

GAMBARAN PENULARAN TRANSOVARIAL VIRUS DENGUE ANTAR NYAMUK *Aedes aegypti* DI KOTA TERNATE

*DESCRIPTION OF DHF VIRUS TRANSOVARIAL TRANSMISSION BETWEEN *Aedes aegypti* MOSQUITO IN TERNAT CITY*

Amalan Tomia, Rosmila Tuharea

Program Studi Kesehatan Masyarakat, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Maluku
Utara, Maluku Utara, Indonesia

Korespondensi: Amalan Tomia. Email: algaternate@gmail.com

ABSTRAK

Virus Dengue merupakan agen penyebab penyakit demam berdarah dengue (DBD) yang ditularkan melalui nyamuk Aedes Sp. Penularan virus Dengue antar Aedes Sp. umumnya terjadi secara horisontal dan vertical (transovarial). Penularan transovarial virus Dengue melalui vektor di daerah endemik bisa menjadi potensi peningkatan kasus DBD. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran penularan virus Dengue secara transovarial, dengan menggunakan metode RT-PCR. Sampel penelitian adalah nyamuk Aedes aegypti yang berasal dari koleksi telur Aedes sp. Koleksi telur didapatkan dari pemasangan 400 ovitrap pada 100 rumah yang berasal dari kelurahan endemik yang terdapat pada 4 wilayah kerja Puskesmas yang terdapat kasus DBD. Kemudian dilakukan pemeriksaan RT-PCR virus Dengue pada nyamuk F2 (telur dari ovitrap yang ditetaskan). Sampel nyamuk Ae. aegypti betina F2 yang digunakan berjumlah 360 nyamuk. Hasil pemeriksaan RT-PCR menunjukkan bahwa nilai Transovarial Invection Rate (TIR) 0% atau telur nyamuk Ae.aegypti pada wilayah tersebut tidak terinfeksi virus Dengue (negatif). Kesimpulan penelitian ini adalah penularan virus Dengue di kota Ternate belum terjadi secara transovarial.

Kata kunci: DBD, Penularan Transovarial, *Aedes aegypti*

ABSTRACT

Dengue virus is etiology of dengue hemorrhagic fever (DHF) which is transmitted through the Aedes Sp. Dengue virus transmission between Aedes Sp. generally occur horizontally and vertically (transovarial). Transovarial transmission of dengue virus through vectors in endemic areas could be a potential increase in dengue cases. This study aims to determine the description of dengue virus transmission transovarially, using the RT-PCR method. The research sample was the Aedes aegypti mosquito from the collection of Aedes sp. The egg collection was obtained from the installation of 400 ovitraps in 100 houses from endemic villages located in 4 areas of community health centers with dengue cases. Then the dengue virus RT-PCR examination was carried out on F2 mosquitoes (mosquitoes from hatched ovitrap eggs). Samples of Ae. aegypti female F2 used were 360 mosquitoes. The results of the RT-PCR examination showed that the value of the Transovarial Invection Rate (TIR) was 0% or the Ae. aegypti mosquito eggs in the area were not infected with the Dengue virus (negative). The conclusion of this study is that the transmission of dengue virus in the city of Ternate has not occurred transovarially.

Keywords: DHF, Transovarial Transmission, *Aedes aegypti*

How to Cite: Tomia, A., & Tuharea, R. (2022). Gambaran Penularan Transovarial Virus Dengue Antar Nyamuk *Aedes Aegypti* Di Kota Ternate. *Biomedika*, 14(2), 127-135. doi: <https://doi.org/10.23917/biomedika.v14i2.18028>

DOI: <https://doi.org/10.23917/biomedika.v14i2.18028>

PENDAHULUAN

Virus Dengue merupakan penyebab utama penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) (Kemenkes RI, 2017). Penularan virus Dengue selalu dikaitkan dengan vektor nyamuk *Aedes* spp. Peranan nyamuk *Aedes* spp dalam membantu penyebaran virus Dengue sangat penting. Melalui gigitan nyamuk *Aedes* spp pada orang yang sedang veremik akan dapat menularkan virus Dengue ke orang yang sehat (Kemenkes RI, 2017). Virus Dengue dapat ditemukan di seluruh wilayah Indonesia, dan terdiri atas empat serotipe yaitu DENV-1, 2, 3, 4. Infeksi virus Dengue pada manusia dapat terjadi lebih dari satu serotipe secara bersama-sama. Kemampuannya untuk membentuk antibodi hanya terjadi pada satu serotipe, sedangkan pada serotipe yang lainnya sangat rendah sehingga tidak mampu memberikan perlindungan terhadap serotipe tersebut (Hikmawati dan Huda, 2021).

Penularan virus Dengue dapat ditularkan antar nyamuk melalui 2 cara yaitu secara horisontal dan vertikal (transovarial). Penularan horisontal merupakan penularan virus Dengue dari nyamuk betina yang terinfeksi akibat menghisap darah viremia, kemudian menularkan virus Dengue melalui gigitan keduanya pada orang yang sehat (Wijayanti, 2019). Sedangkan

penularan transovarial dapat terjadi melalui mekanisme transmisi vertikal dalam tubuh nyamuk dimana virus ditularkan oleh nyamuk betina pada telurnya yang nantinya akan menjadi nyamuk (Grinnill, 2016). Penularan transovarial akan menyebabkan virus Dengue terus bersirkulasi di suatu daerah (Martins *et al.*, 2012).

Penularan virus Dengue dipengaruhi oleh adanya interaksi antara virus, nyamuk vektor, manusia, dan faktor lingkungan. Interaksi faktor tersebut akan berpengaruh terhadap keberlangsungan hidup virus Dengue di alam, sehingga sulit untuk di kendalikan (Irwan, 2017).

Potensi penularan virus Dengue di Kota Ternate sangat tinggi, terlihat dari penentuan status endemitas virusnya. Data Dinas Kesehatan Kota Ternate 2021 menunjukkan bahwa terdapat 33 kelurahan endemik, 27 kelurahan sporadis dan 5 kelurahan potensial, sedangkan hanya 12 kelurahan yang masih dinyatakan bebas kasus DBD dari 77 kelurahan yang berada di Kota Ternate.

Berbagai metode yang digunakan untuk mengetahui gambaran tentang kejadian penularan secara transovarial dapat dilakukan untuk deteksi dini terhadap penyakit DBD. Metode yang sering digunakan adalah teknik *imunositokimia*, *immunofluorescence*,

immunoperoxidase, atau polymerase chain reaction (PCR) (Wijayanti, 2019). Metode *RT-PCR* dapat memberikan hasil yang akurat dalam waktu singkat. Metode tersebut dapat mendeteksi RNA virus pada berbagai jenis sampel seperti penderita suspek Dengue, jaringan autopsi, maupun pada sampel nyamuk (Sorisi, 2013). Oleh karena itu, penelitian ini menggunakan metode *RT-PCR* untuk mengetahui gambaran penularan virus Dengue yang terjadi di Kota Ternate

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan jenis penelitian deskriptif untuk mengetahui adanya gambaran penularan virus Dengue oleh nyamuk *Ae. aegypti*. Penelitian dilakukan di Kota Ternate pada bulan September 2021. Sampel nyamuk berasal dari koleksi pada 100 rumah penderita DBD yang berada pada empat wilayah kerja Puskesmas di Kota Ternate yaitu puskesmas Gambesi, puskesmas Kalumata, puskesmas Kota dan puskesmas Siko ([Gambar 1.](#)) sesuai standar Kemenkes RI tahun 2017. Setiap rumah dipasang 4 ovitrap (2 ovitrap dalam rumah dan 2 ovitrap di luar rumah), sehingga ovitrap yang terpasang berjumlah 400 ovitrap. Hasil koleksi telur kemudian dikirim ke Laboratorium Terpadu Litbangkes Banjarnegara untuk rearing.

Rearing nyamuk

Rearing nyamuk dilakukan berdasarkan petunjuk Kemenkes RI (2017) yaitu telur hasil survei ovitrap dari lokasi penelitian di tetaskan dalam kotak donat yang berisi air. Larva yang telah menetas diberi makan pakan ayam dan hati ayam. Setelah nyamuk menetas dan umur 3 hari diberi makan larutan gula 10%, dan dipuaskan selama 4-17 jam sebelum dilakukan pemberian pakan darah (yang berasal marmot) untuk mempercepat nyamuk betina untuk bertelur. Nyamuk dipelihara sampai memperoleh nyamuk F2. Nyamuk F2 berumur 7 hari kemudian dipanen dan dilakukan pengujian *RT-PCR*.

Pengujian RT-PCR.

Menurut petunjuk manual prosedur oleh *Geneaid* yaitu Deteksi RNA virus Dengue menggunakan metode *RT-PCR Superscript™ III One*. Tahap *RT-PCR* dengan system *Platinum® Taq DNA Polymerase (Invitrogen, Cat. No. 12574-026)*, menggunakan primer universal untuk virus Dengue (primer D1 & D2), dilanjutkan dengan nested PCR dengan menggunakan primer Universal Dengue dan empat primer spesifik serotipe yaitu D1, TS 1, TS2, TS3 dan TS4. Primer-primer yang digunakan ditampilkan pada [Tabel 1.](#)

Tabel 1. Primer Yang Digunakan Dalam Penelitian

Serotipe Virus	Primer	Sekuen	Ukuran amplifikasi DNA (dalam bp)
	D1	5'- TCAATATG CTGAAACG CGCGAGAA ACCG-3'	511
	D2	5' – TTGCACCA ACAGTCAA TGTCTTCAG GTTTC-3'	511
Den1	TS1	5' – CGTCTCAGT GATCCGGG GG-3'	342 bp (D1 dan TS1)
Den2	TS2	5' – CGCCACAA GGGCCATG AACAG-3'	251 bp (D1 dan TS2)
Den3	TS3	5'- TAACATCA T CATGAGAC AGAGC-3'	538 bp (D1 dan TS3)
Den4	TS4	5'- CTCTGTTGT CTT AAACAAG AGA-3'	752 bp (D1 dan TS4)

Langkah kerja pemeriksaan *RT-PCR* adalah sebagai berikut :

- a. *Reverse transcriptase PCR* untuk mengubah RNA menjadi cDNA dan amplifikasi virus Dengue general dengan primer D1 dan D2.
- b. Mix dibuat dalam *PCR* tube 0,2 ml yang bebas nuklease, dan dikerjakan di dalam komponen es dengan komposisi sebagai berikut : 2x Reaction Mix (2.5 µl), Primer D1 (2 µl), Primer D2 (2 µl), Primer D3 (2 µl), Primer D5 (2 µl), Reverse (0.5 µl), Inhibitor

(1 µl), H₂O (5.5 µl) dan RNA (8 µl).

Komponen tersebut dicampur secara perlahan-lahan, dipastikan semua komponen berada di dasar tabung, jika perlu dapat disentrifus sebentar. *PCR* mix dimasukkan ke dalam thermal cycler, dengan program sebagai berikut: (i) sintesis cDNA I siklus: 94°C selama 1 jam; (ii) predenaturasi 1 siklus : 94°C selama 3 menit; (iii) amplifikasi 35 siklus : 94°C selama 1 menit (denaturasi), 55°C selama 1 menit (annealing), 68°C selama 1,5 menit (ekstensi); (iv) ekstensi akhir 1 siklus : 68°C selama 5 menit.

- c. Amplifikasi serotipe-spesifik cDNA virus Den1, Den2, Den3, dan Den4 dilakukan sebanyak 35 Siklus. Komponen yang digunakan adalah 2x Reaction Mix (12, 5 µl), Superscript™ III RT/ Platinum® Taq Mix (1 µl), MgSO₄ (2 µl), Primer D1 (Forward) (1 µl), TSI, TS2, TS3, dan TS4 (Reverse) (@1 µl), dan cDNA (5 µl)

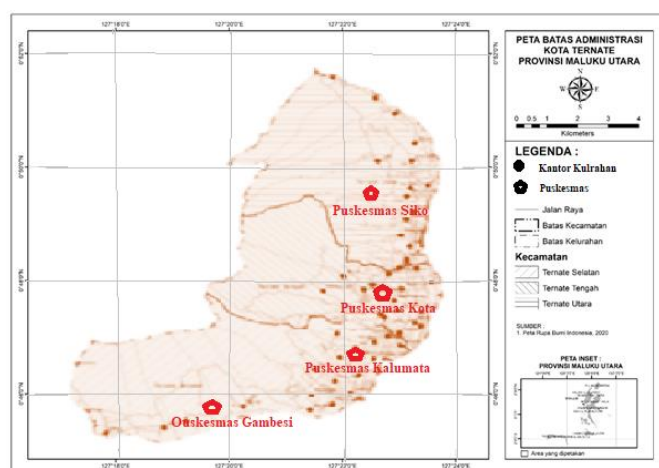
Larutan master mix yang berisi komponen-komponen diatas dimasukkan dalam tube *PCR* 0,2 µl, disentrifus sebentar kemudian dimasukkan ke dalam thermal cycler, dengan program sebagai berikut : (i) denaturasi 35 siklus : 94°C selama 30 detik, annealing 55°C

selama 1 menit, dan ekstensi 72°C selama 2 menit.

d. Elektroforesis. Produk *RT-PCR* dielektrofresis pada gel agarose 1.5%, SBYR dan 100 bp ladder digunakan sebagai marker untuk menganalisis besar produk *RT-PCR* dan ukuran pita yang didapatkan untuk virus DEN-1 adalah 324 bp, virus DEN-2 adalah 119 bp, virus DEN-3 adalah 538 bp dan virus DEN-4 adalah 726 bp. Langkah kerja pemeriksaan elektroforesis adalah sebagai berikut:

- Agarose gel dibuat dengan menimbang 0.75 gram agarose dimasukkan dalam erlemeyer, ditambah 5 µl SBYR dan ditambah TBE buffer 0.5x sampai 50 ml kemudian dihomogenisasi di dalam microwave sampai berwarna jernih.
- Gel terse but didiamkan pada suhu ruangan ± 5 menit, lalu dituang kedalam cetakan dan dibiarkan sampai mengeras.
- Gel agarose bersarna cetakannya dimasukkan ke dalam perangkat elektroforesis dan diberi TBE buffer 0.5x sampai tergenang.
- Produk *RT-PCR* 0.5 µl + 0.3 µl loading buffer, lalu dimasukkan kedalam well/slot yang ada pada gel agarose.

- Gel lalu dirunning 60 volt, 400 mA selama 35-45 menit, setelah itu gel diangkat dari perangkat elektroforesis dan dimasukkan kedalam gel doc untuk mengetahui band virus Dengue.



Gambar 1. Lokasi Penelitian

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian pada empat wilayah kerja puskesmas di Kota Ternate menemukan nyamuk dari jenis *Ae.aegypti*. Hasil deteksi virus dengan metode *RT-PCR* dapat dilihat pada [Tabel 2](#).

Tabel 2. Hasil Deteksi Virus Dengue Pada Nyamuk Dengan Metode *RT-PCR*

No	Wilayah Kerja Puskesmas	Jumlah sampel	Hasil
1	Gambesi	90	Negatif
2	Kalumata	90	Negatif
3	Kota	90	Negatif
4	Siko	90	Negatif

Hasil deteksi dengan menggunakan metode *RT-PCR* menunjukkan nilai *Transovarian Invection Rate* (TIR) 0% atau telur nyamuk *Ae.aegypti* pada wilayah tersebut tidak terinfeksi virus Dengue (negatif).

Ketidakberhasilan deteksi virus dari tubuh nyamuk melalui telur nyamuk dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan terutama faktor iklim. Faktor iklim yang mempengaruhi proses isolasi virus dari tubuh nyamuk diantaranya adalah suhu (Sasmanto *et al.*, 2012).

Berdasarkan data Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika (BMKG) Kota Ternate pada saat penelitian berlangsung berada pada musim pancaroba. Musim pancaroba ditandai dengan cuaca yang tidak stabil serta cenderung ekstrim sehingga berpengaruh pada kenaikan kelembaban udara. Peningkatan kelembaban merupakan faktor terjadinya peningkatan penularan penyakit DBD (Kemenkes RI, 2022). Musim pancaroba dapat menciptakan sebaran hujan tidak merata, yang berakibat pada terjadi perubahan suhu dari waktu-kewaktu.

Wowor (2017) menjelaskan bahwa peningkatan kelembaban udara pada musim hujan menyebabkan peningkatan jumlah nyamuk serta meningkatkan aktivitas menggigit dari nyamuk. Peningkatan kelembaban udara dapat berpengaruh pada memperpanjang jangka waktu hidup nyamuk, sehingga berpengaruh pada resiko penularan virus Dengue.

Pengaruh faktor lingkungan sangat penting dalam meningkatkan perkembangbiakan vektor, siklus gonotropik nyamuk, tingkat gigitan, memperpendek periode inkubasi patogen dan memperpanjang umur nyamuk dewasa (Fitriana dan Yudhastuti, 2018). Selanjutnya Wowor (2017) menjelaskan bahwa pada musim hujan, banyak terjadi kontak manusia dengan nyamuk karena aktifitas manusia lebih banyak terjadi dalam rumah.

Suhu yang dibutuhkan oleh nyamuk dalam satu siklus inkubasi ekstrinsik (waktu yang dibutuhkan virus Dengue untuk melakukan penetrasi kedalam tubuh nyamuk sampai menimbulkan gejala) berkisar antara 25-28°C (WHO, 2022). Rerata suhu setiap bulan di Kota Ternate berkisar 24-28°C (BMKG Kota Ternate, 2022). Tingginya suhu udara di Kota Ternate akan berpengaruh pada kecepatan terjadi siklus gonotropik pada nyamuk. Kecepatan perubahan siklus gonotropik akan menyebabkan nyamuk *Ae. aegypti* lebih lama bertahan hidup di alam. Selain itu adanya pemanasan global yang berdampak pada perubahan suhu, kelembaban dan curah hujan mempercepat proses metamorfosis dan berpengaruh pada kecepatan terjadinya siklus gonotropik (Wijayanti, 2019). Apabila siklus gonotropik terjadi secara cepat

akan menyebabkan terjadinya persistensi terhadap virus Dengue. Hal ini akan menyebabkan terjadinya peningkatan infeksi pada setiap siklus gonotropik. Kondisi tersebut menyebabkan terjadinya peningkatan *Minimum Infection Rate* (MIR). Pengaruh dari terjadinya persistensi pada beberapa generasi (transgenerasional) akan berdampak pada penularan dan penyebaran penyakit virus Dengue (Wijayanti, 2019).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kemungkinan penularan virus Dengue di Kota Ternate terjadi secara horisontal. Lokasi penelitian merupakan daerah padat penduduk dengan tingkat kerapatan rumah yang sangat berdekatan. Sirisena *et al.* (2017) menjelaskan bahwa apabila kepadatan penduduk suatu wilayah dengan rumah-rumah yang berdekatan akan mempermudah terjadi infeksi virus Dengue melalui gigitan nyamuk. Selanjutnya semakin padat rumah penduduk di suatu wilayah, maka risiko untuk penularan virus Dengue penyebab penyakit DBD semakin tinggi. Menurut Wesolowski *et al.* (2015) bahwa sebaran kasus DBD erat kaitannya dengan terjadinya urbanisasi yang tak terkontrol, mobilitas penduduk, perubahan iklim, dan faktor sosio-ekonomi. Situasi ini sangat sesuai dengan kondisi Kota

Ternate yang merupakan daerah transit dan pintu masuk maupun keluarnya penduduk dari Propinsi Maluku Utara, sehingga meningkatkan risiko terjadinya kasus impor.

Potensi menularkan virus Dengue akibat kasus impor berperan penting pada terjadi penyebaran penyakit DBD suatu daerah. Faktor utama terjadinya kasus impor disebabkan oleh adanya mobilitas penduduk yang tinggi pada daerah tersebut (Cheng *et al.*, 2016). Tingginya potensi penularan virus Dengue oleh vektor di Kota Ternate dapat juga terjadi karena perubahan siklus hidup vektor. Siraj *et al.* (2017) menyatakan bahwa perubahan sifat epidemiologik penyakit DBD dipengaruhi oleh perubahan lingkungan, penggunaan lahan, dan transformasi demografi. Perubahan sifat epidemiologi juga akan mempengaruhi terjadinya perubahan pola sebaran virus Dengue (Haider *et al.*, 2015).

Nyamuk secara alami dapat juga berfungsi sebagai reservoir bagi virus Dengue. Nyamuk menjadi media penyebaran virus Dengue yang efektif, tanpa harus berkembang dalam tubuh nyamuk (Hikmawati dan Huda, 2021). Penularan horisontal dapat terjadi setelah penularan vertikal. Hal ini bisa terjadi karena virus Dengue telah persisten dalam tubuh nyamuk. Persistens

merupakan cara pemeliharaan serotipe virus Dengue oleh vektor *Ae. aegypti*. (Hikmawati dan Huda, 2021)

SIMPULAN DAN SARAN

Sampel telur nyamuk yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Ae. aegypti*. Hasil uji transovarial dengan menggunakan metode RT-PCR pada telur nyamuk yang berasal dari 4 wilayah puskesmas yang berada di Kota Ternate adalah negatif yang menunjukkan bahwa penularan virus Dengue di Kota Ternate belum terjadi secara transovarial. Kemungkinan terjadinya penularan virus Dengue di Kota Ternate terjadi secara horisontal.

Untuk mengurangi resiko penyebaran virus Dengue lebih luas, perlu dilakukan pencegahan dengan menggunakan perangkap telur dan pemberantasan sarang nyamuk (PSN) melalui 3M-PLUS untuk memutuskan siklus hidup dari nyamuk di lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

BMKG. 2022. Iklim dan Cuaca Rata-Rata Sepanjang Tahun di Kota Ternate (Update Februari 2022). <https://id.weatherspark.com/y/142255/Cuaca-Rata-rata-pada-bulan-in-Kota-Ternate-Indonesia-Sepanjang-Tahun>

Cheng Q, Jing Q, Spear RC, Marshall JM, Yang Z, Gong P. 2016. Climate and the Timing of Imported Cases as Determinants of the Dengue Outbreak in Guangzhou 2014: Evidence from a Mathematical Model.

PLOS Neglected Tropical Diseases. 10(2). Pp= 1-15.

Fitriana BR, dan Yudhastuti R. 2018. Hubungan Faktor Suhu Dengan Kasus Demam Berdarah Dengue (DBD) Di Kecamatan Sawahan Surabaya. *The Indonesian Journal of Public Health*. 13(1). Pp= 83-94

Grunnill M, B. M. 2016. How Important is Vertikal Transmission of Dengue Viruses by Mosquitoes (Diptera: Culicidae)?, *Jurnal Medical Entomology*. 53(1). Pp= 1-19.

Haider, Z.A., Ahmad, F.Z., Mahmood, A., Waseem, T., Syafiq, I., Qazi, J., Siddique, N., and Humayun, M.A. 2015. Dengue fever in Pakistan: a paradigm shift; changing epidemiology and clinical patterns. *Perspectives in Public Health*. 135(6). Pp= 294-8.

Hikmawati, I. dan Huda, S. 2021 *Peran Nyamuk Sebagai Vektor Demam Berdarah Dengue (DBD) Melalui Transovarial*. Penerbit dan Pencetak: Satria Publisher. P= 125

Irwan, 2017. *Epidemiologi Penyakit Menular*. Penerbit CV. ABSOLUTE MEDIA. P= 107

Kemenkes RI. 2017. *Situasi Kasus Demam Berdarah di Indonesia Tahun 2016*[Infodatin] Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI

Kemenkes RI. 2022. *Cegah Ancaman DBD di Musim Pancaroba*. Pusat Kritis Kesehatan. Kementerian Kesehatan RI (Aupdate, Desember 2022). <https://pusatkrisis.kemkes.go.id/cegah-ancaman-dbd-di-musim-pancaroba>

Martins, V.E.P., Alencar, C.H., Kamimura, M.T., de Carvalho, A.F.M., de Simone, G., S, Dutra R.F., and Guedes, M.I.F. 2012. Occurrence of Natural Vertikal Transmission of Dengue-2 and Dengue-3 Viruses in *Aedes Aegyptii* and *Aedes albopictus* in Fortaleza, Ceará, Brazil. *PLOS ONE*; 7(7). Pp= e41386

- Siraj, A.S., Oidtman, R.J., Huber, J.H., Kraemer, M.U.G., Brady, O.J., Johansson, M.A., and Perkins, T.A. 2017. Temperature modulates dengue virus epidemic growth rates through its effects on reproduction numbers and generation intervals. *PLoS Negl Trop Dis*. 11(7). Pp= e0005797.
- Sirisena P, Noordeen F, Kurukulasuriya H, Romesh TA, Fernando L. 2017. Effect of Climatic Faktors and Population Density on the Distribution of Dengue in Sri Lanka: A GIS Based Evaluation for Prediction of Outbreaks. *PLoS ONE*. 12(1). P= e0166806
- Sorisi A.MH 2013. Transmisi Transovarial Virus Dengue Pada Nyamuk Aedes spp. *Jurnal Biomedik (JBM)*. 5(1). Pp= 26-31
- Wesolowski, A., Qureshi, T., Boni, M.F., Sundsøyc, P.R., Johansson, M.A., Rasheed, S. B., Engø-Monsen, K., and Buckee, C.O. 2015. Impact of human mobility on the emergence of dengue epidemics in Pakistan. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 112(38). Pp= 11887-92.
- Wijayanti, S.P.M. 2019. *Karakteristik dan Pola Penyebaran Penyakit Demam Berdarah Dengue di Wilayah Endemis*. UNSOED Press. P= 54
- Wowor R, 2017. Pengaruh Kesehatan Lingkungan terhadap Perubahan Epidemiologi Demam Berdarah di Indonesia. *Jurnal e-Clinic (eCl)*. 5(2). Pp= 105-17.
- WHO. 2022. Dengue and severe dengue. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>