

PENELITIAN | RESEARCH

Deteksi *Brugia malayi* pada *Armigeres subalbatus* dan *Culex quinquefasciatus* yang diinfeksi darah penderita filariasis dengan metode PCR

PCR-based Detection of Brugia malayi on Experimentally Infected Armigeres subalbatus and Culex quinquefasciatus

Yahya*, Santoso, Milana Salim, Maya Arisanti

Loka Litbang P2B2 Baturaja, Jl. A. Yani Km. 7 Kemelak Baturaja Timur Sumatera Selatan 32111, Indonesia

Abstract. Peminggir districts, Batanghari regency of Jambi province classified as filariasis endemic areas in Jambi province since the *Mf* rate reached 1.5% in 2011. A study was conducted to identify *Brugia malayi* on experimentally infected *Ar. subalbatus* and *Cx. quinquefasciatus*. An experimental study was performed with completely randomized design and six repetitions. Standard of treatment in this study was time (hours) that selected for mosquitoes to bite the patients with filariasis (experimental infection). Selected time is at 9.00 a.m, 5.00 p.m, 9.00 p.m, and at 1.00 a.m. The results showed that filarial L3 larvae did not found on *Ar. subalbatus* and *Cx. quinquefasciatus* mosquitoes during surgery at day 11th to 13th after infection. Density of microfilariae in the blood of humans as a source of infection was 17 microfilariae per 20 micro liter blood. Otherwise, after detection by PCR, our study found positive *B.malayi* on *Cx. quinquefasciatus* thorax and proboscis. It indicates that *Cx. quinquefasciatus* potential vector of *B.malayi* filariasis compared to *Ar. subalbatus*.

Keywords: PCR, filariasis, *Armigeres subalbatus*, *Culex quinquefasciatus*, *Brugia malayi*

Abstrak. Kecamatan Peminggir Kabupaten Batanghari Provinsi Jambi merupakan wilayah endemis filariasis di Provinsi Jambi Karena angka *Mf* rate mencapai 1,5% pada tahun 2011. Penelitian ini untuk mengetahui tingkat kerentanan nyamuk *Ar. subalbatus* dan *Cx. quinquefasciatus* terhadap infeksi *B. malayi* subperiodik nokturna yang dilakukan pada tahun 2013, sehingga dapat dianalisis potensi nyamuk tersebut sebagai vektor filariasis di lokasi penelitian. Desain penelitian adalah eksperimental dengan rancangan acak lengkap dan enam kali pengulangan. Variabel perlakuan dalam penelitian ini adalah waktu (jam) yang dipilih untuk menggigitkan nyamuk pada penderita filariasis (infeksi percobaan). Waktu yang dipilih adalah pukul 09.00 WIB, pukul 17.00 WIB, pukul 21.00 WIB dan pukul 01.00 WIB. Hasil penelitian menunjukkan bahwa belum ditemukan larva L3 filaria yang ada pada *Ar. subalbatus* dan *Cx.quinquefasciatus* pada saat pembedahan nyamuk di hari ke-11, ke-12 dan ke-13 setelah infeksi. Kepadatan mikrofilaria pada darah manusia sebagai sumber infeksi adalah 17 mikrofilaria per 20 µl darah. Hasil uji PCR, terdeteksi *B. malayi* pada bagian toraks dan probosis pada nyamuk *Cx. quinquefasciatus*. Nyamuk *Cx. quinquefasciatus* lebih berpotensi untuk menjadi vektor filariasis dari *B. malayi* dibandingkan *Ar. subalbatus*.

Kata Kunci: PCR, filariasis, *Armigeres subalbatus*, *Culex quinquefasciatus*, *Brugia malayi*

Naskah masuk: 30 September 2014 | Revisi: 12 Desember 2014| Layak terbit: 29 Desember 2014

* Korespondensi: yahya@litbang.depkes.go.id| Telp/Faks: +62 (0) 8127875646

LATAR BELAKANG

Penyakit kaki gajah atau filariasis merupakan satu di antara penyakit menular yang masih menjadi masalah kesehatan masyarakat di Indonesia. Penyakit ini disebabkan oleh infeksi cacing filaria yang ditularkan oleh nyamuk, tersebar hampir di semua pulau Indonesia terutama di daerah pedesaan dan permukiman transmigrasi. Selain dapat menimbulkan demam dan rasa kelelahan, penyakit ini juga menyebabkan kecacatan tubuh yang permanen sehingga penderita tidak dapat bekerja dan akan menjadi beban bagi keluarga dan masyarakat.¹

Filariasis merupakan penyakit yang ditularkan oleh nyamuk vektor. Berbagai jenis nyamuk dapat bertindak sebagai vektor filariasis, tergantung pada jenis cacing filariannya. Kriteria nyamuk sebagai vektor filariasis: (1) dari tubuh nyamuk tersebut dapat diisolasi larva cacing filaria infeksi yang dapat menginfeksi manusia, (2) nyamuk tersebut mengisap darah manusia yang terdapat di daerah endemis filariasis, (3) pertumbuhan larva cacing filaria dalam tubuh nyamuk yang berasal dari koloni infeksi percobaan secara morfologik identik dengan pertumbuhan dalam tubuh nyamuk di alam yang dapat menginfeksi secara alamiah.² *Wuchereria bancrofti* ditularkan berbagai jenis nyamuk *Culex* spp, *Anopheles* spp, *Aedes* spp,³ sedangkan *Brugia* spp umumnya ditularkan oleh *Mansonia* spp dan *Anopheles* spp.⁴

Di kawasan Asia Tenggara termasuk Indonesia, genus *Mansonia* berperan sebagai vektor utama penularan filariasis dari spesies *Brugia malayi*.⁵ Hingga tahun 2006 telah dikonfirmasi 23 spesies nyamuk dari genus *Mansonia*, *Anopheles*, *Culex*, *Aedes* dan *Armigeres* yang menjadi vektor filariasis di Indonesia.⁶ Vektor *W. bancrofti* terdiri atas *Mansonia indiana*, *Ma. uniformis*, *Anopheles aconitus*, *An. subpictus*, *An. bancrofti*, *An. koliensis*, *An. farauti*, *An. punctulatus*, *An. kochi*, *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. annulirostris*, *Cx. bitaeniorhynchus*, dan *Armigeres abstrunbans*.⁷ Vektor potensial *Brugia* spp. terdiri atas empat spesies *Anopheles* yaitu *An. nigerrimus*, *An. peditaenitus*, *An. vagus* dan *An. subpictus*, empat spesies *Culex* yaitu *Cx. annulirostris*, *Cx. bitaeniorhynchus*, *Cx. quinquefasciatus* dan *Cx. orchracea*, enam spesies *Mansonia* yaitu *Ma. annulata*, *Ma. annulifera*, *Ma. bonneae*, *Ma. dives*, *Ma. indiana* dan *Ma. uniformis* serta *Armigeres subalbatus*.⁸ Vektor filariasis *Brugia malayi* di Provinsi Jambi adalah *Ma. uniformis*, *Ma. bonneae*, *Ma. dives*, *Ma. indiana*.⁹

Pada penelitian sebelumnya mengenai epidemiologi filariasis di Kecamatan Pemayung Kabupaten Batanghari Provinsi Jambi pada tahun 2011 telah ditemukan adanya kasus positif pada

hewan peliharaan (dua ekor) positif *B. malayi* dan delapan orang penduduk yang di dalam darahnya ditemukan *B. malayi* subperiodik nokturnal. Kepadatan rata-rata mikrofilaria secara keseluruhan sebesar 2,069 per 20 µl darah. Hasil pemeriksaan darah terhadap empat dari delapan penduduk yang positif, diketahui bahwa pada jam 17.00 WIB semuanya ditemukan adanya mikrofilaria. Sedangkan, pada pukul 19.00-05.00 WIB hanya satu dari empat penderita yang tidak ditemukan adanya mikrofilaria. Sementara, pada penderita II ditemukan adanya mikrofilaria setiap jam pemeriksaan dan pada penderita IV hanya pada jam 15.00 WIB yang tidak ditemukan adanya mikrofilaria. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas mikrofilaria terjadi pada 17.00-05.00 WIB.

Aktivitas mikrofilaria yang ditemukan dalam darah penduduk di lokasi penelitian menunjukkan kesesuaian dengan aktivitas mengisap darah *Ar. subalbatus* yang dimulai sekitar pukul 18.00 WIB. Nyamuk *Ar. subalbatus* dan *Cx. quinquefasciatus* merupakan spesies nyamuk yang dominan tertangkap di lima desa sebagai lokasi penelitian, meliputi Desa Lubuk Ruso, Desa Jembatan Mas, Desa Awin, Desa Serasah, dan Desa Pulau Betung.¹⁰ Hingga saat ini belum ada laporan yang mengonfirmasikan bahwa kedua jenis nyamuk tersebut sebagai vektor penular filariasis dari jenis *B. malayi*. Kelimpahan suatu jenis nyamuk di suatu wilayah perlu diwaspadai terutama jika spesies tersebut telah diketahui menjadi vektor filariasis di tempat lain.¹¹

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan cacing mikrofilaria *Brugia malayi* pada nyamuk *Ar. subalbatus* dan *Cx. quinquefasciatus* yang terinfeksi oleh darah penderita filariasis. Keberadaan *B. malayi* pada nyamuk dapat menjadi indikator kerentanan nyamuk terhadap infeksi *B. malayi*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan selama delapan bulan (April-Desember 2013). Desain penelitian adalah eksperimental dengan rancangan acak lengkap. Jenis penelitian ini adalah penelitian intervensi. Intervensi dilakukan dengan cara menginfeksi nyamuk *Ar. subalbatus* dan *Cx. quinquefasciatus* dengan *B. malayi* subperiodik nokturnal yang terdapat dalam darah penderita filariasis. Penderita filariasis yang bersedia ikut serta dalam kegiatan penelitian berasal dari Desa Baturanta Unit X Kabupaten Ogan Komering Ulu Timur. Berdasarkan hasil pemeriksaan kembali pada darah penderita, ditemukan cacing *B. malayi* dengan kepadatan 17 mikrofilaria per 20 µl darah. Metode intervensi yang melibatkan

makhluk hidup dalam kegiatan penelitian ini telah dimintakan surat persetujuan etik kepada Komisi Etik Badan Litbang Kesehatan, Kementerian Kesehatan RI dengan Nomor LB.02.01/15.2/129/2013 dan dikuatkan dengan Persetujuan Amandemen Protokol Nomor LB.02.01/5.2/KE.557/2013.

Penangkapan nyamuk dilakukan di Dusun Rasau Desa Serasah Kecamatan Pelayung Kabupaten Batang Hari Provinsi Jambi. Populasi penelitian adalah total seluruh nyamuk yang diperoleh di desa tersebut, sedangkan sampel penelitian adalah nyamuk *Ar. subalbatus* dan *Cx. quinquefasciatus* yang tertangkap saat penelitian. Seluruh nyamuk *Ar. subalbatus* dan *Cx. quinquefasciatus* yang berhasil ditangkap dipelihara sampai menghasilkan generasi kedua. Generasi kedua inilah yang dijadikan sebagai sampel penelitian.

Infeksi nyamuk yang pertama dilakukan di Laboratorium Loka Litbang P2B2 Baturaja. Pada infeksi pertama, jumlah nyamuk yang diinfeksi pertama adalah 240 ekor untuk masing-masing jenis nyamuk, sedangkan infeksi kedua hanya dilakukan pada 40 ekor nyamuk. Nyamuk yang diinfeksi tidak lagi diberi darah marmut sejak dua hari sebelum kegiatan infeksi buatan. Nyamuk yang telah menghisap darah penderita dimasukkan ke dalam *paper cup* menurut waktu penginfeksian dan pengulangan.

Nyamuk generasi kedua yang siap untuk diinfeksi dipindahkan ke dalam kandang khusus, berukuran 60x60cm masing-masing sebanyak 10 ekor nyamuk per kandang. Penderita filariasis yang dibawa ke laboratorium, dipersilahkan memasukkan sebelah tangannya sampai sebatas siku ke dalam tiap-tiap kandang percobaan. Dibiarkan agar nyamuk menghisap darah di lengan penderita. Lama proses infeksi adalah lima menit pada tiap kandang. Selama infeksi dilakukan, penderita tidak diperkenankan menggunakan repelen dan merokok. Waktu infeksi ditetapkan sebanyak empat termin, yakni pukul 09.00 WIB; 17.00 WIB; 21.00 WIB dan pukul 01.00 WIB. Tiap perlakuan diulang sebanyak enam kali.

Nyamuk yang telah kenyang darah, dipindahkan ke dalam gelas kertas, maksimal sepuluh ekor nyamuk dalam tiap gelas kertas, diberi label hari/tgl mulai infeksi, dijaga temperatur ruangan pada $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ (tidak di atas 30°C) dan kelembabannya 70-80%. Di atas kain kasa penutup gelas kertas diberi kapas yang dibasahi dengan larutan gula pasir 10%, tiap hari kapas tersebut diganti.¹¹

Nyamuk yang masih hidup sampai hari ke-10 setelah infeksi dibedah di bawah *dissecting microscope*. Pembedahan dilakukan secara individu untuk masing-masing jenis nyamuk.

Nyamuk akan mati setelah dibius dengan kloroform, maka sesaat setelah nyamuk tersebut mati, segera diletakkan di atas gelas benda. Tubuh nyamuk dibersihkan dari sayap supaya sisik di sayap tidak mengotori, kemudian dipisahkan bagian tubuhnya dengan jarum bedah menjadi tiga bagian yaitu kepala, toraks dan abdomen lalu disobek-sobek dengan jarum bedah dalam keadaan terendam pada larutan garam fisiologis. Pengamatan di bawah mikroskop bedah dilakukan untuk melihat keberadaan cacing filaria sesuai dengan ciri dari masing-masing stadium larva cacing filaria.¹² Selanjutnya dikonfirmasi menggunakan *Polymerase Chain Reaction (PCR)* dengan metode *Chelex 100*.

Taraf perlakuan dalam penelitian ini adalah waktu (jam) yang dipilih untuk menggigitkan nyamuk pada penderita filariasis (infeksi percobaan). Waktu yang dipilih adalah pukul 09.00 WIB, pukul 17.00 WIB, pukul 21.00 WIB dan pukul 01.00 WIB. Dengan empat kelompok perlakuan, maka diperoleh jumlah pengulangan sebanyak enam kali untuk tiap spesies. Jumlah ulangan untuk tiap perlakuan, ditentukan dengan menggunakan rumus:¹³

$$(t-1) (r-1) \geq 15$$

Keterangan:

t = banyaknya kelompok/ taraf perlakuan =

empat kelompok waktu infeksi percobaan

r = jumlah pengulangan

Pada infeksi yang kedua, hanya dilakukan satu kali perlakuan, yaitu masing-masing 40 ekor nyamuk *Ar. subalbatus* dan *Cx. quinquefasciatus* dimasukkan ke dalam kandang yang berbeda, digigitkan pada penderita pada pukul 19.00 WIB. Kegiatan infeksi kedua dilakukan langsung di rumah penderita filariasis. Lama waktu yang digunakan agar nyamuk dapat menghisap darah penderita kurang lebih satu jam, dengan harapan seluruh nyamuk yang ada dalam kandang telah menghisap darah penderita filariasis. Nyamuk yang telah diinfeksi, dibawa ke Loka Litbang P2B2 Baturaja untuk diperlihara dan dibedah. Selain infeksi terhadap *Ar. subalbatus* dan *Cx. quinquefasciatus* dilakukan juga penangkapan nyamuk *Mansonia uniformis* yang saat infeksi dilakukan, ditemukan sedang mengisap darah di daerah kaki penderita. Ada enam ekor *Ma. uniformis* yang berhasil ditangkap, selanjutnya dilakukan pembedahan pada nyamuk tersebut untuk dibandingkan dengan hasil pada pembedahan *Ar. subalbatus* dan *Cx. quinquefasciatus*.

HASIL

Deteksi larva cacing *Brugia malayi* pada nyamuk secara mikroskopis

Pada hari ke-11 pasca nyamuk menghisap darah penderita, mulai dilakukan pembedahan terhadap nyamuk yang telah diinfeksi, guna melihat keberadaan larva cacing filaria di dalam tubuh nyamuk. Pada Tabel 1 tampak bahwa jumlah nyamuk yang dibedah pada hari ke-11 hingga hari ke-13 berbeda-beda. Perbedaan jumlah tersebut disebabkan karena pada pembedahan hari ke-11 belum ditemukan larva cacing filaria, maka pembedahan dilanjutkan pada hari ke-12 untuk menemukan larva cacing filaria, dipilih nyamuk yang mulai lemah, sedangkan nyamuk yang dibedah pada hari ke-13 adalah sisa nyamuk yang masih hidup.

Hasil pembedahan 177 ekor nyamuk *Cx. quinquefasciatus*, belum bisa dipastikan adanya larva cacing filaria yang ada dalam tubuh nyamuk. Demikian pula pada pembedahan 71 ekor nyamuk *Ar. subalbatus*, juga tidak dapat dipastikan adanya larva cacing filaria. Jika dibandingkan dari jumlah nyamuk yang bertahan hidup hingga hari ke-13, tampak bahwa nyamuk *Cx. quinquefasciatus* lebih tahan lama hidup dibandingkan nyamuk *Ar. subalbatus*. Dari 240 ekor nyamuk *Cx. quinquefasciatus*, ada 177 ekor yang bertahan hidup pada hari ke-11 hingga hari ke-13, sedangkan untuk *Ar. subalbatus*, dari 240 ekor yang diinfeksi, hanya ada 71 ekor yang bertahan hidup pada hari ke-11 hingga hari ke-13.

Pada hari pertama setelah penangkapan, dilakukan pembedahan terhadap satu ekor *Ma. uniformis* dalam keadaan kenyang darah. Saat pemeriksaan, belum berhasil dilihat adanya pergerakan cacing di bagian tubuh nyamuk yang dibedah. Pada hari kedua setelah penangkapan, seluruh nyamuk *Ma. uniformis* mati, namun tidak dilakukan pembedahan terhadap nyamuk yang mati tersebut karena akan dilakukan

pemeriksaan PCR.

Nyamuk *Ar. subalbatus* dan *Cx. quinquefasciatus* yang digigitkan pada penderita saat kegiatan infeksi kedua, terus dipelihara hingga hari ke-11. Pada hari ke-11 dilakukan pembedahan, untuk *Ar. subalbatus* hanya delapan ekor yang bertahan hingga hari ke-11, sedangkan *Cx. quinquefasciatus* ada tujuh ekor. Setelah dilakukan pembedahan dan diamati, terutama pada bagian toraks dan probosis, tetap tidak ditemukan pergerakan larva cacing filaria pada tubuh nyamuk.

Deteksi larva cacing *Brugia malayi* pada nyamuk dengan *Polymerase Chain Reaction*.

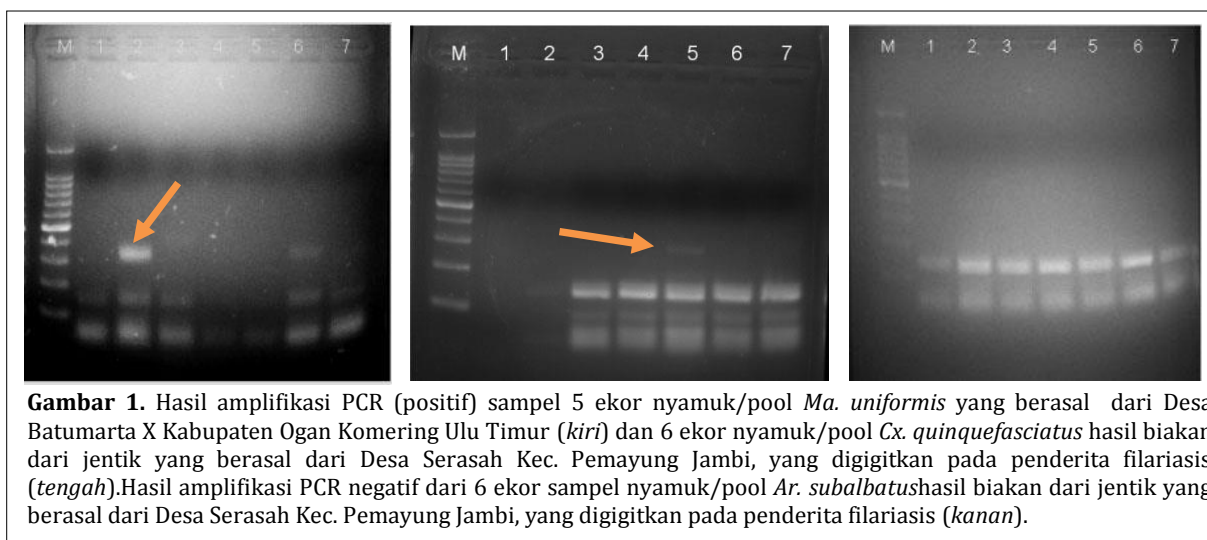
Metode yang dipakai dalam PCR ini adalah metode *Chelex* 100. Nyamuk *Ma. uniformis* yang dipakai adalah nyamuk yang ditangkap sedang mengisap darah pada bagian kaki penderita. Seluruh bagian tubuh nyamuk *Ma. uniformis* digunakan dalam deteksi dengan PCR ini.

Setelah dilakukan pembacaan hasil, ternyata dari lima ekor nyamuk yang dideteksi, menunjukkan hasil positif *B. malayi* pada tiga ekor nyamuk pada DNA marker ladder 326bp. Untuk nyamuk *Cx. quinquefasciatus*, nyamuk yang digunakan adalah nyamuk dewasa hasil pembiakan dari jentik yang ditangkap di Desa Serasah Kecamatan Pelayung Kabupaten Batanghari Jambi.

Nyamuk yang telah mengisap darah penderita filariasis dari Kabupaten Ogan Komering Ulu Timur, dipelihara hingga hari ke-11. Pada hari ke-11 dilakukan pembedahan, bagian tubuh nyamuk *Cx. quinquefasciatus* yang dipakai pada PCR adalah toraks dan probosis. Ada enam ekor nyamuk *Cx. quinquefasciatus* yang digunakan dalam pemeriksaan ini. Hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa dari enam ekor nyamuk, ada satu nyamuk yang positif *B. malayi* pada DNA marker ladder 326bp (Gambar 1).

Tabel 1. Hasil pembedahan nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dan *Ar. subalbatus* pasca infeksi

Spesies	Jam	Hasil					
		Hari Ke-11		Hari Ke-12		Hari Ke-13	
		(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	17.00	0	5	0	4	0	34
	21.00	0	3	0	3	0	24
	01.00	0	4	0	20	0	16
	08.00	0	39	0	17	0	8
	Total		51		44	0	82
<i>Ar. subalbatus</i>	17.00	0	7	0	3	0	4
	21.00	0	3	0	3	0	3
	01.00	0	9	0	8	0	6
	08.00	0	11	0	6	0	8
	Total		30		20		21



Nyamuk *Ar. subalbatus* yang digunakan adalah nyamuk dewasa hasil pembiakan dari jentik yang ditangkap Desa Serasah Kecamatan Pematang Jaya Kabupaten Batanghari Jambi. Nyamuk yang telah mengisap darah penderita filariasis dari Kabupaten Ogan Komering Ulu Timur, dipelihara hingga hari ke-11. Pada hari ke-11 dilakukan pembedahan, bagian tubuh nyamuk *Ar. subalbatus* yang dipakai pada PCR adalah toraks dan probosis. Ada enam ekor nyamuk *Ar. subalbatus* yang digunakan dalam pemeriksaan ini. Hasil pemeriksaan menunjukkan dari enam ekor nyamuk, tidak ada satupun nyamuk yang positif *B. malayi*.

PEMBAHASAN

Pada pembedahan nyamuk, tidak ditemukan pergerakan larva cacing filaria dalam tubuh nyamuk, hal ini kemungkinan karena singkatnya waktu nyamuk untuk menghisap darah penderita filariasis (± 5 menit), sehingga kemungkinan banyak nyamuk yang belum sempat menghisap darah. Faktor kesukaan menghisap darah kemungkinan tidak banyak mempengaruhi, karena saat pembiakan nyamuk, pernah dicobakan nyamuk untuk menghisap darah manusia yang sehat, ternyata selain menghisap darah marmut, nyamuk juga mau menghisap darah manusia. Hal tersebut hanya untuk memastikan kesukaan nyamuk akan darah manusia.

Faktor kepadatan mikrofilaria juga dapat mempengaruhi penemuan larva cacing filaria dalam tubuh nyamuk. Nyamuk memiliki keterbatasan dalam menampung jumlah mikrofilaria yang terhisap. Jika mikrofilaria yang terhisap oleh nyamuk terlalu banyak, maka akan menyebabkan kematian pada nyamuk.

Sebaliknya, bila mikrofilaria yang terhisap terlalu sedikit, maka transmisi filariasis akan semakin kecil.^{14,15}

Nyamuk yang terinfeksi oleh mikrofilaria dapat mengakibatkan kematian pada nyamuk. Kepadatan mikrofilaria dalam darah sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan larva *B. malayi* instar I hingga instar III di dalam tubuh nyamuk *Aedes togoi* pada kondisi laboratorium (pada suhu 27^o-29^oC kelembaban 65%-90%). *An. gambiae* tidak dapat terinfeksi bila jumlah mikrofilaria *W. bancrofti* di dalam penderita kurang dari satu mikrofilaria dalam setiap satu mm³ darah.

Dalam penularan filariasis limfatik, kepadatan optimal mikrofilaria dalam darah penderita berkisar antara 1-3 mf/mm³. Bila jumlah mikrofilaria terlalu sedikit, maka hanya sebagian kecil nyamuk yang dapat menghisap mikrofilaria, sebaliknya jika jumlah mikrofilaria terlalu banyak maka sepertiga dari jumlah nyamuk yang mengisap darah tersebut akan mati. Nyamuk yang mengandung mikrofilaria terlalu banyak dapat menyebabkan perkembangan mikrofilaria menjadi L3 akan lambat atau terhambat sama sekali. Jika jumlah mikrofilaria *B. malayi* yang terhisap melebihi 50 per mm³ akan menyebabkan kematian nyamuk vektor.¹⁶

Hasil deteksi larva filaria pada nyamuk *Ma. uniformis* dan *Cx. quinquefasciatus* dengan PCR menunjukkan adanya band pada 326bp, artinya ditemukan adanya *deoxyribonucleic acid* (DNA) mikrofilaria. Standar pembacaan urutan basa pada primer untuk *Brugia* sp. adalah HhaI 5'gccataaattcatcagc-3' (*Forward*) dan 5'cgcttttgtaattaagtttgcgc-3' (*Reverse*).^{17,18}

PCR berdasarkan HhaI *repeat* dapat digunakan untuk mendeteksi *B. malayi* pada darah manusia dan telah diuji pada sampel darah yang berasal dari Indonesia HhaI *repeat* dapat

digunakan untuk mendeteksi *B. malayi* dalam darah siang dan malam pada penderita positif mikrofilaria. Hasil amplifikasi pool nyamuk yang terdiri dari satu ekor nyamuk positif dan sembilan ekor nyamuk negatif serta satu ekor nyamuk positif dan 19 ekor nyamuk negatif menunjukkan hasil positif PCR. Dengan demikian satu ekor nyamuk positif dalam pool nyamuk negatif (10-20 ekor/pool) telah dapat terdeteksi PCR dengan baik. Hal ini menunjukkan bahwa PCR cukup sensitif untuk mendeteksi 1 ekor nyamuk dalam pool nyamuk negatif.¹⁹

Keuntungan dari metode berbasis PCR adalah dapat digunakan untuk mendeteksi satu parasit pada pool nyamuk yang berasal dari lapangan sehingga menyebabkan aplikasi di lapangan lebih efektif daripada pembedahan nyamuk untuk menemukan larva.²⁰ Dengan jumlah mikrofilaria yang minimal pada nyamuk, peluang *Hha I repeat* terdeteksi PCR lebih besar dari *W.bancrofti* karena jumlah copy number yang besar > 30.000 copy. Dari 10 ekor nyamuk yang diduga positif mikrofilaria ternyata ada 2 ekor nyamuk yang menunjukkan hasil negatif PCR. Hal ini menunjukkan tidak semua vektor potensial akan positif mikrofilaria karena banyak faktor yang mempengaruhi termasuk diantaranya jumlah mikrofilaria yang dihisap cukup atau tidak untuk berkembang di tubuh nyamuk disamping itu kemungkinan nyamuk negatif disini adalah menghisap darah hospes negatif yang akan ditulari mikrofilaria bukan hospes positif mikrofilaria.¹⁹

Suatu spesies nyamuk dapat menjadi vektor bila memenuhi beberapa syarat antara lain umur nyamuk, kepadatan nyamuk, ada kontak antara nyamuk dengan manusia, rentan terhadap parasit dan ada sumber.⁶ Nyamuk yang biasa berperan sebagai vektor *B. malayi* adalah *Anopheles* sp. dan *Mansonia* sp.²¹

Hasil penelitian Fisher *et al.* menunjukkan bahwa beberapa pool *Culex* sp. pada penelitiannya di laboratorium ada yang positif *Hha I repeat* tetapi karena nyamuk ini diberi makan darah positif mikrofilaria tetapi kemungkinan tidak dapat mendukung perkembangan parasit lebih lanjut.²² Meskipun demikian, karena bagian tubuh nyamuk *Cx. quinquefasciatus* yang digunakan untuk deteksi dengan PCR adalah toraks dan probosis, serta umur nyamuk telah mencapai 11 hari, maka kemungkinan besar larva cacing filaria yang terdeteksi adalah larva L3, dan telah mengalami perkembangan sebelumnya pada tubuh *Cx. quinquefasciatus*, sehingga pada hari ke-11 setelah mengisap darah pada penderita filariasis, larva tersebut telah mencapai daerah toraks hingga probosis.

KESIMPULAN

Melalui uji PCR, *Brugia malayi* terdeteksi pada toraks dan probosis *Cx. quinquefasciatus* dan tidak ditemukan pada *Ar. subalbatus*. *Cx. quinquefasciatus* lebih berpotensi untuk menjadi vektor filariasis *B. malayi* dibandingkan *Ar. subalbatus*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Kepala Loka Litbang P2B2 Baturaja, Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Batanghari Jambi, Kepala Puskesmas Jembatan Mas, Pengelola Program Filariasis Puskesmas Jembatan Mas, drh. Nungki Hapsari S. dan Sulfa Esi Warni, S.Si, serta semua pihak yang telah banyak membantu terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Pahlevi RI, Santoso. Penentuan Vektor Filariasis dan Spesies Mikrofilaria di Puskesmas Batumarta VII Kab. OKU Timur Tahun 2012. Jurnal Pembangunan Manusia. 2013; 7 (3):1-14.
2. Sasa M. Human Filariasis. A Global Survey of Epidemiology and Control. Japan: University of Tokyo Press; 1976.
3. Sunish IP, Rajendran R, Mani TR, Munirathinam A, Dash M, Tyagi BK. Vector Control Complement Mass Drug Administration Against Bancroftian Filariasis in Tirukoilur, India. Bulletin of The World Health Organization. 2007;85(2): 138-145
4. Santoso, Ambarita LP, Oktarina R, Sudomo M. Epidemiologi Filariasis di Desa Sungai Rengit Kec. Talang Kelapa Kab. Banyuasin Tahun 2006. Bul. Penel. Kes. 2008; 36(2):36-70.
5. World Health Organization. Lymphatic filariasis. The disease and its control. Technical report series. Geneva: WHO; 1992. pp.67.
6. Departemen Kesehatan. Epidemiologi Penyakit Kaki Gajah (Filariasis) di Indonesia. Jakarta: Direktorat Jenderal PPM & PL; 2006.
7. Sarojini S, Senthilkumaar P. Haematological Studies of Lymphatic Filariasis *Wuchereria bancrofti* Affected Patients in Arrakonam Area, Tamil Nadu, India. European Journal of Experimental Biology. 2013;3(2):194-200.
8. Sigit SH. Parasitology and Parasitic Diseases in Indonesia (A Country Report). In: Isao

- Tada I, Aoki T, Aoki Y, Arizono N, Himeno K, Hirayama K et al. editors. Proceeding The 1st Congress of Federation of Asian Parasitologist (FAP); 2000 November 3-5; Chiba University, Japan; 2000. pp.71-8.
9. Departemen Kesehatan. Pemberantasan vektor dan cara-cara evaluasinya. Jakarta: Direktorat Jenderal Pemberantasan Penyakit Menular dan Penyehatan Lingkungan Permukiman. Departemen Kesehatan RI;1987.pp.35
 10. Yahya, Santoso, Budianto A, Ambarita LP, Wempi IG. Epidemiologi Filariasis di Kecamatan Pelayung Kabupaten Batanghari Provinsi Jambi Tahun 2011 [Laporan Penelitian]. Baturaja: Loka Litbang P2B2 Baturaja; 2011.
 11. Yahya, Hadi UK, Dewi RM, Oktarina R. Population of Filariasis Suspect Vector Mosquito in Endemic Area Jambu Ilir Village of Ogan Komering Ilir Province of South Sumatera. In: Upik K. Hadi, Sri Utami H, Risa T, Susi S, editors. Prosiding Seminar Hari Nyamuk 2009. 2009 Agustus 10th; Institut Pertanian Bogor, Bogor; 2009. p. 20-8.
 12. Ambarita LP dan Hotnida S. Studi Komunitas Nyamuk di Desa Sebus (Daerah Endemis Filariasis) Sumatera Selatan. J. Ekol. Kes. 2006;5(1):368-375.
 13. Supranto J. Teknik Sampling. Rineka Cipta. Jakarta; 2000.
 14. Nutman TB. Lymphatic Filariasis. Laboratory of Parasitic Diseases, USA: National Institutes of Health Bethesda Maryland; 2000.
 15. Departemen Kesehatan. Pedoman Pemberantasan Filariasis di Indonesia. Jakarta: Direktorat Jenderal PPM & PL; 2002.
 16. Sumarni S, Soeyoko. Filariasis malayi di Wilayah Puskesmas Cempaka Mulia, Sampit, Kalimantan Tengah (Beberapa Faktor yang Mempengaruhi Penularannya). Jurnal Berita Kedokteran Masyarakat. 1998;15(3):145-8.
 17. Ravidran R, Varghese S, Nair SN, Balan VM, Lakshmanan B, Ashruf RM, et al. Canine Filarial Infections in a Human *Brugia malayi* endemic Area of India. BioMed Research International. 2014 (2014); article ID 630160, pp.1-9.
 18. Wongkamchai S, Monkong N, Mahannol P, Taweethavonsawat P, Loymak S, Fongladda S. Rapid Detection and Identification of *Brugia malayi*, *B. pahangi* and *Dirofilaria immitis* by High-Resolution Melting Assay. Vector-Borne and Zoonotic Diseases Journal. 2013;13(1):31-6.
 19. Haryuningtyas D, Subekti DT. Deteksi Mikrofilaria/Larva Cacing *Brugia malayi* Pada Nyamuk Dengan Polimerase Chain Reaction. Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner. 2008;13(3):240-8.
 20. Rao RU, Atkinson LJ, Ramzy RM, Hanan Helmy H, Farid HA, Bockarie MJ, et al. A Real-Time PCR Based Assay For Detection of *Wuchereria bancrofti* DNA in Blood and Mosquitoes. Am. J. Trop. Med. Hyg. May 2006; 74(5):826-832.
 21. Departemen Kesehatan. Pedoman Ekologi dan Aspek Perilaku Vektor. Jakarta: Direktorat Jenderal PPM & PL;2004.
 22. Fischer P, Wibowo H, Pischke S, Ruckect P, Liebau E, Ismid IS, et al. PCR Based detection and identification of the filarial parasite *Brugia timori* from Alor island, Indonesia. Annals Trop. Med. Par. 2002;96 (8):809-821.

