sera (25 unit) diinkubasikan dalam inkubator suhu 37 C. Setelah masa inkubasi selama 2 jam, campuran virus-sera kemudian dimasukkan ke dalam tabung-taimng biak jaringan berisi selapis jaringan sel vero yang sudah diberi medium pemeliharaan (terdiri dart MEM ditambah 2% serum anak apt). Sel yang sudah diino-Iculusn campuran virus-virus dierarnkasn ke dalam inku6ator pada 37°C, diamati setiap hart seisms 14 hart untuk melihat adanya efek sito~patik pada jaringan. Ha~l identifi&asi adalah badman= den= hasil isolasi virus, ttmbulnya efek sitopatik pada identifikasi wtinya negatif, sedangkan ttmbulnya efek sitopatik pada isolasi virus artinya positif. Pembacaan identifikasi dapat dibaca dengan kartu bahan kelompok sera Schmith Nutt gambar 1).

Tabel 1. Kartu bagan kelompok sera Schmith

Nomor Kelompok	7	8	9	10	11	12	13
1	P1	P2	P3	CA7	CA9	EIO	E29
2	E4	E14	E16	E17	E18	E23	E30
3	CB1	CY2	CR3	C74	CB5	CB6	E31
4	E1 atau E8	E2	E3	E5	E6	E7	E32
5	E9	E11	E12	R13	E15	E19	E21
6	E20	E22	E24	E25	E26	E27	E33

Keterangan : P : polio E: Echo C : Coxseckle
 Contoh pembacaan : Kumpulan virus sera no 7 dan no 1 tidak nampak efek sitopatenik, artinya virus yang ditemukan adalah virus Polio 1

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi virus

Bahan isolasi yang dikumpulkan bulan April, dari 342 sampel, 79 (23,10%) sampel diantaranya mengandung virus entero (positif) 10 sampel terkontaminasi oleh bakteri dan jamur, sisanya tidak mengandung virus entero (negatif). Bahan isolasi yang dikumpulkan bulan September, dari 341 sampel, 42 sampel positif (12,32%), 2 terkontaminasi sedangkan sisanya negatif. Hasil selengkapnya isolasi virus berdasarkan kelompok umur dari pengumpulan sampel bulan April dan September tertera pada Tabel 1 dan 2.

Uji statistik hasil lesi virus entero pada bulan April dan September adalah bermakna ($p < 0,10$), maka dapat dikatakan bahwa yang ditemukan pada anak-anak di bulan September memang lebih sedikit. Isolasi virus entero berasal dari Purwakarta (Jawa Barat) pada bulan September 1978 dari 68 bahan isolasi, 20 (29,41%) positif dan pada bulan Maret 1979 dari 109 bahan isolasi 15 (13,76%) positif (Gendro Wahyuhono dan Suharyono, W, 1979). Perbandingan persentasi dari hasil isolasi virus entero di Kodya Banjarmasin dibandingkan dengan di Purwakarta pada bulan Sep-

Tabel 1. Isolasi virus entero dari usapan rectum anak-anak balita di Kotamadya Banjarmasin berdasarkan kelompok umur pada pengumpulan bulan April 1981.

Kelompok Umur	Jumlah bahan isolasi	Positif	kontaminasi	negatif
		jumlah	jumlah	jumlah
0 tahun – 1 tahun	107	20	4	84
1 tahun – 2 tahun	82	31	3	48
2 tahun – 3 tahun	64	14	1	49
3 tahun – 4 tahun	49	10	2	37
4 tahun – 5 tahun	40	4	0	36
Total	342	79 (23,10%)	10 (2,92%)	253 (73,98%)

Tabel 2. Isolasi virus entero dari usapan rectum anak-anak balita di Kotamadya Banjarmasin berdasarkan kelompok umur pada pengumpulan bulan September 1981.

Kelompok Umur	Jumlah bahan isolasi	Positif	kontaminasi	negatif
		jumlah	jumlah	jumlah
0 tahun – 1 tahun	128	17	2	109
1 tahun – 2 tahun	129	20	0	109
2 tahun – 3 tahun	58	2	0	56
3 tahun – 4 tahun	12	2	0	10
4 tahun – 5 tahun	14	1	0	13
Total	341	42 (12,32%)	2 (0,59%)	297 (87,09%)

timber 12,32% 29,41%, sedangkan perbandingan hasil isolasi virus entero di Banjarmasin bulaii April dlandingkan dengan di Purwakarta bulan Maret ialah 23,10%:13,76%. Jadi hasil isolasi dari kedua tempat itu berlawanan, di Banjarmasin virus entero paling banyak didapat pada bulan April sedangkan di Purwakarta virus entero paling banyak didapat bulan September. Perbedaan haai ini mungkin disebabkan letak geografis serta adat kebiasaan masyarakat yang berbeda namun hal ini perlu penelitian lebih lanjut.

Dari hasil penelitian di Banjarmasin ini malts dapatlah diaranakan bahwa pemberian vaksinasi polio sebaiknya dilakukan pada bulan September/Oktobre, karna virus entero di dapati jauh lebih sedikit dibandingkan dengan hasil isolasi bulan April. Anjuran ini tidak berlaku bila virus entero yang ditemukan pada bulan September adalah anggauta virus entero yang punya kemungkinan bazar dapat berinterferensi dengan vaksin polio. Sebaliknya walaupun persentasi virus entero yang ditemui pada bulan April jauh lebih besar, namun bila singgauta virus yang ditemui punya kemungkinan jauh lebih kecil untuk berinterferensi maka vaksinasi bulan April lebih baik dari bulan September..

Untuk mengetahui apakah virus entero yang ditemukan bulan April dan September itu punya kemungkinan untuk berinterferensi atau tidak, perlulah dilihat hasil-hasil dari identifikasi.

Hasil identifikasi virus

Identifikasi dari 79 bahan isolat positif yang diambil bulan April 1981 didapat hasil sebagai berikut ini, 27(34,18%)

virus coxsackie grup B, 45 (56,96%) grup virus echo dan 7 (8,86%) grup virus polio. Identifikasi dari 42 bahan isolat positif dari pengambilan bahan isolat bulan September 1981, didapati hasil bahwa virus coxsackie paling banyak dijumpai, meliputi 34 (80,95%), sedangkan grup virus echo dan polio masing-masing hanya dijumpai dalam 4 sampel (9,5%). Hasil selengkapnya identifikasi virus dapat dilihat pada Tabel 3 dan 4.

Tabel 3. Identifikasi virus entero dari pengumpulan sampel bulan April 1981 di Kotamadya Banjarmasin, berdasarkan kelompok umur.

Kelompok umur	virus coxsackie				virus echo			virus polio		Jumlah
	B2	B3	B5	B6	E1	E7	E14	E24	P3	
0 th-1 th	5	1	1	-	2	4	4	-	3	20
1 th-2 th	8	-	1	1	6	4	8	1	2	31
2 th-3 th	5	-	-	-	2	4	2	-	1	14
3 th-4 th	4	-	-	-	-	2	2	1	1	10
4 th-5 th	1	-	-	-	-	1	1	1	-	4
Total	23	1	2	1	10	15	17	3	7	79
	27				45					

Tabel 4. Identifikasi virus entero dari pengumpulan sampel bulan September 1981 di Kotamadya Banjarmasin, berdasarkan kelompok umur.

Kelompok umur	virus coxsackie				virus echo				virus polio		Jumlah
	B1	B3	B4	B5	B6	A9	E4	E11	E24	P1	
0 th-1 th	-	7	-	-	4	4	-	-	-	2	17
1 th-2 th	1	6	1	2	1	4	-	2	1	2	20
2 th-3 th	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	2
3 th-4 th	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	2
4 th-5 th	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Total	2	14	2	2	5	9	1	2	1	4	42
	25				9				4		

Virus coxsackie grup B pada pengambilan sampel bulan April didapati pada 27 sampel atau 7,89% dari seluruh sampel sedangkan dari pengambilan bulan September didapati pula 25 sampel atau 7,33% dari seluruh sampel. Hasil ini menunjukkan bahwa virus coxsackie grup B pada musim yang berbeda jumlahnya tidak begitu berbeda. Uji statistik juga menunjukkan tidak bermakna ($p > 0,05$).

Virus echo yang didapat dari pengumpulan sampel bulan April dan September jumlahnya sangat berbeda yaitu 45 (13,16%) dan 4 (1,17%), uji statistikpun menunjukkan hasil yang bermakna ($p < 0,10$).

Virus polio dari pengambilan sampel bulan April dan September/Oktobre masing-masing didapati 7 sampel (2,05%) dan 4 sampel (1,17%). Uji statistik untuk virus polio ini menunjukkan hasil yang bermakna ($p < 0,10$).

Suatu hal yang sangat menarik adalah ditemukannya virus coxsackie grup A pada pengambilan sampel bulan September dengan jumlah yang cukup banyak yaitu 9 sampel atau 2,64% dari seluruh sampel. Mengapa pada akhir musim hujan banyak dijumpai virus echo sedangkan pada musim kemarau muncul virus coxsackie grup A dan mengapa jumlah virus

echo sangat menurun tinggal kurang 10% dari pengumpulan sampel bulan April, mengapa pula virus coxsackie tidak mengalami fluktuasi dan virus polio ada fluktuasi walaupun tidak sebesar virus echo, semua ini menarik untuk diteliti lebih lanjut.

Grup virus coxsackie B punya interferensi yang kuat dengan grup virus polio (Dalldorf, 1954), sedangkan grup virus coxsackie A terbukti tidak berinterferensi dengan virus polio (Melnick, 1950 Howitt dan Nichols, 1952). Grup virus echo dapat berinterferensi dengan virus polio galur vaksin, di alam maupun di laboratorium (Kono et al, 1963).

Bila dilihat hasil identifikasi virus dari pengumpulan sampel bulan April maka virus-virus yang ditemukan bisa berinterferensi semua dengan virus polio galur vaksin, sedangkan hasil identifikasi virus dari pengumpulan sampel bulan September didapati virus coxsackie A yang tidak berinterferensi dengan virus polio galur vaksin. Berdasarkan hal tersebut, memang sebaiknya vaksinasi polio dilakukan pada bulan September atau 2-3 bulan sebelum September, karena kecuali virus yang ditemukan jumlahnya sedikit juga 21,43% diantaranya tidak berinterferensi dengan virus polio galur vaksin.

Menurut Melnick (1984), selain grup virus polio, grup virus coxsackie B, beberapa anggota grup virus coxsackie A antara lain coxsackie A4, 6, 7, 9, 11, 14, 21 dan anggota grup virus echo antara lain echo 1, 2, 3, 4, 6, 7, 9, 11, 14, 16, 18, 19, 30 serta virus entero 71 bisa juga menyebabkan kelumpuhan. Dari semua virus entero yang ditemukan di Banjarmasin kecuali virus echo 24 dapat menyebabkan kelumpuhan, jadi seandainya interferensi sesama anggota virus entero tidak ada virus-virus yang ditemukan tetap perlu mendapat perhatian khusus.

Sangat disayangkan bahwa data kelumpuhan ataupun data encephalitis yang berhubungan dengan infeksi virus entero selain virus polio di Indonesia belum ada, oleh karena itu perlu penelitian pada masa yang akan datang.

Data dari isolasi dan identifikasi virus juga memberikan gambaran bahwa anak-anak usia > 1 tahun- 2 tahun lebih banyak terinfeksi virus entero dari anak-anak usia 0-1 tahun, oleh karena itu disarankan pemberian vaksinasi polio lebih baik dilakukan sedini mungkin yaitu antara umur 3-6 bulan, karena pada umur-umur tersebut virus entero kemungkinan besar masih sedikit jumlahnya dalam tubuh anak-anak atau bahkan belum masuk ke dalam tubuh. Jadi kemungkinan virus polio galur vaksin terinterferensi dengan virus entero di dalam tubuh anak yang divaksinasi. Anak-anak di atas usia 2 tahun lebih sedikit terinfeksi virus entero, hal ini mungkin sekali berhubungan dengan kebersihan, seorang anak makin besar makin tabu akan kebersihan.

KESIMPULAN

Dari isolasi dan identifikasi virus entero anak-anak balita di Kotamadya Banjarmasin diperoleh kesimpulan sebagai berikut.

1. Musim yang berbeda menghasilkan jumlah virus yang berbeda dan jenis virus yang tidak selalu sama.
2. Waktu yang sama atau waktu yang hampir sama namun tempat berbeda menghasilkan jumlah dan jenis virus yang berbeda pula (lihat hasil perbandingan isolasi virus entero di Banjarmasin dengan Purwakarta).

3. Kelompok virus yang dominan di suatu musim tidak mesti dominan pada musim yang lain, ada pula kelompok virus yang tidak terpengaruh oleh muslin (jumlah tidak mengalami fluktuasi yang tinggi).
4. Dianjurkan vaksinasi di Kotamadya Banjarmasin dilakukan pada bulan September atau bulan-bulan pada muslin kemarau serta sebaiknya diberikan pada usia vaksinasi dini.
4. Kono R. Hamada C Hoshito M, Fukuda T, Ashihara Y, Yaai Hjr. Studies on mixed infection with polioviruses type 1 and ECHO virus type 7 in monkey and cell culture. Am I Hyg, 1963: 78 ; 89-101.
5. Melnick JL. Studies on the coxsackieviruses, properties, immunological aspect and distribution in nature. Bull NY Acad Med, 1950; 26 ;342-356.
6. Melnick JL. Enteroviruses. In Evans As (ads), viral infection of human. New York, London • Plenum Medical Book Company, 1984; p. 223.
7. Sabin AB. Oral poliomyelitis vaccine . Recent result and recommendation for optimum used. Roy Soc Health Journ, 1963: 82 ; 51.

KEPUSTAKAAN

1. Dalldorf G. The sparing effect to coxsackie virus infection on experimental poliomyelitis.. J Exp Med, 1951; 94 65-71.
2. Gendro Wahyuhono, Suharyono W. Preliminary study of sero immunity to polioviruses in urban population in Indonesia. Bull Penelitian Kes, 1979 :7 ; 22-27.
3. Howitt BF, Nichols NJ. Inoculation of cynomolgus monkey with the coxsackie virus alone, combined, or with polio virus. J Immunol, 1952; 68 ; 599-608.

UCAPAN TERIMA KASIH :

Terima kasih penulis ucapkan kepada Bapak Dr Ishak Koffman, Kepala Ptslit Penyakit Menular, Badan Penelitian Pengembangan Kesehatan, Dep.Kes. RL, Bapak Drh Suharyono Wuryadi, MPH dan Bapak Drh Gendro Wahyuhono yang telah memberikan kesempatan pada' penulis untuk melakukan penelfftian ini

