

Deteksi Virus Dengue pada Nyamuk *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) yang Tersebar di Kabupaten Sumba Timur dan Sumba Barat Daya

Detection of Dengue Virus in Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) Distributed in East and Southwest Sumba Districts

Monika Noshirma^{*a}, Ruben Wadu Willa^b, Muhammad Kazwaini^c, dan Arief Wibowo^d

^aMagister Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Airlangga
Jl. Mulyorejo, Kecamatan Mulyorejo, 60115, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia

^bLoka Litbang Kesehatan Waikabubak, Badan Litbang Kesehatan, Kementerian Kesehatan RI
Jl. Basuki Rahmat Km.5 Puu Weri, Waikabubak, 87217, Nusa Tenggara Timur, Indonesia

^cProgram Doktor Ilmu Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Airlangga
Jl. Mulyorejo, Kecamatan Mulyorejo, 60115, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia

^dPeminatan Biostatistika dan Kependudukan, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Airlangga
Jl. Mulyorejo, Kecamatan Mulyorejo, 60115, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia

INFO ARTIKEL

Article History:

Received : 6 Nov. 2019

Revised : 25 Feb. 2020

Accepted : 26 Feb. 2020

Kontribusi :

Semua penulis menjadi kontributor utama dalam artikel ini

Keywords :

Transovarial,
dengue virus,
Ae. aegypti,
Southwest Sumba,
East Sumba

Kata Kunci :

Trans-ovari,
virus Dengue,
Ae. eegypti,
Sumba Barat Daya,
Sumba Timur

ABSTRACT / ABSTRAK

Incidence Rate (IR) of Dengue fever in east and southwest Sumba district in 2015 amounted to 10.7‰ and 12.95‰ respectively. The phenomenon which is often found during this time is the transovarial transmission of the dengue virus in Ae. aegypti mosquitoes. The purpose of this research was to determine the presence of viral infections in Ae. aegypti mosquitoes through transovarial. It was a descriptive study with a cross-sectional design. The sample was an adult Ae. aegypti mosquito that is 8 to 10 days old. Dengue virus in mosquito body was checked by using immunocytochemical method Streptavidin Biotin Peroxidase Complex (ISBPC) at head squash preparation. The result showed that the transovarial infection presence in male and female Ae. aegypti in East and Southwest Sumba District with Transovarial Infection Rate (TIR) in females and males ranging from 41.67%-41.92 and 25.00 – 50.00% respectively. The female and males mosquitoes TIR in East Sumba district were ranging from 20.00%-40.00% and 35.00%-40.00% respectively. East and Southwest Sumba districts are a high potential area for the transmission of dengue hemorrhagic fever with the presence of dengue virus in Ae. aegypti.

Incidence Rate (IR) Demam Berdarah Dengue di Kabupaten Sumba Barat Daya dan Kabupaten Sumba Timur pada tahun 2015 masing-masing sebesar 10,7‰ dan 12,95‰. Fenomena yang sering ditemukan selama ini adalah transmisi trans-ovari virus dengue pada nyamuk Ae. aegypti. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui adanya infeksi virus dengue pada nyamuk Ae. aegypti melalui trans-ovari. Penelitian ini merupakan studi deskriptif dengan desain potong lintang. Sampelnya adalah nyamuk Ae. aegypti dewasa yang telah berumur delapan sampai 10 hari. Pemeriksaan virus Dengue dalam tubuh nyamuk menggunakan metode Imunositokimia Streptavidin Biotin Peroxidase Complex (ISBPC) pada sediaan head squash. Hasil penelitian infeksi virus dengue pada Ae. aegypti betina maupun jantan di Kabupaten Sumba Barat Daya menunjukkan adanya infeksi virus dengue melalui trans-ovari dengan Transovarial Infection Rate pada nyamuk betina berkisar antara 41,67% - 41,92, dan pada nyamuk jantan 25,00 – 50,00%. Transovarial Infection Rate di Kabupaten Sumba Timur pada nyamuk betina yang berkisar antara 20,00% - 40,00% dan pada nyamuk jantan 35,00% - 40,00%. Kesimpulannya Kabupaten Sumba Barat Daya dan kabupaten Sumba Timur merupakan daerah yang berpotensi untuk terjadinya penularan DBD dengan ditemukannya infeksi virus dengue pada nyamuk Ae. aegypti betina maupun jantan.

PENDAHULUAN

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh virus dengue dari genus *Flavivirus*, famili *Flaviviridae*.¹ Penyakit ini ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* sebagai vektor utama dan *Aedes albopictus* sebagai vektor sekunder.² Manifestasi klinis DBD ditandai dengan gejala demam selama dua sampai tujuh hari yang disertai dengan terjadinya perdarahan, penurunan trombosit, dan hemokonsentrasi.² Penderita juga akan mengalami kebocoran plasma yang meliputi peningkatan hematokrit, asites efusi pleura dan hipoalbuminemia.² Dalam beberapa kasus DBD, penderita hanya menunjukkan gejala klinis umum seperti nyeri kepala, nyeri otot dan tulang, ruam kulit atau mengalami rasa nyeri di belakang bola mata.²

Kejadian DBD di Propinsi Nusa Tenggara Timur (NTT) tergolong cukup tinggi. Nilai *Incidence Rate* (IR) di provinsi ini dilaporkan bervariasi, yaitu mencapai 103,8‰ pada tahun 2012, selanjutnya turun menjadi 60,3‰ pada tahun 2013 dan 9,8‰ pada tahun 2014.³ Kendati demikian, penyebaran DBD di provinsi ini harus tetap mendapat perhatian. Di antara empat kabupaten yang berada di Pulau Sumba, Kabupaten Sumba Timur tercatat sebagai kabupaten dengan kasus DBD yang relatif tinggi dengan nilai IR mencapai 7,6‰ pada tahun 2013. Walaupun nilai IR pada tahun 2014 turun 0,8‰ tetapi kembali terjadi peningkatan pada tahun 2015 hingga mencapai 12,95‰.⁴

Ae. aegypti dikenal sebagai nyamuk domestik yang terdistribusi di daerah perkotaan yang hidup di dalam dan di sekitar rumah, sedangkan nyamuk *Ae. albopictus* berkembang biak di kebun atau semak-semak di daerah pedesaan.²

Habitat perkembangbiakan *Aedes sp* adalah tempat penampung air baik di dalam rumah dan di luar rumah seperti drum, tempayan, bak mandi, bak wc dan ember.⁵ Tempat yang tidak berfungsi sebagai

penampung air juga dapat menjadi habitat perkembangbiakan *Aedes sp*. seperti tempat minum burung, vas bunga, perangkap semut bak pembuangan air, tempat penampungan air kulkas dan dispenser.⁶ Barang-barang bekas dan tempat penampungan air alami seperti lubang pohon, lubang batu, pelepah daun, tempurung kelapa dan potongan bambu juga merupakan habitat perkembangbiakan *Aedes sp*.⁷

Virus Dengue pertama kali masuk ke dalam tubuh nyamuk setelah mengisap darah penderita DBD.⁸ Virus Dengue dapat tumbuh dan berkembang biak dalam tubuh nyamuk *Ae. aegypti* di alam tanpa menimbulkan kematian pada nyamuk karena tidak terbentuk *cytopathic effect*.⁸ Kemampuan virus dengue untuk mempertahankan keberadaannya di alam dilakukan melalui dua mekanisme yaitu transmisi horizontal antara vertebrata viremia yang ditularkan oleh nyamuk *Aedes* dan dengan transmisi vertikal (trans-ovari) yaitu dari nyamuk infektif ke generasi berikutnya.⁸ Di Kota Yogyakarta dilaporkan adanya transmisi virus dengue secara trans-ovari pada nyamuk *Ae. aegypti* yang dilakukan dengan menggunakan metode *Imunositokimia Streptavidin Biotin Peroksidase Complex* (ISBPC).⁹

Hasil penelitian di India menemukan adanya *transovarial transmission* (transmisi trans-ovari) pada nyamuk *Ae. aegypti*, bahkan pada penelitian tersebut sampai keturunan ke-7 masih bisa ditemukan adanya trans-ovari virus Dengue-3 yang cukup tinggi yaitu 12,6%.¹⁰ Trans-ovari virus Dengue-2 pada nyamuk *Ae. aegypti* di Malaysia masih ditemukan sampai nyamuk keturunan ke-5.¹¹ Penelitian di Kupang ditemukan adanya transmisi trans-ovari sebesar 20%.¹²

Transmisi trans-ovari virus Dengue pada nyamuk menyebabkan rantai penularan virus Dengue pada nyamuk tidak akan terhenti seperti hasil penelitian di India.¹⁰ Penelitian tersebut menyatakan bahwa virus Dengue pada nyamuk *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus*

dapat ditemukan sepanjang tahun yaitu pada musim dingin, semi, panas dan gugur.¹⁰ Mekanisme pertahanan ini menyebabkan penularan DBD akan terus terjadi sehingga harus dilakukan pengendalian yang secara menyeluruh pada stadium pra dewasa, nyamuk dewasa dan penanganan penderitanya.¹³ Sampai sekarang obat dan vaksin untuk mengobati dan mencegah penyakit DBD belum ada.² Transmisi trans-ovari virus Dengue pada nyamuk *Ae. aegypti* berperan dalam meningkatkan dan mempertahankan epidemik dengue.¹³ Oleh karena itu pengetahuan tentang infeksi virus trans-ovari *Ae. aegypti* diperlukan dalam upaya untuk mencegah dan mengendalikan penyakit DBD.

Deteksi transmisi trans-ovari virus Dengue pada nyamuk vektor dapat menjadi salah satu bagian penting dalam kegiatan survei epidemiologi penyakit DBD, serta dapat digunakan dalam pengembangan untuk melengkapi sistem kewaspadaan dini dalam mengantisipasi tersebarnya penularan virus dengue pada manusia dan munculnya kasus DBD baru yang sebelumnya tidak terdapat kasus DBD.¹⁴ Artikel ini bertujuan untuk mengetahui adanya infeksi virus Dengue pada nyamuk *Ae. aegypti* melalui trans-ovari di Kabupaten Sumba Barat Daya dan Sumba Timur.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini termasuk studi deskriptif dengan pendekatan potong lintang. Kegiatan penelitian ini telah disetujui oleh komisi etik Badan Litbangkes dengan nomor sertifikat No:LB.02.01/5.2/KE.143/2016. Penelitian ini merupakan salah satu bagian dari penelitian Deteksi Transmisi Virus Dengue melalui trans-ovari pada Nyamuk *Aedes Aegypti* di Kabupaten Sumba Barat Daya dan Sumba Timur tahun 2016.

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari sampai September 2016 di Kabupaten Sumba Timur dan Sumba Barat Daya. Setiap Kabupaten diwakili tiga lokasi yang mempunyai kasus DBD dan setiap lokasi dipilih 100 rumah.

Populasi penelitian adalah semua nyamuk *Ae. aegypti* pra dewasa yang tersebar di lokasi yang telah ditentukan. Sampel penelitian adalah nyamuk *Ae. aegypti* dewasa yang berumur delapan sampai 10 hari. Pemilihan sampel dilakukan secara *purposive sampling*. Sampel nyamuk dikoleksi dengan cara memasang perangkap telur di 100 rumah penduduk pada daerah dengan kasus DBD tertinggi.

Koleksi nyamuk *Aedes* sp. pra dewasa dilakukan pada tempat-tempat penampungan air (TPA) yang berpotensi sebagai tempat perkembangbiakan *Aedes* sp. Pemasangan perangkap telur (*ovitrap*) dilakukan di dalam dan di luar rumah. Hasil koleksi nyamuk pra dewasa dan telur dari hasil *ovitrap* dikolonisasi di laboratorium di Kabupaten Sumba Timur dan di laboratorium Loka Litbang P2B2 Waikabubak. Larva *Ae. aegypti* selanjutnya dipelihara menjadi nyamuk dewasa. Setelah berumur delapan sampai dengan 10 hari, semua nyamuk dibawa ke laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada untuk dianalisis lebih lanjut. Variabel penelitian yang diamati adalah transmisi virus dengue pada nyamuk *Ae. aegypti*. Pemeriksaan virus Dengue menggunakan metode *Imunositokimia Streptavidin Biotin Peroxidase Complex* (ISBPC) dengan antibodi monoklonal DSSC7 (1 : 50) sebagai antibodi primer pada sediaan *head squash* yang telah dikembangkan dan dibakukan oleh Umniyati.⁹

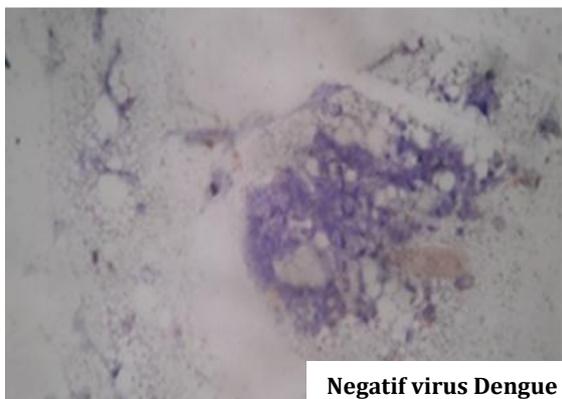
Nyamuk dinyatakan positif terinfeksi secara trans-ovari apabila antigen virus terdeteksi pada sampel (sediaan *head squash*) yang ditandai dengan terbentuknya warna coklat di bagian jaringan otak dan serabut syaraf (sitoplasmanya) atau terdapat granula-granula berwarna coklat di sekitar sel. Sebaliknya, nyamuk dinyatakan negatif apabila tidak terdapat antigen virus yang terdeteksi pada sampel yang ditandai dengan warna biru atau pucat di sekitar sel. Ditinjau dari risiko penularan DBD, maka daerah dengan sampel positif menunjukkan hubungan yang sangat kuat dan berpola positif, artinya semakin tinggi

persentasi *transovarial infection rate* (TIR) semakin tinggi pula kasus DBD.¹⁵

Analisis data dilakukan secara deskriptif dalam bentuk tabel dan persentase yang menggambarkan nilai transmisi trans-ovari pada *Ae. aegypti*.

HASIL

Nilai TIR menunjukkan jumlah nyamuk yang mengandung antigen virus Dengue di dalam tubuhnya. Hasil deteksi ini ditandai dengan warna coklat pada sediaan sampel yang diperiksa (Gambar 1).



Gambar 1. Perbandingan Hasil Pemeriksaan Imunositokimia Sediaan Head Squash Positif dan Negatif Virus Dengue pada *Ae. aegypti*

Pada penelitian ini, TIR tertinggi di Kabupaten Sumba Timur dideteksi pada dua lokasi dengan jenis kelamin nyamuk yang berbeda (Tabel 1). Nilai TIR tertinggi pada nyamuk jantan terjadi di Kelurahan Prailiu (40,00%) sedangkan pada nyamuk betina diperoleh dari Kelurahan Matawai (40,00%). Adapun nilai TIR terendah diperoleh di

Kelurahan Prailiu pada nyamuk betina (11,11%).

Hasil deteksi antigen virus dengue pada nyamuk *Ae. aegypti* di Kabupaten Sumba Barat Daya juga menunjukkan bahwa nyamuk jantan dan betina telah terinfeksi virus dengue secara trans-ovari. Nilai TIR tertinggi dideteksi pada nyamuk betina yang tersebar di Kelurahan Tambolaka (50,00%), sedangkan nilai terendah diperoleh pada nyamuk jantan di Kelurahan Langgalero B (25,00%).

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Deteksi Virus Dengue dengan Metode ISBPC di Kabupaten Sumba Timur, Tahun 2016

Lokasi	Jenis Nyamuk	Jumlah Nyamuk yang Diperiksa	Jumlah Nyamuk Positif Virus Dengue	TIR (%)
Prailiu	Betina	30	3	11,11
	Jantan	40	12	40,00
Kamala	Betina	20	4	20,00
Puti	Jantan	20	7	35,00
Matawai	Betina	30	12	40,00
	Jantan	20	7	35,00

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Deteksi Virus Dengue dengan Metode ISBPC di Kabupaten Sumba Barat Daya, Tahun 2016

Lokasi	Jenis Nyamuk	Jumlah Nyamuk yang Diperiksa	Jumlah Nyamuk Positif Virus Dengue	TIR (%)
Langgalero A	Betina	48	23	47,92
	Jantan	48	20	41,67
Langgalero B	Betina	24	10	41,67
	Jantan	24	6	25,00
Kota	Betina	36	17	47,22
Tambolaka	Jantan	24	12	50,00

PEMBAHASAN

Hasil deteksi transmisi virus dengue pada nyamuk *Ae. aegypti* di Kabupaten Sumba Timur dan Sumba Barat Daya menunjukkan terjadinya penularan virus Dengue secara trans-ovari baik pada nyamuk jantan maupun betina. Transmisi virus Dengue secara vertikal pada *Ae. aegypti* telah dilaporkan dari berbagai daerah di seluruh dunia dengan geografis yang berbeda. Transmisi vertikal virus Dengue-2 dan Dengue-3 di Brazil ditemukan dalam populasi *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus*.¹⁶ Di wilayah Asia adanya transmisi trans-ovari

dilaporkan di Myanmar berupa virus Dengue serotipe 2 yang ditemukan pada nyamuk *Ae. Aegypti*.¹⁷ Penelitian lainnya di Malaysia melaporkan bahwa transmisi trans-ovari virus Dengue terjadi pada nyamuk *Ae. aegypti* namun tidak terjadi pada nyamuk *Ae. albopictus* sampai ke generasi kelima.¹¹ Hasil uji secara laboratorium di Bangkok juga menunjukkan adanya penularan secara trans-ovari virus Dengue-2 pada nyamuk *Ae. aegypti* dengan perbedaan warna gelap dan terang secara morfologi sampai generasi ketiga¹⁸. Virus Dengue-4 juga telah terbukti menular secara trans-ovari pada nyamuk *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus* di Pakistan.¹⁹

Bukti ilmiah terjadinya penularan virus Dengue secara trans-ovari pada nyamuk *Ae. aegypti* di Indonesia pertama kali dilaporkan di Yogyakarta dengan angka infeksi trans-ovari sebesar 27,27%.²⁰ Penelitian lainnya di Kota Manado sebanyak 24 ekor nyamuk dari 48 ekor nyamuk yang diperiksa, diperoleh nilai TIR sebesar 39,1% - 70% sedangkan di Kabupaten Banjarnegara terjadi pada 21 ekor nyamuk positif antigen virus Dengue dari 223 ekor nyamuk yang diperiksa (9,41%).^{21,22} Transmisi ini secara eksperimental pernah dibuktikan bahwa virus Dengue dapat diturunkan dari induk yang terinfeksi ke kapsula dan sel telurnya dan dapat diisolasi virusnya dari larva nyamuk dari generasi berikutnya.²³

Hasil deteksi transmisi virus Dengue di Kabupaten Sumba Timur mencapai 40% dan di Sumba Barat Daya 50%. Hasil ini menunjukkan bahwa virus Dengue berpengaruh terhadap penularan dan peningkatan kasus DBD karena nyamuk *Aedes* sp. yang sudah terinfeksi virus dengue, akan tetap infeksi sepanjang hidupnya dan terus menularkan kepada individu yang rentan pada saat menggigit dan menghisap darah.²⁴ Adanya transmisi trans-ovari tersebut dapat menyebabkan virus Dengue terpelihara terus di alam dan penularan DBD akan tetap berlangsung.²⁵ Pada ketiga lokasi penelitian di Kabupaten Sumba Barat Daya indeks larva *Aedes* sp berada pada kategori kepadatan tinggi dengan *Density Figure* (DF) sebesar 8-9 dan Angka Bebas Jentik (ABJ) pada ketiga lokasi tersebut masih sangat kecil yaitu terendah di Kelurahan Langgalero A yaitu hanya sebesar 9,00% dan tertinggi di Kelurahan Kota Tambolaka yaitu sebesar 28%.²⁶ Kepadatan larva *Ae. aegypti* di Kabupaten Sumba Timur juga masuk dalam Kategori kepadatan tinggi dengan *Density Figure* (DF) sebesar 7-9 dan ABJ

tertinggi adalah di Kelurahan Prailiu yaitu sebesar 43% dan terendah di Kelurahan Kamala Putih yaitu sebesar 28%.²⁶ Kondisi ini memungkinkan terjadinya transmisi penyakit DBD yang tinggi.

Hasil identifikasi infeksi trans-ovari virus DEN pada sediaan *egg squash* (pencet telur) *Ae. aegypti* menunjukkan antigen DEN terdeteksi sebagai granula kecoklatan pada jaringan embrio dan hemosit, sedangkan pada sediaan *head squash* larva terdeteksi sebagai granula kecoklatan yang menyebar pada jaringan otak dan serabut syaraf. Granula kecoklatan yang menyebar di jaringan otak juga dijumpai pada sediaan *cephalothorax* pupa berdasarkan metode imunositokimia (SBPC) menggunakan antibodi monoklonal DSSC7.⁹ Penelitian ini berhasil membuktikan bahwa antibodi monoklonal DSSC7 dapat diaplikasikan untuk mendapatkan gambaran penularan trans-ovari yang berlanjut menjadi penularan transstadial virus DEN pada nyamuk *Ae. aegypti* dengan metode imunositokimia SBPC.⁹ Hasil penelitian ini menguatkan pendapat sebelumnya yang menyatakan bahwa nyamuk betina yang telah terinfeksi virus DEN pada ovariumnya dapat menularkan secara transovarial virus DEN pada progeninya.²⁷

Adanya transmisi virus Dengue pada nyamuk betina dan jantan di Kabupaten Sumba Timur dan Kabupaten Sumba Barat Daya menunjukkan perlunya kewaspadaan akan terjadinya penularan dan peningkatan kasus DBD. Selain itu, Kepadatan larva yang tinggi di kedua lokasi merupakan salah satu faktor risiko terjadinya penularan DBD sehingga perlu mendapatkan perhatian khusus.²⁸

Transmisi trans-ovari ini tidak membutuhkan adanya kontak antara nyamuk dengan penderita viremia. Nyamuk yang menetas dari telur yang terinfeksi tersebut akan mengandung virus yang sama dengan induknya. Hal inilah yang menyebabkan keberadaan virus Dengue tetap terpelihara di lingkungan sehingga menyebabkan kejadian DBD terus-menerus terjadi.⁷ Pengendalian nyamuk pada stadium larva perlu dilakukan secara rutin pada habitat perkembangbiakan potensial baik pada kontainer terkontrol dan sanitasi atau kebersihan lingkungan yang ditunjukkan oleh kontainer tidak terkontrol.²⁹

KESIMPULAN

Hasil penelitian yang dilakukan pada nyamuk *Ae. aegypti* betina maupun jantan di

Kabupaten Sumba Timur dan Kabupaten Sumba Barat Daya terbukti telah terinfeksi virus Dengue melalui transmisi trans-ovari. Hal ini menunjukkan bahwa kedua Kabupaten tersebut merupakan daerah yang berpotensi untuk terjadinya penularan DBD.

SARAN

Perlu dilakukan sistem kewaspadaan dini melalui pemantauan jentik secara berkala di Kabupaten Sumba Timur dan Kabupaten Sumba Barat Daya untuk mencegah terjadinya peningkatan kasus DBD melalui Pelaksanaan Pemberantasan Sarang Nyamuk seperti 3M plus.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kepala Pusat Penelitian Upaya Kesehatan Masyarakat yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melakukan penelitian. Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Sumba Timur dan Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Sumba Barat Daya yang telah mendukung selama pelaksanaan penelitian ini berlangsung. Teknisi laboratorium parasitologi UGM yang telah membantu dalam pemeriksaan sampel.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kurane I. Dengue hemorrhagic fever with special emphasis on immunopathogenesis. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2007;30(5-6):329-340. doi:10.1016/j.cimid.2007.05.010
2. Ditjen PP & PL Depkes RI 2013. Pedoman Pengendalian Demam Berdarah Dengue Di Indonesia. 2013:132. doi:614. Ind
3. Dinas Kesehatan Propinsi NTT. *Profil Kesehatan Provinsi Nusa Tenggara Timur Tahun 2004.* Kupang
4. Dinas Kesehatan Kabupaten Sumba Timur. *Profil Dinkes Sumba Timur Tahun 2016*
5. Surtees G. Mosquito Breeding in the Kuching Area, Sarawak, with Special Reference to the Epidemiology of Dengue Fever. *J Med Entomol.* 1970;7(2):273-276. doi:10.1093/jmedent/7.2.273
6. Ditjen PP & PL Depkes RI 2009. Buletin Jendela Epidemiologi, Volume 2, Agustus 2010. *Bul Jendela Epidemiol.* 2010;2.
7. Prasetyowati H, Kusumastuti NH, Hodijah DN. Kondisi Entomologi Dan Upaya Pengendalian Demam Berdarah Dengue Oleh Masyarakat Di Daerah Endemis Kelurahan Baros Kota

- Sukabumi. *ASPIRATOR - J Vector-borne Dis Stud.* 2014;6(1):29-34. doi:10.22435/aspirator.v6i1.3520.29-34
8. Candra A. Dengue Hemorrhagic Fever Epidemiology, Pathogenesis, and Its Transmission Risk Factors. *Aspirator J Vector Borne Dis Stud.* 2010;2(2):110-119. doi:10.22435/aspirator.v2i2.2951.
 9. Umniyati. S R. Teknik Imunositokimia dengan Monoklonal DSSC7 untuk Kajian Patogenesis Infeksi dan Penularan Transovarial Virus Dengue serta Surveilansi Virologis Vektor Dengue. 2009.
 10. Joshi V, Singhi M, Chaudhary RC. Transovarial transmission of dengue 3 virus by *Aedes aegypti*. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1996;90(6):643-644. doi:10.1016/S0035-9203(96)90416-2
 11. Lee HL, Rohani A. Transovarial transmission of dengue virus in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in relation to dengue outbreak in an urban area in Malaysia. *Dengue Bull.* 2005;29(August 1996):106-111.
 12. Wanti. Infeksi transovarial virus dengue pada nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* di Kota Kupang. *Bul Epidemiol Dinas Kesehat Propinsi NTT.* 2011;1(1):20-27.
 13. Akbar M.R et al. PCR Detection of Dengue Transovarial Transmissibility in *Aedes aegypti* in Bandung Indonesia. *Proc ASEAN Congr Trop Med Parasitol.* 3 (2) : 84 - 9. *Proc ASEAN Congr Trop Med Parasitol.* 2008;3(2):84-89.
 14. Pramestuti N, Widiastuti D, Raharjo J. Transmisi Transovari Virus Dengue pada Nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* di Kabupaten Banjarnegara. *J Ekol Kesehat.* 2013;12(3):187-194.
 15. Sambuaga JVI, Satoto TBT. Hubungan Transovarial Infection Rate Dengan Incidence Rate Demam Berdarah Dengue Di Kelurahan Perkamil Kota Manado. *J Kesehat Lingkung.* 2015.
 16. Martins VEP, Alencar CH, Kamimura MT, et al. Occurrence of natural vertical transmission of dengue-2 and dengue-3 viruses in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Fortaleza, Ceará, Brazil. *PLoS One.* 2012;7(7):1-9. doi:10.1371/journal.pone.0041386
 17. Khin MM, Than KA. Transovarial Transmission of Dengue-2 Virus by *Aedes aegypti* in Nature. *Am J Trop Med Hyg.* (1983)32: 590 - 4.
 18. Wasinpiyamongkol L, Thongrungrat S, Jirakanjanakit N, Apiwathnasorn C. Susceptibility and transovarial transmission of dengue virus in *Aedes aegypti*: a preliminary study of morphological variations. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2003;34 Suppl 2(Suppl 2):131-135.

19. Khan J, Khan I, Ali I, Iqbal A, Salman M. The role of vertical transmission of dengue virus among field-captured *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes in Peshawar, Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *Pak J Zool.* 2017;49(3):777-784. doi:10.17582/journal.pjz/2017.49.3.777.784
20. Sorisi AMH, Umniyati SR, Satoto TBT. Transovarial transmission index of dengue virus on *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes in Malalayang District in Manado, North Sulawesi, Indonesia. *Trop Med J.* 2010;01(02):87-95.
21. Mosesa LP, Sorisi A, Pijoh VD. Deteksi transmisi transovarial virus dengue pada *Aedes aegypti* dengan teknik imunositokimia di Kota Manado. *J e-Biomedik.* 2016;4(1). doi:10.35790/ebm.4.1.2016.10846
22. Pramestuti N, Anggun D, Djati P. Distribusi Vektor Demam Berdarah Dengue (Dbd) Daerah Perkotaan Dan Perdesaan Di Kabupaten Banjarnegara. *Bul Penelit Kesehatan.* 2013;41(3):163-170.
23. Rosen, L., et al. Transovarial Transmission of Dengue Viruses by Mosquitoes: *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*. *Am J Trop. Med Hyg* 1983; 32(5): 1108-1119
24. WHO. Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control : new edition. In: New Editio. World Health Organization; 2009.
25. Widiastuti D, Kesuma A, Pramestuti N. Indeks Entomologi Dan Transmisi Transovari Yang Mendukung Peningkatan Kasus Demam Berdarah Dengue Di Kabupaten Banjarnegara. *SPIRAKEL.* 2017;8. doi:10.22435/spirakel.v8i1.6136.30-37
26. Willa RW, Kazwaini M, Noshirma M, et al. Laporan Penelitian Deteksi Transmisi Virus Dengue Melalui Transovarial Pada Nyamuk *Ae. Aegypti* Di Kabupaten Sumba Timur Dan Sumba Barat Daya; *Laporan Penelitian.* Loka Litbang P2B2 Waikabubak.2016.
27. Desiree M, Prasetyowati H. Transmisi Transovarial Virus Dengue Pada Telur Nyamuk *Aedes Aegypti* (L .) Transovarial Transmission of Dengue Virus on *Aedes aegypti* (L .). *ASPIRATOR.* 2012;4(2):53-58.
28. Tomia A, Hadi UK, Soviana S, et al. Maya Index dan Kepadatan Larva *Aedes aegypti* di Kota Ternate, Maluku Utara. 2019:133-142.
29. Dhewantara PW, Dinata A. The Maya Index Analysis on Dengue Patient Household in Banjar City, 2012. *Balaba J Litbang Pengendali Penyakit Bersumber Binatang Banjarnegara.* 2015;11(1):1-8. doi:10.22435/blb.v11i1.4148.1-8

