

Deteksi DNA Mikrofilaria *Brugia malayi* dengan Teknik PCR-Pocket Nucleic Acid Analyzer pada Nyamuk di Kabupaten Pidie

DNA Microfilaria detection of Brugia malayi with PCR Technique-Pocket Nucleic Acid Analyzer on Mosquitoes in Pidie District

Yulidar*, Nur Ramadhan, Rosdiana, Veny Wilya
Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Aceh
Jalan Sultan Iskandar Muda Blang Bintang Lorong Tgk. Dilangga No. 9 Lambaro, Aceh Besar,
Indonesia
*E_mail: yulidaryacob@gmail.com

Received date: 05-08-2019, Revised date: 23-04-2020, Accepted date: 10-06-2020

ABSTRAK

Filariasis merupakan penyakit tular vektor yang masih menjadi masalah kesehatan masyarakat di Kabupaten Pidie. Transmisi infeksi filariasis ke manusia terjadi melalui gigitan nyamuk vektor yang membawa cacing filaria stadium larva infeksi (L₃). Jenis penelitian ini adalah *cross sectional* dilakukan pada Bulan Februari sampai November 2017 di Desa Kambuk Payapi dan Kambuk Nincah, Kabupaten Pidie. Penangkapan nyamuk dilakukan selama 2 periode dengan metode *human landing collection* yang dimodifikasi. Deteksi DNA larva instar 3 dengan PCR-Pocket *Pocket Nucleic Acid Analyzer*. Hasil analisis data didapatkan jumlah nyamuk yang tertangkap sebanyak 2.309 ekor terdiri dari 7 genus yaitu *Culex* sp., *Aedes* sp., *Anopheles* sp., *Armigeres* sp., *Mansonia* sp., *Uranotaenia* sp., dan *Verallina* sp. Nyamuk dominan tertangkap dari genus *Culex* yaitu *Culex sitiens*. Hasil analisis PCR ditemukan positif DNA larva instar 3 infeksi *Brugia malayi* pada nyamuk *Cx. sitiens*, *Cx. quinquefasciatus*, *Aedes vexans* dan *Mansonia indiana*. Transmisi infeksi filariasis pada masyarakat Pidie dengan ditemukannya sumber infeksi dalam tubuh nyamuk tersebut.

Kata kunci: Kambuk Payapi, DNA *Brugia malayi*, *Aedes vexans*

ABSTRACT

*Filariasis is a vector-borne disease and still a public health problem in Pidie District. Transmission of filariasis infection to humans occurs through the bite of a mosquito vector carrying infective larval stage filaria (L₃). This cross-sectional study conducted from February to November 2017 in Pidie district (Kambuk Payapi and Kambuk Nincah Village). Mosquitoes collection carried out during 2 periods with modified human landing collection methods. The third instar larvae infective DNA by PCR Technique-Pocket Nucleic Acid Analyzer. The results showed that the number of mosquitoes caught was 2,309 which consists of 7 genus of *Culex* sp., *Aedes* sp., *Anopheles* sp., *Armigeres* sp., *Mansonia* sp., *Uranotaenia* sp., and *Verallina* sp. The dominant mosquito of the *Culex* genus collected from the field was *Culex sitiens*. The results of PCR analysis of DNA found that positive third instar larvae of *Brugia malayi* infective in *Cx. sitiens*, *Cx. quinquefasciatus*, *Aedes vexans* and *Mansonia indiana*. Transmission of filariasis infection in Pidie community with the discovery of the source of infection in the mosquito's body.*

Keywords: Kambuk Payapi, *Brugia malayi* DNA, *Aedes vexans*

PENDAHULUAN

Filariasis adalah penyakit infeksi tular vektor yang disebabkan oleh cacing filaria dan cenderung berkembang di negara-negara tropis termasuk Indoensia.¹ Tiga spesies utama cacing filaria penyebab filariasis adalah *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* dan *B. timori*.²

Faktor risiko penularan yaitu lingkungan, *host*, reservoir dan vektor. Pada

wilayah tertentu, reservoir (kucing dan monyet) sudah terkonfirmasi sebagai reservoir filariasis. Merujuk pada DITJEN PPM dan PL dalam Asmunir, syarat nyamuk menjadi vektor antara lain: rentan terhadap sumber infeksi, memiliki populasi tinggi di alam, sudah terkonfirmasi sebagai vektor di wilayah yang lain meskipun populasinya tidak dominan, umur nyamuk, frekuensi menggigit.³ Nyamuk

yang sudah terkonfirmasi sebagai vektor filariasis dari genus *Mansonia*, *Anopheles*, *Culex* dan *Armigeres*.⁴

Di Indonesia, kasus filariasis sampai tahun 2019 terdistribusi di 236 dari 514 kabupaten/kota. Sebanyak 103 kabupaten/kota diantaranya sudah mampu menurunkan angka mikrofilaria rate <1% dan 131 kabupaten/kota masih melaksanakan program Pemberian Obat Masal Pencegahan (POPM).⁵

Kabupaten Pidie di Provinsi Aceh termasuk satu dari beberapa kabupaten yang endemis filariasis. Kondisi geografis berupa wilayah pesisir pantai, hutan, dan kebun yang terletak di dataran rendah dan dataran tinggi. Saat survei awal filariasis (pemetaan kasus) angka mikrofilaria rate mencapai 2,68%. Oleh karena itu Kabupaten Pidie dinyatakan sebagai wilayah endemis filariasis dan melaksanakan Pemberian Obat Pencegahan Massal (POPM) 5 putaran (5 tahun). Demi mencapai tahap eliminasi, pasca POPM 5 putaran (5 tahun) berturut-turut dengan cakupan minum obat di atas 65% maka akan dilakukan monitoring dan evaluasi yaitu *Transmission Assesment Survei* (TAS).

Transmission Assesment Survei bertujuan untuk mengetahui apakah masih terjadi penularan atau transmisi filariasis pasca POPM. Pelaksanaan TAS menggunakan *rapid diagnostic test* (test cepat) untuk pemeriksaan antibodi IgG4 dalam darah. Dikatakan lulus TAS bila dari sejumlah responden yang diperiksa ditemukan positif antibodi cacing filarial dalam darah tidak melebihi standar yang digunakan (*cut off* kritis) yaitu <18. Menurut Wicaksono,¹ yang harus diwaspadai dari kegagalan program POPM dapat menyebabkan masyarakat tertular dan terinfeksi filariasis.

Nyamuk yang berperan sebagai vektor filariasis di daerah tersebut belum terkonfirmasi. Hasil penelitian yang pernah dilaporkan oleh Fauziah, nyamuk *Cx. quinquefasciatus* positif terdapat cacing filaria dalam tubuh nyamuknya. Hasil identifikasi, cacing filaria tersebut diduga adalah *W. bancrofti*. Fauziah *et al* tidak menjelaskan

lebih lanjut instar berapa cacing filaria yang didapatkan tersebut.⁶

Penelitian ini bertujuan mendeteksi keberadaan DNA spesifik larva instar 3 infeksi dari cacing filaria di dalam tubuh nyamuk dengan teknik *PCR-Pocket Nucleic Acid Analyzer*. Metode ini merupakan PCR konvensional yang sangat sederhana, dapat diaplikasi langsung di lapangan (yaitu dengan menggunakan alat *Portable-Polymerase Chain Reaction Pocket* (iiPCR), hanya memerlukan waktu kurang dari 90 menit dan dapat diketahui hasilnya tanpa adanya proses elektroforesis. Keterbatasan metode ini, kit iiPCR hanya menampilkan hasil positif atau negatif.⁷

METODE

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian *multicenter* filariasis di Indonesia tahun 2017 yang dilaksanakan oleh Badan Litbang Kesehatan, Jakarta. Pengumpulan data dilaksanakan pada Bulan Februari-November 2017 di Kabupaten Pidie (Desa Kambuk Payapi dan Desa Kambuk Nincah di Kecamatan Padang Tiji).

Penangkapan nyamuk menggunakan metode umpan orang (*human landing collection*) yang dimodifikasi (hasil pemikiran dari tim peneliti). Metode modifikasi yang dilakukan yaitu umpan orang tidak langsung kontak dengan nyamuk namun duduk dalam kelambu. Kelambu terdiri dari 2 lapis dimana lapisan dalam sebagai tempat umpan orang duduk (kelambu dibuat tidak menggantung namun sampai ke lantai duduk), sedangkan kelambu lapisan luar diikat sedikit menggantung (+30 cm) dari lantai duduk. Kelambu dibuat sedemikian rupa dengan konsep; nyamuk yang masuk ke dalam kelambu lapisan luar karena pengaruh CO₂ umpan orang dan tidak dapat mencapai umpan orang secara langsung (Gambar 1). Waktu penangkapan nyamuk mulai pukul 18.00 s.d 06.00 dengan pembagian waktu setiap jamnya meliputi 40 menit menangkap nyamuk masuk ke dalam kelambu, 10 menit untuk menangkap nyamuk diluar kelambu (yang hinggap di

dinding rumah) dan 10 menit waktu istirahat. Penangkap nyamuk juga sebagai umpan orang

yang duduk di dalam kelambu lapisan dalam.



Gambar 1. Penangkapan Nyamuk dengan Metode *Human Landing Collection* yang Dimodifikasi
Sumber Foto: Foto Koleksi Penelitian *Multicenter Filariasis* 2017

Deteksi DNA larva instar 3 dengan PCR-Pocket *Pocket Nucleic Acid Analyzer* merupakan teknik deteksi menggunakan *portable-PCR* (Gambar 2) yang dapat menganalisis secara langsung di lapangan (*rapid test on the spot*). Seluruh perlengkapan yang diperlukan sudah siap dalam satu koper kecil sehingga mudah dibawa kemana saja. Pemeriksaan PCR di laboratorium entomologi Pusat Sumber Daya Kesehatan Badan Litbang Kesehatan Jakarta.

Metode kerja PCR-*Pocket Nucleic Acid Analyzer* merujuk pada penelitian yang dilakukan oleh Koesharyani.⁷

Sampel Nyamuk

Sampel nyamuk adalah nyamuk yang didapatkan dari hasil penangkapan malam hari di Kabupaten Pidie. Sebanyak 5-15 nyamuk dimasukkan dalam mikrotube 1,5 ml. Tube disumbat dengan tissue dan diberikan pengawet di atasnya dan dikirm ke

laboratorium entomologi Pusat Sumber Daya Kesehatan Badan Litbang Kesehatan Jakarta. Pemeriksaan dengan PCR dilakukan oleh tim peneliti di Pusat Sumber Daya Kesehatan Badan Litbang Kesehatan Jakarta.

Ekstraksi DNA

DNA diekstraksi menggunakan Extraction Kit (IQ Plus™ Extraction Kit) (Gambar 2). Ekstraksi DNA dilakukan secara bersamaan dengan teknik *spin column* (*simultaneous*) selanjutnya digunakan dalam proses amplifikasi.

Sampel nyamuk dimasukkan dalam mikrotube 1,5 ml ditambahkan 500 µl larutan-1 (larutan *lysis*) kemudian dihancurkan dengan pestel. Setelah semua bahan uji lisis atau hancur ditambahkan 500 µl larutan-2 (larutan yang mengandung alkohol sebagai pengikat DNA), dicampurkan dengan baik dan diendapkan (*spin*) selama satu menit untuk memisahkan protein dan asam nukleat (DNA).

Sebanyak 500 μ l supernatan yang mengandung asam nukleat (DNA) dipindahkan ke dalam *spin-column tube*, kemudian diendapkan (*spin*) selama satu menit, lalu cairan yang ada di dalam tabung penampung dibuang, sedangkan asam nukleat berada pada bagian dasar *spin-column*. Proses pembilasan ditambahkan larutan-2 kembali sebanyak 500 μ l pada *spin-column*, diendapkan selama 3

menit lalu larutan yang tertampung pada tabung dibuang. Pindahkan *spin-column* (yang mengandung asam nukleat DNA) pada 1,5 ml tabung mikro baru dan tambahkan pelarut/*elution* asam nukleat sebanyak 200 μ l (untuk sampel jaringan) kemudian diendapkan (*spin*) selama satu menit. Selanjutnya asam nukleat (DNA) yang didapat, digunakan untuk amplifikasi larva instar 3 cacing filarial.



Gambar 2. Perlengkapan *Pockit Nucleic Acid Analyzer* Portabel-PCR Berupa Mesin PCR, Mikro Pipet dan Alat *Spin Down* (A dan B), Paket Reagensia Ekstraksi dan Amplifikasi (C dan D) yang Dikemas dalam Satu Koper Kecil yang Siap Dibawa untuk Pengecekan di Lapangan (E)⁷

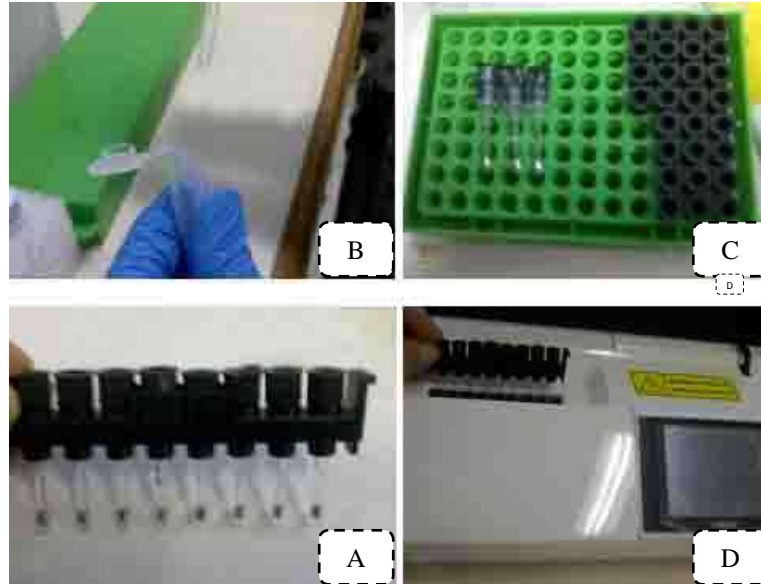
Amplifikasi

Amplifikasi DNA larva instar 3 menggunakan IQ Plus™ DNA larva instar 3 cacing filaria kit. Sebelumnya persiapkan *premix pack* (dalam mikrotube) yang mengandung (dNTPs, spesifik primer DNA larva instar 3 cacing filaria, *flourescent probes* dan enzim) dalam bentuk pelet kering kemudian ditambahkan 50 μ l *premix buffer* sebagai pelarut *premix* (larutan yang telah dilarutkan harus segera digunakan dalam

waktu kurang dari satu jam) dan dilanjutkan pada proses berikutnya. Ditambahkan 1 *loop* (*loop* plastik tersedia dalam kit) asam nukleat DNA uji ke dalam larutan *premix* (Gambar. 2A). Selanjutnya semua *premix* dan DNA uji dipindahkan ke dalam *R-tube* (Gambar 2B dan 2C), kemudian *R-tube* diletakkan pada holder (Gambar 2D) yang telah tersedia dengan posisi baik dan benar dengan menggunakan sarung tangan, karena bagian bawah *R-tube* berupa tabung gelas optikal yang berpengaruh dalam

proses deteksi/ membaca dengan bantuan *flourescent*. Bagian atas *R-tube* diberi label kemudian setelah tertutup dengan baik, rangkaian *R-tube* dimasukkan ke dalam mesin

Pocket dan dipilih panjang gelombang 520nm+ 550nm, selanjutnya mesin dijalankan dengan menekan tombol "Run" sesuai dengan petunjuk.



Gambar 3. Amplifikasi pada Portabel-PCR Menggunakan *Loop* untuk Mengambil *Template* DNA/RNA (A), *R-tube*/ Tabung R Amplifikasi (B), *Holder* (C), Alat PCR (D)⁷

Analisis Data

Data hasil pemeriksaan akan dianalisis secara deskriptif, disajikan dalam tabel dan diinterpretasi dalam bentuk narasi.

HASIL

Sebagai wilayah endemisitas filariasis, Kabupaten Pidie diyakini memiliki faktor-faktor yang sangat potensial penyebab endemisitas tersebut. Satu dari sekian banyak faktor adalah keberadaan vektor dan sumber infeksi. Hasil identifikasi nyamuk yang tertangkap di Desa Kambuk Payapi-Desa

Kambuk Nincah terlihat dalam Tabel 2 di bawah ini. Selama penangkapan nyamuk 2 periode, nyamuk yang dominan tertangkap yaitu *Cx. sitiens* (1.588 nyamuk), *Ae. vexans* (34 nyamuk), *Anopheles sinenesis* (16 nyamuk), *Armigeres subalbatus* (3 nyamuk), *Mansonia annulata* (25 nyamuk), *Uranotaemia lateralis* dan *Verralina andamanensis* (14 nyamuk). Jumlah nyamuk yang tertangkap sebanyak 2.309 dan seluruhnya dijadikan sampel untuk mendeteksi ada tidaknya DNA larva instar 3 (infektif) cacing filarial.

Tabel 2. Hasil Penangkapan Nyamuk selama 2 Periode di Kabupaten Pidie tahun 2017

Nyamuk	<i>Culex</i> sp.	<i>Aedes</i> sp.	<i>Anopheles</i> sp.	<i>Armigeres</i> sp.	<i>Mansonia</i> sp.	<i>Uranotaemia</i> sp.	<i>Verallina</i> sp.
P1	1.594	50	23	23	7	0	14
P2	559	4	7	7	32	2	0
Jumlah	2.153	54	30	30	39	2	14

Keterangan:

- P1 = penangkapan 1
- P2 = penangkapan 2

Empat spesies nyamuk terdeteksi adanya DNA cacing filaria instar 3 infeksi cacing mikrofilaria. Seperti yang tercantum dalam Tabel 3, nyamuk yang positif terdapat DNA *B. malayi* yaitu *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. sitiens*, *Ae. vexans*, dan *M. indiana*. DNA

cacing filaria yang terdeteksi adalah DNA *B. malayi*. Dengan terdeteksinya DNA *B. malayi* maka keterpaparan masyarakat di Kabupaten Pidie terutama Desa Kambuk payapi dan Desa Kambuk Nincah dengan sumber infeksi filariasis masih terjadi.

Tabel 3. Deteksi DNA Larva Instar 3 Infektif dalam Tubuh Nyamuk dengan Metode PCR-Pockit di Kabupaten Pidie tahun 2017

Nyamuk	Hasil Pemeriksaan		
	L1	L2	L3 (infektif)
<i>Cx. sitiens</i>	-	-	+
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	-	-	+
<i>Anopheles</i> sp.	-	-	-
<i>Ae. vexans</i>	-	-	+
<i>Armigeres</i>	-	-	-
<i>M. indiana</i>	-	-	+
<i>Uranotaenia</i>	-	-	-
<i>Verralina</i>	-	-	-

PEMBAHASAN

Konfirmasi nyamuk sebagai vektor filariasis dapat dilakukan dengan pembedahan probosis untuk mendapatkan larva instar 3 infeksi cacing filaria. Keterbatasan penelitian ini adalah tidak dilakukan pembedahan probosis tersebut. Meskipun hasil pemeriksaan PCR mendeteksi positif terdapat DNA larva instar 3, hal ini belum dapat mengonfirmasi vektor filariasis. Keberadaan DNA larva instar 3 infeksi cacing filaria dalam tubuh nyamuk untuk memastikan bahwa masih terjadinya transmisi filariasis di wilayah tersebut dan nyamuk tersebut sangat berpotensi sebagai vektor.

Dari keseluruhan 2.309 nyamuk yang tertangkap di Kabupaten Pidie, semuanya diidentifikasi dan diperiksa dengan tehnik PCR. Berdasarkan hasil identifikasi dan skrining dengan PCR, DNA larva instar 3 infeksi cacing filaria ditemukan pada *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. sitiens*, *Ae. vexans*, dan *M. indiana*. Dapat dikatakan bahwa spesies-spesies tersebut merupakan vektor yang sangat potensial sebagai vektor filariasis. Hal yang sama juga pernah ditemukan oleh Fauziah, berdasarkan hasil pemeriksaan mikroskopis, *Cx. quinquefasciatus* positif terdapat larva cacing filaria.⁶ Spesies nyamuk dikonfirmasi

sebagai vektor apabila ditemukan larva cacing filaria instar 3 infeksi dalam tubuhnya saat pembedahan dan pemeriksaan secara mikroskopis.

Berdasarkan PMK Nomor 94 Tahun 2014 tentang penanggulangan filariasis, *Cx. quinquefasciatus* memang sudah terkonfirmasi sebagai vektor filariasis *W. bancrofti* di Propinsi Aceh, DKI Jakarta, Jawa Barat, Jawa Tengah, Papua,³ Kelurahan Pabean Kota Pekalongan,⁸ dan Kabupaten Tangerang.⁹

Culex sitiens sebagai vektor potensial filariasis juga dilaporkan di Cisayong Kabupaten Tasikmalaya dimana angka *porosity rate* mencapai 66%.¹⁰ Demikian juga halnya di Desa Binjeu dan Desa Peunayan Kabupaten Aceh Utara, kelimpahan nisbi *Cx. sitiens* mencapai 9,5%.¹¹ Sedangkan di Desa Soru Kabupaten Sumba Tengah dan di Kecamatan Kodi Balaghar Sumbara Barat Daya, nyamuk yang berpotensi sebagai vektor filariasis dari genus *Culex* yaitu spesies *Cx. vishnui*.¹²⁻¹³

Secara spesifik lokasi, *Ae. vexans* sebagai vektor potensial filariasis belum ditemukan laporan di Indonesia. Genus *Aedes* yang pernah dilaporkan sebagai vektor di Indonesia adalah *Ae. kochi* di Papua³ dan *Ae. poecilus* sebagai vektor potensial.¹⁴

Pada penyakit tular vektor, *Ae. vexans* sudah terkonfirmasi sebagai vektor arbovirus¹⁵⁻¹⁶ penyakit zika.¹⁷ Nyamuk *M. indiana* ataupun spesies lainnya dari genus *Mansonia* pernah dilaporkan sebagai vektor potensial filariasis di Kabupaten Tanjung Jabung Timur,¹⁸ di Kabupaten Muaro Jambi,¹⁹ di Desa Gulinggang Kabupaten Balangan Provinsi Kalimantan Selatan.²⁰

Sampai Tahun 2017, 2 dari 12 Kabupaten di Provinsi Aceh yang endemis filariasis sudah mampu menurunkan angka mikrofilaria rate di bawah 1% (*mf rate* <1%).²¹ Satu dari 2 kabupaten tersebut adalah Kabupaten Pidie. Terdeteksinya DNA larva instar 3 infeksi *B. malayi* pada beberapa spesies nyamuk membuktikan bahwa masih adanya risiko paparan pada masyarakat dengan sumber infeksi yaitu *B. malayi* di Kabupaten Pidie terutama Desa Kambuh Payapi dan Desa Kambuh Nincah.

Deteksi cacing filaria dengan tehnik PCR juga pernah dilakukan pada masyarakat di Kabupaten Tangerang dan Kecamatan Pelayung Kabupaten Batanghari Provinsi Jambi. DNA larva instar 3 *W. bancrofti* dan *B. malayi* terdeteksi pada nyamuk *Cx. quinquefasciatus*,²¹⁻²² Deteksi DNA dengan tehnik PCR memiliki spesifikasi sumber infeksi dan keakuratan yang tinggi terhadap hasil deteksi. Nilai keakuratannya dapat mencapai 98-100%.²³

KESIMPULAN

Culex sitiens, *Cx. quinquefasciatus*, *Ae. vexans*, dan *M. indiana* terdeteksi larva instar 3 *B. malayi*. Transmisi infeksi filariasis di Kabupaten Pidie terutama Desa Kambuh Payapi dan Desa Kambuh Nincah masih berlangsung hingga dilakukan penelitian ini.

SARAN

Terdeteksinya vektor filariasis di Kabupaten Pidie, maka tingkat kewaspadaan terhadap penularan filariasis harus ditingkatkan. Pengendalian filariasis selain pengendalian sumber infeksi dengan pemberian obat massal pencegahan yang

pernah dilaksanakan maka pengendalian vektor terutama pengendalian vektor terpadu dengan melibatkan masyarakat.

KONTRIBUSI PENULIS

Kontribusi setiap penulis dalam artikel ini adalah Y dan NR sebagai kontributor utama yang bertanggung jawab terhadap konsep penulisan artikel secara menyeluruh. R dan VW sebagai kontributor anggota bertanggung jawab dalam analisis, penyajian data dan mencari referensi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Masyarakat Desa Buloh dan Desa Dayah Reubee Kecamatan Delima serta Desa Kambuk Payapi dan Desa Kambuk Nincah Kecamatan Padang Tiji, Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Pidie beserta stafnya, Kepala Balai Litbang Kesehatan Aceh beserta staf, Kepala Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Jakarta beserta staf, Kepala Pusat Upaya dan Sumber Daya Pelayanan Kesehatan dan Kepala Badan Litbang Kementerian Kesehatan atas dukungan dan arahan untuk terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wicaksono SN, Kamissy S, Sabir M. Infeksi filariasis pada seorang wanita dewasa pasca kegagalan tindak lanjut Pemberian Obat Pencegahan Massal. Jurnal Medical Profession (MedPro). 2019;1(1):55-61.
2. Kementerian Kesehatan RI. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 94 Tahun 2014 tentang penanggulangan filariasis.
3. Asmunir. Nyamuk vektor malaria dan hubungannya dengan aktivitas kehidupan manusia di Indonesia. Aspirator. 2009;1(2):94-102.
4. Masrizal. Penyakit filariasis. Jurnal Kesehat. Masy. Andalas. 2012;7(1):32-8. doi:10.24893/jkma.7.1.32-38.2012.
5. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Profil kesehatan Indonesia data dan informasi tahun 2018. 2019:207. Diunduh dari: <http://www.depkes.go.id/resources/download/pusdatin/profil-kesehatan-indonesia/Data-dan->

- Informasi_Profil-Kesehatan-Indonesia-2018.pdf.
6. Fauziah, Yasmin Y, Dharma W. Analisis nyamuk vektor filariasis di tiga kecamatan Kabupaten Pidie Nanggroe Aceh Darussalam. *Jurnal Biologi Edukasi*. 2013;3(1):26-30. Available at <http://jurnal.unsyiah.ac.id/JBE/article/view/455/615>.
 7. Koesharyani I, Gardenia L. Metode deteksi cepat White Spot Syndrome Virus (WSSV) dan Infectious Myonecrosis Virus (IMNV) menggunakan portabel/mobile polymerase chain reaction. *Media akuakultur*. 2015;10(1):43-9. doi:10.15578/ma.10.1.2015.43-49.
 8. Ramadhani T, Soeyoko, Sumarni S. *Culex quinquefasciatus* sebagai vektor utama filariasis limfatik yang disebabkan *Wuchereria bancrofti* di Kelurahan Pabean Kota Pekalongan. *J Ekol Kesehat*. 2010;9(3):1303-10.
 9. Nasution SF, Adhiyanto C, Indahwati E. Preliminary study of *Wuchereria bancrofti* L3 larvae detection in *Culex quinquefasciatus* as vector potential of filariasis in endemic area of South Tanggerang, by utilizing PCR ASSAY for L3-Activated Cuticlin Transcript mRNA Gene And TPH-1 Gene. *Indones J Trop Infect Dis*. 2018;7(3):67-72. doi:10.20473/ijtid.v7i3.7352.
 10. Portunasari WD, Kusmintarsih ES, Riwidiharso E. Survei nyamuk *Culex* spp. sebagai vektor filariasis di Desa Cisayong, Kecamatan Cisayong, Kabupaten Tasikmalaya. *Biosfera*. 2016;33(3):142-8. doi:10.20884/1.mib.2016.33.3.361.
 11. Yulidar. Populasi nyamuk yang berpotensi sebagai vektor filariasis di Kabupaten Aceh Utara. *Jurnal Biotik*. 2018;6(1):70-4.
 12. Willa RW, Noshirma M. Permasalahan filariasis dan vektornya di Desa Soru Kecamatan Umu Ratunggai Kabupaten Sumba Tengah Nusa Tenggara Timur. *Aspirator*. 2015;7(2):58-65. doi:10.22435/aspirator.v7i2.4023.58-65.
 13. Tallan MM, Mau F. Karakteristik habitat perkembangbiakan vektor filariasis di Kecamatan Kodi Balaghar Kabupaten Sumba Barat Daya. *Aspirator*. 2016;8(2):55-62. doi:10.22435/aspirator.v8i2.4243.55-62.
 14. Rosanti TI, S, Dwianasari L, Sari OP, Dwi Sari FN. *Aedes pollicius* dan peluang menjadi vektor filariasis di Indonesia. *Mandala Heal*. 2017;8(1):581. doi:10.20884/1.mandala.2017.8.1.346.
 15. Scheuch DE, Schäfer M, Eiden M, Heym EC, Ziegler U, Walther D, et al. Detection of usutu, sindbis, and batai viruses in mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected in Germany, 2011–2016. *Viruses*. 2018;10(7):389 doi:10.3390/v10070389.
 16. Ndiaye EH, Fall G, Gaye A, Bob NS, Talla C, Diagne CT, et al. Vector competence of *Aedes vexans* (Meigen), *Culex poicilipes* (Theobald) and *Cx. quinquefasciatus* Say from Senegal for West and East African lineages of Rift Valley fever virus. *Parasites Vectors*. 2016;9(94):1-9. doi:10.1186/s13071-016-1383-y.
 17. O'Donnell KL, Bixby MA, Morin KJ, Bradley DS, Vaughan JA. Potential of a northern population of *Aedes vexans* (Diptera: Culicidae) to transmit Zika virus. *J Med Entomol*. 2017;54(5):1354-9. doi:10.1093/jme/tjx087.
 18. Santoso S, Yahya Y, Suryaningtyas NH, Rahayu KS. Deteksi mikrofilaria *Brugia malayi* pada nyamuk *Mansonia* spp. dengan pembedahan dan metode PCR di Kabupaten Tanjung Jabung Timur. *Aspirator*. 2017;7(1):29-35. doi:10.22435/aspirator.v7i1.3728.29-35.
 19. Santoso S, Yahya Y, Salim M. Penentuan jenis nyamuk *Mansonia* sebagai tersangka vektor filariasis brugia malayi dan hewan zoonosis di Kabupaten Muaro Jambi. *Media Litbangkes* 2017;24(4):181-90. doi:10.22435/mpk.v24i4.3671.181-190.
 20. Supriyono S, Tan S, Hadi UK. Perilaku nyamuk mansonia dan potensi reservoar dalam penularan filariasis di Desa Gulinggang Kabupaten Balangan Provinsi Kalimantan Selatan. *Aspirator*. 2018;9(1):1-10. doi:10.22435/aspirator.v9i1.4443.1-10.
 21. Sekretariat Jendral Kementerian Kesehatan. Profil kesehatan Indonesia Tahun 2017. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2018.
 22. Yahya Y, Salim M, Arisanti M. Deteksi *Brugia malayi* pada *Armigeres subalbatus* dan *Culex quinquefasciatus* yang diinfeksi darah penderita filariasis dengan metode PCR. *Aspirator*. 2014;6(2):35-42.

doi:10.22435/aspirator.v6i2.3623.35-42.

23. Vasuki V, Hoti SL, Patra KP. RT-PCR assay for the detection of infective (L3) larvae of lymphatic filarial parasite, *Wuchereria bancrofti*, in vector mosquito *Culex quinquefasciatus*. J Vector Borne Dis.2008;45(3):207-16.

