

KONFIRMASI KEBERADAAN *Fasciola gigantica* DAN HOSPES PERANTARA DI LINGKUNGAN PEMUKIMAN EKOSISTEM RAWA KABUPATEN HULU SUNGAI UTARA, KALIMANTAN SELATAN

Budi Hairani[✉], Syarif Hidayat, Paisal

* Balai Litbang P2B2 Tanah Bumbu

Jalan Lokalitbang, Kawasan Perkantoran Pemda Kabupaten Tanah Bumbu, Kalimantan Selatan, Indonesia
Email : budihaira@gmail.com

CONFIRMATION THE PRESENCE OF *Fasciola gigantica* AND INTERMEDIATE HOST IN THE SETTLEMENTS OF SWAMP ECOSYSTEM, HULU SUNGAI UTARA DISTRICT, SOUTH KALIMANTAN

Naskah masuk 07 Februari 2018, Revisi I : 20 Februari 2018, Revisi II : 15 Mei 2018, Naskah diterima : 14 Mei 2018

Abstrak

Infeksi *Fasciola gigantica* telah dibuktikan terjadi pada kerbau rawa di Kabupaten Hulu Sungai Utara. Wilayah peternakan kerbau rawa dengan Desa Sungai Papuyu dan Desa Kalumpang Dalam dihubungkan oleh perairan rawa dan tidak terdapat barrier. Kondisi tersebut memungkinkan keong hospes perantara *F. gigantica* di daerah peternakan dapat menyebar ke daerah pemukiman walaupun jaraknya yang cukup jauh sehingga menimbulkan risiko penularan pada manusia. Penelitian ini bertujuan untuk mengonfirmasi keberadaan serkaria *F. gigantica* serta keong hospes perantaranya di dua desa. Penelitian merupakan studi observasional dengan desain potong lintang yang dilaksanakan bulan Agustus-Desember tahun 2014. Sampling keong dilakukan di Desa Sungai Papuyu dan Desa Kalumpang Dalam dengan metode hand collecting. Metode untuk menemukan serkaria pada keong dilakukan dengan teknik crushing. Uji PCR serkaria dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler FMIPA ULM Banjarbaru. Sampling di kedua desa menghasilkan enam genus keong yaitu Pomacea, Bellamya, Indoplanorbis, Lymnaea, Gyraulus dan Melanoides. Terdapat tiga jenis serkaria pada keong yaitu : Echinostome cercariae, Brevifurcate-pharyngeate cercariae dan Sulcatomicrocercous cercariae. Hasil PCR menunjukkan sampel positif *F. gigantica* dalam bentuk Echinostome cercariae terdapat pada keong Lymnaea dan Indoplanorbis. Kesimpulan penelitian ini telah terkonfirmasi adanya serkaria cacing *F. gigantica* di sekitar pemukiman penduduk, keong Lymnaea dan Indoplanorbis merupakan hospes perantara pertamanya.

Kata kunci: *Fasciola gigantica*, serkaria, keong air tawar

Abstract

Fasciola gigantica infection occurs in swamp area of Hulu Sungai Utara District. The livestock area is linked to the villages of Sungai Papuyu and Kalumpang Dalam by swamp with no barrier. Such condition allows the snail as intermediate host of *F. gigantica* in livestock areas spread to residential areas and, raises transmission risk to humans. This study aimed to confirm presence *F. gigantica* in the cercariae form and snails in the settlement villages. An observational study of cross-sectional design conducted in August-December 2014. Snail sampling conducted at Sungai Papuyu and Kalumpang Dalam village using hand collection method. Crushing technique performed to find cercariae in snail. Cercariae confirmed by PCR to ensure they are *F. gigantica* in Laboratory of Molecular Biology, ULM Banjarbaru. Results in both villages showed 6 genera of snail, namely Pomacea, Bellamyâ , Indoplanorbis, Lymnaea, Gyraulus and Melanoides. There are 3 types of cercariae namely Echinostome cercariae, Brevifurcate – pharyngeate cercariae and Sulcatomicrocercous

*cercariae. PCR shows positive samples of *F. gigantica* in the Echinostome cercariae form in *Lymnaea* and *Indoplanorbis*. This confirms the presence of *F. gigantica* cercariae around the settlements area and *Lymnaea* and *Indoplanorbis* snail are the first intermediate hosts.*

Keywords: *Fasciola gigantica, cercariae, freshwater snail*

PENDAHULUAN

Sebagian besar wilayah perdesaan di Kabupaten Hulu Sungai Utara (HSU) berada pada ekosistem rawa yang tergenang air hampir sepanjang tahun, hanya pada saat kemarau panjang saja wilayah ini mengalami kekeringan. Ekosistem rawa yang tergenang hampir sepanjang tahun merupakan tempat yang sangat baik untuk perkembangan populasi keong air tawar (Byers *et al.*, 2013). Keong diketahui berpotensi sebagai hospes perantara pertama dari cacing trematoda (Hanington *et al.*, 2012; McDermott *et al.*, 2014).

Jenis cacing trematoda yang ditemukan di daerah perairan rawa Kabupaten HSU adalah *Fasciolopsis buski* dan *F. gigantica* (Annida, 2013; Suhardono;Kosasih, 2000). Infeksi *F. buski* ditemukan pada manusia yang tinggal di pemukiman sekitar perairan rawa (Annida & Paisal, 2014) sedangkan infeksi *F. gigantica* hanya terjadi pada kerbau rawa di daerah peternakan yang jauh dari pemukiman penduduk (Suhardono *et al.*, 1999; Natalia *et al.*, 2006). Secara geografis wilayah peternakan kerbau tempat ditemukannya infeksi *F. gigantica* dengan wilayah pemukiman penduduk desa merupakan kesatuan yang terhubung oleh perairan rawa. Walaupun berjarak cukup jauh, di antara kedua wilayah tersebut tidak terdapat barier sehingga sangat memungkinkan terjadinya mobilitas hewan (termasuk keong) antar wilayah tanpa mengalami hambatan.

Keong air tawar merupakan hewan yang populasinya dapat berkembang secara masif dan dapat berpindah dari satu wilayah ke wilayah yang lain dengan cepat melalui media perairan (Attwood & Upatham, 2013; Grabner *et al.*, 2014). Jenis keong yang mengandung serkaria *F. gigantica* di daerah endemis kemungkinan dapat dengan mudah menyebar ke daerah pemukiman manusia. Umumnya *F. gigantica* hanya menginfeksi hewan, terutama ruminansia (Suon *et al.*, 2006; Anuracpreeda *et al.*, 2016). Sampai saat ini belum pernah dilaporkan adanya penduduk di sekitar perairan rawa yang terinfeksi cacing ini. Namun beberapa studi yang dilakukan di negara lain melaporkan adanya kasus infeksi *F. gigantica* pada manusia (Chen *et al.*, 2013; Le *et al.*, 2007) sehingga tidak menutup kemungkinan kasus ini juga dapat terjadi di daerah rawa di Kabupaten HSU. Penduduk desa membuat tempat tinggal berupa rumah panggung di atas perairan rawa sehingga hampir seluruh

aktivitas manusia dilakukan pada lahan rawa tersebut. Aktifitas yang dapat menimbulkan risiko penularan cacing yang umum dilakukan penduduk diantaranya adalah buang air besar di rawa, memakan tanaman air secara mentah dan menggunakan air rawa untuk keperluan sehari-hari (Annida, 2013). Kondisi tersebut dikhawatirkan akan menimbulkan potensi terjadinya penularan baru cacing *F. gigantica* pada manusia di daerah pemukiman.

Pencegahan penularan penyakit zoonosis perlu dilakukan secara dini sebelum terjadi pada manusia, salah satunya adalah dengan mengetahui keberadaan agen penyakit serta inang perantara yang dapat menularkannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengonfirmasi keberadaan cacing *F. gigantica* dalam bentuk serkaria serta keong air tawar yang berperan sebagai hospes perantara pertama di daerah perairan rawa sekitar pemukiman penduduk di Kabupaten HSU.

BAHAN DAN METODE

Penelitian merupakan studi observasional dengan desain potong lintang. Pengumpulan data dilakukan di lapangan dan laboratorium pada bulan Agustus-Desember tahun 2014. Desa Sungai Papuyu (S 2°31'12.99", E 115°6'42.606") dan Desa Kalumpang Dalam (S 2°29'32.982", E 115°8'50.6868") Kecamatan Babirik Kabupaten HSU dipilih sebagai lokasi pengambilan sampel keong didasarkan pada hasil penelitian terdahulu yang menemukan berbagai jenis serkaria pada keong hasil koleksi dari desa tersebut serta adanya penduduk yang terinfeksi cacing *F. buski* mengindikasikan bahwa masyarakat desa tersebut memiliki perilaku berisiko terinfeksi cacing trematoda jenis lain.

Identifikasi keong dan koleksi serkaria dilakukan di lapangan dengan menggunakan pedoman identifikasi serta referensi dari berbagai sumber (Jayawardena *et al.*, 2011; Southeast Asian Center for Medical Malacology, 2012; Frandsen & Christensen, 1984; Harrold & Guralnick, 2010; Souza & Melo, 2012; Freshwater Mollusk Conservation Society, 2004), uji Polymerase Chain Reaction (PCR) serkaria dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru. Analisis data dilakukan secara deskriptif mengenai populasi

spesies keong, hasil pemeriksaan parasitologis dan uji PCR serkaria.

Koleksi keong dengan metode *hand collecting* dilakukan dengan panduan garis transek (Opisa et al., 2011) di badan air sekitar lingkungan rumah penduduk. Keong yang ditemukan dimasukkan ke dalam kantong plastik yang dibedakan menurut jenis dan titik pengambilannya.

Metode ekstraksi serkaria pada keong dilakukan dengan teknik *crushing* (Kulsantiwong et al., 2013; Yakhchali et al., 2014). Keong diletakkan pada cawan petri; cangkang keong dibuka/dihancurkan secara perlahan dengan penggerus.; tubuh keong yang sudah hancur ditetesi dengan *aquadest* lalu diamati keberadaan serkaria dengan mikroskop disekting. Serkaria yang ditemukan diidentifikasi morfologinya dan diambil dengan pipet kemudian dimasukkan ke dalam wadah sampel (tube 1,5 ml) untuk keperluan uji PCR.

Sampel serkaria yang didapatkan dilakukan uji PCR dengan menggunakan primer spesifik *F. gigantica* yang terdiri dari 3S: 5'GGTACCGGTG GATCACTCGGCTTCGTG-3' (forward); FgMR1: CCAAGTTCAGCATCAAACA (reverse). Primer reverse tersebut didesain untuk daerah spesifik sekuen ITS2 dari *F. gigantica*. (Prasad et al., 2011) PCR konvensional. Reaksi PCR menggunakan DNA Amplification Kit dari Vivantis : 38,1 μ l nuclease free water; 5,0 μ l 10X ViBuffer A; 2,0 μ l dNTP mix (2mM); 1,5 μ l MgCl₂ (50 mM); 1,0 μ l Forward primer (10 μ M); 1,0 μ l Reverse primer (10 μ M); 1,0 μ l DNA; 0,4 μ l Taq DNA Polymerase. Siklus PCR dilakukan dalam kondisi : 26 siklus, denaturasi DNA pada 94°C selama 30 detik, annealing pada 55°C selama 38 detik dan extention pada 72°C selama 42 detik diikuti final extention

pada 72°C selama 10 menit. Tahap elektroforesis menggunakan 1,6% gel agarose dengan TAE buffer. DNA hasil PCR cacing *F. buski* juga disertakan pada proses elektroforesis sebagai pembanding hasil apabila ditemukan sampel positif DNA *F. gigantica*. Gel hasil elektroforesis direndam dalam *ethidium bromide* (konsentrasi 1 mg/ml) selama 10 – 15 menit. Kemudian gel dicuci dengan *aquadest* dan DNA divisualisasikan pada UV *trasilluminator* dan didokumentasikan dengan kamera digital.

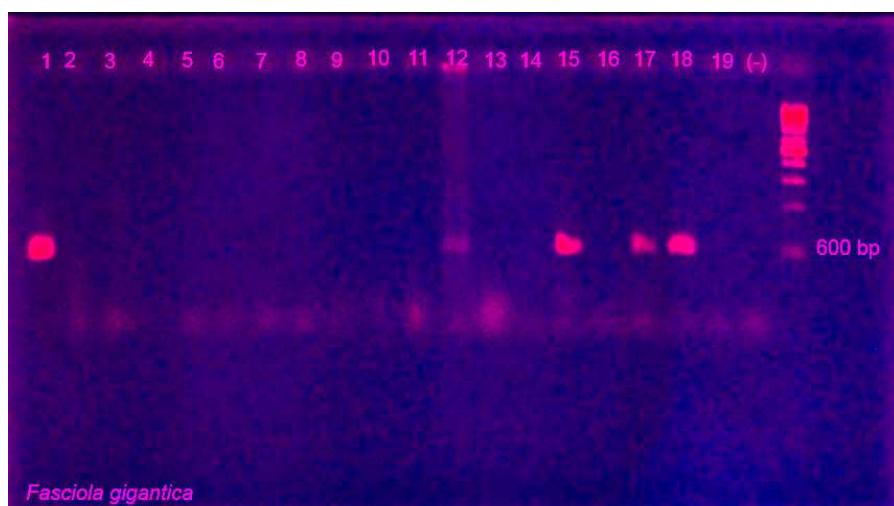
HASIL

Koleksi keong di kedua desa ditemukan enam genus keong yaitu *Bellamya*, *Pomacea*, *Lymnaea*, *Gyraulus*, *Indoplanorbis* dan *Melanoides*. Koleksi serkaria dari keong yang ditemukan dengan metode *crushing* didapatkan tiga genus keong yang positif mengandung serkaria/redia yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan di kedua desa terdapat tiga genus keong yang positif mengandung serkaria/redia yaitu *Lymnaea*, *Indoplanorbis* dan *Bellamya* sedangkan pada keong genus lainnya yaitu *Pomacea*, *Gyraulus* dan *Melanoides* tidak ditemukan serkaria. Berdasarkan morfologi melalui pengamatan mikroskopis ada tiga jenis serkaria yang ditemukan dari tubuh keong yaitu *Echinostome cercariae*, *Brevifurcate-pharyngeate cercariae* dan *Sulcatomicercous cercariae*.

Hasil uji PCR dengan primer untuk mendeteksi DNA *F. gigantica* menunjukkan dari sejumlah 18 sampel DNA serkaria/redia ditemukan lima sampel yang positif seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1.

Sampel positif *F. gigantica* adalah pada sampel nomor 1, 12, 15, 17, dan 18 dengan ukuran panjang DNA sekitar 600 bp.



Gambar 1. Visualisasi gel elektroforesis hasil PCR sampel serkaria dengan primer 3S -FgMR1 (*Fasciola gigantica*). Sampel : no. 1-18; hasil PCR DNA cacing *Fasciolopsis buski* dewasa: no. 19; Kontrol negatif : Aquades (-)

Tabel 1. Keong positif mengandung serkaria/redia di Desa Sungai Papuyu dan Desa Kalumpang Dalam Kabupaten Hulu Sungai Utara Tahun 2014

Keong Hospes	Kode Sampel	Nomor sampel PCR	Lokasi sampling	Jenis serkaria yang ditemukan
<i>Lymnaea</i>	SP160l	1	Sungai Papuyu	<i>Echinostome cercariae</i>
	SP164l	2	Sungai Papuyu	Redia & <i>Echinostome cercariae</i>
	SP165l	3	Sungai Papuyu	<i>Echinostome cercariae</i>
	SP166l	4	Sungai Papuyu	Redia
	SP167l	5	Sungai Papuyu	<i>Echinostome cercariae</i>
	SP172l	7	Sungai Papuyu	Redia + <i>Brevifurcate-pharyngeate cercariae</i>
	SP173l	8	Sungai Papuyu	Redia
	SP174l	9	Sungai Papuyu	Redia
	SP175l	10	Sungai Papuyu	Redia
	KD189l	11	Kalumpang Dalam	<i>Echinostome cercariae & Brevifurcate-pharyngeate cercariae</i>
	KD192l	13	Kalumpang Dalam	Redia
<i>Indoplanorbis</i>	KD196l	17	Kalumpang Dalam	<i>Echinostome cercariae</i>
	SP172i	6	Sungai Papuyu	<i>Echinostome cercariae</i>
	KD190i	12	Kalumpang Dalam	<i>Echinostome cercariae</i>
	KD192i	14	Kalumpang Dalam	Redia
	KD194i	15	Kalumpang Dalam	<i>Echinostome cercariae</i>
<i>Bellamya</i>	KD196i	18	Kalumpang Dalam	<i>Echinostome cercariae</i>
	KD196b	16	Kalumpang Dalam	<i>Sulcatomicrocerous cercariae</i>

PEMBAHASAN

Ciri morfologi dari serkaria yang paling mudah diamati adalah bentuk ekornya. Hal ini dapat dijadikan sebagai acuan untuk identifikasi awal jenis serkaria. Penelitian ini menemukan tiga jenis serkaria yang menginfeksi keong. Serkaria ekor tunggal ditemukan pada keong *Lymnaea* dan *Indoplanorbis*. Serkaria tersebut diidentifikasi sebagai *Echinostome cercariae*, dengan ciri khas morfologi yaitu adanya *spiny collar* pada bagian anteriornya. Tubuh serkaria ini umumnya berbentuk oval memanjang dengan ukuran $97 \pm 6 \mu\text{m}$ dengan sebuah ekor berukuran $122 \pm 6 \mu\text{m}$. *Ventral sucker* terletak di bagian tengah tubuh, sedangkan *oral sucker* terletak sekitar $64 \pm 6 \mu\text{m}$ dari *ventral sucker* (Jayawardena *et al.*, 2011). Serkaria ekor bercabang ditemukan pada keong *Lymnaea*. Serkaria tersebut diidentifikasi merupakan *Brevifurcate-pharyngeate cercariae* dengan ciri khas morfologi yaitu adanya *dorso-median finfold*. Bentuk tubuh elips memanjang ($396 \pm 14 \mu\text{m}$) dengan ujung ekor bercabang dan meruncing (Jayawardena *et al.*, 2011). Serkaria tanpa ekor yang merupakan jenis *Sulcatomicrocerous cercariae* ditemukan pada keong *Bellamya*.

Visualisasi gel elektroforesis hasil PCR sampel serkaria pada Gambar 1 menunjukkan sampel yang

positif terdapat DNA *F. gigantica* ada pada nomor 1, 12, 15, 17 dan 18, dengan ukuran panjang DNA sekitar 600 bp. Panjang DNA *F. gigantica* tidak bisa dibandingkan dengan ukuran panjang *F. buski* karena sampel nomor 19 yang merupakan DNA cacing dewasa *F. buski* hasil positif tidak muncul. Tabel 1, sampel dengan nomor 1, 12, 15, 17 dan 18 merupakan sampel *Echinostome cercariae* yang ditemukan pada keong *Lymnaea* dan *Indoplanorbis*. Hasil konfirmasi dengan uji PCR menunjukkan keberadaan serkaria cacing *F. gigantica* pada keong yang hidup di sekitar pemukiman penduduk.

Salah satu temuan dari penelitian ini yang telah dipublikasikan sebelumnya menyebutkan bahwa uji PCR dengan *pooling* sampel serkaria yang sama juga mendeteksi DNA cacing *Fasciolopsis buski* pada sampel no. 1, 3, 5, 11, 12, 15 dan 17 (Hairani *et al.*, 2016; Hairani, 2014). Jika dibandingkan dengan hasil PCR positif *F. gigantica* (sampel no. 1, 12, 15, 17 dan 18) maka terindikasi ada beberapa *pooling* sampel yang mengandung dua jenis cacing yang berbeda, namun mempunyai tipe serkaria yang sama yaitu *Echinostome cercariae*. Dalam klasifikasi taksonomi, *F. gigantica* dan *Fasciolopsis buski* termasuk dalam famili *Fasciolidae*, (NODC Taxonomic Code database, 1996a;

NODC Taxonomic Code database, 1996b) sehingga kemungkinan memiliki bentuk serkaria yang sama.

Telah diketahui bahwa satu-satunya hospes perantara *F. gigantica* di Indonesia adalah keong dari famili *Lymnaeidae* yaitu jenis *Lymnaea rubiginosa* (Suhardono et.al, 2000). Penelitian ini menunjukkan hasil yang berbeda dengan ditemukannya serkaria *F. gigantica* pada keong *Lymnaea* dan *Indoplanorbis*. Kemungkinan serkaria dari cacing trematoda tidak memiliki spesifitas terhadap jenis keong tertentu sebagai tempat perkembangannya sehingga cacing *Fasciola* dapat beralih menginfeksi jenis keong tertentu pada saat populasi keong tersebut melimpah di suatu wilayah (Grabner et al., 2014). Penelitian yang dilakukan di negara lain menemukan serkaria cacing ini pada keong *Radix natalensis*, *Galba truncatula* dan *Pseudosuccinea columella*(Grabner et.al., 2014). Kasus pertama transmisi cacing *Fasciola* pada siput yang tidak termasuk famili *Lymnaeidae* (*Biomphalaria alexandrina* dari famili *Planorbidae*) dilaporkan terjadi di Mesir (Mas-Coma et al., 1999).

Secara umum kondisi alami lingkungan rawa di Desa Sungai Papuyu dan Desa Kalumpang Dalam tidak jauh berbeda. Pada kedua desa tersebut terdapat sungai yang mengalir, jenis tanaman air yang ditemukan pada kedua desa tersebut umumnya memiliki kesamaan antara lain: enceng gondok, teratai dan kangkung air (Annida, 2013). Kebanyakan keong hasil sampling ditemukan menempel pada tanaman air. Hal ini memperkuat dugaan keterkaitan keong sebagai hospes perantara pertama cacing trematoda dengan tanaman air yang ada di dekatnya sebagai hospes perantara kedua (Annida, 2013). Serkaria yang berkembang di tubuh keong akan keluar dan segera berenang mencari tanaman air yang ada di sekitarnya sebagai tempat perkembangan berikutnya menjadi bentuk infektif (metaserkaria).(Lv et al., 2013)

Fasciolosis dapat terjadi pada hewan maupun manusia. Berdasarkan penelitian ini keong yang terinfeksi serkaria telah ditemukan di Desa Sungai Papuyu dan Kalumpang Dalam, namun hewan ternak yang dapat berperan sebagai reservoir seperti kerbau rawa, sapi maupun hewan ruminansia lainnya tidak ditemukan di desa tersebut. Penelitian di Corsica telah menemukan infeksi cacing *Fasciola* pada tikus hitam (*Rattus rattus*), sehingga dapat disimpulkan bahwa selain kerbau rawa, hewan penggerat (tikus) juga dapat berperan sebagai reservoir (Mas-Coma et al., 1999). Keterbatasan penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan parasitologi untuk untuk menemukan telur cacing *F. gigantica* pada feses hewan yang hidup di lokasi penelitian. Penduduk kedua desa kebanyakan memiliki

sumber penghasilan sampingan berupa usaha ternak unggas (ayam dan itik), jenis hewan darat lain yang juga umum ditemukan di kedua desa tersebut adalah kucing dan tikus sehingga hewan-hewan tersebut perlu dicurigai juga dapat berperan sebagai reservoir.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Pada lingkungan pemukiman penduduk Desa Sungai Papuyu dan Desa Kalumpang Dalam ditemukan keberadaan cacing *Fasciola gigantica* dalam bentuk *Echinostome cercariae* dan yang berperan sebagai hospes perantara pertama adalah keong genus *Lymnaea* dan *Indoplanorbis*. Telah ditemukan dua jenis serkaria lain yang berpotensi berkembang menjadi agen parasit pada manusia maupun hewan yaitu *Brevifurcate-pharyngeate cercariae* dan *Sulcatomicrocercous cercariae*.

Saran

Saran kepada masyarakat di daerah pemukiman rawa agar mewaspadai peningkatan populasi keong *Indoplanorbis* dan *Lymnaea* karena keong tersebut diketahui merupakan hospes perantara pertama dari *F. gigantica*. Perlu dilakukan penelitian mengenai jenis tanaman air yang menjadi hospes perantara kedua disertai pemeriksaan sampel feses dari penduduk desa untuk mengetahui adanya infeksi *F. gigantica*.

KONTRIBUSI PENULIS

Kontribusi setiap penulis dalam artikel ini adalah BH bertanggung jawab dalam perumusan atau evolusi tujuan dan tujuan penelitian menyeluruh. SH dan P bertanggung jawab dalam pengembangan atau perancangan metodologi serta melakukan penelitian khususnya melakukan eksperimen, atau pengumpulan data.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Balai Litbang P2B2 Tanah Bumbu, Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Hulu Sungai Utara, Kepala dan staff Puskesmas Babirik, Kepala dan staff Laboratorium Biologi Molekuler FMIPA Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru, beserta rekan-rekan teknisi yang telah berpartisipasi dalam kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Annida, 2013. *Studi Komprehensif Epidemiologi Fasciolopsiasis dan Pemetaannya di Kabupaten Hulu Sungai Utara Provinsi Kalimantan Selatan Tahun 2012*, Tanah Bumbu.

- Annida;Paisal, 2014. Siput air tawar sebagai hospes perantara trematoda di Desa Kalumpang Dalam dan Sungai Papuyu , Kecamatan Babirik , Kabupaten Hulu Sungai Utara. *Jurnal Buski*, 5(2), pp.55–60.
- Anuracpreeda P, Chawengkirttikul R & Sobhon P, 2016. Immunodiagnosis of *Fasciola gigantica* Infection Using Monoclonal Antibody-Based Sandwich ELISA and Immunochromatographic Assay for Detection of Circulating Cathepsin L1 Protease. *Plos One*, 11(1), p.e0145650.
- Attwood SW & Upatham ES, 2013. A Population Growth Trend Analysis for *Neotricula aperta*, the Snail Intermediate Host of *Schistosoma mekongi*, after Construction of the Pak-Mun Dam. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7(11).
- Byers JE, McDowell WG, Dodd SR, Haynie RS, Pintor LM & Wilde SB, 2013. Climate and pH Predict the Potential Range of the Invasive Apple Snail (*Pomacea insularum*) in the Southeastern United States. *PLoS ONE*, 8(2).
- Chen JX, Chen MX, Ai L, Xu XN, Jiao JM, Zhu TJ, et al., 2013. An Outbreak of Human Fascioliasis *gigantica* in Southwest China. *PLoS ONE*, 8(8).
- Frandsen F & Christensen NO, 1984. An introductory guide to the identification of cercariae from African freshwater snails with special reference to cercariae of trematode species of medical and veterinary importance. *Acta tropica*, 41, pp.181–202.
- Freshwater Mollusk Conservation Society, 2004. *A Primer to Freshwater Gastropod Identification* S. A. C. and C. L. Kathryn E. Perez, ed., Alabama.
- Grabner DS, Mohamed FAMM, Nachev M, M??abed EMH, Sabry AHA & Sures B, 2014. Invasion biology meets parasitology: A case study of parasite spill-back with egyptian *Fasciola gigantica* in the invasive snail *Pseudosuccinea columella*. *PLoS ONE*, 9(2), pp.1–8.
- Hairani B, 2014. *Laporan Hasil Penelitian : Deteksi Fasciolopsis buski pada Hospes Perantara (Keong Air Tawar) di Kabupaten Hulu Sungai Utara Melalui Metode PCR*, Tanah Bumbu.
- Hairani B, Annida, Hidayat S & Fakhrizal D, 2016. Identifikasi Serkaria *Fasciolopsis buski* dengan PCR untuk Konfirmasi Hospes Perantara di Kabupaten Hulu Sungai Utara, Kalimantan Selatan, Indonesia . *Balaba*, 12(1), pp.7–14.
- Hanington PC, Forys MA & Loker ES, 2012. Asymmetrically diversified defense factor, FREP3, is a determinant of snail resistance to schistosome infection. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 6(3).
- Harrold MN & Guralnick R, 2010. *A Field Guide to the Freshwater Mollusks of Colorado*, 2nd ed.,
- Jayawardena U a, Rajakaruna RS & Amerasinghe PH, 2011. Cercariae of trematodes in freshwater snails in three climatic zones in Sri Lanka. *Ceylon Journal of Science*, 39(2), pp.95–108.
- Kulsantiwong J, Prasopdee S, Piratae S, Khampoosa P, Suwannatrat A, Duangprompo W, et al., 2013. Species-specific primers designed from RAPD products for *Bithynia funiculata*, the first intermediate host of liver fluke, *Opisthorchis viverrini*, in North Thailand. *J Parasitol*, 99(3), pp.433–7.
- Le TH, Van De N, Agatsuma T, Blair D, Vercruyse J, Dorny P, et al., 2007. Molecular confirmation that *Fasciola gigantica* can undertake aberrant migrations in human hosts. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(2), pp.648–650.
- Lv S, Tian LG, Liu Q, Qian MB, Fu Q, Steinmann P, et al., 2013. Water-related parasitic diseases in China. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10(5), pp.1977–2016.
- Mas-Coma S, Esteban JG & Bargues MD, 1999. Epidemiology of human fascioliasis: a review and proposed new classification. *Bull World Health Organ*, 77, pp.340–346.
- McDermott KS, Arsuffi TL, Brandt TM, Huston DC & Ostrand KG, 2014. Distribution and occurrence of the exotic digenetic trematode (*Centrocestus formosanus*), its exotic snail intermediate host (*Melanoides tuberculatus*), and rates of infection of fish in springs systems in western Texas. *The Southwestern Naturalist*, 59(2), pp.212–220.
- Natalia L, Suhardono & Priadi A, 2006. Kerbau Rawa Di Kalimantan Selatan : Permasalahan, Penyakit Dan Usaha Pengendalian. *Wartazoa*, 16(4), pp.206–215.
- NODC Taxonomic Code database, 1996a. *Fasciola gigantica* Taxonomic Serial No.: 56136. Available at: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=56136&print_version=PRT&source=to_print#null/%0A [Accessed January 17, 2017].
- NODC Taxonomic Code database, 1996b. *Fasciolopsis buski* Taxonomic Serial No.: 56131. Available at: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=56131&print_version=PRT&source=to_print#null/%0A [Accessed January 17, 2017].
- Opisa S, Odier MR, Jura WG, Karanja DM & Mwinzi PN, 2011. Malacological survey and geographical

- distribution of vector snails for schistosomiasis within informal settlements of Kisumu City, western Kenya. *Parasites & Vectors*, 4(1), p.226.
- Prasad PK, Goswami LM, Tandon V & Chatterjee A, 2011. PCR-based molecular characterization and insilico analysis of food-borne trematode parasites *Paragonimus westermani*, *Fasciolopsis buski* and *Fasciola gigantica* from Northeast India using ITS2 rDNA. *Bioinformation*, 6(2), pp.64–68.
- Southeast Asian Center for Medical Malacology, 2012. *A formal Course on Medical Malacology for South East Asian Countries*, Bangkok: Department of Social and Environmental Medicine, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University.
- Souza M a. a. & Melo AL, 2012. Caracterização de larvas de trematódeos emergentes de moluscos gastrópodes coletados em Mariana, Minas Gerais, Brasil. *Iheringia. Série Zoologia*, 102(1), pp.11–18.
- Suhardono;Kosasih, 2000. Infeksi baru fasciola gigantica sebagai alat Untukmenetapkan strategi pengendalian fasciolosis Melalui pemberian flukisida pada kerbau rawa Di provinsi kalimantan selatan. In *Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner*. Bogor: Balai Peneltian Veteriner Bogor, pp. 488–491.
- Suhardono, Estuningsih S., Widjajanti S, Natalia L & Kalianda JS, 1999. Fasciolosis pada kerbau yang dipelihara pada lahan rawa di provinsi kalimantan selatan. In *Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner*. Bogor: Balai Peneltian Veteriner Bogor, pp. 571–578.
- Suhardono et.al, 2000. Dinamika populasi siput *Lymnaea Rubiginosa* dan kejadian Fasciolosis pada kerbau rawa di Kecamatan Danau Panggang. In *Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner*. Bogor, pp. 492–497.
- Suon S, Hol D, Siek S, McLean M & Copeman B, 2006. Seasonal differences in the incidence of infection with *Fasciola gigantica* in cambodian cattle. *Tropical Animal Health and Production*, 38(1), pp.23–28.
- Yakhchali M, Malekzadeh-Viayeh R & Imani-Baran A, 2014. PCR-RFLP analysis of 28 SrDNA for specification of *Fasciola gigantica* (Cobbold, 1855) in the infected *Lymnaea auricularia* (Linnaeus, 1785) snails from Northwestern Iran. *Iranian Journal of Parasitology*, 9(3), pp.358–364.

