



**TRANSMISI *HUMAN PLASMODIUM* PADA NYAMUK
ANOPHELES KE KAMBING PERANAKAN ETAWA DI
DAERAH ENDEMIK MALARIA
(Kajian Biomarker CSP, LSA-1, MSP-1 dan pLDH)**

**DIDIK SUMANTO
NIM : 30000115510001**

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN / KESEHATAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2022**

**TRANSMISI *HUMAN PLASMODIUM* PADA NYAMUK
ANOPHELES KE KAMBING PERANAKAN ETAWA DI
DAERAH ENDEMIK MALARIA
(Kajian Biomarker CSP, LSA-1, MSP-1 dan pLDH)**

Disertasi
Untuk memperoleh gelar Doktor
dalam Ilmu Kedokteran / Kesehatan

Telah dipertahankan dihadapan tim Penguji dan dinyatakan lulus
pada tanggal 28 Juli 2022

Oleh
Didik Sumanto
Lahir di Blora

HALAMAN PERSETUJUAN

TRANSMISI *HUMAN PLASMODIUM* PADA NYAMUK ANOPHELES KE
KAMBING PERANAKAN ETAWA DI DAERAH ENDEMIK MALARIA
(Kajian Biomarker CSP, LSA-1, MSP-1 dan pLDH)

Didik Sumanto
NIM : 30000115510001

Telah diujikan dan dinyatakan lulus ujian tertutup pada tanggal 28 Juli 2022
oleh tim penguji Program Doktor Ilmu Kedokteran/ Kesehatan
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Promotor

Ko-Promotor

Prof. Dr. dr. Suharyo Hadisaputro, Sp.PD-KPTI

dr. Mateus Sakundarno Adi, M.Sc, Ph.D

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Diponegoro Semarang

Ketua Program Studi
Doktor Ilmu Kedokteran/Kesehatan

Prof. Dr.dr. Dwi Pudjonarko, M.Kes, Sp.S(K)
NIP 19660720 199512 1 001

Prof. Dr.dr. Tri Indah Winarni, M.Si.Med., PA
NIP 19660510 199702 2 001

HALAMAN PENGESAHAN

TRANSMISI *HUMAN PLASMODIUM* PADA NYAMUK ANOPHELES KE KAMBING PERANAKAN ETAWA DI DAERAH ENDEMIK MALARIA (Kajian Biomarker CSP, LSA-1, MSP-1 dan pLDH)

Oleh

Didik Sumanto

NIM : 30000115510001

TIM PENGUJI

1. Prof. Dr. dr. Dwi Pudjonarko, M.Kes, Sp.S(K) : 1.
(Ketua)
2. Dr. Sayono, S.KM, M.Kes (Epid) : 2.
(Penguji)
3. drh. Siti Susanti, Ph.D : 3.
(Penguji)
4. Dr. Ir. Martini, M.Kes : 4.
(Penguji)
5. Prof. Dr. dr. Suharyo Hadisaputro, Sp.PD-KPTI : 5.
(Promotor)
6. dr.Mateus Sakundarno Adi, M.Sc, Ph.D : 6.
(Ko-Promotor)

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertandatangan dibawah ini :

Nama : Didik Sumanto
NIM : 30000115510001
Program Studi : Doktor Ilmu Kesehatan / Kesehatan
Judul Disertasi : TRANSMISI *HUMAN PLASMODIUM* PADA NYAMUK
ANOPHELES KE KAMBING PERANAKAN ETAWA DI
DAERAH ENDEMIK MALARIA (Kajian Biomarker CSP, LSA-1,
MSP-1 dan pLDH)

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Disertasi ini ditulis sendiri dengan tulisan asli saya sendiri tanpa bantuan orang lain selain Promotor, Ko-Promotor dan Narasumber.
2. Dalam Disertasi ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis orang lain, kecuali secara tertulis dicantumkan sebagai rujukan dalam naskah dan tercantum pada daftar kepustakaan.
3. Pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, apabila terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran saya bersedia menerima sanksi yang berlaku di Universitas Diponegoro.

Semarang, Juli 2022

Yang membuat pernyataan

Didik Sumanto

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur Alhamdulillah kami selalu panjatkan kepada Allah S.W.T, atas segala limpahan karunia, rahmat dan hidayah-Nya, serta nikmat kesehatan dan kesempatan, sehingga saya dapat menempuh pendidikan Program Doktor Ilmu Kedokteran/Kesehatan di Universitas Diponegoro Semarang, menyelesaikan penelitian dan penulisan Disertasi dengan judul: “TRANSMISI *HUMAN PLASMODIUM* PADA NYAMUK ANOPHELES KE KAMBING PERANAKAN ETAWA DI DAERAH ENDEMIK MALARIA (Kajian Biomarker CSP, LSA-1, MSP-1 dan pLDH)“. Sholawat dan salam dihaturkan kepada junjungan Nabi Muhammad S.A.W yang selalu menjadi suri tauladan bagi kita semua. Aamiin.

Pada kesempatan yang baik ini, saya menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Prof. Dr. dr. Suharyo Hadisaputro, Sp.PD-KPTI , atas kesediaan beliau sebagai Promotor, saya sangat berterimakasih kepada Beliau, beliau menjadi rujukan panutan saya, khususnya kajian bidang Epidemiologi. Rasa terimakasih tak terhingga juga saya sampaikan kepada beliau, di tengah kesibukan, beliau selalu meluangkan waktu kepada saya untuk memberikan bimbingan, pencerahan, arahan, konsep-konsep yang sangat jelas pada setiap langkah penelitian sampai dengan publikasi dan penyusunan disertasi saya ini.
2. Prof. Dr. Yos Johan Utama, S.H, M.Hum, Rektor Universitas Diponegoro Semarang yang telah menerima, memperkenankan, dan memberikan kesempatan kepada saya mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Doktor Ilmu Kedokteran/Kesehatan di Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang
3. Prof. Dr. dr. Dwi Pudjonarko, M.Kes, Sp.S(K), Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang yang telah menerima, memperkenankan, dan memberikan kesempatan kepada saya mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Doktor Ilmu Kedokteran/Kesehatan di Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

4. Prof. Dr. dr. Tri Indah Winarni, M.Si.Med., P.A, Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran/Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang yang telah memperkenankan dan memberikan arahan serta motivasi kepada saya dalam mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Doktor Ilmu Kedokteran/Kesehatan di Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang
5. dr. Mateus Sakundarno Adi, M.Sc, Ph.D , atas kesedian beliau sebagai Ko-Promotor, Rasa terimakasih tak terhingga juga saya sampaikan kepada beliau, di tengah kesibukan, beliau selalu meluangkan waktu kepada saya untuk memberikan bimbingan, pencerahan, arahan, konsep-konsep yang sangat jelas pada setiap langkah penelitian sampai dengan publikasi dan penyusunan disertasi saya ini.
6. Dr. Sayono, S.KM, M.Kes (Epid) dari FKM Universitas Muhammadiyah Semarang, sebagai Penguji Disertasi saya, saya juga menyampaikan ucapan terimakasih tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya atas kesediaan membantu saya memberikan asupan dan klarifikasi untuk kesempurnaan disertasi saya.
7. drh. Siti Susanti, Ph.D , sebagai Penguji Disertasi saya, saya juga menyampaikan ucapan terimakasih tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya atas kesediaan membantu saya memberikan asupan dan klarifikasi untuk kesempurnaan disertasi saya.
8. Dr. Ir. Martini, M.Kes, sebagai Penguji Disertasi saya, saya juga menyampaikan ucapan terimakasih tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya atas kesediaan membantu saya memberikan asupan dan klarifikasi untuk kesempurnaan disertasi saya.
9. Prof. Dr. dr. Edi Dharmana, M.Sc, Sp.ParK, Ph.D (almarhum), yang telah memberikan rekomendasi arahan awal gagasan konsep disertasi dan membimbing penyusunan disertasi hingga akhir hayat Beliau, semoga segala kebaikan tercurah untuk Beliau disisi Allah SWT.
10. Prof. Djamaludin Darwis, M.A, Rektor Universitas Muhammadiyah Semarang masa bhakti 2011-2015, yang telah memberikan kesempatan kepada peneliti untuk Tugas Belajar di Program Studi Ilmu Kedokteran/Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

11. Prof. Dr Masrukhi, M.Pd, selaku Rektor Universitas Muhammadiyah Semarang masa bhakti 2019-2023, yang telah memberikan kesempatan dan bantuan moril serta materiil kepada peneliti untuk menyelesaikan studi Doktoral di Program Studi Ilmu Kedokteran/Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
12. Kementrian Ristek-Dikti yang telah memberikan Beasiswa Pendidikan Pascasarjana Dalam Negeri (BPPDN) selama menempuh pendidikan di Program Studi Ilmu Kedokteran/Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang
13. Prof. Dr. DYP Sugiarto, M.Pd. Kons selaku Kepala LLDIKTI Wilayah VI Jawa Tengah masa bhakti 2012-2020, yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk Tugas Belajar di Program Studi Ilmu Kedokteran/Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang
14. Dinas Kesehatan Kabupaten Purworejo, yang telah memberikan ijin penelitian disertasi di Kecamatan Kaligesing Purworejo.
15. Staf laboratorium Puskesmas Kaligesing beserta Juru Malaria Desa Kecamatan Kaligesing, yang telah membantu dalam pengambilan data di lapangan.
16. Bapak Ibu Dosen dan Staff Program Studi Ilmu Kedokteran/Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang atas ilmu dan pengalamannya selama studi lanjut.
17. Keluarga besar Fakultas Kesehatan Masyarakat (FKM) Universitas Muhammadiyah Semarang yang selalu mendukung studi lanjut dan seluruh aktivitas peneliti.
18. Teman-teman mahasiswa di Program Studi Ilmu Kedokteran/Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang Angkatan 2015: Dr. dr. Mahalul Azam, M.Kes; Dr. Diah Wulandari, S.SiT, M.Keb; Dr. Cucu Herawati, SKM, M.Kes; Dr. Isna Hikmawati, M.Kes (Epid); Dr. Sisma HL, M.Kes; Dr. Sunarti, S.KM, M.Si; Dr. Estuasih Dyah Pertiwi, M.Kes; Dr. dr. Winda Yulia, M.Med.Sc; Dr. Eko Prasetyo, S.KM, M.Kes; dr. Moh. Syarofil Anam, Sp.A; Heriyanti Widyaingsih, S.Kep, M.Kep; Wahyu Hidayati, S.Kep, M.Kep; Dwi Putri Parendrawati, S.Kep, M.Kep; dr. Istiqomah, Sp.FM; drg. Grahita Aditya, Sp.Ort; Dr. dr. Ninung Rose Diana K.Sp.A; dr. Sugiono Lee, Sp.OG; dan teman-teman PPDS-2 Ilmu Penyakit Dalam 2015 (dr. Friska, dr. Nurmilawati, dr. Diana,

dr. Tania, dr. Budi, dr. Aziz) terimakasih atas cerita, pengalaman, semangat dan dukungannya selama studi lanjut.

19. Ayahanda Soekirman Hadi Sukirno (almarhum), yang selalu menanamkan semangat untuk studi lanjut sejak kanak-kanak, semoga mendapatkan tempat yang terbaik di sisi Allah SWT.
20. Ibunda Kartini, ibunda yang luar biasa tak kenal lelah mengiringi do'a untuk keberhasilan peneliti dalam hidup dan studi.
21. Istriku tercinta Suprihatiningsih, ananda Rizky Adi Pratama dan Rizky Mahandika Permana, yang selalu menemani dalam suka dan duka, menginspirasi dan mewarnai hari-hari dengan curahan cinta dan kasih yang tak pernah sirna.
22. Pada kesempatan ini saya juga menyampaikan permohonan maaf yang sebesar-besarnya, apabila dalam rangka penyelesaian pendidikan program Doktor Ilmu Kedokteran/ Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, terdapat kekhilafan baik yang disengaja maupun tidak disengaja, baik dalam bentuk ucapan maupun perbuatan. Semoga hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi ilmu pengetahuan, Aamiin.

Semarang, 28 Juli 2022

Didik Sumanto

DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
DAFTAR SINGKATAN	xix
DAFTAR ISTILAH	xx
ABTRAKS	xxi
RINGKASAN	xxiii
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Besaran Masalah	7
1. Identifikasi masalah	7
2. Rumusan masalah	9
C. Orisinalitas Penelitian	10

D. Tujuan Penelitian	14
E. Manfaat Penelitian	15
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	17
A. Pengendalian Vektor Malaria	17
1. Pengendalian kimiawi	17
2. Pengendalian secara biologi	23
3. Pengendalian secara mekanik	26
4. Pengendalian dengan pengelolaan lingkungan	28
5. Pengendalian vektor terpadu	29
B. Situasi Penyakit Malaria	32
C. Aksioma Cattle Barrier	33
D. <i>Human Plasmodium</i> Pada Ternak	37
1. Perilaku vector <i>Anopheles spp</i>	37
2. Potensi <i>human malaria</i> pada ternak	38
3. Transmisi silang <i>human Plasmodium</i> dan <i>Babesia spp</i>	41
4. Kasus human babesiosis	42
E. Mekanisme Transmisi <i>Human Plasmodium</i>	44
1. Siklus aseksual	44
2. Siklus seksual	47
F. Biologi <i>Human Plasmodium</i>	47
1. Taksonomi dan spesies	47
2. Petanda keberadaan <i>human Plasmodium</i>	51

a. Keberadaan sporozoit	51
b. Liver stage antigen 1	55
c. Hepatocyte growth factor	57
d. Kenampakan parasit mikroskopis	58
e. Merozoit surface protein (MSP)-1	59
f. Histidine rich protein (HRP)-2	64
g. Parasite lactate dehydrogenase (pLDH)	65
h. Respon imunologi infeksi malaria	66
G. Kesenjangan Peran Ternak Sebagai Barrier, Terminal Host dan Reservoir	75
BAB III. KERANGKA TEORI, KONSEP DAN HIPOTESIS	80
A. Kerangka Teori	81
B. Kerangka Konsep	82
C. Hipotesis	84
BAB IV. METODE PENELITIAN	85
A. Desain Penelitian	85
B. Populasi dan Sanpel	85
C. Variabel dan Definisi Operasional	88
D. Materi Penelitian	90
E. Teknik Pengumpulan Data	91
F. Alur Penelitian	103
G. Pengolahan dan Analisis Data	105
BAB V. HASIL PENELITIAN	107

A.	Gambaran Lokasi Penelitian	107
B.	Hasil Survei Vektor Anopheles	109
C.	Deteksi Sporozoit dan CSP	112
D.	Pengujian <i>h-Plasmodium</i> Pada Darah Kambing	115
1.	Pemeriksaan mikroskopis slide darah	115
2.	Deteksi <i>liver stage antigen 1</i> (LSA-1)	118
3.	Deteksi <i>merozoite surface protein 1</i> (MSP-1)	119
4.	Deteksi <i>Plasmodium lactate dehydrogenase</i> (pLDH)	120
E.	Keberadaan <i>h-Plasmodium</i> pada vektor dan kambing PE	123
F.	Transmisi <i>h-Plasmodium</i> Pada Kambing Peranakan Etawa	124
BAB VI.	PEMBAHASAN	129
A.	Survey Vektor Anopheles	130
1.	Karakteristik vektor	130
2.	Deteksi sporozoit dan CSP	137
B.	Pengujian <i>h-Plasmodium</i> Dalam Darah Kambing	141
1.	Deteksi LSA-1	141
2.	Deteksi MSP-1	143
3.	Pemeriksaan mikroskopis	148
4.	Deteksi pLDH	153
C.	Transmisi <i>h-Plasmodium</i> Pada Kambing Peranakan Etawa	154
D.	Keterbatasan Penelitian	157
BAB VII.	KESIMPULAN DAN SARAN	159

A. Kesimpulan	159
B. Saran	160
DAFTAR PUSTAKA	162

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Orisinalitas penelitian	11
2. Komposisi glycofhorin pada eritrosit manusia dan kambing	79
3. Variabel dan definisi operasional	88
4. Parameter uji pelacakan <i>human Plasmodium</i> pada ternak	103
5. Transformasi data mentah hasil uji laboratorium	105
6. Densitas <i>Anopheles</i> di Kaligesing Purworejo Tahun 2020-2021	112
7. Rekapitulasi hasil pengujian darah kambing	115
8. Proporsi stadium parasit temuan	116
9. Bobot gen <i>PfLDH</i> temuan	123
10. Tabel silang transmisi <i>h-Plasmodium</i> dari <i>Anopheles</i> ke kambing	124
11. Rasio prevalensi transmisi <i>h-Plasmodium</i> pada kambing peranakan Etawa	126
12. Hasil analisis kaitan lokasi penelitian dan keberadaan <i>Anopheles</i>	127
13. Potensi peran keberadaan <i>Anopheles</i> terhadap transmisi <i>h-Plasmodium</i>	128

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Siklus hidup dan perkembangan <i>human Plasmodium</i>	44
2. Morfologi sporozoit <i>Plasmodium spp</i>	52
3. Struktur merozoit <i>Plasmodium spp</i>	60
4. Proses invasi merozoit ke dalam eritrosit	62
5. Respon imunologi infeksi malaria	67
6. Kerangka teori penelitian	81
7. Kerangka konsep penelitian	82
8. Jumlah subyek dan material uji penelitian	87
9. Alur penelitian	104
10. Gambaran umum lokasi survei	108
11. Ringkasan hasil survey	108
12. Proporsi tangkapan nyamuk berdasarkan spesies	109
13. Fluktuasi jumlah tangkapan nyamuk <i>Anopheles</i>	110
14. Hasil tangkapan nyamuk bulanan	111
15. Proporsi uji mikroskopis dan PCR untuk deteksi sporozoit	113
16. Hasil uji CSP pada gel agarose	114
17. Tropozoit <i>P. falciparum</i> sampel 1, 3, 4 dan 5	117
18. Tropozoit <i>P. falciparum</i> sampel 26, 45, 46 dan 48	117

19.	<i>P. falciparum</i> stadium schizont	118
20.	Hasil uji LSA-1 pada gel agarose	119
21.	Hasil uji MSP-1 pada gel agarose	120
22.	Hasil uji <i>PfLDH</i> pada gel agarose (1, 3, 4, 5, 16, 26 positif)	121
23.	Hasil uji <i>PfLDH</i> pada gel agarose (43, 45, 46, 48 positif)	121
24.	Hasil uji <i>PfLDH</i> pada gel agarose (57 positif)	123
25.	Identifikasi biomarker berdasar tahap perkembangan parasit	124

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Instrumen penelitian	192
2. Skedul pengumpulan data	193
3. Teknik pengambilan spesimen uji	194
4. Pengujian material penelitian	195
5. Rekapitulasi hasil penangkapan nyamuk	202
6. Rekapitulasi sampel dan hasil uji laboratorium darah kambing	204
7. <i>Ethical clearance</i> penelitian	207
8. Perijinan penelitian DINPMPTSP Kabupaten Purworejo	208
9. Perijinan Dinas Kesehatan Kabupaten Purworejo	209
10. Dokumentasi penelitian	210

DAFTAR SINGKATAN

ANB	: Anti Nyamuk Bakar	LLINs	: Long Lasting Insectisidal Nets
APC	: Antigen Presenting Cell	LSA	: Liver Stage Antigen
API	: Annual Parasitic Rate	MAEBL	: Membrane Apical Erythrocyte Binding Ligan
BTI	: Bacillus thuringiensis var israelensis	MBR	: Man Biting Rate
CR	: Complemen Receptor	MC	: Mosquito Coil
CS	: Circum Sporozoite	MHC	: Major Histocompatibility Complex
CSP	: Circum Sporozoite Protein	MSP	: Merozoit Surface Antigen
EEFs	: Exo Erythrocytic Forms	NK cell	: Nature Killer Cell
G6PD	: Glucose 6 Phosphat Dehydrogenase	<i>Pf</i> HRP	: <i>Plasmodium falciparum</i> Histidine Rich Protein
GPI	: Glycosyl Phosphatidyl Inositol	<i>Pf</i> LDH	: <i>Plasmodium falciparum</i> Lactodehidrogenase
HGF	: Hepatosit Growth Factor	pLDH	: Parasite Lactodehidrogenase
HRP	: Histidine Rich Protein	PVT	: Pengendalian Vektor Terpadu
IFN γ	: Interferon Gamma	RDT	: Rapid Diagnostict Test
IGR	: Insect Growth Regulator	SBVC	: School Based Vector Controle
IL	: Interleukin	TNF α	: Tumor Necrosis Factor Alpha
IRS	: Insecticide Residual Spraying	TRAP	: Thrombospondhin Related Anonymous Protein

DAFTAR ISTILAH

- Annual Parasitic Incidence* : Ukuran yang menunjukkan besarnya angka kejadian infeksi parasit dan menjadi ukuran baku untuk penentuan endemisitas malaria pada suatu wilayah.
- Circum sporozoite protein* : Protein yang terdapat pada permukaan sporozoite *Plasmodium spp.*
- Hepatosit growth factor* : Hormon pertumbuhan yang terbentuk akibat invasi *Plasmodium spp* ke dalam sel hepar mamalia.
- Histidine rich protein* : Protein yang terkandung dalam parasit *P. falciparum* yang terdeteksi pada fase eritrositer siklus schizogoni.
- Human Plasmodium* : Spesies Plasmodium yang menginfeksi dan menyebabkan penyakit malaria pada manusia, meliputi spesies *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale* dan *Plasmodium malariae*.
- Liver stage antigen* : Antigen yang terdeteksi akibat invasi *Plasmodium spp* pada sel hepar hospes mamalia.
- Parasite lactate dehydrogenase* : Enzim yang terbentuk akibat invasi parasit *human Plasmodium* dalam eritrosit mamalia.
- Rapid diagnostic test* : Teknik pemeriksaan darah untuk deteksi malaria cara cepat dengan tes kit instan untuk pengujian lapangan.
- Sporozoite* : Salah satu stadium infeksi parasit *Plasmodium spp* yang merupakan bentuk hasil akhir perkembangan di dalam tubuh nyamuk Anopheles.

ABSTRAK

Latar Belakang: Malaria merupakan penyakit tular vektor disebabkan oleh *Plasmodium spp*, dan masih menjadi masalah kesehatan masyarakat penting, khususnya di wilayah tropis. Vektor penular malaria sebagian bersifat zoofilik sehingga potensial menularkan *h-Plasmodium* ke ternak domestik yang menjadi sumber pakan darah. Transmisi *h-Plasmodium* pada ternak masih sebatas dugaan didasarkan teori penularan malaria dan perilaku hidup *Anopheles* sehingga perlu kajian untuk membuktikannya.

Tujuan: Untuk mendeteksi potensi transmisi *h-Plasmodium* pada *Anopheles* ke kambing peranakan Etawa di daerah endemik malaria Kaligesing Purworejo.

Metode Penelitian: Studi cross-sectional dilakukan pada 212 ekor *Anopheles* dan 99 ekor kambing peranakan Etawa. Penangkapan nyamuk dengan umpan orang luar dan resting kandang ternak. Pelacakan parasit pada nyamuk dengan pemeriksaan sporozoit dan deteksi CSP. Pelacakan pada kambing dengan pemeriksaan mikroskopis slide darah, deteksi LSA-1, MSP-1, dan *PfLDH*.

Hasil Penelitian: *Anopheles* tertangkap adalah *An. maculatus*, *An. subpictus*, *An. aconitus*, *An. barbirostris*, *An. vagus* dan *An. kochi*. Tidak ditemukan sporozoit dan CSP pada sampel *Anopheles*. LSA-1 dan MSP-1 tidak terdeteksi pada kambing Peranakan Etawa. Pemeriksaan mikroskopis menemukan 9 kambing mengandung tropozoit dan schizont *P. falciparum*, sedangkan *PfLDH* terdeteksi pada 11 ekor kambing. Temuan parasit secara mikroskopis menguatkan adanya potensi transmisi *h-Plasmodium* pada kambing peranakan Etawa, sedangkan terdeteksinya *PfLDH* membuktikan terjadinya perkembangan *h-Plasmodium*. Kambing peranakan Etawa yang terdeteksi positif pada pemeriksaan mikroskopis berisiko memproduksi *PfLDH* sebesar 45 kali dibandingkan yang tidak terinfeksi (RP= 45; 95% CI= 11.43-177.17).

Kesimpulan: Lokasi studi masih potensial menjadi tempat perindukan *Anopheles*. Telah terjadi transmisi *h-Plasmodium* pada ternak kambing peranakan Etawa di daerah endemik malaria Kaligesing Purworejo.

Kata Kunci: *h-Plasmodium*, malaria, sporozoit, LSA-1, MSP-1, *PfLDH*

ABSTRACT

Background: Malaria is a vector-borne disease caused by *Plasmodium spp.*, an important public health problem, especially in tropical regions. Some of the vectors of malaria transmit are zoophilic, so they have the potential to transmit *h-Plasmodium* to domestic livestock, which is a source of blood feed. Transmission of *h-Plasmodium* in livestock is still limited to assumptions based on the theory of malaria transmission and *Anopheles'* behavior, so a study is needed to prove it.

Objective: To detect the potential for transmission of *h-Plasmodium* in *Anopheles* to Etawa crossbred goats in the malaria-endemic area of Kaligesing, Purworejo..

Methods: A cross-sectional study with 212 *Anopheles* mosquitoes and 99 Etawa crossbred goats. Catching mosquitoes with outsiders human bait and resting livestock cages. Parasite tracking in mosquito with sporozoite and CSP detection. The tracing in goats by microscopic examination of blood slides, detection of LSA-1, MSP-1, and pLDH.

Results: *Anopheles* caught were *An. maculatus*, *An. subpictus*, *An. aconitus*, *An. barbirostris*, *An. vagus* and *An. kochi*. No sporozoites and no CSP detect in all captured *Anopheles*. Both are LSA-1 and MSP-1 not detected in the blood of Etawa Crossbred goats. Microscopic examination found nine blood samples containing trophozoites and schizonts stages of *P. falciparum*. The presence of the *Pf*LDH enzyme detects in eleven goats' blood. The microscopic finding of parasites confirmed the potential for *h-Plasmodium* transmission in Etawa crossbred goats, while the detection of *Pf*LDH proved the cellular development of *h-Plasmodium*. Etawa crossbred goats were detected positive on microscopic examination was had a 45 times risk of producing *Pf*LDH compared to those not infected (PR= 45; 95% CI= 11.43 - 177.17).

Conclusion: The study site potential to be a breeding ground for *Anopheles*. There has been transmission of *h-Plasmodium* from *Anopheles* mosquitoes to Etawa crossbred goats in malaria-endemic areas.

Keywords: *h-Plasmodium*, malaria, sporozoite, LSA-1, MSP-1, *Pf*LDH

RINGKASAN

Pendahuluan

Malaria merupakan penyakit tular vektor yang disebabkan oleh parasit *human-Plasmodium (h-Plasmodium)*, yang masih menjadi masalah kesehatan masyarakat yang penting di seluruh dunia, khususnya di wilayah tropis dan subtropis.¹ Kejadian malaria di Indonesia hingga tahun 2020 tercatat *annual parasitic incidence (API)* sebesar 0,94 per 1.000 penduduk. Urutan lima besar provinsi dengan API tertinggi adalah Papua (63,12‰), Papua Barat (10,15‰), NTT (2,76‰), Kalimantan Timur (0,62‰), dan Maluku (0,42‰).² Kejadian malaria di Provinsi Jawa Tengah hingga tahun 2020 tercatat API sebesar 0,012 per 1000 penduduk.³ Hingga tahun 2020 ada 10 kota kabupaten yang tidak didapatkan kasus malaria, yaitu Magelang, Wonogiri, Sragen, Temanggung, Batang, Pekalongan, Tegal, Kota Magelang, Kota Surakarta dan Kota Pekalongan.³ Sayangnya pada tahun 2021 terjadi peningkatan kasus kembali di Purworejo dan disusul di Desa Giripurno Kabupaten Magelang.⁴

Transmisi penyakit malaria dipengaruhi oleh banyak faktor yang mencakup sumber infeksi, vektor penular, obyek penularan dan lingkungan yang mendukung. Salah satu faktor yang penting adalah keberadaan nyamuk *Anopheles*, yang berperan sebagai host definitive sekaligus vektor bagi *h-Plasmodium*.⁵ Beberapa spesies *Anopheles* memiliki sifat zoofagik, yaitu lebih suka menghisap darah binatang dibandingkan darah manusia.⁶ Sifat zoofagik ini yang mendasari pemahaman bahwa keberadaan ternak di sekitar rumah hunian merupakan salah satu faktor yang berhubungan dengan berkurangnya risiko kejadian malaria pada penghuni rumah⁷ dan meyakini bahwa keberadaan ternak akan berperan sebagai *barrier* dalam penularan penyakit malaria.⁸ Namun demikian, hingga saat ini belum diketahui secara pasti peran ternak sebagai *barrier* dalam siklus transmisi *h-Plasmodium*.⁹

Anopheles betina yang telah dibuahi akan mencari pakan darah untuk proses perkembangan telur. *Anopheles* betina kenyang darah akan mencukupkan pakan darah untuk kisaran beberapa hari, dan setelahnya akan mencari pakan darah kembali.¹⁰ Perilaku mencari pakan darah bagi *Anopheles* betina inilah yang mendasari konsep *cattle barrier*. Konsep *cattle*

barrier hakekatnya memanfaatkan ternak sebagai pengalih serangan gigitan *Anopheles*. Populasi ternak ruminansia yang ditempatkan di sekeliling pemukiman diharapkan dapat memenuhi kebutuhan pakan darah bagi *Anopheles* zoofilik betina. Kecukupan sumber pakan darah dari ternak ini akan mencegah masuknya *Anopheles* ke area pemukiman untuk mencari pakan darah. Ternak berperan sebagai pengalih serangan gigitan *Anopheles* betina, sehingga potensi serangan gigitan pada manusia dapat diminimalkan dan penularan malaria dapat dikendalikan. Konsep *cattle barrier* harus dipahami lebih pada upaya pengendalian untuk menurunkan risiko serangan *Anopheles* yang potensial menularkan penyakit malaria, bukan untuk menghilangkan penularan penyakit malaria.^{11,12}

Sebuah studi melaporkan bahwa keberadaan ternak sedang di samping rumah dapat meningkatkan risiko sebesar 2,8 kali lebih besar menyebabkan penularan malaria bagi penghuni rumah dibanding rumah tanpa ternak. Meningkatnya risiko ini lebih disebabkan oleh letak kandang ternak bersebelahan dengan rumah tinggal sehingga potensi serangan *Anopheles* pada ternak dan penghuni rumah sebanding.¹³ Keberadaan ternak dapat mengalihkan serangan gigitan *Anopheles* zoofilik memang dapat dipahami, namun yang lebih penting sebenarnya adalah membuktikan peran ternak yang sesungguhnya dalam kehidupan biologis *h-Plasmodium*. Harus diketahui, apakah *h-Plasmodium* mampu hidup dan berkembang biak di dalam tubuh ternak atau tidak, sehingga dapat diketahui peran ternak sebagai terminal host atau reservoir.

Penularan malaria pada daerah yang menerapkan program *cattle barrier* dengan benar akan lebih didominasi terjadinya perpindahan sporozoit dari *Anopheles* infeksius ke ternak *barrier*. Informasi perihal penyebaran malaria di daerah endemik dengan populasi ternak selama ini hanya dikaitkan dengan naik turunnya kejadian malaria pada masyarakat. Informasi biologis parasit menjadi terputus karena laporan tentang kemampuan hidup dan berkembangbiak *h-Plasmodium* pada ternak belum teridentifikasi. Belum ada laporan yang membuktikan kehidupan *h-Plasmodium* dalam hewan ternak, namun hasil uji pendahuluan di Purworejo menemukan stadium tropozoit *P. falciparum* dan *P. vivax* yang menjadi dasar penting untuk melanjutkan kajian.^{14,15} Kajian potensi transmisi *h-Plasmodium* pada ternak di

daerah endemik malaria menjadi sangat penting sebagai upaya untuk mengevaluasi potensi transmisi dan kemampuan hidup *h-Plasmodium* dari *Anopheles* ke ternak.

Keberadaan *h-Plasmodium* dalam ternak pada berbagai tahapan stadium perkembangan akan menunjukkan telah terjadinya penularan dari *Anopheles* betina infeksius ke ternak yang selama ini belum diketahui. Peran ternak sebagai reservoir atau terminal host bagi *h-Plasmodium* akan dievaluasi berdasarkan tahapan stadium perkembangan yang dapat terbentuk. Apabila *h-Plasmodium* mampu berkembang hingga stadium gametosit maka dapat diyakini bahwa parasit dapat beradaptasi dalam tubuh ternak dan tetap berkembang sesuai tahapannya. Hal ini dapat diartikan bahwa ternak sangat potensial menjadi reservoir bagi *h-Plasmodium*. Sebaliknya, apabila parasit hanya dapat berkembang hingga stadium schizont dalam tubuh ternak, maka dapat diartikan bahwa ternak sangat potensial berperan sebagai terminal host.

Anopheles infeksius yang mengandung sporozoit dalam kelenjar ludahnya yang menghisap darah hospes sangat potensial memasukkan sporozoit melalui kulit yang selanjutnya bermigrasi ke organ hati. Di dalam hati, protein antigen sporozoit *P. falciparum* akan terekspresikan sebagai *liver stage antigen* (LSA)-1.¹⁶ Ekspresi LSA-1 ini diyakini sebagai petanda spesifik keberadaan *P. falciparum* di dalam sel hati.^{17,18} Sporozoit *P. falciparum* akan melewati beberapa sel hati hingga menemukan sel hati yang menjadi target untuk diinvasi dan berkembang. Uji coba dalam tikus menunjukkan adanya invasi sporozoit *Plasmodium* dalam sel hati akan mengakibatkan terjadinya kerusakan dinding sel hati yang memicu terjadinya sekresi *hepatocyte growth factor* (HGF).^{19,20} Petanda keberadaan *h-Plasmodium* pada fase eritrositik diantaranya *merozoit surface protein 1* (MSP-1)²¹, *histidine rich protein 2* (HRP-2)²² dan *parasite lactodehidrogenase* (pLDH).^{23,24} Beberapa petanda spesifik atas keberadaan *h-Plasmodium* pada setiap tahap perkembangan tersebut menjadi petunjuk aktivitas biologis parasit dalam tubuh inang. Kajian terhadap petanda-petanda spesifik keberadaan *h-Plasmodium* merupakan sebuah upaya untuk mengetahui potensi transmisi *h-Plasmodium* pada ternak daerah endemik malaria dengan mempertimbangkan keberadaan sporozoit pada vektor. Keberadaan populasi kambing peranakan Etawa di daerah

endemik malaria memunculkan pertanyaan serius, apakah hewan kambing dapat mengalami transmisi *h-Plasmodium* atau tidak.

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan transmisi *h-Plasmodium* dari vektor *Anopheles* ke kambing peranakan Etawa yang diduga sebagai *barrier* di daerah endemik malaria melalui deteksi sporozoit pada vektor dan biomarker mekanisme transmisi pada kambing (LSA-1, MSP-1, morfologi mikroskopis, pLDH).

Metode Penelitian

Studi dirancang dengan desain *cross-sectional* deskriptif untuk melacak keberadaan *h-Plasmodium* pada vektor *Anopheles* dan ternak kambing Peranakan Etawa. Lokasi studi di Kecamatan Kaligesing Purworejo dengan jumlah sampel nyamuk sebanyak 212 ekor dan kambing sebanyak 99 ekor. Penangkapan nyamuk dengan umpan orang luar dan resting sekitar kandang ternak. Pengambilan spesimen darah kambing dilakukan pada vena jugularis menggunakan jarum *flashback* dan tabung vakum. Pelacakan sporozoit pada nyamuk *Anopheles* dilakukan dengan pembedahan kelenjar ludah mikroskopis dan pengujian CSP teknik PCR. Pelacakan *h-Plasmodium* pada kambing dilakukan dengan melakukan pemeriksaan slide darah tebal secara mikroskopis, pengujian LSA-1, MSP-1 dan *Pf*LDH pada spesimen darah.

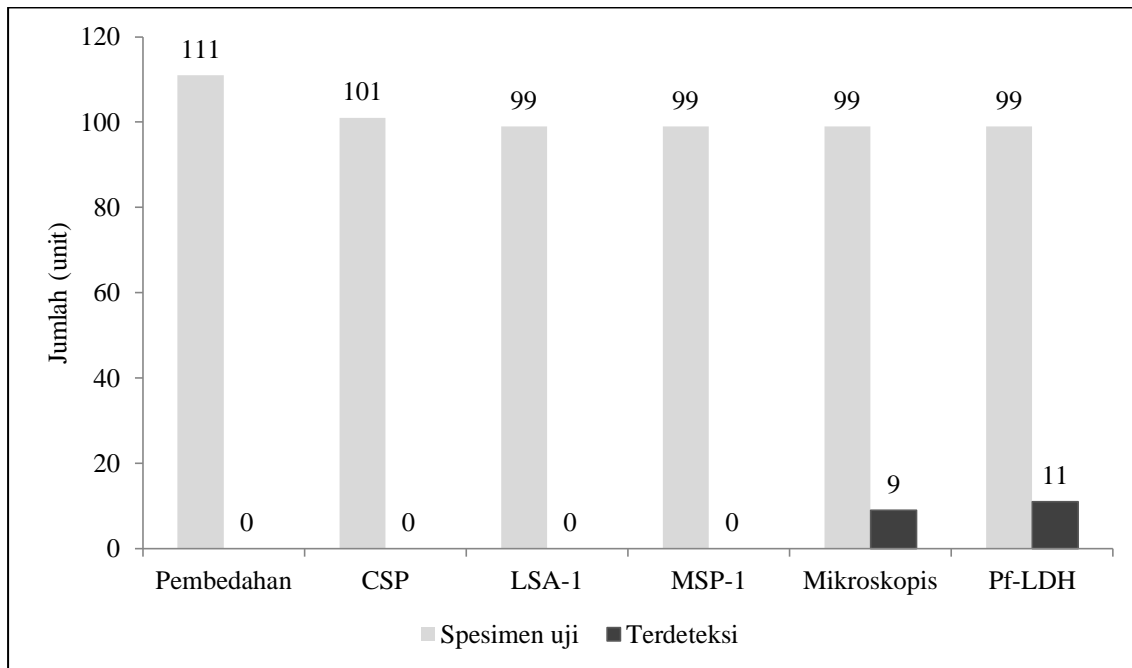
Adanya potensi transmisi *h-Plasmodium* pada kambing peranakan Etawa di Kaligesing Purworejo dibuktikan dengan menemukan parasit pada darah kambing baik dengan menemukan parasitnya secara langsung melalui pengujian mikroskopis maupun mendeteksi petanda-petanda spesifik atas keberadaannya. Seluruh variabel penelitian memiliki data berbentuk kategorik dengan skala data nominal sehingga analisis risiko dilakukan dengan menghitung besaran nilai rasio prevalensi (RP). Penghitungan nilai rasio prevalensi pada selang kepercayaan (*confidence interval*) 95% dilakukan dengan menggunakan aplikasi Medcalc online (https://www.medcalc.org/calc/relative_risk.php). Batas kesalahan yang ditoleransi adalah 5% ($\alpha = 5\%$). Dalam hal penghitungan rasio prevalensi terdapat nilai nol

dalam sel, aplikasi Medcalc secara otomatis memberikan nilai 0,5 pada sel bernilai nol sesuai referensi rujukan.^{25,26}

Hasil dan Pembahasan

Kabupaten Purworejo merupakan daerah dengan kasus malaria tertinggi di Jawa Tengah. Kecamatan Kaligesing adalah salah satu yang menjadi daerah endemik malaria selama beberapa kurun waktu. Pada tahun 2018 masih dilaporkan adanya kasus setempat di beberapa desa, diantaranya Desa Jatirejo, Ngadirejo dan Hardimulyo.²⁷ Periode waktu 2019 hingga 2020 hanya melaporkan kasus impor²⁸, namun di tahun 2021 terjadi peningkatan kasus yang signifikan di Kecamatan Bener.⁴ Berdasarkan peta wilayah kejadian, kasus malaria di Kaligesing tidak menyebar dari desa endemik ke desa sekitarnya. Tidak ada catatan perpindahan domisili penderita malaria dari Desa Jatirejo ke Desa Ngadirejo sebelum muncul kasus baru. Kasus impor di Desa Jatirejo baru dilaporkan di akhir tahun 2018, setelah kasus setempat mulai agak mereda.²⁸ Sementara itu pada tahun 2018 tiba-tiba muncul kasus malaria pada 23 orang di wilayah RT.2 Dusun Kembangsoke Desa Ngadirejo.²⁷

Populasi tertinggi adalah *An. vagus* yang menyukai habitat area persawahan²⁹, kolam³⁰, kubangan tanah tergenang air, tanah lapang berumput dengan tanaman perdu dan peneduh yang menampung air bahkan sumur gali.³¹ *An. barbirostris* yang menyukai kubangan kerbau, kobakan dekat kandang sapi, bekas kolam, persawahan dan danau sebagai tempat perindukan³² juga ditemukan di lokasi penelitian. Laporan penelitian terdahulu di Purworejo tidak dapat mendeteksi keberadaan sporozoit pada kedua jenis nyamuk ini.³³ *An. kochi* tertangkap di Desa Ngadirejo cukup banyak walaupun bukan yang tertinggi. Spesies ini banyak ditemukan pada kolam ikan yang tidak terawat dan tidak digunakan lagi sebagai tempat beternak ikan.³² *An. maculatus* dan *An. aconitus* yang ditemukan dalam survei ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan temuan spesies yang sama di Desa Jatirejo.³⁴ *An. subpictus* yang ditemukan pernah dilaporkan juga pada studi sebelumnya.³⁵ *An. vagus*, *An. maculatus*, *An. aconitus* dan *An. subpictus* terkonfirmasi sebagai salah satu vektor penular malaria di Purworejo.^{36,37}



Gambar 1. Hasil uji laboratorium pelacakan *h-Plasmodium*.

Pembedahan kelenjar ludah nyamuk hasil tangkapan dan pengujian CSP yang dilakukan belum dapat menemukan sporozoit dari nyamuk hasil tangkapan. Hasil senada juga pernah dilaporkan oleh peneliti lain baik dalam maupun luar negeri. Pengujian pada nyamuk *An. barbirostris* yang ditangkap di Waikabubak, Sumba Barat tidak berhasil mendeteksi CSP pada seluruh specimen.³⁸ Sementara deteksi CSP pada *An. vagus*, *An. tesellatus* dan *An. kochi* di Seram Maluku juga tidak berhasil menemukan keberadaannya.³⁹ Hasil ini tidak dapat disimpulkan bahwa tidak ada *Anopheles* infeksius sama sekali di lokasi studi. Belum ditemukannya nyamuk betina infeksius pada penelitian ini sangat mungkin disebabkan minimnya jumlah hasil tangkapan. Penangkapan nyamuk pada penelitian ini hanya difokuskan di area kandang ternak saja dengan asumsi dapat menangkap *Anopheles* zoofilik sebanyak-banyaknya. Keterbatasannya adalah tidak melakukan pemeriksaan paritas dan umur fisiologis *Anopheles* sehingga sangat memungkinkan nyamuk dewasa muda tidak dikeluarkan dari sampel pengujian. Minimnya populasi nyamuk saat pelaksanaan studi dan keterbatasan waktu menjadi faktor yang tidak dapat dipungkiri. Dalam studi lanjutan semua hal tersebut harus dipertimbangkan dengan lebih baik.

Pemeriksaan slide darah kambing Peranakan Etawa di Kaligesing Purworejo secara mikroskopis mendeteksi keberadaan *h-Plasmodium* pada 20,8% sampel. Temuan ini menepis keraguan kemampuan hidup *h-Plasmodium* pada host perantara selain manusia sekaligus memberikan bukti bahwa telah terjadi transmisi *h-Plasmodium* pada populasi kambing Peranakan Etawa di lokasi studi. Kejadian transmisi parasit di angka 20,8% yaitu seperlima lebih dari populasi kambing subyek penelitian juga mengisyaratkan bahwa temuan ini bukan sekedar kebetulan. Menjadi sangat menarik karena di waktu yang hampir bersamaan juga dilaporkan temuan parasit yang sama pada sekelompok ternak domestik di Sumba Barat dan Fakfak Papua. Dilaporkan sebanyak 5,8% sampel darah kambing dan kisaran antara 14,3 - 20,7% pada sampel darah ternak domestik lainnya juga mengandung *P. falciparum* dan *P. vivax* bahkan ditemukan hingga stadium gametosit.⁴⁰ Keberadaan LSA-1 tidak terdeteksi pada seluruh sampel yang diperiksa. Hal ini tidak berarti seluruh sampel tidak mengandung *h-Plasmodium*, karena deteksi LSA-1 bukan satu-satunya petanda keberadaannya. Ekspresi gen LSA-1 hanya pada fase intrahepatik saja.¹⁶ LSA-1 mulai terbentuk saat sporozoit yang menginvasi sel hepar memilih salah satu sel sebagai tempat singgahan akhir di hati. Keberadaannya mulai terdeteksi pada hari ketiga perkembangan parasit pada fase intrahepatik.⁴¹ Hasil pengujian dari subyek penelitian masih belum dapat mendeteksi keberadaan MSP-1 dalam darah kambing Etawa. Selama fase invaginasi masuknya parasit, semua fragmen MSP-1 terlepas dari permukaan merozoit kecuali fragmen 19-kDa, yang tetap melekat pada permukaan merozoit.^{42,43} Studi ini hanya menguji keberadaan MSP-1₁₉ sebagai salah satu fragmen pecahan dari MSP-1₄₂. Keterbatasan waktu dan pembiayaan menjadi alasan tersendiri. Patut dipertimbangkan dalam studi lanjutan agar melacak keberadaan fragmen lain seperti MSP-1₈₃, MSP-1₃₀ dan MSP-1₃₈ agar lebih lengkap dalam pelacakan petanda ini.

Keberadaan *PfLDH* pada darah kambing peranakan Etawa akan menjadi sebuah informasi penting. Deteksi pLDH memiliki sensitivitas mencapai 60,1%⁴⁴ bahkan pernah dilaporkan 94%⁴⁵. Spesifisitas pLDH juga dilaporkan lebih baik dibanding enzim HRP2⁴⁶. Aktivitas pLDH dapat dengan mudah dideteksi dalam sampel darah dengan tingkat parasitemia 0,2-10%^{47,48} atau 75 parasit/ μ L.⁴⁹ Beberapa teori tentang pLDH tersebut semakin meyakinkan bahwa *PfLDH* temuan dalam darah kambing Peranakan Etawa benar-benar ada

dan menunjukkan keberadaan *h-Plasmodium* yang sempat hidup dalam tubuhnya. Enzim pLDH akan mulai terbentuk pada hari pertama setelah merozoit dari hati menginvasi eritrosit⁵⁰ dan akan terus meningkat hingga mencapai puncak pada 24-48 jam pada fase eritrositik.^{51,52}

Tabel 1. Rasio prevalensi transmisi *h-Plasmodium* pada kambing peranakan Etawa

Variabel bebas	Variabel terikat	RP	95% CI
Keberadaan CSP	Kemunculan LSA-1	100,00*	3,37 - 2964,09
	Hasil uji mikroskopis	5,26	0,68 - 40,93
	Keberadaan MSP-1	100,00*	3,37 - 2964,09
	Kemunculan <i>Pf</i> LDH	4,35	0,57 - 33,24
Kemunculan LSA-1	Hasil uji mikroskopis	5,26	0,68 - 40,93
	Keberadaan MSP-1	100,00*	3,37 - 2964,09
	Kemunculan <i>Pf</i> LDH	4,35	0,57 - 33,24
Keberadaan MSP-1	Hasil uji mikroskopis	5,26	0,68 - 40,93
	Kemunculan <i>Pf</i> LDH	4,35	0,57 - 33,24
Hasil uji mikroskopis	Kemunculan <i>Pf</i> LDH	45,00*	11.43 - 177.17

RP = Rasio prevalensi; *signifikan ($\alpha=5\%$)

Nilai estimasi RP keberadaan CSP terhadap kemunculan LSA-1 dan keberadaan MSP-1 memiliki besaran yang sama karena besar nilai pada sel kedua variabel juga sama, demikian pula untuk variabel kemunculan LSA-1 terhadap keberadaan MSP-1. Tabulasi silang dikotomi dengan nilai yang sama pada keempat sel tentu akan menghasilkan perhitungan estimasi nilai RP yang sama pula. Keberadaan CSP terestimasi potensial terhadap kemunculan LSA-1 dan MSP-1 pada kambing peranakan Etawa. Hal ini tentu dapat dipahami karena aktivitas parasit dalam sel hati akan terjadi setelah proses invasi sporozoit ke dalam sel hati.^{53,54} Kemunculan LSA-1 yang menandakan adanya invasi parasit dalam hati juga potensial terhadap keberadaan MSP-1 dalam darah inang, sebagaimana bahwa merozoit merupakan hasil dari stadium skizon dalam fase hati.^{55,56} Sementara temuan morfologi mikroskopis menunjukkan keberadaan parasit dalam sel darah merah inang. Keberadaan parasit dalam sel darah merah inang akan membentuk enzim laktat dehydrogenase sebagai petanda terjadinya perkembangan⁵⁷, sehingga

tidak diragukan lagi bahwa morfologi mikroskopis parasit berperan sebagai faktor potensial yang memunculkan *PfLDH* dalam darah inang kambing peranakan Etawa.

Kesimpulan

Human Plasmodium telah ditransmisikan ke kambing peranakan Etawa di Kaligesing oleh *Anopheles*. Biomarker yang terdeteksi dalam darah kambing adalah tahap trofozoit dan schizont *P. falciparum* dan *PfLDH*. CSP berpotensi meningkatkan risiko munculnya LSA-1 dan MSP-1 dalam darah kambing. Temuan morfologi mikroskopis parasit berpotensi meningkatkan risiko kemunculan *PfLDH* dalam darah kambing.

SUMMARY

Introduction

Malaria is a vector-borne disease caused by the *human-Plasmodium (h-Plasmodium)* parasite, which is still an important public health problem throughout the world, especially in tropical and subtropical regions.¹ The incidence of malaria in Indonesia until 2020 was recorded at API 0, 94 per 1000 population. The top five provinces with the highest API are Papua (63.12‰), West Papua (10.15‰), NTT (2.76‰), East Kalimantan (0.62‰), and Maluku (0.42‰).² The incidence of malaria in Central Java Province until 2020 recorded an API of 0.012 per 1000 population.³ Until 2020 there were 10 district cities that had no malaria cases, namely Magelang, Wonogiri, Sragen, Temanggung, Batang, Pekalongan, Tegal, Magelang City, Surakarta City and Pekalongan City.³ Unfortunately in 2021 there will be an increase in cases again in Purworejo and followed by Giripurno Village, Magelang Regency.⁴

Malaria transmission is influenced by several factors including the source of infection, the vector transmission, the object transmission, and the environment that supports it. The presence of the *Anopheles* mosquito is an important factor, which acts as the definitive host and vector for *h-Plasmodium*.⁵ Some species of *Anopheles* have zoophagic properties, which prefer to suck animal blood rather than human blood.⁶ The zoophagic nature underlies the understanding the presence of livestock around residential homes is one of the factors associated with a reduced risk of malaria incidence in households⁷ and believes the presence of cattle will act as a barrier in malaria transmission.⁸ However, until now, the role of livestock as a barrier in the *h-Plasmodium* transmission cycle is not clear.⁹

Anopheles females fertilized will look for blood feed for the process of egg development. Blood-filled female *Anopheles* will suffice for blood feed for a few days, and after that they will look for blood feed again.¹⁰ This blood-feeding behavior for female *Anopheles* underlies the concept of the cattle barrier. The a cattle barrier concept essentially uses livestock as a diversion for *Anopheles'* bites. The population of ruminant livestock placed around the settlement is expected to meet the blood feed needs of female zoophilic *Anopheles*. A Sufficient sources of blood feed from livestock will prevent *Anopheles* from entering

residential areas in search of blood feed. Cattle act as a diversion for female *Anopheles* bite attacks, so that the potential bite attacks on humans can be minimize and malaria transmission can be control. The concept of the cattle barrier must be understood more as a control effort to reduce the risk of *Anopheles* attack has the potential to transmit malaria, not to eliminate malaria transmission.^{11,12}

A study reported that the presence of livestock at the side of the house increased the risk of 2.8 times greater risk of transmitting malaria to residents of the compared house without livestock. This increased risk is caused more by the location of the cattle pens next to the residence so that the potential for *Anopheles* attacks on livestock and householders is comparable.¹³ The presence of cattle can divert the attack of zoophilic *Anopheles* bites is understandable, but what is more important is actually to prove the role of livestock in the biological life of *h-Plasmodium*. It must be known whether *h-Plasmodium* can live and reproduce in the body of cattle or not, so it can be known the role as terminal host or reservoir.

Malaria transmission in areas that implement the cattle barrier program correctly will dominated by the transfer of sporozoites from infectious *Anopheles* to barrier cattle. Information regarding the spread of malaria in endemic areas with livestock populations has only associated with the ups and downs of malaria incidence in the community. Biologic information on the parasite is lost because reports on the ability to survive and reproduce *h-Plasmodium* in livestock have not identified. There have been no reports that prove the life of *h-Plasmodium* in livestock. The preliminary tests results in Purworejo found the trophozoite stages of *P. falciparum* and *P. vivax* became an important basis for continuing studies.^{14,15} The study of potential transmission of *h-Plasmodium* in livestock in malaria-endemic areas is very important to evaluate the transmission potential and viability of *h-Plasmodium* from *Anopheles* to livestock.

The presence of *h-Plasmodium* in livestock at various stages of development will indicate that there has been a transmission from an infected female *Anopheles* to livestock, which so far has not been known. The livestock's role as a reservoir or terminal host for *h-Plasmodium* will be evaluated based on the stages of development that can be formed. If *h-Plasmodium* can develop to the gametocyte stage, it can be believed that the parasite can adapt

to the livestock body and continue to develop according to its stadium. It means that livestock has the potential to become a reservoir for *h-Plasmodium*. On the other hand, if the parasite can only develop to the schizont stage in the animal's body, it can be interpreted that the animal has the potential to act as a terminal host.

Infectious *Anopheles* has the potential transmission of the containing sporozoites in their salivary glands that suck the host blood. The sporozoites will enter through the skin and then migrate to the liver. In the liver, the protein antigen of *P. falciparum* sporozoite is expressed as liver-stage antigen (LSA)-1.¹⁶ Expression of LSA-1 is believed to be a specific presence marker of *P. falciparum* in liver cells.^{17,18} *P. falciparum* sporozoites will pass through several liver cells to find liver cells that become targets for invasion and growth. *Plasmodium* sporozoites invasion showed the liver cell wall damage that triggers hepatocyte growth factor (HGF).^{19,20} The *h-Plasmodium* presence in the erythrocytic phase include merozoite surface protein 1 (MSP-1)²¹, histidine-rich protein 2 (HRP-2)²², and parasite lactate dehydrogenase (pLDH).^{23,24} Several specific markers for the presence of *h-Plasmodium* at each stage of development are indications of the biological activity of the parasite in the host's body. The study of specific markers of the presence of *h-Plasmodium* is an attempt to determine the transmission potential of *h-Plasmodium* in livestock in malaria-endemic areas by considering the presence of sporozoites in the vector. This study is very important as an initial basis for assessing the potential biological role of livestock as a cattle barrier in the transmission of malaria. The existence of a population of Etawa crossbreeds in malaria-endemic areas raises serious questions, about whether goats can experience h-Plasmodium transmission or not.

This study aims to prove the transmission of *h-Plasmodium* from the *Anopheles* vector to Etawa crossbred goats suspected as a barrier in malaria-endemic areas through the sporozoites detection in the vector and transmission biomarkers on the goats (LSA-1, MSP-1, microscopic morphology, pLDH).

Methods

The study was designed with a descriptive cross-sectional design to track the presence of *h-Plasmodium* in the *Anopheles* vector and Etawa Crossbreed goats. The study site was in

Kaligesing Sub District, Purworejo District with a total sample of 212 mosquitoes and 99 goats. The mosquitoes were caught by humans-bait and resting place around livestock cages. The goat blood specimens were taken from the jugular vein using a flashback needle and a vacuum tube. The sporozoite tracking in *Anopheles* mosquitoes conducts by microscopic salivary gland surgery and CSP testing in PCR technique. The *h-Plasmodium* track in goats was conducted by microscopically examining thick blood slides, LSA-1, MSP-1, and *PfLDH* testing on blood specimens.

The potential for *h-Plasmodium* transmission in Etawa crossbreed goats in Kaligesing Purworejo was proven by finding the parasite in goat blood, either by finding the parasite directly through microscopic testing or by detecting specific signs of its presence. All research variables have categorical data with nominal data scales so that risk analysis is carried out by calculating the prevalence ratio (PR) value. The calculation of the prevalence ratio at the 95% confidence interval was carried out using the Medcalc online application (https://www.medcalc.org/calc/relative_risk.php). The tolerable error limit is 5% ($\alpha = 5\%$). In the case of calculating the prevalence ratio there is a zero value in a cell, the Medcalc application automatically assigns a value of 0.5 to a cell with a zero value according to the reference reference.^{25,26}

Result and Discussion

Purworejo District is the area with the highest malaria cases in Central Java. Kaligesing Sub-District was one of the malaria-endemic areas for some time. In 2018 there were still reported local cases in several villages, including Jatirejo, Ngadirejo, and Hardimulyo villages.²⁷ The period from 2019 to 2020 only reported imported cases²⁸, but in 2021 there was a significant increase in cases in Bener District.⁴ Based on the maps of the area occurrence, malaria cases in Kaligesing did not spread from endemic villages to surrounding villages. There is no record of the domicile movement of malaria sufferers from Jatirejo Village to Ngadirejo Village before new cases emerged. Imported cases in Jatirejo Village were only reported at the end of 2018 after local cases began to subside somewhat.²⁸ Meanwhile, in 2018

suddenly malaria cases appeared in 23 people in the RT.2 area of Kembangsoke Hamlet, Ngadirejo Village.²⁷

The highest population is *An. vagus* who likes the habitat of rice fields²⁹, ponds³⁰, puddles of waterlogged soil, grassy fields with shrubs and shade that holds water, and even dug wells.³¹ *An. barbirostris* who like buffalo puddles, earth pits near cowsheds, former ponds, rice fields, and lakes as breeding grounds³² were also found in the research location. Previous research reports in Purworejo could not detect the presence of sporozoites in these two types of mosquitoes.³³ *An. kochi* caught in Ngadirejo Village, although not the highest. This species is mostly found in fish ponds that are not maintained and are no longer used as a place for raising fish.³² *An. maculatus* and *An. aconitus* found in this survey is in line with previous studies that reported findings of the same species in Jatirejo Village.³⁴ *An. subpictus* found has also been reported in previous studies.³⁵ *An. vagus*, *An. maculatus*, *An. aconitus* and *An. subpictus* was confirmed as a vector for transmitting malaria in Purworejo.^{36,37}

Surgery on the salivary glands of the caught mosquitoes and CSP testing were not able to find sporozoites. Similar results were reported by other researchers previously. *An. barbirostris* testing caught in Waikabubak, West Sumba was not detecting CSP in all specimens.³⁸ While the detection of CSP on *An. vagus*, *An. tesellatus* and *An. kochi* in Seram Maluku also not detected to find its whereabouts.³⁹ These results cannot be concluded that there is no infectious *Anopheles* at all at the study site. No female infectious mosquitoes were found in this study, most likely due to the low number of catches. Need for further exploration in catching female *Anopheles* by the more site varied breeding and resting places. Mosquito catching in this study was only focused on the livestock pen area with the assumption that it could catch as many zoophilic *Anopheles* as possible. The limitation is that the parity and physiological age of *Anopheles* are not checked, so it is very possible that young adult mosquitoes are not excluded from the test sample. The minimal mosquito population during the study and time constraints were undeniable factors. In follow-up studies all these things should be better considered.

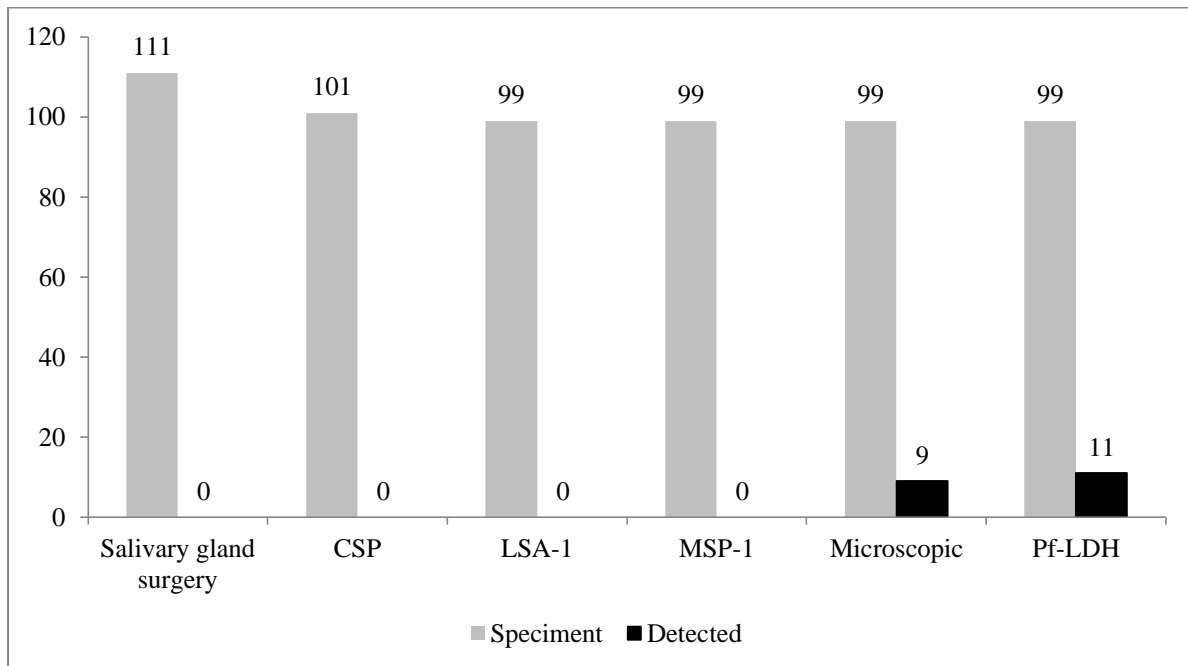


Figure 1. Laboratory testing results for *h-Plasmodium* tracking.

Examination of blood slides of the Etawa Crossbreed goat in Kaligesing Purworejo microscopically detected the presence of *h-Plasmodium* in 20.8% of the sample. This finding dispels doubts about the viability of *h-Plasmodium* in intermediate hosts other than humans and provides evidence that *h-Plasmodium* transmission has occurred in the population of Etawa Crossbreed goats at the study site. The incidence of parasitic transmission at 20.8%, which is more than one-fifth of the study subject goat population, also suggests that this finding is not just a coincidence. It is very interesting because at almost the same time the findings of the same parasite were reported in a group of domestic cattle in West Sumba and Fakfak Papua. It was reported that 5.8% of goat blood samples and the range between 14.3 - 20.7% in other domestic livestock blood samples also contained *P. falciparum* and *P. vivax* even found up to the gametocyte stage.⁴⁰ The presence of LSA-1 was not detected in all samples examined. This does not mean that all do not contain *h-Plasmodium*, because the LSA-1 is not the only marker of its presence. LSA-1 gene expression was only in the intrahepatic phase.[11] LSA-1 begins to form when sporozoites that invade liver cells select one of the cells as a final transit site in the liver. Its presence detects on the third day of

parasite development in the intrahepatic phase.⁴¹ The test results from the research subjects were still unable to detect the presence of MSP-1 in the blood of Etawa goats. During the invagination phase of parasite entry, all of the MSP-1 fragments detached from the merozoites surface except for the 19-kDa fragment, which remained attached to the merozoite surface.^{42,43} Limited time and funding are the separate reason. It should be considered in further studies to track the presence of other fragments such as MSP-1₈₃, MSP-1₃₀, and MSP-1₃₈ to be more complete in tracking this marker.

The discovery of *Pf*LDH in the blood of Etawa crossbreed goats is an important piece of information. The detection of pLDH has a sensitivity of up to 60.1%⁴⁴ and even 94% has been reported⁴⁵. The specificity of pLDH was reported to be better than that of the HRP2 enzyme⁴⁶. The pLDH activity can easily detect in blood samples with parasitemia levels of 0.2-10%^{47,48} or 75 parasites/ μ L.⁴⁹ Several theories about pLDH are increasingly convincing that the *Pf*LDH found in the blood of the Etawa crossbreed goat exists and indicates the presence of *h-Plasmodium* that had lived in its body. The pLDH enzyme will start to form on the first day after merozoites from the liver invade erythrocytes[97] and will continue to increase until it reaches a peak at 24-48 hours in the erythrocytic phase.^{51,52}

Table 1. Prevalence ratios of *h-Plasmodium* transmission in Etawa crossbred goats

Independent variable	Dependent variable	PR	95% CI
CSP	LSA-1	100,00*	3,37 - 2964,09
	Microscopic testing	5,26	0,68 - 40,93
	MSP-1	100,00*	3,37 - 2964,09
	<i>Pf</i> LDH	4,35	0,57 - 33,24
LSA-1	Microscopic testing	5,26	0,68 - 40,93
	MSP-1	100,00*	3,37 - 2964,09
	<i>Pf</i> LDH	4,35	0,57 - 33,24
MSP-1	Microscopic testing	5,26	0,68 - 40,93
	<i>Pf</i> LDH	4,35	0,57 - 33,24
Microscopic testing	<i>Pf</i> LDH	45,00*	11,43 - 177,17

PR = Prevalence Rasio; *significant ($\alpha=5\%$)

The estimated value of PR for the presence of CSP on the occurrence of LSA-1 and the presence of MSP-1 has the same number because the values in the cells of the two variables

are also the same, as well as for the variable occurrence of LSA-1 for the presence of MSP-1. Dichotomous cross tabulation with the same value in all four cells will certainly result in the calculation of the estimated PR value being the same. CSP was estimated to be potential for the emergence of LSA-1 and MSP-1 in Etawa crossbreeds. It is understandable because parasitic activity in liver cells will occur after the invasion of sporozoites into liver cells.^{53,54} The appearance of LSA-1 indicates the presence of parasite invasion in the liver is also potential for the MSP-1 in the host's blood, as merozoites are the result of the schizont stage in the liver phase.^{55,56} While microscopic morphological findings indicate the presence of parasites in the host's red blood cells. The presence of parasites in the host red blood cells will form the enzyme lactate dehydrogenase as a marker of development⁵⁷, so there is no doubt that the microscopic morphology of the parasite acts as a potential factor that causes *PfLDH* in the blood of the Etawa crossbreed goat.

Conclusion

Human Plasmodium has been transmitted to Etawa crossbred goats in Kaligesing by *Anopheles*. The biomarkers detected in the goat's blood are the trophozoite and schizont stage of *P. falciparum* and *PfLDH*. The CSP potentially increases the risk of the emergence of LSA-1 and MSP-1 in goat blood, and the microscopic morphology of parasites identified potentially increases the risk of *PfLDH* in the goat's blood.

References

1. World Health Organization. World Malaria Report 2016 [Internet]. Geneva, Switzerland; 2016. Available from: <http://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2016/report/en/>
2. Oscar Primadi. Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2020. Profil Kesehatan Indonesia 2020. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2020. 200–204 p.
3. Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Tengah. Profil Kesehatan Provinsi Jawa Tengah Tahun 2020 [Internet]. Semarang; 2021. Available from: <http://dinkesjatengprov.go.id/v2018/dokumen/profilkesehatan2020/mobile/index.html>
4. Prabowo Y. Buku Saku Kesehatan Tahun 2021 Triwulan 2 [Internet]. <https://dinkesjatengprov.go.id/>. Semarang: Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Tengah; 2021.

- 43 p. Available from:
https://dinkesjatengprov.go.id/v2018/storage/2021/08/1_Buku_Saku_Kes_tw2_2021_Finanal-1.pdf
5. Harijanto P, Laihad F, Poesporodjo J. Epidemiologi Malaria di Indonesia. Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan, Kementerian Kesehatan RI [Internet]. 2011; Available from:
<https://pusdatin.kemkes.go.id/download.php?file=download/pusdatin/buletin/buletin-malaria.pdf>
 6. Shinta S, Sukowati S, Pradana A, Marjianto M, Marjana P. Beberapa Aspek Perilaku Anopheles maculatus Theobald di Pituruh, Kabupaten Purworejo, Jawa Tengah. Bul Penelit Kesehat [Internet]. 2013;41(3):131–41. Available from:
<http://ejournal.litbang.depkes.go.id/index.php/BPK/article/view/3284/3278>
 7. Susanna D, Eryando T. Faktor Dominan yang Mempengaruhi Kejadian Malaria di Perdesaan. Kesehat Masy Nas. 2010;4(4):180–5.
 8. Yakubu A., Singh A. Livestock : An alternative mosquito control measure. Sokoto J Vet Sci [Internet]. 2008;7(1). Available from:
<https://www.ajol.info/index.php/sokjvs/article/download/72719/61635>
 9. Hurd H. Can cows protect against mosquito bites ? [Internet]. Biomed Central Blogs. 2014. Available from: <http://blogs.biomedcentral.com/bugbitten/2014/03/27/can-cows-protect-against-mosquito-bites-2/>
 10. CDC. Life Cycle of Anopheles Species Mosquitoes Anopheles species mosquitoes [Internet]. CDC Website. 2022 [cited 2022 Mar 19]. p. 1–4. Available from:
<https://www.cdc.gov/mosquitoes/about/life-cycles/anopheles.html>
 11. Donnelly B, Berrang-Ford L, Ross NA, Michel P. A systematic, realist review of zoonophylaxis for malaria control. Malar J [Internet]. 2015;14(1):313. Available from:
<http://www.malariajournal.com/content/14/1/313>
 12. Waite JL, Swain S, Lynch PA, Sharma SK, Haque MA, Montgomery J, et al. Increasing the potential for malaria elimination by targeting zoophilic vectors. Sci Rep [Internet]. 2017;7:1–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/srep40551>
 13. Hasyim H, Dhimal M, Bauer J, Montag D, Groneberg DA, Kuch U, et al. Does livestock protect from malaria or facilitate malaria prevalence? A cross-sectional study in endemic rural areas of Indonesia. Malar J. 2018 Aug 20;17(1).
 14. Sumanto D, Hadisaputro S, Adi MS, Susanti S. Human-Plasmodium Like in Domestic-goat Blood in Malaria Endemic Areas in Purworejo Indonesia. J Commun Dis [Internet]. 2021;53(4):3–5. Available from:
<https://medical.advancedresearchpublications.com/index.php/Journal-CommunicableDiseases/article/view/794>

15. Sumanto D, Hadisaputro S, Adi MS, Susanti S, Sayono S. Parasit Plasmodium sp pada Ternak Kambing Etawa di Daerah Endemik Malaria Kabupaten Purworejo. *J Ekol Kesehatan* [Internet]. 2021;20(1):36–44. Available from: <https://doi.org/10.22435/jek.v20i1.4092>
16. Mikolajczak SA, Jr JBS, Vega PD La, Camargo N, VanBuskirk K, Krzych U, et al. Disruption of the Plasmodium falciparum liver-stage antigen-1 locus causes a differentiation defect in late liver-stage parasites. *Cell Microbiol*. 2011;13(8):1250–60.
17. Taylor-Robinson AW. Immunity to liver stage malaria. *Immunol Res*. 2003;27(1):53–69.
18. Hillier CJ, Ware LA, Barbosa A, Angov E, Lyon JA, Heppner DG, et al. Process development and analysis of liver-stage antigen 1, a pre erythrocyte-stage protein-based vaccine for Plasmodium falciparum. *Infect Immun*. 2005;73(4):2109–15.
19. Alexis Kaushansky, Stefan H I Kappe. The crucial role of hepatocyte growth factor receptor during liver-stage infection is not conserved among Plasmodium species. *Nat Med*. 2013;17(10):1180–1.
20. M. Carrolo, S. Giordano, L. Cabrita-Santos, et al. Hepatocyte growth factor and its receptor are required for malaria infection. *Nat Med*. 2003;9(11):1363–9.
21. Kadekoppala M, Holder AA. Merozoite surface proteins of the malaria parasite : The MSP1 complex and the MSP7 family. *Int J Parasitol* [Internet]. 2010;40(10):1155–61. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2010.04.008>
22. Aley SB, Sherwood JA, Howard RJ. Knob-positive and knob-negative Plasmodium falciparum differ in expression of a strainspecific malarial antigen on the surface of infected erythrocytes. *J Exp Med*. 1984;160:1585–90.
23. Vander Jagt D., Hunsaker L., Heidrich J. Partial purification and characterization of lactate dehydrogenase from Plasmodium falciparum. *Mol Biochem Parasitol*. 1981;4:255–264.
24. Makler MT, Piper RC, Milhous WK. Lactate Dehydrogenase and the Diagnosis of Malaria. *Parasitol Today*. 1998;14(9):376–7.
25. Pagano M, Gauvreau K. Principles of Biostatistics Class notes to accompany the textbook by Pagano and Gauvreau. 2nd ed. Yiannoutsos C, editor. Harvard School of Public Health; 2000.
26. Deeks JJ, Higgins JPT. Statistical algorithms in Review Manager 5. Researchgate; 2010. p. 1–11.
27. Bayu B. Data Kejadian Malaria Kecamatan Kaligesing Tahun 2018. Purworejo; 2018. 10–15 p.
28. Wibowo MA. Buku Saku Kesehatan Triwulan 3 Tahun 2020. Dinas Kesehatan Prov. Jateng. Semarang Indonesia; 2020. 42–44 p.

29. Novianto D, Alya S, Kesumawati Hadi U, Soviana S. Distribution and The Habitat Characteristics of *Anopheles vagus* (Diptera: Culicidae) Larvae at Paddy Fields in The Vicinity of Dramaga IPB University Campus Dramaga Bogor West Java. *Acta Vet Indones* [Internet]. 2021;Spesial(May):137–41. Available from: <https://jurnal.ipb.ac.id/index.php/actavetindones/article/view/35281/21662>
30. Bashar K, Rahman MS, Nodi IJ, Howlader AJ. Species composition and habitat characterization of mosquito (Diptera: Culicidae) larvae in semi-urban areas of Dhaka, Bangladesh. *Pathog Glob Health* [Internet]. 2016;110(2):48–61. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/20477724.2016.1179862>
31. Mardiana M, Perwitasari D. Habitat Yang Potensial Untuk *Anopheles Vagus* Di Kecamatan Labuan Dan Kecamatan Sumur Kabupaten Pandeglang, Provinsi Banten. *J Ecol Kesehat* [Internet]. 2010;9(1):1139–43. Available from: <https://media.neliti.com/media/publications/83684-ID-habitat-yang-potensial-untuk-anopheles-v.pdf>
32. Yahya Y, Haryanto D, Pahlevi RI, Budiyanto A. Keanekaragaman Jenis Nyamuk *Anopheles* Di Sembilan Kabupaten (Tahap Pre Eliminasi Malaria) Di Provinsi Sumatera Selatan. *Vektora J Vektor dan Reserv Penyakit* [Internet]. 2020;12(1):41–52. Available from: <http://ejournal2.litbang.kemkes.go.id/index.php/vk/article/view/2621>
33. Widjajanti W, Kinansi RR. Identifikasi *Anopheles* Spp. sebagai Tersangka Vektor Malaria di Kabupaten Purworejo Tahun 2015. *Media Penelit dan Pengemb Kesehat*. 2020;29(4):313–20.
34. Putranto NT, Handoyo W, Sumanto D. Keragaman dan Kepadatan Vektor *Anopheles* sp di Jatirejo Purworejo. *J Kesehat Masy Indones* [Internet]. 2020;15(November):39–41. Available from: <https://doi.org/10.26714/jkmi.15.2.2020.39-41>
35. Rohani A, Najdah WMAW, Zamree I, Azahari AH, Noor IM, Rahimi H, et al. Habitat characterization and mapping of *Anopheles maculatus* (Theobald) mosquito larvae in malaria endemic areas in Kuala Lipis, Pahang, Malaysia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* [Internet]. 2010;41(4):821–30. Available from: <https://www.thaiscience.info/Journals/Article/TMPH/10897804.pdf>
36. Enny WL, Sukowati S, Soekidjo S, R.A W. Vektor Malaria Di Daerah Bukit Menoreh, Purworejo, Jawa Tengah [Internet]. Pusat Penelitian dan Pengembangan Ekologi Kesehatan. Jakarta; 2008 [cited 2021 Dec 22]. Available from: <http://repository.litbang.kemkes.go.id/1275/>
37. Sukowati S, Supratman S. Habitat Perkembangbiakan Dan Aktivitas Menggigit Nyamuk *Anopheles Sundaicus* Dan *Anopheles Subpictus* Di Purworejo, Jawa Tengah. *Indones J Heal Ecol* [Internet]. 2012;8(1):1–2. Available from: <http://www.litbang.kemkes.go.id:8080/handle/123456789/82842>
38. Ipa M, Prasetyowati H, Yuliasih Y. Konfirmasi *Anopheles Barbirostris* Sebagai Vektor

- Malaria di Waikabubak Melalui Deteksi Protein Circum Sporozoite. *ASPIRATOR - J Vector-borne Dis Stud* [Internet]. 2012;4(1):1–6. Available from: <https://ejournal2.litbang.kemkes.go.id/index.php/aspirator/article/view/4547>
39. Watmanlusy E, Raharjo M, Nurjazuli N. Analisis Spasial Karakteristik Lingkungan dan Dinamika Kepadatan Anopheles sp. Pengaruhnya terhadap Kejadian Malaria di Kecamatan Seram Barat Kabupaten Seram Bagian Barat Maluku. *J Kesehat Lingkung Indones* [Internet]. 2019;18(1):12–8. Available from: <https://ejournal.undip.ac.id/index.php/jkli/article/view/21402>
 40. Munirah M, Wahyuni S, Wahid I, Hamid F. The discovery of human Plasmodium among domestic animals in West Sumba and Fakfak , Indonesia. *F1000Research*. 2021;10(645):1–11.
 41. Fidock DA, Gras-Masse H, Lepers JP, Brahimi K, Benmohamed L, Mellouk S. Plasmodium falciparum liver stage antigen-1 is well conserved and contains potent B and T cell determinants. *J Immunol*. 1994;(153):190–204.
 42. Blackman M, Holder A. Secondary processing of the Plasmodium falciparum merozoite surface protein-1 (MSP1) by a calcium-dependent membrane-bound serine protease : shedding of MSP133 as a noncovalently associated complex with other fragments of the MSP1. *Mol Biochem Parasit*. 1992;50:307–315.
 43. Holder A., Blackman M., Burghaus P., Chappel J., Ling I., McCallum-Deighton N, et al. A malaria merozoite surface protein (MSP1)-structure, processing and function. *Mem Inst Oswaldo Cruz* [Internet]. 1992;87(Suppl. 3):37–42. Available from: <https://doi.org/10.1590/S0074-02761992000700004>
 44. Kyabayinze DJ, Zongo I, Cunningham J, Gatton M, Angutoko P, Ategeka J, et al. HRP2 and pLDH-based rapid diagnostic tests, expert microscopy, and PCR for detection of malaria infection during pregnancy and at delivery in areas of varied transmission: A prospective cohort study in Burkina Faso and Uganda. *PLoS One* [Internet]. 2016;11(7):1–15. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0156954#pone.0156954.ref023>
 45. Atchade PS, Doderer-Lang C, Chabi N, Perrotey S, Abdelrahman T, Akpovi CD, et al. Is a Plasmodium lactate dehydrogenase (pLDH) enzyme-linked immunosorbent (ELISA)-based assay a valid tool for detecting risky malaria blood donations in Africa? *Malar J* [Internet]. 2013;12(1):1–10. Available from: <https://bec.uac.bj/uploads/publication/0150bd9ef74e467194412c421b3223a4.pdf>
 46. Maltha J, Guiraud I, Lompo P, Kaboré B, Gillet P, Geet C Van, et al. Accuracy of Pf HRP2 versus Pf -pLDH antigen detection by malaria rapid diagnostic tests in hospitalized children in a seasonal hyperendemic malaria transmission area in Burkina Faso. *Malar J* [Internet]. 2014;13(20):1–10. Available from:

<https://malariajournal.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1475-2875-13-20.pdf>

47. Makler MT, Ries JM, Williams JA, Bancroft JE, Piper RC, Gibbins BL, et al. Parasite lactate dehydrogenase as an assay for *Plasmodium falciparum* drug sensitivity. *Am J Trop Med Hyg* [Internet]. 1993;48:739–741. Available from: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1993.48.739>
48. Oduola AMJ et al. *Plasmodium falciparum*, evaluation of lactate dehydrogenase in monitoring therapeutic response to standard antimalarial drugs in Nigeria. *Exp Parasitol* [Internet]. 1997;87:283–289. Available from: <https://doi.org/10.1006/expr.1997.4251>
49. Verma P, Biswas S, Mohan T, Ali S, Rao DN. Detection of histidine rich protein & lactate dehydrogenase of *Plasmodium falciparum* in malaria patients by sandwich ELISA using in-house reagents. *Indian J Med Res* [Internet]. 2013;138(DEC):977–87. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3978991/>
50. Salinas ND, Tolia NH. Red cell receptors as access points for malaria infection. *Curr Opin Hematol* [Internet]. 2016;23(3):215–23. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4964589/>
51. Basco LK, Marquet F, Makler MM, Bras J Le. *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax*: Lactate-Dehydrogenase Activity and Its Application for in Vitro Drug Susceptibility Assay. *Exp Parasitol* [Internet]. 1995;80(260–271). Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014489485710326?via%3Dihub>
52. Biomed Penyelidikan Antarabangsa. Potensi Biomarker Dan Aplikasi Mereka Untuk Pengesanan Rapid Dan Boleh Dipercayai Malaria. *forensicsciencetechniciandegree.com* [Internet]. 2022;1–15. Available from: <https://may.forensicsciencetechniciandegree.com/potential-biomarkers-227658>
53. Kebaier C, Voza T, Vanderberg J. Kinetics of Mosquito-Injected *Plasmodium* Sporozoites in Mice : Fewer Sporozoites Are Injected into Sporozoite- Immunized Mice. *PLoS Pathog*. 2009;5(4).
54. Mota MM, Pradel G, Vanderberg JP, et al. Migration of *Plasmodium* sporozoites through cells before infection [Internet]. Vol. 291, *Science*. 2001. Available from: https://www.science.org/doi/10.1126/science.291.5501.141?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub 0pubmed
55. Nugroho A, Wagey T. Siklus Hidup *Plasmodium* Malaria: Epidemiologi, Pathogenesis, Manifestasi Klinis dan Penanganan. P. N Harijanto, editor. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2000.
56. Sturm A, Amino R, Van De Sand C, et al. Manipulation of host hepatocytes by the malaria parasite for delivery into liver sinusoids. *Science* (80-). 2006;313(5791):1287–1290.

57. Baker J, McCarthy J, Gatton M, Kyle D., Belizario V, Luchavez J, et al. Genetic diversity of Plasmodium falciparum Histidine-Rich Protein 2 (PfHRP2) and its effect on the performance of PfHRP2-based rapid diagnostic tests. *J Infect Dis* [Internet]. 2005;192:870–7. Available from: <https://academic.oup.com/jid/article/192/5/870/803166>



UNIVERSITAS DIPONEGORO