

Deteksi Molekuler Virus Dengue Serotipe 3 pada Nyamuk *Aedes aegypti* Linnaeus di Wilayah Purwokerto Timur

Priskila Agnesia Prayitno, Endang Srimurni Kusmintarsih, Daniel Joko Wahyono

Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman
Jalan dr Suparno 63 Purwokerto 53122
Email: priskilaagnesia.pa@gmail.com

Rekam Jejak Artikel:

Diterima : 29/08/2019
Disetujui : 03/03/2020

Abstract

Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) is an infectious disease caused by the Dengue virus and transmitted through by bite of *Ae. aegypti*. This mosquito is the main vector transmission of Dengue Virus (DENV) with characteristics of the body and limbs are covered with scales silvery white lines. Mosquitoes are widespread in tropical and subtropical regions, and Purwokerto is an endemic of DHF and at the same time found mosquitoes as the vectors. East Purwokerto is the highest region of DHF cases in Banyumas, and the outbreak was happened in Sokanegara in 2016 until cause death. Based on previous research, the most common Dengue virus found in Purwokerto is serotype 3. Therefore, detection molecular of *Ae. aegypti* need to be carried out to predict of dengue transmission as an preliminary information on the prevention and control of DENV. The purpose of this research is to detect Dengue virus in adult mosquitoes *Ae. Aegypti* as vector of DENV. The research method used is survey method with cross sectional and purposive sampling technique. The analysis has been done on the positivity DENV serotype 3 on mosquitoes based on survey data. The results of the research showed that DENV serotype 3 was not detected in mosquitoes based on entomological survey in East Purwokerto.

Keywords: *aedes aegypti*, dengue hemorrhagic fever, DENV

Abstrak

Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) adalah penyakit menular yang disebabkan oleh virus Dengue dan ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti*. Nyamuk tersebut merupakan vektor utama dalam penularan virus Dengue (DENV) dengan ciri khas tubuh dan tungkainya ditutupi sisik dengan garis-garis putih keperakan. Persebarannya luas di daerah tropis dan subtropis, Purwokerto termasuk daerah endemis DBD dan sekaligus ditemukan nyamuk sebagai vektornya. Kecamatan Purwokerto Timur menempati urutan tertinggi dari banyaknya kejadian DBD di wilayah Banyumas, bahkan kejadian luar biasa (KLB) yang terjadi di Kelurahan Sokanegara pada tahun 2016 hingga menyebabkan kematian. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa virus Dengue yang paling banyak ditemukan di Purwokerto adalah serotipe 3. Oleh karena itu, deteksi molekuler nyamuk *Ae. aegypti* perlu dilakukan berkaitan dengan prediksi penularan Dengue untuk memperoleh informasi awal dalam pencegahan dan pengendalian DENV. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendeteksi virus Dengue serotipe 3 pada nyamuk dewasa *Ae. aegypti* sebagai vektornya. Metode penelitian yang digunakan yaitu metode survei dengan pendekatan secara *cross sectional* dan teknik pengambilan sampel *purposive*. Analisis data survei dilakukan dengan melihat positivities DENV serotipe 3 pada nyamuk. Hasil penelitian menunjukkan DENVserotipe 3 tidak terdeteksi pada nyamuk yang di sampling di Purwokerto Timur.

Kata kunci : *Aedes aegypti*, Demam Berdarah Dengue, DENV

PENDAHULUAN

Demam Berdarah Dengue (DBD) masih menjadi masalah kesehatan di Indonesia yang perlu mendapat perhatian serius karena di beberapa daerah masih sering terjadi kejadian luar biasa (Sunaryo & Pramestuti, 2014). Penularan demam berdarah terjadi melalui gigitan nyamuk *Ae aegypti* sebagai vektornya. Penyebaran penyakit ini sangat cepat terutama di daerah tropis maupun subtropis (Dinkes, 2014). Menurut Depkes RI (2002), data dari seluruh dunia menunjukkan bahwa Asia menempati urutan pertama dalam jumlah penderita DBD setiap tahunnya, dan *World Health Organization* (WHO) mencatat negara Indonesia sebagai negara dengan kasus DBD tertinggi di Asia

Tenggara. Penyakit DBD pertama kali ditemukan di Surabaya pada tahun 1968 dan sejak saat itu penyakit tersebut menyebar ke berbagai daerah, hingga sampai saat ini seluruh provinsi di Indonesia telah terjangkit penyakit DBD (Latifa, *et al.*, 2013). Penyakit DBD dapat muncul sepanjang tahun dan dapat menyerang seluruh kelompok umur, karena penyakit ini berkaitan dengan kondisi lingkungan dan perilaku masyarakat (Kanigia *et al.*, 2016).

Kabupaten Banyumas merupakan salah satu daerah endemis demam berdarah dengue (DBD) di Jawa Tengah berdasarkan pengelompokkan endemisitas wilayah yaitu dalam 3 tahun terakhir selalu ditemukan kasus DBD (Depkes, 2002). Jumlah kasus DBD di Kecamatan Purwokerto

Timur pada tahun 2016 ditemukan sebanyak 60 kasus dengan 13 kasus kematian yang salah satunya terjadi di Kelurahan Sokanegara. Tiga Kelurahan di Kecamatan Purwokerto Timur termasuk dalam daerah endemis yaitu Kelurahan Arcawinangun, Kelurahan Sokanegara dan Kelurahan Kranji berdasarkan adanya kasus DBD tiap tahunnya. Saat ini vaksin dan obat DBD masih dalam proses penelitian dan belum ditemukan vaksin yang efektif. Oleh karena itu, upaya pengendalian DBD yang tepat adalah dengan pemutusan rantai penularan melalui pengendalian vektornya dengan mengurangi populasi nyamuk serta menghindari gigitan nyamuk (Arifudin, 2016).

Penelitian mengenai kasus DBD sudah pernah dilakukan pada tahun 2016 di Kabupaten Banyumas wilayah Purwokerto Timur, namun parameter yang diteliti tidak mengacu pada deteksi molekuler melainkan hanya dilihat berdasarkan kondisi lingkungannya seperti jumlah kepadatan rumah, kebiasaan menggantung pakaian, serta ruangan gelap di setiap rumah. Parameter tersebut diteliti untuk menentukan kondisi lingkungan yang menjadi penyebab kejadian DBD berdasarkan Kejadian Luar biasa (KLB) yang terjadi. Penelitian ini menitik beratkan pada deteksi molekuler virus Dengue pada *Ae. aegypti* yang merupakan vector utama penyakit ini sebagai informasi awal untuk penelusuran penularan DBD.

Pengamatan nyamuk *Ae. aegypti* sangat penting terutama untuk mengetahui penyebaran, kepadatan dan habitat utama larva. Berbagai macam metode dapat dilakukan untuk mendeteksi DENV dan salah satunya adalah metode molekuler. Salah satu metode yang banyak diaplikasikan dan telah berkembang saat ini adalah metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan alat *Thermal Cycler* yang mampu melipat gandakan (amplifikasi) fragmen DNA dan cDNA. Pada saat melakukan deteksi molekuler DENV dengan metode *Reverse-Transcriptase Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) diperlukan enzim *reverse-transcriptase* untuk mengubah genom RNA DENV menjadi cDNA. Primer adalah suatu sekuen oligonukleotida pendek yang berfungsi mengawali sintesis rantai DNA dalam reaksi berantai polymerase (Yuwono, 2006).

Nested PCR merupakan variasi dari PCR yang menggunakan dua pasang *primer* untuk mengamplifikasi fragmen DNA. Pasangan *primer* pertama mengamplifikasi fragmen DNA dengan cara kerja yang mirip dengan PCR pada umumnya, sedangkan pasangan *primer* kedua atau *nested primer* akan mengamplifikasi fragmen DNA dari produk PCR pertama sehingga hasil fragmen yang diperoleh lebih pendek daripada yang pertama. Kelebihan menggunakan *nested* PCR adalah jika terdapat fragmen yang salah teramplifikasi maka kemungkinan bagian tersebut diamplifikasi untuk kedua kalinya oleh *primer* yang kedua sangat

rendah, oleh karena itu *nested* PCR lebih spesifik dalam melakukan amplifikasi (Yusuf, 2010).

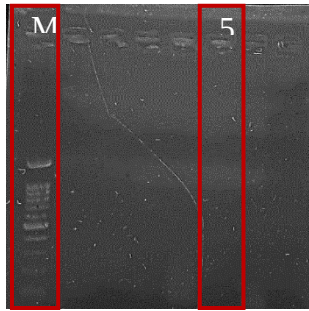
MATERI DAN METODE

Bahan-bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini antara lain nyamuk *Ae. aegypti*, Purelink Viral DNA/RNA Mini Kit, 100bp DNA Ladder, TAE Buffer (Tris Acetat EDTA), SuperScriptIII First-strand synthesis system for RT-PCR (Invitrogen), My Taq PCR kit Bioline, Sybr Safe DNA Gel Stain, Agarosa 1.5%, DEPC, RNase free water, dan ethanol absolut. Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian ini antara lain eppendorf 1.5 ml, *viral spin column*, *collection tube*, *sentrifuge*, inkubator, mikropipet, 10 µl Racked Extended Length Filtered Vertex Tips, 200 µl Racked Filtered Vertex Tips Natural Graduated, 1000 µl Racked Filtered Vertex Tips Natural Graduated, 0.2 ml PCR tube, mesin *thermal cycle*, vortex, perangkat elektroforesis, dan UV *Transilluminator* (ChemiDoc, Bio-Rad).

Metode penelitian yang akan digunakan adalah metode survei dengan pendekatan secara *cross sectional* dan teknik pengambilan *purposive* sampel di wilayah Kecamatan Purwokerto Timur. Variabel utama pada penelitian ini adalah hasil deteksi positivitas virusnya. Parameter yang di amati adalah positivitas DENV serotype 3 pada nyamuk. Analisis data hasil positivitas virus Dengue pada nyamuk dengan metode *Nested* RT-PCR dengan menghitung persentase kemunculan pita cDNA DENV dari jumlah sampel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil identifikasi virus DENV-3 di tiga Kelurahan pada Kecamatan Purwokerto Timur, Kabupaten Banyumas, yaitu di Kelurahan Arcawinangun, Kelurahan Kranji dan Kelurahan Sokanegara dengan metode *nested* RT-PCR menunjukkan hasil yang negatif DENV-3, karena tidak ditemukan adanya amplikon cDNA yang berukuran 538 pb pada elektroforesis gel Agarosa 1,5 % (Gambar 1). Beberapa faktor dapat mempengaruhi hasil yang negatif, antara lain seperti kurangnya jumlah nyamuk yang diuji dan titer virus yang tidak mencukupi sehingga tidak terdeteksi oleh RT-PCR seperti pada penelitian yang telah dilakukan oleh Sari., *et al.* (2012) serta kemungkinan lain bahwa nyamuk yang diuji memang tidak membawa virus Dengue. Teknik *Nested* RT-PCR dikembangkan untuk sejumlah virus dengan genom RNA dan berpotensi untuk menjadi alternatif diagnosis laboratorium. Proses RT-PCR dalam penelitian ini menggunakan two-steps RT-PCR, yaitu reaksi RT dan reaksi siklus PCR dilakukan secara terpisah. Pertama adalah pengubahan RNA virus menjadi cDNA, kemudian tahap kedua adalah amplifikasi cDNA virus dengan primer spesifik untuk keempat serotipe virus Dengue (Yang et al, 2008).



Gambar 1. Hasil deteksi DENV-3 pada nyamuk *Ae. Aegypti* dengan metode *nested* RT-PCR pada gel Agarosa 1,5%.

Keterangan : Sumuran M = marka DNA 100 pb, sumuran nomor 1-4 = DENV tipe lain, Sumuran no. 5 = DENV-3 negatif.

Transmisi virus Dengue dapat ditularkan selama kegiatan sekolah karena sebagian besar waktu pagi dihabiskan di sekolah, terlebih pukul 08.00-10.00 merupakan waktu yang ideal bagi nyamuk. Kemungkinan lain juga dapat terjadi apabila penduduk tersebut mendapat gigitan nyamuk yang bukan berasal dari wilayah asalnya, melainkan nyamuk dari daerah lain yang telah berpindah (Agustiningtyas & Lusiyan, 2017). Mobilitas tinggi dan populasi penduduk yang padat juga diduga menjadi penyebab adanya kasus DBD (Prasetyowati & Astuti, 2010). Sehingga kasus demam berdarah masih dapat terjadi meskipun kehadiran virus Dengue negatif (Agustiningtyas & Lusiyan, 2017).

Penyakit DBD merupakan salah satu penyakit dengan peningkatan dan penyebaran kasus yang sangat kompleks, meliputi (1) Adanya pertumbuhan penduduk yang semakin tinggi, (2) Urbanisasi yang tidak terencana & tidak terkendali, (3) Kurang adanya bahkan ketidakadaan kontrol vektor nyamuk yang efektif di daerah endemis, dan (4) Peningkatan jumlah sarana transportasi yang tinggi. Morbiditas dan mortalitas infeksi virus dengue dipengaruhi berbagai faktor antara lain status imunitas pejamu, kepadatan vektor nyamuk, transmisi virus dengue, keganasan (virulensi) virus dengue, dan kondisi geografis setempat

SIMPULAN

Berdasarkan hasil deteksi molekuler dengan metode *Nested* RT-PCR menunjukkan virus Dengue (DENV) serotipe 3 tidak terdeteksi pada nyamuk *Ae. Aegypti* dewasa asal wilayah Purwokerto Timur.

DAFTAR REFERENSI

Agustiningtyas, I. & Lusiyan, N. 2017. Ovitrap survey and serotype identification of dengue virus on *Aedes* sp mosquito in Potorono, Banguntapan, Bantul, Indonesia. *International Journal of Mosquito Research*, 4(5), pp. 32-3

- Arifudin M, Adrial, Rusjdi R.S. 2015. Survei Larva Nyamuk *Aedes* Vektor Demam Berdarah Dengue di Kelurahan Kuranji Kecamatan Kuranji Kotamadya Padang Provinsi Sumatera Barat. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 5 (1), pp. 60-66
- Depkes, RI. 2002. Modul Epidemiologi. Kedokteran EGC. Jakarta
- Dinkes. 2014. *Profil Kesehatan Provinsi Jawa Tengah*. pp 35-36
- Kanigia, T. E., Cahyono, T. & Gunawan, T. A. 2016. Faktor-Faktor yang Berisiko dengan Kejadian Demam Berdarah Dengue di Kecamatan Purwokerto Timur Kabupaten Banyumas. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*, 36, pp. 278-396.
- Latifa, K. N., Arusyid, W. B., Iswidaty, T. & Sutningsih, D. 2013. Pengaruh Ovitrap Sebagai Monitoring Keberadaan Vektor *Aedes* sp di Kelurahan Bulusan Kecamatan Tembalang Kota Semarang. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa*, 1(3), pp. 26-29.
- Prasetyowati H, & Astuti E.P. 2010. Serotipe Virus Dengue di Tiga Kabupaten/Kota Dengan Tingkat Endemisitas DBD Berbeda di Propinsi Jawa Barat. *Aspirator*, 2(2), pp. 120-124
- Sari, T. F., Joharina, A. S. & Anggraini, Y. M. 2012. *Identifikasi Serotipe Virus Dengue pada Nyamuk A.aegypti & A.albopictus di Salatiga dengan Metode RT-PCR*. Salatiga: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit.
- Sunaryo, I.B.D.P.N. 2014. Distribusi Spasial Demam Berdarah Dengue di Kabupaten Banyumas, Provinsi Jawa Tengah. *Bersumber Binatang Banjarnegara (BALABA)*, 10(1), pp. 1-8.
- Yang, D., Kweon, C., Kim, B., Lim, S., Kim, S., Kwon, J., & Han, H. 2008. TaqMan Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction for The Detection of Japanese encephalitis Virus. *Journal of Veterinary Science*, 5(4), pp. 345-351.
- Yusuf, Z. K. 2010. Polymerase Chain Reaction. *Saintek*, 5(6).
- Yuwono, T. W. 2006. *Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction*. Yogyakarta: ANDI offset.