

VEKTOR MALARIA BARU DI KABUPATEN KOTABARU, PROVINSI KALIMANTAN SELATAN, INDONESIA

Liestiana Indriyati, Dicky Andiarsa[✉], Budi Hairani, Paisal
Balai Litbang P2B2 Tanah Bumbu Kementerian Kesehatan RI
Kawasan Perkantoran Pemerintah Daerah Kabupaten Tanah Bumbu,
Kalimantan Selatan, Indonesia
Email: andiarsa@gmail.com

THE NOVEL OF MALARIA VECTOR IN KOTABARU DISTRICT, SOUTH KALIMANTAN PROVINCE, INDONESIA

Naskah masuk :22 Januari 2016 Revisi I : 27 September 2016 Revisi II : 08 Maret 2017 Naskah Diterima :17 April 2017

Abstrak

Sekitar 400 spesies nyamuk Anopheles telah ditemukan 67 spesies dapat menularkan malaria dan 24 diantaranya ditemukan di Indonesia. Kotabaru merupakan kabupaten endemis malaria di Provinsi Kalimantan Selatan. Data mengenai spesies vektor malaria yang berperan pada suatu daerah sangat penting bagi tindak lanjut kebijakan pengendalian malaria. Penelitian bertujuan untuk mengetahui vektor malaria yang berperan di Kabupaten Kotabaru. Penentuan vektor dilakukan dengan pendekatan molekuler uji Nested Polymerase Chain Reaction (PCR). Penelitian deskriptif dengan desain cross sectional. Penangkapan nyamuk dilakukan di Desa Siayuh Trans dan Magalau Hulu, tambang emas Kura-Kura dan Desa Muara Uri dengan metode penangkapan umpan orang luar, umpan orang dalam, dinding rumah dan kandang ternak. Uji PCR dilaksanakan di laboratorium biomolekuler BBPPVRP Salatiga pada bulan Februari-April 2015. Hasil penangkapan nyamuk didapatkan 345 ekor nyamuk Anopheles terdiri dari 9 spesies: An. barbirostris, An. tesselatus, An. balabacensis, An. vagus, An. hyrcanus group, An. peditaeniatus, An. kochi, An. flavirostris, An. umbrosus. Seluruh nyamuk Anopheles yang didapatkan diidentifikasi spesiesnya kemudian dibuat 56 pool sampel Anopheles sp untuk diuji PCR. Hasil uji nested PCR terkonfirmasi 3 spesies Anopheles sebagai vektor malaria di Desa Siayuh Trans Kecamatan Bungkukan yaitu An. vagus, An. peditaeniatus dan An. tesselatus yang merupakan vektor malaria baru di Provinsi Kalimantan Selatan.

Kata Kunci: Malaria, vektor, Anopheles, PCR, Kalimantan Selatan

Abstract

Among 400 species of Anopheles mosquitoes, there are 67 species identified as malaria vectors, including 24 species found in the Indonesian archipelago. Kotabaru is one of malaria endemic districts in South Kalimantan Province. The aim of study was to investigate the malaria vectors distributed in Kotabaru based on molecular technique, Nested Polymerase Chain Reaction (nPCR). The cross sectional design and descriptive analysis were applied in this study. Anopheline were collected in Trans Siayuh and Magalau Hulu, Kura-kura and Muara Uri villages using outdoor and indoor human bite, resting and cattle shelter methods. The nPCR test was performed at the biomolecular laboratory of the Institute for Vector and Reservoir Diseases Research Development and Control Salatiga (BBPPVRP) in February-April 2015. The results demonstrated that nine species of 345 Anopheles mosquitoes have been successfully identified i.e. An. barbirostris, An. tesselatus, An. balabacensis, An. vagus, An. hyrcanus group, An. peditaeniatus, An. kochi, An. flavirostris, and An. umbrosus. All of field-caught mosquito Anopheles was grouped into 56 pool samples based on species and their locations, then they were tested using nPCR to detect Plasmodium sp content. The nPCR revealed that Plasmodium vivax was successfully detected from An. vagus, An. peditaeniatus and An. tesselatus indicating that they were new malaria vectors in South Kalimantan reported in the study.

Keywords: Malaria, vector, Anopheles, PCR, South Kalimantan

PENDAHULUAN

Malaria menyebabkan kematian satu hingga tiga juta orang setiap tahunnya, dan sebagian besar berada di wilayah endemis dan penderita banyak dari golongan anak dan wanita hamil (Geleta and Ketema, 2016). Menurut WHO tahun 2013, Indonesia memiliki kasus sebesar 61% dari total populasi yang merupakan gabungan dari transmisi tinggi dan transmisi rendah (WHO, 2014). Hasil Riset Kesehatan Dasar 2010, prevalensi malaria di Indonesia 0,6% dan merupakan penyebab kematian no.6 pada penyakit menular (Kemenkes, 2011).

Provinsi Kalimantan Selatan pada tahun 2011 terdapat malaria klinis sebanyak 21.740 kasus, dari 18.700 penduduk yang diperiksa 6.882 diantaranya positif malaria yang mengakibatkan 16 orang meninggal dunia. Kabupaten Kotabaru merupakan kabupaten endemis malaria di Kalimantan Selatan (Dinkes Kalsel, 2012). Meskipun pada tahun 2014 Kabupaten Kotabaru telah berada pada “zona kuning” yang berarti sudah mengalami penurunan kasus dari yang sebelumnya ber”zona merah” akan tetapi di beberapa daerah masih terdapat kantong-kantong malaria dengan API sangat tinggi yaitu: wilayah kerja Puskesmas Banian, Bungkukan dan Hampang (Dinkes Kotabaru, 2012) (Dinkes Kotabaru, 2013) (Dinkes Kotabaru, 2014)

Penularan malaria dilakukan oleh nyamuk betina dari genus *Anopheles*. Dari sekitar 400 spesies nyamuk *Anopheles* telah ditemukan 67 spesies yang dapat menularkan malaria dan 24 diantaranya ditemukan di Indonesia. (Harijanto, 2010) Nyamuk yang terkonfirmasi sebagai vektor malaria di Kalimantan adalah *An. balabacensis* dan *An. letifer* (Harijanto, 2010). Vektor malaria dominan di Provinsi Kalimantan Selatan antara lain *An.letifer*, *An.balabacensis*, *An.maculatus* dan *An.sundaicus* (Harijanto, 2010).

Hingga saat ini metode pembedahan kelenjar ludah secara mikroskopik masih merupakan metode *gold standart* untuk penentuan nyamuk vektor malaria meskipun sensitifitas dari uji *elisa* dan PCR lebih tinggi. Tujuan penelitian adalah mengetahui jenis *Anopheles* yang dapat berperan sebagai vektor malaria dengan uji PCR. Hasil penelitian akan dapat digunakan sebagai salah satu bahan rekomendasi bagi tindak lanjut kebijakan pengendalian malaria di Kabupaten Kotabaru, Kalimantan Selatan.

BAHAN DAN METODE

Penelitian deskriptif dengan desain *cross sectional* dilakukan di Kabupaten Kotabaru, Kalimantan Selatan dan BBPPVRP Salatiga. Penangkapan nyamuk dilakukan sepanjang malam (*all night collection*) di daerah endemis malaria di Desa Siayuh Trans dan

Magalau Hulu (Puskesmas Bungkukan), Tambang Emas Kura-kura (Puskesmas Banian) dan Desa Muara Uri (Puskesmas Hampang). Metode penangkapan nyamuk sesuai standar WHO antara lain dengan umpan orang luar (UOL), umpan orang dalam (UOD), dinding (DDG) dan kandang (KD). Uji PCR dilaksanakan di Laboratorium Biomolekuler Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit (BBPPVRP) Salatiga pada bulan Februari-April 2015.

Nyamuk *Anopheles sp* betina yang ditangkap di lapangan diidentifikasi terlebih dahulu (Gunathilaka, 2017) kemudian dipisahkan bagian kepala-dada dan abdomen untuk dilakukan konfirmasi vektor dengan uji PCR dengan menggunakan standar emas PCR bersarang Snounou (*Nested PCR*) (Singh *et al.*, 1999). Bahan yang digunakan dalam pengujian PCR yaitu *absolute ethanol*, *Phosphate Buffered Saline (PBS)*, *RNase (DNase)*, *Buffer TL*, *Proteinase K*, *Lysis enhancer*, *Buffer TB*, *Wash Buffer* dan *Elution buffer*.

Prosedur kerja uji PCR dimulai dengan ekstraksi DNA dari nyamuk *Anopheles sp* menggunakan *tissue DNA extraction kit* (Vivantis, Malaysia). Cara ekstraksi DNA yaitu tahapan pertama berupa persiapan jaringan sampel (*tissue preparation*) dengan memasukkan kepala-dada *Anopheles sp* ke dalam *pool* (dikumpulkan maksimal 15 ekor berdasarkan spesies, tanggal dan metode penangkapan) ke dalam *vial* 1,5 ml. Kemudian tahapan kedua penghancuran jaringan sampel (*tissue lysis*) dengan menambahkan 250 µl *buffer TL* dan 20 µl *Proteinase K* kemudian sampel digerus dengan elektrik grinder dan vortex untuk mendapatkan larutan yang homogen, lalu ditambah 12 µl *lysis enhancer* dan divortex kembali. Homogenat nyamuk diinkubasi selama 1-3 jam pada suhu 65°C. Tahapan ketiga yaitu homogenasi dengan menambahkan 2 volume *Buffer TB* dan divortex sampai larutan homogen. Sampel diinkubasi 10 menit pada suhu 65°C. Tahapan keempat yaitu penambahan *ethanol absolute* sebanyak 200 µl dan dicampur menggunakan vortex sampai larutan homogen. Tahap kelima yaitu memasukkan 600 µl sampel homogenate ke dalam tube, disentrifuse pada 5,000 rpm selama 1 menit. Cairan dalam tube dibuang dan diulangi tahapan mulai tahapan keempat penambahan *ethanol*. Tahapan keenam yaitu pencucian kolom (*column washing*) dengan 750 µl *wash buffer* dan disentrifuse pada 5,000 rpm selama 1 menit kemudian dibuang cairan dan pencucian kolom diulangi kembali, sampel kemudian disentrifus tahapan ke tujuh yaitu pengeringan kolom (*column drying*) dengan mensentrifuse kolom pada 10,000 rpm selama 1 menit untuk menghilangkan semua bekas *ethanol*. Tahapan ke delapan yaitu DNA *elution* dengan menempatkan

kolom ke mikrosentrifuse *tube* kemudian ditambahkan 200 µl *Elution buffer*, *TE buffer* dan air steril langsung ke dalam saringan kolom dan didiamkan dalam suhu ruang selama 2 menit. Sampel kemudian disentrifuse pada 5,000 rpm selama 1 menit untuk mengelusi DNA, kemudian DNA disimpan pada suhu 4°C-20°C.

DNA hasil ekstraksi diamplifikasi menggunakan *QIAamp DNA mini kit* (Qiagen, Amerika Serikat) yang terdiri atas *DNase free water*, *Buffer*, *dNTP*, *Primer F*, *Primer R*, *qiagen enzyme mix* dan sampel DNA. Uji PCR pada penelitian ini menggunakan metode *nested PCR* untuk penelitian epidemiologi oleh Snounou dalam Johnston *et al* (Johnston *et al.*, 2006). Pada siklus pertama digunakan primer spesifik genus *Plasmodium* PLU 1 (TCAAAGATT AAG CCA TCG AAG TGA) dan PLU 5 (CCT GTT GTT GCC TTA AAC TTC). Produk dari amplifikasi *nest* pertama lalu dijadikan sebagai sampel DNA untuk amplifikasi siklus kedua dengan primer spesifik PLU 3 (TTT TTA TAA GGA TAA CTA CGG AAA AGC TGT) dan PLU 4 (TAC CCG TCA TAG CCA TGT TAG GCC AAT ACC). Primer PLU 3 dan PLU 4 digunakan untuk memperkuat identifikasi DNA spesifik genus *Plasmodium*. Primer spesifik untuk identifikasi 4 spesies *Plasmodium* yang digunakan yaitu FAL 1 (TTA AAC TGG TTT GGG AAA ACC AAA TAT ATT) dan FAL 2 (ACA CAA TGA ACT CAA TCA TGA CTA CCC GTC) untuk *Plasmodium falciparum*,

VIV 1 (CGC TTC TAG CTT AAT CCA CAT AAC TGA TAC) dan VIV 2 (ACT TCC AAG CCG AAG CAA AGAAAG TCC TTA) untuk *Plasmodium vivax*, MAL 1 (ATAACA TAG TTG TAC GTT AAG AAT AAC CGC) dan MAL 2 (AAA ATT CCC ATG CAT AAAAAA TTA TAC AAA) untuk *Plasmodium malariae* dan OVA 1 (ACT TCT TTT GCT ATT TTT TAG TAT TGG AGA) dan OVA 2 (GGAAAA GGA CAC ATT TGT ATC CTA GTG) untuk *Plasmodium ovale*. (Singh *et al.*, 1999)

Hasil amplifikasi dideteksi dengan elektroforesis menggunakan gel agarosa 1 % yang diwarnai dengan ethidiom bromide. Sampel dinyatakan positif mengandung *Plasmodium sp* jika pada amplifikasi kedua pita menunjukkan 240 bp, positif mengandung *Plasmodium falciparum* jika pita menunjukkan 205 bp, positif mengandung *Plasmodium vivax* jika pita menunjukkan 117 bp, positif mengandung *Plasmodium malariae* jika pita menunjukkan 144 bp dan positif mengandung *Plasmodium ovale* jika pita menunjukkan 787 bp.

HASIL

Kegiatan penangkapan nyamuk didapatkan 9 spesies *Anopheles sp* di lokasi penelitian dan terkumpul menjadi 56 *pool* sampel *Anopheles sp* untuk diuji PCR. Pada setiap *pool* nyamuk telah diidentifikasi dan ditandai berdasarkan spesies, lokasi dan metode penangkapan seperti ditampilkan pada Tabel 1.

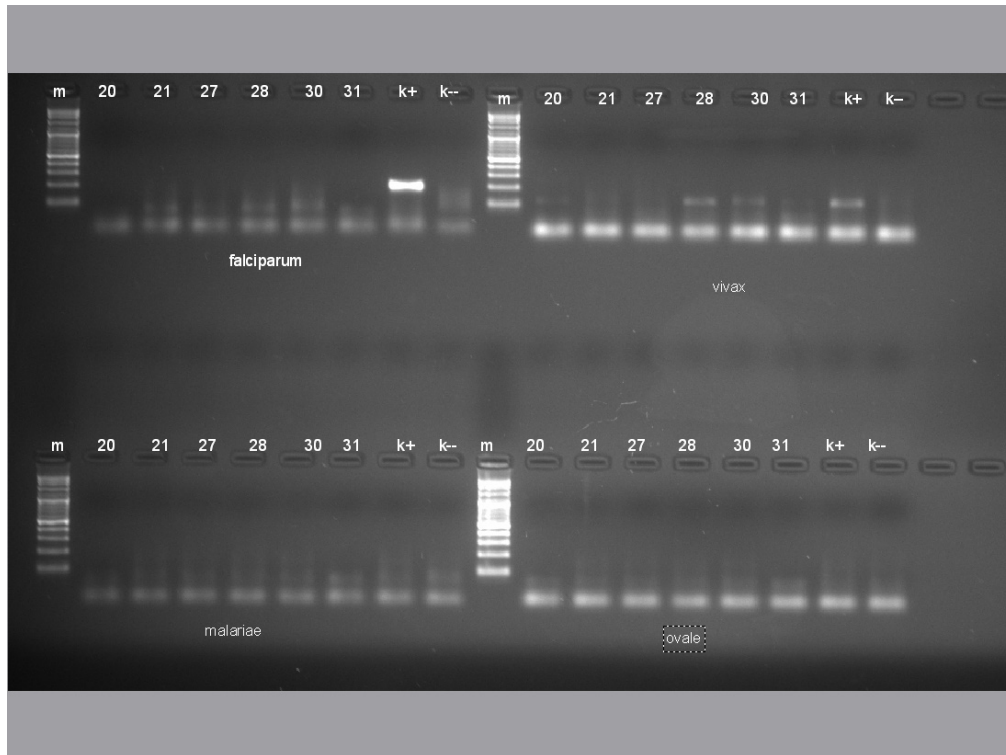
Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Spesies dan Pemeriksaan PCR Nyamuk *Anopheles sp* di Kabupaten Kotabaru Provinsi Kalimantan Selatan Tahun 2015

No	Kode Pooling	Lokasi Penangkapan	Metode Penangkapan	Spesies Nyamuk	Hasil PCR
1.	KS 1, KS 4, KS 8-20, KS 46-48.	Ds. Magalau Hulu, Muara Uri, Siayuh,	Ds. UOL, KD, DDG, Trans UOD.	<i>An. tessellatus</i>	KS 20 positif <i>P. vivax</i>
2.	KS 2, KS 3, KS 5, KS 22, KS 50.	Ds. Magalau Hulu, Muara Uri, Siayuh	Ds. UOL, DDG, KD, Trans	<i>An. leucosphyrus</i>	
3.	KS 6, KS 35-37, KS 39, KS 45.	Ds. Muara Uri, Siayuh.	Ds Trans UOD, UOL, DDG, KD.	<i>An. barbirostris</i>	
4.	KS 7	Kura-Kura Banian	UOL	<i>An. maculatus</i>	
5.	KS 21, KS 54-56.	Ds. Trans Siayuh	KD, DDG, UOD, UOL.	<i>An. nigerrimus</i>	
6.	KS 23-25.	Ds. Trans Siayuh	UOL, KD, UOD, DDG.	<i>An. flavirostris</i>	
7.	KS 27-29, KS 51-53.	Ds. Trans Siayuh	KD, UOL, DDG.	<i>An. peditaeniatus</i>	KS 28 positif <i>P. vivax</i>
8.	KS 30-34, KS 44.	Ds. Trans Siayuh	UOD, DDG, UOL, KD.	<i>An. vagus</i>	KS 30 positif <i>P. vivax</i>
9.	KS 40-43, KS 49.	Ds. Trans Siayuh	UOL, KD, DDG, UOD	<i>An. kochi</i>	

KS: Kode Sampel *pooling*

Berdasarkan hasil uji *nested* PCR pertama didapatkan hasil positif *Plasmodium sp* pada kode sampel nomor 20, 21, 27, 28, 30 dan 31 sedangkan pada *nested* kedua didapatkan positif *Plasmodium vivax* pada kode sampel nomor 20, 28 dan 30. Sedangkan pada nomor sampel 21, 27 dan 31 tidak terdeteksi positif dengan keempat jenis *Plasmodium* (*P.falciparum*, *P.vivax*, *P.malariae* dan *P.ovale*).

Penangkapan nyamuk yang dilakukan Desa Siayuh Trans dan Magalau Hulu (Puskesmas Bungkukan), Tambang Emas Kura-kura (Puskesmas Banian) dan Desa Muara Uri (Puskesmas Hampang) selama dua malam mendapatkan 9 spesies nyamuk *Anopheles*, spesies *Anopheles* dominan adalah *An. tesselatus* dan *An. vagus*. (Tabel 2.)



Gambar 1. Pita Nested PCR presipitasi etidium bromide pada agarose gel

Keterangan :

1. m : marker
2. no. 20, 21, 27, 28, 30, 31 : sampel DNA hasil ekstraksi
3. k + : kontrol positif
4. k - : kontrol negatif
5. nomor yang dilingkari (20, 28, 30) : positif spesies *P. vivax*

Tabel 2. Hasil penangkapan nyamuk di Desa Siayuh Trans, Magalau Hulu, Tambang Emas Kura-kura dan Desa Muara per titik pengambilan Tahun 2015.

Spesies	UOD	Dinding	UOL	Kandang	Total
<i>An. barbirostris</i>	3	2	4	7	16
<i>An. tesselatus</i>	22	32	43	98	195
<i>An. balabacensis</i>	0	0	1	1	2
<i>An. vagus</i>	3	5	20	20	48
<i>An. hyrcanus group</i>	2	0	9	5	16
<i>An. peditaeniatus</i>	0	2	4	8	14
<i>An. kochi</i>	6	9	11	11	37
<i>An. flavirostris</i>	2	0	2	2	6
<i>An. umbrosus</i>	0	1	5	5	11
Total	38	3	99	157	345

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menemukan 3 spesies *Anopheles* yang positif *Plasmodium vivax* pada pemeriksaan PCR yaitu *Anopheles vagus*, *Anopheles peditaeniatus* dan *Anopheles tessellatus*. Keterbatasan dari penelitian ini tidak melakukan uji silang dengan metode *gold standart* yaitu pemeriksaan mikroskopik kelenjar ludah nyamuk yang dibedah, namun demikian pada pemeriksaan PCR digunakan primer dengan kualitas yang baik. Penelitian Krogstad *et al* menunjukkan bahwa hasil pemeriksaan molekuler memiliki perkiraan lebih tinggi dibandingkan dengan metode mikroskopik. (Krogstad *et al.*, 2015)

Penentuan vektor menggunakan PCR semakin dikembangkan dengan berbagai metode pemeriksaan. Dalam sebuah penelitian yang membandingkan berbagai metode PCR, pemeriksaan PCR tunggal dinyatakan kurang sensitif dalam mendeteksi Plasmodium, sedangkan metode PCR bersarang/nested *Snounou* dan metode *Taqman assay* diklaim mampu mendeteksi keempat spesies *Pasmodium* pada manusia. (Bass *et al.*, 2008) Metode bersarang *Snounou* baik dilakukan pada DNA yang berasal dari spesimen nyamuk yang telah disimpan pada *silica gel* seperti pada penelitian ini, akan tetapi tidak dapat diterapkan pada DNA yang berasal dari spesimen yang telah disimpan dalam etanol atau isopropanol. (Bass *et al.*, 2008) Dua kelemahan dari pendekatan PCR bersarang/nested adalah memerlukan dua putaran PCR sehingga menurunkan jumlah sampel yang dapat diperiksa per hari dan meningkatkan biaya uji. (Bass *et al.*, 2008) Meskipun begitu, metode PCR dinyatakan lebih efektif sebagai alat penentu vektor malaria, karena dapat mendeteksi sedikitnya 10 *sporozoit* dalam kelenjar ludah *Anopheles* dibandingkan dengan 200-400 *sporozoit* yang diperlukan oleh CS antigen. Sebuah hasil penelitian menyatakan bahwa *sporozoit* yang ditemukan di kelenjar ludah *An.gambiae* berkisar 125-79.875 dengan rata-rata geometris 1.743 *sporozoit*. (Dormond *et al.*, 2011)

Beberapa fakta menyebutkan bahwa *sporozoit plasmodium* hanya dapat berkembang dan melalui kelenjar saliva nyamuk karena reseptor dari saliva yang spesifik, artinya pada beberapa spesies nyamuk tertentu hanya dapat membawa *sporozoit plasmodium* pada kelenjar salivanya sementara spesies lainnya tidak. (Ghosh *et al.*, 2009)

Vektor utama malaria menurut beberapa literatur hasil penelitian di beberapa negara Asia Tenggara termasuk Indonesia adalah *Anopheles sundaicus*, (Raghavendra *et al.*, 2011) (Hay *et al.*, 2010) (Manguin *et al.*, 2008) *An. subpictus*, (Raghavendra *et al.*, 2011) *An. barbirostris*, (Raghavendra *et al.*, 2011) *An. aconitus*, (Raghavendra *et al.*, 2011) *An. maculatus*, (Raghavendra

et al., 2011) dan *An. dirus*. (Manguin *et al.*, 2008) (Theobald, 2004) *Anopheles balabacensis* mendominasi sebagian besar pulau Kalimantan, namun beberapa wilayah di pedalaman ditularkan oleh *An. barbirostris* kompleks dan *An. leucospyrus* serta *An. sundaicus* kompleks di wilayah pesisir. (Sinka *et al.*, 2012) Hal ini sangat berbeda dengan temuan pada penelitian ini, perbedaan lokasi survei, ekoetiologi, dan pola menggigit nyamuk bisa memberikan hasil berbeda. (Theobald, 2004) (Della Torre *et al.*, 2002) *Anopheles vagus* merupakan vektor sekunder dari dua atau lebih patogen penyakit termasuk malaria, namun vektor potensial malaria di wilayah Mekong. (Rueda, Pecor and Harrison, 2011) *Anopheles peditaeniatus* merupakan tersangka vektor malaria di Thailand dan telah dikonfirmasi sebagai vektor sekunder virus *Japanese Encephalitis* (JE) di China dan India, bahkan bisa sebagai vektor potensial *Brugia malayi* pada eksperimen di Thailand. (Saeung *et al.*, 2012) *An. tessellatus* sendiri merupakan vektor alami baik *Plasmodium vivax* maupun *P. falciparum* di wilayah Sri Lanka. (Asoka *et al.*, 1993)

Hasil penelitian di Indonesia, *An.barbirostris* telah dikonfirmasi sebagai vektor malaria di Sulawesi dan Nusa Tenggara dan *An.flavirostris* telah dikonfirmasi sebagai vektor malaria di Sulawesi. (Hoedjo., 1989) Selain *An.barbirostris*, *An.vagus* juga juga dikonfirmasi sebagai vektor di berbagai provinsi di Indonesia, antara lain Nusa Tenggara Timur (NTT), Sulawesi Selatan dan Sulawesi Tenggara (Veridiana, 2009). Hasil penelitian Kazwaini di Pulau Sumba, beberapa spesies *Anopheles sp* yang dikonfirmasi sebagai vektor berdasarkan hasil uji *Elisa* yaitu *An.barbirostris*, *An.vagus*, *An.tessellatus*, *An.indefinitus*, *An.subpictus* dan *An.sundaicus* (Kazwaini, 2013).

Hasil berbeda ini bisa terjadi karena beberapa kondisi seperti perbedaan lokasi endemis malaria bisa memiliki spesies vektor yang berbeda. Desa Siayuh Trans Kecamatan Bungkukan sudah sejak lama menjadi wilayah endemis malaria namun belum pernah dilakukan konfirmasi vektor di wilayah tersebut. Desa Magalau Hulu dan Muara Uri tidak ditemukan nyamuk vektor, hal ini mungkin nyamuk yang ditangkap di wilayah tersebut sedikit, sehingga sampel tidak cukup untuk dilakukan konfirmasi. Kondisi lain saat kepadatan spesies nyamuk tertentu lebih dominan dari yang lain, didukung pula dengan sifat *anthropophilic*, maka kemungkinan besar bisa berperan sebagai vektor potensial di daerah tersebut (Almeida *et al.*, 2008) (Klein, Lima and Tang, 1992), meskipun demikian hal ini tidak dapat selalu dipastikan terutama pada wilayah dengan insiden malaria yang rendah. (Trung *et al.*, 2005)

Perilaku menggigit dapat dilihat dari hasil penangkapan pada setiap titik. *Anopheles peditaeniatus* yang terdeteksi mengandung *P. vivax*, merupakan hasil penangkapan di luar rumah, sedangkan *An. vagus* ditangkap di dalam rumah, dan *An. tessellatus* ditemukan di kandang ternak. Hasil berbeda dengan penelitian di Malaysia yang menyebutkan *An. peditaeniatus* paling sering ditemukan di luar rumah, sedangkan *An. vagus* dan *An. tessellatus* paling sedikit ditemukan di wilayah survey (Hassan *et al.*, 2001). Hal ini disebabkan oleh spesies nyamuk menghindari kompetisi dengan spesies yang lain dalam mencari sumber darah *host* vertebrata atau ada perbedaan perilaku menggigit pada ketiga spesies nyamuk, hal ini perlu dikaji lebih lanjut. Penelitian di India Selatan menyimpulkan perbedaan menggigit berdasarkan waktu menggigit merupakan kemampuan adaptasi nyamuk untuk menghindari kompetisi diantara mereka (Paramasivan, P and R, 2015).

Penelitian potong lintang ini dilakukan saat akhir musim hujan, kemunculan nyamuk terbanyak bisa tergantung pada kondisi lingkungan seperti curah hujan, suhu, kelembaban, dan ketersediaan tempat perindukan bagi larva. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *An. vagus* dan *An. tessellatus* merupakan nyamuk terbanyak yang ditemukan. Penelitian di Sri Lanka yang menunjukkan puncak kepadatan nyamuk sebagian besar berada pada sesaat setelah curah hujan menurun, karena saat curah hujan diatas 400 mm per bulan, akan meningkatkan debit air dan arus yang kencang sehingga berbahaya bagi larva nyamuk dan mengakibatkan kematian (Gunathilaka *et al.*, 2015).

Karakteristik wilayah Desa Siayuh Trans dengan kondisi tanah dipenuhi dengan bebatuan kapur yang digenangi air dan banyak terdapat rawa-rawa di setiap sudut desa, dan persawahan merupakan faktor risiko utama dalam penunjang kejadian malaria di desa tersebut dengan genangan air dari bebatuan kapur dan rawa-rawa merupakan habitat yang sangat potensial bagi perkembangbiakan nyamuk *Anopheles sp* sehingga hal itulah yang menyebabkan banyaknya ragam spesies dan tingginya kepadatan *Anopheles sp* di lokasi tersebut. (Indriyati, Sembiring and Rosanji, 2017), (Rueda, Pecor and Harrison, 2011). Sedangkan di lokasi lainnya yaitu di Tambang Emas Kura-kura Banihan, tromol dan tempat pencucian emas bekas menjadi habitat perkembangbiakan spesifik di lokasi tersebut dengan *An.leucosphyrus* sebagai spesies dominan meskipun dengan kepadatan yang rendah. (Indriyati *et al.*, 2016). (Indriyati, Yuana and Andiarsa, 2016)

Hasil penelitian sebelumnya menyatakan bahwa vektor malaria di Provinsi Kalimantan Selatan adalah *An.letifer*; *An.balabacencis*, *An.maculatus*

dan *An.sundaicus*.(Harijanto, 2010) maka hasil dari penelitian ini jelas memberikan laporan adanya vektor malaria baru dilaporkan di wilayah Kabupaten Kotabaru yaitu *An.vagus*, *An.peditaeniatus* dan *An.tesselatus* yang perlu menjadi perhatian bagi program untuk dilakukan survei lanjutan. Konfirmasi ini didukung oleh laporan munculnya kasus malaria baru yang terjadi di daerah tersebut setelah uji PCR ini dilaksanakan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Hasil uji secara molekuler menemukan 3 spesies *Anopheles* berperan sebagai vektor malaria di Desa Siayuh Trans Kecamatan Bungukuran yaitu *Anopheles vagus*, *Anopheles peditaeniatus* dan *Anopheles tessellatus* yang merupakan vektor malaria baru dilaporkan di Provinsi Kalimantan Selatan.

Saran

Hasil penelitian memberikan informasi untuk melakukan pengendalian dan pencegahan penularan malaria di wilayah tersebut terutama dengan fokus pada ketiga vektor yang ditemukan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada Kepala Balai Litbang P2B2 Tanah Bumbu dan Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Kotabaru yang telah memberikan kesempatan dan kepercayaan kepada tim peneliti untuk melakukan penelitian ini. Kepala B2P2VRP Salatiga yang telah meminjamkan fasilitas laboratorium Biomolekuler untuk kegiatan pemeriksaan PCR. Demikian juga terima kasih kepada Kepala dan Pengelola Program Malaria Dinas Kesehatan Kabupaten Kotabaru, pengelola program malaria Puskesmas Bungukuran, Banihan dan Hampang Kabupaten Kotabaru serta teman-teman dari Balai Litbang P2B2 Tanah Bumbu yang membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Almeida, A. P. G., Galão, R. P., Sousa, C. A., Novo, M. T., Parreira, R., Pinto, J., Piedade, J. and Esteves, A. (2008) 'Potential mosquito vectors of arboviruses in Portugal: species, distribution, abundance and West Nile infection.', *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 102(8), pp. 823–32. doi: 10.1016/j.trstmh.2008.03.011.
- Asoka, C., Gamage-Mendis, Rajakaruna, J., Weerasinghe, S., Mendis, C., Carte, R. and Mendis*, K. N. (1993) 'Infectivity of *Plasmodium vivax* and *P. falciparum* to *Anopheles tessellatus*; relationship

- between oocyst and sporozoite development', *Tropical Medicine*, 87, pp. 3–6.
- Bass, C., Nikou, D., Blagborough, A. M., Vontas, J., Sinden, R. E., Williamson, M. S. and Field, L. M. (2008) 'PCR-based detection of Plasmodium in Anopheles mosquitoes: a comparison of a new high-throughput assay with existing methods.', *Malaria journal*, 7(1), p. 177. doi: 10.1186/1475-2875-7-177.
- Dinkes Kalsel (2012) 'Situasi Program P2B2 di Kalimantan Selatan.', in *Rapat Kerja Balai Litbang P2B2 Tanah Bumbu Tahun 2012*. Batulicin.
- Dinkes Kotabaru (2012) *Profil Dinas Kesehatan Kabupaten Kotabaru Tahun 2011*. Kotabaru.
- Dinkes Kotabaru (2013) *Profil Dinas Kesehatan Kabupaten Kotabaru Tahun 2012*. Kotabaru.
- Dinkes Kotabaru (2014) *Laporan Pengelola Program Malaria Tahun 2011-2014*. Kotabaru.
- Dormond, L., Jatou-Ogay, K., de Valliere, S., Genton, B., Bille, J. and Greub, G. (2011) 'Multiplex real-time PCR for the diagnosis of malaria: correlation with microscopy', *Clin Microbiol Infect*, 17(3), pp. 469–475. doi: 10.1111/j.1469-0691.2010.03218.x.
- Geleta, G. and Ketema, T. (2016) 'Severe Malaria Associated with Plasmodium falciparum and P. vivax among Children in Pawe Hospital, Northwest Ethiopia', *Malaria Research and Treatment*, 2016, pp. 1–7. doi: 10.1155/2016/1240962.
- Ghosh, A. K., Devenport, M., Jethwaney, D., Kalume, D. E., Pandey, A., Anderson, V. E., Sultan, A. A., Kumar, N. and Jacobs-Lorena, M. (2009) 'Malaria parasite invasion of the mosquito salivary gland requires interaction between the Plasmodium TRAP and the Anopheles saglin proteins', *PLoS Pathogens*, 5(1). doi: 10.1371/journal.ppat.1000265.
- Gunathilaka, N. (2017) 'Illustrated key to the adult female Anopheles (Diptera: Culicidae) mosquitoes of Sri Lanka', *Applied Entomology and Zoology*. Springer Japan, 52(1), pp. 69–77. doi: 10.1007/s13355-016-0455-y.
- Gunathilaka, N., Hapugoda, M., Abeyewickreme, W. and Wickremasinghe, R. (2015) 'Entomological investigations on malaria vectors in some war-torn areas in the trincomalee district of sri lanka after settlement of 30-year civil disturbance', *Malar Res Treat*, 2015, pp. 1–11. doi: 10.1155/2015/367635.
- Harijanto, P. N. (2010) *Malaria, Epidemiologi, Patogenesis, Manifestasi Klinis & Penanganan*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Hassan, A. A., Rahman, W. A., Rashid, M. Z. A., Shahrem, M. R. and Adanan, C. R. (2001) 'Composition and biting activity of Anopheles (Diptera : Culicidae) attracted to human bait in a malaria endemic village in peninsular Malaysia near the Thailand border', *Journal of Vector Ecology*, 26(1), pp. 70–75.
- Hay, S. I., Sinka, M. E., Okara, R. M., Kabaria, C. W., Mbithi, P. M., Carolyn, C., Benz, D., Gething, P. W., Howes, R. E., Patil, A. P., Temperley, W. H., Bangs, M. J., Chareonviriyaphap, T., Elyazar, I. R. F., Harbach, R. E., Manguin, S., Mbogo, C. M., Rubio-palis, Y. and Godfray, H. C. J. (2010) 'Developing Global Maps of the Dominant Anopheles Vectors of Human Malaria', *PLoS Med*, 7(2), pp. 1–6. doi: 10.1371/journal.pmed.1000209.
- Hoedjo. (1989) 'Vectors of Malaria and Filariasis in Indonesia.', *Buletin Penelitian Kesehatan*, 17(2), pp. 181–190.
- Indriyati, L., Rosanji, A., Juhairiyah, Yuana, W. T. and Haryati, E. (2016) 'Habitat perkembangbiakan spesifik Anopheles sp di tambang emas Kura-Kura Banian (perubahan perilaku Anopheles sp)', *BALABA*, 12(2), pp. 121–134.
- Indriyati, L., Sembiring, W. S. R. . and Rosanji, A. (2017) 'Keanekaragaman Anopheles Spp di Daerah Endemis Malaria Desa Siayuh (Trans) Kabupaten Kotabaru Provinsi Kalimantan Selatan', *Aspirator*, 9(1), pp. 87–96.
- Indriyati, L., Yuana, W. T. and Andiarsa, D. (2016) 'Gambaran Hasil Spot Survei Nyamuk Anopheles sp. di Tambang Emas Kura-Kura Banian, Kabupaten Kotabaru, Kalimantan Selatan Anopheles sp. Spot Survei at Turtle Gold Mining in Banian, Kotabaru District, South Kalimantan', *Jurnal Vektor Penyakit*, 10(2), pp. 37–42.
- Johnston, S. P., Pieniazek, N. J., Maniphet, V., Slemenda, S. B., Wilkins, P. P., Silva, A. J. and Xayavong, M. V (2006) 'PCR as a Confirmatory Technique for Laboratory Diagnosis of Malaria PCR as a Confirmatory Technique for Laboratory Diagnosis of Malaria', *Journal of Clinical Microbiology*, 44(3), pp. 1087–1089. doi: 10.1128/JCM.44.3.1087.
- Kazwaini (2013) 'Keradaan An.vagus dan An.annularis serta Peluangnya Sebagai vektor Malaria di Pulau Sumba.', *Jurnal penyakit Bersumber Binatang.*, 1(1), pp. 1–8.
- Kemenkes (2011) *Laporan Riset Kesehatan Dasar 2010*. Jakarta.

- Klein, T., Lima, J. and Tang, T. (1992) 'Vector incrimination and effects of antimalarial drugs on malaria transmission and control in the Amazon basin of Brazil', *Mem. Inst.Oswaldo cruz*, 87(Suppl.III), pp. 393–397.
- Krogstad, D. J., Koita, O. A., Diallo, M., Gerone, J. L., Poudiougou, B., Diakité, M. and Touré, Y. T. (2015) 'Molecular incidence and clearance of Plasmodium falciparum infection', *Malaria Journal*. BioMed Central, 14(1), p. 415. doi: 10.1186/s12936-015-0941-7.
- Manguin, S., Garros, C., Dusfour, I., Harbach, R. E. and Coosemans, M. (2008) 'Bionomics, taxonomy, and distribution of the major malaria vector taxa of Anopheles subgenus Cellia in Southeast Asia: An updated review', *Genetic and Evolution*, 8, pp. 489–503. doi: 10.1016/j.meegid.2007.11.004.
- Paramasivan, R., P. P. S. and R, S. P. (2015) 'Biting rhythm of vector mosquitoes in a rural ecosystem of south India', *International Journal of Mosquito Research*, 2(3), pp. 106–113.
- Raghavendra, K., Barik, T. K., Reddy, B. P. N., Sharma, P. and Dash, A. P. (2011) 'Malaria vector control: from past to future', *Parasitology Research*, 108(4), pp. 757–779. doi: 10.1007/s00436-010-2232-0.
- Rueda, L. M., Pecor, J. E. and Harrison, B. a. (2011) 'Updated distribution records for Anopheles vagus (Diptera: Culicidae) in the Republic of Philippines, and considerations regarding its secondary vector roles in Southeast Asia', *Tropical Biomedicine*, 28(1), pp. 181–187.
- Saeung, A., Baimai, V., Thongsahuan, S., Min, G., Park, M., Otsuka, Y., Maleewong, W., Lulitanond, V., Taai, K. and Choochote, W. (2012) 'Geographic distribution and genetic compatibility among six karyotypic forms of Anopheles peditaeniatus (Diptera: Culicidae) in Thailand', *Tropical Biomedicine*, 29(4), pp. 613–625.
- Singh, B., Bobogare, A., Cox-singh, J., Snounou, G., Abdullah, M. S. and Rahman, H. A. (1999) 'A genus- and species-specific NESTED Polymerase Chain Reaction Malaria detection assay for epidemiologic studies', *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 60(4), pp. 687–692.
- Sinka, M. E., Bangs, M. J., Manguin, S., Rubio-palis, Y., Chareonviriyaphap, T., Coetzee, M., Mbogo, C. M., Hemingway, J., Patil, A. P., Temperley, W. H., Gething, P. W., Kabaria, C. W., Burkot, T. R., Harbach, R. E. and Hay, S. I. (2012) 'A global map of dominant malaria vectors', *Parasites & Vectors*. BioMed Central Ltd, 5(1), p. 69. doi: 10.1186/1756-3305-5-69.
- Theobald, A. (2004) 'Bionomics and Systematics of the Oriental Anopheles sudaicus Complex in Relation to Malaria Transmission and Vector Control', *Am.J.Trop.Med.Hyg*, 71(4), pp. 518–524.
- Della Torre, A., Costantini, C., Besansky, N. J., Caccone, A., Petrarca, V., Powell, J. R. and Coluzzi, M. (2002) 'Speciation within Anopheles gambiae—the glass is half full.', *Science*, 298(5591), pp. 115–117. doi: 10.1126/science.1078170.
- Trung, H. D., Van Bortel, W., Sochantha, T., Keokenchanh, K., Briët, O. J. T. and Coosemans, M. (2005) 'Behavioural heterogeneity of Anopheles species in ecologically different localities in Southeast Asia: A challenge for vector control', *Tropical Medicine and International Health*, 10(3), pp. 251–262. doi: 10.1111/j.1365-3156.2004.01378.x.
- Veridiana (2009) 'Konfirmasi Vektor Malaria dengan Elisa I Daerah Mendui, Kec.Bungku Tengah, Kab. Morowali Sulawesi Tengah.', *Jurnal Vektor Penyakit*, 3(1), pp. 25–31.
- WHO (2014) *World Malaria Report 2014*. Geneva, Switzerland.