

KOMPETENSI VEKTORIAL *Anopheles maculatus*, Theobald di KECAMATAN KOKAP, KABUPATEN KULONPROGO

THE VECTORIAL COMPETENCE OF AN. MACULATES, THEOBALD IN KOKAP SUBDISTRICT, KULONPROGO

Umi Widyastuti¹, Damar Tri Boewono¹, Widiarti¹, Supargiyono², Tri Baskoro T. Satoto²

¹Balai Besar Litbang Vektor dan Reservoir Penyakit (B2P2VRP) Salatiga, Jl. Hasanudin No 123 Salatiga, Jawa Tengah, Indonesia

²Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

*Korespondensi penulis: umiwidyastuti@gmail.com

Submitted : 11-03-2013; Revised : 15-03-2013; Accepted : 06-05-2013

Abstrak

Malaria masih merupakan masalah kesehatan di Kabupaten Kulonprogo, khususnya di Kecamatan Kokap. Dalam dua tahun terakhir menunjukkan bahwa pada tahun 2009, 1 dari 5 desa di Kecamatan Kokap sebagai daerah malaria dengan statifikasi Insidensi Kasus Rendah (Low Case Incidence/LCI). Pada tahun 2010 meningkat menjadi 3 desa, peningkatan kasus malaria di Kecamatan Kokap berkaitan dengan keberadaan nyamuk *Anopheles* yang berpotensi sebagai vektor. Beberapa spesies seperti *An. maculatus*, *An. aconitus*, dan *An. balabacensis* diduga sebagai vektor malaria potensial di daerah ini. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kompetensi vektorial *An. maculatus* yang terdiri dari: kerentanan nyamuk *An. maculatus* terhadap *Plasmodium*, sifat antropofilik, angka paritas, dan kepadatan nyamuk. Kerentanan nyamuk terhadap *Plasmodium* diukur dengan deteksi antigen protein sporozoit (Circum Sporozoite Protein/CSP) dari *P. falciparum* atau *P. vivax* pada dada-kepala dari semua nyamuk parous. Karakteristik antropofilik diukur dengan mendeteksi darah manusia pada perut nyamuk dengan kondisi penuh darah dan setengah gravid. Kedua deteksi tersebut dilakukan dengan teknik ELISA. Penelitian dilakukan pada bulan Mei sampai Oktober 2011 di dua desa yaitu: Tegiri dan Gunungrego, Kecamatan Kokap. Nyamuk ditangkap dengan menggunakan metode sesuai dengan pedoman WHO. Penangkapan dilakukan pada malam hari (18.00-06.00) terhadap nyamuk yang hinggap pada manusia di dalam rumah, di luar rumah, nyamuk yang istirahat baik di dalam rumah (dinding) maupun luar rumah (sekitar kandang ternak) dan penangkapan pada pagi hari (06.00-08.00). Kepadatan *An. maculatus* dihitung dan paritas nyamuk ditentukan dengan pembedahan ovarium secara mikroskopis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *An. maculatus* di Gunungrego rentan terhadap *P. vivax* dengan angka sporozoit 3,57%. Namun, CSP antigen *P. vivax* tidak terdeteksi pada dada-kepala nyamuk *An. maculatus* dari Tegiri. Antigen CSP *P. falciparum* negatif pada dada-kepala nyamuk *An. maculatus* dari Gunungrego dan Tegiri. Proporsi *An. maculatus* yang mengisap darah manusia (Human Blood Index / HBI) adalah 40,00% di Tegiri dan 33,33% di Gunungrego. Angka paritas dan kepadatan *An. maculatus* lebih tinggi ditemukan di Tegiri daripada di Gunungrego.

Kata Kunci: malaria, ELISA sporozoit, analisis pakan darah.

Abstract

Malaria is still a health problem in Kulonprogo Regency, particularly in the Kokap Subdistrict. In the last two years indicate that in 2009, 1 out of 5 villages in Kokap Subdistrict were considered as malarious areas with Low Case Incidence (LCI). In the year of 2010, it increased to 3 villages. The increase of malaria cases in Kokap Subdistrict was related to the presence of Anopheline mosquitoes which serve as potential vector. Several species such as *Anopheles maculatus*, *An. aconitus*, and *An. balabacensis* are suspected as potential malaria vectors in this area. The objective of this study was to determine the vectorial competence of *An. maculatus* consisting of: the *An. maculatus* mosquitoes susceptibility to *Plasmodia*, its anthropophilic characteristics, the parity rate, and the mosquito density. The susceptibility of mosquito to *Plasmodia* was measured by detection of sporozoite protein antigen (Circum Sporozoite Protein/ CSP) of *P. falciparum* or *P. vivax* on the head-thorax of all parous mosquitoes. The anthropophilic characteristics were measured by detection of human blood on the abdomen of blood fed and half gravid mosquitoes. Both of these were done by

Enzyme Linked Immunosorbant Assay (ELISA) technique. The study was conducted from May until October 2011 in two villages i.e: Tegiri and Gunungrego, Kokap Subdistrict. The Anopheline mosquitoes were collected using the landing and resting mosquito collection technique both indoors and outdoors, at night (18.00-06.00) as well as in the morning (06.00-08.00) according to the WHO guideline. The density of *An. maculatus* was calculated and its parity was determined by microscopic ovary dissection. The result showed that *An. maculatus* in Gunungrego was susceptible to *P. vivax* with a sporozoite rate of 3.57 %. However, CSP antigen of *P. vivax* was not detected in the head-thorax of mosquitoes from Tegiri. CSP antigen of *P. falciparum* was negative in the head-thorax of mosquitoes both from Gunungrego and Tegiri villages. The proportion of *An. maculatus* fed on human (Human Blood Index / HBI) was 40,00 % in Tegiri and 33,33 % in Gunungrego. The parity rate of *An. maculatus* and its density was found higher in Tegiri than in Gunungrego.

Keywords: malaria, sporozoite ELISA, blood meal analysis.

Pendahuluan

Malaria sampai sekarang masih merupakan masalah kesehatan masyarakat yang dapat menyebabkan kematian terutama pada kelompok risiko tinggi yaitu bayi, anak balita, ibu hamil. Malaria secara langsung menyebabkan anemia dan menurunkan produktivitas kerja. Penyakit ini masih endemis di sebagian besar wilayah provinsi di Indonesia¹. Malaria merupakan masalah kesehatan masyarakat di Kabupaten Kulonprogo khususnya di Kecamatan Kokap. Situasi malaria di Kecamatan Kokap pada tahun 2009 terdapat 1 desa LCI (API < 1 per 1000 penduduk), dan 4 desa reseptif (API=0) atau desa tanpa kasus malaria tetapi terdapat habitat perkembangbiakan dan vektor yang sangat potensial dan tetap harus diwaspadai jika ada kasus import yang dapat menjadi sumber infeksi. Pada tahun 2010 meningkat menjadi 3 desa LCI dan 2 desa reseptif². Desa endemis malaria di Kecamatan Kokap berbatasan langsung dengan desa endemis malaria di wilayah Kabupaten Purworejo yaitu Kaligesing dan Banyuasin³. Kabupaten Purworejo pada tahun 2010 merupakan daerah endemis malaria peringkat ketiga di Jawa Tengah (API sebesar 0,428%⁴). Upaya penanggulangan malaria di perbatasan Kabupaten Kulonprogo-Purworejo-Magelang sudah banyak dilakukan akan tetapi kasus malaria masih ditemukan, dan upaya terus dilakukan untuk menghadapi eliminasi malaria tahun 2015 untuk Pulau Jawa, NAD dan Kepulauan Riau^{5,6}. *Anopheles maculatus* ditemukan sebagai spesies dominan di wilayah Kecamatan Kokap dan merupakan vektor malaria di berbagai daerah di Indonesia seperti Jawa Tengah dan Daerah Istimewa Yogyakarta⁷, akan tetapi belum dipastikan kompetensi vektorialnya di Kecamatan Kokap, Kabupaten Kulonprogo, khususnya di Tegiri dan Gunungrego, baik dengan cara konvensional (misalnya dengan pembedahan kelenjar ludah) ataupun dengan teknik ELISA untuk mendeteksi antigen

sporozoit *Plasmodium*. Tegiri dan Gunungrego merupakan dusun dengan kasus malaria dan kondisi lingkungan yang mirip. Kompetensi vektorial diartikan sebagai kemampuan spesies nyamuk *Anopheles* sebagai vektor yang efektif dan efisien^{8,9}. Kompetensi vektorial ditentukan oleh beberapa faktor antara lain yaitu: a). Kerentanan nyamuk *Anopheles* terhadap parasit, menunjukkan adanya kecocokan fisiologis antara nyamuk *Anopheles* dan *Plasmodium*. Angka sporozoit merupakan parameter untuk mengukur tingkat kerentanan nyamuk yang siap menularkan malaria, b). Sifat antropofilik, yaitu kesukaan nyamuk mengisap darah manusia, merupakan sifat mutlak nyamuk untuk dapat terinfeksi dan menularkan parasit antar manusia. Indeks darah manusia (HBI) umum digunakan sebagai petunjuk tingkatan kompetensi vektorial dari spesies nyamuk, c). Rentang umur nyamuk menentukan kelangsungan siklus seksual dan sporogonik parasit malaria pada nyamuk yang diinfeksi. Umur nyamuk ditentukan dari angka paritas dan lamanya siklus gonotropik, dan d). Kepadatan nyamuk relatif terhadap manusia menentukan jumlah atau frekuensi kontak antara nyamuk-parasit malaria-manusia. Pengetahuan tentang peran *Anopheles* sebagai vektor di suatu daerah sangat penting dalam pengendalian malaria, karena dapat menentukan cara pengendalian yang tepat. Spesies nyamuk dinyatakan sebagai vektor di suatu daerah apabila pernah ditemukan sporozoit di dalam kelenjar ludahnya¹⁰. Status kevektoran dan identifikasi inang yang menjadi sumber pakan darah bagi nyamuk *Anopheles* belum banyak dilaporkan di Indonesia. Apakah *An. maculatus* di Kecamatan Kokap, Kabupaten Kulonprogo berkompeten sebagai vektor malaria? Penelitian mengenai kompetensi vektorial nyamuk *An. maculatus* di Kecamatan Kokap diharapkan dapat menjadi informasi yang bermanfaat bagi pengelola program pengendalian vektor malaria Dinas Kesehatan Kabupaten Kulonprogo. Penelitian ini bertujuan untuk: 1).

Mendeteksi antigen protein *circum sporozoite* (CS) *P. falciparum* atau *P. vivax* pada nyamuk *An. maculatus* dari daerah endemis malaria Tegiri dan Gunungrego, Kecamatan Kokap dengan teknik *ELISA*, 2). Mengidentifikasi pakan darah manusia pada nyamuk *An. maculatus* dari daerah endemis malaria Tegiri dan Gunungrego, Kecamatan Kokap, dengan teknik *ELISA*, 3). Menentukan angka paritas nyamuk *An. maculatus* dari Tegiri dan Gunungrego Kecamatan Kokap, dan 4). Menghitung kepadatan nyamuk *An. maculatus* dari Tegiri dan Gunungrego, Kecamatan Kokap.

Bahan dan Cara

Daerah Penelitian:

Gunungrego (Desa Hargorejo) dan Tegiri (Desa Hargowilis), Kecamatan Kokap dipilih berdasarkan kriteria kemiripan lingkungan yaitu ekosistem hutan sekunder, topografi daerah berbukit-bukit, habitat perkembangbiakan berupa kobakan batu di sepanjang sungai, sumber air, perigi (jernih), ketinggian antara 135-200 meter dpl, dan merupakan daerah endemis malaria².

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan rancangan *cross sectional*. Variabel bebas adalah populasi *An. maculatus* betina di daerah penelitian. Variabel tergantung, yaitu kompetensi vektorial. Variabel pengganggu, meliputi curah hujan, suhu, kelembaban, ratio jumlah ternak dan jumlah penduduk, jarak antara pemukiman dan habitat perkembangbiakan nyamuk. Populasi pada penelitian ini adalah nyamuk *An. maculatus* yang memenuhi kriteria ditangkap di daerah endemis (lokasi penelitian). Sampel untuk penelitian ini adalah *An. maculatus* betina.

Cara Pengumpulan Sampel:

Nyamuk *An. maculatus* diperoleh dengan melakukan penangkapan di luar dan dalam rumah penduduk pada malam (18.00-06.00) dan pagi hari (06.00-08.00) sesuai dengan standar WHO (2003)¹¹ yaitu metode hinggap pada manusia di dalam rumah (HMD), hinggap pada manusia di luar rumah (HML) masing-masing selama 40 menit, penangkapan nyamuk yang istirahat di dalam rumah (IDR), dan istirahat di luar rumah/sekitar kandang ternak (ISKD) masing-masing selama 10 menit. Penangkap nyamuk berjumlah 6 orang. Dua rumah digunakan sebagai pos penangkapan. Dua orang menangkap di dalam rumah berbeda yang sudah ditentukan, kemudian menangkap di dinding dan 2

orang menangkap di luar rumah, selanjutnya menangkap di sekitar kandang. Dua orang penangkap yang lain diatur sedemikian rupa sehingga siap menggantikan posisi agar masing-masing penangkap mempunyai waktu istirahat cukup yaitu sekitar 2 jam. Penangkapan nyamuk juga dilakukan pada pagi hari terhadap nyamuk yang istirahat di dalam rumah dan di luar rumah di habitat aslinya. Penangkapan dilakukan sebanyak 3 kali yaitu pada bulan Mei, Juli dan Oktober 2011. Nyamuk yang tertangkap dimasukkan kedalam *paper cup*. Nyamuk dimatikan dengan kloroform dan diidentifikasi spesiesnya menurut kunci identifikasi O'Connor dan Soepanto (1989)¹², selanjutnya dibedah kandung telurnya untuk mengetahui paritasnya, dimasukkan ke dalam tabung eppendorf bagian dada-kepala (*parous*) untuk pemeriksaan *Elisa* sporozoit, dan untuk pemeriksaan *Elisa* pakan darah, darah dari perut nyamuk dipencet pada kertas Whatman (41 circles 125 mm Ø) yang sudah dibagi menjadi 16 bagian masing-masing untuk 1 ekor nyamuk dan diberi label. Sampel disimpan dalam kondisi kering (*silica gel* sebagai bahan pengering), dibawa ke laboratorium Imunologi dan Biologi Molekuler B2P2VRP Salatiga untuk pemeriksaan *Elisa* secara individu. Spesies nyamuk yang tertangkap dari setiap metode penangkapan dihitung kepadatannya dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{MHD} = \frac{\text{Jumlah spesies nyamuk } Anopheles \text{ tertangkap}}{\text{Jumlah jam penangkapan} \times \text{jumlah penangkap}}$$

Keterangan:

MHD = *Man Hour Density* (kepadatan nyamuk/orang/jam)

Untuk kelengkapan data vektor khususnya perilaku berkembangbiak, dilakukan penangkapan jentik nyamuk vektor di habitat sekitar lokasi penangkapan. Jentik yang terkumpul selanjutnya dipelihara di laboratorium sampai menjadi nyamuk dan dapat diidentifikasi spesiesnya.

Pemeriksaan sampel di laboratorium:

Pemeriksaan sampel di laboratorium meliputi:

- a. Inkriminasi vektor malaria dengan teknik *ELISA* untuk mendeteksi adanya sporozoit pada *An. maculatus* yang memegang peranan sebagai *agent* malaria, menggunakan metode Wirtz, 2009¹³. Prinsip pemeriksaan: homogenat nyamuk dimasukkan ke dalam sumuran yang sudah di *coating* dengan antibodi monoklonal

untuk masing-masing spesies *Plasmodium*, demikian pula untuk sumuran kontrol positif dan negatif. Kontrol positif adalah *Circum Sporozoite Protein* rekombinan murni dari *P. falciparum* (Pf-PC) atau *P. vivax* (Pv210-PC) yang diproduksi oleh Kirkegaard & Perry Laboratories Inc, USA (KPL). Kontrol negatif adalah *An. maculatus* dari laboratorium yang tidak terinfeksi oleh sporozoit. Inkubasi selama 2 jam dan sumuran dicuci 2 kali dengan PBS/Tween 20, selanjutnya ditambahkan konjugat (*Peroxidase-conjugated Mab P.f* atau *Peroxidase-conjugated Mab P.v-210*). Inkubasi 1 jam dan sumuran dicuci 3 kali dengan PBS/Tween 20. Larutan substrat (campuran ABTS dan H₂O₂) dimasukkan ke dalam sumuran, ditutup, diamati hasilnya setelah 30 menit. Hasil positif secara visual akan terlihat menunjukkan warna hijau dan secara kuantitatif dapat dibaca dengan *ELISA reader* pada panjang gelombang 405 nm untuk mengetahui nilai absorben (*Absorbance value /AV*). Intensitas warna sebanding dengan kadar antigen CS yang terdapat dalam sampel. Sampel dinyatakan positif apabila AV menunjukkan ≥ 2 kali rata-rata kontrol negatif. Angka sporozoit (%) dihitung berdasarkan jumlah nyamuk positif circum sporozoit dibagi dengan jumlah nyamuk yang diperiksa.

- b. Identifikasi pakan darah pada *An. maculatus* dengan teknik *Elisa* untuk mengetahui seberapa besar nyamuk menghisap darah manusia, menggunakan metode Small, 1998¹⁴. Prinsip pemeriksaan: kertas filter yang berisi apus darah dari perut nyamuk dimasukkan dalam 1 ml PBS, minimal 1 jam sebelum diuji atau dapat disimpan dalam keadaan beku untuk pengujian lebih lanjut. 100 µl homogenat dimasukkan ke dalam sumuran yang sudah dicoating dengan anti IgG manusia dan di blok dengan Blocking Buffer. Dengan cara yang sama dikerjakan pula untuk kontrol positif dan negatif. Untuk kontrol positif digunakan IgG manusia. Kontrol negatif menggunakan *An. maculatus* hasil koloni laboratorium yang belum mengisap darah (baru muncul dari pupa. Mikroplat ditutup dan diinkubasikan pada suhu kamar selama 2 jam. Dicuci dengan PBS/Tween 20 dua kali. Tambahkan konjugat peroksidase anti human IgG ke sumuran, inkubasi 1 jam. Dicuci dengan PBS/Tween 20 tiga kali. Tambahkan larutan substrat ABTS (campuran ABTS dan H₂O₂ dengan perbandingan 1:1. Plat ditutup dan

ditempatkan di ruang gelap selama 20 menit. Tambahkan 1 tetes 2,5 N HCl untuk menghentikan reaksi. Kontrol positif menunjukkan warna hijau, kontrol negatif tidak berwarna. Penilaian hasil dilakukan secara kuantitatif dengan membaca nilai *absorbance* (AV) pada *Elisa reader* pada panjang gelombang 405 nm setelah 20 menit. Masing-masing darah yang diuji memberikan 1 hasil positif untuk inang yang menjadi sumber pakan darahnya (manusia atau binatang) dan hasil negatif tidak menunjukkan reaksi silang antara manusia dan binatang. *Human Blood Index* (%) dihitung dari jumlah nyamuk yang positif mengisap darah manusia dibagi dengan jumlah nyamuk yang diperiksa.

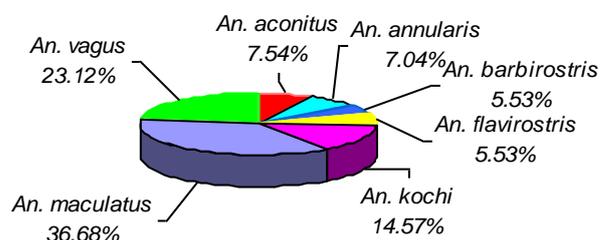
Analisis data

Data dianalisis dengan regresi untuk mengetahui hubungan antar berbagai variabel, yaitu antara angka paritas dan kepadatan dengan angka sporozoit, angka paritas dan *HBI*. Untuk membandingkan hasil penelitian di daerah Tegiri dan Gunungrego dilakukan uji t.

Hasil

1. Fauna nyamuk *Anopheles* di Tegiri dan Gunungrego

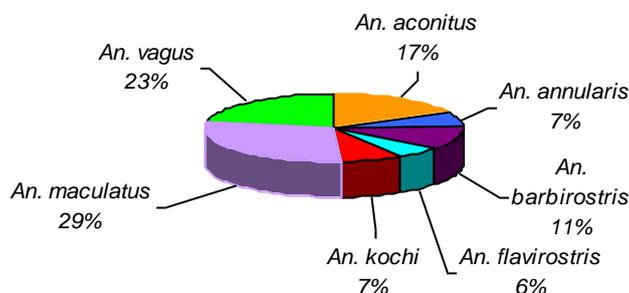
Nyamuk *Anopheles* yang tertangkap di Tegiri, sebanyak 199 ekor, terdiri dari 7 spesies yaitu: *An. aconitus*, *An. annularis*, *An. barbirostris*, *An. flavirostris*, *An. kochi*, *An. maculatus*, dan *An. vagus*. Proporsi setiap spesies nyamuk yang tertangkap di Tegiri, secara visual disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Proporsi Nyamuk *Anopheles* yang Tertangkap di Tegiri

di Gunungrego, sebanyak 201 ekor, terdiri dari 7 spesies yaitu: *An. aconitus*, *An. annularis*, *An.*

barbirostris, *An. flavirostris*, *An. kochi*, *An. maculatus*, dan *An. vagus*. Proporsi setiap spesies nyamuk yang tertangkap di Gunungrego, secara visual disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Proporsi nyamuk *Anopheles* yang Tertangkap di Gunungrego

2. Kompetensi vektorial *An. maculatus* di Kecamatan Kokap

2.1. Kerentanan nyamuk *An. maculatus* terhadap *Plasmodium* dan kesukaan menghisap darah manusia

Hasil pemeriksaan sporozoit *Plasmodium* pada nyamuk *An. maculatus* dari Tegiri dan Gunungrego, disajikan pada Tabel 1. Pada Tabel 1 terlihat bahwa sebanyak 42 nyamuk *An. maculatus* (diambil bagian dada-kepala) dari Gunungrego, 1 nyamuk positif mengandung *P. vivax* dengan angka sporozoit sebesar 3,57% dan tidak mengandung *P. falciparum*. Analisis regresi menunjukkan bahwa angka paritas dan kepadatan *An. maculatus* tidak ada hubungan dengan angka sporozoit ($R^2 = 0,030$ dan $P > 0,05$). Meningkatnya angka paritas dan kepadatan tidak diikuti oleh meningkatnya angka sporozoit.

Pemeriksaan pakan darah dilakukan terhadap nyamuk *An. maculatus* yang tertangkap istirahat

pada pagi hari di habitat aslinya di luar rumah seperti di semak-semak dan lubang batu/tanah yang lembab. Pada Tabel 1 terlihat bahwa di Tegiri diperoleh 5 apusan darah dari perut nyamuk *An. maculatus*, 2 positif mengisap darah manusia dengan *HBI* sebesar 40%. Dari Gunungrego diperoleh 6 apusan darah *An. maculatus*, 2 positif mengisap darah manusia dengan *HBI* sebesar 33,33%. Proporsi nyamuk *An. maculatus* yang mengisap darah manusia (*HBI*) di Gunungrego dan Tegiri sekitar 33,33 dan 40,00% menunjukkan bahwa *An. maculatus* lebih zoofilik daripada antropofilik. Analisis regresi menunjukkan tidak ada hubungan antara angka paritas dan *HBI* di Tegiri ($R^2 = 0,569$; $P > 0,05$) dan Gunungrego ($R^2 = 0,410$; $P > 0,05$).

2.2. Paritas nyamuk *An. maculatus*

An. maculatus yang ditangkap hinggap pada manusia di luar rumah (HML) menunjukkan angka paritas lebih tinggi dibanding dengan HMD (Tabel 2). Rata-rata angka paritas nyamuk tersebut di Tegiri lebih tinggi secara bermakna dibanding dengan di Gunungrego ($P < 0,05$), sedangkan rata-rata angka paritas *An. maculatus* yang istirahat di sekitar kandang ternak di Tegiri lebih tinggi daripada di Gunungrego tetapi tidak bermakna ($P > 0,05$).

Rata-rata ovarium parous *An. maculatus* sebesar 20% dari hasil penangkapan di vegetasi/semak-semak di luar rumah di Tegiri (Tabel 3). Hasil pembedahan ovarium nyamuk *An. maculatus* yang tertangkap istirahat pada pagi hari di Gunungrego, menunjukkan bahwa rata-rata ovarium parous *An. maculatus* sebesar 11,11% masing-masing ditemukan di vegetasi dan 11,11% di dalam rumah. Rata-rata angka paritas *An. maculatus* yang tertangkap pagi hari di vegetasi di Tegiri lebih tinggi secara bermakna dibanding di Gunungrego ($P < 0,05$).

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Elisa Circum Sporozoit Plasmodium dan Spesimen Darah Pada *An. maculatus*

| Lokasi | Jumlah sampel | Circum Sporozoit positif | | Angka sporozoit (%) | Jumlah spesi men darah | Sampel positif menghisap darah manusia | HBI (%) |
|-------------|---------------|--------------------------|----------------|---------------------|------------------------|--|---------|
| | | <i>P. fa ciparum</i> | <i>P.vivax</i> | | | | |
| Tegiri | 42 | 0 | 0 | 0 | 5 | 2 | 40,00 |
| Gunung rego | 28 | 0 | 1* | 3,57 | 6 | 2 | 33,33 |

*= Circum sporozoit positif untuk *P. vivax* ditemukan pada *An. maculatus* dari penangkapan istirahat di sekitar kandang ternak pada jam 21.00-22.00

Tabel 2. Angka Paritas *An. maculatus* yang Tertangkap Malam Hari di Tegiri dan Gunungrego

| Lokasi | Bulan | Jumlah nyamuk parous/jumlah nyamuk diperiksa | | | | | | | |
|------------|-------|--|-------|-----|--------|-----|-------|-------|-------|
| | | HMD | % | HML | % | IDR | % | ISKD | % |
| Tegiri | Mei | 0/2 | 0 | 3/5 | 60,00 | 1/2 | 50,00 | 18/30 | 60,00 |
| | Juli | 0 | 0 | 1/1 | 100,00 | 0/1 | 0 | 9/14 | 64,28 |
| | Okt | 0 | 0 | 1/1 | 100,00 | 0 | 0 | 6/10 | 60,00 |
| | Juml | 0/2 | 0 | 5/7 | 71,43 | 1/3 | 33,33 | 33/54 | 61,11 |
| | Rata2 | | 0 | | 23,81 | | 11,11 | | 20,37 |
| | | | | | | | | | |
| Gunungrego | Mei | 1/2 | 50,00 | 1/2 | 50,00 | 0/1 | 0 | 10/19 | 52,63 |
| | Juli | 0 | 0 | 0/1 | 0 | 0 | 0 | 5/9 | 55,56 |
| | Okt | 0/1 | 0 | 1/2 | 50,00 | 0 | 0 | 7/11 | 63,64 |
| | Juml | 1/3 | 33,33 | 2/5 | 40,00 | 0/1 | 0 | 22/39 | 56,41 |
| | Rata2 | | 11,11 | | 13,33 | | 0 | | 18,80 |
| | | | | | | | | | |

Keterangan: Angka paritas diperoleh dari jumlah nyamuk parous dibagi dengan jumlah nyamuk diperiksa ovariumnya

Tabel 3. Angka paritas *An. maculatus* yang Tertangkap Pagi Hari di Tegiri dan Gunungrego

| Lokasi | Bulan | Jumlah nyamuk parous/jumlah nyamuk diperiksa | | | |
|------------|-------|--|-------|------|--------|
| | | IDR | % | ISHA | % |
| Tegiri | Mei | 0/2 | 0 | 2/3 | 66,67 |
| | Juli | 0/0 | 0 | 0/1 | 0 |
| | Okt | 0/0 | 0 | 1/1 | 100,00 |
| | Juml | 0/2 | 0 | 3/5 | 60,00 |
| | Rata2 | | 0 | | 20,00 |
| | | | | | |
| Gunungrego | Mei | 1/2 | 50,00 | 1/3 | 33,33 |
| | Juli | 0/1 | 0 | 0/1 | 0 |
| | Okt | 0/0 | 0 | 1/2 | 50,00 |
| | Juml | 1/3 | 33,33 | 2/6 | 33,33 |
| | Rata2 | | 11,11 | | 11,11 |
| | | | | | |

2.3. Kepadatan nyamuk *An. maculatus*

Penangkapan nyamuk di Tegiri pada malam hari (Tabel 4) menunjukkan bahwa rata-rata kepadatan *An. maculatus* yang tertangkap HMD sebesar 0,04 per orang/jam dan HML sebesar 0,14 per orang/jam, sedangkan yang tertangkap IDR sebesar 0,25 per orang/jam dan ISKD sebesar 4,50 per orang/jam. Hasil penangkapan nyamuk *An. maculatus* di Gunungrego pada malam hari menunjukkan bahwa rata-rata kepadatan *An. macula-*

tus yang tertangkap HMD sebesar 0,06 per orang/jam dan HML sebesar 0,10 per orang/jam, sedangkan yang tertangkap IDR sebesar 0,08 per orang/jam dan di ISKD sebesar 3,25 per orang/jam (Tabel 4). Kepadatan *An. maculatus* yang tertangkap pada malam hari di Tegiri lebih tinggi dibanding dengan Gunungrego akan tetapi secara statistik perbedaan tersebut tidak bermakna ($P>0,05$).

Tabel 4. Kepadatan *An. maculatus* yang Tertangkap Malam Hari di Tegiri dan Gunungrego

| Lokasi | Bulan | Metode penangkapan | | | | | | | |
|------------|-------|--------------------|------|--------|------|--------|------|--------|-------|
| | | HMD | | HML | | IDR | | ISKD | |
| | | Jumlah | MHD | Jumlah | MHD | Jumlah | MHD | Jumlah | MHD |
| Tegiri | Mei | 2 | 0,12 | 5 | 0,30 | 2 | 0,50 | 30 | 7,50 |
| | Juli | 0 | 0,00 | 1 | 0,06 | 1 | 0,25 | 14 | 3,50 |
| | Okt | 0 | 0,00 | 1 | 0,06 | 0 | 0,00 | 10 | 2,50 |
| | Juml | 2 | 0,12 | 7 | 0,42 | 3 | 0,75 | 54 | 13,50 |
| | Rata2 | | 0,04 | | 0,14 | | 0,25 | | 4,50 |
| Gunungrego | Mei | 2 | 0,12 | 2 | 0,12 | 1 | 0,25 | 19 | 4,75 |
| | Juli | 0 | 0,00 | 1 | 0,06 | 0 | 0,00 | 9 | 2,25 |
| | Okt | 1 | 0,06 | 2 | 0,12 | 0 | 0,00 | 11 | 2,75 |
| | Juml | 3 | 0,18 | 5 | 0,30 | 1 | 0,25 | 39 | 9,75 |
| | Rata2 | | 0,06 | | 0,10 | | 0,08 | | 3,25 |

Keterangan: HMD = Hinggap pda manusia di dalam rumah, HML = Hinggap pda manusia di luar rumah, IDR = Istirahat di dalam rumah, ISKD = Istirahat sekitar kandang/tambatan ternak, MHD = Man hour Density (kepadatan nyamuk/orang/jam)

Tabel 5. Kepadatan Nyamuk *An. maculatus* yang Tertangkap Pagi Hari di Tegiri dan Gunungrego

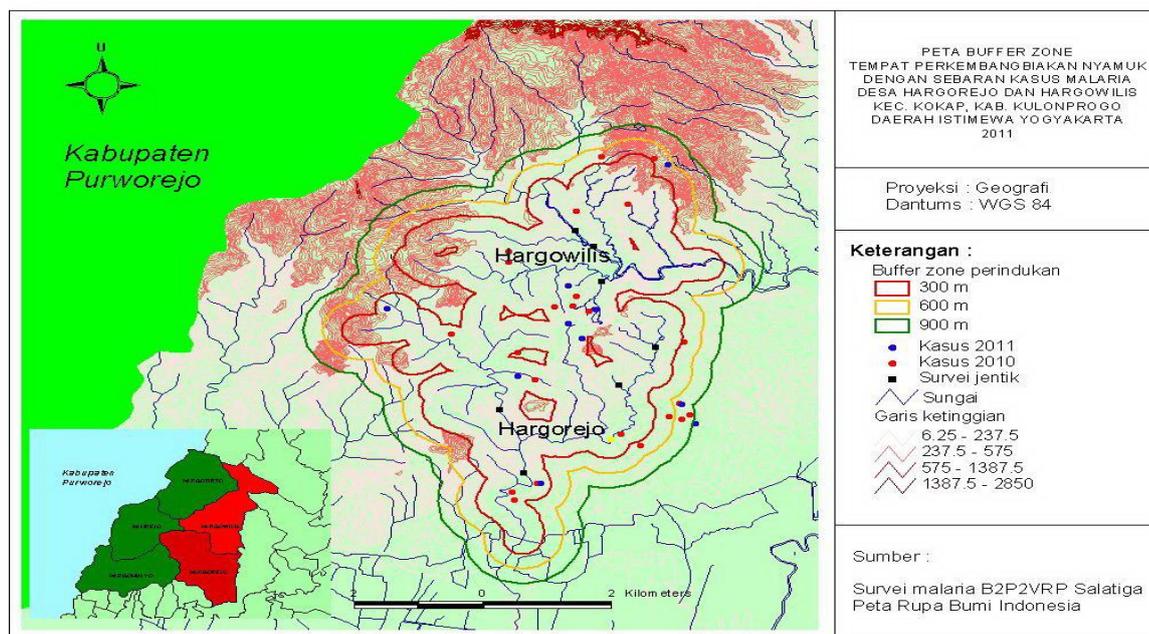
| Lokasi | Bulan | IDR | | ISHA | |
|------------|-------|--------|------|--------|------|
| | | Jumlah | MHD | Jumlah | MHD |
| Tegiri | Mei | 2 | 0,11 | 3 | 0,17 |
| | Juli | 0 | 0,00 | 1 | 0,05 |
| | Okt | 0 | 0,00 | 1 | 0,05 |
| | Juml | 2 | 0,11 | 5 | 0,38 |
| | Rata2 | | 0,04 | | 0,13 |
| Gunungrego | Mei | 2 | 0,11 | 2 | 0,11 |
| | Juli | 1 | 0,05 | 1 | 0,05 |
| | Okt | 0 | 0,00 | 2 | 0,11 |
| | Juml | 3 | 0,17 | 6 | 0,34 |
| | Rata2 | | 0,05 | | 0,11 |

Keterangan: IDR = Istirahat di dalam rumah, ISHA = Istirahat di habitat asli di luar rumah, MHD = Man hour Density (kepadatan nyamuk/orang/jam)

Penangkapan nyamuk di Tegiri pada pagi hari (Tabel 5) menunjukkan bahwa rata-rata kepadatan *An. maculatus* yang tertangkap IDR sebesar 0,04 per orang/jam dan di semak-semak/habitat diluar rumah (ISHA) sebesar 0,13 per orang/jam. Hasil penangkapan nyamuk di Gunungrego pada pagi hari menunjukkan bahwa rata-rata kepadatan *An. maculatus* yang tertangkap IDR sebesar 0,05 per orang/jam dan ISHA sebesar 0,11 per orang/jam. Secara statistik perbedaan rata-rata kepadatan *An. maculatus* yang tertangkap istirahat pada pagi hari di Tegiri dan Gunungrego tidak bermakna ($P>0,05$).

3. Sebaran kasus malaria di Tegiri, Hargowilis dan Gunungrego, Hargorejo, Kecamatan Kokap

Jumlah kasus malaria di Tegiri, Hargowilis dan Gunungrego, Hargorejo, Kecamatan Kokap sebanyak 23 kasus pada tahun 2010 dan 10 kasus pada tahun 2011. Sebaran kasus malaria di Hargowilis terlihat pada jarak antara 300-1000 meter dari habitat perkembangbiakan nyamuk, dan di Hargorejo kasus menyebar hingga lebih dari 1.500 meter dari habitat perkembangbiakan nyamuk (Gambar 3).



Gambar 3. Buffer Zone Sebaran Kasus Malaria dan Habitat Perkembangbiakan Nyamuk *Anopheles* di Tegiri, Hargowilis dan Gunungrego, Hargorejo, Kecamatan Kokap.

Pembahasan

Berdasarkan hasil penangkapan nyamuk *Anopheles spp* di Tegiri dan Gunungrego tampak bahwa *An. maculatus* lebih besar jumlahnya dibandingkan dengan spesies lain. *An. maculatus* tertangkap hingga pada manusia di dalam rumah pada malam hari ditemukan lebih sedikit dibandingkan dengan di luar rumah. *An. maculatus* tertangkap istirahat di dalam rumah pada malam hari juga lebih sedikit dibandingkan dengan yang tertangkap di sekitar kandang ternak (sapi dan kambing) di luar rumah. Hasil tersebut menggambarkan bahwa *An. maculatus* cenderung mencari makan atau menghisap darah di luar rumah (lebih bersifat zoofagik) daripada di dalam rumah (endofagik). Kepadatan *An. maculatus* per orang per jam lebih tinggi di luar rumah dibandingkan dengan di dalam rumah pada penangkapan malam hari. Pola aktivitas menghisap darah oleh *An. maculatus* di Tegiri dan Gunungrego berkisar antara jam 21.00 sampai dengan 03.00. Hal ini serupa dengan hasil penelitian Mardiana *et al* (2005), bahwa aktivitas menghisap darah *An. maculatus* lebih banyak di luar rumah dengan puncak kepadatan pukul 01.00-02.00, sedangkan di dalam rumah puncak kepadatan pukul 24.00-01.00¹⁵. Aktivitas menghisap darah *An. maculatus* terjadi pada saat masyarakat tidur lelap sehingga

diduga bahwa penularan malaria terjadi pada saat tersebut. Selain itu masyarakat di daerah malaria seperti di Kulonprogo mempunyai kebiasaan melakukan aktivitas pada pagi-pagi buta (sekitar jam 05.00) untuk mengambil air ataupun nira, Hal ini dapat meningkatkan frekuensi kontak antara manusia dan nyamuk vektor. Menurut Rozendaal (1997), untuk menghindari gigitan nyamuk agar tidak tertular malaria, upaya pencegahan dapat dilakukan baik pada tingkat masyarakat maupun personal. Perlindungan personal sangat dianjurkan untuk daerah-daerah endemis malaria, seperti pemakaian kelambu pada saat tidur ataupun menggunakan perlindungan yang lain pada saat melakukan aktivitas di luar rumah seperti repelen atau baju pelindung (*clothing*) karena *An. maculatus* ini lebih banyak menghisap darah di luar rumah. Selain itu dapat juga dilakukan pemasangan kasa di rumah-rumah sebagai *insect proofing* ataupun mencegah tempat perkembangbiakan nyamuk di sekitar rumah. Pencegahan pada level masyarakat dapat dilakukan penyemprotan dinding rumah, *space spraying* dan mencegah habitat perkembangbiakan nyamuk di lapangan.¹⁶

Hasil pemeriksaan paritas menunjukkan persentase nyamuk parous yang lebih tinggi, hal tersebut menggambarkan bahwa *An. maculatus*

yang tertangkap merupakan nyamuk yang sudah pernah bertelur dan kemungkinan rentang umurnya panjang. Rentang umur ini akan mempengaruhi penyelesaian masa inkubasi ekstrinsik parasit yaitu dari gametosit sampai sporozoit di kelenjar ludah, yang dipengaruhi pula oleh faktor lingkungan klimatologis, seperti suhu dan kelembaban relatif¹⁷. Semakin panjang umur nyamuk semakin besar pula kesempatan untuk menularkan malaria⁸.

Hasil pemeriksaan protein circum sporozoit dengan teknik *Elisa* menunjukkan bahwa *An. maculatus* di Gunungrego rentan terhadap *P. vivax*, akan tetapi negatif untuk *P. falciparum*, sedangkan di Tegiri *An. maculatus* menunjukkan hasil negatif baik untuk *P. falciparum* ataupun *P. vivax*. Reseptivitas atau kerentanan nyamuk terhadap parasit malaria dipengaruhi oleh faktor genetik. Nyamuk *Anopheles* yang rentan terhadap infeksi parasit malaria menunjukkan adanya kecocokan fisiologis antara nyamuk sebagai inang definitif dan *Plasmodium*⁸. Sporozoit *Plasmodium* dapat terdeteksi lebih kurang 10-12 hari setelah nyamuk mengisap darah orang yang terinfeksi¹⁸, akan tetapi juga dipengaruhi oleh suhu dan spesies *Plasmodium*¹⁹. Rendahnya angka sporozoit di Gunungrego dan tidak ditemukannya sporozoit di Tegiri bukan berarti penularan malaria tidak terjadi. Penularan malaria tetap ada selama penelitian berlangsung di kedua daerah penelitian. Bulan Mei sampai Oktober 2011 merupakan musim penularan malaria di kedua daerah penelitian². Adanya intervensi pengobatan terhadap penderita malaria di kedua daerah penelitian tersebut memungkinkan berakibat rendahnya produksi sporozoit pada nyamuk²⁰.

Hasil pemeriksaan pakan darah dengan teknik *Elisa* menunjukkan bahwa hanya sebagian kecil populasi *An. maculatus* yang menghisap darah manusia. *An. maculatus* lebih bersifat zoofilik daripada antropofilik sehingga disebut zooantropofilik. Kesukaan menghisap darah manusia atau binatang antara lain dipengaruhi oleh perilaku nyamuk. Sifat antropofilik merupakan hal yang mutlak bagi nyamuk untuk dapat menularkan parasit malaria antar manusia. *HBI* yang rendah ini menunjukkan bahwa *An. maculatus* ini kemungkinan tidak efektif berperan sebagai vektor⁸. *Anopheles maculatus* dikenal mempunyai tendensi menghisap darah binatang dan hanya sebagian populasinya menghisap darah manusia (zooantropofilik), hal ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh *Muenvorn et al.*, (2009) di Thailand²¹. Penelitian lain menunjukkan hasil yang berbeda antara lain

Rattanaarithikul et al., (1996) melaporkan bahwa *An. maculatus* mempunyai sifat antropofilik yang kuat²² dan *Loong et al.*, (1990) melaporkan bahwa di Post Betau, Pahang, Malaysia tidak ada perbedaan antara antropofilik dan zoofilik dari populasi *An. Maculatus*, bahkan individu *An. maculatus* yang sama dapat menghisap darah binatang dan manusia (*indiscriminate bitters*)²³. Melihat hasil penelitian berkaitan dengan perilaku atau sifat yang berbeda-beda ini dimungkinkan bahwa *An. maculatus* merupakan spesies kompleks¹⁷. Perilaku menghisap darah ini penting untuk diteliti karena situasi dan kondisi daerah yang berbeda-beda khususnya untuk mengetahui proporsi nyamuk yang menghisap darah manusia (*Human Blood Index*). Tinggi rendahnya *HBI* menentukan status kevektoran nyamuk sebagai vektor primer atau sekunder²⁴.

Penyebaran kasus malaria di Tegiri dan Gunungrego, berkisar antara 500 sampai lebih dari 1.500 m dari habitat perkembangbiakan. Hal tersebut menggambarkan bahwa rumah kasus atau penderita malaria tinggal tidak jauh dari habitat perkembangbiakan nyamuk atau masih dalam jangkauan jarak terbang aktif nyamuk. Kemungkinan lain mobilitas penduduk di Tegiri atau Gunungrego cukup jauh dari habitat perkembangbiakan nyamuk (lebih dari 1500 m) juga akan berpengaruh terhadap sebaran kasus malaria. Nyamuk *Anopheles* biasanya jarang ditemukan lebih dari 2-3 km dari habitat perkembangbiakannya. Jarak terbang nyamuk juga ditentukan oleh kondisi lingkungan. Apabila habitat perkembangbiakan dan inang berjarak dekat, nyamuk *Anopheles* betina tidak membutuhkan terbang terlalu jauh untuk mencari darah. Namun demikian dengan adanya bantuan angin, nyamuk *Anopheles* dapat terbang mencapai jarak 30 km atau lebih¹⁷. Pada bagian kepala nyamuk khususnya pada palpus maksilari dan antenna terdapat *chemosensitive neurosensila* yang dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan inang pada jarak tertentu. Sedangkan di pihak inang terdapat adanya faktor fisika dan kimia yang merupakan atraktan. Faktor fisika, misalnya kehangatan aliran konveksi uap air yang timbul dari tubuh inang menyebabkan nyamuk dapat mencapai permukaan tubuh inang walaupun dalam keadaan gelap. Faktor kimia berupa atraktan CO₂ ataupun bau badan khas inang. Antena merupakan reseptor dari bau badan inang dan palpus maksilari merupakan reseptor dari atraktan CO₂. Adanya atraktan dari inang tersebut merangsang nyamuk mampu terbang melawan arah angin untuk

mendekati inang. Kemampuan memantau inang sebagai korbannya dari jarak yang jauh ini merupakan faktor penting bagi nyamuk untuk mengembangkan kemampuannya sebagai vektor²⁵.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan:

Nyamuk *An. maculatus* di Kecamatan Kokap (Khususnya Gunungregu) dapat mendukung perkembangan parasit *P. vivax* dengan angka sporozoit sebesar 3,57%. *An. maculatus* di Kecamatan Kokap bersifat zoonotropofilik dengan *HBI* sebesar 40% di Tegiri dan 33,33% di Gunungregu. Rata-rata angka paritas *An. maculatus* yang mencerminkan umur nyamuk di Tegiri lebih tinggi dibandingkan dengan di Gunungregu baik dari hasil penangkapan pada malam hari ataupun pagi hari. Rata-rata kepadatan *An. maculatus* yang tertangkap pada malam hari dan pagi hari di Tegiri lebih tinggi dibandingkan dengan Gunungregu. Nyamuk *An. maculatus* di Kecamatan Kokap berkompeten sebagai vektor malaria.

Saran yang dapat diajukan dari penelitian ini adalah: perlu dilakukan penelitian bionomik nyamuk vektor selain *An. maculatus* yang ada di daerah Kabupaten Kulonprogo seperti *An. aconitus* dan *An. balabacensis*.

Ucapan Terima Kasih

Puji syukur kami panjatkan kehadiran Tuhan YME atas selesainya penelitian dan penyusunan naskah publikasi ini. Terima kasih yang sebesar-besarnya ditujukan kepada:

1. Kepala B2P2VRP yang telah memberi arahan dan bimbingan selama penelitian berlangsung, tim peneliti, pembantu administrasi dan pembantu peneliti di laboratorium Entomologi dan Biologi Molekuler yang telah membantu pelaksanaan penelitian di lapangan dan laboratorium.
2. Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Kulonprogo beserta staf P2 malaria dan Kepala Puskesmas Kokap yang telah membantu kelancaran pelaksanaan penelitian di lapangan.

Daftar Pustaka

1. Pusdatin dan Dit.P2B2. Epidemiologi malaria di Indonesia. Buletin jendela data dan Informasi

Kesehatan. Kementerian Kesehatan RI. Triwulan I, 2011.

2. Din.Kes. Kab. Kulonprogo. Potret penanggulangan malaria di Kulon Progo dari tahun ke tahun. 2010.
3. Dinkes Kab. Purworejo. Profil Kesehatan Kabupaten Purworejo. 2010
4. Dinkes Prov. Jateng. Profil Kesehatan Provinsi Jateng. 2010
5. Kemkes RI. Keputusan Menteri Kesehatan RI, Nomor: 293/MENKES/SK/IV/2009, Tanggal: 28 April 2009, Tentang: Eliminasi Malaria di Indonesia. 2009.
6. Kemendag RI. Surat Edaran Menteri Dalam Negeri RI, Kepada Gubernur dan Bupati/Walikota Seluruh Indonesia Nomor: 443.41/465/SJ, Tanggal : 8 Februari 2010, Tentang: Pedoman Pelaksanaan Eliminasi Malaria di Indonesia. 2010.
7. Barcus MJ, F. Laihad, M. Sururi, P. Sismadi, H. Marwoto, MJ. Bangs and JK. Baird. Epidemic malaria in the Menoreh Hills of Central Java. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2002. 287-292.
8. Bruce-Chwatt, L.J. Essential Malariology. ELBS/William Heinemann Med. Books Ltd. London. 1985.
9. Mardihusodo, SJ. Malaria: status kini dan pengendalian nyamuk vektornya untuk abad XXI. Pidato pengukuhan jabatan guru besar pada Fak. Kedokteran Univ. Gadjah Mada. 1999. 34 hal.
10. Reid, JA. Anopheline of mosquitoes of Malaya and Borneo. Studies from the Institute of Medical Research Malaysia. Government of Malaysia. 1968, No. 31.
11. WHO.. Malaria entomology and vector control. Leaner's guide. WHO HIV/ AIDS, Tuberculosis and Malaria, rollback malaria. Trial Ed. 2003. WHO/ CDS/ CPE/ SMT/ 2002. 18 Rev.1. Part 1.
12. O'Connor, CT and A. Soepanto. Kunci bergambar untuk *Anopheles* betina dari Indonesia. Dit. Jen P3M, Depkes RI, Jakarta. 1979.
13. Wirtz RA. Sporozoit Eliza directions. CDC and Prevention. Atlanta, GA. 2009.12 p.
14. Small G. Lecture: Recent edvances in molecular entomology. Mol. Ento. Workshop. Centre for Tropmed. UGM. 1998.
15. Mardiana. Fauna dan tempat perkembangbiakan potensial nyamuk *An. maculatus* di Kecamatan Mayong, Kab. Jepara, Jawa Tengah. Media Litbangkes. 2005. XV (2): 39-45.
16. Rozendaal, JA. Vector control. Method for use by individuals and communities. WHO Geneva.1997. 412 p.
17. Service, MW and H. Townson. *The Anopheles* vector. In Warrel D and HM. Gilles.2004. Essential malariology. 2004.

18. Burkot, TR, WG. Goodman, ang GR. De Foliart. Identification of mosquito bloodmeal by enzyme-linked immunosorbant assay. Am. J. Trop. and Hyg. 1984. 1336-1341.
19. Service, MW. Medical Entomology. 1996. Chapman & Hall, London.
20. Bangs, MJ. The sporozoite enzyme-linked immunosorbant assay: application in malaria epidemiology. Bull. Pen. Kes. 1989.17(2): 197-205.
21. Muenvorn, V, S. Sungvornyothin, M. Kongmee, S. Polsomboon, MJ. Bangs, P. Akrathanakul, S. Tanasinchayakul, A. Prabaripai, & T. Chareonviriyaphap. Biting activity and host preference of the malaria vectors *An. Maculatus* and *An. Sawadwongporni* (Diptera : Culicidae) in Thailand. J. Vector Ecol. 2009. 34: 62-69.
22. Ratanaritikul, R., E. Konishi & Kj. Linthicum. Observation on the nocturnal biting activity and host preference of Anophelines collected in southern Thailand. J. Am. Mosq. Contr. Assoc. 1996. 12:52-57.
23. Loong, KP, GL Chiang, KL Eng, ST Tan and HH Yap. 1990. Survival and feeding behaviour of Malaysian strain of *An. maculatus* Theobald (Diptera: Culicidae) and their role in malaria transmission. South East Asian J. Trop.Med. & Pub. Health.
24. Dharmawan R. Metoda identifikasi spesies kembar nyamuk *Anopheles*. Sebelas Maret Univ. Press. 1993.1-157.
25. Knols, BG. Odour mediated host seeking behaviour of the Afro-Tropical malaria vector *An. gambiae* , Gills. Van de Lan, Wageningen. 1996. 313 halm.