BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

A. *Aedes aegypti*

Klasifikasi *Aedes aegypti* antara lain merupakan golongan *Animalia*, filum *Arthropoda*, kelas *Insekta*, ordo *Diptera*, famili *Culicidae*, genus *Aedes* dan spesies *Aedes aegypti* [52].

1. Morfologi

   a. Stadium Telur

   Ae. aegypti betina dalam sekali bereproduksi dapat meletakkan telurnya sebanyak 50-120 telur pada kontainer berupa vas bunga, tempat penampungan air, ban bekas dan lain-lain [53]. Kondisi lingkungan yang hangat dan lembap mendukung telur *Ae. aegypti* untuk menetas setelah 48 jam namun pada kondisi yang kering telur dapat bertahan hingga delapan bulan [53, 54].

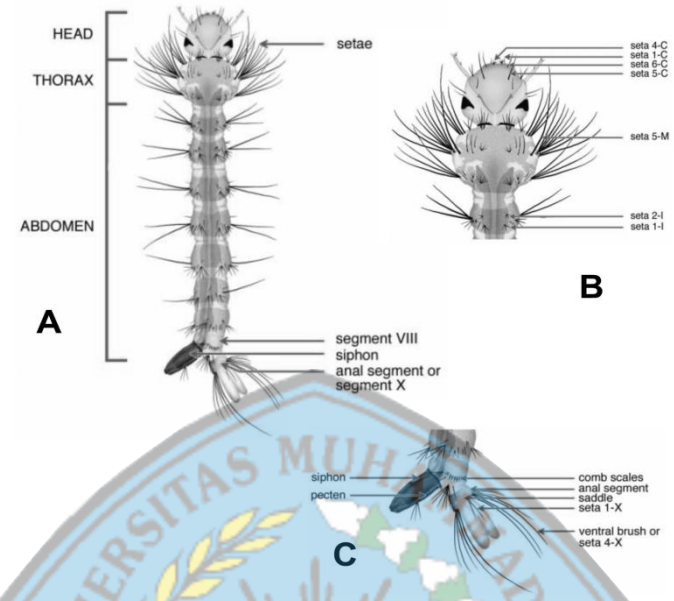
   Telur *Ae. aegypti* yang diletakkan satu persatu menempel pada tempat perindukan biasanya berwarna gelap atau hitam akibat dari proses oksidasi dan bentuk telur relatif oval yang pada dinding telur apabila diamati tampak suatu ornamen berbentuk seperti anyaman [55].

   b. Stadium Larva

   Larva *Ae. aegypti* terdiri dari kepala, toraks dan abdomen yang pada ujung abdomen terdapat sifon sehingga ekor tampak bercabang [55, 56]. Perkembangan larva *Ae. aegypti* terjadi melalui empat tingkat (instar) yang membutuhkan waktu sekitar 5-8 hari [53]. Durasi perkembangan larva tergantung pada suhu, ketersediaan makanan dan kepadatan larva dalam suatu wadah atau kontainer [53]. Larva stadium I (instar I) melakukan tiga kali pengelupasan kulit (*moulting*), kemudian dari larva instar I menjadi larva instar II, instar III dan instar IV yang dapat berukuran hingga 5 mm dengan ciri khusus larva instar IV antara lain adanya pelana yang terbuka pada segmen anal, terdapat sifon pada segmen ke-8 dan sifon memiliki sepasang *ventral tuft* yang dilengkapi dengan *pectin*, serta pada segmen ke-8 juga

Repository.Unimus.ac.id

terdapat 8-21 *comb scale* yang berduri lateral dan berbentuk seperti trisula [56].



Gambar 2.1 (A) Tampak *Dorsal* Larva *Ae. aegypti* (B) Tampak *Dorsal* Bagian Kepala, Toraks dan Abdomen Larva *Ae. aegypti* (C) Tampak *Dorsal* Bagian Abdomen Larva *Ae. aegypti* [57]

c. Stadium Pupa

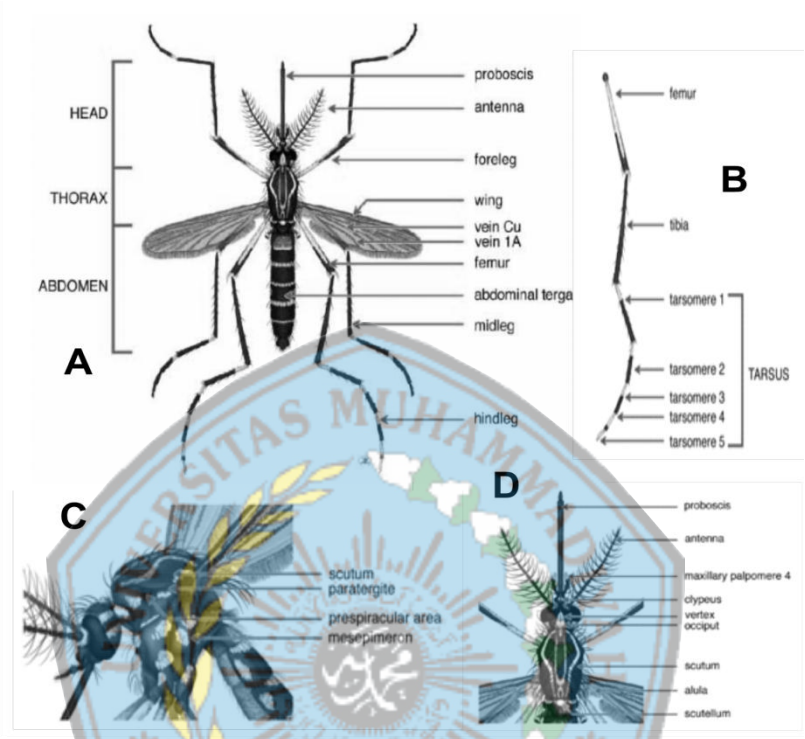
Pupa *Ae. aegypti* memiliki kepala dan dada yang menyatu dilengkapi sepasang corong napas tubuler yang kecil dan panjang [55]. Stadium pupa merupakan saat yang tidak melakukan makan dan hanya menunggu waktu tiba untuk berubah menjadi nyamuk dewasa yang kira-kira membutuhkan waktu dua hari [55]. Pupa akan berkembang sampai terjadi perubahan bentuk sebagai nyamuk yang kemudian muncul dari kulit kepompong dan terbang meninggalkan air [54].

d. Stadium Dewasa

Nyamuk dewasa *Ae. aegypti* memiliki ciri khas tubuh yang berwarna hitam putih, pada bagian kepala terdapat satu buah probosis, dua buah palpus serta dua buah antena yang biasanya panjang palpus lebih kecil dari probosis dan bagian punggung (mesonotum) *Ae. aegypti* tampak berbentuk garis seperti *lyre* dengan dua garis lengkung dan dua garis lurus putih [52, 55]. Anterior pada kaki bagian fermur kaki tengah terdapat garis-garis putih memanjang [52].

Repository.Unimus.ac.id

Nyamuk *Ae. aegypti* jantan ketika dewasa membutuhkan pakan berupa nektar dari bunga dan nyamuk betina berupa darah manusia atau hewan yang berguna dalam proses pematangan telurnya setelah kawin [54].



Gambar 2.2 (A) Tampak *Dorsal* Nyamuk *Ae. aegypti* Betina Dewasa (B) Tampak *Dorsal* Kepala dan Toraks Nyamuk *Ae. aegypti* Dewasa (C) Tampak *Dorsal* Kepala, Toraks dan Abdomen Nyamuk *Ae. aegypti* Dewasa (D) Tampak Kaki Belakang Nyamuk *Ae. aegypti* Dewasa [57]

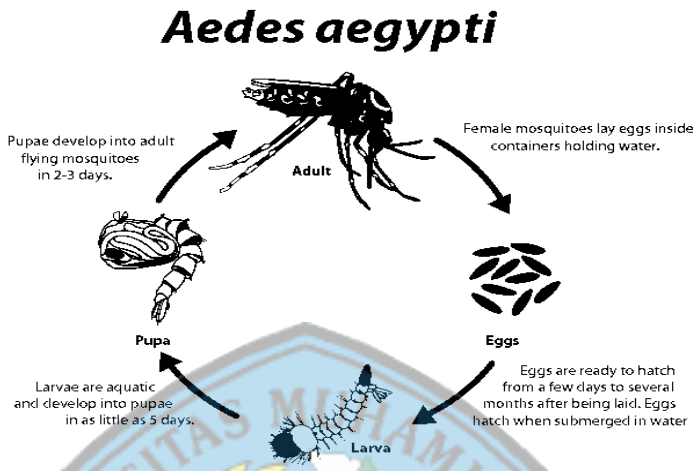
2. Siklus Hidup

Ae. aegypti termasuk serangga yang mengalami metamorfosis sempurna yakni telur–larva–pupa–nyamuk dewasa. Jika terendam air maka telur akan menetas dan larva kemudian akan berkembang menjadi pupa dalam waktu 5-8 hari, berikutnya pupa akan berkembang dalam waktu 2-3 hari untuk menjadi dewasa yang memiliki sayap dan akan terbang [58]. Lama hidup *Ae. aegypti* ketika dewasa biasanya sekitar 3-4 minggu [53].

Ae. aegypti betina memiliki kebiasaan mencari makan (menghisap darah manusia) sepanjang hari terutama di pagi hari selama beberapa jam setelah fajar dan juga di sore hari selama beberapa jam sebelum gelap/malam sebab pakan darah digunakan untuk mematangkan telurnya [53]. *Ae. aegypti* betina memiliki kebiasaan meletakkan telurnya di dalam kontainer tempat penampungan air,

Repository.Unimus.ac.id

selanjutnya telur siap menetas beberapa hari atau beberapa bulan tergantung kelembapan [58].



Gambar 2.3 Siklus hidup *Ae. aegypti* [54]

3. Habitat

Ae. aegypti dewasa menyukai tempat gelap yang tersembunyi di dalam rumah untuk berkembang biak [58]. Secara umum *Ae. aegypti* dapat mentransmisikan virus penyebab *dengue* dan Zika serta mampu bertahan hidup di daerah beriklim tropis atau subtropis [58]. Populasi *Ae. aegypti* lebih sering dijumpai di daerah perkotaan, semi-perkotaan dan pedesaan [53]. Sejak terjadi pemanasan global yang meningkatkan suhu bumi, *Ae. aegypti* memperluas wilayah habitatnya hingga dataran tinggi lebih dari 1000 meter di atas permukaan laut di Meksiko dan Kolombia [59].

B. Pengendalian Vektor *Aedes aegypti*

Pengendalian vektor merupakan tindakan untuk mengurangi jumlah vektor *Ae. aegypti* agar keberadaannya tidak berisiko bagi masyarakat dan mencegah kontak penularan vektor serta wabah penyakit tular vektor yang dilakukan secara terpadu melalui metode kimia maupun non kimia [18].

Pengendalian vektor non kimia dilakukan dengan manajemen lingkungan secara fisik maupun mekanis serta penggunaan agen biotik dengan cara

Repository.Unimus.ac.id

menghancurkan, mengubah, menghapus atau mendaur ulang kontainer yang menjadi habitat larva maupun nyamuk *Ae. aegypti* [60]. Pengendalian secara non kimia dibutuhkan kerjasama serta partisipasi aktif masyarakat dan lintas sektoral. Pengendalian non kimia juga dapat dilakukan dengan beberapa cara antara lain modifikasi dan manipulasi lingkungan tempat perindukan, pemasangan kelambu, penggunaan predator larva, bakteri, maupun virus serta manipulasi gen serangga mandul [18].

Pengendalian vektor secara kimia pada *Ae. aegypti* stadium dewasa dilakukan melalui kegiatan *surface spray* (IRS), kelambu berinsektisida, *space spray* (*fogging*/ULV), maupun insektisida rumah tangga untuk mengendalikan kepadatan dan umur vektor serta transmisi penularan penyakit [18, 60]. Larvasida dilakukan untuk mengendalikan *Ae. aegypti* pada stadium larva yang berdasarkan cara penggunaannya maka larvasida harus memiliki toksisitas yang rendah serta tidak boleh mengubah rasa, bau maupun warna air [60].

C. Insektisida Piretroid

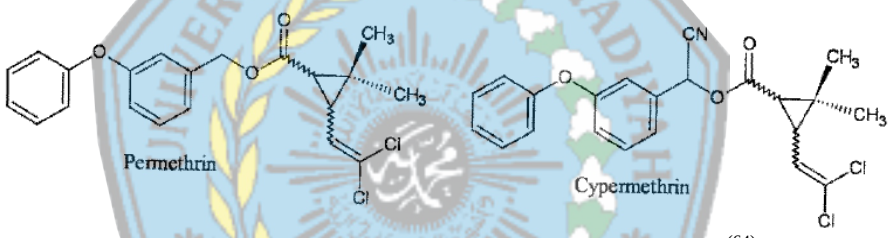
Piretroid merupakan kelompok insektisida sintetis yang memiliki struktur kimia serupa dengan *pyrethrins* alami yang berasal dari bunga *Chrysanthemum*, tetapi piretroid lebih beracun bagi serangga dan mamalia serta dapat bertahan lebih lama di lingkungan dibandingkan dengan *pyrethrins* [35, 61].

Pyrethrins yang berasal dari ekstrak bunga *Chrysanthemum* telah diproduksi sejak abad ke-19 namun *pyrethrins* hanya mampu bertahan di bawah sinar matahari dalam kurun waktu beberapa jam dibandingkan dengan piretroid yang dapat bertahan di bawah sinar matahari hingga beberapa hari bahkan beberapa bulan pada lingkungan yang jarang terpapar sinar matahari [62, 63]. Adanya keterbatasan dalam produksi dan penyimpanan *pyrethrins* telah mendorong pengembangan dan penggunaan piretroid sintetis pada tahun 1924-1970 dan piretroid sintetik pertama yang berhasil dikembangkan saat itu memiliki struktur kimia yang serupa dengan Cinerin I [63, 64].

Piretroid dikembangkan dari ester alami asam *chrysanthemic* (*pyrethrins* I) dan asam *pyrethric* (*pyrethrins* II) sehingga memiliki aktivitas insektisida yang

Repository.Unimus.ac.id

tinggi terlepas dari adanya sisa molekul atau sifat spesies sasaran [63, 64]. Ester aktif piretroid terdiri dari tiga substitusi asam *cyclopropanecarboxylic* yang memiliki I*R*-konfigurasi, substitusi permata-dimetil pada C-2 dari cincin siklopropana dan *phenylacetates* yang menggantikan posisi dua [64]. Selanjutnya dalam rangka meningkatkan spesifisitas dan aktivitas *pyrethrins* serta mempertahankan tingginya kejadian *knockdown* dan rendahnya toksisitas pada mamalia, tahun 1968 dan 1974 telah dikembangkan senyawa permetrin, sipermetrin, deltametrin dan hingga saat ini terdapat lebih dari seribu piretroid sintetis telah dikembangkan [63], tetapi hanya beberapa yang digunakan dalam kegiatan pengendalian vektor dalam *surface spray*, *fogging*/ULV, kelambu celup dan insektisida rumah tangga seperti sipermetrin, imiprotrin, transflutrin, praletrin, sifenotrin, d-alletrin, metoflutrin, d-fenotrin, siflutrin dan permetrin [18, 47].



Gambar 2.4 Struktur Kimia Permetrin dan Sipermetrin [64]

Piretroid dapat mempengaruhi sistem saraf perifer dan sistem saraf pusat serangga yang menyebabkan kejang-kejang, kelumpuhan dan akhirnya kematian yang efek tersebut dikenal sebagai *knockdown* [65]. Terdapat beberapa cara piretroid masuk ke dalam tubuh suatu organisme untuk menimbulkan efek antara lain melalui non-stereospesifik dengan penetrasi yang cepat melalui epidermis diikuti oleh penyerapan oleh darah atau operator hemolymph protein dan distribusikan ke seluruh tubuh, selanjutnya piretroid juga dapat masuk melalui kontak langsung organ sensorik dari sistem saraf perifer dan piretroid juga dapat masuk ke dalam tubuh melalui saluran udara dalam fase uap, tetapi penetrasi seperti ini jarang terjadi karena tekanan uap piretroid yang rendah serta piretroid juga dapat dicerna dan terjadi penetrasi ke dalam hemolymph darah melalui saluran pencernaan [64].

Repository.Unimus.ac.id

D. Resistensi *Aedes aegypti* terhadap Insektisida

Resistensi merupakan kemampuan yang dimiliki vektor untuk mempertahankan diri terhadap paparan insektisida yang dapat berkembang melalui keturunan ataupun seleksi alam [25, 26]. Resistensi terhadap empat golongan insektisida (karbamat, organoklorin, organofosfat dan piretroid) telah dilaporkan secara luas terjadi pada *Ae. aegypti* [20].

Resistensi pada serangga dapat dipengaruhi oleh volume dan frekuensi dari aplikasi insektisida dan karakteristik yang melekat pada spesies serangga [64]. Resistensi terhadap piretroid selain terjadi melalui non-metabolik yakni penurunan atau pengurangan sensitifitas jumlah protein juga melalui metabolisme enzim-enzim detoksifikasi, oksidase dan penurunan penetrasi kutikula [64].

Resistensi non metabolik berkaitan dengan insensitifitas situs target akibat modifikasi struktural atau mutasi gen yang mengkode protein target hasil interaksi dengan insektisida yang selanjutnya menyebabkan *knockdown resistance* (kdr) [63]. Resistensi *knockdown* pertama kali dinyatakan terjadi pada lalat *Musca domestica* di tahun 1951 yang secara deteksi enzimatik tidak terdapat resistensi namun ternyata telah kebal terhadap insektisida [56, 66]. Situs target yang dikembangkan untuk mendeteksi insektisida piretroid dan DDT salah satunya adalah *voltage-gated sodium channel* [33].

Resistensi metabolik berkaitan dengan fungsi enzimatik dalam tubuh vektor yang dapat mengurai molekul insektisida menjadi molekul lain yang tidak toksik (detoksifikasi) dan berinteraksi dengan molekul target dalam tubuh vektor sehingga menimbulkan keracunan terhadap sistem kehidupan vektor hingga menimbulkan kematian [25].

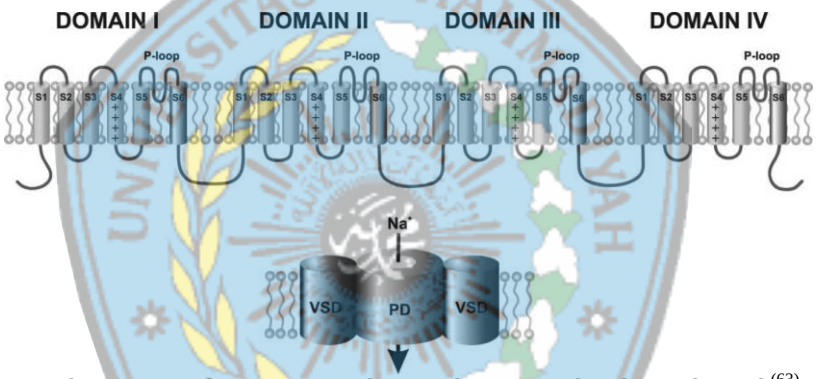
E. *Voltage-Gated Sodium Channel*

Voltage-gated sodium channel memiliki peran penting dalam mengelola fisiologi untuk mengirimkan impuls depolarisasi secara cepat ke seluruh sel dan jaringan sel sehingga memungkinkan proses koordinasi daya penggerak kepada kognisi [67]. *Voltage-gated sodium channel* dapat ditemukan pada banyak

Repository.Unimus.ac.id

organisme sebab berperan penting untuk inisiasi dan propagasi dalam sel saraf dan sel yang mengalami rangsangan [68].

Sodium channel pada mamalia terdiri dari satu *pore-forming* α-subunit sekitar 260 kDa hingga empat tambahan β-subunit sekitar 30-40 kDa dan pada α-subunit berisi empat perulangan homolog (I-IV) yang masing-masing memiliki enam segmen transmembran (S1-S6) [44]. Letak segmen S1-S4 di setiap fungsi pengulangan adalah sebagai domain *voltage-sensing*, sedangkan pada *loop* perulangan yang disebut P-*region* menghubungkan segmen S5 dan S6 untuk menyusun domain *pore-forming* [44]. Domain *voltage-sensing* dan domain *pore-forming* saling dihubungkan satu sama lain oleh pengait intraseluler kecil yang menghubungkan segmen S4 dan S5 [44].



Gambar 2.5 Topologi Transmembran *Voltage-Gated Sodium Channel* [63]

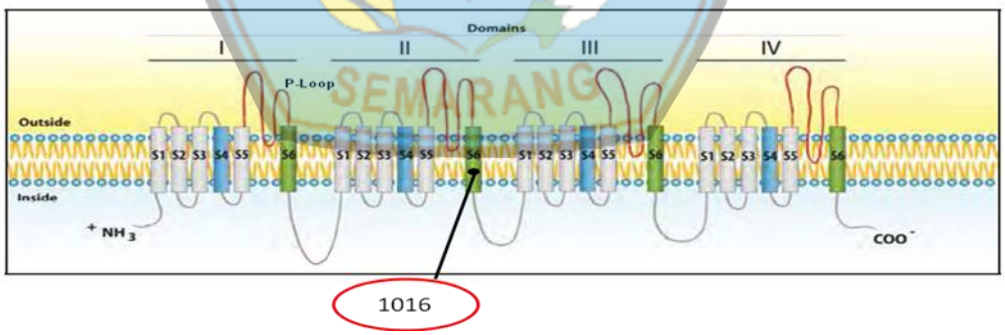
Terjadinya penutupan dan pembukaan *voltage-gated sodium channel* digambarkan melalui respon depolarisasi membran yang membuat segmen S4 (sebagai *voltage sensor* yang kaya akan residu bermuatan positif) bergerak ke luar untuk memulai aktivasi ikatan tegangan yang menghasilkan pembukaan gerbang aktivasi (terbentuk pada akhir intraseluler pada segmen S6), selanjutnya beberapa saat kemudian *sodium channel* menjadi tidak aktif (tertutup) [44]. Hal ini merupakan proses inaktivasi yang dimediasi partikel inaktivasi yang dibentuk oleh residu (IFM pada mamalia, MFM pada serangga) pada pengait antara domain III dan IV yang menghambat pori dalam pada *sodium channel* [44]. Terakhir pada repolarisasi, sensor tegangan S4 bergerak mundur menyebabkan penutupan gerbang aktivasi yang dikenal sebagai saluran penonaktifan [44].

Repository.Unimus.ac.id

F. Mutasi Kodon 1016 Gen *Voltage-Gated Sodium Channel*

Sejumlah polimorfisme pada *voltage-gated sodium channel* strain *Ae. aegypti* yang telah dilaporkan tahan terhadap insektisida piretroid antara lain G923V [29], L982W [29], S989P [30-32], I1011M [29, 33], I1011V [34], V1016G [30-32, 35-37], V1023G [41], V1016I [33, 34, 38, 39], F1269C [35], F1552C [42], F1534C [30, 32, 36, 38, 39, 43] serta D1794Y [41], namun hanya beberapa dari polimorfisme tersebut yang diyakini berkaitan terhadap interaksi piretroid di *sodium channel* yakni V1016G dan F1534C karena koeksistensi substitusi kedua kodon berada pada domain II dan III yang sangat sensitif menimbulkan *knockdown resistance* pada *Ae. aegypti* dari paparan insektisida permetrin [38].

Adanya polimorfisme V1016G menjadi penanda perubahan substitusi asam amino Valin menjadi Glisin pada kodon 1016 dengan transisi basa Timin–Guanin pada susunan GTA menjadi GGA [31]. Polimorfisme V1016G tersebut banyak ditemukan di Asia Tenggara sedangkan di Amerika Latin susbtitusi asam amino pada kodon 1016 lebih sering terjadi perubahan Valin menjadi Isoleusin dengan perubahan transisi basa Guanin–Adenin pada susunan GTA menjadi ATA, namun baik 1016G maupun 1016I keduanya merupakan alel resesif penanda *knockdown resistance* yang terletak pada exon ke 21 domain II S6 [34, 43].



Gambar 2.6 Kodon 1016 *Voltage-Gated Sodium Channel* yang Ditemukan di *Ae. aegypti* Strain Brazil [38]

G. *Allele-Specific Polymerase Chain Reaction*

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan suatu teknik enzimatis dan amplifikasi DNA secara *in vitro* dalam biologi molekuler untuk menghasilkan jutaan salinan urutan DNA tertentu [69, 70]. *Polymerase Chain Reaction*

Repository.Unimus.ac.id

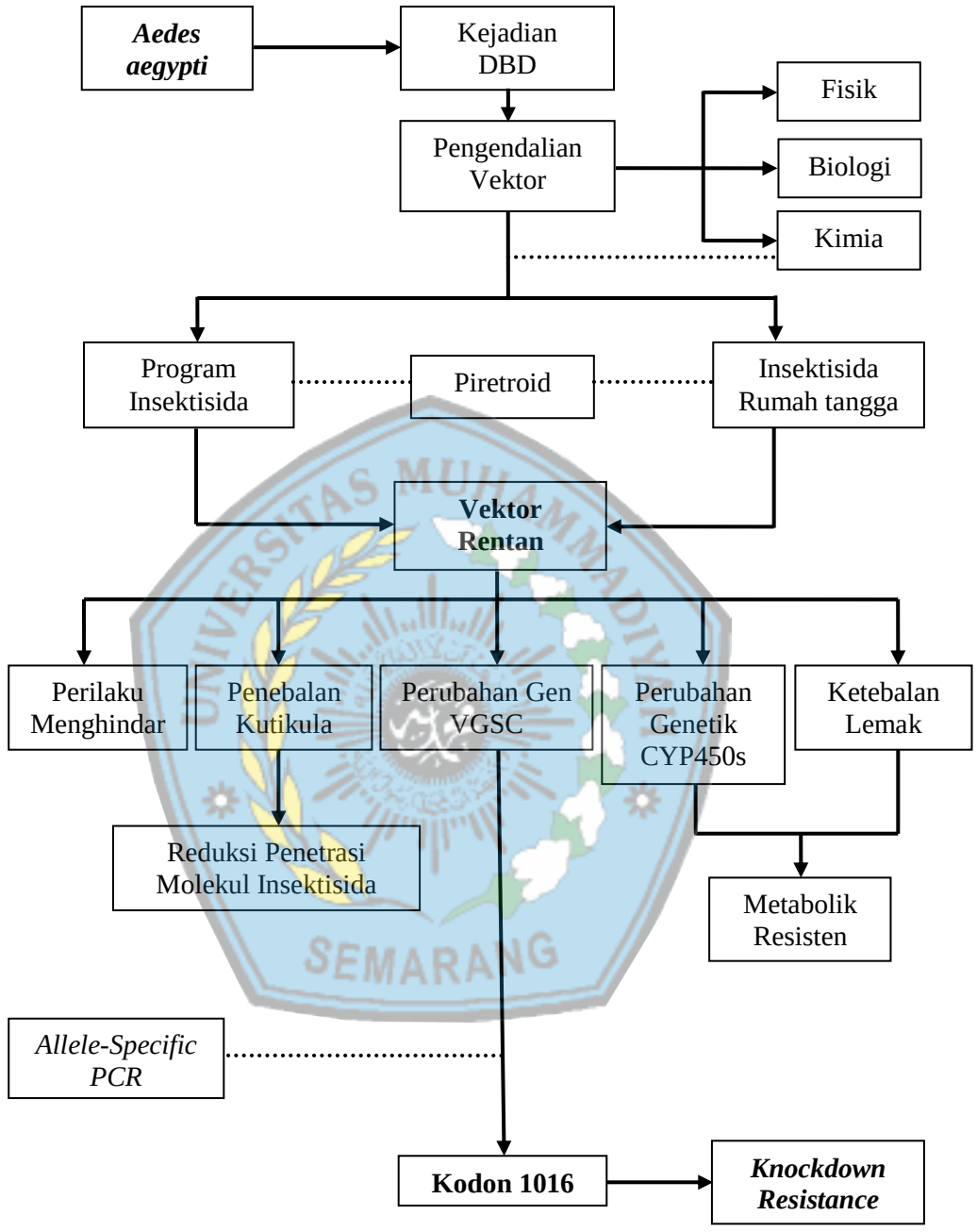
dikembangkan pertama kali pada tahun 1984 oleh seorang ahli biokimia berkebangsaan Amerika [(69)].

Allele-Specific Polymerase Chain Reaction (AS-PCR) secara konseptual merupakan strategi genotifikasi polimorfisme nukleotida tunggal (PNT) sederhana untuk memperoleh produk PCR yang spesifik dengan menggunakan primer yang dibatasi oleh posisi 3' dan bantuan Taq polimerase yang menambah urutan nukleotida sesuai komplemennya [(71)]. Salah satu manfaat dari AS-PCR dapat mengkombinasikan deteksi dan amplifikasi secara bersamaan tanpa memerlukan pemeriksaan enzim tambahan serta menjadi metode yang akurat dan sederhana sehingga memungkinkan proses *genotyping* dilakukan lebih cepat dengan biaya yang rendah [(71)]. Metode AS-PCR dalam proses amplifikasi menggunakan tiga primer yang terdiri dari dua primer spesifik alel dan primer umum yang memudahkan proses identifikasi karena spesifik alel muncul dengan panjang produk yang berbeda [(72)].

Secara umum dalam proses PCR membutuhkan beberapa komponen dasar seperti air, PCR Buffer, $MgCl_2$, dNTP, *forward primer, reverse primer*, DNA *template* dan Taq polimerase serta menggunakan alat bernama termosiklus [(70)]. Proses PCR melibatkan beberapa tahap antara lain tahap pertama pra-denaturasi DNA *template*, tahap kedua denaturasi DNA *template*, tahap ketiga penempelan *primer* pada *template* (*annealing*), tahap ke-empat pemanjangan *primer* (*extension*) dan tahap kelima pemantapan perpanjangan akhir (*postextension*) [(73)]. Tahap kedua hingga empat merupakan tahapan berulang (siklus) yang pada setiap siklus terjadi duplikasi jumlah DNA [(73)].

Repository.Unimus.ac.id

H. Kerangka Teori



Gambar 2.7 Kerangka Teori [19, 41, 61]

Repository.Unimus.ac.id