

Nyamuk: Peran Pola Gigit dan Pilihan Inang Dalam Kompetensi sebagai Vektor

Forman Erwin Siagian,¹ Janno BB Bernardus,² Robiatul Adawiyah,³ Esy Maryanti⁴

ABSTRACT

Mosquitoes act as vector of fatal diseases such as malaria and dengue hemorrhagic fever since a long time ago. Thru its biting, it can transfer diseases from one sick individu to another 'immunologically naïve' people. Biting patterns and host preference play an important role in transmission of disease. Those two might differ among species, even between strain from different region. Geographic and some other enviromental play an important role on mosquitoes's individual ability. By knowing those factors will built better understanding on the role of mosquitoes on disease transmission

Keywords: mosquitoes, transmission, parasite, hospes, geography

Nyamuk merupakan serangga hematofagus terpenting dari sisi medis karena perannya sebagai vektor penyakit pada manusia. Penyebaran penyakit seperti demam berdarah, malaria, filariasis limpatik, *Japanese encephalitis* dan chikungunya sangat bergantung pada kemampuan dan kompetensi nyamuk dalam mempertahankan benih penyakit yang bertumbuh dalam badannya.¹ Kenyataan bahwa jutaan orang di dunia hidup dalam bayang-bayang terinfeksi oleh penyakit-penyakit yang ditularkan melalui nyamuk telah berlangsung sejak dahulu.¹⁻⁴ Kemajuan zaman dan teknologi memberi dimensi baru dalam upaya pencegahan dan pemutusan rantai penularan penyakit, diantaranya dengan penggunaan piranti lunak komputer dalam pemetaan jenis dan wilayah geografis habitat tempat hidup nyamuk.⁴ Meski fenomena-fenomena baru dalam infeksi seperti *strain* yang resisten terhadap obat insektisida, *man made breeding places* atau jenis vektor baru juga bermunculan. Upaya kontrol dan pencegahan penularan dengan insektisida dan

obat-obatan yang telah dilakukan dimasa lalu ternyata berkontribusi terhadap munculnya *strain* nyamuk yang resisten terhadap insektisida dan parasit yang resisten terhadap obat anti-parasit.³

Penyebaran penyakit yang ditularkan sangat bergantung kepada viabilitas dan kompetensi nyamuk sebagai vektor.² Transmisi ditentukan oleh jumlah kontak nyamuk sebagai vektor dengan inang (hospes) yang digigitnya.^{3,4} Kapasitas vektor dan kompetensi nyamuk sebagai vektor (*vectorial capacity* dan *vector competence*) secara kasar menggambarkan kemampuan suatu jenis nyamuk sebagai vektor penular penyakit. Kapasitas vektor bersifat kuantitatif serta dipengaruhi oleh variabel seperti densitas/kepadatan dan usia nyamuk.¹

Upaya observasi terhadap pola 'makan' nyamuk pada vektor bervariasi diantara spesies. Teknik seperti rasio *forage*, *human blood index*, *feeding index* dan *feeding preference* pernah digunakan untuk mengobservasi pola makan nyamuk.^{3,5} Rasio *forage* digunakan untuk mengindikasi pilihan jenis inang yang diisap nyamuk tergantung kepada jumlah relatif jenis inang lain yang tersedia (biasanya binatang). Makin padat populasi inang tersedia, makin banyak pilihan bagi nyamuk sehingga makin kecil potensi jumlah isapan.⁴ Meski harus diakui, teknik-teknik yang disebutkan terdahulu jarang

Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Indonesia,¹

Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi²

Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia³

Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau⁴

mewakili keseluruhan inang yang tersedia. Ketersediaan inang merupakan gabungan dari faktor ekologi, biologi dan perilaku yang akan mempengaruhi kemungkinan inang terpajan pada nyamuk.³⁻⁵

Salah satu faktor alamiah biologis inang yang harus dihadapi nyamuk adalah ukuran luas permukaan tubuh dan aktifitas.⁵ Respons oportunistik nyamuk terhadap inang akan mempengaruhi pola gigit.³ Makalah ini bertujuan untuk membahas mengenai pola gigit nyamuk dan pilihan inang yang berperan dalam kompetensi nyamuk sebagai vektor penyakit.

GIGITAN NYAMUK: *HOST-BASED*, *VECTOR-BASED* ATAU KOMBINASI

Dalam hal penyakit infeksi, perilaku nyamuk saat menggigit dan mengisap darah dari inang serta pilihan terhadap inang (antropofilik, zoofilik atau kombinasi diantara keduanya) merupakan faktor penentu keberhasilan siklus penyebaran parasit berbasis vektor.^{3,6} Salah satu faktor yang menentukan peran nyamuk sebagai vektor penular penyakit, terutama pada manusia, adalah taraf kontak nyamuk dengan inang manusia. Hal itu secara epidemiologis penting karena menentukan kapasitas vektor nyamuk sebagai penular penyakit. Kapasitas nyamuk sebagai vektor mencakup keseluruhan faktor lingkungan, perilaku, selular dan biokimiawi yang dapat mempengaruhi hubungan suatu vektor, patogen yang ditransmisikan vektor serta inang yang dipilih nyamuk.

Faktor perilaku dan lingkungan dapat sangat menentukan kapasitas vektor nyamuk.^{1,6} Contohnya, meskipun suatu jenis nyamuk secara genetik dan biokimiawi mampu dan dapat 'menampung' atau bahkan mengembangkan patogen tertentu dalam tubuhnya namun jika spesies nyamuk tersebut tidak tersedia rutin secara temporer dan spatial bersama inang vertebratanya yang mengandung patogen atau jika pilihan sumber darah inang vertebratanya tidak tersedia maka jenis nyamuk itu tidak akan pernah dapat menjadi vektor bagi patogen.¹ kompetensi vektor, dalam hal ini nyamuk, sebagai bagian dari kapasitas vektorial, diarahkan oleh faktor intrinsik (genetik) yang mempengaruhi kemampuan suatu vektor mentransmisikan suatu jenis patogen. Tiap

gangguan, misalnya seperti pilihan / kesukaan dalam menggigit atau kepekaan terhadap infeksi yang ditimbulkan patogen yang didasari oleh faktor genetik akan mempengaruhi kompetensi vektor.^{1,4-6}

Pola gigit nyamuk sebenarnya dapat terjadi pada beragam jenis inang vertebrata, mulai dari jenis hewan yang relatif berukuran kecil seperti unggas, sampai jenis hewan mamalia berukuran besar bahkan manusia.¹⁻⁷ Pola gigit pada populasi inang yang beragam lazim disebut seleksi inang (*host selection*).⁷ Seleksi inang menjadi fenomena dalam ekologi komunitas. Kemajuan pengetahuan dalam ilmu genetik menunjukkan adanya seleksi inang vertebrata secara selektif oleh spesies nyamuk sebagai vektor.^{1,3,5-7}

Pentingnya peran parasit dan vektor pada binatang liar tidak dapat dengan serta merta dipisahkan dari binatang domestik maupun manusia.⁸ Penelitian Forrester di Florida, seperti yang dikutip Aguirre,⁹ mengungkapkan beragam jenis penyakit infeksi parasitik dapat saling ditularkan antar binatang mamalia yang sudah didomestikasi maupun hidup liar di alam.⁹ Pergerakan binatang liar di alam, yang lingkup hidupnya makin terdesak oleh pertumbuhan penduduk yang mendorong ekspansi pemukiman penduduk, pengrusakan hutan, globalisasi, polusi bahkan perdagangan binatang liar yang sebenarnya dilindungi, memungkinkan populasi makhluk hidup *native* berisiko terpajan penyakit infeksi/parasitik berbasis vektor.^{3,4,8,9} Selain itu, binatang yang telah didomestikasi secara harafiah tidak memiliki cukup kekebalan terhadap agen infeksi/parasitik yang berasal dari binatang hidup liar di alam.⁹ Beberapa spesies sangat peka terhadap penyakit infeksi, yang dengan kemajuan dibidang teknik diagnostik terbukti makin meningkat insidensnya.^{3-5,8,9} Meski demikian masih belum banyak diketahui tentang peran potensi komposisi komunitas inang vertebrata dalam menentukan pola seleksi inang vertebrata oleh nyamuk.

Gigitan nyamuk sebenarnya memiliki pola dan tidak terjadi secara acak.⁶ Kesamaan pola dalam penggunaan sumber daya yang sama pada spesies yang berbeda mengarah pada konsep adanya interaksi antara spesies pada taraf tropisme yang sama.⁶ Salah satu cara agar dapat memahami kesamaan pola penggunaan sumber daya adalah

dengan mengasumsikan adanya komponen genetik yang sama yang mempengaruhi pilihan jenis makanan, seperti darah untuk nyamuk.

Berawal dari pandangan konservatif tentang lingkungan hidup suatu makhluk mengarahkan riwayat evolusi makhluk tersebut dalam mengeksploitasi sumber daya alam yang tersedia, Southwood, seperti yang dikutip oleh Chaves,⁶ mengungkapkan lingkungan tempat hidup suatu spesies saat ini terutama ditentukan oleh jenis lingkungan tempat terjadinya evolusi spesies tersebut dan telah berlangsung sangat lama. Spesies vektor yang secara genetik memiliki hubungan kekerabatan dapat menggunakan seluruh sumber daya yang cocok dan tersedia, meski cenderung mengkhususkan diri dalam kelompok (koeksistensi) secara ruang atau waktu, untuk lingkungan hidup tertentu. Namun kenyataannya sebagai upaya untuk mempertahankan kelangsungan hidup generasinya, beberapa spesies menjalani pergeseran lingkup hidup selama perkembangan ontogeninya dan mendapatkan keuntungan adaptatif berkat penggunaan sumber daya yang berbeda-beda. Hal itu bisa menyebabkan penyimpangan pola ekologi dari batas penggunaan sumber daya yang diharapkan.^{3,6,8}

Nyamuk merupakan contoh sempurna diantara banyak kelompok makhluk hidup yang telah mengalami pergeseran besar dalam hal eksploitasi dan penggunaan sumber daya, secara langsung terkait dengan kemampuan *holometabolisme* nya.¹⁻¹⁰ Diawali dari lingkungan akuatik pada stadium telur dan jentik/pra-dewasa berubah menjadi lingkungan kering (terrestrial) pada stadium dewasa. Pada larva nyamuk yang ada di air, heterogenitas spatiotemporal pada habitat hidup larva berperan dalam struktur komunitas yang hidup bersamanya.¹⁰ Terdapat perbedaan taraf koeksistensi (kepadatan suatu spesies relatif terhadap spesies lain) yang dikendalikan oleh lingkungan eksternal yang sifatnya lebih dinamis, misalnya variasi cuaca.^{4,9} Keberadaan larva spesies nyamuk lain dalam satu habitat yang sama juga mendukung fakta upaya makhluk hidup menggunakan sumber daya yang berbeda dari biasanya untuk bertahan hidup. Sedangkan pada nyamuk dewasa, bagian mulut yang digunakan untuk mengisap darah pada umumnya sama, dan dapat digunakan untuk mengisap darah

berbagai jenis spesies inang, kebanyakan vertebrata.⁶ Pola gigit untuk mengisap darah yang dilakukan nyamuk dewasa dibentuk terutama oleh ketersediaan sumber daya darah untuk diisap dan spesifisitas pilihan nyamuk untuk menggigit dan mengisap yang merupakan sifat bawaan nyamuk. Pemahaman tentang pola pilihan gigit dan isap darah oleh nyamuk pada suatu komunitas inang sangat penting untuk mengidentifikasi spesies yang bertanggungjawab pada penyebaran pathogen berbasis vector di alam.⁶

Kemajuan teknologi menawarkan beragam cara untuk melakukan hal diatas.^{3-6,8,11-13} Observasi entomologi, teknik sidik DNA (*DNA fingerprinting*) maupun *polymerase chain reaction* (PCR) merupakan cara identifikasi yang banyak digunakan. Pilihan nyamuk dalam mengisap darah dapat dipelajari dengan menggunakan metode observasi entomologis langsung menggunakan hewan coba berbeda untuk uji pilihan gigit nyamuk, penggunaan jebakan (*baited traps* ?) atau dengan analisis kandungan darah yang terdapat dalam saluran cerna nyamuk yang mampu mengidentifikasi spesies inang berdasarkan DNA dalam darah.⁶

Cara yang disebut pertama relatif sederhana dengan menganalisa pilihan inang oleh vector sehingga menghasilkan taraf penggunaan inang (*host utilization rate*), rasio forage, dan index makan (*feeding index*).⁶ Penyulitnya, dibutuhkan informasi/data mengenai komposisi inang vertebrata dalam komunitas, yang sering tidak tersedia. Akibatnya, sangat sulit mendapatkan hasil perhitungan indeks yang akurat karena hampir tidak mungkin menguji keacakan (*randomness*) pola gigit dan isap nyamuk dewasa.⁶ Informasi kualitatif yang dihasilkan dari pola pengujian berdasarkan ada atau tidaknya pilihan inang spesifik oleh spesies nyamuk berbeda dalam kondisi tertentu atau sebaliknya dalam habitat berbeda dengan spesies nyamuk tertentu, bisa saja digunakan untuk mempelajari pola gigit dan isap nyamuk tanpa memerlukan informasi/data tentang komposisi inang dalam komunitas karena hasilnya akan sama saja dengan pola yang dipelajari dalam ekologi komunitas.⁶

Meskipun dikatakan pada nyamuk, beberapa spesies memiliki predileksi yang kuat untuk mencari sumber makan darah spesifik, contohnya *Aedes aegypti* yang menggigit manusia, namun analisa

darah pada nyamuk *Ae. aegypti* menunjukkan darah tersebut juga berasal dari spesies bukan manusia.⁶ Fenomena itu juga ditemukan pada spesies nyamuk lain seperti *Culex spp.* dan *Anopheles spp.*^{3,5,6,11} Fakta di Burkina Faso menunjukkan, *An. gambiae* yang sangat antropofilik, ternyata memilih sapi sebagai alternatif sumber makan darah primer saat manusia yang dicari ternyata telah menggunakan tenda celup.¹⁴ Karenanya, tidak terdapat pilihan gigit yang benar-benar spesifik pada nyamuk dewasa, spesialisasi nyamuk saat ‘mengeksplorasi’ sumber daya benar-benar terbatas terjadi hanya pada tahap pra-dewasa.⁶ Hal itu juga didukung hasil penelitian tidak berpolanya pola makan nyamuk pada satu inang tertentu, baik di laboratorium maupun pada studi lapangan, terutama jika dikaitkan dengan pengaruh perubahan musim pada pola makan nyamuk. Nyamuk dapat bersifat oportunistik berdasarkan pilihan lokasi, jumlah dan keberadaan inang, hambatan akses kepada inang atau kondisi yang tidak terkait perilaku bawaan nyamuk.^{1,2,6,8} Selain itu, perilaku defensif inang juga turut berperan.⁶ Perilaku defensif itu menjelaskan seleksi pilihan tempat gigit oleh nyamuk pada inang tertentu.

Pajanan terhadap patogen yang ditularkan vektor zoonotik multi-inang sangat ditentukan pola makan vektor. Spesies vektor yang berbeda tentu memiliki pola makan yang berbeda juga.¹⁴ Dalam hal nyamuk, pola pencarian hospes dan pola makan nyamuk menunjukkan aktivitas gigit yang ritmis, mencapai puncaknya pada tengah malam dan sebagian besar dipengaruhi oleh beberapa sistem sirkadian dan kemoreseptor, termasuk didalamnya sejumlah protein yang berkaitan dengan bau.⁷ Sistem sirkadian atau oscillator yang mempengaruhi sejumlah aktivitas organisme ternyata dipengaruhi sejumlah faktor eksternal seperti cahaya, temperature, kelembaban, makanan dan interaksi ‘sosial’.^{6,7,13}

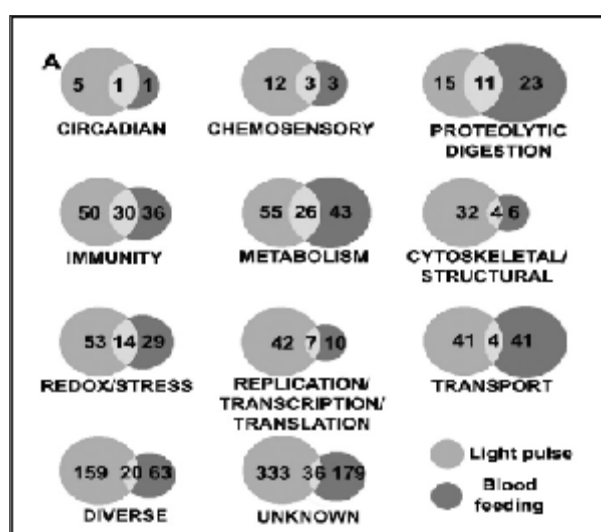
Perbedaan populasi secara genetis pada satu spesies yang sama kadang-kadang menunjukkan perbedaan taraf ‘ketertarikan’ pada inang manusia. Hubungan yang kuat antara kekerabatan genetis dalam spesies serta pilihan inang memiliki implikasi penting pada transmisi patogen yang diperantarai vektor tertentu; yang kadang-kadang menunjukkan perbedaan latar belakang genetis dibandingkan dengan populasi awal di daerah/lingkup asalnya.^{1,15}

Contohnya nyamuk *Culex pipiens* yang dikenal sebagai vector *West Nile Virus (WNV)*. Penelitian Kilpatrick *et al*¹⁵ di daerah Amerika Utara pada tiga spesies nyamuk *Culex* yaitu *Cx. pipiens*, *Cx. molestus*, dan *Cx. quinquefasciatus* tentang kebiasaan makan pada inang yang beragam/campuran. Pergeseran pilihan inang diduga terjadi karena ketersediaan inang pilihan, *Americans Robins*, menyusut di populasi karena pengaruh cuaca/suhu. Perubahan komposisi genetik pada populasi salah satu spesies, *Cx. pipiens*, yang jumlahnya lebih banyak dibanding dua spesies *Culex* lain serta perubahan pilihan makan pada inang manusia menunjukkan perubahan komposisi genetik tidak dipengaruhi ketersediaan inang.¹⁵ Analisis genetik menggunakan petanda *microsatellite* pada jenis nyamuk yang sama (*Cx. pipiens*) menunjukkan pola makan (gigit dan isap) dipengaruhi oleh predisposisi genetik menguatkan tiga hal, yaitu: yang pertama ketersediaan inang memainkan peran penting, yang kedua pola makan oportunistik kemungkinan berasal dari turunan hybrid dan agaknya memperkuat penyebaran *WNV*, serta yang ketiga epidemik makin diperkuat oleh pergeseran pilihan inang *Cx. pipiens* dari unggas ke manusia akibat penurunan jumlah inang pilihan.¹⁵

Dari sudut pandang lain, ada interaksi antara faktor eksternal (alam, diluar nyamuk) yang mempengaruhi faktor internal (nyamuk). Penelitian Das dan Dimopoulos¹³ pada diseksi spesies nyamuk *An. gambiae* yang sangat detil menemukan interaksi antara sistem sensor cahaya pada nyamuk, oscillator sirkadian serta sistem pencarian inang dan sistem makan. Cahaya dapat mempengaruhi pola makan *An. gambiae* serta mengubah transkriptom nyamuk secara global, termasuk transkrip yang diatur oleh makanan (dalam hal nyamuk adalah darah), modulasi itu tergantung pada durasi dan denyut cahaya (*light pulse*).¹³ Cara cahaya mempengaruhi pola makan nyamuk menunjukkan faktor sirkadian yang menekan (*down regulation*) system kemoreseptor.^{1,13}

Sejumlah gen mempengaruhi pola makan darah nyamuk. Untuk mengidentifikasi ‘sirkuit molekuler’ yang berperan pada stimulus cahaya, pencarian inang dan pola makan nyamuk, Das dan Dimopoulos¹³ menggunakan metode *microarray based genome expression* untuk menyelidiki perbedaan pada *messenger Ribonucleic Acid*

(mRNA) gen dibawah pengaruh stimuli cahaya berbeda dan kondisi makan pada keseluruhan tubuh nyamuk serta bagian kepala nyamuk jantan dan betina. Gen *An. gambiae* yang diatur oleh denyut cahaya dan pola makan juga terkait dengan gugus fungsional lain seperti imunitas, stress oksidatif dan redoks, structural dan sitoskeleton, metabolisme dan lain-lain.¹³



GAMBAR 1. Cahaya Dan pola makan menginduksi transkriptom *An. gambiae*. Diagram Venn menunjukkan jumlah gen yang diregulasi cahaya (lingkaran abu-abu, kiri), pola makan (lingkaran hitam, kanan) dan oleh keduanya (bagian yang ada ditengah) berdasarkan klasifikasi fungsional berbeda: SIKKADIAN, KEMOSENSOR, PENCERNAAN PROTEOLITIK, IMUNITAS, METABOLISME, SITOSKELETON DAN STRUKTURAL, REDOX/STRESS, REPLIKASI/TRANSKRIPSI DAN TRANSLASI, TRANSPORT dan lain sebagainya. Jumlah gen yang diregulasi pada tiap sub bagian disebutkan. Yang diatur cahaya: imunitas (50 gen), metabolisme (55 gen), sitoskeleton dan structural (32 gen), redox/stress (33 gen), replikasi/transkripsi dan translasi (42 gen), dan transport (41 gen). Yang diatur oleh pola makan (berturut-turut 36 gen, 43 gen, 6 gen, 29 gen, 10 gen dan 41 gen). Pada kategori ‘diverse’, terdapat 159 gen yang secara eksklusif diregulasi stimuli cahaya, 63 gen oleh pola makan dan 20 gen oleh keduanya. Gen yang fungsinya masih belum diketahui, 333 gen diregulasi cahaya, 179 gen oleh pola makan dan 36 gen oleh kombinasi cahaya dan pola makan. Masih banyak gen yang belum teridentifikasi oleh uji ini kemungkinan karena keterbatasan metode *microarray* dalam mendeteksi mRNA yang berjumlah sedikit¹³

Perubahan besar dalam ekspresi nyamuk mengindikasikan pengaruh cahaya yang sangat signifikan pada fisiologi nyamuk *An. gambiae*, setidaknya dalam hal modulasi oscillator sirkadian dan kemosektor, yang dapat mempengaruhi pola makan nyamuk.¹³

Penelitian Kay *et al*¹⁷ mengenai ekologi infeksi alamiah vertebrata oleh virus sungai Ross (*ross river virus*) dan virus hutan Barmah (*Barmah forest virus*) yang banyak ditemukan didaerah sekitar kota Brisbane-Australia, justru menyingkapkan pola ‘makan’ nyamuk yang dapat menjadi vektor (definitif maupun potensial). Penelitian selama lebih kurang tujuh bulan (September 2000 sampai April 2001) berhasil mengidentifikasi beberapa jenis inang vertebrata selain manusia (anjing, kucing, burung, *flying foxes*- sejenis kelelawar) dengan metode serologi menggunakan antisera forensik komersial untuk menguji asal darah dari darah yang terdapat pada nyamuk. Identifikasi nyamuk yang tertangkap menunjukkan terdapat 14 spesies nyamuk berbeda yang termasuk kedalam beberapa tribus. Jenis inang yang paling banyak digigit dan menjadi sumber makanan berturut-turut: anjing, burung, kuda, *brushtail possum*, manusia, kucing, *flying fox*, dan *macropod*-sejenis kanguru. Berdasarkan pola gigit dan isap (pola ‘makan’) spesies nyamuk yang dianggap sebagai vektor definitif atau vektor potensial pada hewan vertebrata yang hidup didaerah urban diketahui infeksi pada hewan vertebrata terjadi secara alamiah, dan pada kondisi alamiah, hewan-hewan itu menjadi sumber makanan pilihan bagi nyamuk vektor yang efisien.¹⁷ Meski demikian, memang tidak mudah menghitung pola gigit dan isap (pola makan) nyamuk, terutama karena jumlah nyamuk yang menggigit dan mengisap (makan) darah biasanya hanya berada dalam proporsi kecil dari jumlah nyamuk dewasa yang ditangkap.^{6,17} Selain itu, juga tidak mudah menghubungkan pola makan nyamuk dengan ketersediaan inang, kebanyakan karena tidak adanya data jumlah inang yang akurat dan faktor ekologi serta perilaku (nyamuk maupun inang) yang dapat mempengaruhi seleksi inang.^{1,3,6,14-17}

Selain itu, banyak vektor penyakit berbasis serangga memiliki kemampuan ‘terinfeksi’ spesies patogen selama hidupnya (superinfeksi), yang justru dapat meningkatkan perannya dalam transmisi

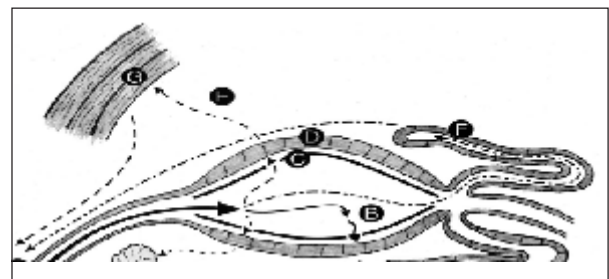
patogen secara epidemiologis. Beberapa penelitian laboratoris menunjukkan, transmisi patogen justru meningkat saat spesies patogen berbeda ditemukan dalam satu vektor nyamuk, fenomena yang ditemukan hanya pada beberapa spesies, meski tidak semuanya.^{6,16}

Penelitian Ferguson dan Read¹⁶ yang mengembangkan model sistem infeksi parasit malaria menggunakan vektor *An. stephensi* dan parasit malaria pada binatang pengerat, *Plasmodium chabaudi*, untuk mengetahui apakah pola makan nyamuk dapat memfasilitasi atau malah mengurangi kemungkinan superinfeksi. Berangkat dari pengetahuan mengenai karakter nyamuk betina *Anopheles* yang makan paling sedikit setiap dua sampai empat hari (sehingga nyamuk dapat terpajan/'terinfeksi' oleh infeksi yang berbeda beberapa kali seumur hidupnya, contohnya *An. gambiae*) dan yang kedua nyamuk *Anopheles* spp cenderung kembali kerumah yang sama pada siklus makan berbeda (sehingga kemungkinan nyamuk mengisap darah terinfeksi kembali juga besar; apalagi jika inang yang terinfeksi cenderung lebih atraktif bagi nyamuk, fenomena yang terlihat pada beberapa spesies nyamuk). Hasilnya, nyamuk yang mengandung parasit ternyata lebih 'bernafsu' untuk makan lagi, jika dibanding nyamuk sejenis yang tidak mengandung parasit, dan cenderung untuk 'menyerang' inang vertebrata yang juga terinfeksi. Fenomena itu kemungkinan terjadi akibat seleksi alamiah parasit untuk meningkatkan risiko transmisi dengan cara meningkatkan taraf kontak diantara dua inang obligat.¹⁷ Akibatnya, dengan asumsi kontak yang terjadi antara inang dengan vektor terjadi secara acak maka kemungkinan terjadinya superinfeksi pada nyamuk besar, meskipun hal itu (superinfeksi) berisiko pada keberlangsungan hidupnya.¹⁶

Superinfeksi parasit patogen dengan varian genetik beragam seperti malaria yang terjadi dalam tubuh nyamuk merupakan bagian dari tekanan selektif dari sisi parasit untuk mendorong terjadinya diversitas antigenik dari dalam tubuh inang.¹⁸ Upaya ini dilakukan parasit untuk 'memperkaya' khazanah pertahanannya sehingga mampu meloloskan diri dari system imun inang. Meskipun demikian, diversitas alel yang terdapat antar strain maupun dalam strain yang menunjukkan hal itu tidak terjadi secara acak namun lebih karena tekanan

selektif yang terjadi. hal itu diperkuat oleh kenyataan yang terjadi didaerah endemis, suatu patogen agar dapat menimbulkan penyakit, harus melalui tubuh vektor (tekanan selektif sudah mulai terjadi disini) dilanjutkan dengan proses transmisi melalui seleksi inang dan kemudian harus mempertahankan diri terhadap sistem kekebalan dalam tubuh inang dimana dalam populasi, mungkin saja sudah terdapat taraf kekebalan tertentu.

Dalam tubuh nyamuk sendiri, beragam jenis parasit atau patogen dapat hidup.¹⁻¹⁷ Masing-masing parasit atau patogen mempunyai tempat pilihan berbeda untuk tumbuh, sesuai siklus hidup dan bagian tubuh nyamuk yang mendukung pertumbuhan dan perkembangannya. Detilnya dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 2. Rute migrasi dan tempat-tempat perkembangan virus, parasit malaria dan cacing filarial dalam tubuh nyamuk. Tempat perkembangan ditandai dengan huruf A sampai H, rute migrasi diwakili garis. Setelah nyamuk mengisap darah (A), seluruh benih pathogen masuk ke usus tengah/midgut (B). Virus, diwakili tanda garis tidak terputus) masuk sampai kedalam sel epitel usus tengah/midgut (D), selanjutnya berturut-turut mengalami replikasi, keluar dari sel dan melintasi hemolymph terisi hemocoel (E) sampai di kelenjar liur nyamuk (H) untuk kembali mengalami replikasi dan menetap disana siap untuk 'diinjeksikan' pada inang vertebrata. Parsit malaria (ditandai dengan garis terputus) tetap berada dalam usus tengah/midgut selama beberapa jam sambil mengalami syngami dan membentuk ookinet sebelum bermigrasi melintasi matriks peritropik (C). Selanjutnya setelah melintasi epitel usus tengah/midgut, parasit malaria berada diantara lapisan epitel dan membrane basal usus tengah/midgut .ookista menjalani sporogoni untuk menghasilkan sporozoit. Saat matang, sporozoit merusak ookista, melintasi hemocoel dan berpenetrasi ke kelenjar liur, siap menunggu diinjeksikan ke inang. Sedangkan pada cacing filarial, yang menyebabkan penyakit pada manusia (ditandai dengan garis terputus) dan pada jantung anjing (garis terputus dengan titik diantaranya) terisap nyamuk, cacing

filarial manusia berpenetrasi ke epitel usus tengah/midgut dan bermigrasi ketempat perkembangannya didalam dinding otot toraks nyamuk (G). Sedangkan cacing filarial anjing, setelah melintas sepanjang lumen usus tengah/midgut akan bermigrasi sampai ke lumen tubulus Malphigi lalu memasuki bagian distal sel tubulus untuk berkembang didalam sel/intra sel (F). Saat periode perkembangan, larva stadium III keluar dari dinding otot toraks atau tubulus Malphigi dan masuk kedalam hemocoel, selanjutnya bermigrasi sepanjang system sirkulasi terbuka sampai kebagian kepala nyamuk. Tidak seperti sporozoit malaria atau virus, yang langsung ‘diinjeksikan’ saat proboscis menusuk dan mengisap darah, stadium infeksiif cacing filarial justru secara aktif menyebar dari bagian kepala nyamuk dan ter-deposit pada permukaan kulit inang vertebrata, untuk selanjutnya masuk melalui luka yang ditimbulkan oleh tusukan proboscis nyamuk.¹, dengan modifikasi

Jadi jelaslah, gigitan nyamuk dalam hal pola makan ditentukan oleh kombinasi faktor yang berasal dari inang dan perilaku nyamuk sebagai vector serta peran lingkungan/alam sebagai pendukung terjadinya kontak.

PILIHAN INANG: PENGARUH ATRAKTAN PADA SISTEM PENGHIDU NYAMUK

Nyamuk betina butuh makan darah dari inang untuk melengkapi perkembangan ovarianya. Meskipun tidak semua nyamuk memilih darah yang berasal dari manusia. Agaknya terdapat perbedaan genetik dan molekuler yang kompleks diantara genus nyamuk yang mendorong nyamuk untuk memilih inang.^{1,13,15} Terdapat dua hal mendasar yang membedakan pilihan inang dan seleksi inang oleh nyamuk, faktor intrinsik yang berkaitan dengan keadaan genetik, fisiologis dan perilaku nyamuk. Hal yang kedua adalah ketersediaan inang yang dipengaruhi oleh densitas inang dalam populasi dan interaksi antara inang dengan nyamuk yang dipengaruhi juga oleh perilaku nyamuk.^{1,15}

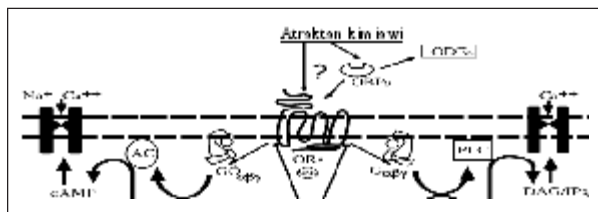
Nyamuk memilih inang yang akan digigit ditopang oleh beberapa faktor internal dan eksternal. Faktor internal seperti kemampuan sensorik untuk penglihatan dan penghidu yang didukung oleh sistem saraf dan kemampuan terbangnya yang mengarahkan nyamuk pada inang.^{1,3,6,8,13,20,21} Beberapa penelitian menunjukkan adanya pengaruh zat kimiawi spesifik yang dilepaskan inang yang

dapat menarik perhatian nyamuk (atraktan).^{7,19-21} Karenanya, nyamuk dapat membedakan bau khas yang dilepaskan inang (dalam hal ini, manusia) sehingga pada beberapa orang tertentu punya kecenderungan digigit lebih banyak oleh nyamuk dibandingkan dengan orang lain, sebab bau tertentu (atraktan) dapat memicu beragam respons perilaku nyamuk.^{7,20} Bau inang yang bersifat atraktan bagi nyamuk dapat berasal dari sisa metabolit pernapasan, kulit dan sisa metabolit lain yang sifatnya mudah menguap dan terbawa aliran udara.⁷ Analisa terhadap bau yang berasal dari kulit manusia menemukan lebih dari 350 zat kimia yang berbeda sebagai penyebab, diantaranya yang menonjol adalah *L-lactic acid* yang mampu mempengaruhi seleksi antropofilik nyamuk, intraspesifik maupun interspesifik. Jika dibandingkan dengan seluruh jenis vertebrata lain, manusia memiliki densitas kelenjar keringat ekrine paling banyak.^{6-8,14,20-22}

Kemungkinan nyamuk merespons terhadap ‘rangsang’ atraktan, tergantung juga kepada kekuatan stimuli lain (non-atraktan) yang berasal dari inang, stimuli eksternal lain (bau dari sumber lain, laju angin dan sebagainya), keadaan internal nyamuk (fase sirkadian, status gonotropik dan sebagainya) serta genotype nya (komponen genetik sebagai respons terhadap stimuli tertentu).^{1,5-8,19} Anemotaksis positif sebagai respons terhadap atraktan yang bersumber dari inang atau strategi lain yang dikembangkan nyamuk dalam pencarian inang yang dirangsang atraktan (misalnya klinokinesis dan ortokinesis) dapat membawa nyamuk mendekati inang, sehingga meningkatkan ketersediaan stimuli terhadap inang, misalnya melalui petunjuk visual/penglihatan, gradient suhu dan kelembaban, aliran udara serta atraktan kimiawi yang dapat menginduksi nyamuk untuk mendarat dan ‘menggigit’ inang. Sekali berada diatas inang, maka ‘tusukan’ oleh probosis nyamuk (*probing*) dipengaruhi oleh kombinasi kualitas permukaan kulit inang, suhu tubuh dan fagostimulan darah inang terhadap nyamuk.^{7,20,22} Selain itu, tidak dapat dipungkiri, makhluk hidup yang berukuran lebih besar dapat menjadi tempat hidup bagi makhluk hidup lain yang berukuran jauh lebih kecil, dan membentuk koloni yang disebut mikroflora. Mikroflora turut berperan dalam membentuk karakter bau tubuh inang mikroflora dapat beragam dan dapat juga tidak sama meski spesies inangnya

sama. Hal itu meningkatkan keragaman bau atraktan yang menjadi daya tarik yang membedakan antar inang.^{7,20-22} Nyamuk harus menseleksi beragam bau, yang bersifat atraktan atau bau lain yang berasal dari alam, guna mencari sumber nutrisi yang paling menguntungkannya.²⁰

Bagi nyamuk dan banyak serangga lain, reseptor penghidu ditemukan pada dendrit neuron reseptor penghidu (*olfactory receptor neurons, ORN*) yang menjorok keruang kosong yang dibentuk oleh serabut-serabut sensoris, disebut sensila. Sensila ditemukan di palpi maxilla dan antenna. Reseptor atraktan kimiawi bersifat spesifik dan bisa saja berbeda antar spesies (sifat yang dibawa secara genetis). Nyamuk yang berbeda spesies dapat memberikan respons berbeda terhadap bau (atraktan) tertentu. Contohnya, jika diberi pilihan antara inang manusia atau hewan pedaging, *An. gambiae* s.s lebih memilih manusia sebagai inang (sampai 90%) namun berbeda dengan spesies *An. quadriannulatus* yang seleksinya 50% / 50% antar inang manusia dan hewan.^{13,14}



Gambar 3. Mekanisme penghidu pada nyamuk, gambar skematik komponen intraseluler jalur transduksi sinyal olfaktorius. Protein reseptor bau penghidu (OR) ada didalam dendrite ORN yang berinteraksi langsung dengan bau atau alternatifnya membentuk kompleks senyawa protein pengikat bau (atraktan).²⁰

Secara biologi molekuler, serangga secara umum memiliki sistem penghidu yang sangat sensitive terutama terhadap sumber makanan dan lawan jenis dari spesies yang sama. Mekanisme kerja penghidu serangga oleh neuron olfaktorius berlangsung pada taraf molekuler sehingga mampu membedakan bau atraktan dari bau-bau lain yang ada dialam. Reseptor penghidu serangga diketahui sebanyak tujuh domain reseptor transmembrane, salah satunya *family gene Or83b*, yang diekspresikan di hampir seluruh neuron olfaktorius. Hasil penelitian Vosshall²² mengungkapkan reseptor

penghidu serangga kompleks heteromer antara koreseptor Or83b dengan reseptor penghidu konvensional berbasis ikatan dengan *ligand*. Selain dalam berperan dalam ‘lalu-lintas’ sinyal silia neuron penghidu, Or83b diduga juga memiliki peran pemberi sinyal. Kompleks OR/Or83b membentuk semacam ‘saluran’/*channel* kationik penghidu non-selektif yang tidak tergantung pada sinyal protein G. Vosshall²² dan kawan-kawan sedang memetakan domain genetik yang berperan dalam asosiasi kompleks OR/Or83b, lalu lintas sinyal dalam silia neuron serta residu yang dibutuhkan dalam transduksi sinyal oleh bau atraktan.

Pemahaman tentang bagaimana atraktan mempengaruhi mekanisme penghidu nyamuk secara spesifik dapat membuka khazanah baru dalam interaksi inang dan nyamuk dalam kaitannya sebagai vektor penyakit. Tujuan akhirnya agar terjadi *blockade* terhadap perilaku pencarian inang berdasarkan mekanisme penghidu, baik pada nyamuk maupun serangga lain.²⁰⁻²² Pengembangan senyawa-senyawa *repellent* serangga juga berguna dalam mengontrol serangga yang dapat berperan sebagai vektor penyebar penyakit infeksi ke manusia. Selain atraktan kimiawi, kemampuan visual nyamuk, panas/suhu dan bunyi juga memainkan peran penting sebagai atraktan bagi nyamuk.^{1,6,8,11,14,16,19}

PENGARUH PERBEDAAN INANG TERHADAP POLA GIGIT DAN MORTALITAS NYAMUK

Perilaku mencari inang oleh nyamuk sedikit tertekan (sekurangnya sampai 72 jam, pada beberapa spesies nyamuk bahkan bisa lebih lama) setelah nyamuk ‘minum’ darah.^{3,14,16} Dasar molekuler fenomena itu masih belum jelas, tetapi kemungkinan akibat gangguan mekanisme control humoral nyamuk, dimana sensitifitas system penghidu terganggu karena nyamuk ‘kekenyangan’. Analisis terhadap darah yang ‘diminum’ nyamuk menunjukkan pola ‘makan’ nyamuk, dalam hal itu mencakup spesies inang. Spesifisitas inang yang diincar nyamuk bersifat sangat *species specific* dan respons nyamuk terhadap sejumlah atraktan yang berasal dari inang sebenarnya memiliki dasar genetis.^{3,5-8,16,18,23} Perbedaan pola makan

menunjukkan perbedaan respons nyamuk terhadap stimuli yang timbul sepanjang proses pencarian inang.^{3,4,12}

Penelitian mengenai seleksi inang oleh nyamuk mulai berkembang sejak pertengahan abad yang lalu. Beragam metode dan alat dikembangkan, dengan hasil-hasil terbaru menunjukkan bukti-bukti yang seringkali mematahkan teori/data lama. Saat ini, banyak penelitian menggunakan pendekatan berbasis genetis dan molekuler untuk menyelidiki kecenderungan nyamuk berrespons pada inang tertentu.^{1,3,5,6,8,13-17,23}

Di alam, ekspresi pilihan inang dipengaruhi banyak faktor ‘pengganggu’. Upaya mengkarakterisasi pilihan inang oleh nyamuk hanya melalui dua parameter, pilihan inang (*host preference*) dan seleksi inang (*host selection*), memang bermanfaat namun sangat rumit. Lardeux *et al*²³ menyatakan, probabilitas nyamuk hanya menggigit satu jenis inang dipengaruhi dua komponen. Yang pertama, ketersediaan inang (*host availability*) yang ditentukan seluruh faktor ekologi, biologi dan perilaku yang bisa memodifikasi probabilitas satu jenis inang saja yang digigit. Yang kedua, daya gigit nyamuk (*biting power*), dipengaruhi faktor intrinsik nyamuk yang memiliki dasar genetis dan diekspresikan pada fisiologi dan perilaku nyamuk.^{1,15} Ketersediaan inang juga dapat dibagi menjadi dua komponen, aksesibilitas dan kerentanan. Aksesibilitas berkaitan dengan kepadatan inang disuatu wilayah sedangkan kerentanan berkaitan dengan interaksi inang-nyamuk dan seringkali merupakan akibat dari perilaku (misalnya berhubungan dengan jarak terbang nyamuk).¹¹ Variasi dalam aksesibilitas dipengaruhi oleh faktor yang lebih menetap seperti musim (contohnya migrasi burung yang terjadi pada musim dingin) sedangkan variasi kerentanan dipengaruhi faktor yang lebih mudah berubah (misalnya pada malam hari, manusia yang berpotensi menjadi inang cenderung berada didalam rumah sehingga resiko kontak dengan vektor berkurang).

Daya gigit nyamuk dipengaruhi seluruh faktor intrinsik nyamuk yang membuatnya lebih atau kurang tertarik pada satu jenis inang. Daya gigit nyamuk untuk satu jenis inang terdiri atas dua aspek: pilihan inang oleh nyamuk dan kemampuan nyamuk

menggigit inang spesifik.^{8,11} Kemampuan nyamuk menggigit inang spesifik mencakup dua hal berbeda: efisiensi dan efektifitas gigitan.^{8,11,17,23} Efisiensi gigitan nyamuk berkaitan dengan kemampuan nyamuk berhadapan dengan inang yang rentan (secara kasar mengacu pada seleksi inang). Sedangkan efektivitas gigitan berkaitan dengan kemampuan nyamuk menggigit inang yang rentan (tergantung perilaku inang dan kemampuan nyamuk dalam hal memilih alternatif inang lain yang ada jika terganggu).¹¹

Distribusi asal inang berdasarkan pengamatan terhadap komposisi darah yang diisap nyamuk serta beragamnya model proporsi darah tersebut sebenarnya berkaitan dengan perilaku oportunistik nyamuk dalam upaya memenuhi kebutuhan akan darah.^{6,23} Beberapa penelitian terhadap perilaku menggigit multiple (*multiple feeding*) oleh nyamuk *Culex tritaeniorhynchus*, *Anopheles subpictus*, *An. culicifacies* dan lain – lain didukung oleh ketersediaan dan keragaman jenis inang.^{11,17,19,23} *multiple feeding* dalam satu siklus gonotropik yang sama akan meningkatkan resiko kontak nyamuk dengan manusia, apalagi jika nyamuk memiliki karakter endofilik.¹¹ Upaya nyamuk mengisap darah inang secara berulang (*multiple feeding*) dengan menusukkan probosisnya memiliki pengaruh epidemiologis, bahkan jika darah inang tidak terambil, Karena dalam aktifitas itu nyamuk berperan sebagai vektor dengan memindahkan benih penyakit yang dikandungnya kepada inang.

Dari segi penyakit yang ditularkan melalui vektor, keragaman inang yang disasar nyamuk menjadi dasar kemungkinan luasnya penyebaran penyakit, seperti yang terlihat pada transmisi infeksi arbovirus, meski sebaliknya dalam hal malaria dapat terjadi pemutusan rantai transmisi jika nyamuk dengan perilaku *multiple feeding* menggigit spesies inang yang tidak dapat berperan sebagai vektor. Observasi Chaves *et al*⁶ dan Muriu *et al*¹⁹ terhadap komunitas nyamuk menunjukkan sebagian besar spesies nyamuk dapat menggigit sekurangnya satu spesies inang diluar spesies inang pilihannya.

Pilihan inang juga dapat menyebabkan mortalitas nyamuk; inang dengan luas permukaan tubuh lebih kecil ternyata bersifat lebih defensif sehingga sulit bagi nyamuk untuk mendapatkan darah. Hal itu dibuktikan oleh penelitian Kweka *et*

*al*³ mengenai efek inang yang berbeda (mencit, *guinea pig* dan kelinci) terhadap pola gigit dan mortalitas nyamuk (*Cx. quinquefasciatus*, *Ae.aegypti*, *An. arabiensis*). Dengan luas permukaan tubuh yang lebih kecil, mencit dan *guinea pig* dapat lebih menjaga diri sehingga jumlah gigitan yang diterimanya tidak sebanyak pada kelompok kelinci.

PENUTUP

Upaya memahami pola gigit nyamuk dan pilihan inang telah dilakukan dalam beragam model penelitian, eksperimental maupun observasional, dengan mengupayakan agar kondisi sedekat mungkin dengan keadaan sebenarnya di alam. Hanya saja, mesti diakui, tidak ada satupun penelitian yang berani mengklaim telah menjadi model paling ideal dalam merekonstruksi sifat nyamuk dalam memilih inang seperti dalam kondisi sebenarnya di alam.⁶

DAFTAR PUSTAKA

- Beerntsen BT, James AA, Christensen BM. Genetics of mosquito vector competence. *Microbiol Mol Biol rev.*2000; 64 91): 115-37
- Mikolajczak SA, Silva-Rivera H, Peng X, tarun AS, Camargo N, Jacobs-Lorena V, *et al.* Distinct malaria parasite sporozoites reveal transcriptional changes that cause differential tissue infection competence in the mosquito vector and mammalian host. *Mol cell Biol.* 2008; 28 (20): 6196-207
- Kweka EJ, Mwang'onde BJ, Lyaruu L, Tenu F, Mahande AM. Effect of different hosts on feeding patterns and mortality of mosquitoes (diptera: Culidae) and their implications on parasite transmission. *J glob Infect Dis* 2010; 2(2):121-3
- Foley DH, Wilkerson RC, Birney I, Harrison S, Christensen J, Rueda LM. Mosquitomap and the malaria calculator: new web tools to relate mosquito species distribution with vector borne disease. *I J health geographics* 2010; 9 (11).
- Hamer GL, Kitron UD, Goldberg TL, Brawn JD, Loss SR, Ruiz MO, *et al.* Host selection by *Culex pipiens* mosquitoes and west nile virus amplification. *Am J Trop Med Hyg.* 2009; 80(2): 268-78
- Chaves LF, Harrington LC, Keogh CL, Nguyen AM, Kitron UD. Blood feeding patterns of mosquitoes: random or structured?. *Front Zool.* 2010; 7(3)
- Constantini C, Sagnon N, Torre AD, Diallo M, Brady J, Gibson G, *et al.* odor-mediated host preferences of west African mosquitoes with particular reference to malaria vectors. *Am J trop med Hyg.* 1998; 38 (1): 56-63
- Edman JD, Day J, Walker ED. Vector-host interplay-Factors affecting disease transmission. *Ecology of mosquitoes: proceeding of a workshop Vero Beach: Florida Medical Entomology Laboratory.* Lounibos LP, Rey JR, Frank JH. 1985, 273-85
- Aguirre AA. Wild canids as sentinels of ecological health: a conservation medicine perspective. *Parasites and vectors* 2009; 2(suppl 1):S7
- Majambere S, Fillinger U, Sayer DR, Green C, Lindsay SW. Spatial distribution of mosquito larvae and the potential for targeted larval control in the Gambia. *Am J Trop med Hyg.* 2008; 79 (1): 19-27
- Arunchalam N, Samuel PP, Hiriyan J, Rajendran R, Dash AP. Short report: observation on the multiple feeding behavior of *Culex tritaeniorrhynchus* (dipteral: Culicidae), the vector of Japanese Encephalitis in Kerala, in Southern India. *Am J Trop Med Hyg.* 2005; 72 (2): 198-200
- Harrington LC, Jones JW, Sithiprassasna R, Coleman RE, Kitthawee S, Edman JD, *et al.* The use of DNA fingerprinting to determine human blood feeding behavior of mosquito vectors. The 5th Annual Meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene. Atlanta, Georgia. 11-15 November 2001
- Das S, Dimopoulos G. Molecular analysis of photic inhibition of blood-feeding in *Anopheles gambiae*. *BMC Physiol.* 2008; 8(23)
- Lefevre T, Gouagna LC, Dabire KR, Elguero E, Fontenille D, Renaud F, *et al.* Beyond nature and nurture: phenotypic plasticity in blood feeding behavior of *Anopheles gambiae* s.s when humans are not readily accessible. *Am J Trop Med Hyg.* 2009; 81 (1): 1023-9

15. Kilpatrick AM, Kramer LD, Jones MJ, Marra PP, Dazak P, Fonseca DM. Genetic influences on mosquito feeding behavior and the emergence of zoonotic pathogens. *Am J Trop Med Hyg.* 2007; 77 (4): 667-71
16. Ferguson HM, Read AF. Mosquito appetite for blood is stimulated by *Plasmodium chabaudi* infections in themselves and their vertebrate hosts. *Malaria Journal.* 2004; 3(12)
17. Kay BH, Boyd AM, Ryan PA, Hall RA. Mosquitoes feeding patterns and natural infection of vertebrates with Ross River and Barmah Forest viruses in Brisbane, Australia. *Am J Trop Med Hyg.* 2007; 76 (3):417-23
18. Futse JE, Brayton KA, Dark MJ, Knowles Jr. DP, Palmer GH. Superinfection as a driver of genomic diversity in antigenically variant pathogens. *PNAS.* 2008;105 (6): 2123-7
19. Muriu SM, Muturi EJ, Shililu JI, Mbogo CM, Mwangangi JM, Jacob BG, *et al.* Host choice and multiple blood feeding behavior of malaria vectors and other anophelines in Mwea rice scheme, Kenya. *Malar J.* 2008; 7 (43)
20. Zwiebel LJ, Takken W. olfactory regulation of mosquito-host interactions. *Insect Biochem Mol biol.* 2004. 34 (7): 645-52
21. Spitzen J., Smallegange RC, Takken W. Effect of Human Odors and Positioning of CO₂ Release Point on Trap Catches of the Malaria Mosquito *Anopheles Gambiae* Sensu Stricto in an Olfactometer. *Physiol Entomol.* 2008. 33.2: 116-22.
22. Vosshall LB. Modulation of complex behaviors by internal physiological state and external chemosensory cues. Diunduh dari www.hhmi.org/research/investigators/vosshall.html tanggal 28 Juli 2010
23. Lardeux F, Loayza P, Bouchite B, Chave T. Host choice and human blood index of *Anopheles pseudopunctipennis* in a village of the Andean valleys of Bolivia. *Malar J.* 2007; 6 (8)