

Identifikasi Serkaria *Fasciolopsis buski* dengan PCR untuk Konfirmasi Hospes Perantara di Kabupaten Hulu Sungai Utara, Kalimantan Selatan, Indonesia

Identification of Fasciolopsis buski Cercaria by PCR for Confirmation Intermediate Host in Hulu Sungai Utara District, South Kalimantan, Indonesia

Budi Hairani*, Annida, Syarif Hidayat, Deni Fakhrizal
Balai Litbang P2B2 Tanah Bumbu
Kawasan Perkantoran Pemda Kabupaten Tanah Bumbu, Gunung Tinggi, Tanah Bumbu,
Kalimantan Selatan, Indonesia
*E_mail: budihaira@gmail.com

Received date: 22-01-2016, Revised date: 02-05-2016, Accepted date: 20-06-2016

ABSTRAK

Fasciolopsiasis di Indonesia endemik di Kabupaten Hulu Sungai Utara, Kalimantan Selatan. Permasalahan dalam pengendalian penyakit ini adalah belum diketahuinya jenis keong yang berperan sebagai hospes perantara pertama. Jenis keong hospes perantara ditentukan dengan menemukan serkaria *Fasciolopsis buski* pada keong tersebut. Identifikasi serkaria secara mikroskopis belum bisa memastikan serkaria pada keong merupakan serkaria *F. buski* sehingga perlu digunakan metode yang lebih akurat. Oleh karena itu dilakukan penelitian mengenai identifikasi serkaria *F. buski* dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang bertujuan untuk mengkonfirmasi jenis serkaria dan keong hospes perantara pertama *F. buski*. Penelitian berupa studi observasional di lapangan dan laboratorium yang dilaksanakan pada Maret-Desember 2014. Sampel keong berasal dari Desa Sungai Papuyu dan Kalumpang Dalam. Uji PCR sampel serkaria dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler FMIPA Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru. Didapatkan 6 genus keong yaitu *Pomacea*, *Bellamya*, *Indoplanorbis*, *Lymnaea*, *Gyraulus* dan *Melanoides*. Tiga jenis serkaria didapatkan dengan pemeriksaan mikroskopis yaitu *Echinostome cercariae* pada keong *Lymnaea* dan *Indoplanorbis*, *Brevifurcate-pharyngeate cercariae* pada keong *Lymnaea*, dan *Sulcatomicrocercous cercariae* pada keong *Bellamya*. Hasil PCR menunjukkan sampel positif *F. buski* adalah *Echinostome cercariae* yang terdapat pada keong *Lymnaea* dan *Indoplanorbis* sehingga keong tersebut dapat dipastikan sebagai hospes perantara pertama dari *F. buski*.

Kata kunci: *Fasciolopsis buski*, serkaria, hospes perantara, PCR

ABSTRACT

Fasciolopsiasis in Indonesia is endemic in Hulu Sungai Utara District, South Kalimantan. Problems in controlling this disease is to identify the snail that acts as an first intermediate host. Fasciolopsis buski intermediate host is determined by the presence of F. buski cercariae on the conch. Identification of cercariae using microscopic method can not ensure that was F. buski cercariae, so it is necessary to use a more accurate method. Therefore, the research aimed to identify F. buski cercariae using Polymerase Chain Reaction (PCR) to confirm the cercariae species and the first intermediate host snails of F. buski. Observational studies in the field and laboratory are conducted in March-December 2014. Snail samplings were taken place at Sungai Papuyu and Kalumpang Dalam villages. Cercariae PCR analysis was done at Molecular Biology Laboratory, Faculty of Science-Lambung Mangkurat University, Banjarbaru. Our field collections found 6 snail genus: Pomacea, Bellamya, Indoplanorbis, Lymnaea, Gyraulus, and Melanoides. Three species of cercariae obtained by microscopic examination consisted of Echinostome cercariae in Lymnaea and Indoplanorbis snail, Brevifurcate-pharyngeate cercariae in Lymnaea snail, and Sulcatomicrocercous cercariae in Bellamya snail. PCR analysis showed positive result of F. buski on Echinostome cercariae samples found from Lymnaea and Indoplanorbis snail. This finding have confirmed that both snails were the first intermediate host of F. buski at our sampling sites.

Keywords: *Fasciolopsis buski*, cercariae, intermediate host, PCR

PENDAHULUAN

Fasciolopsiasis yang disebabkan oleh cacing *Fasciolopsis buski* adalah penyakit kecacingan yang endemis di Kabupaten Hulu Sungai Utara (HSU), Provinsi Kalimantan Selatan.¹ Penyakit ini dilaporkan pertama kali pada tahun 1982 dari Desa Sungai Papuyu, Kecamatan Babirik.² *Fasciolopsis buski* merupakan cacing trematoda terbesar yang hidup dan berkembang biak di dalam usus manusia, bentuknya pipih seperti daun atau lintah dengan ukuran panjang 20-75 mm dan diameter 8-20 mm.³ Dalam siklus hidupnya *Fasciolopsis buski* memerlukan keong air tawar yang sesuai sebagai hospes perantara pertama dan tumbuhan air sebagai hospes perantara kedua. Telur *F. buski* di air berkembang menjadi mirasidium. Mirasidium menginfeksi keong, kemudian dalam tubuh keong mirasidium berkembang menjadi serkaria. Serkaria akan keluar dari tubuh keong dan berenang mencari tempat menempel, yang pada umumnya adalah tanaman air. Serkaria yang menempel pada tanaman air berkembang menjadi bentuk infeksi (metaserkaria). Infeksi pada manusia terjadi apabila menelan tanaman air yang terdapat metaserkaria.⁴

Hospes perantara pertama *F. buski* yang telah diketahui di beberapa negara adalah keong genus *Segmentina*, *Hippeutis*, *Gyraulus*, *Planorbis sp.*, dan *Trochorbis trochoideus*.⁵ Jenis keong yang berperan sebagai hospes perantara pertama *F. buski* di Kabupaten HSU masih belum diketahui dengan jelas.² Beberapa penelitian yang telah dilakukan mencoba menemukan dan mengidentifikasi jenis serkaria yang terdapat pada keong di daerah endemis fasciolopsiasis. Umumnya hasil penelitian tersebut menemukan tiga jenis serkaria dengan bentuk morfologi yang dapat dibedakan dengan jelas yaitu serkaria ekor tunggal, serkaria ekor bercabang dan serkaria tanpa ekor. Serkaria tersebut terdapat pada keong *Indoplanorbis*, *Lymnaea* dan *Anisus*.^{6,7}

Penelitian yang dilakukan oleh Annida pada tahun 2012 menduga bahwa serkaria berekor tunggal (diidentifikasi sebagai *Echinostome cercariae*) yang ditemukan merupakan serkaria dari *F. buski*.⁷ Dugaan tersebut masih menimbulkan kebingungan karena ada beberapa jenis serkaria yang memiliki kemiripan morfologi

dengan *Echinostome cercariae* yang sangat sulit untuk dibedakan secara spesifik antara lain *Gymnocephalous cercariae* dan *Xiphidocercariae* yang berasal dari spesies cacing yang berbeda.⁸

Salah satu masalah dalam upaya pengendalian penularan penyakit fasciolopsiasis di Kabupaten HSU adalah belum diketahuinya jenis keong perantara,⁹ hal ini dikarenakan keterbatasan dalam kemampuan identifikasi morfologi serkaria dengan metode mikroskopis, sehingga tidak dapat dikonfirmasi bahwa serkaria yang ditemukan pada keong di daerah endemis benar-benar merupakan serkaria dari *F. buski* atau dari cacing trematoda jenis lain. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan metode alternatif yang lebih akurat dan spesifik yaitu dengan uji *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk mengidentifikasi serkaria *F. buski* dan menentukan jenis keong air tawar yang menjadi hospes perantara pertama di Kabupaten HSU, Kalimantan Selatan.

METODE

Penelitian ini merupakan studi observasional di lapangan menggunakan desain *cross sectional* dan pemeriksaan laboratorium pada tahun 2014. Pengumpulan keong air tawar dilakukan di daerah endemik fasciolopsiasis yaitu Desa Kalumpang Dalam dan Desa Sungai Papuyu dengan pertimbangan setiap tahun selalu ditemukan penduduk yang terinfeksi *F. buski*. Tahun 2012 di dua desa tersebut juga ditemukan jenis keong tersangka hospes perantara, 3 jenis serkaria dan telur mirip *F. buski* pada pemeriksaan tinja hewan ternak. Pemeriksaan dan koleksi serkaria dilakukan di Laboratorium Parasitologi Balai Litbang P2B2 Tanah Bumbu, sedangkan uji PCR serkaria dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru.

Populasi penelitian adalah semua jenis keong air tawar yang ada di kedua desa tersebut di Kabupaten HSU. Sampel adalah semua jenis keong yang didapatkan pada saat pengambilan sampel di lapangan. Pemilihan lokasi sampling dengan metode *purposive*. Koleksi keong dilakukan dengan metode *hand collecting* dengan panduan garis transek¹⁰ di sekitar badan air di lingkungan rumah penduduk yang terinfeksi *F.*

buski. Keong yang ditemukan dimasukkan ke dalam kantong plastik masing-masing dibedakan menurut jenisnya dan titik pengambilan.

Pemeriksaan parasitologis keong untuk menemukan serkaria dilakukan dengan metode *crushing*.^{11,12} Tahapan metode ini yaitu dengan meletakkan keong pada cawan petri, kemudian cangkang keong dibuka/dihancurkan secara perlahan dengan penggerus, tubuh keong yang sudah hancur ditetesi dengan aquades lalu diperiksa dengan mikroskop disekting. Serkaria yang ditemukan diidentifikasi morfologinya, sebagai acuan untuk identifikasi awal serkaria dapat dibedakan berdasarkan ciri morfologi yang paling jelas dapat dibedakan yaitu dari bentuk ekornya. Serkaria diambil dengan pipet kemudian dimasukkan ke dalam wadah sampel (tube 1,5 ml) untuk keperluan uji PCR.

Sampel serkaria yang didapatkan diperiksa dengan PCR konvensional menggunakan primer spesifik *F. buski* yang terdiri dari 3S: 5'-GGTACCGGTGGATCACTCGGCTCGTG-3' (*forward*); FbMR1: TTAAACCACGATCCCGCTAC (*reverse*). *Reverse* primer tersebut didesain untuk daerah spesifik sekuens ITS2 dari *F buski*.¹³ Uji PCR menggunakan DNA Amplification Kit dari Vivantis : 38,1 µl *nuclease free water*; 5,0 µl 10X ViBuffer A; 2,0 µl dNTP mix (2mM); 1,5 µl MgCl₂ (50 mM); 1,0 µl *Forward primer* (10 µM); 1,0 µl *Reverse primer* (10 µM); 1,0 µl DNA; 0,4 µl *Taq DNA Polymerase*. Siklus PCR dilakukan dalam kondisi : 26 siklus, denaturasi DNA pada 94 °C selama 30 detik, *annealing* pada 55 °C selama 38 detik dan *extention* pada 72 °C selama 42 detik diikuti *final extention* pada 72 °C selama 10 menit. Tahap elektroforesis menggunakan 1,6 % *gel agarose* dengan TAE *buffer*. Gel hasil elektroforesis direndam dalam *ethidium bromida* (konsentrasi 1 mg/ml) selama 10-15 menit. Kemudian gel dicuci dengan aquadest. DNA divisualisasikan pada UV *trasilluminator* dan dilakukan dokumentasi foto.

Analisis data dilakukan secara deskriptif tentang populasi spesies keong air tawar, hasil pemeriksaan parasitologis berupa jenis serkaria yang ditemukan pada keong dan uji PCR serkaria.

HASIL

Pengambilan sampel keong air tawar di desa Sungai Papuyu dan desa Kalumpang Dalam didapatkan 6 genus keong yang ditunjukkan pada Tabel 1 berikut ini :

Tabel 1. Hasil Survei Keong Air Tawar di Desa Sungai Papuyu dan Kalumpang Dalam, Kecamatan Babirik, Kabupaten Hulu Sungai Utara Tahun 2014

No	Genus	Jumlah (ekor)		Total
		S. Papuyu	K. Dalam	
1	<i>Bellamyia</i>	227	40	267
2	<i>Pomacea</i>	45	128	173
3	<i>Lymnaea</i>	68	70	138
4	<i>Gyraulus</i>	39	41	80
5	<i>Indoplanorbis</i>	1	62	63
6	<i>Melanooides</i>	4	2	6

Tabel 1 menunjukkan keong yang mendominasi kedua desa adalah genus *Bellamyia* (267 ekor) sedangkan yang paling sedikit adalah genus *Melanooides* (6 ekor). Dari 6 genus keong air tawar (*Bellamyia*, *Pomacea*, *Lymnaea*, *Gyraulus*, *Indoplanorbis* dan *Melanooides*) yang ditemukan, keong *Bellamyia*, *Pomacea* dan *Lymnaea* ditemukan hampir di semua titik pengambilan sampel dengan jumlah yang bervariasi, baik di desa Sungai Papuyu maupun di desa Kalumpang Dalam. Keong *Indoplanorbis* lebih banyak ditemukan di desa Kalumpang Dalam (62 ekor) dan hampir di semua titik, sedangkan di desa Sungai Papuyu hanya ditemukan di satu titik jumlah 1 ekor. Keong *Gyraulus* terkonsentrasi pada titik tertentu dengan jumlah yang ditemukan tidak jauh berbeda antara di desa Sungai Papuyu dan Kalumpang Dalam.

Pada penelitian ini didapatkan serkaria ekor tunggal (*Echinostome cercariae*), serkaria ekor bercabang (*Brevifurcate-pharyngeate cercariae*) dan serkaria tanpa ekor (*Sulcatomicrocercous cercariae*). Dari koleksi keong di Desa Sungai Papuyu dan Desa Kalumpang Dalam didapatkan keong positif serkaria/redia yang ditunjukkan pada Tabel 2 berikut ini:

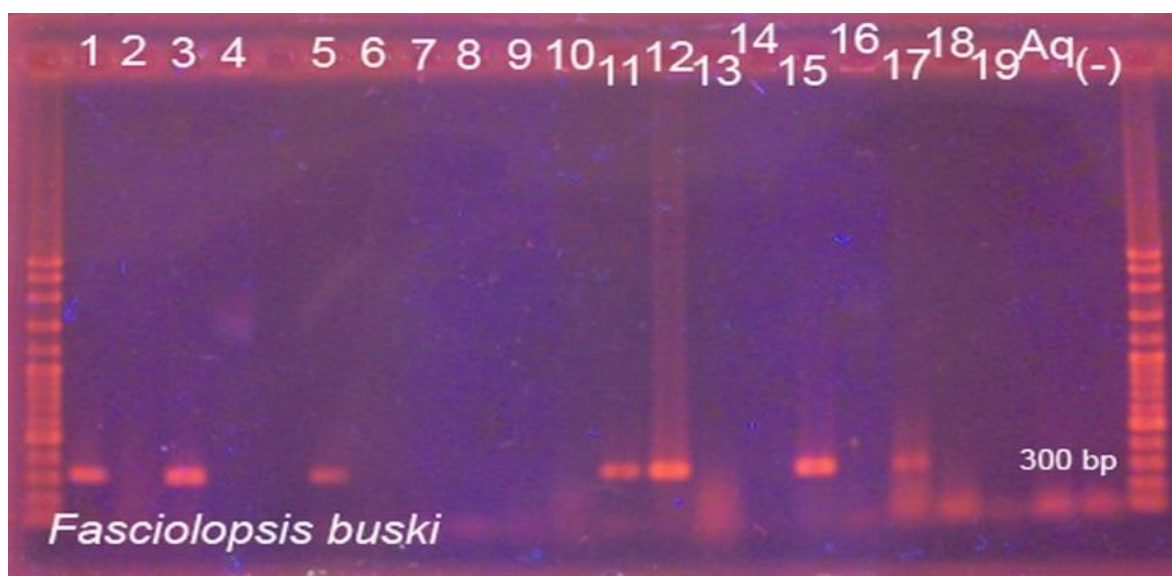
Tabel 2. Hasil Mikroskopis Koleksi Serkaria pada Keong di Desa Sungai Papuyu dan Kalumpang Dalam, Kecamatan Babirik, Kabupaten Hulu Sungai Utara Tahun 2014

No Sampel	Kode Sampel	Lokasi (Desa)	Hospes (Keong)	Jenis serkaria
1	SP160l	Sungai Papuyu	<i>Lymnaea</i>	<i>Echinostome cercariae</i>
2	SP164l	Sungai Papuyu	<i>Lymnaea</i>	Redia & <i>Echinostome cercariae</i>
3	SP165l	Sungai Papuyu	<i>Lymnaea</i>	<i>Echinostome cercariae</i>
4	SP166l	Sungai Papuyu	<i>Lymnaea</i>	Redia
5	SP167l	Sungai Papuyu	<i>Lymnaea</i>	<i>Echinostome cercariae</i>
6	SP172i	Sungai Papuyu	<i>Indoplanorbis</i>	<i>Echinostome cercariae</i>
7	SP172l	Sungai Papuyu	<i>Lymnaea</i>	Redia + <i>Brevifurcate-pharyngeate cercariae</i>
8	SP173l	Sungai Papuyu	<i>Lymnaea</i>	Redia
9	SP174l	Sungai Papuyu	<i>Lymnaea</i>	Redia
10	SP175l	Sungai Papuyu	<i>Lymnaea</i>	Redia
11	KD189l	Kalumpang Dalam	<i>Lymnaea</i>	<i>Echinostome cercariae</i> & <i>Brevifurcate-pharyngeate cercariae</i>
12	KD190i	Kalumpang Dalam	<i>Indoplanorbis</i>	<i>Echinostome cercariae</i>
13	KD192l	Kalumpang Dalam	<i>Lymnaea</i>	Redia
14	KD192i	Kalumpang Dalam	<i>Indoplanorbis</i>	Redia
15	KD194i	Kalumpang Dalam	<i>Indoplanorbis</i>	<i>Echinostome cercariae</i>
16	KD196b	Kalumpang Dalam	<i>Bellamyia</i>	<i>Sulcatomicrocercous cercariae</i>
17	KD196l	Kalumpang Dalam	<i>Lymnaea</i>	<i>Echinostome cercariae</i>
18	KD196i	Kalumpang Dalam	<i>Indoplanorbis</i>	<i>Echinostome cercariae</i>

Tabel 2 menunjukkan di Desa Sungai Papuyu terdapat keong yang positif serkaria/redia dari genus *Lymnaea* dan *Indoplanorbis*, sedangkan keong genus lainnya yaitu *Pomacea*, *Bellamyia*, *Gyraulus* dan *Melanoides* tidak ditemukan serkaria. Jenis serkaria yang dominan adalah *Echinostome cercariae*. Dari koleksi keong di desa Kalumpang Dalam juga didapatkan keong positif serkaria/redia dari jenis *Lymnaea* dan

Indoplanorbis, serta *Bellamyia*. Dari keong genus lainnya yaitu *Pomacea*, *Gyraulus* dan *Melanoides* tidak ditemukan serkaria. Jenis serkaria yang terbanyak ditemukan adalah *Echinostome cercariae*.

Uji PCR menunjukkan hasil positif pada sampel nomor 1, 3, 5, 11, 12, 15 dan 17 dengan ukuran panjang DNA sekitar 300 bp seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1 berikut:



Sumber: data primer, Desember 2014

Gambar 1. Visualisasi Gel Elektroforesis Hasil PCR Sampel Serkaria dengan Primer 3S-FbMR1 (*F. buski*); Sampel: 1-18; kontrol positif: 9; kontrol negatif: Aquades (Aq) & buffer mix (-)

PEMBAHASAN

Wilayah Desa Sungai Papuyu dan Desa Kalumpang Dalam sebagian besar merupakan daerah rawa yang tergenang air hampir sepanjang tahun, walaupun saat kemarau panjang beberapa tempat masih tergenang air. Kondisi tersebut sangat ideal bagi perkembangan berbagai jenis keong air tawar. Secara umum kondisi lingkungan Desa Sungai Papuyu dan Desa Kalumpang Dalam tidak jauh berbeda. Keterbatasan penelitian ini tidak melakukan pengukuran atau menilai kondisi dan parameter fisik-kimia lingkungan serta analisis hubungannya dengan keberadaan populasi setiap jenis keong yang ada. Annida pada tahun 2012 telah melakukan pengukuran parameter sampel air lingkungan di kedua desa tersebut.⁷ Hasil pengukuran menunjukkan perbedaan pada parameter *dissolved oxygen* (DO), *biological oxygen demand* (BOD) dan *chemical oxygen demand* (COD). Desa Sungai Papuyu mempunyai nilai DO 7.48-8.87 mg O₂/l, BOD 0.05-0.95 mg O₂/l dan COD 7.68-21.95 mg O₂/l, sedangkan desa Kalumpang Dalam mempunyai nilai DO 3.49-6.98 mg O₂/l, BOD 0.1-1.3 mg O₂/l dan COD 3.016-18.096 mg O₂/l. Hasil pengukuran pH, suhu dan salinitas air pada kedua desa tersebut sama yaitu pH 6, suhu air 25°C dan salinitas 0‰.⁷ Nilai DO yang lebih tinggi menandakan kualitas perairan yang baik untuk kehidupan organisme, sementara nilai BOD dan COD yang tinggi menandakan adanya cemaran bahan organik maupun kimia yang menyebabkan buruknya kualitas perairan.¹⁴ Variasi nilai DO, BOD dan COD ini dapat mempengaruhi keberadaan populasi jenis keong tertentu pada suatu perairan sehingga hasil sampling jumlah populasi keong *Bellamya*, *Pomacea* dan *Indoplanorbis* sangat berbeda di kedua desa tersebut.

Keong yang keberadaannya hanya terkonsentrasi pada titik-titik tertentu kemungkinan lebih sensitif terhadap perubahan parameter lingkungan, sementara keong yang distribusinya merata masih bisa mentoleransinya.^{15,16} Keberadaan serkaria sangat bergantung pada keong yang menjadi tempat hidupnya.¹⁷ Meningkatnya kejadian infeksi serkaria pada keong perantara seringkali terjadi pada saat jumlah populasi keong stabil atau

melimpah.¹⁸ Keong *Lymnaea* yang mengandung serkaria dijumpai di Desa Sungai Papuyu maupun Desa Kalumpang Dalam karena jumlah populasinya cenderung stabil di kedua desa tersebut, sementara keong *Indoplanorbis* yang mengandung serkaria hanya dijumpai di Desa Kalumpang Dalam dikarenakan jumlah populasi keong ini jauh lebih tinggi di desa tersebut.

Walaupun pada penelitian ini hanya 3 genus keong yang positif terdapat serkaria, pada beberapa wilayah yang berbeda diketahui semua jenis keong yang ditemukan di daerah endemis memiliki potensi berperan sebagai hospes perantara trematoda maupun jenis cacing lainnya. Keong *Bellamya* merupakan hospes dari cacing *Echinostome lindoensis* di daerah Danau Lindu, Sulawesi Tengah.¹⁹ Di Taiwan dan Hawaii keong *Pomacea* merupakan hospes perantara dari cacing Nematoda *Angiostrongylus cantonensis*,²⁰ keong *Lymnaea* (famili *Lymnaeidae*), *Gyraulus* dan *Indoplanorbis* (famili *Planorbidae*) diketahui merupakan hospes perantara dari cacing *Schistosoma* dan cacing parasit intestinal di Rwanda dan India.^{21,22} *Gyraulus* dianggap sebagai hospes perantara pertama dari *F. buski* di Kalimantan Selatan,¹⁹ namun pada penelitian ini tidak ada yang positif mengandung serkaria. Keong *Melanoides* (famili *Thiaridae*) yang merupakan hospes perantara dari *Paragonimiasis* dan cacing parasit pencernaan di Afrika Selatan.²³

Serkaria ekor tunggal ditemukan pada keong *Lymnaea* dan *Indoplanorbis*. Serkaria tersebut diduga merupakan *Echinostome cercariae*,²⁴ dengan ciri khas morfologi yaitu adanya *spiny collar* pada bagian anteriornya. Tubuh serkaria ini umumnya berbentuk oval memanjang dengan ukuran $97 \pm 6 \mu\text{m}$ dengan sebuah ekor berukuran $122 \pm 6 \mu\text{m}$. *Ventral sucker* terletak di bagian tengah tubuh, sedangkan *oral sucker* terletak sekitar $64 \pm 6 \mu\text{m}$ dari *ventral sucker*.²⁵ Asumsi bahwa *Echinostome cercariae* adalah serkaria *F. buski* didasarkan pada adanya organ *oral sucker* dan *ventral sucker* yang juga dimiliki oleh cacing dewasa dari famili Fasciolidae.²⁶ Serkaria ekor bercabang ditemukan pada keong *Lymnaea*. Serkaria tersebut merupakan *Brevifurcate-pharyngeate cercariae*²⁴ dengan ciri khas morfologi yaitu adanya *dorso-median finfold*. Bentuk tubuh elips memanjang ($396 \pm 14 \mu\text{m}$) dengan ujung ekor bercabang dan meruncing.²⁵

Serkaria tanpa ekor yang ditemukan pada keong *Bellamya* merupakan jenis *Sulcatomicrocercous cercariae*.²⁴ Ditemukannya 3 jenis serkaria yang berbeda menunjukkan bahwa selain *F. buski* dan *Fasciola gigantica* yang telah diketahui keberadaannya,²⁷ masih terdapat jenis cacing lain di daerah perairan rawa Kabupaten HSU.

Sampel serkaria yang terdeteksi positif *F. buski* pada uji PCR merupakan sampel *Echinostome cercariae* dari keong *Lymnaea* dan *Indoplanorbis* (kecuali sampel nomor 11 yang terdapat *mix* antara *Echinostome cercariae* dan *Forcocercous cercariae* dalam 1 keong *Lymnaea*). *Echinostome cercariae* merupakan serkaria dari subordo *Echinostomata*, demikian juga dalam taksonomi cacing *F. buski* termasuk dalam subordo *Echinostomata*²⁸ dan hasil uji PCR membuktikan bahwa serkaria tersebut merupakan bentuk serkaria dari cacing *F. buski*.

KESIMPULAN

Serkaria dari *Fasciolopsis buski* adalah *Echinostome cercariae* yang mempunyai ciri khas morfologi tubuh berbentuk oval memanjang, berekor tunggal, pada tubuh terdapat *oral sucker*, *ventral sucker* dan *spiny collar*. Keong air tawar sebagai hospes perantara dari *F. buski* adalah *Lymnaea* dan *Indoplanorbis*.

SARAN

Masyarakat di daerah endemis agar mewaspadai peningkatan populasi keong *Indoplanorbis* dan *Lymnaea* yang merupakan hospes perantara pertama dari *F. buski*. Penelitian konfirmasi jenis tanaman air yang menjadi hospes perantara kedua dari *F. buski* juga perlu dilakukan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Balai Litbang P2B2 Tanah Bumbu, Kepala Dinkes Kabupaten Hulu Sungai Utara, Kepala dan staff Puskesmas Babirik, Kepala dan staff Laboratorium Biologi Molekuler FMIPA Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru, dr. Paisal, M.Biomed beserta rekan-rekan teknisi yang mendukung penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Annida, Paisal. Siput air tawar sebagai hospes perantara trematoda di Desa Kalumpang Dalam dan Sungai Papuyu, Kecamatan Babirik, Kabupaten Hulu Sungai Utara. *J Buski*. 2014;5(2):55–60.
2. Hadidjaja P, Dahri HM, Roesin R, Margono SS, Djalins J, Hanafiah M. First autochthonous case of *Fasciolopsis buski* infection in Indonesia. *Am J Trop Med Hyg. United States*. 1982 Sep;31(5):1065.
3. Roach RR, Friedman E. Intestinal, lung and liver flukes. *Trop Pediatr A Public Heal Concern Int Proportions*. 2012;4(2):121–8.
4. Lv S, Tian LG, Liu Q, Qian MB, Fu Q, Steinmann P, et al. Water-related parasitic diseases in China. *Int J Environ Res Public Health*. 2013;10(5):1977–2016.
5. Devleeschauwer B, Ale A, Torgerson P, Praet N, Maertens de Noordhout C, Dev Pandey B, et al. The Burden of parasitic zoonoses in Nepal: A Systematic Review. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8(1):56.
6. Handojo I, Ismulyuwono B. Pencarian dan penemuan bentuk metaserkaria pada tumbuhan air yang berperan sebagai inang perantara II *Fasciolopsis buski* di Kabupaten Hulu Sungai Utara Propinsi Kalimantan Selatan. Jakarta; 1988.
7. Annida. Studi komprehensif epidemiologi Fasciolopsiasis dan pemetaannya di Kabupaten Hulu Sungai Utara Provinsi Kalimantan Selatan Tahun 2012. Tanah Bumbu; 2013.
8. Mai C, Chontanarith T, Wongsawad C. Epidemiology of cercarial stage of trematodes in freshwater snails from. *Asian Pac J Trop Biomed. Asian Pacific Tropical Biomedical Magazine*. 2013;3(3):237–43.
9. Annida, dkk. Penanggulangan Fasciolopsiasis melalui pemberian obat 2 (dua) kali setahun di Kabupaten Hulu Sungai utara. *J Buski. Batulicin*. 2008;1(1):4–9.
10. Durkan TH, Yeung NW, Meyer WM, Hayes KA, Cowie RH. Evaluating the efficacy of land snail survey techniques in Hawaii: implications for conservation throughout the Pacific. *Biodivers Conserv*. 2013;22(13-14):3223–32.
11. Kulsantiwong J, Prasopdee S, Piratae S, Khamphosa P, Suwannatrai A, Duangprompo W, et al. Species-specific primers designed from RAPD products for *Bithynia funiculata*, the first intermediate host of liver fluke, *Opisthorchis viverrini*, in North Thailand. *J Parasitol*.

2013;99(3):433–7.

12. Yakhchali M, Malekzadeh-Viayeh R, Imani-Baran A. PCR-RFLP analysis of 28 SrDNA for specification of *Fasciola gigantica* (Cobbold, 1855) in the infected *Lymnaea auricularia* (Linnaeus, 1785) snails from Northwestern Iran. *Iran J Parasitol.* 2014;9(3):358–64.
13. Prasad PK, Goswami LM, Tandon V, Chatterjee A. PCR-based molecular characterization and insilico analysis of food-borne trematode parasites *Paragonimus westermani*, *Fasciolopsis buski* and *Fasciola gigantica* from Northeast India using ITS2 rDNA. *Bioinformation.* 2011;6(2):64–8.
14. Mustapha A, Aris AZ, Juahir H, Ramli MF, Kura NU. River water quality assessment using environmentric techniques: case study of Jakara River Basin. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2013;20(8):5630–44.
15. Dutta SM, Mustafi SB, Raha S, Chakraborty SK. Assessment of thermal stress adaptation by monitoring Hsp70 and MnSOD in the freshwater gastropod, *Bellamya bengalensis* (Lamarck 1882). *Environ Monit Assess.* 2014;186(12):8961–7.
16. Fahmy SR, Abdel-Ghaffar F, Bakry FA, Sayed DA. Ecotoxicological effect of sublethal exposure to zinc oxide nanoparticles on freshwater snail *Biomphalaria alexandrina*. *Arch Environ Contam Toxicol.* 2014;67(2):192–202.
17. Morley NJ, Lewis JW. Thermodynamics of cercarial development and emergence in trematodes. *Parasitology.* 2013;140(10):1211–24.
18. Grabner DS, Mohamed FAMM, Nachev M, Mabed EMH, Sabry AHA, Sures B. Invasion biology meets parasitology: A case study of parasite spill-back with egyptian *Fasciola gigantica* in the invasive snail *Pseudosuccinea columella*. *PLoS One.* 2014;9(2):1–8.
19. Djajasasmita M. The medically important molluscs of Indonesia. *Bul Penelit Kesehat.* 1989;17(2):135–40.
20. Kim JR, Hayes KA, Yeung NW, Cowie RH. Diverse gastropod hosts of *Angiostrongylus cantonensis*, the rat lungworm, Globally and with a focus on the Hawaiian Islands. *PLoS One.* 2014;9(5):21–6.
21. Isabwe A, Ruberanziza E, Mupfasoni D, Ruxin J, Clerinx J, White PT. Case study potential for transmission of Schistosomiasis in Kayonza District. 2012;69(June):14–9.
22. Jauhari RK, Nongthombam PD. Occurrence of a snail borne disease, cercarial dermatitis (Swimmer itch) in Doon valley (Uttarakhand), India. *Iran J Public Health.* 2014;43(2):162–7.
23. Appleton CC. Paragonimiasis in KwaZulu-Natal Province, South Africa. *J Helminthol.* 2014;88(1):123–8.
24. SEACMM. A formal course on medical malacology for south east asian countries. Bangkok: Department of Social and Environmental Medicine, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University; 2012.
25. Souza M a. a., Melo AL. Caracterização de larvas de trematódeos emergentes de moluscos gastrópodes coletados em Mariana, Minas Gerais, Brasil. *Iheringia Série Zool.* 2012;102(1992):11–8.
26. Soedarto. Buku ajar parasitologi kedokteran. Jakarta: CV Agung Seto; 2011. 192-3.
27. Natalia L, Suhardono, Priadi A. Kerbau rawa Di Kalimantan Selatan : permasalahan, penyakit dan usaha pengendalian. *Wartazoa.* 2006;16(4):206–15.
28. Zheng X, Chang Q-C, Zhang Y, Tian S-Q, Lou Y, Duan H, et al. Characterization of the complete nuclear ribosomal DNA sequences of *Paramphistomum cervi*. *The Scientific World Journal.* 2014;2014:1–11.

