

IDENTIFIKASI VIRUS DENGUE PADA NYAMUK *Aedes aegypti* DAN *Aedes albopictus* DI PALEMBANG

¹Dalilah, ²Tia Sabrina, ³Ahmad Ghiffari

¹Bagian Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya

²Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya

³Bagian Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Palembang

*E-mail : 21lila.azhari@gmail.com

Abstrak

Penyakit Demam Berdarah Dengue telah lama menjadi masalah kesehatan didunia terkhusus daerah tropis seperti di Indonesia. Penyakit ini disebabkan virus famili Flaviviridae yakni virus dengue, dapat ditularkan oleh baik vektor nyamuk betina (nyamuk jantan terinfeksi secara *transovarial*) *Aedes aegypti* dan nyamuk betina *Aedes albopictus*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi RNA virus dengue pada nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* di Palembang. Penelitian ini merupakan penelitian uji laboratoris molekuler dengan sampel seluruh spesies nyamuk dewasa jantan, nyamuk dewasa betina dan larva *Aedes aegypti*; serta nyamuk dewasa betina dan larva *Aedes albopictus* yang ditemukan di unit wilayah Sako dan unit wilayah Jakabaring. Pengambilan sampel dilakukan akhir agustus. Nyamuk dewasa ditangkap dengan menggunakan *odor sentinel trap*, sedangkan larva diambil dengan cidukan larva. Identifikasi dilakukan di Laboratorium Parasitologi FK Unsri dan uji molekuler dengan metode *Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)* dilakukan di laboratorium biomolekuler FK Unsri Palembang. Hasil sebanyak 36 pool sampel terdiri: 14 pool nyamuk berasal dari wilayah Sako (11 pool nyamuk *Ae. aegypti* dan 3 pool nyamuk *Ae. albopictus*; dan 22 pool (17 pool nyamuk *Ae. aegypti* dan 5 pool nyamuk *Ae. albopictus*) berasal dari wilayah Jakabaring. Pada hasil pemeriksaan RT PCR tidak terdapat pita di titik 511 bp sebagai penanda adanya DNA virus Dengue, dengan demikian hasil pemeriksaan sampel pada nyamuk Palembang negatif virus dengue.

Kata kunci : *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, RT-PCR, vektor, virus dengue.

PENDAHULUAN

Virus Dengue, Japanese Encephalitis dan Zika merupakan Arbovirus (*arthropod-bone virus*) yang termasuk dalam ragam penyakit virus yang ditransmisikan melalui gigitan vektor/nyamuk. Virus ini masuk dalam famili flaviviridae (Schmaljohn & Mc Clain, 1996 dan Kuno, et al, 1998). Menurut Kementerian Kesehatan Republik Indonesia tahun 2013 kasus Demam Berdarah Dengue dan Chikungunya di Indonesia masih tinggi, semakin meningkat angka kesakitannya dan sebaran wilayah yang terjangkau semakin luas (Kemenkes RI, 2010), sedangkan angka kematiannya semakin menurun.

Dinas Kesehatan Provinsi Sumatera Selatan tahun 2016 mencatat 873 terjangkau demam berdarah dengue (DBD) di seluruh kabupaten/kota dari 1-31 Januari 2016. Sebanyak 11 diantaranya tercatat menderita hingga meninggal. Jumlah tersebut lebih tinggi dibandingkan Januari tahun lalu dimana terdapat 725 penderita (Dinkes Kota Palembang, 2016).

Nyamuk merupakan vektor berbagai macam penyakit. Dalam Ilmu Parasitologi, nyamuk termasuk dalam bidang ilmu entomologi, yakni ilmu tentang berbagai jenis serangga/vektor pembawa penyakit, hewan ini berasal dari kelas Insekta, ordo Diptera (Sutanto, et al, 2008). Nyamuk genus *Aedes* merupakan vektor yang potensial dalam penularan penyakit akibat virus Dengue dan Chikungunya (Jacob, et al, 2007).

Nyamuk *Aedes* menyukai tempat perindukan yang airnya jernih dan bersih namun telur nyamuk dari genus *Aedes* dapat bertahan pada suasana kering dan dapat menetas pada air comberan,

meskipun belum diketahui ketahanan hidup dan pertumbuhan larva menjadi pupa dan nyamuk dewasa. Nyamuk ini tersebar di seluruh Indonesia (terutama pada musim penghujan), kecuali di daerah pada ketinggian di atas 1000m dari permukaan laut. Nyamuk ini peka akan perubahan suhu dan kelembaban udara. Pada suhu rendah kelembaban tinggi seperti pada musim penghujan populasi nyamuk akan meningkat pesat (Okogun, et al, 2003).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini berupa deskriptif uji laboratoris molekuler. Sampel diambil di akhir bulan agustus dari unit wilayah Sako dan unit wilayah Jakabaring, identifikasi vektor dilakukan di laboratorium Parasitologi, sedangkan uji molekuler dilakukan di laboratorium biomolekuler FK Unsri Palembang. Populasi adalah seluruh spesies nyamuk yang ditemukan di unit wilayah Sako dan unit wilayah Jakabaring dengan sampel adalah larva, nyamuk jantan dan betina *Aedes aegypti* serta larva dan nyamuk betina *Aedes albopictus*. Nyamuk dewasa diambil dengan Sentinel Trap sedangkan larva diambil dengan cidukan larva (gamadotik[®]).

Populasi nyamuk di ambil/ditangkap diantara rumah penduduk area antara pekarangan (luar) dan ruang dalam rumah. Sentinel Trap diletakkan pukul 08.00 hingga 10.00, kemudian nyamuk yang terperangkap diambil. Trap lalu di taruh kembali dan dihidupkan mulai pukul 15.00-18.00. Setiap nyamuk yang didapat kemudian di bawa semua untuk di identifikasi di Laboratoium FK Unsri. Nyamuk tersebut dibawa dengan menggunakan *cool box* untuk menjaga agar suhu tetap dingin selama perjalanan. Setelah dilakukan Identifikasi, nyamuk dimasukkan dalam Microtube 1,5 ml dengan menambahkan *RNA later solution*. Bila belum dilakukan ekstraksi nyamuk dalam RNA later tersebut disimpan dalam kulkas -20°C. Ini menjaga agar RNA virus tetap dalam kondisi baik. Larva diciduk menggunakan cidukan larva (gamadotik[®]) dari tempat penampungan air yang berpotensi sebagai tempat perindukan nyamuk genus *Aedes* baik didalam maupun diluar rumah.

Estraksi Total RNA dengan RNA esay mini kit (Qiagen[®]) RNA nyamuk di ekstraksi dengan spin coloumn. Pada penelitian ini digunakan sepasang primer oligonukleotida (Lanciotti) untuk deteksi titik virus dengue : Forward : 5'TTG CAC CCA CAG TCA ATG TCT TCA GGT TC 3', Reverse: 5'TCA ATA TGC TGA AAC GCG CGA GAA ACC G 3'.⁸ Komposisi campuran dengan volume total 25 ul yang digunakan saat melakukan PCR terdiri atas : PCR *mix* One stop RTPCR Qiagen 10ul, DNtp 2 ul primer oligonukleotida *reverse* (R) dan *forward* (F) masing-masing 1 µl, ddH₂O 6 µl, dan RNA cetakan (*template*) 5µl.

Kontrol positif diperoleh dari Balai Besar Litbang Vektor dan Reservoir (B2P2VRP) Salatiga. Program PCR yang digunakan adalah Reverse Transcriptase 50°C : 30 menit; cHot Start /denaturasi awal 94°C : 2 menit sebanyak 1 siklus; denaturasi 94°C : 15 detik, *annealing* 55°C : 30 detik, *extension* 72°C : 1 menit masing-masing sebanyak 40 siklus. Terakhir adalah *final extension* pada 72°C selama 5 menit dan hold pada 4°C. Mesin ditunggu hingga selesai berkerja. Lalu sampel dikeluarkan kemudian dilanjutkan proses elektroforesis dan pemeriksaan pita pada gel doc. Sampel positif bila terdapat gambaran pita pada 511 bp (Lanciotti, et al, 1992).

HASIL PENELITIAN

Penangkapan nyamuk area sako didapatkan sebanyak 14 pool sampel nyamuk terdiri atas 3 pool sampel *Aedes albopictus* dan 11 pool sampel *Aedes aegypti*. Satu pool terdiri atas 10-12 ekor nyamuk/larva.

Tabel 1
Hasil penangkapan Nyamuk dewasa dengan Sentinel Trap Wilayah Sako

No	Letak Trap	Jumlah Trap (N)	Jumlah Nyamuk Dewasa (n)	
			<i>Genus Aedes</i>	<i>Genus Culex</i>
1.	Dalam Ruangan	9	3	58
2.	Luar Ruangan	9	0	80
Total		18	3	138

Hasil pengambilan sampel nyamuk dewasa dengan atraktan berupa kaos kaki habis pakai dan larutan ragi pada area Sako Borang Komplek sangkuriang RT 1 dan 2. Sentinel trap diletakkan didalam dan diluar ruangan. Total masing-masing ada sembilan trap yang diletakkan didalam maupun diluar ruangan dalam tiga tahap pengambilan. Diperoleh sebanyak 138 ekor nyamuk dewasa genus *Culex* dan 3 ekor nyamuk genus *Aedes*. Nyamuk *Genus Culex* tidak diidentifikasi lebih lanjut spesiesnya, dari tiga nyamuk *Genus Aedes* yang ditemukan spesies nya semua *Aedes aegyptie* terdiri atas satu ekor betina dan dua ekor jantan.

Tabel 2
Hasil penangkapan larva wilayah Sako

Lokasi TPA	Jumlah Jenis Larva			
	<i>Genus Aedes</i>	%	<i>Genus Culex</i>	%
Dalam	73	55,34	28	29,16
Luar	59	44,66	68	70,84
Total	132	100%	96	100%

Larva diambil pada tempat penampungan air (TPA) di dalam dan di luar rumah, sebanyak 228 ekor larva yakni 32 larva *Aedes albopictus*, 100 larva *Aedes aegypti* dan 96 ekor larva genus *Culex* serta 50 ekor pupa. Pupa dibiakkan hingga menjadi dewasa. Tidak semua larva instar dan pupa dapat menjadi dewasa dikarenakan mati ketika ditempat pembiakan. selama 1-2 hari pupa yang berhasil menjadi dewasa sebanyak 33 ekor, 4 Nyamuk *A. aegyptie* jantan dan 1 Nyamuk *A. aegyptie* betina semua diambil sebagai sampel. Sisanya sebanyak 28 ekor merupakan nyamuk *Genus Culex*.

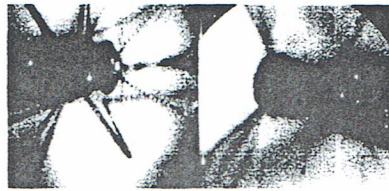
Penangkapan nyamuk area sako didapatkan sebanyak 14 pool sampel nyamuk terdiri atas 5 pool sampel *Aedes albopictus* dan 17 pool sampel *Aedes aegypti*. Semua sampel berasal dari larva dan pupa yang dibiakkan menjadi nyamuk dewasa.

Pengambilan sampel nyamuk dewasa dengan atraktan berupa kaos kaki habis pakai dan larutan ragi pada area Jakabaring (kompleks OPI) dipasang 5 trap semuanya di dalam ruangan, dikarenakan untuk peletakkan diluar ruangan tidak memungkinkan (area lokasi luar tidak banyak pekarangan dan langsung terpapar sinar matahari). Di dalam trap yang dipasang ditemukan 19 nyamuk *Genus Culex* terdiri atas 18 *Culex* betina dan 1 *Culex* jantan. Tidak ditemukan nyamuk dewasa genus *Aedes*.

Tabel 3
Hasil penangkapan larva dan pupa wilayah Jakabaring

Lokasi TPA	Jumlah Jenis Larva			
	<i>Genus Aedes</i>	%	<i>Genus Culex</i>	%
Dalam	84	58,75	8	13,79
Luar	141	41,25	50	86,21
Total	225	100%	58	100%

Larva diambil pada tempat penampungan didalam dan diluar rumah, sebanyak 283 ekor larva (225 ekor larva genus *Aedes* dan 58 ekor larva genus *Culex*). Larva dibiakkan menjadi dewasa. Diperoleh sebanyak 172 Nyamuk *A. aegyptie* dan 53 ekor nyamuk *A. albopictus*.



Gambar 1. Nyamuk Dewasa *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus*



Gambar 2: comb scale pada *Aedes aegyptie* dan *Aedes albopictus*

Metode PCR dengan *Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction* memungkinkan RNA Virus direaksikan menjadi cDNA sehingga bila sampel yang telah dielektroforesis di analisis dalam *gel doc* akan positif bila ditemukan pita atau *band* pada basesphare yang diinginkan.

Sebanyak 36 sampel terdiri atas 28 sampel *Aedes aegypti* dan 8 sampel *Aedes albopictus* yang di elektroforesis tidak memperlihatkan pita pada 511 bp, hal ini berarti belum ditemukan virus dalam tubuh sampel nyamuk tersebut.



Gambar 3: Hasil Pembacaan Elektroforesis Sampel, hasil (-).

PEMBAHASAN

Culex merupakan nyamuk yang hampir sebagian besar ditemukan pada pengambilan sampel dengan odor sentinel trap. Pada penelitian yang dilakukan *page's et al* (2009) dengan metode pengambilan sampel dengan cara yang sama selama 15 hari, nyamuk yang mendominasi adalah nyamuk *culex* sebanyak 5642 dari total seluruh nyamuk yang ditangkap sebanyak 10.605 nyamuk, untuk nyamuk *Aedes* sendiri ditemukan sebanyak 1126 nyamuk (*Page's et al*, 2009). Begitu juga pada penelitian *Bonilauri et al* (2008) di Italia nyamuk yang paling banyak ditemukan dalam trap adalah Genus *Culex* (*Vazeille, et al*, 2007).

Odor Sentinel Trap/ Biogents® selektif untuk nyamuk *Culex* dan *Aedes*. Trap diletakkan pada area yang tidak tembus cahaya matahari langsung/angin memiliki tempat hinggap nyamuk dan area yang lembab dekat dengan lokasi perindukkan/tempat penampungan.

Sampel diambil pada akhir agustus, musim kemarau dimana suhu cuaca tinggi. Pada suhu rendah kelembaban tinggi seperti pada musim penghujan populasi nyamuk akan meningkat pesat, sehingga meningkatkan peluang jumlah populasi nyamuk yang terinfeksi virus.

Tidak ditemukan pita pada pemeriksaan elektroforesis pada 511 bp menunjukkan belum ditemukannya keberadaan virus dengue pada sampel yang diambil. Berbeda dengan yang dilakukan *Page's et al* (2009) dari 10.605 nyamuk dengan menggunakan sentinel trap pada area

outbreak chikungunya menemukan hanya 2 pool positif virus chikungunya dari nyamuk genus *Aedes*.

Hasil yang berbeda pada penelitian yang dilakukan oleh Mendez *et al* (2006), perbedaan hasil signifikan ditemukan pada pemeriksaan virus dengue pada nyamuk saat dan sesudah kejadian *outbreak*. Dimana insiden ditemukannya virus menurun setelah kejadian *outbreak*.

Belum ada hubungan yang konsisten antara padat populasi vektor DBD dengan kasus yang terjadi. Pada saat populasi tinggi mungkin kasusnya rendah atau mungkin pada saat populasi vektor rendah justru kejadian kasusnya tinggi. Banyak faktor yang mempengaruhi penularan DBD antara lain: kerentanan nyamuk, umur nyamuk, jarak terbang nyamuk, keaktifan nyamuk, populasi nyamuk, keberadaan virus pada nyamuk, kepadatan hunian, keragaman tipe virus dan kerentanan populasi terhadap infeksi virus (Heriyanto, 1999 dan Sukowati, 2007).

DAFTAR PUSTAKA

Biogents Sentinel Trap (BG-Sentinel), available at www.bg-sentinel.com.

Dinas Kesehatan Kota Palembang. (2016). *Angka Kejadian Demam Berdarah Dengue tahun 2015*. Laporan Tahunan. Kasubdin PP-PL Palembang.

Heriyanto, B. (1999). *Modifikasi Cara Pemberantasan Penyakit DBD di Daerah Endemis*. Jakarta: BPPK. Depkes RI; H. 47-63.

Jacob. A., Pijoh. V. D., dan G. J. P. Wahongan. (2007). Ketahanan Hidup dan Pertumbuhan Nyamuk *Aedes spp* pada Berbagai Jenis Air Perindukan. *e-Biomedik*. 2007; 2(3): 1-5.

Kementerian Kesehatan RI, Dirjen PP & PL, (2010). *Peraturan Menteri Kesehatan RI tentang Pengendalian Vektor*. Nomor: 374/Menkes/PER/III/2010

Kuno G, Gwong-Jen JC., Richard K, Tsuchiya, Karabatsos N And Cropp CB. 1998. Phylogeny of the Genus *Flavivirus*. *Journal of Virology*. Vol 72 No 1. Page :73-83.

Lanciotti, RS., Calisher CH, Gubler D Chang G, and vorndam VA. (1992). *Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction*. Vol. 30, No. 3 page : 545-551.

Méndez F, Barreto M, Arias Jf., Rengifo G, Muñoz J., Burbano M And Parra B. (2006). Human And Mosquito Infections By Dengue Viruses During And After Epidemics In A Dengue-Endemic Region Of Colombia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 74(4), 2006, pp. 678-683.

Okogun GRA, Nwoke BEB, Okere AN, Anosike JC, Esekhegbe AC. (2003). Epidemiological implications of preferences of breeding sites of mosquito species in midwestern Nigeria. *Ann Agric Environ Med.*; 10: 217-22.

- Page's F, Christophe NP, Me'dard T, Jarjava F, Brisse S, Iteman S, Gravier P, Dieudonne' Nkoghe, Grandadam G. (2009). Aedes albopictus Mosquito: The Main Vector of the 2007 Chikungunya Outbreak in Gabon. *PLoS ONE* 4(3): e4691. doi:10.1371/journal.pone.0004691.
- Schmaljohn A L. & McClain D. (1996). *Alphaviruses (Togaviridae) and Flaviviruses (Flaviviridae) in Medical Microbiology 4th Edition*. Chapter 54.
- Sukowati, S. (2007). Dampak Perubahan Lingkungan Terhadap Penyakit Tular Nyamuk (Vektor) di Indonesia. *Panduan dan Kumpulan Abstrak, Seminar Nasional IV*. Bogor: Perhimpunan Entomologi Indonesia
- Sutanto, Ismid Suhariah Is, Sjarifuddin Pudji K., Sungkar Saleha. (2008). *Parasitologi Kedokteran edisi keempat*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2008. H. 250-253.
- Vazeille M, Moutailler S, Coudrier D, Rousseaux C, Khun H, Huerre M, Thiria J, Dehecq JS, Fontenille J, Schuffenecker I, Despres P, Anna-Bella F. (2007). Two Chikungunya Isolates from the Outbreak of La Reunion (Indian Ocean) Exhibit Different Patterns of Infection in the Mosquito Aedes albopictus. 2007. *PLoS ONE* 2(11): e1168