

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Penyakit tular vektor masih menjadi beban masalah kesehatan masyarakat di dunia terutama di negara-negara beriklim tropis dan subtropis <sup>(1)</sup>. Nyamuk *Aedes aegypti* merupakan vektor utama penular infeksi *dengue* dan Zika serta vektor pendukung penular infeksi chikungunya <sup>(2)</sup>.

Virus *dengue* diperkirakan telah menginfeksi 390 juta orang per tahun di 128 negara di dunia, termasuk Indonesia <sup>(3, 4)</sup>. Angka insidensi penyakit demam berdarah *dengue* (DBD) pada tahun 2015 di Indonesia mengalami peningkatan dan mencapai 50,75 per 100.000 penduduk dengan angka kematian sebesar 0,83% <sup>(5)</sup>. Kasus infeksi *dengue* di Provinsi Jawa Tengah menempati urutan kedua secara nasional dengan *incident rate* (IR) DBD sebesar 48,55 per 100.000 penduduk dan *case fatality rate* (CFR) 1,56% <sup>(5)</sup>.

Virus Zika yang juga ditularkan melalui nyamuk *Ae. aegypti* sedang menjadi perhatian dunia karena penyebaran lokal penyakit tersebut telah dilaporkan di beberapa negara <sup>(6)</sup>. Negara-negara di Pasifik pernah melaporkan deteksi Zika pada tahun 2007 dan 2013 <sup>(7-10)</sup>. Infeksi Zika juga dilaporkan di Brazil, Kolombia, Cabo Verde, El Salvador, Martinique serta Panama dan lebih dari 13 negara di benua Amerika pada tahun 2015 <sup>(6)</sup>. Virus Zika yang dilaporkan di benua Asia terdeteksi dari India, Thailand, Taiwan, Maladewa dan Indonesia <sup>(11)</sup>. Indonesia telah melaporkan kasus infeksi Zika di Provinsi Jawa Tengah pada tahun 1977 dan 1978 <sup>(12)</sup> menyusul di Jakarta <sup>(13)</sup>, Bali <sup>(14)</sup> dan Jambi <sup>(15)</sup> pada tahun 2015.

Upaya penanggulangan penyakit tular vektor telah banyak dilakukan dengan mengendalikan populasi vektor yang berisiko bagi masyarakat <sup>(16)</sup>, mengingat vaksin untuk pencegahan penyakit belum beredar dan pengobatan spesifik belum tersedia <sup>(17)</sup>. Pengendalian vektor di Indonesia dilakukan secara terpadu dengan metode pengendalian secara fisik atau mekanis, penggunaan agen biotik dan pengendalian secara kimia menggunakan insektisida <sup>(16, 18)</sup>. Namun penggunaan insektisida dalam kegiatan pengendalian vektor telah memberikan dampak negatif

terhadap kesehatan manusia dan pencemaran lingkungan, serta timbulnya resistensi vektor terhadap beberapa golongan insektisida yang telah dilaporkan secara luas di dunia termasuk Indonesia <sup>(19, 20)</sup>.

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya *Ae. aegypti* di Provinsi Jawa Tengah terbukti telah mengalami resistensi insektisida golongan organofosfat <sup>(21-23)</sup>, karbamat <sup>(23)</sup> dan piretroid <sup>(21-24)</sup>. Resistensi vektor terjadi akibat perubahan genetik yang diwariskan suatu generasi atau akibat seleksi alam yang dipengaruhi oleh alel *knockdown resistance* yang bersifat dominan, intermediet maupun resesif <sup>(25)</sup>. Pewarisan sifat resistensi terhadap deltametrin pada populasi nyamuk *Ae. aegypti* telah diteliti di Kuba pada tahun 2014 dengan metode perkawinan silang <sup>(26)</sup>. Hasil penelitian tersebut mengindikasikan bahwa resistensi deltametrin pada *Ae. aegypti* diturunkan secara autosomal dengan sifat intermediet.

Resistensi pada nyamuk *Ae. aegypti* serta spesies vektor lain dapat terjadi melalui dua mekanisme antara lain melalui mekanisme peningkatan detoksifikasi metabolik terhadap insektisida yang melibatkan gen *cytochrome* P450s (CYP450s), *esterases* serta *glutathione s-transferases* (GSTs) dan mekanisme yang kedua melalui penurunan sensitifitas protein target terhadap insektisida atau disebut dengan insensitifitas situs target yang melibatkan titik mutasi pada *sodium channel*, *acetylcholinesterase* serta reseptor  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) <sup>(27, 28)</sup>. Penelitian resistensi vektor melalui dua mekanisme tersebut secara molekuler telah banyak dilakukan di berbagai negara. Salah satu studi resistensi vektor terhadap insektisida melalui insensitifitas situs target *sodium channel* di Asia Tenggara, Kepulauan Karibia dan Amerika Latin menunjukkan bahwa *Ae. aegypti* telah mengalami resistensi insektisida golongan piretroid yang terdeteksi pada kodon 923 <sup>(29)</sup>, 982 <sup>(29)</sup>, 989 <sup>(30-32)</sup>, 1011 <sup>(29, 33, 34)</sup>, 1016 <sup>(30-40)</sup>, 1023 <sup>(41)</sup>, 1269 <sup>(35)</sup>, 1552 <sup>(42)</sup>, 1534 <sup>(30, 32, 36, 38, 39, 43)</sup> dan 1794 <sup>(41)</sup>.

Insektisida jenis *dichlorodiphenyltrichloroethane* (DDT) dan golongan piretroid merupakan insektisida yang menekan gen *voltage-gated sodium channel* (VGSC) sehingga mencegah penutupan gerbang secara normal yang dapat mengganggu sistem saraf serta menyebabkan gerakan in-koordinasi pada serangga

dan terjadinya suatu perubahan struktur *sodium channel* dalam bentuk mutasi gen VGSC dikarenakan adanya polimorfisme alel *knockdown resistance* (kdr) <sup>(27, 43)</sup>.

Mutasi kdr yang menyebabkan substitusi dari Leusin menjadi Fenilalanin pada segmen ke-enam domain II (IIS6) gen VGSC merupakan substitusi pertama yang terdeteksi pada lalat *Musca domestica* dan kecoa *Blatella germanica* yang resisten terhadap insektisida piretroid <sup>(44)</sup>. Mutasi kdr juga terdeteksi pada spesies nyamuk, empat diantaranya terjadi substitusi dari Leu menjadi Phe/Cys/Ser/Trp (L1014 F/C/S/W), Ile menjadi Met/Val (I1011M/V), Val menjadi Gly (V1016G) dan Phe menjadi Cys (F1534C) yang telah teridentifikasi pada dua atau lebih spesies galur nyamuk <sup>(45)</sup>. Substitusi Ser menjadi Pro (S989P), Ile menjadi Met/Val (I1011M/V), Leu menjadi Phe/Ser (L1014F/S), Val menjadi Gly/Ile (V1016G/I), Phe menjadi Cys (F1534C) dan Asp menjadi Tyr (D1763Y) telah teridentifikasi secara fungsional melalui sistem ekspresi *xenopus-oocyte* <sup>(45)</sup>. Terjadinya kombinasi berbagai mutasi kdr diidentifikasi sebagai faktor utama munculnya *co-conferring* fenotip pada nyamuk berupa resistensi terhadap insektisida <sup>(28)</sup>.

## **B. Perumusan Masalah**

Insektisida piretroid telah lama digunakan untuk pengendalian vektor baik sebagai senyawa aktif yang digunakan dalam pengendalian program kesehatan maupun insektisida rumah tangga <sup>(46, 47)</sup>. Resistensi insektisida piretroid di Provinsi Jawa Tengah dilaporkan sejak tiga belas tahun yang lalu dan mengkonfirmasi terjadinya *knockdown resistance* (kdr) pada nyamuk *Ae. aegypti* <sup>(29)</sup>.

Piretroid merupakan salah satu golongan insektisida yang menarget terjadinya perubahan genetik dalam tubuh serangga resisten, yang salah satunya berupa insensitifitas saraf <sup>(27)</sup>. Beberapa mutasi kdr *Ae. aegypti* yang telah diidentifikasi terjadi perubahan genetik pada *sodium channel* antara lain Glisin menjadi Valin pada kodon 923 <sup>(29)</sup>, Leusin menjadi Triptofan pada kodon 982 <sup>(29)</sup>, Serin menjadi Prolin pada kodon 989 <sup>(30-32)</sup>, Isoleusin menjadi Metionin pada kodon 1011 <sup>(29, 33)</sup>, Isoleusin menjadi Valin pada kodon 1011 <sup>(34)</sup>, Valin menjadi

Glisin pada kodon 1016<sup>(30-32, 35-37)</sup> dan 1023<sup>(41)</sup>, Valin menjadi Isoleusin pada kodon 1016<sup>(33, 34, 38-40)</sup>, Fenilalanin menjadi Sistein pada kodon 1269<sup>(35)</sup>, 1552<sup>(42)</sup>, dan 1534<sup>(30, 32, 36, 38, 39, 43)</sup> serta Aspartat menjadi Tirosin pada kodon 1794<sup>(41)</sup>.

Studi resistensi *Ae. aegypti* terhadap insektisida piretroid telah dilakukan di Provinsi Jawa Tengah dan menunjukkan polimorfisme S989P<sup>(32)</sup>, F1534C<sup>(32)</sup> dan V1016G<sup>(32, 37)</sup>. Hasil tersebut menjadi indikator penting (penanda molekuler) guna memantau resistensi insektisida piretroid. Hal ini sesuai dengan temuan mutasi kdr yang banyak terjadi di Asia Tenggara dan Amerika Latin. Perubahan genetik pada kodon 1016 menunjukkan variasi lokus perubahan Val menjadi Gly terjadi di Asia Tenggara<sup>(30-32, 35-37)</sup> sedangkan Val menjadi Ile hanya ditemukan di Amerika Latin<sup>(33, 34, 38, 39)</sup>. Hal ini mengindikasikan bahwa letak geografis berhubungan dengan variasi perubahan genetik.

Topografi suatu tempat terkait dengan temperatur dan kelembapan udara dapat mempengaruhi kemampuan hidup *Ae. aegypti*. Terjadinya pemanasan global dan cuaca ekstrim yang menyebabkan peningkatan temperatur di bumi, memberikan peluang bagi nyamuk untuk memperluas wilayah habitatnya hingga dataran tinggi<sup>(48)</sup>. Penelitian di Meksiko dan Indonesia membuktikan bahwa *Ae. aegypti* saat ini dapat dijumpai di daerah dengan ketinggian lebih dari 1000 meter di atas permukaan laut<sup>(49-51)</sup>. Hal ini merupakan fenomena menarik untuk dikaji lebih lanjut terkait dengan polimorfisme V1016G pada gen VGSC *Ae. aegypti* yang berhubungan dengan kejadian resistensi terhadap insektisida golongan piretroid.

Penelitian mengenai alel kdr kodon 1016 gen VGSC pada populasi *Ae. aegypti* terkait dengan resistensi insektisida piretroid selanjutnya dirumuskan pertanyaan “**Bagaimana keberadaan alel *knockdown resistance* 1016G pada populasi *Aedes aegypti* strain dataran tinggi?**”

Berdasarkan pertanyaan umum maka disusun pertanyaan khusus sebagai berikut:

1. Bagaimana status kerentanan populasi *Ae. aegypti* dari daerah endemis DBD di dataran tinggi terhadap insektisida piretroid?

2. Apakah alel *knockdown resistance* 1016G ditemukan pada populasi *Ae. aegypti* strain dataran tinggi?
3. Bagaimana variasi genotip kodon 1016 pada populasi *Ae. aegypti* strain dataran tinggi?

### **C. Tujuan Penelitian**

#### 1. Tujuan Umum

Menganalisis keberadaan alel *knockdown resistance* 1016G pada populasi *Ae. aegypti* strain dataran tinggi.

#### 2. Tujuan Khusus

- a. Menganalisis status kerentanan populasi *Ae. aegypti* dari daerah endemis DBD di dataran tinggi terhadap insektisida piretroid,
- b. Menganalisis alel *knockdown resistance* 1016G yang ditemukan pada populasi *Ae. aegypti* strain dataran tinggi,
- c. Menganalisis variasi genotip kodon 1016 pada populasi *Ae. aegypti* strain dataran tinggi.

### **D. Manfaat Penelitian**

#### 1. Manfaat praktis (masyarakat, pelaksana, institusi kesehatan)

Informasi mengenai mutasi gen VGSC kodon 1016 pada populasi *Ae. aegypti* dari daerah endemis DBD di dataran tinggi Provinsi Jawa Tengah sebagai bukti kepada masyarakat bahwa perlunya menggunakan insektisida secara lebih bijaksana serta sebagai masukan bagi pelaksana program pengendalian vektor dalam menentukan kebijakan penggunaan insektisida dan sebagai rekomendasi kajian berkala bagi institusi kesehatan untuk menganalisis mekanisme resistensi vektor.

#### 2. Manfaat teoritis dan metodologis

Informasi mutasi gen VGSC kodon 1016 pada populasi *Ae. aegypti* dari daerah endemis DBD di dataran tinggi Provinsi Jawa Tengah sebagai acuan untuk mengetahui mekanisme resistensi insektisida piretroid dan status resistensi insektisida yang terjadi di Indonesia.

## E. Keaslian Penelitian (*Originalitas*)

Resistensi mengenai insektisida piretroid yang dideteksi pada gen VGSC nyamuk *Ae. aegypti* telah banyak dilaporkan oleh beberapa negara di dunia. Namun deteksi mekanisme resistensi kodon 1016 pada *Ae. aegypti* strain dataran tinggi dengan metode *Allele-Specific* PCR belum banyak dilaporkan terutama di Indonesia.

Tabel 1.1 Daftar Publikasi yang Menjadi Rujukan

No.	Peneliti (Tahun)	Judul	Desain Studi	Variabel	Hasil
1.	Linss <i>et al.</i> (2014)	Distribution and dissemination of the Val1016Ile and Phe1534Cys kdr mutations in <i>Aedes aegypti</i> Brazilian natural populations.	<i>Cross Sectional</i>	- Distribusi mutasi kdr - Diseminasi mutasi kdr	Mutasi kdr di Brazil pada Phe1534Cys. Distribusi alel kdr NaV <sup>R1</sup> (semua daerah), NaV <sup>R2</sup> (Tenggara, Tengah), Lokasi sampel satu dekade menunjukkan peningkatan frekuensi mutasi kdr.
2.	Martins <i>et al.</i> (2013)	Evidence for gene duplication in the voltage-gated sodium channel gene of <i>Aedes aegypti</i> .	<i>Cross Sectional</i>	- Gen VGSC - Resistensi insektisida	Mutasi kdr di kodon 1011 dan 1016 hanya menemukan rangkaian <i>type 'A'</i> , tetapi tidak berada di haplotipe yang sama. Tidak ada homozigot (1011Met/Met) yang terdeteksi. Strain laboratorium yang resisten insektisida memiliki 5 kali lipat lebih banyak salinan gen VGSC dibandingkan dengan yang rentan.
3.	Stenhouse <i>et al.</i> (2013)	Detection of the V1016G mutation in the voltage-gated sodium channel gene of <i>Aedes aegypti</i> (diptera: <i>Culicidae</i> ) by Allele-Specific PCR assay, and its distribution and effect on deltamethrin resistance in Thailand.	<i>Cross Sectional</i>	- Distribusi deltametrin - Efek deltametrin - Mutasi V1016G	Mutasi 1016G signifikan dan positif resisten terhadap deltametrin dan terdistribusi secara luas di Thailand. Mutasi 1534C tidak berhubungan dengan resistensi deltametrin.
4.	Harris <i>et al.</i> (2010)	Pyrethroid resistance in <i>Aedes aegypti</i> from Grand Cayman.	<i>Cross sectional</i>	- Resistensi piretroid - Resistensi DDT - Mutasi kdr	Mutasi F1534C sangat berkorelasi dengan resistensi DDT dan permetrin. Mutasi 1016 positif terjadi resistensi permetrin, tetapi tidak terjadi pada DDT.
5.	Li <i>et al.</i> (2015)	Relationship between insecticide resistance and kdr mutations in the dengue vector <i>Aedes aegypti</i> in Southern	<i>Cross sectional</i>	- Resistensi insektisida - Mutasi kdr	Mutasi S989P dan V1016G berkorelasi positif resisten dari kedua piretroid, sedang mutasi F1534C berkorelasi negatif.

No.	Peneliti (Tahun)	Judul	Desain Studi	Variabel	Hasil
6.	Saavedra-Rodriguez <i>et al.</i> (2007)	China. A mutation in the voltage-gated sodium channel gene associated with pyrethroid resistance in Latin American <i>Aedes aegypti</i> .	Cross sectional	- Mutasi gen VGSC - Resistensi insektisida	Didapatkan dua mutasi baru dalam kodon yang sama. Transisi pertama dari kodon 1011 mengkodekan penggantian Val, dan transisi pertama kodon 1016 mengkodekan penggantian Iso.
7.	Widiastuti <i>et al.</i> (2015)	Deteksi mutasi V1016G pada gen voltage-gated sodium channel pada populasi <i>Aedes aegypti</i> (diptera: <i>Culicidae</i> ) di Kabupaten Klaten, Jawa Tengah dengan metode <i>Allele-Specific</i> PCR.	Cross sectional	- Mutasi V1016G - Resistensi insektisida piretroid	Didapatkan 22,7% nyamuk belum mutasi (V/V), 59,1% nyamuk mutasi heterozigot (V/G) dan 18,2% nyamuk mutasi homozigot (G/G). Terjadi resistensi populasi <i>Ae. aegypti</i> terhadap insektisida sintetik piretroid yang disebabkan mekanisme <i>knockdown resistance</i> .
8.	Sayono <i>et al.</i> (2016)	Distribution of voltage-gated sodium channel (NaV) alleles among the <i>Aedes aegypti</i> populations in Central Java Province and its association with resistance to pyrethroid insecticides.	Cross sectional	- Distribusi alel VGSC - Resistensi insektisida piretroid	Terdapat 8 AaN <sub>a</sub> V alel yang diamati pada spesimen dari Jawa Tengah. Polimorfisme alel 989P, 1016G dan 1534C pada gen AaN <sub>a</sub> V berpotensi sebagai penanda molekuler resistensi insektisida piretroid.
9.	Brengues <i>et al.</i> (2003)	Pyrethroid and DDT cross-resistance in <i>Aedes aegypti</i> is correlated with novel mutations in voltage-gated sodium channel gene.	Cross sectional	- Resistensi silang piretroid dan DDT - Mutasi gen VGSC	Didapatkan tiga <i>silent</i> polimorfisme pada posisi nukleotida 164 (A/G), 194 (C/T) dan 227 (A/G). Strain Vietnam (Leu-Trp), strain Brazil (Ile-Met) dan (Gly-Val), strain Indonesia dan Thailand (Val-Gly), strain Martinique dan Guyane memiliki mutasi yang sama dengan strain Brazil.
10.	Kawada <i>et al.</i> (2014)	Co-occurrence of point mutations in the voltage-gated sodium channel of pyrethroid-resistant <i>Aedes aegypti</i> populations in Myanmar.	Cross sectional	- Mutasi gen VGSC - Resistensi piretroid	Tidak terdapat mutasi pada kodon I1011 dan L1014, tetapi didapatkan mutasi pada kodon V1016G, S989P dan F1534C untuk larva <i>Ae. aegypti</i> .
11.	Kawada <i>et al.</i> (2009)	Widespread distribution of a newly found point mutation in voltage-gated sodium channel in pyrethroid-resistant <i>Aedes aegypti</i> populations in vietnam.	Cross sectional	- Distribusi mutasi VGSC - Resistensi piretroid	Tidak didapatkan mutasi pada kodon I1011M atau I1011V dan juga L1014F. Didapatkan mutasi pada kodon V1016G, F1269C, di dataran tinggi F1269C kerentanan piretroid rendah.
12.	Ishak <i>et al.</i> (2015)	Contrasting patterns of insecticide resistance and	Cross sectional	- Resistensi insektisida	Terdeteksi F1534C dan mutasi V1016G sebagai

No.	Peneliti (Tahun)	Judul	Desain Studi	Variabel	Hasil
		(kdr) in the dengue vectors <i>Aedes aegypti</i> and <i>Aedes albopictus</i> from Malaysia.			pada <i>Ae. aegypti</i> di Malaysia.

