

DETEKSI YERSINIA PESTIS DAN PATOGEN ZOONOTIK LAINNYA PADA TIKUS DI DAERAH FOKUS PES DESA KAYUKEBEK KABUPATEN PASURUAN

Arief Mulyono^{1*}, Ristiyanto¹, Muhammad Choirul Hidajat¹, Dian Eka Setyaningtyas¹, RA. Wigati¹, Dimas Bagus Wicaksono Putro², Arum Sih Joharina², Ayu Pradipta Pratiwi², Muhidin², Bernardus Yuliadi²

¹ Pusat Riset Kesehatan Masyarakat dan Gizi, Organisasi Riset Kesehatan, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta-Bogor, Pakansari, Kec. Cibinong, Kabupaten Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16915

² Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit
Jl. Hasanudin No.123 Salatiga, Jawa Tengah, Indonesia 50721

*Corresponding author: arief.munich@gmail.com

ABSTRACT

Rats are known as carriers and transmissions of zoonotic diseases. About 60 types of zoonotic diseases that rats can transmit to humans. Some zoonotic diseases are Plague, Leptospirosis, Orthohantavirus infection, and Hepatitis E virus. This research aims to detect the bacteria *Yersinia pestis*, *Leptospira*, Hepatitis E virus, and Orthohantavirus in rats in Kayu Kebek Village, Pasuruan Regency. The research design used in this study is descriptive with a cross-sectional approach. The rats were captured for three days, two nights in the house, the neighborhood around the house, and the forest. The captured mice were identified as specimens of blood, spleen, kidneys, and liver. Detection of *Yersinia pestis*, *Leptospira*, and Hepatitis E is performed using PCR, while the detection of Orthohantavirus is performed using the ELISA method. A total of 45 mice were trapped, consisting of 2 genera and three species. The zoonotic pathogens detected were *Leptospira* and hepatitis E. *Leptospira* viruses were detected in *Rattus tanezumi*, *Rattus tiomanicus*, and *Niviventer fluvescent*. Hepatitis E virus is detected only in *R. tanezumi*. Transmission of leptospirosis and hepatitis E has the potential to occur in Kayu Kebek Village. Rat control is needed to prevent the transmission of leptospirosis and hepatitis E virus infection, and other zoonotic diseases transmitted by rats.

Keywords: Plague, Leptospirosis, Orthohantavirus, Hepatitis E

PENDAHULUAN

Tikus adalah mamalia kecil dengan keragaman jenis yang cukup tinggi dan terdistribusi pada berbagai tipe habitat. Hewan ini cepat sekali beradaptasi terhadap perubahan lingkungan dan cenderung bersifat invasif. Tikus mempunyai peran yang cukup penting di dalam ekosistem diantaranya menjaga aerasi tanah, berperan dalam siklus mineral, meningkatkan penyerapan air, memfasilitasi biotik *recovery* dan mengontrol populasi serangga. Selain itu tikus menyebabkan kerugian ekonomi yang cukup besar dan berperan sebagai penular berbagai jenis patogen ke manusia.⁽¹⁾ Kurang lebih ada 57 jenis virus, 27 jenis bakteri, 4 jenis jamur, 37 jenis protozoa, dan 11 jenis helmin penyebab *zoonotic diseases* yang dibawa dan ditularkan tikus ke manusia.⁽²⁾

Beberapa zoonosis yang ditularkan

oleh tikus dan mendapatkan perhatian besar dalam kesehatan masyarakat adalah pes, leptospirosis, infeksi Orthohantavirus dan infeksi virus hepatitis E (HEV).⁽³⁾ Pes adalah penyakit menular yang dapat menyebabkan Kedaruratan Kesehatan Masyarakat (KKM). Pes disebabkan oleh bakteri *Yersinia pestis*, dan ditularkan ke manusia melalui gigitan pinjal. Kasus pes di Indonesia pertama kali dilaporkan pada tahun 1910 di Malang dan terakhir kali dilaporkan pada tahun 1987 di Pasuruan. Hingga saat ini Indonesia masih belum dinyatakan bebas dari pes. Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan RI No.1501/MENKES/PER/X/2010 pes dikelompokkan dalam zoonosis yang berpotensi menimbulkan wabah. Penyakit tular rodensia lainnya yang dimasukkan dalam penyakit berpotensi menimbulkan wabah adalah leptospirosis.

Leptospirosis banyak dijumpai di daerah tropik maupun subtropik yang kondisi sanitasinya buruk. Lebih kurang 1,03 juta kasus leptospirosis dengan 58.900 kematian terdokumentasi setiap tahunnya di seluruh dunia.⁽⁴⁾ *Leptospira* patogen adalah penyebab leptospirosis. Bakteri ini termasuk golongan *spirochaeta* yang jenisnya cukup beragam. Klasifikasi berdasarkan susunan DNA, *Leptospira* patogen diklasifikasikan menjadi sepuluh spesies.⁽⁵⁾ Klasifikasi berdasarkan *lipopolysaccharide* (LPS) *Leptospira* di kelompokkan menjadi 300 serovar.⁽⁶⁾ Penularan leptospirosis ke manusia dapat secara langsung maupun tidak langsung. Secara langsung melalui kontak dengan urin, darah, atau gigitan tikus. Sedangkan tidak langsung melalui lingkungan yang tercemar *Leptospira*. *Leptospira* masuk ke dalam tubuh melalui kulit yang terluka, selaput mukosa dan konjungtiva. Secara klinis dan epidemiologi leptospirosis mempunyai kesamaan dengan infeksi Orthohantavirus. Dilaporkan kedua penyakit tersebut mengalami peningkatan kasus dalam satu dekade terakhir.

Kasus infeksi *Orthohantavirus* pertahunnya diperkirakan 150.000 – 200.000 kasus, akan tetapi jumlah kasusnya diperkirakan lebih dari itu dikarenakan kurangnya tes diagnostik yang tepat. Infeksi *Orthohantavirus* saat ini telah menjadi ancaman global. *Orthohantavirus* adalah virus RNA beruntai tunggal yang mempunyai selubung (*envelope*), berpolaritas negatif dan berbentuk bulat. *Orthohantavirus* terdiri atas tiga segmen gen yaitu, segmen *Small* (S), *Medium* (M), dan *Large* (L). Lebih dari 90 spesies *Orthohantavirus* telah teridentifikasi dari seluruh dunia (kecuali Antartika) dan 22 di antaranya menyebabkan penyakit pada manusia. Penularan *Orthohantavirus* melalui aerosol dari ekskreta tikus infeksius. Selain *Orthohantavirus* salah virus yang menjadi perhatian global adalah HEV. Pada 5 tahun

terakhir telah dilaporkan adanya 2 kasus infeksi HEV tikus ke manusia.

Virus Hepatitis E (HEV) adalah penyebab utama infeksi hepatitis virus secara global. Gejala klinis infeksi HEV sangat luas mulai tanpa gejala, disfungsi hati ringan sampai sedang dan hepatitis fulminan. Hepatitis E persisten dapat berkembang pada orang dengan gangguan sistem imun, yang dapat berkembang menjadi sirosis hati jika tidak diobati.^(7,8) Virus Hepatitis E dibagi menjadi empat genotipe. Genotipe 1 dan 2 dilaporkan hanya menginfeksi manusia, sedangkan genotipe 3 dan 4 bersifat zoonosis. Genotipe 3 dan 4 tersebut selain menginfeksi manusia, juga menginfeksi mamalia lainnya seperti tikus. Penularan HEV genotipe 1 dan 2 terutama melalui air yang terkontaminasi feses manusia.⁽⁹⁾ Rute penularan genotipe 3 dan 4 secara langsung melalui kontak dengan permukaan lingkungan yang terkontaminasi kotoran inang reservoir atau secara tidak langsung melalui kontaminasi air atau produk makanan (misalnya, konsumsi daging tikus).⁽¹⁰⁾

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendeteksi *Yersinia pestis*, *Leptospira*, *Orthohantavirus*, dan HEV pada tikus domestik, peridomestik, dan silvatik di Desa Kayukebek, Kabupaten Pasuruan. Desa Kayukebek adalah salah satu daerah observasi pes di Pulau Jawa.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini merupakan penelitian observasional deskriptif dengan menggunakan rancangan studi potong lintang. Penelitian dilakukan pada Bulan Agustus 2019 di Desa Kayukebek, Kecamatan Tukur, Kabupaten Pasuruan. Adapun alur dalam penelitian ini adalah:

1. Penangkapan tikus

Penangkapan tikus dilakukan di dua lokasi yaitu pada area pemukiman dan hutan. Penangkapan tikus dilakukan selama 2

malam, total perangkap hidup yang digunakan sebanyak 200. Setiap lokasi menggunakan 100 perangkap. Di area pemukiman perangkap disebar di dalam dan sekitar rumah. Setiap rumah dipasang 2 perangkap. Pemasangan perangkap di hutan dilakukan secara transek, 1 perangkap untuk area dengan luas 10 m². Tikus yang ditangkap diidentifikasi secara morfologi (jenis dan warna rambut, warna ekor, rambut dan sisik pada ekor) dan morfometri (bobot badan, panjang total, panjang ekor, panjang telapak kaki belakang, panjang telinga, bentuk dan ukuran tengkorak, serta jumlah puting susu pada tikus betina) serta dicocokkan dengan kunci identifikasi tikus di Jawa.⁽¹¹⁾

2. Pengambilan sampel

Tikus tertangkap diambil darah, limpa, ginjal dan hatinya. Darah tikus diambil melalui *intracardial* dengan spuit 3 ml. Darah dimasukkan dalam tabung vacutainer untuk selanjutnya dilakukan pemisahan serum dengan sentrifugasi pada 3000 rpm selama 5 menit. Serum yang terbentuk dipindahkan ke *crytube* dengan menggunakan mikropipet. Pengambilan sampel limpa, ginjal dan hati dilakukan dengan melakukan pembedahan. Limpa dan ginjal diambil dan masing masing dimasukkan dalam botol yang berisi alkohol 70%, sedangkan hati diambil kurang lebih 500 mg dan dimasukkan ke dalam *crytube* 2 ml yang berisi RNA later.⁽¹²⁾

3. Deteksi *Y. pestis*

Isolasi DNA untuk deteksi *Y. pestis* dari spesimen limpa tikus. Reagen yang digunakan untuk isolasi adalah *Purelink Genomic DNA Mini Kit*. Deteksi *Y. pestis* dengan Teknik *Real Time PCR* dengan gen target *cafI*. Pasangan primer dan probe yang digunakan sebagai berikut: F'-5 CCA CTG CAA CGG CAA CTC TT 3'; R'-5 TGT AAT TGG AGC GCC TTC CT 3; Probe: FAM-TT GAA CCA GCC CGC ATC ACT CTT ACA-BHQ. Pengaturan RT PCR sebagai berikut:

95°C untuk pre-denaturasi waktu yang dibutuhkan 3 menit, dilanjutkan 45 siklus 95°C untuk denaturasi selama 10 menit, 60°C untuk *annealing* waktu yang dibutuhkan 30 detik. Sampel dikatakan positif jika CT value < 40.

4. Deteksi *Leptospira* pathogen

Deoxyribonucleic Acid (DNA) *Leptospira* pathogen diisolasi dari jaringan ginjal. Reagen yang digunakan *Purelink Genomic DNA Mini Kit*. Segmen gen target untuk amplifikasi adalah *SecY*. Primer yang digunakan adalah: F-5' ATG CCG ATC ATT TTT GCT TC3' dan R-5' CCG TCC CTT AAT TTT AGC TTC TTC-3'. Produk amplifikasi adalah 549 bp. *Set up termocycler* (PCR) sebagai berikut: 95°C untuk denaturasi awal selama 5 menit; 35 siklus 94°C untuk denaturasi, waktu yang dibutuhkan 30 detik; suhu untuk *annealing* 58°C selama 30 detik, dan ekstensi 72°C selama 1 menit; ekstensi akhir ditambahkan pada 72°C selama 7 menit dan inkubasi pada 4°C.

5. Deteksi *Orthohantavirus*

Deteksi *Orthohantavirus* dengan teknik ELISA menggunakan kit merk *ExpressBio*. Langkah-langkah pemeriksaan ELISA mengikuti intruksi pembuat reagen. ELISA *reader* digunakan untuk pembacaan hasil dengan menggunakan panjang gelombang 405 nm. *Cut off* poin adalah 0,300, dihitung berdasarkan selisih *Optical Density* (OD) antara sumuran (+) dan (-). Jika selisih OD ≥ 0,300 sampel dikatakan positif.

6. Deteksi HEV

Proses deteksi HEV dimulai dengan isolasi RNA virus dari spesimen hati menggunakan *Qiagen Easy RNA*. Cara kerjanya mengikuti petunjuk dari pembuat reagen. Teknik *nested Reverse Transcription PCR* digunakan dalam penelitian ini. PCR tahap pertama menggunakan kit satu langkah *Invitrogen RT-PCR*. Target produk amplifikasi PCR adalah 469 – 472 bp.

Susunan primer yang digunakan adalah F- 5' TCG CGC ATC ACM TTY TTC CAR AA-3'; dan R-5'GCC ATG TTC CAG ACD GTR TTC CA-3'. Pengaturan PCR tahap pertama sebagai berikut: *reverse transcriptase* : 50°C (30 detik), *hot start*:95°C 2 menit, langkah siklus 34 siklus: 94°C (15 detik) 55°C(30 detik) 68°C (45 detik), *final extension*: 68°C (10 menit), *hold* 4°C (~).⁽¹³⁾

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah tikus yang tertangkap berjumlah 45, yang terdiri dari *Rattus tanezumi*, *Rattus tiomanicus* dan *Niviventer fulvescent*. *R. tanezumi* tertangkap di pemukiman, *Rattus tiomanicus* dan *Niviventer fulvescent* tertangkap di hutan. *Trap success* sebesar 10 % di daerah pemukiman dan 12.5% di hutan (Tabel 1).

Hasil pemeriksaan laboratorium menunjukkan pathogen zoonosis yang terdeteksi pada tikus di daerah penelitian adalah *Leptospira* dan HEV (Tabel 2).

Tabel 1. Spesies tikus tertangkap dan keberhasilan penangkapan

Lokasi	Spesies	Sex		Total	Keberhasilan penangkapan
		Jantan	Betina		
Pemukiman	<i>R. tanezumi</i>	8	13	21	10.5%
Hutan	<i>N. fulvescens</i>	6	7	13	
	<i>R. tiomanicus</i>	4	7	11	12%

Tabel 2. Jumlah tikus tertangkap dan hasil pemeriksaan

Location	Species	Total (ekor)	Pemeriksaan (n/N)			
			<i>Y. pestis</i>	<i>Leptospira</i>	HEV	<i>Orthohantavirus</i>
Pemukiman	<i>R. tanezumi</i>	21	0/21 (0%)	3/21 (14,3%)	9/21 (49,2%)	0/21 (0%)
Hutan	<i>N. fulvescens</i>	13	0/13(0%)	1/13 (7,7%)	0/13 (0%)	0/13 (0%)
	<i>R. tiomanicus</i>	11	0/11 (0%)	5/11 (45,5%)	0/11 (13,3%)	0/11 (0%)

Keterangan:

n = jumlah positif

N = jumlah diperiksa

Yersina pestis dalam penelitian ini tidak terdeteksi pada semua jenis tikus yang tertangkap. Hasil ini sama dengan hasil surveilan yang dilakukan oleh Dinas Kesehatan Kabupaten (DKK) Pasuruan dari tahun 1997 - 2018. Selama periode surveilan tersebut *Y. pestis* tidak terdeteksi pada tikus dan pinjal. Hasil surveilans pada tikus dan pinjal berkorelasi dengan tidak adanya kasus pes

pada manusia, akan tetapi kasus klinis kadang kala masih ditemukan hingga pada tahun 2007. Kasus terkonfirmasi pes (secara laboratoris) terakhir ditemukan pada tahun 1986.⁽¹⁴⁾ Kewaspadaan terhadap munculnya kembali pes tetap diperlukan karena bisa jadi tidak adanya kasus pes selama lebih dari 10 tahun merupakan pertanda periode hening, dalam periode ini wabah pes bisa sewaktu

waktu muncul.⁽¹⁵⁾ Di beberapa negara seperti Botswana, Madagaskar, India, Mozambik, Zambia, Aljazair dan Libia pes muncul kembali setelah lebih dari 15 tahun dari kasus terakhir, bahkan di Yordania setelah 80 tahun.⁽¹⁶⁾ Faktor-faktor pencetus munculnya kembali penyakit pes adalah migrasi tikus ke daerah pemukiman (Botswana, India, Mozambik, Zambia, Aljazair), adanya cecurut asia sebagai reservoir (Madagaskar), perilaku masyarakat seminomaden (Lybia), dan mengkonsumsi daging unta (pes paringal di Yordania).⁽¹⁶⁾

Patogen zoonotik yang terdeteksi dalam penelitian ini adalah *Leptospira* dan Virus Hepatitis E, sedangkan *Orthohantavirus* sama seperti *Y. pestis* tidak terdeteksi pada semua tikus yang diperiksa. *Leptospira* ditemukan pada ketiga spesies tikus yang tertangkap. Presentase tertinggi pada *R. tiomanicus*, diikuti *R. tanezumi* dan *N. fulvescent*. Adanya *N. fulvescent* positif terinfeksi *Leptospira* merupakan catatan baru di Indonesia. Negara lain yang pernah melaporkan adalah Kamboja.⁽¹⁷⁾ Infeksi *Leptospira* pada *R. tanezumi* telah banyak dilaporkan di negara-negara Asia Tenggara yang merupakan daerah persebaran spesies tikus ini. Di Indonesia persentase infeksi *Leptospira* pada *R. tanezumi* berkisar antara 1,9% - 38,1%.⁽¹⁸⁻²¹⁾ Di negara-negara Asia Tenggara lainnya presentase infeksi *Leptospira* pada *R. tanezumi* berkisar antara 2,8 - 24,6%.⁽²²⁾ Berbeda dengan *R. tanezumi*, informasi infeksi *Leptospira* pada *R. tiomanicus* dan *N. fulvescent* di Indonesia maupun di Kawasan Asia Tenggara masih terbatas.

Pada penelitian ini persentase infeksi *Leptospira* pada *N. fulvescent* sebesar 7,7%, sedangkan pada *R. tiomanicus* sebesar 45,5%. Hasil penelitian yang sebelumnya dilakukan di Provinsi Sumatera Selatan persentase *R. tiomanicus* terinfeksi *Leptospira* sebesar 10,2% dan di Kabupaten

Bantul, Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta sebesar 31%. Besarnya persentase tikus terinfeksi leptospira pada setiap spesies dan lokasi atau wilayah menunjukkan hasil yang berbeda-beda. Ketidakteragaman dalam metode pemeriksaan dan jumlah tikus yang diperiksa merupakan penyebab hasil yang berbeda-beda tersebut.⁽²²⁾ Berdasarkan faktor risiko yang ada, transmisi penularan *Leptospira* dari tikus ke manusia berpotensi terjadi di daerah penelitian. Akan tetapi, kasus leptospirosis tidak pernah dilaporkan. Dimungkinkan ada kasus leptospirosis yang tidak terdeteksi karena misdiagnosis atau underdiagnosis. Leptospirosis mempunyai gejala klinis yang tidak spesifik sama seperti penyakit infeksi lainnya. Oleh karena itu penguatan kapasitas untuk deteksi bagi tenaga Kesehatan sangat diperlukan.

Berdasarkan hasil penelitian HEV hanya terdeteksi pada *R. tanezumi* dengan persentase sebesar 42,9%. Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya di Kabupaten Kendal dan Klaten menunjukkan infeksi HEV pada *R. tanezumi* dengan presentase sebesar 46,7%, dan 3,7%.⁽²³⁾ Persentase tikus positif terinfeksi HEV sangat bervariasi pada setiap wilayah., kondisi sanitasi lingkungan diklaim sebagai penyebabnya.^(24,25) Tikus adalah reservoir penting dari HEV, pertama kali HEV dilaporkan terdeteksi pada tikus di Jerman pada tahun 2010.^(26,27) Saat ini HEV pada tikus telah dilaporkan di 15 negara lainnya. Spesies tikus yang telah terkonfirmasi sebagai pembawa HEV adalah *Rattus rattus* (USA), *R. tanezumi* (Vietnam dan Indonesia), *Bandicota indica*, *Rattus flavipectus*, dan *Rattus rattoides losea* (China) dan *R. norvegicus* di 13 negara Eropa (Austria, Belgia, Republik Ceko, Denmark, Prancis, Jerman, Yunani, Hungaria, Italia, Lithuania, Spanyol, dan Swis).^(28,29)

Penularan HEV dari tikus ke manusia berpotensi terjadi di daerah penelitian. Kasus Infeksi HEV dari tikus ke manusia telah dilaporkan di beberapa wilayah di dunia. Kasus pertama dilaporkan di Hongkong, pada pasien transplantasi hati. Pasien tersebut mengalami disfungsi hati 59 hari setelah transplantasi. Hasil uji laboratorium dengan PCR terbukti terinfeksi HEV dari tikus. Hasil penyidikan epidemiologi yang dilakukan, sumber penularannya adalah dari kotoran tikus yang banyak ditemukan di rumah pasien. Kasus kedua adalah orang Kanada yang habis bepergian dari Uganda.^(10,30)

KESIMPULAN

Yersinia pestis tidak terdeteksi pada tikus di Desa Kayukebek, akan tetapi munculnya kembali wabah pes masih harus tetap diwaspadai. Tikus yang terdistribusi di Desa Kayukebek Kabupaten Pasuruan berpotensi sebagai penular leptospirosis dan HEV.

SARAN

Surveilans patogen dan tikus sebagai reservoir penyakit perlu diperkuat, serta perlu dilakukan pengendalian tikus untuk meminimalkan risiko transmisi penyakit yang ditularkannya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Badan Litbang Kementerian Kesehatan yang telah mendanai penelitian ini. Terimakasih juga kami sampaikan kepada Dinas Kesehatan Kabupaten Pasuruan beserta jajarannya yang telah membantu pelaksanaan penelitian di lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Meerburg BG, Singleton GR, Kijlstra A. Rodent-borne diseases and their risks for public health. Vol. 35, Critical Reviews in Microbiology. 2009. 221–270 p.

2. Han BA, Schmidt JP, Bowden SE, Drake JM. Rodent reservoirs of future zoonotic diseases. Proc Natl Acad Sci U S A. 2015;112(22):7039–44.
3. Kurucz K, Madai M, Hederics D, Bali D, Kemenesi G, Jakab F. Molecular survey of zoonotic agents in rodents from an urban environment, Hungary. Int J Infect Dis. 2019;79(2019):67–8.
4. Costa F, Hagan JE, Calcagno J, Kane M, Torgerson P, Martinez-Silveira MS, et al. Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review. PLoS Negl Trop Dis. 2015;9(9):0–1.
5. Vincent AT, Schiettekatte O, Goarant C, Neela VK, Bernet E, Thibeaux R, et al. Revisiting the taxonomy and evolution of pathogenicity of the genus *Leptospira* through the prism of genomics. PLoS Negl Trop Dis. 2019;13(5).
6. Levett PN. *Leptospira* and Leptospirosis. Vol. 387. 2015. 65–97 p.
7. Kamar N, Selves J, Mansuy J-M, Ouezzani L, Péron J-M, Guitard J, et al. Hepatitis E Virus and Chronic Hepatitis in Organ-Transplant Recipients. N Engl J Med. 2008;358(8):811–7.
8. Sridhar S, Chan JFW, Yap DYH, Teng JLL, Huang C, Yip CCY, et al. Genotype 4 hepatitis E virus is a cause of chronic hepatitis in renal transplant recipients in Hong Kong. J Viral Hepat. 2018;25(2):209–13.
9. Kamar N, Dalton HR, Abravanel F, Izopet J. Hepatitis E virus infection. Clin Microbiol Rev. 2014;27(1):116–38.
10. Sridhar S, Yip CCY, Wu S, Cai J, Zhang AJX, Leung KH, et al. Rat hepatitis E virus as cause of persistent hepatitis after liver transplant. Emerg Infect Dis. 2018;24(12):2241–50.
11. Suyanto A. Lipi-Seri Panduan Lapangan: Rodent di Jawa. Bogor: Pusat Penelitian Biologi LIPI; 2006.
12. Ristiyanto R, Lisdawati V, Mulyono A, Handayani FD, Putro DBW, Sari TF, et al. Pedoman Pengumpulan Data Reservoir

- (Tikus) di Lapangan. 3rd ed. Achmadi AS, Pamungkas J, Sinaga, editors. Jakarta: Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI; 2017. 1–666 p.
13. Johne R, Plenge-Bönig A, Hess M, Ulrich RG, Reetz J, Schielke A. Detection of a novel hepatitis E-like virus in faeces of wild rats using a nested broad-spectrum RT-PCR. *J Gen Virol*. 2010;91(3):750–8.
 14. Ristiyanto, Mulyono A, Sih Joharina A, Dwi Handayani F, Pradipta A, Rosavika Kinansih R. Korelasi Densitas Relatif Tikus, Pinjal dan Curah Hujan Terhadap Kasus Pes di Daerah Enzootik Pes Taman Nasional Gunung Bromo Tengger, Pasuruan, Jawa Timur. *J Biol Indones*. 2020;16(2):217–25.
 15. Pham H V., Dang DT, Tran minh NN, Nguyen ND, Nguyen T V. Correlates of environmental factors and human plague: An ecological study in vietnam. *Int J Epidemiol*. 2009;38(6):1634–41.
 16. Adamovicz JJ, Worsham PL. Plague. *Biodefense Research Methodology and Animal Models, Second Edition*. 2012. 113–146 p.
 17. Ivanova S, Herbreteau V, Blasdel K, Chaval Y, Buchy P, Guillard B, et al. Leptospira and rodents in Cambodia: Environmental determinants of infection. *Am J Trop Med Hyg*. 2012;86(6):1032–8.
 18. Supranelfy Y, S NH, Oktarina R. Analysis of environmental factors on distribution of rats which confirmed as reservoir in three districts In South Sumatera Province. *Vektora J Vektor dan Reserv Penyakit*. 2019;11(1):31–8.
 19. Lobo LT, Koraag ME, Widjaja J, Joharina AS, Pratiwi AP. Leptospirosis on Rats in Minahasa District, North Sulawesi 2016. *J Vektor Penyakit*. 2020;14(2):95–102.
 20. Joharina AS, Pujiyanti A, Nugroho A, Martiningsih I, Handayani FD. Role of rats in leptospirosis transmission in three types ecosystem in Bantul District, Yogyakarta. *Bul Penelit Kesehat*. 2019;47(3):191–8.
 21. Wibawa T, Wijayanti MA, Anastasia H. Detection of *Leptospira* spp. in kidney tissues isolated from rats in the Napu and Bada Highlands of Poso District, Central Sulawesi. *J Vektor Penyakit*. 2020;14(1):17–26.
 22. Kenneth B, Shiokawa K, Sreekumari R. Leptospira infection in rats: A literature review of global prevalence and distribution. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019;13(8):1–24.
 23. Mulyono A, Sari TF, Yuliadi B, Royandi E, Pradipta A. Detection of Hepatitis E Virus and Hantavirus in animal reservoirs (rats) distributed in Klaten and Kendal Districts, Central Java Province. 2019;87–94.
 24. Mulyanto, Depamede SN, Sriasih M, Takahashi M, Nagashima S, Jirintai S, et al. Frequent detection and characterization of hepatitis E virus variants in wild rats (*Rattus rattus*) in Indonesia. *Arch Virol*. 2013;158(1):87–96.
 25. Li W, Guan D, Su J, Takeda N, Wakita T, Li TC, et al. High prevalence of rat hepatitis E virus in wild rats in China. *Vet Microbiol*. 2013;165(3–4):275–80.
 26. Johne R, Heckel G, Plenge-Bönig A, Kindler E, Maresch C, Reetz J, et al. Novel hepatitis E virus genotype in Norway rats, Germany. *Emerg Infect Dis*. 2010;16(9):1452–5.
 27. Johne R, Plenge-Bönig A, Hess M, Ulrich RG, Reetz J, Schielke A. Detection of a novel hepatitis E-like virus in faeces of wild rats using a nested broad-spectrum RT-PCR. *J Gen Virol*. 2010 Mar;91(Pt 3):750–8.
 28. Ryll R, Bernstein S, Heuser E, Schlegel M, Dremsek P, Zumpe M, et al. Detection of rat hepatitis E virus in wild Norway rats (*Rattus norvegicus*) and Black rats (*Rattus rattus*) from 11 European countries. *Vet Microbiol*. 2017 Sep;208:58–68.
 29. Simanavicius M, Juskaite K, Verbickaite A, Jasiulionis M, Tamosiunas PL, Petraityte-Burneikiene R, et al. Detection of rat hepatitis E virus, but not human pathogenic hepatitis E virus genotype 1–4 infections in wild rats from Lithuania. *Vet Microbiol*. 2018 Jul;221:129–33.

30. Andonov A, Robbins M, Borlang J, Cao J, Hatchette T, Stueck A, et al. Rat Hepatitis e Virus Linked to Severe Acute Hepatitis in an Immunocompetent Patient. *J Infect Dis.* 2019;220(6):951–5.

