

PENELITIAN | RESEARCH

Deteksi mikrofilaria *Brugia malayi* pada nyamuk *Mansonia spp* dengan pembedahan dan metode PCR di Kabupaten Tanjung Jabung Timur

Dissection and PCR-based detection of Brugia malayi on Mansonia spp in Tanjung Jabung Timur District

Santoso*, Yahya, Nungki Hapsari Suryaningtyas, Katarina Sri Rahayu
Loka Litbang Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang (P2B2) Baturaja, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia,
Jl. A. Yani KM 7 Kemelak, Baturaja 32111, OKU, Sumatera Selatan, Indonesia

Abstract. Filariasis is a public health problem in East Tanjung Jabung. Eventhough that mass treatment had been carried out since 2002, there were still villages with microfilaria rate >1%. This study aims to detect filarial worm larvae in the mosquitoes with dissections and PCR method. The mosquitoes used in this study were *Mansonia spp*. The number of mosquitoes that examined was 450,133 and some of *Mansonia* mosquitoes were checked by PCR. The result showed that microscopic dissection did not found stage 3 (L3) of filarial worm larvae in the mosquitoes. The results from PCR test showed the presence of *B. malayi* DNA in 8 samples of *Ma. indiana*. *Mansonia indiana* is a potential vectors for *Brugia malayi* filariasis in East Tanjung Jabung. PCR method is more sensitive examination in detecting microfilaria compared with dissection method.

Keywords: Filariasis, *Mansonia*, PCR, *Brugia malayi*

Abstrak. Filariasis di Kabupaten Tanjung Jabung Timur masih menjadi masalah kesehatan dan masih terjadi penularan. Kegiatan pengobatan massal telah dilakukan sejak tahun 2002, namun hingga tahun 2012 masih ditemukan adanya desa dengan Mf rate >1%. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi larva cacing filaria dalam tubuh nyamuk dengan metode pembedahan dan PCR. Nyamuk yang diperiksa adalah nyamuk *Mansonia spp*. Jumlah nyamuk yang diperiksa sebanyak 450 ekor, 133 ekor diantaranya diperiksa secara PCR. Hasil pembedahan secara mikroskopis tidak ditemukan adanya larva cacing filaria stadium 3 (L3) dalam tubuh nyamuk. Ditemukan adanya DNA mikrofilaria *B. malayi* hasil pemeriksaan secara PCR pada 8 sampel nyamuk *Ma. indiana*. Nyamuk *Ma. indiana* berpotensi sebagai vektor filariasis *B. malayi* di Kabupaten Tanjung Jabung Timur. Metode pemeriksaan secara PCR lebih sensitif dalam mendeteksi mikrofilaria dibandingkan dengan pembedahan.

Kata Kunci: Filariasis, *Mansonia*, PCR, *Brugia malayi*

Naskah masuk: 30 Januari 2015 | Revisi: 24 April 2015 | Layak terbit: 20 Mei 2015

* Korespondensi: santoso@litbang.depkes.go.id | Telp/Faks: +62(0)735322774

LATAR BELAKANG

Filariasis (penyakit kaki gajah) masih menjadi masalah kesehatan di Indonesia termasuk di Provinsi Jambi. Provinsi Jambi menempati urutan ke-12 tertinggi nasional untuk jumlah kasus filariasis pada tahun 2009 dengan jumlah kronis kasus sebanyak 257 orang.¹

Berdasarkan profil Dinas Kesehatan Provinsi Jambi tahun 2011, jumlah kasus filariasis yang ditemukan tahun 2010 meningkat menjadi 301 kasus. Tahun 2011 terjadi peningkatan kasus kembali dengan ditemukannya 42 kasus baru sehingga jumlah kasus bertambah menjadi 343 kasus. Tiga kabupaten dengan kasus kronis tertinggi adalah Kabupaten Muaro Jambi (146 kasus), Kabupaten Batanghari (78 kasus) dan Kabupaten Tanjung Jabung Timur (58 kasus). Jumlah kasus kronis filariasis terbanyak di wilayah Kabupaten Tanjung Jabung Timur adalah di Kecamatan Muara Sabak Barat sebanyak 50 kasus.^{2,3} Kegiatan pemberian obat massal pencegahan (POMP) filariasis telah dilakukan di Kabupaten Tanjung Jabung Timur sejak tahun 2002, namun hingga tahun 2012 masih ditemukan adanya kasus baru Mf rate sebesar 2%.³ Berdasarkan hal tersebut, maka kemungkinan masih terjadi penularan filariasis di daerah penelitian yang diperankan oleh nyamuk sebagai vektor. Sementara, penelitian tentang vektor, khususnya vektor filariasis di Kabupaten Tanjung Jabung Timur belum pernah dilakukan, dan penelitian ini merupakan penelitian vektor yang pertama di wilayah tersebut.

Penularan filariasis melibatkan banyak faktor yang sangat kompleks yaitu cacing filaria sebagai agen penyakit, manusia sebagai inang dan nyamuk dewasa sebagai vektor serta faktor lingkungan fisik, biologik dan sosial, yaitu faktor sosial ekonomi dan perilaku penduduk setempat.⁴

Nyamuk sebagai vektor penular filariasis berperan penting dalam penyebaran filariasis yang berhubungan dengan kondisi lingkungan dan perilaku masyarakat setempat. Beberapa spesies *Mansonia* dapat menjadi vektor *Brugia malayi* tipe subperiodik nokturna.⁵ Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan penelitian untuk menentukan nyamuk *Mansonia* spp yang berperan sebagai vektor filariasis *Brugia malayi* dengan metode pembedahan dan *polymerase chain reaction* (PCR) di wilayah Kabupaten Tanjung Jabung Timur, Jambi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Desa Nibung Putih Kecamatan Muara Sabak, Tanjung Jabung Timur selama 7 bulan (Mei hingga November 2014).

Desain penelitian adalah cross sectional survai. Penangkapan nyamuk dilakukan sebanyak 4 kali (2 kali musim penghujan dan 2 kali musim kemarau). Penangkapan nyamuk dilakukan oleh 6 orang penangkap selama 12 jam (pukul 18.00-06.00 WIB). Nyamuk yang tertangkap selanjutnya dipelihara di Laboratorium Entomologi Loka Litbang P2B2 Baturaja selama 12 hari. Nyamuk yang mati sebelum hari ke-12 dipotong pada bagian probosis untuk dilakukan pemeriksaan, sedangkan nyamuk nyamuk masih hidup sampai hari ke-12 dilakukan pembedahan dan pemeriksaan secara mikroskopis untuk mendeteksi adanya larva cacing filaria stadium 3 (L3). Pembedahan dan pemeriksaan PCR hanya dilakukan pada nyamuk *Mansonia* spp. Pemeriksaan PCR hanya dilakukan pada nyamuk *Mansonia* spp hasil penangkapan pertama pada musim kemarau. Pemeriksaan PCR terhadap nyamuk dilakukan di Lembaga Eijkman Jakarta.

Pembedahan nyamuk secara individual⁶

Nyamuk diletakkan pada kaca benda dan dibersihkan dari sayap agar sisik di sayap tidak mengotori. Larutan garam fisiologis (GF) ditetaskan di atas kaca benda dan nyamuk diletakkan di atas tetesan GF. Bagian tubuh nyamuk dipisahkan dengan jarum bedah menjadi bagian yang kecil-kecil dan semua bagian terendam dalam larutan GF. Diamati di bawah mikroskop. Bila ada cacing maka akan tampak bergerak-gerak tergantung stadiumnya. Stadium 1-2 pendek, gemuk, lambat gerakannya, stadium 3 (infektif) panjang dan cepat gerakannya.

Pemeriksaan nyamuk dengan PCR

Pemeriksaan nyamuk dengan PCR menggunakan metode chelex 100.^{7,8,9} Langkah pemeriksaan PCR meliputi tahap persiapan, isolasi DNA, running PCR, dan elektroforesis untuk pembacaan hasil.

Persiapan

Langkah dalam tahap persiapan meliputi: pembuatan larutan buffer AW1 (AW1 19ml+ ethanol 25ml) dan AW2 (AW2+ethanol 30ml). Konsentrasi ethanol yang digunakan adalah 96-100%; jika terbentuk presipitat pada buffer AL atau ATL, inkubasikan pada suhu 56°C.

Isolasi DNA metode Chelex 100 dari sampel nyamuk

Langkah isolasi DNA nyamuk dengan metode chelex 100 adalah: Memisahkan bagian tubuh nyamuk untuk diambil bagian proboscis; memasukkan 100 µl ddH₂O kemudian nyamuk di grinding; memasukkan 1 ml saponin 0,5% yang telah ditambahkan PBS; inkubasi pada suhu 4°C selama 3 jam; sentrifuge pada 12.000 rpm sela-

ma 10 menit, membuang supernatant; menambahkan 1 ml PBS 1x; sentrifuge pada 12.000rpm selama 5 menit, membuang supernatant; menambahkan 100 µl ddH₂O dan 50 µl 20% chelex 100; memanaskan selama 10 menit, melakukan vortex setelah 5 menit berjalan; memindahkan supernatan ke dalam tube baru sebanyak 100µl; inkubasi hasil gDNA kedalam freezer (suhu -20°C.)

Tahap running PCR

Tahap running PCR meliputi: menyiapkan tabung PCR, diberi kode sesuai dengan kode isolasi DNA yang akan di PCR; membuat master mix reagen menggunakan primer forward, HhaI (5'GCGCATAAATTCATCAGC-3') dan primer reverse, yaitu HhaII (5'GCGCAAACTTAATTACAA-AAGC-3').¹⁰ Bahan dan volume yang digunakan untuk membuat master mix adalah: buffer PCR (2,5µl), MgCl₂ (0,5µl), dNTP (0,5µl), forward primer (0,25µl), reverse primer (0,25µl), enzim (2µl), DNA (7µl), dan ddH₂O (18,3µl); menyiapkan mix reagent sesuai jumlah sampel yang akan diperiksa; membagi master mix ke PCR tube volume 25µl untuk tiap sampel; menambahkan kontrol negatif di tube kontrol negatif, dan kontrol positif di tube kontrol positif; melakukan spinning down sampai tidak ada sampel/reagen yang tertinggal menempel di dinding tabung; melakukan penyetelan mesin untuk proses denaturasi, annealing, dan ekstensi dengan optimasi: 95°C selama 5 menit, 1 siklus; 94°C (30''): 48°C (40''): 72°C (1'), sebanyak 35 siklus; 25°C selama ∞; memasukkan sampel ke dalam mesin untuk proses PCR; mengeluarkan sampel untuk kemudian dilanjutkan ke proses elektroforesis.

Elektroforesis

Pembacaan hasil PCR dilakukan dengan elektroforesis dan diperlukan gel sebagai media. Langkah pembuatan gel meliputi: membuat larutan TBE 1x dari larutan stok 10x (10ml TBE ditambahkan aquades hingga volume 100ml); membuat larutan agarosa 1,5% dalam TBE 1x (1,5 gr agarosa dalam 100ml aquades); memanaskan larutan agarosa dengan hotplate/microwave sampai semua agarosa larut; agarosa didiamkan sampai suhu sekitar 70°C; menambah etidium bromide 10µl; menyiapkan gel caster dan pastikan posisinya sudah rata dengan permukaan; mencetak agarosa di dalam caster, tunggu hingga mengeras, lalu lepaskan gel comb dari agarose; memindahkan agarose ke dalam chamber elektroforesis dan rendam dengan TBE 1x; mengeluarkan produk PCR dari mesin thermocycle; memasukkan DNA ladder ke dalam sumuran pertama agarosa; memasukkan kontrol positif, sampel dan kontrol negatif secara berurutan ke ke dalam sumuran selanjutnya; menutup chamber elektroforesis dan pastikan posisi

kabel negatif dan positif tidak terbalik; mengalirkan aliran listrik dari negatif menuju positif (dengan voltase dan waktu tertentu); mengambil agarosa dari chamber elektroforesis; menyalakan mesin GelDoc; memasukkan agarosa ke dalam mesin GelDoc. Capture agarosa untuk membaca ada tidaknya DNA target; membaca dan analisa hasil. Hasil positif apabila terbentuk band/pita pada 322 bp, 644 bp atau 966 bp.

HASIL

Jumlah nyamuk *Mansonia* spp yang tertangkap dan dilakukan pembedahan sebanyak 450 ekor, yang terdiri dari *Ma. bonnea* (11 ekor), *Ma. dives* (77 ekor), *Ma. indiana* (243 ekor) dan *Ma. uniformis* (119 ekor). Nyamuk tersebut merupakan hasil penangkapan pertama, sedangkan hasil penangkapan kedua sampai keempat tidak dilakukan pembedahan. Tabel 1 memperlihatkan bahwa spesies nyamuk paling banyak ditemukan dan dilakukan pembedahan adalah *Ma. indiana* dan jumlah nyamuk tertangkap paling banyak pada pukul 20.00-21.00 WIB (81 ekor).

Hasil pembedahan secara individual terhadap nyamuk *Mansonia* spp yang masih hidup pada hari ke-12 tidak menemukan adanya larva cacing filaria L3 dalam tubuh nyamuk. Selanjutnya nyamuk yang telah mati sebelum hari ke-12 dimasukkan dalam ependrof untuk pemeriksaan secara PCR.

Pemeriksaan PCR hanya dilakukan terhadap nyamuk *Mansonia* spp. hasil empat kali penangkapan, dan hanya dilakukan pemeriksaan terhadap 133 ekor nyamuk *Mansonia* spp. Hasil pemeriksaan PCR mendapatkan 8 sampel positif mengandung DNA cacing filaria. Sampel positif seluruhnya adalah sampel DNA nyamuk *Ma. indiana* (Tabel 2). Sampel positif ditunjukkan dengan adanya band yang menunjukkan adanya DNA cacing filaria dalam sampel (Gambar 1).

PEMBAHASAN

Keterbatasan penelitian ini adalah karena kegiatan penangkapan nyamuk hanya dilakukan sebanyak 4 kali, sehingga informasi tentang dinamika populasi nyamuk di daerah penelitian tidak dapat disajikan secara lengkap. Penangkapan nyamuk hanya dilakukan 4 kali karena tujuan dari penangkapan nyamuk ini adalah untuk mengidentifikasi adanya mikrofilaria dalam tubuh nyamuk secara alami, yaitu dengan menangkap nyamuk yang menghisap darah penderita positif mikrofilaria yang belum mendapat pengobatan. Hasil pembedahan terhadap nyamuk *Mansonia* spp tidak menemukan adanya

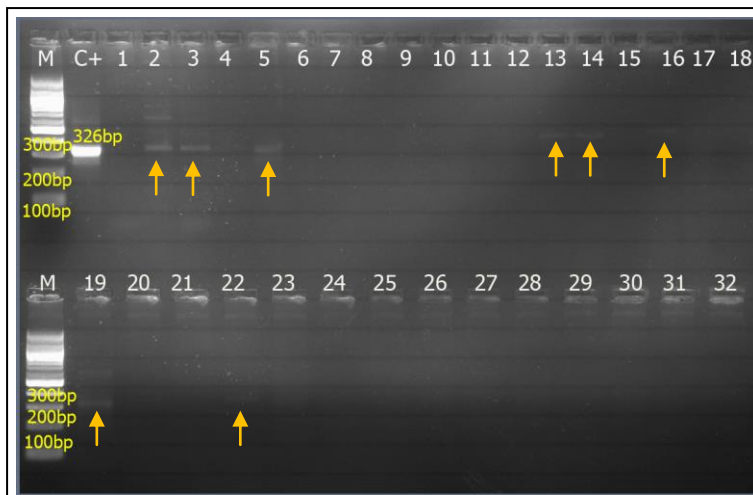
Tabel 1. Jumlah nyamuk tertangkap per spesies dan cara penangkapan di Kabupaten Tanjung Jabung Timur, 2014

Jam Penangkapan	Jumlah nyamuk per spesies dan cara penangkapan																Total
	<i>Ma. bonneae</i>				<i>Ma. dives</i>				<i>Ma. indiana</i>				<i>Ma. uniformis</i>				
	UOD	UOL	DD	DL	UOD	UOL	DD	DL	UOD	UOL	DD	DL	UOD	UOL	DD	DL	
18.00-19.00	1	1	0	0	3	0	0	0	20	5	4	11	12	0	0	2	59
19.00-20.00	0	0	0	0	1	7	1	1	7	6	7	4	5	5	2	1	47
20.00-21.00	0	0	0	0	4	7	3	1	9	27	2	6	4	7	2	9	81
21.00-22.00	1	0	0	0	3	3	2	1	4	9	0	4	3	2	4	4	40
22.00-23.00	0	0	0	0	0	1	2	0	3	20	10	1	3	4	0	2	46
23.00-24.00	0	3	0	0	2	6	1	2	3	0	0	2	1	6	1	6	33
24.00-01.00	0	0	0	1	0	4	2	1	3	5	5	0	0	1	0	1	23
01.00-02.00	0	0	0	0	1	0	2	1	3	4	0	4	0	1	0	0	16
02.00-03.00	0	0	1	0	0	1	0	0	6	5	0	8	1	1	3	1	27
03.00-04.00	1	0	0	0	1	2	3	1	1	5	3	2	7	5	3	1	35
04.00-05.00	0	0	0	0	0	0	0	0	1	10	3	7	6	0	0	1	28
05.00-06.00	0	0	2	0	3	0	3	1	1	1	0	2	0	1	1	0	15
Sub total	3	4	3	1	18	31	19	9	61	97	34	51	42	33	16	28	450
TOTAL	11				77				243				119				

Keterangan: UOL=Umpan Orang Luar; UOD=Umpan Orang dalam; DD=Dinding Dalam; DL=Dinding Luar

Tabel 2. Hasil pemeriksaan PCR terhadap nyamuk *Mansonia* spp di Kabupaten Tanjung Jabung Timur, 2014

Jam Penangkapan	Hasil pemeriksaan nyamuk per spesies																Jumlah								
	<i>Ma.bonneae</i>				<i>Ma.dives</i>				<i>Ma.indiana</i>				<i>Ma.uniformis</i>				Tertangkap	Diperiksa	% Diperiksa	Positif	% Positif				
	Tertangkap	Diperiksa	% Diperiksa	Positif	% Positif	Tertangkap	Diperiksa	% Diperiksa	Positif	% Positif	Tertangkap	Diperiksa	% Diperiksa	Positif	% Positif	Tertangkap						Diperiksa	% Diperiksa	Positif	% Positif
18.00-19.00	2	2	100	0	0	3	3	100	0	0	40	4	10	0	0	14	3	21	0	0	59	12	20	0	0
19.00-20.00	0	0	0	0	0	10	4	40	0	0	24	6	25	0	0	13	2	15	0	0	47	12	26	0	0
20.00-21.00	0	0	0	0	0	15	4	27	0	0	44	2	5	0	0	22	4	18	0	0	81	10	12	0	0
21.00-22.00	1	1	100	0	0	9	4	44	0	0	17	11	65	0	0	13	4	31	0	0	40	20	50	0	0
22.00-23.00	0	0	0	0	0	3	1	33	0	0	34	4	12	1	25	9	7	78	0	0	46	12	26	1	8
23.00-24.00	3	3	100	0	0	11	4	36	0	0	5	3	60	0	0	14	5	36	0	0	33	15	45	0	0
24.00-01.00	1	1	100	0	0	7	3	43	0	0	13	4	31	2	50	2	1	50	0	0	23	9	39	2	22
01.00-02.00	0	0	0	0	0	4	3	75	0	0	11	9	82	1	11	1	1	100	0	0	16	13	81	1	8
02.00-03.00	1	1	100	0	0	1	1	100	0	0	19	8	42	0	0	6	2	33	0	0	27	12	44	0	0
03.00-04.00	1	0	0	0	0	7	2	29	0	0	11	3	27	2	67	16	4	25	0	0	35	9	26	2	22
04.00-05.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	3	14	1	33	7	1	14	0	0	28	4	14	1	25
05.00-06.00	2	0	0	0	0	7	2	29	0	0	4	2	50	1	50	2	1	50	0	0	15	5	33	1	20
TOTAL	11	8	73	0	0	77	31	40	0	0	243	59	24	8	14	119	35	29	0	0	450	133	30	8	6



Gambar 1. Hasil amplifikasi PCR (positif mikrofilaria) sampel nyamuk *Ma. indiana* hasil penangkapan di Kabupaten Tanjung Jabung Timur Tahun 2014. M (marker); C+ (kontrol positif); 1-32 (sampel DNA nyamuk); Sampel positif: 2,3,5,13,14,16,19, 22 (kotak kuning)

larva cacing L3 filariasis di dalam probosis nyamuk, sementara hasil pemeriksaan dengan metode PCR terhadap 133 ekor nyamuk ditemukan 8 sampel positif mengandung DNA mikrofilaria. Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan di Kabupaten Batanghari yang juga tidak menemukan larva filaria L3 dalam tubuh nyamuk pada pemeriksaan secara mikroskopis. Hasil pemeriksaan lebih lanjut dengan menggunakan metode PCR menunjukkan adanya nyamuk yang positif mengandung DNA mikrofilaria *B. malayi*.¹¹ Hasil penelitian ini juga mendapatkan bahwa pemeriksaan dengan PCR lebih sensitif mendeteksi mikrofilaria pada nyamuk dibandingkan dengan pembedahan, meskipun dilakukan pada spesies nyamuk yang berbeda, namun metode yang digunakan baik pembedahan maupun PCR adalah sama.

Penelitian yang dilakukan di Kabupaten Muaro Jambi mendapatkan nyamuk *Mansonia* spp tertangkap sebanyak 1.167 ekor yang terdiri dari *Ma. annulifera*, *Ma. annulata*, *Ma. bonnea*, *Ma. dives*, *Ma. indiana*, dan *Ma. uniformis*. Jumlah nyamuk yang dibedah sebanyak 124 ekor, namun tidak menemukan adanya larva cacing L3 filaria dalam tubuh nyamuk.⁶

Hasil penelitian di Kabupaten OKU Timur mendapatkan sebanyak 408 ekor nyamuk *Mansonia* spp yang terdiri dari *Ma.annulata*, *Ma.indiana*, *Ma. uniformis*, *Ma. dives*, dan *Ma. bonnea*. Jumlah nyamuk *Mansonia* spp yang masih hidup pada hari ke-10 dan dilakukan pembedahan sebanyak 34 ekor. Hasil pembedahan juga tidak menemukan adanya larva cacing L3 filaria dalam tubuh nyamuk.¹² Penelitian lain yang juga bertujuan untuk mengidentifikasi vektor filariasis yang dilakukan di Kabupaten Tabalong juga tidak mendapatkan adanya nyamuk yang terinfeksi larva cacing filarial (IR 0%).¹³

Penangkapan nyamuk dilakukan di desa dengan jumlah penderita positif sebanyak 6 orang (Mf rate 2,06%). Seluruh rumah yang dijadikan lokasi penangkapan nyamuk merupakan rumah penderita positif dengan radius 100 meter, sehingga peluang untuk mendapatkan larva cacing L3 filaria sangat besar. Tidak ditemukannya larva cacing L3 filaria pada pembedahan dan pemeriksaan nyamuk secara mikroskopis kemungkinan disebabkan beberapa faktor. Kemampuan nyamuk untuk mendapatkan mikrofilaria saat menghisap darah terbatas. Nyamuk yang menghisap mikrofilaria terlalu banyak juga dapat mengakibatkan kematian terhadap nyamuk tersebut sehingga pada saat pembedahan tidak ditemukan lagi adanya mikrofilaria meskipun kemungkinan nyamuk tersebut telah mengandung mikrofilaria sebelumnya.⁵

Suhu dan kelembaban sangat berpengaruh terhadap penularan filariasis, terutama berpengaruh terhadap umur nyamuk sehingga mikro-filaria yang ada dalam tubuh nyamuk tidak memiliki cukup waktu untuk berkembang menjadi larva infeksi L3. Hal ini berkaitan dengan masa inkubasi ekstrinsik dari *B.malayi* yang berkisar antara 8-10 hari.⁵ Faktor perilaku nyamuk dan cacing filaria juga berperan dalam penularan filariasis. Perilaku mikrofilaria bergerak aktif ke darah tepi harus sesuai dengan perilaku menggigit nyamuk vektor. Mikrofilaria juga harus dapat bergerak aktif dari darah viseral ke darah tepi pada waktunya atau dengan perilaku yang tepat sehingga dapat menginfeksi nyamuk vektor. Agar dapat menyebarkan mikrofilaria dari hospes satu ke hospes lain maka produksi mikrofilaria harus cukup banyak.¹⁴ Kepadatan optimal mikrofilaria dalam darah penderita agar penularan dapat terjadi optimal berkisar antara 1-3mf/mm³. Bila jumlahnya hanya sedikit, maka hanya sebagian kecil nyamuk yang dapat menghisap mikrofilaria, namun apabila terlalu banyak mikrofilaria yang dihisap akan mengakibatkan kematian pada nyamuk.^{5,15}

Hasil pemeriksaan dengan metode PCR mendapatkan 8 sampel nyamuk *Ma. indiana* yang positif mengandung DNA mikrofilaria. Hal ini menunjukkan bahwa pemeriksaan dengan metode PCR lebih sensitif untuk mendeteksi mikrofilaria dibandingkan dengan pembedahan. Namun demikian, standar baku (*gold standar*) untuk penentuan nyamuk sebagai vektor filariasis adalah dengan pembedahan terhadap nyamuk. Hasil penelitian yang dilakukan di French Polynesia yang membandingkan antara pemeriksaan mikrofilaria pada nyamuk dengan metode pembedahan dan PCR menemukan bahwa pemeriksaan secara PCR lebih sensitif untuk mendeteksi DNA mikrofilaria.¹⁶

Pembedahan nyamuk untuk menemukan larva cacing filaria L3 sering tidak mendapatkan hasil yang positif meskipun spesies nyamuk tertentu sudah terbukti sebagai vektor filariasis dan terjadi penularan di daerah endemis. Hal ini berhubungan dengan ketrampilan petugas pemeriksa, kondisi mikrofilaria dan kondisi dari nyamuk pada saat pembedahan. Pembedahan nyamuk untuk menemukan larva L3 perlu dilakukan dengan segera, sesaat setelah nyamuk mati agar dapat menemukan larva L3 dalam kondisi hidup, sehingga mudah teridentifikasi. Kondisi mikrofilaria yang sudah mati akan mempersulit identifikasi larva L3 dari tubuh nyamuk, karena berntuknya yang kecil dan menyerupai benang seringkali tertutup oleh kotoran dari tubuh nyamuk. Kondisi nyamuk yang sudah terlalu lama mati juga mempengaruhi hasil peme-

riksaan, karena apabila terdapat larva L3 dalam tubuh nyamuk tersebut, maka larva tersebut akan segera mati sehingga sulit diidentifikasi.

Vektor filariasis *B. malayi* yang telah teridentifikasi di Provinsi Jambi adalah *Ma. uniformis*, *Ma. indiana* dan *Ma. anulifera*. Nyamuk dinyatakan sebagai vektor bila ditemukan larva cacing filaria L3 di dalam probosis. Namun beberapa penelitian yang mengidentifikasi larva L3 dalam tubuh nyamuk tidak menemukan hasil positif dan setelah dikonfirmasi dengan pemeriksaan PCR ditemukan adanya DNA cacing filaria dalam tubuh nyamuk.^{10,11,12,17}

Penggunaan metode PCR untuk pemeriksaan filarial baik pada manusia maupun hewan termasuk nyamuk sebagai vektor membutuhkan peralatan yang memadai dan biaya yang relatif mahal. Namun metode ini cukup efektif untuk monitoring program eliminasi filariasis dalam skala besar karena tingkat sensitivitas metode ini yang cukup tinggi.¹⁸

Pengendalian vektor filariasis merupakan rangkaian kegiatan dalam eliminasi filariasis, sehingga identifikasi nyamuk sebagai vektor filariasis perlu dilakukan secara simultan. Pemeriksaan nyamuk secara PCR dapat digunakan sebagai alternatif untuk mengidentifikasi nyamuk yang berperan sebagai vektor sehingga dapat digunakan sebagai dasar pengendalian vektor dalam mendukung eliminasi filariasis di daerah dengan tingkat penularan yang tinggi sehingga intervensi pengendalian dapat dilakukan secara efektif.¹⁹

Selain pengendalian vektor, perlu juga dilakukan pengendalian terhadap hewan reservoir yang dapat menjadi sumber penular filariasis. Hasil penelitian yang pernah dilakukan terhadap kucing (*Felis catus*) di Jambi mendapatkan 33,3% (5 dari 15) terinfeksi oleh *B. malayi*.²⁰ Penularan filariasis yang diperankan oleh nyamuk *Mansonia* spp. kemungkinan dapat terjadi dari hewan ke manusia karena filarial *B. malayi* di Jambi termasuk tipe subperiodik nokturnal yang bersifat zoonotik.

Pengendalian vektor filariasis dapat diterapkan dengan beberapa cara, diantaranya penyemprotan, larvasida, penggunaan kelambu, penggunaan repelen dan manipulasi lingkungan.²¹ Pengendalian vektor filariasis dapat dilakukan secara terintegrasi dengan pengendalian vektor penyakit lain seperti malaria dan demam berdarah.

KESIMPULAN

Hasil pembedahan secara mikroskopis tidak ditemukan adanya larva cacing filarial stadium 3 (L3) dalam tubuh nyamuk. Ditemukan adanya

DNA mikrofilaria *B. malayi* hasil pemeriksaan secara PCR pada 8 sampel nyamuk *Ma. indiana* sehingga nyamuk *Ma. indiana* berpotensi sebagai vektor filariasis *Brugia malayi* di Kabupaten Tanjung Jabung Timur. Metode PCR lebih sensitif mendeteksi mikrofilaria dalam tubuh nyamuk dibandingkan dengan pembedahan, namun pembedahan tetap merupakan *gold standard* dalam penentuan vektor filariasis.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini didanai oleh DIPA Loka Litbang P2B2 Baturaja tahun anggaran 2014. Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada Panitia Pembina Ilmiah PTIKM khususnya Profesor Amrul Munif, Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Tanjung Jabung Timur, staf Program Filariasis, serta seluruh pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan selama kegiatan penelitian dan penulisan artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Filariasis di Indonesia. Buletin Jendela Epidemiologi. Pusat Data dan Surveilans Epidemiologi Kementerian Kesehatan RI. Jakarta; 2010.
2. Dinas Kesehatan. Profil Kesehatan Provinsi Jambi 2011. Dinas Kesehatan Provinsi Jambi. Jambi; 2012.
3. Dinas Kesehatan Kabupaten Tanjung Jabung Timur. Laporan Tahunan Bidang Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan, Dinas Kesehatan Kabupaten Tanjung Jabung Timur Tahun 2012. Dinas Kesehatan Kabupaten Tanjung Jabung Timur. Muara Sabak; 2013.
4. Budiarto E, Dewi A. Pengantar Epidemiologi. Edisi 2. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta; 2003.
5. Departemen Kesehatan. Pedoman Program Eliminasi Filariasis di Indonesia. Departemen Kesehatan. Jakarta; 2008.
6. Santoso, Yahya, Milana Salim. Penentuan Jenis Nyamuk *Mansonia* sebagai Tersangka Vektor Filariasis *Brugia malayi* dan Hewan Zoonosis di Kabupaten Muaro Jambi. Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2014. 24(4):181-90.
7. Laboratorium Parasitologi Badan Litbangkes RI. Modul Pelatihan Diagnosis Molekuler Malaria. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta; 2011.

8. Asih PBS. Modul Workshop Polymerase Chain Reaction in Molecular Diagnostics. Lembaga Eijkman. Jakarta; 2012.
9. Laboratorium PCR Loka Litbang P2B2 Baturaja. Laporan Hasil Praktek PCR. Baturaja: Loka Litbang P2B2 Baturaja, 2013.
10. Hayuningtyas D, Subekti DT. Deteksi Mikrofilaria/Larva Cacing Brugia malayi pada Nyamuk dengan *Polymerase Chain Reaction*. Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner. 2008.13(3):240-248.
11. Yahya, Santoso, Salim M, Arisanti M. Deteksi *Brugia malayi* pada *Armigeres subalbatus* dan *Culex quinquefasciatus* yang diinfeksi darah penderita filariasis dengan metode PCR. Aspirator. 2014; 6(2):35-42.
12. Irpan Pahlepi, Santoso. Penentuan Vektor Filariasis dan Spesies Mikrofilaria di Puskesmas Batumarta VIII Kabupaten OKU Timur Tahun 2012. Jurnal Pembangunan Manusia. 2013; 7(3):1-14.
13. Safitri A, Risqhi H, Ridha MR. Identifikasi vektor dan vektor potensial filariasis di Kecamatan Tanta, Kabupaten Tabalong. Jurnal Buski. 2012. 4(2):73-9.
14. Sudjadi FA, Hardianto T. Perilaku microfilaria *Brugia malayi* dalam darah tepi penderita filariasis di daerah intergradasi Delta Mahakam, Kalimantan Timur. Berkala Ilmu Kedokteran. 2002. 34(2):83-90.
15. 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.
16. Plichart C, Sechan Y, Davies N, Legrand AN. PCR and dissection as tools to monitor filarial infection of *Aedes polynesiensis* mosquitoes in French Polynesia. Filaria Journal 2006; 5(2) Article ID doi:10.1186/1475-2883-5-2. Ditelusuri dari: <http://www.filariajournal.com/content/5/1/2>. Available at 28 January 2015
17. Glover J, William SA, Szabo S, Landry D, McReynolds LA, Supali T, Partono F. A Field Study using The Polymerase Chain Reaction (PCR) to Screen for *Brugia Microfilariae* in Human and Animal Blood. Buletin Penelitian Kesehatan. 1989. 17(2): 80-7
18. Rao RU, Atkinson LJ, Ramzy RMR, Helmy H, Farid HA, Bockarie MJ, Susapu M, Laney SJ, Williams SA, and Weil GJ. A real-time PCR-based assay for detection of *Wuchereria bancrofti* DNA in blood and mosquitoes. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2006. 74(5) : 826-32.
19. Laney SJ, Ramzy RMR, Helmy HH, Farid HA, Ashour AA, et al. Detection of *Wuchereria bancrofti* L3 Larvae in Mosquitoes: A Reverse Transcriptase PCR Assay Evaluating Infection and Infectivity. PLoS Negl Trop Dis. 2010. 4(2): e602. doi:10.1371/journal.pntd.0000602.
20. Sudomo M, Oswari E, Suwanto, Liat LB. A preliminary study of Malayan filariasis in Puding Village, Jambi Province, Sumatera. Buletin Penelitian Kesehatan. 1984;12(1):32-38.
21. WHO. Lymphatic Filariasis. Practical Entomologi. A Handbook for National Elimination Programmes. World Health Organization. Geneva; 2013.