

## TRANSMISI TRANS-OVARI VIRUS DENGUE PADA NYAMUK *Aedes Aegypti* DAN *Aedes Albopictus* DI KABUPATEN BANJARNEGARA

### *Trans-Ovary Transmission of Dengue Virus in The Aedes Aegypti and Aedes Albopictus Mosquito in Banjarnegara District*

Nova Pramestuti, Dyah Widiastuti, Jarohman Raharjo<sup>1</sup>  
Balai Litbang P2B2 Banjarnegara Jl. Selamanik No.16A Banjarnegara  
Email: novha\_3011@yahoo.co.id

Diterima: 7 Juli 2013; Direvisi: 5 Agustus 2013; Disetujui: 2 September 2013

#### ABSTRACT

Trans-ovary transmission of dengue virus is a crucial etiological phenomenon responsible for persistence of virus during inter-epidemic period of the disease. Distribution and seasonality of this phenomenon in disease endemic areas may contribute to explain emergence of dengue and its subsequent prevention. The study on distribution area of transovarial transmission of dengue virus in *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* has been made in Dengue endemic districts of Banjarnegara. Observations done to demonstrate the role of different *Aedes* species in transmission and retention of dengue virus. The collections of *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* larvae derived from clean water-containing containers indoor and outdoor in the study areas. It was carried out from May until September 2012. The locations for larval collections were selected from the villages which had experienced recent DHF cases. Results of this research showed that trans-ovary transmission of dengue virus in mosquitoes occurs at a 21 mosquitoes positive Dengue antigen of 223 mosquitoes that were examined. In conclusion, based on this study, it was proven that there was potential of *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* mosquito to transmit dengue virus trans-ovarian in Banjarnegara district.

**Keywords:** Dengue virus, trans-ovary, *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus*

#### ABSTRAK

Transmisi trans-ovari virus Dengue merupakan fenomena etiologi penting yang bertanggung jawab atas pemeliharaan virus selama periode inter-epidemi penyakit. Distribusi dan musiman dari fenomena di daerah endemik penyakit dapat berkontribusi untuk menjelaskan munculnya demam berdarah dan pencegahan selanjutnya. Penelitian tentang distribusi wilayah penularan trans-ovari virus dengue pada *Aedes aegypti* dan *Ae. albopictus* telah dilakukan pada wilayah endemik DBD di Kabupaten Banjarnegara. Pengamatan dilakukan untuk menunjukkan peran spesies *Aedes* yang berbeda dalam transmisi dan retensi virus Dengue. Koleksi larva *Aedes aegypti* dan *Ae. albopictus* berasal dari air bersih pada kontainer di dalam dan luar rumah di lokasi penelitian. Dilaksanakan pada bulan Mei-September 2012. Lokasi untuk koleksi larva dipilih dari desa yang terdapat kasus DBD baru. Hasil penelitian menunjukkan bahwa transmisi trans-ovari virus Dengue pada nyamuk terjadi pada 21 ekor nyamuk positif antigen Dengue dari 223 ekor nyamuk diperiksa. Berdasarkan hasil penelitian terbukti bahwa ada potensi nyamuk *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus* menularkan virus Dengue secara trans-ovari di Kabupaten Banjarnegara.

**Kata kunci:** virus Dengue, trans-ovari, *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus*

#### PENDAHULUAN

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan penyakit yang disebabkan oleh virus Dengue yang ditularkan melalui nyamuk (Depkes RI, 2007). Menurut WHO, lebih dari 40% penduduk dunia berisiko terhadap virus Dengue dan yang diperkirakan 50 juta per tahun terdapat infeksi baru (Regis, 2009). Kasus DBD di dunia rata-rata setiap

tahunnya dilaporkan sebanyak 925.896 kasus (Dinkes Prov. Jateng, 2009). Di Indonesia, jumlah kasus demam berdarah tercatat masih tinggi, bahkan paling tinggi dibanding negara lain di ASEAN. Data Kementerian Kesehatan (Kemenkes) RI mencatat jumlah kasus DBD pada tahun 2009 mencapai sekitar 150 ribu. Demikian juga dengan tingkat kematiannya, tidak berubah dari 0,89% pada tahun 2009 menjadi 0,87% pada tahun 2010

(Pramudiarja, 2011). Tahun 2008, seluruh Kabupaten/Kota di Jawa Tengah telah melaporkan adanya kasus DBD.

Kabupaten Banjarnegara merupakan salah satu daerah endemis baru DBD. Pada tahun 2005 mulai dilaporkan adanya kasus DBD di Kabupaten Banjarnegara. *Incidence Rate* (IR) DBD cenderung meningkat, pada tahun 2008 IR DBD sebesar 6,54/100.000 penduduk, tahun 2009 menjadi 29,38/100.000 penduduk dan tahun 2010 menjadi 47,71/100.000 penduduk. Pada tahun 2011 terjadi penurunan kasus DBD dengan IR sebesar 10,65/100.000 penduduk (DKK Banjarnegara, 2012).

Kasus DBD di Kabupaten Banjarnegara ditularkan oleh nyamuk vektor dari spesies *Aedes aegypti* dan *Ae. albopictus*. Penelitian Pramestuti (2012) menunjukkan bahwa nyamuk *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus* yang diperiksa keberadaan virus Dengue menggunakan metode imunositokimia SBPC menunjukkan positif mengandung virus Dengue.

Transmisi virus pada nyamuk vektor dapat terjadi secara horizontal ketika seekor nyamuk vektor menggigit seorang yang sedang mengalami viremia. Setelah virus dalam darah ikut terhisap masuk ke dalam lambung nyamuk, virus akan mengalami replikasi pada jaringan lambung kemudian bermigrasi melalui sel coelem ke sel neuron dan kelenjar saliva (Leake, 1992). Penularan pada manusia dapat terjadi karena setiap kali nyamuk menghisap darah, sebelum menghisap darah akan mengeluarkan air liur melalui saluran alat tusuknya (proboscis) agar darah tidak membeku. Virus Dengue bersama air liur dipindahkan dari nyamuk ke orang yang dihisap darahnya.

Selain mekanisme transmisi horizontal, transmisi virus Dengue pada nyamuk vektor juga dapat terjadi secara vertikal. Transmisi yang terjadi secara vertikal ini tidak membutuhkan adanya kontak antara nyamuk vektor dengan penderita viremia. Mekanisme yang paling umum terjadi pada transmisi vertikal ini adalah ketika virus memasuki tubuh nyamuk lalu menginfeksi ovarium dan kemudian menginfeksi telur yang dihasilkan. Nyamuk yang menetas dari telur yang terinfeksi tersebut akan mengandung virus yang sama

dengan induknya. Mekanisme transmisi vertikal inilah yang menyebabkan keberadaan virus Dengue tetap terpelihara di lingkungan (Akbar, et al., 2008).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah di Kabupaten Banjarnegara yang merupakan daerah endemis baru DBD telah terjadi transmisi virus secara vertikal (trans-ovari) di tubuh nyamuk vektornya. Dengan mengetahui adanya kejadian trans-ovari pada nyamuk vektor, diharapkan mampu mendukung penyusunan sistem kewaspadaan dini demi terlaksananya program pengendalian dan pencegahan DBD di Kabupaten Banjarnegara.

## BAHAN DAN CARA

Penelitian ini menggunakan desain deskriptif. Penelitian dilakukan di Kelurahan Kutabanjarnegara dan Parakancangah, Desa Klampok, Wanadadi, Tapen dan Singamerta Kabupaten Banjarnegara bulan Mei-September 2012. Sampel nyamuk yang akan diuji trans-ovari dikoleksi pada stadium larva dari hasil survei larva yang telah dilakukan.

### Survei larva dan kolonisasi nyamuk

Survei larva dilakukan sebanyak satu kali (*spot survey*) pada 345 rumah di dalam dan luar rumah. Semua kontainer yang ditemukan diperiksa dan diamati apakah di dalamnya terdapat larva atau tidak. Jika terdapat larva, maka diambil dan dipipet lalu dimasukkan ke dalam botol kecil. Botol diberi label dengan keterangan kode: rumah-jenis kontainer. Semua larva yang telah dimasukkan dalam botol dibawa menggunakan kotak larva. Hasil pengamatan dicatat dalam formulir survei larva. Di Laboratorium Rearing Instalasi Entomologi Balai Litbang P2B2 Banjarnegara, larva dari masing-masing botol dipindah dalam *paper cup*. *Paper cup* diberi kode: desa-kode rumah-tanggal survei. Larva dan pupa yang diperoleh dalam satu rumah dipelihara dalam satu *paper cup* dan diberi makan dog food. Selanjutnya larva-larva tersebut dipelihara hingga dewasa. Apabila sudah menjadi nyamuk dewasa, nyamuk diberi pakan berupa larutan gula 10% tanpa diberi kesempatan

untuk menghisap darah. Setelah berumur 8 hari, nyamuk dimatikan dengan cara dimasukkan dalam freezer selama 5 menit, kemudian dibuat sediaan *head squash*.

### **Pemeriksaan imunositokimia pada nyamuk**

Nyamuk yang telah dimatikan dalam freezer dipisahkan *thorax* dan *caputnya* menggunakan jarum dan pinset *dissecting*. Bagian *caput* nyamuk diletakkan pada kaca sediaan yang bersih dan diatur sedemikian rupa agar setiap kaca sediaan dapat terisi 10 buah *caput* nyamuk. *Caput* nyamuk yang berada diatas kaca sediaan diatur sedemikian rupa agar tidak terlalu berhimpitan atau tumpang tindih antara satu dengan yang lainnya. *Caput* nyamuk ditekan-tekan di bawah kaca penutup menggunakan ujung tangkai jarum *dissecting*. Kaca penutup diambil lalu ditetesi methanol dingin (-20°C) sampai semua bagian tergenang dan diinkubasi selama 5 menit. Setelah preparat kering, dicuci dengan aquadest. Sediaan *head squash* yang telah difiksasi dengan methanol dingin kemudian dicuci dengan PBS. Sediaan ditetesi dengan *peroksidase blocking solution* 100 µl, lalu diinkubasi pada suhu kamar selama 10 menit dan dicuci dengan air mengalir serta dibilas dengan aquadest. Sediaan ditiriskan, lalu ditetesi antibodi primer (antibodi monoclonal DSSE10 1:5) sebanyak 50 µl dan diinkubasi pada nampan yang lembab yang ditutup alumunium foil pada suhu kamar selama 60 menit. Selanjutnya sediaan dicuci dengan PBS sebanyak 3 kali dengan masing-masing waktu pencucian 2 menit. Setelah ditiriskan, sediaan ditetesi 100 µl antibodi sekunder yang dilabel biotin dan diinkubasi pada nampan lembab yang ditutup alumunium foil pada suhu kamar selama 20 menit. Sediaan dicuci dengan PBS sebanyak 3 kali masing-masing selama 2 menit lalu ditiriskan. Konjugat streptavidin-peroxidase ditetaskan

sebanyak 100 µl lalu diinkubasi selama 10 menit pada suhu kamar. Preparat dicuci dengan PBS sebanyak 3 kali dengan masing-masing waktu pencucian 2 menit lalu ditiriskan. Larutan substrat kromogen DAB ditetaskan sebanyak 100 µl per preparat, kemudian diinkubasikan selama 3-5 menit dan preparat dicuci dengan aquades. Cat *Mayer hematoxylin* sebanyak 100 µl ditambahkan per preparat, kemudian diinkubasi selama 1 menit, lalu dicuci di bawah air kran, kemudian dibilas dengan PBS 1 kali selama 1 menit. Preparat ditiriskan dan dicuci dengan air kran, kemudian aquades. Preparat didehidrasi dengan alkohol 100% 3 kali, selanjutnya dikeringkan dan dibersihkan. Preparat selanjutnya dicelupkan ke dalam xylol 3 kali, dikeringkan dan dibersihkan. Preparat ditetesi entellan kemudian ditutup kaca penutup. Setelah kering, preparat siap diperiksa di bawah mikroskop pada perbesaran 40 kali, 100 kali, 400 kali, dan 1000 kali. Preparat yang selnya memperlihatkan warna coklat di bagian sitoplasmanya atau terdapat granula-granula berwarna coklat di sekitar sel berarti positif antigen Dengue, sedangkan sel yang menunjukkan warna biru dan tidak terdapat granula-granula berwarna coklat di sekitar sel sebagaimana kontrol negatif berarti tidak mengandung antigen Dengue (Umniyati, 2009).

### **HASIL**

Larva yang diperoleh dari lokasi penelitian dipelihara sampai menjadi nyamuk dewasa. Nyamuk yang berhasil hidup diidentifikasi terlebih dahulu sebelum diperiksa terinfeksi virus Dengue atau tidak. Hasil pemeriksaan virus Dengue pada nyamuk dewasa hasil pembiakan larva yang positif antigen Dengue disajikan pada Tabel 1.

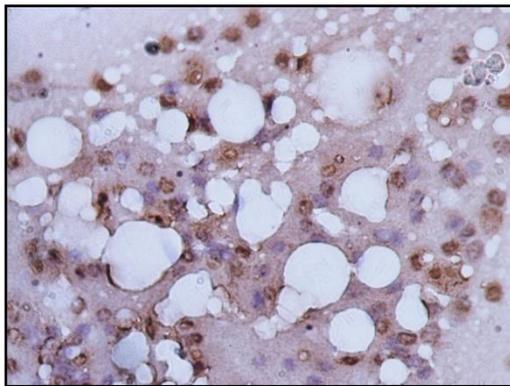
Tabel 1. Nyamuk Hasil Pembiakan Larva yang Positif Antigen Dengue dengan Metode Imunositokimia di Kecamatan Kabupaten Banjarnegara Tahun 2012

Lokasi	Spesies	Jumlah Nyamuk Positif Virus Dengue		Jumlah Nyamuk yang Diperiksa	
		Jantan	Betina	Jantan	Betina
Kutabanjarnegara	<i>Ae. aegypti</i>	11	5	52	83
	<i>Ae. albopictus</i>	1	0	2	10
Parakancangah Klampok	<i>Ae. aegypti</i>	1	1	5	8
	<i>Ae. aegypti</i>	0	0	3	13
Wanadadi	<i>Ae. albopictus</i>	0	0	2	3
	<i>Ae. aegypti</i>	0	2	4	12
Tapen	<i>Ae. albopictus</i>	0	0	0	4
	<i>Ae. aegypti</i>	0	0	10	8
Singamerta	<i>Ae. albopictus</i>	0	0	0	2
	<i>Ae. aegypti</i>	0	0	0	2

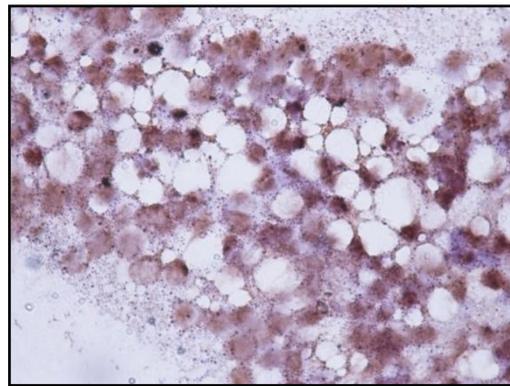
Tabel 1 menunjukkan bahwa terjadi transmisi trans-ovari pada nyamuk *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus* di Kabupaten Banjarnegara (21 ekor nyamuk positif antigen Dengue dari 223 ekor nyamuk yang diperiksa). Jumlah nyamuk yang diperiksa paling banyak dari Kelurahan Kutabanjarnegara yaitu sebanyak 147 ekor

dan 17 ekor nyamuk tersebut positif antigen Dengue.

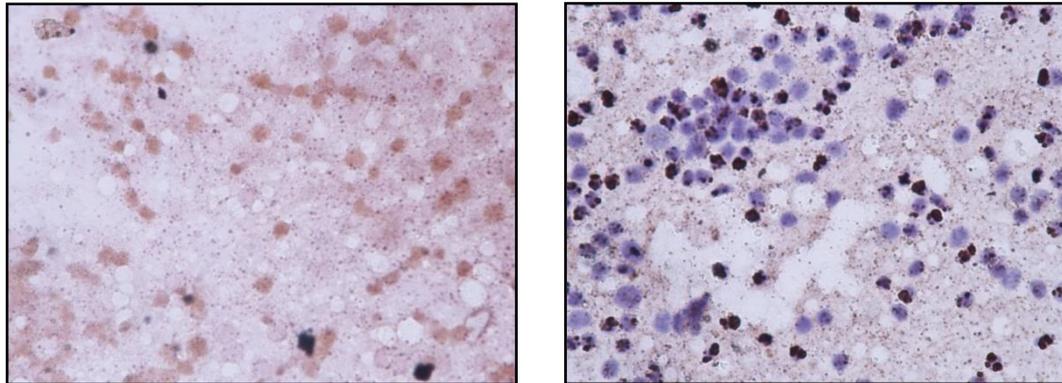
Hasil identifikasi antigen Dengue dengan metode imunositokimia pada sediaan head squash nyamuk *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus* yang dipelihara dari stadium larva disajikan pada Gambar 1.



A



B



C

D

Gambar 1. Gambaran mikroskopis sediaan *head squash* nyamuk dengan metode imunositokimia memperlihatkan reaksi positif pada kontrol positif (A); sampel positif *Ae. aegypti* (B); sampel positif *Ae. albopictus* (C); reaksi negatif pada kontrol negatif (D)

Pada sediaan *head squash* nyamuk *Aedes* yang terinfeksi virus Dengue terlihat adanya reaksi positif. Reaksi positif tersebut berupa sitoplasma sel yang berwarna coklat dan tersebar di antara jaringan otak. Sediaan kontrol negatif memperlihatkan reaksi negatif

berupa sitoplasma sel yang berwarna biru dan tidak ada butiran pasir berwarna coklat di sekitar sel-sel jaringan otak.

Data iklim berupa suhu dan kelembaban udara diukur secara langsung selama penelitian berlangsung (Tabel 2).

Tabel 2. Rata-rata Suhu dan Kelembaban Udara Hasil Pengukuran Bulan Mei-September 2012 di Kabupaten Banjarnegara

Lokasi	Suhu Udara ( $^{\circ}\text{C}$ )			Kelembaban Udara (%)
	Maksimum	Minimum	Rata-rata	
Kutabanjarnegara			28,3	71,3
Parakancanggih			32,2	70,0
Klampok			32,1	64,9
Wanadadi			30,5	75,5
Tapen			30,2	71,7
Singamerta			29,0	63,2

Tabel 2 menunjukkan bahwa rata-rata suhu udara di lokasi penelitian sebesar  $28,3 - 32,2^{\circ}\text{C}$  dan kelembaban udara sebesar  $63,2 - 75,5\%$ .

## PEMBAHASAN

Sampel larva yang diambil dari daerah penelitian Kelurahan Kutabanjarnegara dan Parakancanggih, Desa Wanadadi, Singamerta, Klampok dan Tapen. Setelah dibiakan di laboratorium diperoleh 200 ekor nyamuk *Ae.aegypti* dengan *sex ratio* jantan-betina 1:7 dan 23 ekor *Ae. albopictus* dengan *sex ratio* jantan-betina 1:5.

Hasil ini sedikit berbeda dengan penelitian Agoes (1996) mengenai strain geografis *Ae.aegypti* di Bandung yang menyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara jumlah nyamuk jantan dan nyamuk betina. Pemeriksaan virus Dengue pada nyamuk *Ae.aegypti* dan *Ae. albopictus* di Kabupaten Banjarnegara menggunakan metode imunositokimia menunjukkan bahwa 29 ekor nyamuk positif antigen Dengue dari 246 ekor nyamuk yang diperiksa (11,79%) (Pramestuti, 2012).

Transmisi virus Dengue secara vertikal pada *Ae.aegypti* telah dilaporkan di berbagai daerah geografis yang berbeda di

seluruh dunia. Dengue-2 dan Dengue-3 yang diisolasi dari nyamuk *Ae.aegypti* jantan yang tertangkap di lapangan mengindikasikan kejadian transmisi vertikal (*trans-ovary*) di Chennai (Arunachalam et al., 2008). Dengue-2 juga telah diisolasi dari nyamuk dewasa yang berasal dari penangkapan larva di tempat-tempat perkembangbiakan alami di Myanmar (Kin dan Than, 2003). Penelitian tentang transmisi trans-ovari di Indonesia telah dilakukan diantaranya oleh Widiarti dan Umniyati. Penelitian oleh Widiarti, dkk (2009) di 4 kabupaten dan 1 kota di Jawa Tengah menunjukkan bahwa ditemukan antigen virus Dengue pada 31 ekor nyamuk dari 2101 ekor nyamuk *Ae.aegypti* yang diperiksa dan 2 ekor nyamuk dari 4 ekor nyamuk *Ae. albopictus* yang diperiksa. Penelitian Umniyati (2009) menunjukkan indeks infeksi trans-ovari *Ae.aegypti* terhadap virus Dengue di Kabupaten Bantul, Sleman, dan Kota Yogyakarta pada periode November berturut-turut sebesar 10,86%, 29,31 %, dan 16,16%.

Pada penelitian ini telah dapat dideteksi adanya antigen virus Dengue pada nyamuk *Ae.aegypti* dan *Ae. albopictus* yang berasal dari larva yang diperoleh dari lapangan, hanya saja tidak dilakukan identifikasi *serotype* virus Dengue yang ditemukan. Hasil penelitian ini mendukung penelitian sebelumnya bahwa infeksi transovarial virus Dengue berperan untuk pemeliharaan virus selama periode inter-epidemi (Joshi et al, 2002).

Ditemukannya fenomena trans-ovari pada nyamuk *Ae.aegypti* dan *Ae. albopictus* di Kabupaten Banjarnegara ini patut untuk mendapatkan perhatian khusus karena Kabupaten Banjarnegara merupakan wilayah endemis baru DBD. Hasil penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa adanya transmisi trans-ovari virus Dengue pada nyamuk *Ae.aegypti* di Malaysia berperan dalam meningkatkan dan mempertahankan epidemik Dengue. Sedangkan adanya transmisi trans-ovari virus Dengue pada nyamuk *Ae. albopictus* terdeteksi 7-41 hari sebelum kasus Dengue pertama kali dilaporkan (Lee dan Rohani, 2005).

Sehubungan dengan karakteristik lingkungan, kelompok sampel menunjukkan hasil positif berasal dari sampel yang diambil

dari Kutabanjarnegara, Parakancanggih dan Wanadadi. Data suhu dan kelembaban udara seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2 menyebutkan bahwa rata-rata temperatur pada lokasi penelitian tersebut masing-masing adalah 28,2 °C, 32,2 °C, 30,5 °C. Selanjutnya, kelembaban udara yang tercatat adalah 71,3 %, 70 %, 75,5 %. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Joshi et al (1996) di India menggunakan teknik IFAT. Transmisi trans-ovari virus Dengue serotipe DEN-3 pada nyamuk *Ae. aegypti* memiliki suhu rata-rata 13-33 °C. Penelitian lain oleh Akbar, et al (2008) di Bandung transmisi trans-ovari virus Dengue serotipe DEN-2 pada nyamuk *Ae. aegypti* memiliki suhu rata-rata 32,3 °C dan kelembaban udara 66 %.

Penelitian Suardipa (2010) menunjukkan bahwa temperatur dan kelembaban udara berpengaruh terhadap angka infeksi trans-ovari (AIT) virus DEN-2 pada progeni nyamuk *Ae. aegypti*. AIT tertinggi pada nyamuk asal telur yang diinkubasikan pada kondisi kamar temperatur 25,5°C-28°C dan kelembaban 79%-87% masing- masing 61,1% dan 55,6%, diikuti nyamuk asal telur yang diinkubasikan pada kualiti tertutup ditempatkan pada ruang gelap dan lembab temperatur 22°C-26°C dan kelembaban 87%-92% dengan AIT masing-masing 33,3% dan 30% dan terendah nyamuk asal telur yang diinkubasikan pada inkubator tanpa CO<sub>2</sub> dengan temperatur 33°C-35°C dan kelembaban 68%-72% masing- masing 21,1% dan 22,2%.

Transmisi trans-ovari virus Dengue berpotensi meningkatkan kemungkinan wabah Dengue atau setidaknya memberikan kontribusi untuk terpeliharanya virus DBD di suatu daerah endemis (Thavara, 2006). Nyamuk betina yang terinfeksi bertelur di microniche, di mana sebagian besar telur bertahan hidup melalui musim inter-epidemi, muncul sebagai nyamuk dewasa yang kemungkinan masuk dalam siklus manusia-nyamuk-manusia. Generasi berikutnya yang diperoleh dari induk nyamuk yang terinfeksi menunjukkan bahwa virus tersebut dapat bertahan dalam generasi nyamuk berikutnya melalui melalui *transovarian passage* (Gubler, 2002). Nyamuk yang terinfeksi secara trans-ovari mempunyai kemampuan menularkan virus Dengue secara *oral* melalui

kelenjar ludah kepada seorang individu sehat (Rohani et al., 2005). Deteksi transmisi trans-ovari virus Dengue pada nyamuk vektor dapat menjadi salah satu alternatif sistem kewaspadaan dini untuk mengantisipasi tersebarnya penularan virus Dengue pada manusia.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan untuk mendeteksi keberadaan virus Dengue pada nyamuk *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus* dengan menggunakan metode imunositokimia, terbukti bahwa ada potensi nyamuk *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus* menularkan virus Dengue secara trans-ovari di Kabupaten Banjarnegara.

### Saran

Perlu dilakukan identifikasi serotipe virus Dengue yang ditularkan secara trans-ovari oleh nyamuk *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus* di Kabupaten Banjarnegara dan dilakukan pengamatan terhadap jumlah generasi turunan nyamuk yang masih terinfeksi virus Dengue dari induknya.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Badan Litbangkes yang telah memberi dana dalam rangka penelitian Risbinkes. Terima kasih juga saya ucapkan kepada: Kepala Balai Litbang P2B2 Banjarnegara, Kepala DKK Banjarnegara beserta staf bagian P2PL yang telah membantu kelancaran jalannya penelitian, staf Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran UGM yang memberikan bimbingan dalam pemeriksaan virus Dengue dengan metode imunositokimia, tim peneliti dan rekan Balai Litbang P2B2 Banjarnegara yang telah membantu kegiatan penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

Agoes R (1996). Studi Bionomik Nyamuk *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) Strain Geografis Bandung: Pola Pengembangbiakan pada Berbagai Temperatur dan Jenis Media Air serta Kemampuannya dalam

- Mentransmisikan Virus Dengue secara Transovarial. Disertasi. Universitas Padjajaran Bandung.
- Akbar MR, et al (2008). PCR Detection of Dengue Transovarial Transmissibility in *Aedes aegypti* in Bandung Indonesia. Proc ASEAN Congr Trop Med Parasitol. 3: 84 - 9.
- Arunachalam N, et al (2008). Natural Vertical Transmission of Dengue Viruses by *Aedes aegypti* in Chennai, Tamil Nadu, India. Indian J Med Res. 127: 395 - 7.
- Depkes RI (2007). Modul Pelatihan Bagi Pengelola Program Pengendalian Penyakit DBD di Indonesia.
- DKK Banjarnegara (2012). Laporan Kasus Demam Berdarah Dengue Tahun 2008-2011.
- Dinkes Provinsi Jateng (2009). Laporan Kasus DBD Jawa Tengah sampai November 2009.
- Gubler DJ (2002). The Global Emergence/Resurgence of Arboviral Diseases as Public Health Problems. Arch Med Res. 33: 330 - 42.
- Joshi V, Mourya DT, Sharma RC (2002). Persistence of Dengue-3 Virus Through Transovarial Transmission Passage in Successive Generations of *Aedes aegypti* mosquitoes. Am J Trop. Med. Hyg. 67: 158 - 161.
- Joshi V, Singhi M, Chaudhary RC (1996). Transovarial transmission of dengue-3 virus by *Aedes aegypti*. Trans R Soc Trop Med Hyg. 90: 643-4.
- Khin MM, Than KA (1983). Transovarial Transmission of Dengue-2 Virus by *Aedes aegypti* in Nature. Am J Trop Med Hyg. 32: 590 - 4.
- Leake CJ (1992). Arbovirus-Vector Interactions and Vector Specificity. Parasitol. Today. 8: 123 - 7.
- Lee HK, Rohani A (2005). Transovarial Transmission of Dengue Virus in *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* in Relation to Dengue Outbreak in an Urban Area in Malaysia. Dengue Bull. 106 - 111.
- Pramestuti N (2012). Identifikasi Vektor Utama Demam Berdarah Dengue dan Sebaran Virus Dengue di Kabupaten Banjarnegara. Laporan Akhir Penelitian Balai Litbang P2B2 Banjarnegara.
- Pramudiarja U. Indonesia Juara Demam Berdarah di Asean. [cited 30 Juni 2011]; Available from: <http://www.detikhealth.com/read/2011/02/18/163159/1573796/763/indonesia-juara-demam-berdarah-di-asean?ld991107763>.
- Regis L (2009). An Entomological Surveillance System Based on Open Spatial Information for Participative Dengue Control. Annals of the Brazilian Academy of Sciences. 81(4): 655 - 662.
- Rohani A, Zamree I, Lee HL, Mustafakamal I (2005). Detection of Transovarial Dengue Virus for Field Caught *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* Mosquito Using C6/36 Cell Line and RT-PCR. Trop Biomed. 22: 149 - 54.
- Suardipa AAGBA (2010). Uji Laboratorium Pengaruh Temperatur dan Kelembaban Udara Terhadap Angka Infeksi Transovarial Virus Dengue pada Nyamuk *Aedes aegypti* (Diptera : Culicidae). Tesis. Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

- Thavara U, et al (2006). Double Infection of Heteroserotypes of Dengue Viruses in Field Populations of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) and Serological Features of Dengue Viruses Found in Patients in Southern Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 37: 468 - 76.
- Umniyati SR (2009). Teknik Imunositokimia Menggunakan Antibodi Monoklonal Anti Dengue DSSC7 untuk Kajian Patogenesis Infeksi Virus Dengue dan Surveilansi Vektor. Disertasi. Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- Widiarti, Boewono DT, Widyastuti U (2009). Deteksi Antigen Virus Dengue pada Progeni Vektor Demam Berdarah dengan Metode Imunohistokimia. Bul. Penelit. Kesehat. 37 (3): 126 – 136.