Studi Bioekologi Vektor Malaria di Daerah (Yang Mendapat Sertifikat) Eliminasi Malaria di Kabupaten Jembrana, Bengkalis dan Bulukumba

ECOLOGY OF MALARIA VECTORS IN CERTIFIED MALARIA ELIMINATION AREAS IN JEMBRANA, BENGKALIS AND BULUKUMBA DISTRICTS

Riyani Setiyaningsih^{1*}, Ary Oksari Yanti, Mega Tyas Prihatin, Arif Suryo Prasetyo, Sidiq Setyo Nugroho, Yusnita Mirna Anggraeni, Wiwik Trapsilowati, dan Triwibowo Ambar Garjito

¹Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit Salatiga

Jl. Hasanudin no. 123 Salatiga Indonesia

*Email : riyanisetia@gmail.com@email.com

Submitted : 05-08-2019, Revised : 14-10-2019, Revised : 12-11-2019, Accepted : 28-11-2019

Abstract

The target of malaria elimination in Indonesia is expected to be achieved in 2030. One of the activities to support malaria elimination is vector surveillance. Several districts in Indonesia have certificates of malaria, including Jembrana, Bali Province, Bulukumba, South Sulawesi Province, and Bengkalis, Riau Province. Analysis of the presence of malaria vectors and Plasmodium needs to be done for the potential occurrences of malaria transmission in eliminated malaria areas. Bio-ecology study of malaria vectors were conducted to determine receptivity status and others risk factors and the potential for malaria transmission based on ecosystems in Jembrana, Bulukumba and Bengkalis districts. As part of national research of disease vector and reservoir (Rikhus Vektora), mosquitoes and larval field-collection methods, molecular plasmodium detection and blood meal analyses were carried out according Rikhus vektora guidelines. The result showed that Anopheles kochi and An. tessellatus were positive confirmed with Plasmodium falciparum by using PCR in Jembrana, Bali province, which were found in non-forest ecosystems near settlements and beaches near settlements. In addition, Anopheles barbirostris, Anopheles vagus, and Anopheles pedtaeniatus were also positive confirmed with P. falciparum by using similar methods in Bulukumba, South Sulawesi province. An. barbirostris was found in forest ecosystems near settlement, Anopheles vagus was found in remote forest ecosystems of settlements and beaches near settlements, and Anopheles pedtaenistus was found in non-forest ecosystems near settlements. While Anopheles sinensis was confirmed positive with P. falciparum in Bengkalis, Riau province. Jembrana, Bulukumba and Bengkalis districts are recognized as receptive areas and have potential for re-transmission of malaria. Vector surveillance and the implementation of appropriate vector control and migration surveillance are needed to ascertain wheter the positive Anopheles with positives Plasmodium falciparum getting the parasites from imported cases or there has been a local transmission (indigenous) in these areas. This information is needed to prevent malaria re-transmission in the eliminated areas.

Keywords : elimination, malaria, vector

Abstrak

Target eliminasi malaria di Indonesia harapannya dapat dicapai tahun 2030. Salah satu kegiatan yang dilakukan untuk menunjang eliminasi malaria adalah surveilans vektor. Beberapa Kabupaten di Indonesia telah memperoleh sertifikat eliminasi malaria diantaranya Kabupaten Jembrana Propinsi Bali, Bulukumba Propinsi Sulawesi Selatan, dan Bengkalis Propinsi Riau. Analisis keberadaan vektor dan patogen malaria perlu dilakukan untuk melihat potensi terjadinya penularan malaria kembali di daerah yang telah mendapatkan sertifikat eliminasi malaria. Studi bioekologi vektor malaria dilakukan untuk mengetahui status reseptivitas dan faktor risiko lainnya, serta potensi penularan malaria berbasis ekosistem di daerah tersebut. Sebagai bagian dari Riset khusus

(rikhus) vektora, koleksi lapangan nyamuk dan jentik, prosedur deteksi melekuler plasmodium dan analisis pakan darah dilakukan dengan menggunakan pedoman Rikhus vektora. Hasil studi menunjukkan bahwa *Anopheles kochi* dan *Anopheles tessellatus*, yang masing-masing ditemukan di eksoistem non hutan dekat pemukiman dan pantai dekat pemukiman ditemukan positif mengandung *Plasmodium falciparum* di Kabupaten Jembrana, Bali. Sedangkan di Kabupaten Bulukumba, Sulawesi Selatan, *Anopheles barbirostris*, *Anopheles vagus*, dan *Anopheles peditaeniatu*s merupakan spesies *Anopheles* yang terkonfirmasi positif mengandung *P.falciparum*. *An. barbirostris* ditemukan di ekosistem hutan dekat pemukiman, *Anopheles vagus* ditemukan di ekosistem hutan jauh pemukiman dan pantai dekat pemukiman, dan *Anopheles peditaenist*us ditemukan di ekosistem non hutan dekat pemukiman. Sedangkan *Anopheles sinensis* merupakan satu-satunya spesies *Anopheles* yang ditemukan positif mengandung *P. falciparum* di Kabupaten Bengkalis, Riau. Dari hasil studi menunjukkan, Kabupaten Jembrana, Bulukumba, dan Bengkalis merupakan daerah reseptif dan berpotensi terjadinya penularan kembali malaria. Surveilans vektor dan implementasi pengendalian vektor yang tepat serta surveilans migrasi secara ketat diperlukan untuk memastikan apakah *Anopheles* yang positif tersebut mendapatkan parasit *P. falciparum* dari kasus import ataupun memang sudah terjadi transmisi secara lokal (indigenous) di wilayah tersebut. Hal ini perlu dilakukan agar tidak terjadi penularan kembali malaria di daerah yang sudah tereliminasi tersebut.

Kata kunci :eliminasi, malaria, vektor

PENDAHULUAN

Kemajuan teknologi dewasa ini Eliminasi malaria menjadi isu global pada pertemuan World health assembly (WHA) ke 60 di Geneva. Berdasarkan komitmen regional (Asia Pasific Malaria Network/APMEN) tahun 2014 diharapkan eliminasi malaria di kawasan Asia Pasifik dapat dicapai pada tahun 2030.^{1,2} Sampai dengan tahun 2016, beberapa provinsi di Indonesia telah mendapatkan sertifikat eliminasi malaria, diantaranya adalah DKI Jakarta dan Bali. Meskipun demikian, proses mendapatkan status eliminasi malaria di setiap kabupaten/kota berbeda di masing-masing provinsi.³

Status daerah eliminasi malaria tersebut perlu dipertahankan agar tidak terjadi penularan malaria kembali. Dalam rangka mempertahankan sebagai daerah eliminasi malaria, upaya pencegahan perlu dilakukan dengan melakukan kegiatan surveilans secara aktif terhadap berbagai faktor risiko penularan.² Salah satu diantaranya adalah surveilans vektor malaria.^{1,2}

Secara global, surveilans vektor malaria menjadi strategi utama di semua negara yang rentan dan reseptif terhadap malaria, termasuk negara yang telah mengalami eliminasi namun rentan terjadi penularan kembali. Tujuan pelaksanaan surveilans vektor malaria menurut World Health Organization (WHO) adalah:1.

Untuk menentukan karakterisasi daerah reseptif yang digunakan untuk seleksi dan stratifikasi dalam intervensi pengendalian vektor, 2. Untuk mengetahui kepadatan vektor malaria yang diperlukan dalam menentukan waktu pengendalian vektor yang tepat berdasarkan musim penularan, 3. Untuk memonitor terjadinya resistensi insektisida, 4. Untuk mengidentifikasi potensi kegagalan pengendalian vektor, dan 5. Untuk mengidentifikasi kesenjangan dalam cakupan intervensi pengendalian vektor.⁴

Untuk mencapai tujuan tersebut, diperlukan beberapa indikator yang menjadi dasar pelaksanaan surveilans vektor yang diharapkan, yaitu identifikasi vektor, densitas vektor, perilaku mencari darah, kesukaan menggigit di dalam/di luar rumah, kesukaan istirahat di dalam/di luar rumah, konfirmasi *Plasmodium* dalam nyamuk vektor dan habitat larva vektor, disamping hasil konfirmasi resistensi insektisida. Dengan mengintegrasikan indikator tersebut, diharapkan dapat digunakan untuk menetapkan strategi dan perencanaan pengendalian vektor sehingga diharapkan upaya pengendalian vektor dapat dilakukan secara efektif dan efisien.⁴

Pada tahun 2017 Balai Besar Litbang Vektor dan Reservoir Penyakit (B2P2VRP), Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (Badan Litbangkes) melakukan Riset Khusus Vektor dan Reservoir Penyakit (Rikhus

Vektora) di 7 wilayah provinsi di Indonesia. Di setiap provinsi tersebut, dipilih 3 kabupaten sebagai wilayah penelitian berdasarkan kriteria endemisitas penyakit tular vektor dan reservoir.⁵ Kabupaten Jembrana, Bulukumba dan Bengkalis merupakan 3 lokasi terpilih dalam studi ini. Ketiga kabupaten tersebut juga dilaporkan telah mendapatkan sertifikat eliminasi malaria bersama dengan 245 kabupaten/kota lainnya pada tahun 2016.

Sehubungan dengan hal tersebut, studi bioekologi vektor malaria dilakukan sebagai bagian dari Rikhus Vektora di ketiga wilayah kabupaten tersebut untuk mengetahui status reseptivitas dan faktor risiko lainnya, serta potensi penularan malaria berbasis ekosistem di daerah tersebut. Hasil studi ini diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai tindak lanjut rekomendasi surveilans vektor di daerah endemis malaria yang sudah tereliminasi untuk mendukung target eliminasi malaria pada tahun 2030 di Indonesia.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan bagian dari Riset Khusus Vektor dan Reservoir Penyakit yang dilakukan di tujuh propinsi pada tahun 2017. Penggunaan data telah mendapat ijin dari laboratorium manajemen data Badan Litbangkes berdasarkan surat persetujuan no: 4/3/2019/ TU:21/3/2019, pada tanggal 25 Maret 2019. Seluruh penentuan lokasi, metode pengambilan data dan analisis berdasarkan pada pedoman pengumpulan data vektor dan deteksi laboratorium Rikhus Vektora.^{5,13} Lokasi pengambilan sampel dilakukan di Kabupaten Jembrana Bali, Kabupaten Bulukumba Sulawesi Selatan dan Kabupaten Bengkalis Riau. Sampel diambil pada enam titik berdasarkan perbedaan tipe ekosistem di masing-masing kabupaten yaitu ekosistem hutan dekat pemukiman (HDP), hutan jauh pemukiman (HJP), non hutan dekat pemukiman (NHDP), non hutan jauh pemukiman (NHJP), pantai dekat pemukiman (PDP), dan pantai jauh pemukiman (PJP). Lokasi pengambilan sampel secara lengkap dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Lokasi pengambilan sampel di Kabupaten Bulukumba, Bengkalis dan Jembrana tahun 2017.^{6,7,8}

Kabupaten	Ekosistem	Kecamatan	Desa
Jembrana	HDP	Pekutatan	Manggisari
	HJP	Jembrana	Batuagung
	NHDP	Melaya	Ekasari
	NHJP	Melaya	Warnasari
	PDP	Melaya	Candikesuma
	PJP	Melaya	Gilimanuk
Bulukumba	HDP	Kindang	Borong Rappoa
	HJP	Kindang	Borong Rappoa
	NHDP	Gantaarag	Palambarae
	NHJP	Ujung Loe	Tamatto
	PDP	Bonto Bahari	Tanah Lemo
	PJP	Bonto Bahari	Tanah Lemo
Bengkalis	HDP	Pinggir	Tasik Serai
	HJP	Pinggir	Tasik Serai
	NHDP	Bukitbatu	Bukit Kerikil
	NHJP	Bukitbatu	Bukit Kerikil
	PDP	Bukitbatu	Sungai Pakning
	PJP	Bukitbatu	Sepahat

Keterangan:

HDP : hutan dekat pemukiman

HJP : hutan jauh pemukiman

NHDP : non hutan dekat pemukiman

NHJP : non hutan jauh pemukiman

PDP : pantai dekat pemukiman

PJP : pantai jauh pemukiman

Pengambilan sampel di tiap titik dilakukan selama lima hari dengan kegiatan meliputi koleksi nyamuk dan preparasi sampel untuk deteksi *Plasmodium*, survei jentik serta lingkungan tempat perkembangbiakannya. Penangkapan nyamuk dilakukan dengan menggunakan lima metode yaitu *human landing collection*, *Animal-Baited Trap* (ABT), umpan ternak (UT), penangkapan nyamuk pagi hari / *morning resting* (MR), dan *light trap* (LT). Secara keseluruhan, survey dilaksanakan selama 1 bulan (masing-masing 5 hari di 6 lokasi). Waktu pengambilan sampel dilakukan pada tanggal 25 April sampai 25 Mei 2017.

Penangkapan dengan metode *human landing collection* dilakukan dengan umpan orang di luar rumah (UOL) dan umpan orang di dalam rumah (UOD). Penangkapan nyamuk dilakukan di enam rumah yang berbeda. Kegiatan penangkapan nyamuk dilakukan dari mulai pukul 18.00 sampai dengan pukul 06.00. Lama penangkapan nyamuk di setiap jamnya adalah 50 menit umpan orang (baik di dalam maupun di luar rumah), dan 10 menit istirahat.^{5,9}

Penangkapan nyamuk dengan ABT dilakukan dengan memasang ABT di tanah lapang. Ternak dimasukkan di dalam ABT sebelum jam 18.00 dengan cara mengikatnya pada tonggak kayu. Ternak yang digunakan dapat berupa sapi atau kerbau. Jika tidak ada ternak besar dapat menggunakan kambing dua ekor.^{5,9} Penangkapan nyamuk di ABT dilakukan pada jam 18.00-06.00 dengan lama penangkapan tiap jamnya adalah 15 menit.^{5,9}

Penangkapan nyamuk istirahat pagi hari dilakukan pada pukul 06.00-09.00 di tempat-tempat yang berpotensi sebagai tempat peristirahatan nyamuk. Beberapa tempat yang disurvei antara lain tebing sungai, akar tanaman, semak-semak dan lainnya. Penangkapan nyamuk dilakukan dengan menggunakan aspirator dan jaring nyamuk.^{5,9}

Penangkapan nyamuk dengan *light trap* dilakukan pada jam 18.00-06.00. *Light trap* di gantung pada dahan pohon dengan ketinggian $\pm 1,5$ meter dari tanah. Pemasangan *light trap* dilakukan di tempat-tempat dekat perkembangbiakan nyamuk dan jauh dari jangkauan orang. Lampu dan *dry ice* digunakan sebagai *attractant* nyamuk. Pengambilan sampel nyamuk dilakukan pagi hari pada akhir penangkapan nyamuk.^{5,9}

Survei jentik dilakukan di tempat yang berpotensi sebagai tempat perkembangbiakan nyamuk vektor malaria antara lain sawah, *lagun*, tambak, kobakan di sekitar sungai dan lainnya. Jentik nyamuk diambil dengan menggunakan cidukan jentik. Jentik hasil koleksi dipelihara sampai menjadi nyamuk dewasa kemudian diidentifikasi spesiesnya. Nyamuk *Anopheles* hasil pemeliharaan dari jentik dibuat sebagai spesimen awetan nyamuk.

Hasil penangkapan nyamuk dengan berbagai metode tersebut kemudian diidentifikasi spesiesnya dengan menggunakan kunci identifikasi nyamuk.^{10,11,12} Terhadap nyamuk *Anopheles* yang tertangkap 10% dijadikan sebagai spesimen awetan dan 90% digunakan untuk deteksi *Plasmodium*. Proses deteksi *Plasmodium* dilakukan dengan memotong kepala dan *thorax* kemudian dimasukkan ke dalam vial dan disimpan untuk dideteksi keberadaan *Plasmodium* di laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit (B2P2VRP) Salatiga. Proses

ekstraksi DNA dari nyamuk sampel dilakukan dengan dengan prosedur ekstraksi Dneasy Blood & tissue kits Qiagen®. Sedangkan proses deteksi *Plasmodium* secara molekuler dengan menggunakan metode nested *polymerase chain reaction* (Nested-PCR) dengan mengikuti protokol menurut Singh, *et al.* menggunakan primer rPLU1 (TCA AAG ATT AAG CCA TGC AAG TGA), rPLU5 (CCT GTT GTT GCC TTA AAC TCC), rPLU3 (TTT TTA TAA GGA TAA CTA CTA CGG AAA AGC TGT), rPLU4 (TAC CCG TCA TAG CCA TGT TAG GCC AAT ACC). Amplifikasi tahap pertama dilakukan dengan pre-denaturasi 94°C selama 4 menit, denaturasi (94°C selama 30 detik), annealing (55°C selama 1 menit) dan extension (72°C selama 1 menit) selama 35 siklus, serta final extension (72°C selama 4 menit) dan hold (12°C selama ∞). Tahap kedua dilakukan dengan pre-denaturasi 94°C selama 4 menit, denaturasi (94°C selama 30 detik), annealing (62°C selama 1 menit) dan extension (72°C selama 1 menit) selama 35 siklus, serta final extension (72°C selama 4 menit) dan hold (12°C selama ∞). Sampel dinyatakan positif setelah dilakukan elektroforesis 1,5% dan muncul pita dengan target 240bp.^{13,14,15} Uji pakan darah juga dilakukan dengan menggunakan ELISA untuk mengetahui preferensi menghisap darah ternak/manusia.

Analisis hasil dilakukan secara diskriptif untuk melihat spesies dan distribusi nyamuk tertangkap pada berbagai metode penangkapan dan tipe ekosistem. Fluktuasi kepadatan nyamuk tertangkap dengan berbagai metode selama waktu penangkapan dan frekuensi nyamuk terkonfirmasi positif *Plasmodium* dengan metode PCR juga didiskripsikan.

HASIL

Berdasarkan hasil penangkapan nyamuk di Kabupaten Jembrana, *An. vagus*, *An. tessellatus*, *An. barbumbrosus*, *An. maculatus*, *An. barbirostris*, *An. subpictus*, *An. indefinitus*, dan *An. sundaicus* berhasil dikoleksi dengan menggunakan umpan manusia, baik di dalam maupun di luar rumah. Spesies lainnya yang ditemukan di wilayah ini adalah *An. kochi* dan *An. annularis*. Distribusi spesies *Anopheles* yang tertangkap di Kabupaten Jembrana pada berbagai tipe ekosistem dapat dilihat pada

Tabel 2. Hasil pemeriksaan pakan darah dari nyamuk yang tertangkap, 12,5% *An. tessellatus* teridentifikasi menghisap darah manusia, sedangkan *An. kochi* 100% menghisap darah ternak. Sebanyak 3,6% dari nyamuk *An. vagus* yang tertangkap teridentifikasi menghisap darah manusia dan sebanyak 75% dari *An. sundaicus* yang tertangkap menghisap darah manusia. Sedangkan *An. maculatus* hanya ditemukan menghisap darah manusia (Tabel 2).

Hasil penangkapan nyamuk di Kabupaten Jembrana menunjukkan bahwa kepadatan *Anopheles* berfluktuasi dari pukul 18.00-06.00 berdasarkan masing-masing spesies. Kepadatan dominan ditemukan pada *An. vagus* yang ditemukan pada setiap jam penangkapan. Fluktuasi kepadatan nyamuk pada masing-masing spesies secara keseluruhan dapat dilihat pada Gambar 1. Hasil pemeriksaan PCR pada sampel nyamuk di Kabupaten Jembrana, Propinsi Bali menunjukkan *An. kochi* dan *An. tessellatus* positif mengandung *P. falciparum*. Distribusi penyebaran spesies *Anopheles* yang terkonfirmasi positif *P. falciparum* di berbagai ekosistem di Kabupaten Jembrana dapat dilihat pada Tabel 5.

Berdasarkan hasil penangkapan nyamuk di Kabupaten Bengkalis, Provinsi Riau menunjukkan bahwa *An. sinensis*, *An. umbrosus*, *An. letifer*, *An. separatus*, *An. sundaicus* tertangkap pada saat dikoleksi menggunakan umpan manusia. Spesies lain yang juga ditemukan dalam populasi rendah adalah *An. vagus*, *An. tessellatus* dan *An. kochi*. Penyebaran spesies *Anopheles* yang tertangkap di masing-masing ekosistem dapat dilihat pada Tabel 3. Berdasarkan perilaku menghisap darah diketahui bahwa *An. sinensis* dan *An. sundaicus* hasil koleksi 50% menghisap darah manusia. Hasil penangkapan nyamuk juga diperoleh *An. letifer* seluruhnya terdeteksi menghisap darah manusia (Tabel 3). Fluktuasi kepadatan nyamuk *Anopheles* di Kabupaten Bengkalis Riau cenderung rendah pada masing-masing spesies pada setiap jam penangkapan. *An. umbrosus* dilaporkan dengan kepadatan tinggi hanya pada awal jam penangkapan antara pukul 18.00-21.00. Gambaran fluktuasi kepadatan nyamuk dapat dilihat pada Gambar 2.

Berdasarkan hasil konfirmasi keberadaan *Plasmodium* dengan menggunakan PCR

menunjukkan bahwa *An. sinensis* positif mengandung *P. falciparum*. *An. sinensis* yang positif mengandung *P. falciparum* tersebut diketahui menghisap darah ternak. Distribusi penyebaran spesies *An. sinensis* di Kabupaten Bengkalis pada berbagai ekosistem dapat dilihat pada tabel 5.

Hasil penangkapan nyamuk di Kabupaten Bulukumba Propinsi Sulawesi Selatan menunjukkan bahwa *An. barbirostris*, *An. peditaeniatus*, *An. subpictus*, *An. tessellatus* dan *An. vagus* ditemukan menghisap darah manusia dan hewan. Beberapa spesies *Anopheles* lain yang ditemukan adalah *An. karwari*, *An. limosus*, *An. indefinitus*, dan *An. kochi*. Secara keseluruhan distribusi penyebaran nyamuk *Anopheles* tertangkap dengan berbagai metode di berbagai ekosistem di Kabupaten Bulukumba dapat dilihat pada Tabel 4. *Anopheles vagus* dan *An. peditaeniatus* merupakan dua spesies yang paling dominan dan ditemukan di setiap jam penangkapan sepanjang malam di Bulukumba. Kisaran puncak kepadatan nyamuk *An. vagus* terjadi di antara jam 18.00- 24.00. Sedangkan *An. peditaeniatus* puncak kepadatan terjadi pada jam 18.00-22.00. Fluktuasi kepadatan nyamuk masing-masing spesies *Anopheles* tertangkap sepanjang malam dapat dilihat pada Gambar 3.

Hasil konfirmasi keberadaan *Plasmodium* dalam tubuh nyamuk *Anopheles* yang berasal dari kabupaten Bulukumba dengan menggunakan PCR menunjukkan bahwa *An. barbirostris*, *An. vagus*, dan *An. peditaeniatus* yang positif mengandung *Plasmodium*. Secara lengkap, distribusi spesies *Anopheles* yang positif *Plasmodium* di berbagai ekosistem dapat dilihat pada Tabel 5.

Tempat perkembangbiakan nyamuk *Anopheles* di Kabupaten Jembrana adalah sawah, lagun, kobakan, rawa air payau, rawa air tawar dan kolam. Di wilayah Kabupaten Bengkalis, tempat perkembangbiakan *Anopheles* yang berhasil diamati meliputi parit, kobakan, lagun, perahu, tempat perendaman karet, kobakan dan rawa air tawar. Sedangkan tempat perkembangbiak *Anopheles* yang ditemukan di Kabupaten Bulukumba meliputi cekungan batu, rembesan air, parit, kobakan, sawah, tambak dan kobakan.

Tabel 2. Distribusi Anopheles tertangkap dengan berbagai metode di Kabupaten Jembrana Propinsi Bali 2017.

Metode	Spesies	Ekosistem					
		HDP	HJP	NHDP	NHJP	PDP	PJP
UOD	<i>Anopheles vagus</i>	0	0	0	0	2	0
	<i>Anopheles tessellatus</i>	0	0	1	0	0	0
UOL	<i>Anopheles vagus</i>	0	0	1	11	0	1
	<i>Anopheles barumbrosus</i>	0	1	0	0	0	0
	<i>Anopheles maculatus</i>	0	1	0	0	0	0
	<i>Anopheles tessellatus</i>	0	0	1	0	0	0
	<i>Anopheles barbirostris</i>	0	0	0	2	0	0
	<i>Anopheles subpictus</i>	0	0	0	2	0	1
	<i>Anopheles indefinitus</i>	0	0	0	0	1	0
	<i>Anopheles sundaicus</i>	0	0	0	0	6	0
	<i>Anopheles kochi</i>	1	0	4	0	13	0
	<i>Anopheles vagus</i>	2	0	82	0	25	0
ABT	<i>Anopheles barbirostris</i>	0	0	4	0	4	0
	<i>Anopheles indefinitus</i>	0	0	2	0	0	0
	<i>Anopheles subpictus</i>	0	0	2	0	14	0
	<i>Anopheles tessellatus</i>	0	0	3	0	2	0
	<i>Anopheles sundaicus</i>	0	0	0	0	5	0
	<i>Anopheles kochi</i>	2	0	3	0	7	0
	<i>Anopheles vagus</i>	6	0	243	0	64	0
	<i>Anopheles barbirostris</i>	0	0	3	0	2	0
UT	<i>Anopheles indefinitus</i>	0	0	21	0	0	0
	<i>Anopheles subpictus</i>	0	0	13	0	3	0
	<i>Anopheles tessellatus</i>	0	0	7	0	4	0
	<i>Anopheles annularis</i>	0	0	0	0	1	0
	<i>Anopheles sundaicus</i>	0	0	0	0	3	0
	<i>Anopheles vagus</i>	0	0	0	0	3	0
MR	<i>Anopheles kochi</i>	0	0	0	4	0	0
	<i>Anopheles subpictus</i>	0	0	0	0	1	0

Keterangan:

Tidak ditemukan nyamuk *Anopheles* pada penangkapan dengan *light trap*

HDP : Hutan Dekat Pemukiman

UOD : Umpan Orang Dalam

HJP : Hutan Jauh Pemukiman

UOL : Umpan Orang Luar

NHDP: Non Hutan Dekat Pemukiman

ABT : *Animal Baited Trap*

NHJP : Non Hutan Jauh Pemukiman

UT : Umpan Ternak

PDP : Pantai Dekat Pemukiman

MR : *Morning Resting*

PJP : Pantai Jauh Pemukiman

Tabel 3. Distribusi Anopheles tertangkap dengan berbagai metode di Kabupaten Bengkalis Propinsi Riau 2017

Metode	Spesies	Ekosistem					
		HDP	HJP	NHDP	NHJP	PDP	PJP
UOL	<i>Anopheles sinensis</i>	2	0	0	1	0	3
	<i>Anopheles umbrosus</i>	1	82	0	1	0	1
	<i>Anopheles letifer</i>	0	23	0	2	0	2
	<i>Anopheles separatus</i>	0	1	0	14	0	4
	<i>Anopheles sundaicus</i>	0	0	0	0	1	0
ABT	<i>Anopheles separatus</i>	15	0	0	0	0	0
	<i>Anopheles sinensis</i>	3	0	0	0	0	0
	<i>Anopheles umbrosus</i>	10	0	0	0	0	0
	<i>Anopheles vagus</i>	5	0	0	0	0	0
	<i>Anopheles sundaicus</i>	0	0	0	0	1	0
	<i>Anopheles tessellatus</i>	0	0	0	0	1	0
	<i>Anopheles vagus</i>	0	0	0	0	0	0

UT	<i>Anopheles kochi</i>	2	0	0	0	0	0
	<i>Anopheles separatus</i>	2	0	0	0	0	0
	<i>Anopheles sinensis</i>	3	0	0	0	0	0
	<i>Anopheles umbrosus</i>	1	0	0	0	0	0
	<i>Anopheles vagus</i>	3	0	0	0	0	0
LT	<i>Anopheles kochi</i>	2	0	0	0	0	0

Keterangan:

HDP : Hutan Dekat Pemukiman	UOD : Umpan Orang Dalam
HJP : Hutan Jauh Pemukiman	UOL : Umpan Orang Luar
NHDP : Non Hutan Dekat Pemukiman	ABT : <i>Animal Baited Trap</i>
NHJP : Non Hutan Jauh Pemukiman	UT : Umpan Ternak
PDP : Pantai Dekat Pemukiman	MR : <i>Morning Resting</i>

Tabel 4. Distribusi *Anopheles* tertangkap dengan berbagai metode di Kabupaten Bulukumba Propinsi Sulawesi Selatan 2017

Metode	Spesies	Ekosistem					
		HDP	HJP	NHDP	NHJP	PDP	PJP
UOD	<i>Anopheles barbirostris</i>	4	0	0	0	0	0
	<i>Anopheles peditaeniatus</i>	0	0	1	0	0	0
	<i>Anopheles barbirostris</i>	9	5	0	88	0	0
	<i>Anopheles karwari</i>	0	0	0	7	0	0
	<i>Anopheles limosus</i>	0	0	0	2	0	0
UOL	<i>Anopheles peditaeniatus</i>	0	1	1	335	0	0
	<i>Anopheles subpictus</i>	0	0	0	0	0	1
	<i>Anopheles tessellatus</i>	0	1	0	1	0	0
	<i>Anopheles vagus</i>	0	11	2	3	0	0
	<i>Anopheles barbirostris</i>	14	7	1	1	0	0
ABT	<i>Anopheles indefinitus</i>	0	0	0	0	0	3
	<i>Anopheles kochi</i>	0	0	2	0	0	0
	<i>Anopheles limosus</i>	0	0	8	0	0	0
	<i>Anopheles peditaeniatus</i>	22	0	33	16	0	0
	<i>Anopheles subpictus</i>	0	0	0	0	1	43
UT	<i>Anopheles tessellatus</i>	0	0	3	0	0	0
	<i>Anopheles vagus</i>	3	9	415	0	77	2
	<i>Anopheles barbirostris</i>	3	0	2	0	0	0
	<i>Anopheles peditaeniatus</i>	0	0	3	0	0	0
	<i>Anopheles vagus</i>	0	0	37	0	7	0
MR	<i>Anopheles barbirostris</i>	2	0	0	3	0	0
	<i>Anopheles peditaeniatus</i>	0	0	0	3	0	0

Keterangan:

Tidak ditemukan nyamuk *Anopheles* pada penangkapan dengan *light trap*

HDP : Hutan Dekat Pemukiman	UOD : Umpan Orang Dalam
HJP : Hutan Jauh Pemukiman	UOL : Umpan Orang Luar
NHDP : Non Hutan Dekat Pemukiman	ABT : <i>Animal Baited Trap</i>
NHJP : Non Hutan Jauh Pemukiman	UT : Umpan Ternak
PDP : Pantai Dekat Pemukiman	MR : <i>Morning Resting</i>
PJP : Pantai Jauh Pemukiman	

Tabel 5. Distribusi *Anopheles* yang terkonfirmasi positif Plasmodium falciparum di Kabupaten Jembrana, Kabupaten Bengkulu dan Kabupaten Bulukumba 2017

Provinsi	Kabupaten	Spesies	Ekosistem						Metode yang digunakan
			HDP	HJP	NHDP	NHJP	PDP	PJP	
Bali	Jembrana	<i>Anopheles kochi</i>			++				Metode ABT dan UT
		<i>Anopheles tessellatus</i>					+		Metode UT
		<i>Anopheles barbirostris</i>	++						Metode UT, ABT
Sulawesi selatan	Bulukumba	<i>Anopheles vagus</i>		+			+		Metode ABT, ABT
		<i>Anopheles peditaeniatus</i>			+				Metode ABT
Riau	Bengkalis	<i>Anopheles sinensis</i>	+						Metode UT

Keterangan:

HDP : Hutan Dekat Pemukiman

HJP : Hutan Jauh Pemukiman

NHDP : Non Hutan Dekat Pemukiman

NHJP : Non Hutan Jauh Pemukiman

PDP : Pantai Dekat Pemukiman

PJP : Pantai Jauh Pemukiman

+ : Positif *P. falciparum* di satu metode penangkapan++ : Positif *P. falciparum* di dua metode penangkapan

Gambar 1. Fluktuasi kepadatan nyamuk *Anopheles* di Kabupaten Jembrana Bali 2017.

Gambar 2. Fluktuasi kepadatan nyamuk *Anopheles* di Kabupaten Bengkalis Riau 2017.

Gambar 3. Fluktuasi kepadatan nyamuk *Anopheles* di Kabupaten Bulukumba Sulawesi Selatan 2017.

PEMBAHASAN

Hasil koleksi terhadap nyamuk *Anopheles* yang tertangkap di Kabupaten Jembrana

menunjukkan bahwa *Anopheles tessellatus* dan *An. kochi* positif ditemukan mengandung *Plasmodium falciparum*. Hal ini merupakan catatan baru terkait keberadaan *P. falciparum* pada kedua spesies *Anopheles* tersebut di Provinsi Bali. *Anopheles kochi* juga telah terkonfirmasi positif *P. falciparum* pada penelitian sebelumnya di Pulau Nias, Jawa, dan Sulawesi. Deteksi *circum sporozoit P. vivax* ditemukan di Jawa sedangkan di Sulawesi di temukan *P. vivax* dan *P. falciparum*.¹⁶

Dari studi yang telah dilakukan pada saat Bali masih menjadi daerah endemis malaria beberapa dekade yang lalu, spesies yang terkonfirmasi sebagai vektor malaria di Bali meliputi *An. aconitus*, *An. sundaius*, dan *An. maculatus*.⁵ *An. kochi* yang terdeteksi positif mengandung *P. falciparum* berhasil dikoleksi dari ekosistem non-hutan dekat pemukiman, sedangkan *An. tessellatus* yang positif dengan *P. falciparum* berasal dari koleksi di wilayah ekosistem pantai dekat pemukiman.

Keberadaan kedua spesies *Anopheles* positif *P. falciparum* cukup mendapat perhatian. Hal ini dikarenakan Bali merupakan provinsi yang telah mendapatkan sertifikat eliminasi malaria. Meskipun masih dijumpai kasus malaria dalam dua tahun terakhir (API sebesar 0,0003% pada tahun 2015 dan 0,0024% pada tahun 2016), namun seluruhnya merupakan kasus import dan tidak dilaporkan adanya kasus *indigenous* (setempat). Tindak lanjut kegiatan surveilans vektor di lokasi tempat ditemukannya nyamuk *Anopheles* positif *Plasmodium* dalam studi ini diperlukan untuk memastikan apakah *Anopheles* yang positif tersebut mendapatkan parasit *P. falciparum* dari kasus *import* ataukah memang sudah terjadi transmisi secara lokal (*indigenous*) di wilayah tersebut.

Hasil uji pakan darah terhadap *An. kochi* juga mengungkapkan bahwa 100% dari sampel yang diperiksa menghisap darah ternak. Meskipun demikian, potensi sebagai vektor penular penyakit dimungkinkan, baik pada nyamuk yang cenderung menghisap darah manusia maupun hewan. Beberapa studi juga menyebutkan bahwa terdapat kecenderungan spesies tersebut menghisap darah hewan daripada manusia. *Anopheles kochi* di Jawa Barat dan Timur juga dominasi ditemukan di kandang ternak, 15% menghisap darah manusia dengan persentase 2,8% menghisap darah manusia di dalam rumah.¹⁶ *Anopheles kochi* di Sumatera ditemukan menghisap darah manusia baik di

dalam dan luar rumah.¹⁶

Hasil uji pakan darah terhadap *An. tessellatus* di Kabupaten Jembrana menunjukkan bahwa 12,5% dari sampel nyamuk yang diuji, positif mengandung darah manusia dan kurang lebih 87,5% nyamuk yang tertangkap ditemukan menghisap darah hewan. *Anopheles tessellatus* sebelumnya pernah dilaporkan sebagai vektor malaria di Sumatera.⁵

Berdasarkan hasil koleksi di lapangan, *An. vagus* merupakan spesies yang paling dominan ditemukan. Spesies ini ditemukan setiap jam dengan puncak kepadatan terjadi pada dini hari pada pukul 05.00 – 06.00. Studi sebelumnya menyebutkan bahwa peningkatan populasi *An. vagus* dipengaruhi oleh curah hujan. Musim berpengaruh terhadap peluang tersedianya tempat yang berpotensi sebagai tempat perkembangbiakan nyamuk. Pada curah hujan yang cukup memungkinkan terbentuk tempat perkembangbiakan nyamuk, akan tetapi curah hujan yang tinggi dapat menyebabkan populasi nyamuk menurun akibat tempat perkembangbiakan mengalami banjir.¹⁷ Adapun jenis tempat perkembangbiakan *An. vagus* yang ditemukan meliputi sawah, kobakan dan tempurung kelapa. Penelitian sebelumnya di Lombok Tengah menyebutkan bahwa tempat perkembangbiakan *An. vagus* selain ditemukan di sawah juga ditemukan di parit, selokan, dan genangan air.¹⁸

Anopheles vagus pernah terkonfirmasi sebagai vektor malaria di beberapa lokasi di Indonesia, antara lain Jawa Tengah dan NTT.⁵ DI Kulon Progo, Provinsi DIY, *An. vagus* di juga pernah terkonfirmasi positif mengandung *P. falciparum* berdasarkan pemeriksaan *circum sporozoit protein* (CSP) dengan menggunakan ELISA.¹⁹ *Anopheles vagus* juga pernah dilaporkan terkonfirmasi sebagai vektor malaria di beberapa negara di Asia. Di Bangladesh, *An. vagus* pernah terkonfirmasi positif membawa *P. falciparum* dan *P. vivax*. *Anopheles vagus* juga telah terkonfirmasi sebagai vektor malaria di India dan cenderung bersifat *zoophilic*, *exophilic* dan *exophagic* walaupun pernah ditemukan menghisap darah manusia.²⁰ Beberapa negara lain di Asia yang juga melaporkan *An. vagus* sebagai vektor malaria adalah Cambodia, China, Laos, Malaysia, Myanmar, Nepal, Philipina, Srilanka, Thailand, dan Vietnam. Spesies ini ditemukan baik di dalam maupun di luar rumah.^{21,22,23,24} Di Kabupaten Bulukumba, *An. barbirostris*, *An. vagus* dan *An. peditaeniatus* positif terdeteksi

positif mengandung *P. falciparum*. Nyamuk ini ditemukan tersebar baik di daerah dekat pemukiman maupun jauh pemukiman. *An. barbirostris* terdeteksi positif *P. falciparum* di ekosistem HDP, *An. vagus* positif *P. falciparum* di HJP dan PDP, sedangkan *An. peditaeniatus* terdeteksi *P. falciparum* di NHDP. Meskipun kabupaten ini juga telah mendapatkan sertifikat eliminasi, namun hasil ini mengindikasikan bahwa di ekosistem baik hutan, non hutan maupun pantai masih berpotensi terjadi penularan malaria kembali.^{25,26}

Beberapa faktor yang mempengaruhi transmisi patogen antara lain faktor biologi dan faktor lingkungan. Salah satu faktor biologi adalah keberadaan vektor dan ketahanan nyamuk terhadap patogen. Keberadaan vektor salah satunya dapat dilihat dari populasinya di alam. Semakin tinggi populasi vektor di alam akan memperbesar peluang terjadinya penularan. Potensi ini akan semakin bertambah dengan umur nyamuk yang panjang. Kemampuan bertahan hidup vektor di alam akan memberikan kesempatan *Plasmodium* untuk berkembangbiak sebelum ditularkan ke manusia.²⁷ Potensi penularan malaria di Kabupaten Bulukumba juga didukung oleh tingginya populasi spesies *Anopheles* yang terduga sebagai vektor tersebut. Secara umum *An. barbirostris*, *An. vagus*, dan *An. peditaeniatus* merupakan tiga spesies nyamuk yang memiliki populasi yang lebih tinggi jika dibandingkan spesies *Anopheles* lain di Kabupaten Bulukumba.²⁷

Hasil studi *Anopheles* yang telah dilakukan di Kabupaten Bengkalis menunjukkan bahwa *An. sinensis* diidentifikasi positif mengandung *P. falciparum* dengan pemeriksaan PCR di ekosistem hutan dekat pemukiman. Meskipun populasi spesies ini cukup rendah selama koleksi nyamuk berlangsung, akan tetapi perlu diwaspadai potensinya sebagai vektor munculnya malaria kembali di wilayah tersebut. Potensi *An. sinensis* sebagai vektor malaria juga didukung hasil analisis pakan darah yang menunjukkan 50% *An. sinensis* dari total nyamuk dalam spesies ini menghisap darah manusia dan 50% menghisap darah hewan. Hasil studi sebelumnya *An. sinensis* juga telah terkonfirmasi sebagai vektor malaria di Lampung, Aceh, Sumatera Barat, Riau, Jambi, Sumatera Selatan, dan Bengkulu.^{5,36} *Anopheles sinensis* juga telah terkonfirmasi sebagai vektor malaria di China walaupun bukan vektor utama karena bersifat *zoofilik*. Jenis *Plasmodium* yang ditemukan di *An. sinensis* adalah *Plasmodium*

vivax. Spesies ini diketahui menghisap darah dan istirahat di luar rumah.^{37,38}

Beberapa spesies nyamuk yang juga ditemukan di Riau yang sebelumnya juga diketahui sebagai vektor malaria adalah *An. letifer* dan *An. sundanicus*.⁵ *An letifer* berdasarkan hasil penangkapan ditemukan hanya menghisap darah manusia. Kecenderungan menghisap darah manusia ini juga memperbesar peluang *An. letifer* berperan sebagai vektor malaria. Berdasarkan studi sebelumnya *An. letifer* juga telah terkonfirmasi sebagai vektor malaria di Sumatera Utara, Jambi, Sumatera Selatan, Kepulauan Riau, Kalimantan Barat, Kalimantan Tengah, Kalimantan Selatan, dan Kalimantan Timur.⁵ *Anopheles sundanicus* sebelumnya telah terkonfirmasi sebagai vektor malaria di Jawa Tengah, Jawa Barat, DIY Yogyakarta, Jawa Timur, DKI Jakarta, Bali, Lampung, Aceh, Sumatera Utara, Sumatera Barat, Riau, Jambi, Sumatera Selatan, Sulawesi Selatan, NTT, dan Bengkulu. Studi di Pulau Sebatik *Anopheles sundanicus* terkonfirmasi positif *P.falciparum* yang ditemukan menghisap darah orang di luar rumah. Hal ini mengindikasikan bahwa proses penularan malaria terjadi di luar rumah. Sehingga proteksi diri sangat diperlukan ketika beraktivitas malam hari di luar rumah.^{39,40}

Sehubungan dengan hasil konfirmasi terhadap beberapa spesies *Anopheles* yang ditemukan positif mengandung *Plasmodium*, perlu dilakukan upaya surveilans secara aktif dan pengendalian vektor di daerah yang rawan terjadinya penularan malaria kembali di daerah yang telah mendapatkan sertifikat eliminasi. Kegiatan pengendalian vektor seharusnya didasarkan pada data entomologi yang tepat agar pengendalian tepat sasaran. Hasil rata-rata penangkapan nyamuk ditemukan nyamuk berpotensi sebagai vektor malaria ditemukan menghisap darah orang baik di dalam dan luar rumah. Berdasarkan data tersebut, program pengendalian vektor yang selama ini telah dilakukan, yaitu dengan *indoor residual spraying* (IRS) dan kelambu berinsektisida masih relevan dilakukan.^{28,29} Penggunaan kelambu dan IRS di Afrika juga dapat menurunkan kasus malaria.³⁰ Hal yang perlu diperhatikan dalam pengendalian vektor antara lain cakupan aplikasi IRS dan kelambu di daerah pengendalian.^{31,32} Efektivitas pengendalian dengan kelambu dipengaruhi oleh lama penggunaan, dan frekuensi pencucian kelambu dan spesies vektor yang dikendalikan. Efektivitas kelambu juga dipengaruhi oleh proses

pengeringan ketika di cuci. Pengeringan kelambu setelah dicuci disarankan dikeringkan dengan cara mengangin-anginkan tidak dibawah sinar matahari langsung, karena proses pemanasan dapat menyebabkan insektisida di dalam kelambu mengalami degradasi yang berakibat pada penurunan efektivitas kelambu dalam membunuh nyamuk vektor.³³ Tidak efektifnya kelambu dalam pengendalian vektor juga dapat disebabkan oleh resistensi vektor yang dikendalikan.^{34,35}

Berdasarkan hasil survei menunjukkan bahwa Kabupaten Jembrana, Bulukumba dan Bengkalis yang telah mendapatkan sertifikat eliminasi malaria masih merupakan daerah reseptif dan berpotensi terjadinya penularan malaria kembali apabila tidak dilakukan surveilans vektor dan surveilans migrasi untuk mengidentifikasi kasus *import* secara aktif. Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 293/Menkes/SK/IV/2009 tentang eliminasi malaria di Indonesia mengamanatkan beberapa langkah dalam rangka mempertahankan daerah eliminasi malaria, diantaranya adalah mempertahankan kasus *indigenous* tetap nol dan tetap melaksanakan kegiatan surveilans. Kegiatan surveilans vektor diperlukan untuk mengetahui keberadaan spesies yang berpotensi sebagai vektor malaria dalam antisipasi pengendalian vektor.¹

KESIMPULAN

Kabupaten Jembrana, Bengkalis dan Bulukumba merupakan daerah reseptif terhadap potensi penularan malaria kembali walaupun merupakan daerah yang telah mendapatkan sertifikat eliminasi malaria karena masih ditemukan *Anopheles* yang potensial sebagai vektor dan *Plasmodium falciparum* yang berhasil dikonfirmasi dari beberapa spesies *Anopheles* di lokasi tersebut. Surveilans vektor dan implementasi pengendalian vektor yang tepat serta surveilans migrasi secara ketat diperlukan untuk memastikan apakah *Anopheles* yang positif tersebut mendapatkan parasit *P. falciparum* dari kasus *import* ataukah memang sudah terjadi transmisi secara lokal (*indigenous*) di wilayah tersebut. Hal ini perlu dilakukan agar tidak terjadi penularan kembali malaria di daerah yang sudah tereliminasi tersebut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam proses penulisan artikel ini tak lupa penulis mengucapkan terimakasih kepada

Kepala B2P2VRP Salatiga Bapak Joko Waluyo, BSc., ST., Dipl.EIA., MSc.PH dan Bapak DR Ristiyanto selaku penanggung jawab Riset Khusus Vektora 2017. Dra Widiarti, M.Kes sebagai ketua PPI. Tak lupa kami juga mengucapkan banyak terimakasih kepada PJT Rikhus Vektora Propinsi Bali, Riau dan Bulukumba, Tim Teknis Riset Kusus Vektora, Katim dan Wakatim Propinsi Bali, Riau dan Bulukumba serta segenap tim pengumpul data Rikhus Vektora 2017.

DAFTAR RUJUKAN

1. Kementerian Kesehatan RI. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia no293/Menkes/SK/IV/2009. Jakarta; 2009. 1-36 p.
2. Kemenkes RI DiP. Panduan Pemeliharaan Eliminasi Malaria. Panduan Pemeliharaan Eliminasi Malaria. Jakarta: P2PTVZ; 2017. 1-28 p.
3. P2PTVZ. Data Kasus Malaria 2012-2017. Jakarta: P2PTVZ; 2017.
4. Burkot TR, Farlow R, Min M, Espino E, Mnzava A, Russell TL. A global analysis of national malaria control programme vector surveillance by elimination and control status in 2018. *Malar J*. 2019;18(1):399.
5. B2P2VRP. Pedoman Pengumpulan Data Vektor (Nyamuk) di Lapangan. Salatiga; 2017.
6. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Laporan Akhir Riset Khusus Vektor dan Reservoir Penyakit Provinsi Bali. Salatiga: B2P2VRP; 2017. 1-76 p.
7. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Laporan Akhir Riset Khusus Vektor dan Reservoir Penyakit Provinsi Riau Tahun 2017. Salatiga: B2P2VRP; 2017. 1-113 p.
8. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Laporan Akhir Riset Khusus Vektor dan Reservoir Penyakit Provinsi Sulawesi Selatan. Salatiga: B2P2VRP; 2017. 1-105 p.
9. WHO. Manual on Pactical Entomology in Malaria. Geneva; 1975. 1-186 p.
10. Oconnor AS. Kunci Bergambar Nyamuk Anopheles Dewasa di Indonesia. Jakarta; 1999. 1-40 p.
11. Reid JA. Anopheline Mosquitoes of Malaya and Borneo. Malaysia; 1968. 1-520 p.
12. Panthusiri, Rattarithikul R, Prachong. Illustrated Keys to the Medically Important Mosquitoes of Thailand. Thailand; 1994. 1-66 p.
13. B2P2VRP. Pedoman Pemeriksaan Deteksi agen Penyakit. Salatiga; 2015.
14. Singh B, Bobogare A, Cox-singh J, Snounou G, Abdullah MS, Rahman HA. A Genus- and Spesies-Spesifik Nested Polymerase Chain Reaction Malaria Detection Assay for Epidemiologic Studies. *Am Soc Trop Med Hyg*. 1999;60(4):687-92.
15. Moll K, Kaneko A, Scherf A, Wahlgren M. *Methods in Malaria Research*. UK: EviMalaR Glasgow; 2013. 1-474 p.
16. Elyazar IRF, Sinka ME, Gething PW, Tarmidzi SN, Surya A, Kusriastuti R, et al. The Distribution and Bionomics of Anopheles malaria Vector Mosquitoes in Indonesia. 1st ed. Vol. 83, *Advances in Parasitology*. Elsevier Ltd.; 2013. 173-266 p.
17. Stoops CA, Rusmiarto S, Susapto D, Munif A, Andris H, Barbara KA, et al. Bionomics of *Anopheles* spp . (Diptera : Culicidae) in a Malaria Endemic Region of Sukabumi , West Java , Indonesia. *J Vector Ecol*. 2009;34(2):200-7.
18. Mading M, Sopi IIP. Beberapa Aspek Bioekologi Nyamuk *Anopheles vagus* di Desa Selong Belanak Kabupaten Lombok Tengah. Spirakel [Internet]. 2014;6(1):26-32. Available from: <http://ejournal.litbang.kemkes.go.id/index.php/spirakel/article/view/6127>.
19. Wigati RA, Mardiana M, Mujiyono M, Alfiah S. Deteksi Protein Circm Sporozoite pada Spesies Nyamuk *Anophele vagus* Tersangka Vektor Malaria di Kecamatan Kokap, Kabupaten Kulon Progo dengan Uji Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Media Litbang Kesehat*. 2010;XX(3):118-23.
20. Dhiman S, Yadav K, Rabha B, Goswami D, Hazarika S, Tyagi V. Evaluation of Insecticides Susceptibility and Malaria Vector Potential of *Anopheles annularis* s.l. and *Anopheles vagus* in Assam, India. *PLoS One* [Internet]. 2016;11(3):1-13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0151786>.
21. Alam Z, Arifin SMN, Mohammad H, Amin A, Alam MS, Rahman MS. A Spatial Agent Based Model of *Anopheles vagus* for Malaria Epidemiology : Examining the Impact of Vector Control Interventions. *Malar J* [Internet]. 2017;16(432):1-20. Available from: "<http://dx.doi.org/10.1186/s12936-017-2075-6>."
22. Bashir K, Tuno N. Seasonal Abundance of Anopheles Mosquitoes and Their Association

- with Meteorological Factors and Malaria Incidence in Bangladesh. *Parasites and Vectors* [Internet]. 2014;7(1):442. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25233890>.
23. M RI, Pecor J E, A HB. Updated Distribution Records for *Anopheles vagus* (Diptera : Culicidae) in the Republic of Philippines, and Considerations Regarding Its Secondary Vector Roles in Southeast Asia. *Trop Biomed*. 2011;28(1):181–7.
 24. Alam MS, Chakma S, Khan WA, Glass GE, MohonAN, ElahiR, et al. Diversity of Anopheline Species and Their Plasmodium Infection Status in Rural Bandarban, Bangladesh. *Parasites and Vectors*. 2012;5(150):1–9.
 25. Kumar A, Hosmani R, Jadhav S, Sousa T De, Mohanty A, Naik M. *Anopheles subpictus* Carry Human Malaria Parasites in An Urban Area of Western India and May Facilitate Perennial Malaria Transmission. *Malar J* [Internet]. 2016;15(24):1–8. Available from: "<http://dx.doi.org/10.1186/s12936-016-1177-x>."
 26. Alimi TO, Fuller DO, Qualls WA, Herrera S V, Arevalo-herrera M, Quinones ML, et al. Predicting Potential Ranges of Primary Malaria Vectors and malaria in northern South America Based on Projected Changes in Climate , Land Cover and Human Population. *Parasit Vectors* [Internet]. 2015;8(431):1–16. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13071-015-1033-9>.
 27. Killeen GF. Characterizing, Controlling and Eliminating Residual Malaria Transmission. *Malar J* [Internet]. 2014;13(1):1–22. Available from: <http://malariajournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2875-13-330>.
 28. Kemenkes RI. The Desk Review Malaria Programe Review 2016. Jakarta: Kemenkes RI; 2016. 1-74 p.
 29. Killeen GF. Characterizing , Controlling and Eliminating Residual Malaria Transmission. *Malar J*. 2014;13(330):1–22.
 30. Katureebe A, Zinszer K, Arinaitwe E, Rek J, Kakande E, Charland K, et al. Measures of Malaria Burden after Long- Lasting Insecticidal Net Distribution and Indoor Residual Spraying at Three Sites in Uganda : A Prospective Observational Study. *PLoS Med* [Internet]. 2016;8(December 2014):1–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.1002167>.
 31. Husni, Rahayujati TB, Supargiyono S. Evaluasi Program Pencegahan dan Penanggulangan Faktor Risiko Malaria di Kabupaten Kulon Progo. *Ber Kedokt Masy*. 2017;33(12):771–8.
 32. World Health Organization. Malaria entomology and vector control. Vol. 3, World Health Organization. 2003. 1-109 p.
 33. Kemenkes RI. Pedoman Penggunaan Kelambu Berinsektisida Menuju Eliminasi Malaria. 2011;
 34. WHO. Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitoes Second edition. Geneva: Global Malaria Programme; 2016. 1-55 p.
 35. WHO. Monitoring and managing insecticide resistance in Aedes mosquito populations Interim guidance for entomologists. Geneva: WHO; 2016. 1-13 p.
 36. Taviv Y, Budiyanto A, Sitorus H, Ambarita LP, Mayasari R, Pahlepi RI. Sebaran Nyamuk *Anopheles* Pada Topografi Wilayah yang Berbeda di Propinsi Jambi. *Media Litbangkes*. 2015;25(2):1–8.
 37. Ren Z, Wang D, Hwang J, Bennett A, Hugh J. Spatial-Temporal Variation and Primary Ecological Drivers of *Anopheles sinensis* Human Biting Rates in Malaria Epidemic-Prone Regions of China. *PLoS One* [Internet]. 2015;22(Januari):1–17. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0116932>.
 38. Ren Z, Wang D, Hwang J, Bennett A, Sturrock HJW, Ma A, et al. Spatial-temporal Variation and Primary Ecological Drivers of *Anopheles sinensis* Human Biting Rates in Malaria Epidemic-prone Regions of China. *PLoS One* [Internet]. 2015;10(1):1–17. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0116932>.
 39. Sugiarto, Hadi UK, Soviana S, Hakim L. Confirmation of *Anopheles peditaeniatus* and *Anopheles sundaicus* as Malaria Vectors (Diptera: Culicidae) in Sungai Nyamuk Village, Sebatik Island North Kalimantan, Indonesia Using an Enzyme-linked Immunosorbent Assay. *J Med Entomol*. 2016;53(6):1422–4.
 40. Nixon CP, Nixon CE, Arsyad DS, Chand K, Yudhaputri F a., Sumarto W, et al. Distance to *Anopheles sundaicus* Larval Habitats Dominant Among Risk Factors for Parasitemia in Meso-endemic Southwest Sumba, Indonesia. *Pathog Glob Health* [Internet]. 2014;108(8):369–80. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1179/2047773214Y.00000000167>.