

## **DETEKSI MUTASI V1016G PADA GEN VOLTAGE-GATED SODIUM CHANNEL PADA POPULASI *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE) DI KABUPATEN KLATEN, JAWA TENGAH DENGAN METODE *ALLELE-SPECIFIC* PCR**

**Dyah Widiastuti\***<sup>✉</sup>, **Sunaryo \***, **Nova Pramestuti\***, **Tika Fiona Sari\*\***, **Nastiti Wijayanti\*\*\***

\* Balai Penelitian dan Pengembangan Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang Banjarnegara,  
Jl. Selamanik No. 16A, Kec. Banjarnegara, Jawa Tengah, Indonesia

\*\* Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit Salatiga,  
Jl. Hasanudin No.123 Salatiga, Indonesia

\*\*\*Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada,  
Jl. Teknika Selatan, Mlati, Sleman, Yogyakarta, Indonesia

Email: umi.azki@gmail.com

### ***DETECTION OF V1016G MUTATION IN THE VOLTAGE-GATED SODIUM CHANNEL GENE OF *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE) FROM KLATEN-CENTRAL JAVA BY ALLELE-SPECIFIC PCR ASSAY***

Naskah masuk : 25 Februari 2015 Revisi 1 : 08 Juli 2015 Revisi 2 : 15 September 2015 Naskah diterima : 30 September 2015

#### **Abstrak**

*Meluasnya kejadian resistensi pada vektor virus Dengue di Jawa Tengah memerlukan strategi pengelolaan resistensi insektisida secara efektif. Oleh karena itu, informasi mengenai mutasi gen pada posisi 1016 di domain II segmen ke-6 gen VGSC pada nyamuk *Aedes aegypti* yang menyebabkan perubahan asam amino valin (V) menjadi glisin (G) akan dapat memperkuat penelitian operasional mengenai strategi pemilihan insektisida dalam program pengendalian vektor Dengue. Penelitian ini menggunakan uji Allele-Specific Polymerase Chain Reaction (AS-PCR) yang dapat mendeteksi mutasi V1016G. Sampel penelitian ini adalah 22 ekor nyamuk *Aedes aegypti* dari Kabupaten Klaten yang berumur 2-5 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 22,7% nyamuk belum mengalami mutasi (V/V), 59,1% nyamuk mengalami mutasi heterozigot (V/G) dan 18,2% nyamuk mengalami mutasi homozigot (G/G). Hal ini menunjukkan indikasi terjadinya resistensi populasi nyamuk *Ae. aegypti* terhadap insektisida sintetik piretroid yang disebabkan oleh mekanisme knockdown resistance.*

**Kata Kunci:** *Aedes aegypti*, mutasi V1016G, Allele-Specific PCR, VGSC

#### **Abstract**

*Insecticides resistance has spread rapidly among dengue vectors from Central Java, and require an effective insecticide resistance management strategies. one of the resistance mechanism in *Aedes aegypti* may arise through knockdown resistance or kdr which consists of single point mutation within the genes that are targeted by insecticide compounds. Mutation at position 1016 in domain II, segment 6 of the Voltage Gated Sodium Channel gene in *Ae. aegypti* leads to a valine to glycine substitution (V1016G) is associated with resistance to the type II pyrethroid. The result of this study will help us to strengthen basic and operational research on the development of strategies for Dengue vector control in Indonesia. This study utilized an allele-specific Polymerase Chain Reaction (AS-PCR) assay that could be used to detect the V1016G mutation. The assay was conducted on 22 female mosquitoes aged 2–5 days old. The result showed there were 22,7% wild type mosquito (V/V), 59,1% heterozygous for V1016G mutation (V/G) and 18,2% V1016G mutant homozygous (G/G). It indicated synthetic pyrethroid resistance in *Ae. aegypti* population caused by knockdown resistance mechanism.*

**Keywords:** *Aedes aegypti*, V1016G mutation, Allele-Specific PCR, VGSC

## PENDAHULUAN

*Aedes aegypti* merupakan vektor yang penting dalam penularan Demam Berdarah Dengue (DBD). DBD masih menjadi masalah kesehatan utama di Indonesia, termasuk di beberapa kabupaten di Provinsi Jawa Tengah. Kabupaten Klaten merupakan daerah endemis DBD dengan IR pada tahun 2012 sebesar 4,95/100.000 penduduk, tahun 2013 sebesar 20,75/100.000 penduduk dan tahun 2014 sebesar 13,67/100.000 penduduk (DKK Klaten, 2014).

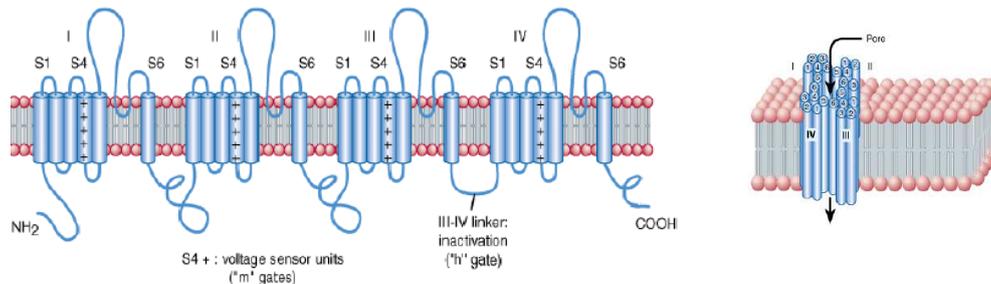
Hingga saat ini belum ditemukan obat ataupun vaksin yang efektif untuk pengendalian DBD, sehingga pengendalian penyakit DBD masih dititik beratkan pada pengendalian vektor penularnya. Upaya penanggulangan penyakit DBD yang telah banyak dilakukan antara lain dengan *fogging* fokus, *fogging* sebelum musim penularan, larvasidasi (*abate-merk*) massal dan larvasidasi selektif, serta pemberantasan sarang nyamuk melalui program 3M (menutup, menguras, mengubur barang bekas) (Depkes RI, 2011).

Pada Kejadian Luar Biasa (KLB) DBD dan dalam musim penularan penyakit DBD, penggunaan insektisida tidak dapat dihindarkan. Pengendalian nyamuk *Ae. aegypti* dewasa dengan insektisida biasanya dilakukan dengan menggunakan *thermal fogging* atau ULV. Insektisida golongan sintetik piretroid telah digunakan secara luas di Provinsi Jawa Tengah dalam pengendalian vektor DBD (Widiarti dkk, 2012).

Mekanisme yang kedua adalah melalui *knockdown resistance* (kdr), dimana resistensi disebabkan melalui seleksi strain oleh insektisida. Mekanisme ini umumnya terjadi karena adanya mutasi noktah pada gen yang menyandi protein target dari molekul insektisida. Adanya mutasi ini akan merubah konformasi bagian *sodium channel* sehingga tidak bisa dibuka oleh molekul insektisida. Adanya mekanisme resistensi dengan jalur mutasi ini dapat dideteksi dengan metode molekuler (Stenhouse et al, 2013).

Prinsip dasar deteksi resistensi pada vektor secara molekuler adalah mengidentifikasi gen yang menjadi target kelompok insektisida secara konvensional, yang salah satunya adalah gen *voltage gated sodium channel* (VGSC) akibat penekanan secara selektif insektisida kelompok organoklorin dan pyrethroid. Mutasi gen VGSC menyebabkan adanya polimorfisme alel *knockdown resistance*. Salah satu jenis mutasi kdr yang telah ditemukan pada nyamuk *Ae. aegypti* adalah transversi valin menjadi glisin pada domain kedua gen VGSC (V1016G) yang diketahui berasosiasi dengan piretroid tipe II (Stenhouse et al, 2013).

Bregues et al (2013) menjelaskan bahwa gen VGSC terdiri dari 4 domain yang homolog (I, II, III dan IV), masing-masing domain mengandung 6 daerah trans membran yang tersusun membentuk ion *pore* (Gambar 1).

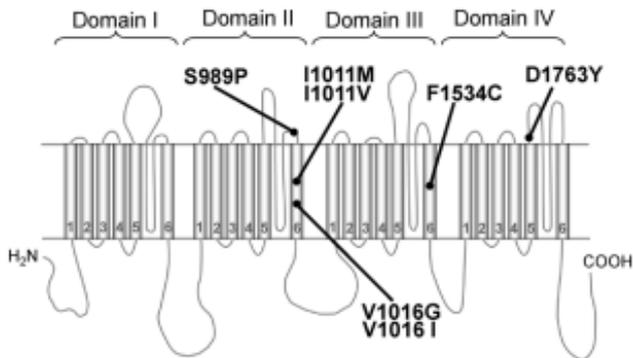


**Gambar 1. Skema Bagian VGSC pada Nyamuk *Ae. aegypti* (Shuyi, 2004)**

Resistensi pada populasi nyamuk *Ae. aegypti* dan spesies vektor yang lain dapat terjadi melalui dua mekanisme. Mekanisme pertama melalui aktivitas metabolisme enzim. Resistensi dengan mekanisme ini terjadi melalui proses *up regulation* atau produksi berlebih suatu enzim detoksifikasi. Enzim detoksifikasi akan bekerja dengan cepat untuk memetabolisme dan mendetoksifikasi insektisida dengan cara mencegah atau menghambat penempelan molekul insektisida pada sisi target (Stenhouse et al, 2013).

Mutasi gen VGSC pertama kali terdeteksi pada *Anopheles gambiae* dari daerah Afrika Barat, sehingga diberi istilah kdr-w yang disebabkan adanya perubahan asam amino leucin menjadi phenilalanin (TTA menjadi TTT). Beberapa mutasi yang menyebabkan substitusi pada domain II dari gen VGSC yang dapat menyebabkan resistensi terhadap piretroid antara lain substitusi Valin→Glisin atau Valin→Isoleusin pada posisi 1016, Isoleusin→Metionin atau Isoleusin→Valin pada posisi 1011, Leusin→Tripsin pada 982, Glisin→Valin pada

posisi 923 dan Serin→Prolin pada posisi 989 (Gambar 2).



**Gambar 2. Diagram Lokasi Mutasi kdr dalam Gen VGSC pada Nyamuk *Ae. aegypti* (Kasai et al, 2011)**

Jenis mutasi ini cenderung terbatas hanya di kawasan Asia Tenggara meliputi Thailand, Indonesia, Vietnam dan Taiwan. Mutasi yang sama juga ditemukan pada populasi *Ae.aegypti* di Amerika Latin. Penelitian Ikawati (2014) menunjukkan bahwa kematian nyamuk *Ae. aegypti* strain Klaten terhadap paparan insektisida Cypermethrin 0,05% yang termasuk dalam kelas piretroid tipe II hanya sebesar 10%. Adapun hasil uji biokimia aktivitas enzim detoksifikasi pada sampel nyamuk *Ae. aegypti* dari Kabupaten Klaten terlihat bahwa 96,7% sampel menunjukkan peningkatan aktivitas enzim esterase dan hanya 2% sampel yang menunjukkan peningkatan aktivitas enzim monooksigenase. Hasil penelitian ini berbeda dengan beberapa penelitian telah melaporkan bahwa resistensi terhadap insektisida golongan sintetik piretroid dipengaruhi oleh aktivitas enzim monooksigenase. Oleh karena itu, pada penelitian ini, dilakukan deteksi mutasi di domain kedua gen VGSC V10161 pada populasi nyamuk *Ae. aegypti* di Kabupaten Klaten untuk mengetahui adanya kemungkinan terjadinya resistensi terhadap insektisida sintetik piretroid melalui mekanisme mutasi pada gen VGSC.

## BAHAN DAN METODE

Studi dilakukan pada bulan April - November tahun 2014. Nyamuk bahan uji dalam penelitian ini berasal dari telur yang diperoleh dari tempat penelitian yang berlokasi di Desa Birit, Kali Tengah dan Mojayan Kabupaten Klaten. Pengambilan telur dengan ovitrap dilaksanakan selama 1 minggu. Pemasangan ovitrap dilakukan secara random dengan dibantu oleh petugas

puskesmas dan kader kesehatan. Selanjutnya, telur nyamuk yang diperoleh dari hasil pemasangan ovitrap dipelihara di Laboratorium Rearing Balai Litbang P2B2 Banjarnegara hingga menjadi nyamuk dewasa.

## Isolasi DNA

Sebanyak 22 sampel nyamuk diuji *Allele Specific* PCR (AS-PCR) untuk melihat adanya mutasi V1016G. Tahapan uji diawali dengan proses isolasi DNA dari masing-masing sampel nyamuk yang dilakukan secara individual menggunakan reagen Genomic DNA Mini Kit (*Tissue*). Proses isolasi dilakukan sesuai prosedur yang tertera dalam protokol reagen tersebut. Amplifikasi gen *Voltage Gated Sodium Chanel* (VGSC) dengan metode AS-PCR.

Untuk mendeteksi adanya mutasi pada gen VGSC digunakan metode AS-PCR menggunakan kit Go Taq Green Master Mix (Promega) dengan primer spesifik sebagai berikut (Stenhouse et al, 2013):

GlyR	5'-GCGGGCAGGGCGGCGGGGGCG GGGCCAGCAAGGCTAAGAAAAGG TTAACTC-3'
Val R	5'-GCGGGCAGCAAGGCTAAGAAA AGGTTAATTA-3'
V1016G F	5'-ACCGACAAATTGTTTCCC-3'

Hasil amplifikasi dielektroforesis pada gel agarose dan 50 *base-pair* (bp) DNA *ladder* digunakan sebagai marker untuk menganalisa besar produk PCR. Pita yang menunjukkan posisi pada 60 bp menandakan bahwa sampel nyamuk belum mengalami mutasi sehingga asam amino valin belum berubah menjadi glisin (V/V). Pita yang menunjukkan posisi pada 80 bp menandakan bahwa sampel nyamuk telah mengalami mutasi sehingga asam amino valin telah berubah menjadi glisin (G/G). Adapun hasil elektroforesis yang menunjukkan pita ganda pada posisi 80 dan 60 bp menandakan bahwa sampel nyamuk telah mengalami mutasi heterozigot (V/G) (Stenhouse et al, 2013). Selanjutnya hasil deteksi mutasi V1016G dengan pemeriksaan AS-PCR dianalisa untuk mengetahui nilai frekuensi alel dan keseimbangannya dalam populasi dengan formula yang dijelaskan oleh Cain et al (2014).

## HASIL

Posisi pita produk AS-PCR yang dielektroforesis pada gel agarose 4% ditunjukkan dalam Gambar 3.



**Gambar 3. Hasil Elektroforesis Produk AS-PCR Gen VGSC**

Gambar 3 menunjukkan bahwa pada *lane* 8 sampel belum mengalami mutasi, *lane* 2, 4-7, 9,10 dan 12 sampel mengalami mutasi secara heterozigot dan *lane* 11, sampel mengalami mutasi homozigot.

Hasil identifikasi fragmen gen VGSC menggunakan metode AS-PCR ditunjukkan dalam Tabel 1.

**Tabel 1. Hasil Identifikasi Fragmen Gen VGSC pada Populasi Nyamuk di Kabupaten Klaten**

Fragmen Gen VGSC	Jumlah (ekor)	Persentase (%)
V/V	5	22,7
V/G	13	59,1
G/G	4	18,2

Keterangan:

V/V: belum mengalami mutasi

V/G: mengalami mutasi heterozigot

G/G: mengalami mutasi homozigot

Tabel 1 menunjukkan bahwa sebagian besar (59,1%) sampel nyamuk *Ae. aegypti* di Kabupaten Klaten mengalami mutasi heterozigot pada domain kedua gen VGSC (V1016G). Dari tabel 1 dapat dihitung frekuensi alel G sebesar 0,477, sedangkan frekuensi alel V sebesar 0,523. Hasil penghitungan keseimbangan alel menunjukkan bahwa frekuensi alel V dan alel G dalam populasi masih seimbang.

## PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa 59,1% sampel nyamuk *Ae. aegypti* di Kabupaten Klaten mengalami mutasi heterozigot pada domain kedua gen VGSC (V1016G) dan hanya 18,2% yang mengalami mutasi homozigot pada alel 1016G. Hal ini selaras dengan hasil penelitian di Thailand oleh Stenhouse et al (2013) yang memperlihatkan bahwa 50% populasi nyamuk *Ae. aegypti* belum mengalami mutasi (V/V), dan hasil *susceptibility test* menggunakan deltamethrin 0,05% menunjukkan angka kematian sebesar 77,6%

yang mengindikasikan telah terjadi resistensi. Menurut kriteria WHO, angka kematian nyamuk uji yang kurang dari 80% menunjukkan adanya resistensi. Stenhouse et al (2013) menyatakan bahwa alel 1016G bersifat resesif, hal ini mengindikasikan bahwa nyamuk yang mengalami mutasi heterozigot masih berpeluang besar untuk tetap sensitif terhadap insektisida piretroid.

Penelitian Harris et al (2010) menunjukkan bahwa tidak semua individu nyamuk yang mengalami mutasi V10106G homozigot mampu bertahan hidup atau bersifat resisten pada paparan insektisida permethrin (0,75%) dan 23,4% dari kelompok yang mengalami mutasi heterozigot mampu bertahan hidup. Hasil uji *susceptibility* menunjukkan bahwa nyamuk *Ae. aegypti* di Kabupaten Klaten telah resisten terhadap insektisida cypermethrin 0,05% dengan jumlah kematian nyamuk uji sebesar 10% (Ikawati, 2014). Adapun hasil penelitian ini menunjukkan bahwa frekuensi alel G pada populasi nyamuk di Kabupaten Klaten sebesar 0,477 dan masih seimbang dengan frekuensi alel V. Hal ini mengindikasikan bahwa kemungkinan mekanisme resistensi terhadap insektisida sintetik piretroid pada nyamuk *Ae. aegypti* di Kabupaten Klaten dipengaruhi oleh beberapa faktor yang tidak berdiri sendiri-sendiri. Selain melalui mutasi V1016G, resistensi *Ae. aegypti* terhadap insektisida sintetik piretroid tipe juga dapat disebabkan karena beberapa mutasi gen VGSC pada posisi yang lain diantaranya mutasi V1016I, F1534C, dan S989P (Kawada et al, 2014). Kelemahan dari penelitian ini adalah hanya melihat satu jenis mutasi saja yaitu mutasi V1016G. Mutasi gen VGSC pada beberapa posisi dapat terjadi secara bersamaan dalam satu individu nyamuk, dan kemungkinan pengaruhnya akan semakin besar terhadap sifat resistensi insektisida pada nyamuk.

Resistensi nyamuk terhadap insektisida selain disebabkan karena mutasi sisi target juga dapat disebabkan karena adanya enzim detoksifikasi (Corbel, 2013). Meskipun hanya 2% sampel yang menunjukkan adanya peningkatan aktivitas enzim monooksigenase, namun 96,7% sampel

nyamuk *Ae. aegypti* dari Klaten menunjukkan adanya peningkatan aktivitas enzim esterase. Beberapa penelitian telah melaporkan adanya hubungan yang linear antara aktivitas enzim esterase dengan resistensi terhadap insektisida piretroid pada beberapa serangga (Jao and Casida 1974, Ishaaya and Casida 1980, Riskallah 1983 dan JingLi and Kun 1988).

Insektisida piretroid sintetis telah digunakan secara luas pada kegiatan pengendalian nyamuk *Ae. aegypti*. Beberapa kelebihan insektisida dari golongan ini antara lain memiliki tingkat toksisitas yang rendah terhadap manusia dan mamalia secara umum serta mudah terurai di dalam tanah (Chareonviriyaphap, 2003). Kelompok insektisida ini dibedakan menjadi 2 tipe yaitu tipe I dan tipe II. Piretroid sintetis tipe I mempunyai efek pada syaraf pusat yaitu menghambat kanal ion sodium, misalnya: *allethrin*, *tetramethrin*, *resmethrin*, *diphenothrin*, *bioresmethrin*, dan *permethrin*. Tipe II juga berefek pada syaraf pusat dan menghambat neurotransmitter GABA, misalnya: *cypermethrin*, *cyfluthrin*, *deltamethrin*, *fenvalerate*, *enfenvalerate* dan *lamda cyhalothrin* (Djojosumarto, 2008). Dinas Kesehatan Kabupaten Klaten telah menggunakan insektisida dari golongan piretroid sintetis (Cynoff) untuk upaya pengendalian nyamuk *Ae. aegypti* dewasa (Ikawati, 2014). Selain itu, insektisida kelompok ini juga banyak digunakan masyarakat/rumah tangga, sehingga *Ae. aegypti* sering terpapar dengan insektisida tersebut.

Insektisida piretroid bekerja dengan cara melekat pada bagian *voltage-gated sodium channels* (VGSC) yang terletak di bagian neuron serangga vektor. Pada awalnya, molekul insektisida piretroid akan melekat untuk membuka *channel* sodium dan mengikatnya hingga tetap dalam kondisi terbuka. Hal ini akan memicu terjadinya *repetitive nerve firing* yang akan menimbulkan gerakan atau aktivitas di luar kontrol. Serangga target akan mengalami *convulsion* dan tidak dapat mengontrol perilaku terbangnya. Namun, bila ada mutasi noktah pada gen VSGC, maka asam amino yang dihasilkan akan berubah, sehingga dapat menurunkan sensitivitas molekul insektisida piretroid untuk membentuk ikatan pada bagian tersebut.

Mutasi V1016G adalah perubahan pada kodon pengkode valin menjadi glisin, dimana terjadi transisi basa timin dengan guanin pada susunan GTA menjadi GGA. Berdasarkan hasil penelitian Rajatileka et al (2008) dan Srisawat et al (2010), ditemukan mutasi titik V1016G pada gen VGSC *Ae. aegypti* yang berhubungan dengan resistensi sintetis piretroid di Thailand. Penelitian Kawada et al (2009) juga menemukan hal yang sama untuk populasi *Ae. aegypti* di Vietnam.

Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa sebagian besar nyamuk *Ae. aegypti* di Kabupaten Klaten

telah mengalami mutasi V1016G pada gen VGSC yang merupakan sasaran target insektisida sintetis piretroid. Meskipun sebagian besar mutasi terjadi secara heterozigot, namun hal ini perlu menjadi perhatian dalam menentukan jenis insektisida yang akan digunakan dalam program pengendalian nyamuk *Ae. aegypti* di Kabupaten Klaten yang selama dua tahun terakhir menggunakan insektisida piretroid. Adanya mutasi ini kemungkinan akan menyebabkan resistensi juga pada jenis insektisida lain yang berasal dari golongan sintetis piretroid, sebagaimana yang dilaporkan Stenhouse et al. (2013), mutasi V1016G telah menyebabkan resistensi terhadap deltamethrin pada populasi *Ae. aegypti* di Thailand. Oleh karena itu, program pengendalian vektor sebaiknya memperhatikan penggunaan dan pemilihan jenis insektisida. Dengan penggunaan dan pemilihan jenis insektisida secara tepat diharapkan akan mengurangi resiko terjadinya resistensi pada populasi nyamuk *Ae. aegypti* khususnya di Kabupaten Klaten.

## KESIMPULAN DAN SARAN

Sebagian besar populasi nyamuk *Ae. aegypti* di Kabupaten Klaten telah mengalami mutasi pada bagian domain II dari gen VGSC. Hal ini sebagai indikasi terjadinya resistensi yang disebabkan oleh mekanisme *knockdown resistance* (kdr). Oleh sebab itu, disarankan pada pemegang program pengendalian DBD Kabupaten Klaten untuk melakukan rotasi penggunaan insektisida dengan jenis dan golongan yang berbeda untuk meminimalisir terjadinya resistensi.

## UCAPAN TERMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan pada Ibu Bina Ikawati, SKM. M.Kes selaku peneliti utama dalam penelitian “*Pemetaan Status Resistensi Aedes aegypti* (Linn) terhadap Insektisida Cypermetrin 0,05%, Malathion 0,8% dan Temephos (di Kabupaten Purworejo, Kebumen, Pekalongan, Demak, Wonosobo, Cilacap, Kudus, Klaten dan Banjarnegara tahun 2014” yang telah memberi ijin untuk analisis lanjut sampel penelitiannya sebagai bahan penyusunan artikel ini. Tak lupa ucapan terima kasih kepada teman-teman yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini sehingga berjalan dengan lancar.

## DAFTAR PUSTAKA

Bregues C, Hawkes N, Chandre F, McCaroll L, Duchon S. Pyrethroid and DDT cross-resistance in *Aedes aegypti* is correlated with novel mutations in the voltage-gated sodium channel gene. *Med Vet Entomol.* 2003;17:87–94.

- Cain ML, Bowman WD, Hacker SD. Ecology. 3rd Edition. United States: Sinauer Associates; 2014
- Chareonviriyaphap T, Akrotanakul P, Nettanomsak S, Huntamni S. Larval habitats and distribution patterns of *Aedes aegypti* (Linnaeus) and *Aedes albopictus* (Skuse), in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Heal. 2003;34:529–35.
- Corbel V, N'Guessan R. *Anopheles* mosquitoes-new insights into malaria vectors. Distribution, mechanisms, impact and management of insecticide resistance in malaria vectors: a pragmatic review. Croatia: Janeza Trdine, Rijeka; 2013:580–633.
- Depkes RI. Modul pengendalian demam berdarah dengue. Jakarta: Departemen Kesehatan RI; 2011.
- Dinas Kesehatan Kabupaten Klaten. Laporan kasus DBD Kabupaten Klaten. Klaten: DKK Klaten; 2014.
- Djojosumarto P. Teknik Aplikasi Pestisida Pertanian. Yogyakarta: Kanisius; 2008.
- Harris A, Rajatileka S, Ranson H. Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* from Grand Cayman. Am J Trop Med Hyg. 2010;83:277–84.
- Ikawati B. Pemetaan status resistensi *Aedes aegypti* (Linn) terhadap insektisida Cypermetrin 0,05%, Malathion 0,8% dan Temephos (di Kabupaten Purworejo, Kebumen, Pekalongan, Demak, Wonosobo, Cilacap, Kudus, Klaten dan Banjarnegara tahun 2014). Banjarnegara: Balai Litbang P2B2 Banjarnegara; 2014.
- Kasai S, Ng LC, Lam-Phua SG, et al. First detection of a putative knockdown resistance gene in major mosquito vector, *Aedes albopictus*. Jpn J Infect Dis. 2011;64:217–21.
- Kawada H, Higa Y, Komagata O, Kasai S, Tomita T. Widespread distribution of a newly found point mutation in voltage-gated sodium channel in pyrethroid-resistant *Aedes aegypti* populations in Vietnam. PLoS Negl Trop Dis. 2009;3:527.
- Kawada H, Oo SZM, Thaung S, Kawashima E, Maung YNM, Thu HM, et al. Co-occurrence of point mutations in the Voltage-Gated Sodium Channel of pyrethroid-resistant *Aedes aegypti* populations in Myanmar. PLOS Neglected Tropical Diseases. 2014;8(7).
- Rajatileka S, William C., Saavedra KR, et al. Development and application of a simple colorimetric assay reveals widespread distribution of sodium channel mutations in Thai populations of *Aedes aegypti*. Acta Trop. 2008;108:54–7.
- Shuyi L. Tetrodotoxin: concepts of ion channels and action potential. London: Department of Chemistry Imperial College; 2004.
- Srisawat R, Komalamisra N, Eshita Y, Zheng M, Ono K. Point mutations in domain II of the voltage-gated sodium channel gene in deltamethrin-resistant *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Appl Entomol Zool. 2010;45(2):275–82.
- Stenhouse S, Plernsub S, Yanola J, Lumjuan N, Dantrakool A. Detection of the V1016G mutation in the voltage-gated sodium channel gene of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) by allele-specific PCR assay, and its distribution and effect on deltamethrin resistance in Thailand. Parasit Vectors. 2013;6:253.
- Widiarti, Boewono DT, Garjito TA, Tunjungsari R, Asih PB, Syafrudin D. Identifikasi mutasi noktah pada “Gen Voltage Gated Sodium Channel” *Aedes aegypti* resisten terhadap insektisida pyrethroid di Semarang Jawa Tengah. Bul Penelit Kesehat. 2012;40(1):31–7.

## **PENGARUH PELEPASAN NYAMUK JANTAN MANDUL TERHADAP FERTILITAS DAN PERUBAHAN MORFOLOGI TELUR *Aedes aegypti***

**Riyani Setiyaningsih\*✉, Maria Agustini\*, dan Ali Rahayu\*\***

\*Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit

Jl. Hasanudin no.123 Salatiga 50721, Jawa Tengah, Indonesia

\*\*BATAN Jakarta

Email:riyanisetia@gmail.com

### ***EFFECT OF RELEASE MALE STERILE MOSQUITO TECHNIQUE TO FERTILITY AND MORPHOLOGICAL CHANGES OF *Aedes aegypti* EGGS***

Naskah masuk : 26 Februari 2015 Revisi 1 : 24 April 2015 Revisi 2 : 14 Juli 2015 Naskah diterima : 30 September 2015

#### **Abstrak**

*Aplikasi Teknik Serangga Mandul (TSM) merupakan salah satu teknik pengendalian vektor yang bersifat ramah lingkungan dan spesifik target. Keberhasilan pengendalian vektor dengan TSM dapat dilihat dari penurunan populasi vektor. Salah satu parameternya adalah nyamuk jantan steril dapat berkompetisi dengan populasi nyamuk jantan di alam sehingga akan dapat menurunkan populasi nyamuk di alam. Tujuan penelitian adalah mengetahui pengaruh aplikasi TSM terhadap fertilitas dan perubahan morfologi telur *Aedes aegypti*. Iradiasi sinar gamma nyamuk jantan *Ae.aegypti* dilakukan di BATAN Jakarta dengan menggunakan sinar gamma Co-60. Pelepasan nyamuk jantan *Ae.aegypti* steril dilepaskan sebanyak lima kali setiap minggu. Parameter yang diukur adalah fertilitas telur di luar dan dalam rumah sebelum dan sesudah pelepasan nyamuk jantan *Ae.aegypti* steril dan pengamatan perubahan morfologi telur *Ae.aegypti* setelah aplikasi. Fertilitas telur sebelum pelepasan nyamuk jantan *Ae.aegypti* steril di luar rumah dan di dalam rumah adalah 90,86% dan 87,96%. Setelah pelepasan pertama, kedua, ketiga, keempat, dan kelima fertilitas telur menjadi 43,73%, 25,81%, 18,84%, 17,37%, dan 6,75%. Sedangkan fertilitas telur di dalam rumah setelah pelepasan nyamuk jantan *Ae.aegypti* steril pertama sampai kelima adalah 62,74%, 18,11%, 17,07%, 13,85%, dan 3,91%. Secara morfologi telur steril setelah pelepasan nyamuk jantan *Ae.aegypti* steril berbentuk mengempis, bercabang dan mengecil.*

**Kata kunci :** *TSM, fertilitas, *Aedes aegypti**

#### **Abstract**

*Application of the Sterile Insect Technique (SIT) is a nonpolluting method of vector control species specific and environmentally. For such a strategy to be effective sterile roles can be competitive enough against wild male to fulfil their function to reducing wild mosquito population in nature. The aims of the study were to determine the SIT effect to fertility and morphological changes of *Aedes aegypti* eggs. Male *Ae. aegypti* irradiation was performed in BATAN Jakarta using Co-60 gamma ray (70Gy). The release of sterile males *Ae. aegypti* mosquito were performed five times each week. Parameters measured were fertility of eggs collected outdoor and indoor before and after the release of sterile males mosquito and *Ae. aegypti* eggs morphological changes were observed after application. The results showed that the eggs fertility of *Ae. aegypti* outdoor and indoor were 90,86% and 87,96% respectively. After the release of the first, second, third, fourth, and fifth fertility of eggs become 43,73%, 25,81%, 18,84%, 17,37%, and 6,75%. While the fertility of eggs inside the house after the release of the first to fifth of sterile males *Ae. aegypti* mosquito were 62,74%, 18,11%, 17,07%, 13,85%, and 3,91%. The morphology of sterile eggs after release of sterile males of *Ae. aegypti* mosquito were deflate shaped, branched and smaller.*

**Keywords:** *SIT, fertility, *Aedes aegypti**

## PENDAHULUAN

Teknik Serangga Mandul (TSM) merupakan salah satu teknik pengendalian vektor secara genetik dengan cara mensterilkan atau memandulkan serangga sasaran kemudian dilepaskan ke alam supaya terjadi perkawinan dengan serangga di alam. Diharapkan hasil perkawinan diperoleh keturunan yang steril, sehingga pelepasan secara bertahap dapat menurunkan populasi (Vloedt, 2010). Aplikasi TSM dalam pengendalian nyamuk dapat dilakukan dengan cara mensterilkan nyamuk jantan kemudian di lepaskan di alam. Proses sterilisasi dapat dilakukan dengan menggunakan sinar gamma Co-60 (Yoday, 2010, Esteva, 2006).

Aplikasi TSM telah berhasil dilakukan dalam pengendalian *Cochliomyia hominivorax* di Mexico dan Libya, lalat buah *Ceratitidis capitata* dan berbagai jenis lalat buah lain di Amerika Serikat, Afrika Selatan, Eropa dan Asia. Pengendalian *Pectinophora gossypiella* telah berhasil dilakukan di Amerika Serikat, demikian pula dalam pengendalian *Cydia pomonella* di Kanada. Aplikasi TSM pada nyamuk telah berhasil dilakukan pada *Anopheles gambiae*, di Brazil, *Aedes aegypti* di Amerika dan Kuba (Alphey, 2013 dan Thome, 2013). Aplikasi TSM dalam pengendalian vektor DBD Di Indonesia masih dalam tahap pengembangan.

Keberhasilan aplikasi TSM dalam pengendalian vektor dapat dilihat dari besarnya penurunan populasi setelah aplikasi. Salah satu parameternya adalah penurunan persentase fertilitas telur. Telur fertil merupakan telur yang mengandung embrio dan dapat menetas. Sedangkan telur steril merupakan telur yang tidak mengandung embrio dan tidak dapat menetas. Telur steril hasil aplikasi TSM merupakan telur hasil pembuahan sel-sel sperma steril dengan sel telur betina normal (Clements, 1963 dan Helinski, 2008). Penelitian Setyaningsih, (2015) dalam melihat pengaruh radiasi sinar gamma Co-60 terhadap *Culex quinquefasciatus* menemukan adanya pengaruh variasi dosis sinar gamma Co-60 terhadap peningkatan sterilitas telur dan terjadi perubahan morfologi telur nyamuk

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pelepasan nyamuk jantan steril *Ae. aegypti* terhadap fertilitas dan perubahan morfologi telur *Aedes aegypti* di daerah endemis DBD di Salatiga.

## BAHAN DAN METODE

### Tempat/lokasi penelitian

Penelitian dilakukan di daerah endemis DBD di RW 03 Jetis Timur Kelurahan Sidorejo Lor Salatiga pada tahun 2012.

### Cara penelitian

Penelitian dilakukan di daerah endemis DBD di Salatiga berdasarkan data sekunder yang diperoleh dari Dinas Kesehatan Salatiga tahun 2011 (Anonim, 2011).

Sebelum pelaksanaan pelepasan TSM dilakukan sosialisasi di lokasi penelitian di Kelurahan Sidorejo Lor Salatiga. Pada proses sosialisasi dihadiri oleh peneliti B2P2VRP, peneliti BATAN, Dinas Kesehatan Salatiga, Kepala puskesmas Sidorejo Lor, tokoh masyarakat, Jumantik, dan warga di daerah penelitian.

Hal yang perlu dilakukan sebelum aplikasi TSM adalah penentuan populasi awal di daerah penelitian. Penentuan populasi awal bertujuan untuk menentukan jumlah *Ae. aegypti* jantan steril yang akan dilepaskan. Penghitungan populasi dilakukan dengan cara survei jentik di kontainer-kontainer dan tempat-tempat yang berpotensi sebagai habitat perkembangbiakan nyamuk *Ae. aegypti* di rumah-rumah penduduk di dalam maupun luar rumah. Pada saat survei dilakukan penghitungan jentik *Aedes aegypti* di tiap kontainer yang diperiksa. Besarnya sampel rumah penduduk yang disurvei adalah 100 rumah. Populasi jentik di daerah penelitian merupakan rata-rata jumlah jentik yang diperiksa pada 100 rumah. Data rata-rata jentik tiap rumah merupakan dasar untuk menentukan jumlah nyamuk jantan steril yang akan dilepaskan. Jumlah nyamuk jantan steril yang dilepaskan adalah sembilan kali rata-rata populasi awal hasil survey (Hendrichs, 2005).

Kolonisasi nyamuk *Aedes aegypti* dilakukan sebelum aplikasi TSM di lokasi penelitian. Kolonisasi bertujuan untuk mendapatkan nyamuk jantan dalam jumlah besar untuk diiradiasi sebelum dilepaskan ke lapangan. Kolonisasi diawali dengan koleksi telur dengan menggunakan *ovitrap* yang dipasang di rumah-rumah penduduk. Setelah satu minggu pemasangan perangkap telur pada *ovitrap* diambil dan ditetaskan di laboratorium. Telur yang sudah menetas menjadi jentik instar satu setelah berumur dua hari dipindahkan ke nampan pemeliharaan yang berukuran 1800 cm<sup>3</sup> dengan kepadatan jentik 400-500 ekor /nampan. Selama proses pemeliharaan jentik diberikan makanan berupa *dog food*. Banyaknya makanan yang diberikan disesuaikan dengan besarnya instar jentik. Proses pemeliharaan jentik dilakukan sampai menjadi pupa. Pupa yang muncul selama pemeliharaan diambil dan dimasukkan ke dalam mangkuk kemudian dimasukkan ke dalam kandang nyamuk berukuran 40x40x70 cm.

Nyamuk yang telah muncul di dalam kandang diberikan larutan gula 10% dan darah marmot. Untuk menjaga kelembaban kandang bagian luar kurungan ditutup dengan handuk basah. Proses pemeliharaan nyamuk terus dilakukan sampai diperoleh koloni nya-

muk *Ae. aegypti* yang stabil dan siap untuk melakukan aplikasi TSM. Proses kolonisasi dilakukan di BATAN dengan tujuan untuk mengurangi angka kematian nyamuk selama proses perjalanan dari BATAN Jakarta ke lokasi penelitian.

Nyamuk jantan *Aedes aegypti* hasil kolonisasi sebelum dilakukan iradiasi dengan menggunakan sinar gamma dimasukkan ke dalam *cup* plastik, masing-masing *cup* plastik diisi dengan nyamuk jantan *Ae. aegypti* 45 ekor. Proses iradiasi dilakukan di ruang iradiator di BATAN Jakarta. Nyamuk yang telah diiradiasi kemudian dimasukkan di dalam box dan dijaga kelembabannya dengan menggunakan handuk basah. Proses pembawaan nyamuk yang telah diiradiasi ke lokasi penelitian dilakukan dengan menggunakan bus oleh petugas dari BATAN Jakarta.

Parameter penurunan populasi nyamuk *Aedes aegypti* diukur dengan *ovitrap index* di dalam dan di luar rumah sebelum dan sesudah aplikasi TSM. Pemasangan *ovitrap* dilakukan enam kali yaitu sebelum aplikasi TSM, setelah pelepasan jantan steril kesatu, kedua, ketiga, keempat, dan kelima. *Ovitrap* dipasang di 100 rumah penduduk di lokasi penelitian. Pemasangan *ovitrap* awal dilakukan seminggu sebelum aplikasi TSM. Pengambilan telur pada *ovitrap* awal dilakukan setelah lima hari pemasangan *ovitrap*. Pemasangan *ovitrap* untuk pelepasan nyamuk jantan steril tahap kesatu sampai kelima dilakukan setelah tiga hari pelepasan nyamuk jantan steril. Pemeriksaan telur hasil masing-masing pelepasan nyamuk jantan steril dilakukan setelah lima hari pemasangan *ovitrap*.

Pelepasan nyamuk jantan steril dilakukan di tempat-tempat yang berpotensi sebagai tempat perkembangbiakan nyamuk *Aedes aegypti*. Pelepasan nyamuk jantan steril dilakukan setiap minggu sebanyak lima kali. Banyaknya nyamuk jantan steril yang dilepaskan adalah 45 ekor/rumah. Sebelum pelepasan nyamuk jantan steril dilakukan pengecekan kondisi nyamuk yang akan dilepaskan. Kriteria nyamuk jantan steril yang dilepaskan adalah nyamuk yang masih bergerak aktif ketika *cup* plastik digerakkan.

Telur hasil penangkapan di *ovitrap* sebelum aplikasi dan setelah pelepasan jantan steril pertama sampai kelima

dihitung di bawah mikroskop dengan menggunakan *counter*. Telur hasil penghitungan dianggap sebagai total telur yang dihasilkan. Total telur pada masing-masing *ovitrap* kemudian ditetaskan pada gelas plastik selama  $\pm$  satu minggu. Setelah masa penetasan diamati telur *fertil* dan telur *steril*. Telur fertil adalah telur yang menetas selama proses penetasan, sedangkan telur steril adalah telur yang tidak dapat menetas setelah proses penetasan dan tidak mengandung embrio ketika dilakukan pembedahan telur. Selain itu telur steril juga dapat berupa telur *Aedes aegypti* yang sudah mengalami perubahan morfologi. Presentase fertilitas telur dihitung dengan menggunakan rumus:

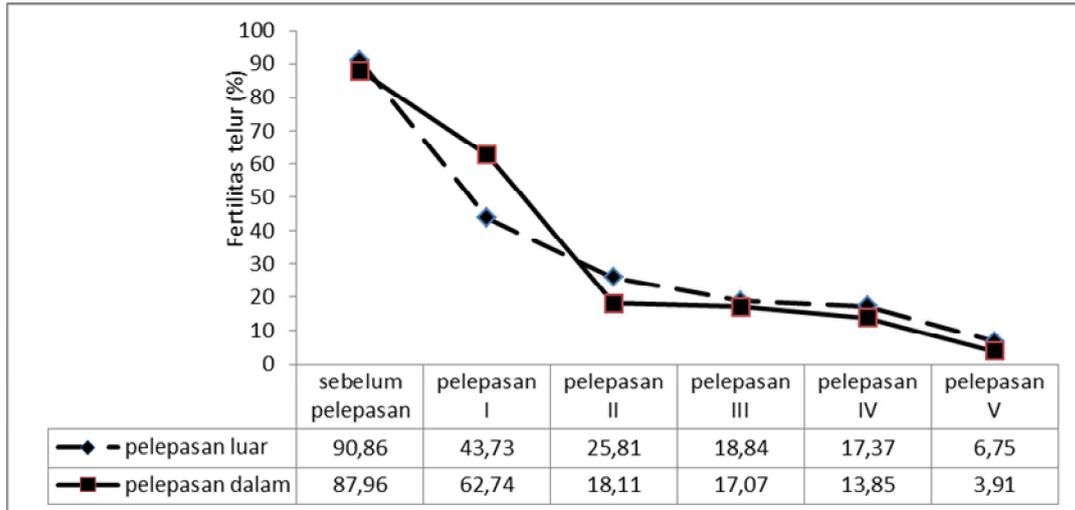
$\frac{\text{Jumlah telur yang menetas (fertil) pada masing-masing ovitrap} \times 100\%}{\text{Total telur yang terdapat dalam ovitrap}}$
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Telur fertil dan steril setelah penetasan telur kemudian diamati perubahan morfologinya dengan menggunakan mikroskop *compound*. Pengambilan gambar morfologi telur nyamuk *Aedes aegypti* dilakukan dengan menggunakan kamera *Sony Corp Digital Camera* No.DSC-S650.

Analisa data uji pengaruh aplikasi TSM terhadap fertilitas telur dilakukan dengan menggunakan Uji Anova, dan pengamatan perubahan morfologi telur dilakukan secara deskriptif.

## HASIL

Hasil penelitian menunjukkan ada pengaruh aplikasi TSM terhadap fertilitas telur ( $p= 0,00$ ). Aplikasi TSM dapat menurunkan fertilitas telur baik di luar maupun di dalam rumah. Fertilitas telur di luar rumah sebelum aplikasi TSM adalah 90,86%. Fertilitas telur setelah pelepasan nyamuk jantan steril *Ae. aegypti* pertama, kedua, ketiga, keempat, dan kelima masing-masing adalah 43,73, 25,81, 18,84, 17,37, dan 6,75%. Penurunan fertilitas telur juga terjadi pada aplikasi di dalam rumah. Hal ini dapat dilihat sebelum aplikasi TSM fertilitas telur 87,96%, setelah pelepasan pertama sampai kelima fertilitas menurun masing-masing menjadi 62,74, 18,11, 17,07, 13,85, dan 3,91%. (Gambar 1).



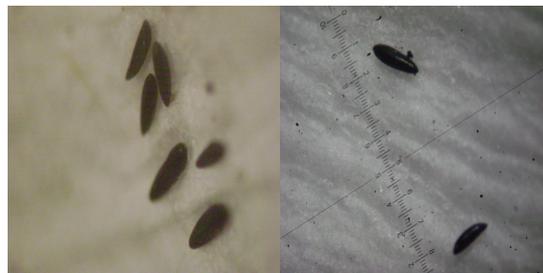
**Gambar 1.** Fertilitas telur di luar dan di dalam rumah sebelum dan sesudah pelepasan jantan steril di daerah endemis DBD di Salatiga tahun 2012.

Pelepasan nyamuk jantan *Ae. aegypti* steril menyebabkan beberapa perubahan morfologi telur steril yang dihasilkan. Berdasarkan bentuk morfologinya dibedakan dalam beberapa katagori yaitu, mengempis, bercabang, dan mengecil (Gambar 2, 3, dan 4).

Pada variasi bentuk morfologi telur steril bercabang, terdapat berbagai macam bentuk diantaranya telur steril dengan bagian satu ujung bercabang, kedua bagian ujung bercabang, dan banyak cabang pada bagian sisi telur (Gambar 4).



**Gambar 2.** Variasi perubahan morfologi telur steril *Aedes aegypti* (telur mengempis) setelah aplikasi TSM di daerah endemis DBD di Kota Salatiga tahun 2012.



**Gambar 3.** Variasi perubahan morfologi telur steril *Aedes aegypti* (telur mengecil) setelah aplikasi TSM di daerah endemis DBD di Kota Salatiga tahun 2012.



**Gambar 4. Variasi perubahan morfologi telur steril *Aedes aegypti* (telur bercabang) setelah aplikasi TSM di daerah endemis DBD di Kota Salatiga tahun 2012.**

Pada kondisi normal perkawinan antara *Aedes aegypti* jantan normal dengan betina normal dapat juga dihasilkan telur yang mengalami perubahan morfologi dengan presentase yang lebih kecil jika dibandingkan dengan perkawinan antara nyamuk jantan steril dengan nyamuk betina normal. Ciri-ciri telur normal/fertil adalah secara morfologi tidak mengalami perubahan bentuk dan jika dilakukan pembedahan akan ditemukan embrio (Gambar 5).

Penurunan jumlah telur *fertil* setelah aplikasi jantan *steril* karena terjadinya perkawinan *Ae. aegypti* jantan *steril* dengan betina normal di alam. Nyamuk jantan *steril* akan mentransfer sperma *steril* ke spermateka sehingga dihasilkan telur yang steril (Helinski, 2008). Sperma steril pada nyamuk jantan disebabkan karena proses iradiasi sinar *gamma* pada stadium pupa maupun pada nyamuk jantan muda (Oliva, et al, 2013). Iradiasi pada stadium



**Gambar 5. Morfologi telur *Aedes aegypti* hasil perkawinan nyamuk jantan dan nyamuk betina normal. Morfologi telur normal (1), telur mengalami perubahan morfologi (2), dan embrio telur *Ae.aegypti* (3).**

**PEMBAHASAN**

Pelepasan nyamuk jantan *Aedes aegypti* steril berpengaruh terhadap presentase fertilitas telur. Hal ini dapat dilihat data presentase fertilitas telur sebelum dan sesudah pelepasan jantan steril. Tingginya presentase fertilitas telur sebelum aplikasi TSM disebabkan sperma yang ditransfer nyamuk jantan ke spermateka betina pada proses perkawinan merupakan sperma yang normal. Pertemuan sperma normal dengan sel telur pada nyamuk betina akan menghasilkan telur yang *fertil* (Clements, 1963).

pupa atau nyamuk muda memperbesar terbentuknya sperma steril karena pada stadium ini terjadi proses *spermatogenesis*. Pada proses *spermatogenesis* terjadi pembelahan sel secara cepat sehingga apabila terkena radiasi sinar *gamma* menyebabkan kerusakan yang lebih besar pada sperma sehingga presentase sperma steril lebih besar (Helinski, 2009). Jika dilihat secara morfologi sperma *steril* mempunyai kepala kecil, ekor pendek dan kurang bergerak, sedangkan sperma normal mempunyai kepala lebih besar, ekor panjang dan lebih aktif bergerak (Helinski, 2008).

Penurunan fertilitas telur juga menunjukkan kemampuan *Ae. aegypti* jantan *steril* dalam bersaing dengan *Ae. aegypti* jantan normal di alam dalam mendapatkan pasangan untuk melakukan perkawinan. Daya saing kawin yang tetap tinggi menunjukkan bahwa dosis iradiasi *gamma* Co-60 yang diberikan pada stadium nyamuk tidak berpengaruh terhadap kemampuan daya saing kawin. Setiap spesies mempunyai dosis iradiasi sinar *gamma* optimal untuk dapat mensterilkan telur tetapi tidak mempengaruhi daya saing kawin nyamuk (Nuhayati, 2008, Hosada, 1972 dan Helinski, 2008) Dosis iradiasi sinar *gamma* selain berpengaruh terhadap sterilitas dan daya saing kawin nyamuk juga berpengaruh terhadap kemunculan pupa menjadi nyamuk dan produktivitas nyamuk (Helinski, 2006). Semakin tinggi dosis iradiasi *gamma* yang diberikan akan berpengaruh terhadap sterilitas, kemunculan nyamuk menjadi pupa, daya saing kawin produktivitas dan umur nyamuk. Tingginya dosis iradiasi *gamma* yang diberikan dapat berpengaruh pada umur nyamuk karena pada proses iradiasi selain mempengaruhi proses *spermatogenesis* juga dapat merusak sel-sel somatik. Semakin banyak sel-sel yang rusak akan memperpendek umur nyamuk (Curtis, 1976, Abdel, 1967 dan Hendrich, 2005).

Faktor yang lain yang dapat menyebabkan penurunan fertilitas adalah kemampuan *Ae. aegypti* untuk melakukan perkawinan lebih dari satu kali (Clements, 1963). Ketepatan waktu dan tempat pelepasan juga berpengaruh terhadap keberhasilan aplikasi TSM dalam menurunkan fertilitas telur. Dalam penelitian ini untuk memperbesar peluang terjadinya perkawinan nyamuk jantan *Ae. aegypti* steril dengan nyamuk betina di lapangan pelepasan dilakukan di sekitar tempat-tempat perkembangbiakan *Ae. aegypti* di dalam rumah dan dilakukan pada pagi hari. Tempat-tempat yang berpotensi sebagai tempat perkembangbiakan *Ae. aegypti* antara lain tempat-tempat penampungan air, penampungan dispenser, penampungan kulkas, tempat minum burung, vas bunga, drum dan lainnya (Maciel, 2007 dan Zuhriyah, 2012).

Penebaran *Ae. aegypti* jantan steril selain berpengaruh terhadap penurunan fertilitas telur juga berdampak pada perubahan morfologi telur *steril* yang dihasilkan. Struktur telur nyamuk terdiri dari dua lapis yaitu *exochorion* dan *endochorion*. *Exochorion* tipis dan mudah mengalami kerusakan. Pada *Ae. aegypti* *exochorion* dapat tahan terhadap kekeringan dan mengambil air dari atmosfer. Pada saat peletakan telur *Ae. aegypti* *endochorion* berbentuk lunak, permukannya putih setelah satu atau dua jam akan

berubah menjadi keras dan hitam (Clements, 1963). Perubahan bentuk morfologi telur *steril* *Ae. aegypti* hasil perkawinan *Ae. aegypti* jantan steril dengan betina normal di alam menunjukkan adanya perubahan struktur dari *exochorion* dan *endochorion* yang melindungi embrio. Perubahan struktur ini dapat menyebabkan telur *Ae. aegypti* dapat mengempis ataupun bercabang-cabang. Perubahan struktur lapisan yang melindungi embrio menyebabkan embrio tidak dapat berkembang atau tidak memungkinkan terjadinya pembuahan.

Penurunan fertilitas telur menunjukkan terjadinya penurunan populasi vektor di alam sehingga dapat memperkecil terjadinya penularan penyakit yang disebabkan oleh nyamuk. Di beberapa negara aplikasi TSM dapat menurunkan beberapa populasi vektor. Aplikasi TSM telah dilakukan di Brazil dalam pengendalian *Anopheles gambiae*. Pengendalian *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus* juga dilakukan di Kuba dan Amerika. Di Singapura upaya penurunan populasi *Ae. aegypti* pada tingkat yang tidak membahayakan dapat menurunkan kasus DBD (Alphey, 2010).

Berdasarkan pengamatan selama aplikasi TSM terjadi penurunan fertilitas telur dari pelepasan jantan steril pertama sampai kelima. Penurunan fertilitas telur terjadi di dalam maupun di luar rumah. Secara umum penurunan fertilitas telur di dalam rumah lebih tinggi jika dibandingkan dengan di luar rumah. Tingginya penurunan fertilitas di dalam rumah menunjukkan bahwa populasi *Ae. aegypti* banyak di temukan di dalam rumah jika dibandingkan di luar rumah.

Perubahan morfologi telur fertil selama proses pelepasan jantan steril terjadi baik di dalam dan luar rumah. Hal ini menunjukkan bahwa keberhasilan aplikasi TSM dengan metode melepaskan nyamuk jantan steril di dalam rumah di sekitar tempat perkembangbiakan nyamuk *Ae. aegypti* juga berhasil melakukan perkawinan dengan nyamuk *Ae. aegypti* normal di luar rumah dan hasil perkawinan diperoleh telur steril yang mengalami perubahan morfologi.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Aplikasi Teknik Serangga Mandul (TSM) dalam pengendalian vektor DBD berpengaruh terhadap fertilitas dan perubahan morfologi telur *Ae. aegypti*.

### Saran

Perlu dilakukan pengamatan lebih lanjut tentang presentase telur steril yang mengalami perubahan morfologi setelah aplikasi TSM

## UCAPAN TERIMAKASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala B2P2VRP Salatiga, Kepala PATIR BATAN Jakarta, Kepala Dinas Kesehatan Salatiga, Kepala Puskesmas Sidorejo Lor, segenap peneliti dan tehnisi B2P2VRP Salatiga dan segenap peneliti (Pak Ali dan Pak Budi) dan tehnisi (Pak Muklas, dan Pak Dodon) PATIR BATAN Jakarta, dan masyarakat setempat sehingga penelitian ini dapat dilakukan dengan lancar.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Malex, A.A., Tantawy, A.O and Wakid, A.M. 1967. Studies on the eradication of *Anopheles pharoensis* Theobald by the Sterile Male Technique Using Cobalt-60. III Determination of the Sterile Dose and its Biological Effects on Different Characters Related to Fitness Components. Journal Econ Entomology vol 60 no 1.
- Alphey, L., Benedict, M., Bellini, R., Clark, G.G., Dame, D.A., Service, M.K., and Dobson, S.L. 2010. Sterile-Insect Methods for Control of Mosquito-Borne Diseases: [cited 23 Juli 2013] Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2946175>
- Anonim, 2011. Laporan tahunan Dinas Kesehatan Kota Salatiga tahun 2011.
- Clements, A.N. 1963. The Physiology of Mosquitoes. A Pergamon Press Book. New York.
- Curtis, C.F. 1976. Radiation Sterilization. Report on Mosquito Research. Ross Institute of Tropical Hygiene. 1976.
- Esteva, L and Yang, H.M. 2006. Control of Dengue Vector by the Sterile Insect Technique Considering Logistic Recruitment. TEMA Tend. Mat. Apl. Comput vol 7(2):259-268
- Helinski, M.E.H., Parker, A and Knols, B.G.J. 2006. Radiation-induced sterility for pupal and adult stages of the malaria mosquito *Anopheles arabiensis*. Malaria Journal n0 5 vol 41
- Helinski, M.E.H., and Knols, B.G.J. 2008. *Sperm quantity and size polymorphism in un-irradiate male of the malaria mosquito Anopheles arabiensia patton* [internet], Available from: <http://edepot.wur.nl/122013> [Accessed 26 Agustus 2010].
- Helinski, M.E.H., and Knols, B.G.J. 2008. *Mating competitiveness of male Anopheles arabiensis mosquitoes irradiated with a partially-or fully-sterilising dose in small and large laboratory cages* [internet], Available from: <http://edepot.wur.nl/122013> [Accessed 26 Agustus 2010].
- Helinski, M.E.H., and Parker, A.G., Knols, B.G.J. 2009. Radiation Biology of Mosquitoes. Malaria Journal vol 8 (2): 1-13.
- Hendrichs, V.A.D.J and Robinson, A.S. 2005. Sterile Insect Technique Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management. Springer.
- Hosada, H. 1972. The Effect of Gamma Irradiation on Fertility and mating Competitiveness of the Mosquito, *Culex pipiens molestus* F (Diptera: Culicidae). Applied entomology and Zoology. Vol 7(3):103-108
- Maciel-de-Freitas, R., Marques, W, A., Peres, R, C., Cunha, S.P., Lourenço de Oliveira, R. 2007. Variation in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) container productivity in a slum and a suburban district of Rio de Janeiro during dry and wet seasons. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 102(4): 489-496.
- Nurhayati, S., Tetriana, D., Rahayu, A, dan Santoso, B. 2008. Pemandulan *Anophele maculatus* sebagai Vektor Penyakit Malaria Dengan Radiasi Gamma Co-60 [internet] Available from: <http://nhc.batan.go.id/documen> [Accessed 11 November 2010].
- Oliva, M, C, F., Jacquet, M., Gilles, J., Lemperiere, G., Maquart, P.O., Quilici, s., Schooneman, F., Vreysen, M, J, B., and Boyer, S. 2013. The Sterile Insect Technique for Controlling Populations of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) on Reunion Island: Mating Vigour of Sterilized Males (<http://www.plosone.org> tanggal 2 Agustus 2013).
- Setiyaningsih, R, Widiarti dan Heriyanto, B. 2015. Pengaruh Radiasi Sinar Gamma Co-60 Terhadap Sterilitas dan Perkembangan emrio *Cx. quinquefasciatus*. Media Penelitian dan pengembangan Kesehatan Vol 25 (1): 51-58
- Thome, R.C.A., Yang H.M., and Esteva L. 2013 Optimal Control of *Aedes aegypti* Mosquitoes by the Sterile Insect Technique and Insecticide: [cited 26 Juli 2013] Available from: <http://www.elsevier.com/locate/mbs>
- Vloedt, A.M.V., and Klasen, W. 2010 The Development and Application of the Sterile Insect Technique (SIT) for New World Scerwworm Eradication: [cited 26 Juli 2010] Available from: <http://www.fao.org/ag/aga/agap/FRG/FEEDback/War/u4220b/u4220b0j.htm>
- Yadav, K, Dhiman, S., Baruah, I and Singh, L. 2010. Effect of Gamma Radiation on Survival and Fertility of Male *Anopheles stephensi* Liston, Irradiated as Pharate Adults. Joournal of Ecobiotechnology vol 2 no 4. 2010.

Zuhriyah La, Habibie IYb, Baskoro Adc. 2012. The Key Container of *Aedes aegypti* in Rural and Urban

Malang, East Java, Indonesia. *Health and the Environment Journal*, 2012, Vol 3. No 3

## UJI REPELEN (DAYA TOLAK) BEBERAPA EKSTRAK TUMBUHAN TERHADAP GIGITAN NYAMUK *Aedes aegypti* VEKTOR DEMAM BERDARAH DENGUE

Hasan Boesri\*✉, Bambang Heriyanto\*\*, Lulus Susanti\*, Sri Wahyuni Handayani\*

\* Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit,  
Jalan Hasanudin No.123 Salatiga, Jawa Tengah, Indonesia

\*\* Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan,  
Jl. Percetakan Negara No.23A, Jakarta Pusat, Indonesia  
Email : hasanboesri1956@gmail.com

### THE REPELLENCY SOME OF EXTRACT PLANTS AGAINST AEADES AEGYPTI MOSQUITOES VECTOR OF DENGUE FEVER

Naskah masuk : 06 Juni 2015 Revisi 1 : 03 Agustus 2015 Revisi 2 : 2 September 2015 Naskah diterima : 30 September 2015

#### Abstrak

Penyakit Demam Berdarah Dengue, Malaria, filaria sejauh ini masih menjadi masalah kesehatan masyarakat. Penggunaan insektisida nabati banyak memberikan keuntungan diantaranya ramah lingkungan, tidak memberikan dampak buruk pada kesehatan dan bahan dasar ada di sekitar pemukiman. Berdasarkan banyaknya keuntungan yang didapatkan, maka dipandang perlu untuk mencari insektisida nabati sebagai repelen untuk menolak gigitan nyamuk penular penyakit. Penelitian ini merupakan eksperimen murni, tentang pembuatan ekstrak dari berbagai bahan tanaman serta uji efektifitas daya tolak nyamuknya dan dilakukan di laboratorium. Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Gajah Mada Yogyakarta, sedangkan untuk pengujian ekstrak terhadap nyamuk *Aedes aegypti* dilakukan di laboratorium uji insektisida Balai Besar Litbang Vektor dan Reservoir Penyakit. Hasil penelitian uji repelen beberapa ekstrak tumbuhan adalah pada dosis 100% yang mampu menolak gigitan nyamuk di atas 80% per jam antara lain ekstrak daun Zodia mampu menolak sampai 2 jam sebanyak 88,2%. Ekstrak daun tembakau mampu menolak selama 3 jam sebanyak 84,9%, ekstrak daun gondopuro mampu menolak selama 1 jam sebanyak 83,3%, ekstrak daun Serai Wangi mampu menolak selama 2 jam sebanyak 85,1%. Ekstrak daun cengkeh mampu menolak selama 4 jam sebanyak, 81,7%. Ekstrak bunga krisan mampu menolak selama 1 jam sebanyak 89,6%, Sedangkan ekstrak daun suren, akar tuba dan lavender hanya mampu menolak gigitan nyamuk *Aedes aegypti* di bawah 80%.

**Kata kunci :** ekstrak, repelen, *Aedes aegypti*

#### Abstract

Dengue Haemorrhagic Fever, malaria, filaria so far are public health problem. The use of plant-based insecticides are many eco-friendly benefits, do not give bad impact on health and basic materials are all around settlements. It is necessary to look for botanical insecticides as repellent to resist bites mosquito-borne diseases. This research is a pure experiment, that is made some extract and then its application as repellent for *Ae. aegypti*, and performed in the Laboratory. Preparation of extracts performed in the laboratory of Pharmacy, University of Gajah Mada, whereas for testing extract to *Aedes aegypti* conducted in laboratory of insecticide trials in Institute of Vector and Reservoir Control Research and Development. Repellent tests were conducted for some extract plant at 100% dosage and extract which can refuse mosquito bite above 80% per hour are Zodia leaf extract is resist up to 2 hours as much as 88,2%, tobacco leaf extract is resist for 3 hours as much as 84,9%, gondopuro leaf extract for 1 hour resist as much as 83,3%, Serai Wangi leaf extract is resist for 2 hours as much as 85,1%. Clove leaf extract is resist for 4 hours as much as 81,7%. Chrysanthemum extract for 1 hour resist as much as 89,6%. While the extracts of plant suren leaf, tuba root and lavender just able to resist a bite of *Aedes aegypti* mosquito under 80%.

**Keywords :** extract, repellent, *Aedes aegypti*

## PENDAHULUAN

Penyakit Demam Berdarah Dengue, Malaria (DBD), filaria sejauh ini masih menjadi masalah kesehatan masyarakat. Penanggulangan dan pencegahannya lebih banyak difokuskan pada pemutusan rantai penularan melalui pengendalian nyamuk vektor. Upaya pengendalian nyamuk yang terpopuler adalah sebagai berikut: pengendalian untuk nyamuk *Aedes* menggunakan sistem pengasapan, pengabutan dan gerakan 3 M (menutup, menguras dan menimbun), sedangkan untuk *Anopheles* dan *Mansonia* dengan sistem penyemprotan rumah dengan menggunakan bahan aktif insektisida *Pyretroid*, *organophosphat*, *carbamat* dan *orgonoclorin* (Tarumingkeng, 1989). Masyarakat perkotaan dan pedesaan telah melakukan perlindungan diri dengan cara seperti penggunaan anti nyamuk bakar, *aerosol*, dan repelen. Formulasi produk repelen yang digunakan untuk mencegah gigitan nyamuk dipasaran saat ini adalah bentuk minyak, *lotion* dan krim. Repelen nyamuk umumnya mengandung DEET, dimetil fatat dan iridin (Raina, 2011). Indonesia merupakan negara tropis dan terdapat berbagai jenis tumbuhan yang belum banyak dimanfaatkan, misal sebagai penolak gigitan nyamuk dan sangat diharapkan menjadi pilihan masyarakat karena bahan tersebut banyak terdapat disekitar pemukiman serta aman digunakan dalam jangka panjang sebab tanpa ada efek negative. (Raina, 2011) Penggunaan insektisida nabati banyak memberikan keuntungan ramah lingkungan, tidak memberikan dampak buruk pada kesehatan dan bahan dasar ada di sekitar pemukiman. Maka dipandang perlu untuk mencari insektisida nabati sebagai repelen untuk menolak gigitan nyamuk penular penyakit.

## BAHAN DAN METODE

### Cara pembuatan ekstrak

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah ekstrak tumbuhan zodia (*Euvodia graveolens*) bagian daun, tembakau (*Nicotiana tabacum*) bagian daun, Gondopuro (*Gaultheria fragrantissima*) bagian daun, Suren bagian daun, serai wangi (*Andropogon nardus*) bagian daun, cengkeh (*Zysigium aromaticum*) bagian daun, tuba (*Derris elliptia/Tuba*) bagian akar, krisan (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) bagian bunga, lavender (*Lavandula latifolia*) bagian daun.

Proses awal pembuatan ekstrak adalah tahapan pembuatan serbuk simplisia kering, kemudian dengan peralatan tertentu sampai derajat kehalusan tertentu. Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang baik untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif, dengan demikian senyawa

tersebut dapat terpisah dari bahan dan dari senyawa kandungan yang lain. Bahan diambil dari daun, bunga atau akar dipilih kualitas yang baik, bahan dicuci bersih dengan air kemudian dioven selama 48 jam pada suhu 50° C kemudian di blender dan diayak dengan mesh no. 20. Kemudian serbuk dari bahan diambil 50 gram dan dimaserasi dengan pelarut etanol 70% dan disaring terbentuklah ekstrak etanolik kemudian dipekatkan terbentuklah ekstrak kental. Ekstrak yang kental selanjutnya difraksinasi cair-cair dengan menggunakan 50 ml n-heksana dan 50 ml air destilasi sebanyak tiga kali menggunakan corong pisah sehingga membentuk dua lapisan cairan yang terpisah secara nyata. Fraksi n-heksana dipisahkan dari fraksi beratnya dan dikumpulkan dalam wadah yang berbeda. Fraksi berat yang diperoleh difraksinasi cair-cair kembali dengan 50 ml etil asetat sebanyak tiga kali menggunakan corong pisah hingga membentuk dua lapisan cair secara nyata. Fraksi etil asetat dipisahkan dari fraksi airnya dan dikumpulkan dalam wadah yang berbeda. Kemudian untuk memperoleh ekstrak cair dimana fraksi pekat yang diperoleh dari hasil fraksinasi etanolik masing-masing disuspensikan dalam larutan aquades sehingga dalam 100 ml pelarut mengandung 1 gram faksinasi (1000 ppm) yang disebut larutan induk cair (Aji, 2010 ; Kemenkes RI, 2011). Larutan induk inilah kemudian di lakukan pengujian.

### Uji Repelen Terhadap Nyamuk *Aedes aegypti*.

Setiap jenis ekstrak dilakukan pengujian terhadap nyamuk, dan cara menentukan dosis atau konsentrasi ekstrak berdasarkan deret ukur. Ulangan dalam pengujian baik perlakuan maupun kontrol sebanyak 3 (tiga) dan masing - masing ulangan berisi 25 ekor nyamuk *Aedes aegypti*. Cara pengujian, setiap kurungan diisi 25 ekor nyamuk betina dalam keadaan lapar, kedua tangan dimasukkan dalam kurungan secara bergantian (mulai pergelangan tangan kiri diberi olesan ekstrak sebanyak 10 cc dan tangan kanan sebagai kontrol). Kedua tangan dipaparkan pada nyamuk 5 menit setiap jamnya dan dilakukan selama 6 jam (Boewono, 2009). Hasil penelitian ekstrak dikatakan efektif jika daya tolak terhadap gigitan nyamuk > 80%, dan dinyatakan tidak efektif jika daya tolak < 80%. (Kemenkes RI, 2000 ; WHO, 1981).

### Analisis Data

Data hasil peneitian berupa daya proteksi ekstrak terhadap gigitan nyamuk diperoleh dari rumus:

$DP = (K-P)/K \times 100 \%$ , dimana K= jumlah nyamuk yang hinggap di tangan kontrol, P = jumlah nyamuk

yang hinggap di tangan yang diberi olesan, dan DP = daya tolak terhadap gigitan nyamuk. Hasil penghitungan daya proteksi akan diuji statistik, yaitu *t-test* untuk mengetahui beda yang nyata antara semua ekstrak (Kemenkes RI, 2010).

**HASIL**

Telah dilakukan penelitian tentang beberapa ekstrak tumbuhan sebagai repelen terhadap nyamuk *Aedes aegypti*, dengan hasil sebagai berikut: Ekstrak daun Zodia dosis 100% mampu menolak 88,6 % gigitan nyamuk selama 1 jam; 88,2 % selama 2 jam, 84,5 % selama 3 jam, 80 % dan pada uji jam ke-4 sampai ke-6, daya tolaknya sudah dibawah 80%. Ekstrak daun tembakau dosis 100% efektif digunakan sebagai repelen selama tiga jam, yaitu mampu menolak 92,0 % gigitan nyamuk selama 1 jam; 88,3 % selama 2 jam; 84,9% selama 3 jam, sedangkan daya tolak pada jam ke-4 sampai ke-6 sudah < 80%. Ekstrak daun gondopuro efektif memiliki daya tolak terhadap gigitan nyamuk hanya selama 1 jam, yaitu dosis 100% mampu menolak 83,3 % gigitan nyamuk, sedangkan pada jam ke-2 hingga jam ke-6 daya tolaknya sudah dibawah 80%. Ekstrak daun suren tidak efektif digunakan sebagai repelen karena dosis 100% hanya mampu menolak 63,7 % gigitan nyamuk pada 1 jam pertama dan pada jam ke-2 hingga jam ke-6 daya tolaknya dibawah 50%. Ekstrak batang Serai Wangi efektif sebagai repelen selama dua jam, yaitu dosis 100% mampu menolak 95,5% gigitan nyamuk selama 1 jam, 85,1 % selama 2 jam, sedangkan pada jam ke-3 sampai jam ke-6 daya tolaknya < 80%. Ekstrak daun cengkeh efektif digunakan sebagai repelen selama empat jam, yaitu dosis 100 % mampu menolak 93,5% gigitan nyamuk selama 1 jam; 86,9% selama 2 jam; 83,7% selama 3 jam; 81,7% selama 4 jam, dan pada jam ke-5 dan ke-6 daya tolaknya 76,7% dan 51,9%. Ekstrak akar tuba tidak efektif digunakan sebagai repelen karena daya tolaknya terhadap gigitan nyamuk dosis 100%

dibawah 80%. Ekstrak bunga krisan hanya efektif sebagai repelen pada satu jam pertama pengujian yaitu dosis 100 % mampu menolak gigitan nyamuk 89,6%, sedangkan pada jam ke-2 sampai jam ke-6 daya tolaknya <80%. Ekstrak daun Lavender juga tidak efektif digunakan sebagai repelen karena dosis 100% daya tolaknya terhadap gigitan serangga < 80%. Data dapat dilihat pada Tabel 1.

**PEMBAHASAN**

Penggunaan insektisida dalam upaya pemerintah untuk mengatasi penyakit tular vektor masih menjadi prioritas. Penggunaan insektisida di bidang kesehatan, khususnya yang berasal dari bahan kimia masih luas penggunaannya di Indonesia. Adapun berbagai bahan aktif insektisida yang saat ini masih ada di pasaran, sebagai metode pengendalian serangga penular penyakit antara lain adalah *Organophosphat*, *Organochlorin*, *Carbamat* dan *Pyrethroid*. (Kemenkes RI,2010) Indonesia merupakan daerah tropis dan terdapat ribuan jenis tumbuh-tumbuhan yang dapat dimanfaatkan khususnya dibidang kesehatan manusia. Salah satu manfaat dari tumbuh-tumbuhan adalah penggunaannya sebagai pestisida dari tanaman. Penggunaan tanaman sebagai pestisida sudah lama dikenal di dunia serangga pertanian, khususnya untuk mengusir serangga dan hama di pertanian. Jenis tanaman yang telah dilakukan pengujian sebagai repelen terhadap nyamuk *Aedes aegypti* dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: Ekstrak Zodia (*Evodia suaveolens*), diambil dari daun Zodia yang merupakan tanaman herba, tumbuh subur di ketinggian 400-1.000 m dari permukaan laut. Di Indonesia persebarannya banyak ditemukan di Papua dan pada umumnya masyarakat papua terbiasa menggosok kulitnya dengan dedaunan zodia sebelum masuk ke hutan agar terlindungi dari serangan serangga. Ekstrak daun Zodia dosis 100% mampu menolak 88,6 % gigitan nyamuk selama 1 jam, 88,2 % selama 2 jam, 84,5 % selama 3

**Tabel 1. Rata-rata persentase daya tolak beberapa jenis tumbuhan terhadap gigitan nyamuk *Aedes aegypti***

No	Ekstrak Dosis 100%	Jumlah rata-rata persentase daya tolak gigitan nyamuk per jam pengamatan					
		1 jam	2 jam	3 jam	4 jam	5 jam	6 jam
1	Daun Serai Wangi	95,5	85,1	76,5	69,2	53,5	29,5
2	Daun Cengkeh	93,5	86,9	83,7	81,7	76,7	51,9
3	Daun Tembakau	92,0	88,3	84,9	78,8	76,3	66,1
4	Bunga Krisan	89,6	76,3	63,0	59,1	47,5	43,6
5	Daun Zodia	88,6	88,2	84,5	80	77,1	73,5
6	Daun Gondopuro	83,3	66,3	61,3	44,1	29,2	21,6
7	Daun Lavender	72,0	55,3	30,4	22,5	21,6	17,9
8	Akar Tuba	65,5	33,5	27,9	21,7	20,8	18,8
9	Daun Suren	63,7	45,0	44,0	39,2	36,6	32,9

jam, 80 % selama 4 jam, 77,1 % selama 5 jam, dan 73,5 % selama 6 jam. Daya tolak gigitan nyamuk pada ekstrak daun Zodia kemungkinan karena disebabkan oleh zataktif yang mengandung linalol dan apinene sebagai cairan pengusir nyamuk. (Sastrohamidjojo, 2004) Selain itu tanaman zodia menghasilkan aroma yang cukup tajam karena mengandung *evodiamine* dan *rutaecarpine* sehingga tidak disukai serangga, daun zodia terasa pahit, kadang-kadang digunakan sebagai obat tradisional, sebagai tonik untuk menambah stamina tubuh, sementara rebusan kulit batangnya bermanfaat sebagai pereda demam malaria (Sugati, 1991). Ekstrak Tembakau (*Nicotina tabacum L*) diperoleh dari bahan daun tembakau yang merupakan tanaman herba dan tumbuh subur di dataran rendah 100-300 dari permukaan laut. Penyebaran tumbuhan tembakau di Indonesia terutama di Pulau Jawa dan Sumatra. Daun tembakau mengandung bahan aktif berupa zat Nikotin yang merupakan zat alkaloid (Boesri, 2012). Ekstrak daun tembakau untuk repelen dosis 100% mampu menolak 92,0 % gigitan nyamuk selama 1 jam, 88,3 % selama 2 jam, 84,9% selama 3 jam, 78,81 % selama 4 jam, 76,3 % selama 5 jam, dan 66,1 % selama 6 jam. Daya tolak yang disebabkan oleh ekstrak tembakau kemungkinan karena adanya zat nikotin, karena dalam bidang pertanian digunakan sebagai pestisida. Selain itu bahan aktif yang ada dalam daun tembakau antara lain terdiri dari zat alkaloid dan telah diketahui memiliki sifat farmakologi, seperti efek stimulan yang dapat meningkatkan tekanan darah dan detak jantung dan dalam bentuk nikotin tartrat dapat digunakan sebagai obat penenang. Selain itu ekstrak tembakau juga mampu membunuh jentik nyamuk *Ae. aegypti*. Ekstrak Gondopuro (*Gaultheria fragrantissima*), diperoleh dari bahan daun yang merupakan tanaman perdu dan banyak tumbuh di lereng-lereng pegunungan dan baik tumbuh pada daerah dataran tinggi sampai diatas 3000 m dari permukaan laut. Persebaran tumbuhan Gondopura banyak ditemukan di lereng-lereng pegunungan di Indonesia. Hasil uji ekstrak daun gondopuro dosis 100% mampu menolak 83,3 % gigitan nyamuk selama 1 jam; 66,3 % selama 2 jam; 61,3% selama 3 jam; 44,1 % selama 4 jam; 29,2 % selama 5 jam, dan 21,6 % selama 6 jam. Daya tolak terhadap gigitan nyamuk kemungkinan disebabkan oleh bahan aktif yang ada di daun gondopura seperti senyawa saponin dan masyarakat banyak menggunakan sebagai penghilang rematik (rasa sakit). Ekstrak Suren (*Toona surenil Merr*) diperoleh dari bahan daun dan merupakan tanaman tinggi dan berkayu dan tumbuh subur di dataran rendah hingga ketinggian 2.000m dari permukaan laut. Persebaran Suren secara alami di Sumatera, Kalimantan

Timur, Sulawesi Utara dan Selatan, Maluku, Bali, Nusa Tenggara Barat serta Papua. Meskipun hasil uji ekstrak daun suren dosis 100% hanya mampu menolak 63,7 % gigitan nyamuk selama 1 jam; 45,0 % selama 2 jam; 44,0 % selama 3 jam; 39,2 % selama 4 jam; 36,6 % selama 5 jam, dan 32,9 % selama 6 jam, namun dibidang pertanian penggunaan suren sebagai penolak serangga sudah banyak diaplikasikan, seperti penanaman suren dipinggir sawah dapat menghalau walang sangit. Daya tolak dari ekstrak daun suren disebabkan oleh zat aktif misalsurenon, surenindan surenolakton (Kardinan, 2003). Sebab di bidang pertanian minyak suren dapat digunakan sebagai pengusir serangga dan bahan aktif surenon, surenin dan surenolakton berperan sebagai penghambat pertumbuhan, insektisida, menghambat daya makan larva serangga dan pengusir serangga. Ekstrak daun Serai Wangi dosis 100% mampu menolak 95,5% gigitan nyamuk selama 1 jam; 85,1 % selama 2 jam; 76,5 % selama 3 jam; 69,2 % selama 4 jam; 53,5 % selama 5 jam, dan 29,5 % selama 6 jam. Adanya daya tolak gigitan nyamuk kemungkinan disebabkan karena komponen ekstrak serai wangi terdiri dari: geraniol, sitronelol, sitronelal, dan sitral. Sitronelol dan geraniol adalah bahan yang dapat digunakan sebagai penolak serangga (Kardinan, 2003). Ekstrak Cengkeh (*Zysygium aromaticum*), di peroleh dari daun tanaman cengkeh. Tanaman cengkeh merupakan tanaman tinggi, berkayu dan dapat tumbuh subur di daerah tropis dengan ketinggian 600-1.100 m dpl dan penyebaran di Indonesia. Hasil uji ekstrak daun cengkeh dosis 100 % mampu menolak 93,5% gigitan nyamuk selama 1 jam; 86,9% selama 2 jam; 83,7% selama 3 jam; 81,7% selama 4 jam; 76,7% selama 5 jam, dan 51,9% selama 6 jam. Adanya daya tolak terhadap gigitan nyamuk karena ekstrak cengkeh mengandung 70-93% eugenol ( $C_{10}H_{12}O_2$ ). Eugenol sudah terbukti sebagai anti jamur, antiseptik, dan anti serangga sehingga sangat cocok untuk digunakan sebagai repelen. Ekstrak Tuba (*Derris elliptica Roxb*) diperoleh dari akar tuba, tanaman tuba merupakan tanaman menjalar dan berkayu, tumbuh subur di daerah rawa pada ketinggian rendah dan tinggi termasuk anggota suku *Fabaceae (Leguminosae)*. Tuba ada beberapa jenis antara lain: *Derris trifoliata Lour.*, dikenal sebagai tuba laut, *D. elliptica*. *D. trifoliata*, dahulu dikenal sebagai *D. heterophylla Back.*, biasa didapati di hutan-hutan bakau dan hutan pantai. Tumbuhan Tuba hidup di dataran rendah hingga ketinggian sampai 1.500 m dpl. Penyebaran Indonesia, Bangladesh, Asia Tenggara, dan beberapa kepulauan di Pasifik. Ekstrak akar tuba dosis 100% mampu menolak 65,5 % gigitan nyamuk selama 1 jam, 33,5 % selama 2 jam; 27,9% selama 3 jam, 21,7 % selama 4 jam, 20,8 % selama 5 jam, dan 18,8 %

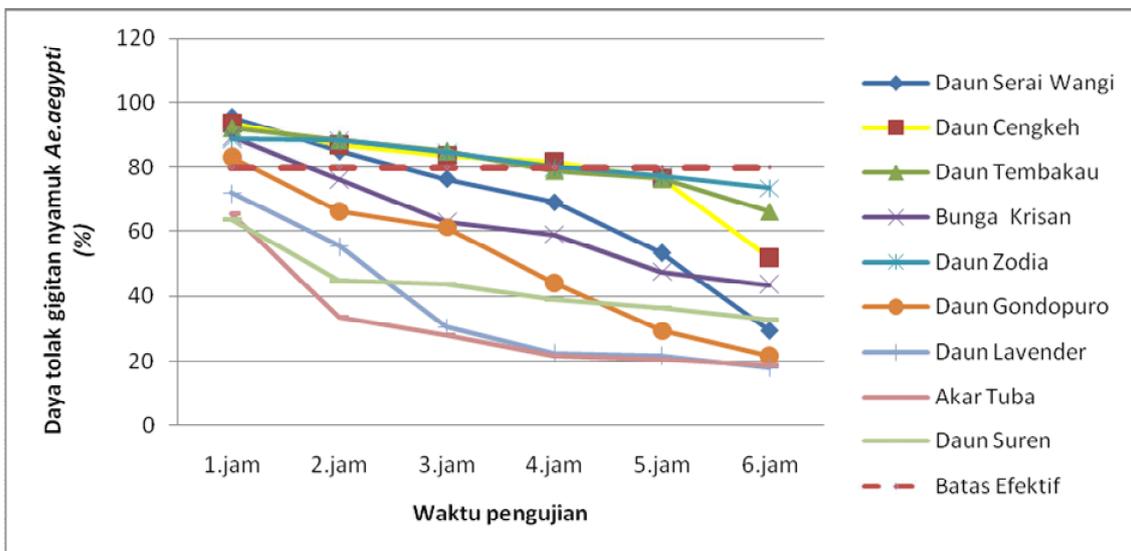
selama 6 jam. Daya tolak terhadap gigitan nyamuk, kemungkinan disebabkan karena ekstrak akar tuba memiliki kandungan rotenon (*rotenon*), sejenis racun kuat untuk ikan dan serangga (insektisida). Bahan aktif ditemukan pada tanaman tuba dengan kadar antara 8 – 11%. Pada perkembangan selanjutnya, racun tuba dimanfaatkan pula sebagai insektisida untuk mengatasi kutu - kutu dan ulat yang menjadi hama di perkebunan. Akar Tuba mengandung metabolit sekunder yaitu rotenon ( $C_{23}H_{22}O_6$ ) yang merupakan racun perut dan kontak yang telah banyak diteliti sebagai insektisida (Kemenkes RI,1996 dan 2000). Ekstrak krisan (*Chrysanthemum cinerariaefolium* Trev) yang diperoleh dari bunga dan tanaman ini merupakan tanaman bunga hias, perdu dengan sebutan lain Seruni atau Bunga emas (*Golden Flower*) berasal dari dataran Cina, tingginya 20-40 cm dan tumbuh subur pada daerah ketinggian 600-3000m dpl. Manfaat krisan yaitu untuk obat jerawat, mengobati panas dalam, influenza, sakit tenggorokan dan sebagai racun serangga. Hasil uji ekstrak krisan dosis 100 % mampu menolak gigitan nyamuk 89,6% selama 1 jam, 76,3% selama 2 jam, 63,0% selama 3 jam, 59,1% selama 4 jam, 47,5% selama 5 jam, dan 43,6% selama 6 jam. Daya tolak terhadap gigitan nyamuk sangat baik, karena dalam ekstrak bunga krisan mengandung *pyrethrin* yang sudah lama terbukti sebagai insektisida. Ekstrak Lavender (*Lavandula latifolia* Chaix), yang diperoleh dari daun merupakan tanaman semak dan tumbuh subur di daerah dengan ketinggian 500-1.300 m dpl. Penyebaran di seluruh Indonesia, manfaat sebagai bahan kosmetika, pewangi, sabun, parfum, dan penolak serangga. Hasil Uji Ekstrak daun lavender

dosis 100 % mampu menolak 72,0% gigitan nyamuk selama 1 jam, 55,3% selama 2 jam, 30,4% selama 3 jam, 22,5% selama 4 jam, 21,6% selama 5 jam, dan 1,9% selama 6 jam. Daya tolak terhadap gigitan nyamuk karena adanya zat aktif yang ada daun terdiri dari linalool dan linalool asetat yang dikenal sebagai anti serangga (Dodia,2008) seperti tampak pada Gambar 1.

Kemampuan jenis tanaman untuk menolak gigitan nyamuk berbeda-beda tergantung dari kandungan zat aktif yang ada dalam tumbuhan itu sendiri, ada yang mampu mengusir karena bau yang menyengat, sehingga tidak disukai nyamuk. Pengujian dilakukan selama 6 jam, ternyata ada perbedaan yang nyata antara tiap-tiap ekstrak tumbuhan untuk menolak gigitan nyamuk (  $P < 0,05$  ) dengan uji *t-test*. Prospek yang akan datang perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang pemisahan zat yang ada dalam ekstrak, guna untuk mengetahui zat apa yang berperan dalam penolakan gigitan nyamuk.

### KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak tumbuhan dosis 100% yang mampu menolak gigitan nyamuk perjam diatas 80% adalah sebagai berikut: ekstrak daun Zodia mampu menolak sampai 2 jam sebanyak 84,5%, ekstrak daun tembakau mampu menolak selama 3 jam sebanyak 84,9%, ekstrak daun gondopuro mampu menolak selama 1 jam sebanyak 83,3%, ekstrak daun serai wangi mampu menolak selama 2 jam sebanyak 85,1%. Ekstrak daun cengkeh mampu menolak selama 4 jam sebanyak 81,7% . Ekstrak krisan mampu menolak selama 1 jam sebanyak 89,6%, Sedangkan ekstrak tumbuhan yang hanya mempunyai



Gambar 1. Daya tolak ekstrak terhadap gigitan nyamuk *Ae.aegypti*

kemampuan menolak gigitan nyamuk *Aedes aegypti* di bawah 80 % adalah ekstrak daun suren, akar tuba dan lavender. Perlu adanya penelitian lanjut mengenai pemecahan bahan aktif dari bahan ekstrak tumbuhan yang sangat efektif menolak gigitan nyamuk *Aedes aegypti*.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Atas terselenggaranya penelitian ini kami tak lupa mengucapkan syukur Alhamdulillah karena hanya dengan ridhoNya maka kami dapat menyelesaikan tulisan ini. Terima kasih kepada Kepala Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor Penyakit (B2P2VRP) Salatiga atas bimbingan dan arahnya selama ini. Terima kasih juga kami sampaikan kepada segenap pihak baik yang terlibat langsung maupun tidak langsung atas segala bantuannya. Semoga hasil dapat memberikan informasi yang berguna dikelak kemudian hari.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Aji, M.T. "Teknik Ekstraksi dan Aplikasi Beberapa Pestisida Nabati Untuk Menurunkan Palatabilitas Ulat Grayak (*Spodoptera litura* Fabr.) di Laboratorium." *Bulletin Teknik Pertanian*. Vol.15. No.1. Tahun 2010.
- Damar Tri Boewono dan Hasan Boesri. Pedoman teknis Uji Insektisida. Balai Besar Penelitian dan pengembangan vektor dan reservoir penyakit. Salatiga. 2009.
- Dodia, D.A, I.S. Patel and G.M. Patel. *Botanical Pesticides for Pest Management*. Scientific Publisher. India. 2008.
- Kardinan, A. *Tanaman Pengusir dan Pembasmi Nyamuk*. Agromedia Pustaka. Bogor. 2003.
- Kemenkes. R.I. Tinjauan hasil penelitian Tanaman obat di berbagai institusi. Pusat penelitian dan pengembangan farmasi. Badan Penelitian dan pengembangan kesehatan. 1996.
- Kemenkes RI. R.I. Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat. Direktorat Jendral Pengawasan obat dan makanan. Direktorat pengawasan obat tradisional. Jakarta 2000.
- Kemenkes. R.I. Rencana Strategis Program Pemberantasan Penyakit Bersumber Binatang (PPBB). Ditjen PPM dan PLP. Jakarta. 2000.
- Rudy C. Tarumingkeng. *Pengantar Toksikologi Insektisida*. Fakultas Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. 1989
- Raina. *Ensiklopedi Tanaman Obat untuk kesehatan*. Cetakan 1. Yogyakarta Absolut. 2011
- Sastrohamidjojo, H. "Kimia Minyak Atsiri." Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. 2004
- Sugati, S.S. dan Johny R.H. "Inventarisasi Tanaman Obat Indonesia." Depkes RI. 1991.
- Susanti, L dan Hasan B. "Toksisitas Biolarvasida Ekstrak Tembakau dibandingkan Dengan Ekstrak Zodia Terhadap Jentik Vektor DBD (*Aedes aegypti*). Vol 1, Media Litbang. 2012
- WHO. Instructions for determining the susceptibility or resistance of adult mosquitoes to organochlorine organophosphate and carbamate insecticides. Diagnostic Test WHO/VBC/81.806.1981. Page 3-5

## PREVALENSI TIKUS TERINFEKSI *Leptospira interrogans* DI KOTA SEMARANG, JAWA TENGAH

Ristiyanto\*✉, dan Tri Wibawa\*\*, Setyawan Budiharta\*\*\*, Supargiono\*\*\*\*

\*Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit  
Jl. Hasanudin No. 123 Salatiga, Jawa Tengah, Indonesia

\*\*Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

\*\*\*Bagian Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada,  
Yogyakarta

\*\*\*\*Bagian Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

Email : ristiyanto.salatiga@gmail.com

## PREVALENCE OF INFECTED RATS WITH *Leptospira interrogans* IN SEMARANG CITY, CENTRAL JAVA

Naskah masuk : 11 Juni 2015 Revisi 1 : 15 Juni 2015 2015 Revisi 2 : 15 September 2015 Naskah diterima : 30 September 2015

### Abstrak

*Leptospirosis* merupakan zoonosis. Penyakit ini sering dijumpai di daerah perkotaan terutama yang sering dilanda banjir. Manusia terinfeksi bakteri *Leptospira* melalui air atau tanah yang terkontaminasi dengan urin atau cairan tubuh inang reservoir. Tikus adalah inang reservoir *leptospirosis*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui populasi tikus yang terinfeksi *Leptospira* dan interaksi antara pasien suspek *leptospira* dengan tikus Kota Semarang, Jawa Tengah. Selain itu dilakukan pula identifikasi serovar *Leptospira* pada tikus di Kota Semarang, Jawa Tengah. Jenis penelitian adalah potong lintang (cross sectional). Dilakukan pengamatan di rumah dan lingkungan tempat tinggal 68 kasus *leptospirosis*. Penangkapan tikus menggunakan perangkap hidup sejumlah 100 buah. Pemasang perangkap di dalam dan di luar rumah selama 3 hari. Tikus yang tertangkap diidentifikasi dan diambil serum darahnya untuk mengetahui serovar *Leptospira* dengan uji MAT. Seluruh 68 kasus *leptospirosis* dari Rumah Sakit di Kota Semarang memiliki riwayat interaksi dengan tikus. Prevalensi tikus terinfeksi bakteri *leptospira* untuk tikus got (*R. norvegicus*) 33,43% dan tikus rumah (*R. tanezumi*) 13,69%. Serovar *Leptospira* yang diidentifikasi pada tikus got (*R. norvegicus*) adalah Djasiman (40,55% dari 27 ekor), *Icterohaemorrhagiae* (22,22%), *Autumnalis* (20,35) dan *Bataviae* (16,68%). Sementara pada tikus rumah (*R. tanezumi*) dapat diidentifikasi serovar *Autumnalis* (66,67% dari 3 ekor) dan *Bataviae* (33,33%). Hal ini menunjukkan bahwa tikus merupakan reservoir penting dari *leptospirosis*. Penelitian ini menunjukkan bahwa tikus got (*R. norvegicus*) dan tikus rumah (*R. tanezumi*) memiliki potensi besar untuk menjadi vektor penularan bakteri *Leptospira* di Kota Semarang.

**Kata Kunci** : *Leptospirosis*, Tikus, Faktor Risiko, Semarang

### Abstract

*Leptospirosis* is a zoonosis. The disease is often found in urban areas, especially the frequent flooding. Humans infected with *Leptospira* bacteria through water or soil contaminated with urine or body fluids of the host reservoir. Rats are the reservoir host of *leptospirosis*. This study aims to determine the population of mice infected with *Leptospira* and interactions between patients with suspected *leptospirosis* with rats Semarang, Central Java. In addition it also conducted in mice *Leptospira* serovar identification in Semarang, Central Java. This type of research is potong lintang (cross-sectional). Observation at home and living environment 68 cases of *leptospirosis*. Catching mice using live traps some 100 pieces. Trapper inside and outside the house for 3 days. Mice that were caught were identified and taken to determine blood serum test *leptospira* serovar MAT. The whole 68 cases of *leptospirosis* Hospital in Semarang has a history of interaction with the rats.

*Prevalence of mice infected with the bacteria leptospira for sewer rat (R. norvegicus) 33.43% and the house mouse (R. tanezumi) 13.69%. Leptospira serovar identified in rats (R. norvegicus) is Djasiman (40.55% of 27 animals), Icterohaemorrhagie (22.22%), autumnalis (20.35) and Bataviae (16.68%). While at the house mouse (R. tanezumi) can be identified serovar autumnalis (66.67% of 3 tail) and Bataviae (33.33%). This shows that rats are an important reservoir of leptospirosis. This study shows that rats (R. norvegicus) and mice (R. tanezumi) has great potential to be a vector of transmission of the bacteria Leptospira in Semarang.*

**Keyword :** Leptospirosis, Rats, Risk Factor, Semarang

## PENDAHULUAN

Leptospirosis disebabkan oleh infeksi *Leptospira* patogenik. Secara global penyakit ini merupakan zoonosis penting, karena mempengaruhi kesehatan manusia di daerah pedesaan dan perkotaan, baik di negara-negara industri dan berkembang (Bharti dkk., 2003; Levett, 2001; McBride dkk, 2005). Penularan *Leptospira* patogenik ke manusia terjadi melalui kontak langsung dengan air atau tanah yang tercemar oleh urin hewan terinfeksi *Leptospira* patogenik (Faine dkk, 1999). Leptospirosis telah menjadi masalah kesehatan masyarakat di Asia dan Amerika Latin.

Di daerah tropis, wabah leptospirosis sering terjadi setelah banjir, badai atau bencana lainnya. Angka insidensi leptospirosis di negara beriklim tropis lebih tinggi daripada di negara beriklim subtropis dan daerah beriklim dingin (Rocha, 2004). Menurut Fraga (2010) angka mortalitas leptospirosis di dunia melebihi 10% per tahun. Wabah atau kejadian luar biasa (KLB) leptospirosis di wilayah Asia Tenggara telah dilaporkan dari Indonesia (tahun 2002), Mumbai, India (tahun 2005), dan Sri Lanka (tahun 2008), sedangkan wabah leptospirosis musiman (setiap musim hujan) dilaporkan dari Thailand bagian Utara dan Gujarat, India (Fraga, 2010). Di Indonesia, wabah leptospirosis tahun 2002-2012 dilaporkan dari beberapa Provinsi di Indonesia yaitu, Jawa Barat, Jawa Tengah, Sulawesi Selatan, D.I. Yogyakarta, Jawa Timur, Bengkulu, dan Kepulauan Riau (Widarso dkk., 2008). Di Provinsi Jawa Tengah, jumlah kasus dan kematian karena leptospirosis cenderung meningkat setiap tahunnya. Tahun 2002-2004, kasus leptospirosis relatif terbatas ditemukan di Kota Semarang. Tahun 2005-2006, kasus leptospirosis dilaporkan dari Kabupaten Demak dan Klaten. Tahun 2007, kasus leptospirosis menyebar di Kabupaten Purworejo. Tahun 2007-2012, kasus leptospirosis telah dilaporkan dari Kabupaten Boyolali, Banyumas, Cilacap, dan Magelang. Kota Semarang merupakan daerah paling sering ditemukan kasus leptospirosis berat, disertai dengan kematian daripada di daerah kabupaten/kota lain. Saat ini penyebaran dan peningkatan kasus leptospirosis

sulit diprediksi dan dikendalikan. (Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Tengah, 2012).

Wabah leptospirosis pada umumnya terjadi pada masyarakat kumuh miskin di perkotaan (Johnson dkk, 2004). Hasil penyelidikan epidemiologi Dinas Kota Semarang, menunjukkan bahwa kasus leptospirosis pada umumnya adalah para pekerja kasar (buruh, tukang sampah dll) dan pengangguran/tidak bekerja. Selain itu, ditemukan pula kasus leptospirosis yang memelihara anjing (Kasie P2M PL Din. Kes. Kota Semarang, 2013). Hewan peliharaan seperti anjing berpotensi sebagai sumber penular (Koizumi dkk., 2009). Hasil penelitian Husein dkk. (2002), menemukan bakteri *Leptospira* serovar Canicola pada pasien leptospirosis dan anjing peliharaannya. Sedangkan hasil penelitian Ramadhani dan Sholichah. (2010), menunjukkan bahwa tikus rumah (*Rattus tanezumi*) dan tikus got (*R. norvegicus*) positif mengandung bakteri *Leptospira* patogenik (*Leptospira interrogans*) serovar Icterohaemorrhagiae, Bataviae dan Autumnalis.

Penanggulangan leptospirosis telah dilakukan oleh Dinas Kesehatan Kota Semarang adalah penyelidikan epidemiologi (PE) di sekitar tempat tinggal penderita, ceramah klinik leptospirosis bagi dokter Puskesmas dan Rumah Sakit, pertemuan leptospirosis bagi petugas Pemberantasan Penyakit Bersumber Binatang (P2B2) dan petugas Surveilans Puskesmas, penyediaan dan pelatihan *rapid diagnostic test* (RDT) bagi Puskesmas, penyuluhan kesehatan kepada masyarakat tentang leptospirosis, penapisan leptospirosis di tempat pembuangan sampah dan di daerah rawan banjir, serta rapat koordinasi di lokasi kejadian luar biasa (KLB) leptospirosis bagi Puskesmas. Walaupun telah dilakukan penanggulangan leptospirosis tersebut di atas, namun kasus leptospirosis masih sering ditemukan dan menimbulkan kematian. Makalah ini melaporkan tentang prevalensi tikus yang terinfeksi *Leptospira* patogenik serta gambaran serovar *Leptospira* yang bersirkulasi pada tikus di Kota Semarang, tahun 2014. Penelitian ini menunjukkan bahwa tikus got (*R. norvegicus*) dan tikus rumah (*R. tanezumi*) memiliki potensi besar sebagai vektor penyebaran *Leptospira* di Kota Semarang.

## BAHAN DAN METODE

### Subjek Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian epidemiologi analitik dengan rancangan penelitian potong lintang (*Cross sectional study*) yang dilakukan di Kota Semarang, Jawa Tengah. Penelitian dilakukan meliputi 16 wilayah kecamatan di Kota Semarang yang dilaksanakan pada Mei-November 2014. Pada penelitian ini dilakukan pengamatan pada rumah dan lingkungan tempat tinggal 68 kasus leptospirosis terkonfirmasi yang dirawat di Rumah Sakit di Kota Semarang, dilanjutkan dengan penangkapan tikus.

### Pengambilan Sampel Tikus

Di setiap lokasi, penangkapan tikus menggunakan 100 perangkap tikus (*live trap*) yang dilakukan selama 3 hari berturut-turut selama penelitian. Penangkapan tikus dilakukan dengan memasang perangkap pada sore hari mulai pukul 16.00 WIB kemudian perangkapnya diambil keesokan harinya antara pukul 06.00 – 09.00 WIB. Penangkapan di dalam rumah, digunakan 2 buah perangkap. Peletakan perangkap di dapur atau di kamar. Perangkap diletakkan di tempat yang diperkirakan sering dikunjungi tikus. Penangkapan tikus di luar rumah/kebun (50 perangkap), tiap area luasnya lebih kurang 10 m<sup>2</sup> dipasang 1 perangkap. Umpan yang digunakan adalah kelapa bakar yang diganti 2 hari sekali. Tikus yang tertangkap segera dimasukkan ke dalam kantong kain.

### Pengambilan Serum Darah Tikus

Sebelum diambil darahnya tikus dianestesi terlebih dahulu menggunakan ketamine HCl dengan dosis 50-100 mg/kg berat badan. Obat anastesi tersebut diberikan secara intramuskular dengan syringe needle 21 G. Anestesi terjadi selama 20 – 40 menit setelah penyuntikan, dan recovery sempurna tercapai setelah 1,5 jam. Pengambilan darah tikus melalui jantung. Darah yang diambil dimasukkan ke dalam tabung dan disentrifuge selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Serum yang terbentuk diambil dengan pipet steril dan dimasukkan dalam vial.

### Cara kerja identifikasi tikus

Tikus yang telah diambil darahnya diidentifikasi dengan kunci identifikasi dengan mengukur berat badan, menghitung jumlah puting susu, mengukur panjang total, panjang ekor, panjang telapak kaki belakang dan panjang telinga. Dilihat pula warna dan jenis bulu serta warna dan panjang ekor (Suyanto, 2000).

### Pemeriksaan MAT

Secara umum pemeriksaan MAT dilakukan dengan melakukan pengenceran serum dari 1:10 sampai pengenceran 1:1280. Pembacaan hasil dengan melihat ada tidaknya aglutinasi. Pembacaan titer tertinggi dengan melihat aglutinasi dan *Leptospira* bebas masing-masing 50%. Serovar yang diujikan Bangkinang, Canicola, Djasiman, Gryppotyphasa, Hebdomadis, Icterohaemorrhagie, Robinsoni, Salinem, Bataviae, Mini, Sarmin, Hardjo, Pomona. Hasil pemeriksaan pada tikus dinyatakan positif *Leptospira* jika titer  $\geq$  1:20.

### Analisis Data

Data dianalisis dengan menggunakan uji eksak Fisher untuk mengetahui hubungan antara kasus leptospirosis dengan keberadaan tikus.

## HASIL

### A. Karakteristik Kota Semarang

Kota Semarang merupakan ibu kota Provinsi Jawa Tengah. Secara geografis, terletak diantara 109<sup>o</sup> 35' - 110<sup>o</sup> 50' Bujur Timur dan 6<sup>o</sup> 50' - 7<sup>o</sup> 10' Lintang Selatan. Batas wilayah Kota Semarang adalah sebelah Utara berbatasan dengan Laut Jawa, sebelah Selatan berbatasan dengan wilayah Kabupaten Semarang, sebelah Timur berbatasan dengan wilayah Kabupaten Demak dan Kabupaten Grobogan, serta sebelah Barat berbatasan dengan wilayah Kabupaten Kendal (Gambar 1).

Topografi Kota Semarang terdiri atas daerah pantai, dataran rendah, dan perbukitan. Kawasan bagian utara Kota Semarang merupakan daerah pantai. Ketinggian tempat bervariasi antara 0-3,5m di atas permukaan laut. Dataran rendah sangat sempit, yaitu sekitar 4 kilometer dari garis pantai dikenal dengan sebutan Kota Bawah. Kawasan tersebut sering dilanda banjir, disebabkan luapan air laut (rob). Daerah perbukitan merupakan kawasan bagian Selatan, ketinggian tempat antara 90-200 m dpl, dikenal dengan sebutan Kota Atas. Kota Atas meliputi Kecamatan Candisari, Mijen, Gunungpati, Tembalang dan Banyumanik.

Kota Semarang beriklim tropis dengan dua musim, yaitu musim kemarau pada bulan April-September dan musim penghujan antara bulan Oktober-Maret. Curah hujan tahunan rata-rata sebesar 2.790 mm, suhu udara berkisar antara 23<sup>o</sup>C-34<sup>o</sup>C, dengan kelembaban udara tahunan rata-rata 77%.

Kota Semarang dalam suatu sistem hidrologi, merupakan kawasan yang berada pada kaki bukit Gunung Ungaran, mengalir beberapa sungai yang tergolong besar seperti Kali Besole, Kali Beringin, Kali Silandak,

Kali Siangker, Kali Kreo, Kali Kripik, Kali Garang, Kali Candi, Kali Bajak, Kali Kedungmundu, Kali Penggaron. Kota Semarang merupakan daerah hilir, daerah limpahan debit air dari sungai yang melintas. Karakteristik kontur wilayah berbukit dengan perbedaan ketinggian yang sangat curam, sehingga pada musim penghujan, air hujan di daerah hulu akan sangat cepat mengalir ke daerah hilir dan mengakibatkan banjir.

Luas wilayah Kota Semarang 373,70 km<sup>2</sup> dan secara administratif terbagi menjadi 16 Kecamatan, terdiri dari 117 Kelurahan. Pola tata guna lahan terdiri dari perumahan, tegalan, kebun campuran, sawah, tambak, hutan, perusahaan, jasa, industri dan penggunaan lainnya. Luas area pemukiman sebesar 33,70%, tegalan sebesar 15,77%, kebun campuran sebesar 13,47%, sawah sebesar 12,96%. Luas tataguna lahan lainnya meliputi jalan, sungai, tanah kosong 8,25%, tambak 6,96%, hutan 3,69%, area perusahaan 2,42%, area bangunan jasa 1,52% dan industri 1,26%.

## B. Interaksi Pasien Leptospirosis dengan Tikus Di Kota Semarang

Semua pasien suspek leptospirosis yang dikonfirmasi dengan rapid diagnosis test (68) menyatakan bahwa tikus berada di lingkungan tempat tinggal dan tempat bekerjanya. Interaksi antara suspek penderita leptospirosis dapat dilihat pada Tabel 1. Dua kasus leptospirosis yang berusia muda belum sekolah (3 tahun) dan pelajar (10 tahun), orang tuanya menyatakan bahwa di rumah banyak tikus dan kotoran atau urin sering dijumpai di lantai rumah, baik di ruang tamu, dapur atau kadang-kadang di kamar tidur. Kasus leptospirosis lain yang beraktivitas di dalam gedung, adalah pedagang kelontong, pedagang plat nomer, penjaga toko telepon seluler, mahasiswa, pekerja biro tiket, ibu rumah tangga, pegawai katering, pelajar, modin, Satpam, buruh pabrik, tukang las, dan pegawai negeri sipil. Sedangkan kasus leptospirosis yang sering beraktivitas di luar gedung adalah tukang sampah, tukang batu,

**Tabel 1. Interaksi Pasien Suspek Leptospirosis dengan Tikus di Kota Semarang, Jawa Tengah, tahun 2014.**

Asal (Kecamatan)	Jenis Kelamin		Umur (Tahun)	Pekerjaan	Hubungan dengan tikus
	P	L			
Semarang Utara	3	12	3 – 67	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Belum sekolah</li> <li>• Pedagang kelontong</li> <li>• Pedagang ayam</li> <li>• Tukang Batu</li> <li>• Pedagang ketela</li> <li>• Pegawai terminal</li> <li>• Pedagang plat nomer</li> <li>• Pekerja serabutan</li> <li>• Pedagang Pasar</li> <li>• Tukang becak</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Di rumah banyak dijumpai tikus</li> <li>• Di toko banyak dijumpai tikus</li> <li>• Lingkungan jualan basah dan banyak tikus</li> <li>• Tempat penampungan air ada bangkai tikus</li> <li>• Kontak dengan tikus di rumah</li> <li>• Membersihkan got sekitar terminal</li> <li>• Tikus sering dijumpai di tokonya</li> <li>• Kerja bakti di lingkungan RT</li> <li>• Membersihkan kotoran/urin tikus</li> <li>• Tiduran di teras took</li> </ul>
Tembalang	3	6	17-43	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rumah makan</li> <li>• Pengangguran</li> <li>• Pedagang</li> <li>• PNS</li> <li>• Buruh Pabrik</li> <li>• Ibu Rumah tangga</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Di dapur, dijumpai banyak tikus</li> <li>• Di rumah banyak dijumpai tikus</li> <li>• Kerja bakti membersihkan selokan</li> <li>• Di rumah banyak dijumpai tikus</li> <li>• Genangan air disekitar rumah dan bersampah</li> <li>• Membersihkan kotoran tikus di halaman rumah</li> </ul>
Candisari	2	6	20-54	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pengupas Bawang</li> <li>• Sopir</li> <li>• Buruh Bangunan</li> <li>• Pelajar</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Memegang tikus mati</li> <li>• Cuci mobil di sungai</li> <li>• Sering mandi di kolam sekitar bangunan</li> <li>• Bermain di kolam renang dan lapangan</li> </ul>
Genuk	2	5	18-42	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mahasiswa</li> <li>• Membuat batu bata</li> <li>• Pedagang Terminal</li> <li>• Catering</li> <li>• Counter HP</li> <li>• Tukang Las</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Setelah pulang dari praktek lapangan</li> <li>• Sering kontak dengan tampungan air bangunan</li> <li>• Sampah dan genangan air ditempat berjualan</li> <li>• Mencuci perabot dan membersihkan dapur</li> <li>• Di rumah banyak dijumpai tikus</li> <li>• Sering kontak dengan air pendingin besi</li> </ul>
Pedurungan	2	3	18-40	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Satpam</li> <li>• Modin</li> <li>• Tukang las</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sering tidur dilantai</li> <li>• Berkebun</li> <li>• Di rumah banyak dijumpai tikus</li> </ul>

Asal (Kecamatan)	Jenis Kelamin		Umur (Tahun)	Pekerjaan	Hubungan dengan tikus
	P	L			
Semarang Barat	2	4	15-39	<ul style="list-style-type: none"> <li>Bekerja</li> <li>Mahasiswa</li> <li>Pedagang Plat Nomer</li> <li>Membuat Tempe</li> <li>Tidak bekerja</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Membersihkan selokan sekitar rumah</li> <li>Menginap di tempat teman di luar kota</li> <li>Di rumah banyak dijumpai tikus</li> <li>Kontak dengan air dalam proses pembuatan tempe</li> <li>Membersihkan lantai rumah.</li> </ul>
Semarang Selatan	2	2	15-28	<ul style="list-style-type: none"> <li>Bengkel</li> <li>Buruh</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Kontak dengan tanah becek di bengkel</li> <li>Membersihkan lantai, dan kamar mandi</li> </ul>
Gajah Mungkur	1	2	20-33	<ul style="list-style-type: none"> <li>Tukang Sampah</li> <li>Pelajar</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Sampah terkontaminasi dengan urine tikus</li> <li>Berenang di kolam</li> </ul>
Gunung Pati	1	2	19-31	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pengebor Sumur</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Kontak/terendam air di sekitar pengeboran</li> </ul>
Gayamsari	0	2	22-29	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pedagang Bunga</li> <li>Pembuat Tempe</li> <li>Tidak bekerja</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Saluran air terkontaminasi urin tikus</li> <li>Kontak dengan limbah air cucian bahan baku/air limbah R.T</li> <li>Kerja bakti membersihkan gorong-gorong</li> </ul>
Semarang Timur	1	1	24-35	<ul style="list-style-type: none"> <li>Biro Tiket</li> <li>Service Komputer</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Kontak dengan genangan air hujan</li> <li>Di rumah banyak dijumpai tikus</li> </ul>
Banyumanik	0	1	27	<ul style="list-style-type: none"> <li>Counter HP</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Berenang di kolam renang umum</li> </ul>
Ngaliyan	0	1	42	<ul style="list-style-type: none"> <li>Satpam</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Di rumah banyak dijumpai tikus</li> </ul>
Semarang Tengah	0	1	28	<ul style="list-style-type: none"> <li>Tukang sampah</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Kontak dengan sampah</li> </ul>

pedagang ketela, tukang becak, dan pedagang ayam. Hal ini menunjukkan bahwa rasio kontak dengan tikus antara kasus leptospirosis yang beraktivitas di dalam gedung secara signifikan berbeda bermakna tertular leptospirosis daripada di antara kasus leptospirosis yang beraktivitas di luar rumah di daerah Kota Semarang, Jawa Tengah (uji eksak Fisher,  $p < 0,01$ ).

### C. Prevalensi Infeksi *Leptospira* pada tikus di berbagai habitat di Kota Semarang

Hasil penangkapan tikus selama penelitian diperoleh 576 ekor yang terdiri dari tikus rumah (*R. tanezumi*) 240 ekor: tikus got (*Rattus norvegicus*) 140 ekor, tikus ladang (*R. Exulans*) 32 ekor dan celurut (*S. murinus*) 95 ekor (Tabel 2). Tikus rumah (*R. tanezumi*) dan tikus got (*R. norvegicus*) merupakan tikus beraktivitas di lingkungan rumah manusia (Brooks dan Rowe, 1992). Hasil penelitian menunjukkan bahwa tikus rumah (*R. tanezumi*), 198 ekor banyak ditemukan di dalam rumah daripada di luar rumah, 21 ekor. Sedangkan tikus got (*R. norvegicus*), 114 ekor banyak ditemukan di luar rumah daripada di dalam rumah 26 ekor.

Hasil pemeriksaan bakteri *L. interrogans* dengan metode MAT menunjukkan bahwa 31,43% tikus got (*R. norvegicus*) lebih banyak terinfeksi bakteri tersebut dibandingkan tikus rumah (*R. tanezumi*) 30 ekor

(13,69%). Di habitat dalam rumah, 34,62% tikus got (*R. norvegicus*) dan 13,64% tikus rumah (*R. tanezumi*) terinfeksi bakteri *L. interrogans*. Sedangkan di habitat luar rumah 33,43% tikus got (*R. norvegicus*) dan 13,69% tikus rumah (*R. tanezumi*) terinfeksi bakteri leptospirosis.

Di habitat dalam rumah, 33,33% tikus got (*R. norvegicus*) dan 6,97% tikus rumah (*R. tanezumi*) ditangkap di dapur paling banyak terinfeksi bakteri *L. interrogans* daripada tikus tertangkap di kamar tidur, ruang tamu/keluarga dan gudang. Sedangkan di habitat luar rumah, tikus got (*R. norvegicus*) tertangkap di halaman rumah/taman paling banyak terinfeksi *L. interrogans* daripada tikus got yang tertangkap di kebun, tepi selokan, semak-semak, dan kandang ternak/unggas.

Di habitat rumah, serovar *L. interrogans* pada tikus rumah (*R. tanezumi*) adalah Djasiman (40,55% dari 27 ekor), Icterohaemorrhagie (22,22%), Autumnalis (20,35) dan Bataviae (16,68%), dan di habitat luar rumah, tikus rumah (*R. tanezumi*) terinfeksi serovar Autumnalis (66,67% dari 3 ekor) dan Bataviae (33,33%).

Di habitat luar rumah, serovar *L. interrogans* pada tikus got (*R. norvegicus*) adalah Icterohaemorrhagie (42,85% dari 35 ekor), Djasiman (34,28%), dan Autumnalis (22,87%), dan di habitat luar rumah, tikus got (*R. norvegicus*) terinfeksi serovar Autumnalis (66,67% dari 9 ekor), Bataviae (22,22%), dan Djasiman (11,11%).

**Tabel 2. Prevalensi tikus rumah (*R. tanezumi*) dan tikus got (*R. norvegicus*) di Kota Semarang, Jawa Tengah, tahun 2014.**

Lokasi Penangkapan	Tikus tertangkap		Jumlah tikus infeksi Bakteri <i>Leptospira</i> (%), metode MAT	
	Tikus got ( <i>R. norvegicus</i> )	Tikus rumah ( <i>R. tanezumi</i> )	Tikus got ( <i>R. norvegicus</i> ) (%)	Tikus rumah ( <i>R. tanezumi</i> ) (%)
<b>A Dalam rumah</b>				
1 Dapur	15	129	5 (33,33)	9 (6,97)
2 Kamar tidur	2	15	1 (50,00)	5 (33,33)
3 Ruang tamu/keluarga	1	16	0 (0,00)	4 (25)
4 Gudang	8	38	3 (37,5)	9 (23,68)
<b>Sub total</b>	<b>26</b>	<b>198</b>	<b>9 (34,61%)</b>	<b>27 (13,64%)</b>
<b>B Luar Rumah</b>				
5 Halaman rumah	23	5	11 (47,82))	1 (20)
6 Kebun	23	4	4 (17,39)	1 (25)
7 Tepi selokan	39	1	7 (17,94)	0 (0,00)
8 Semak semak	18	2	6 (33,33)	1 (50)
9 Kandang ternak/unggas	11	9	5 (45,46)	2 (22,2)
<b>Sub Total</b>	<b>114</b>	<b>21</b>	<b>35 (30,70%)</b>	<b>3 (14,28%)</b>
<b>Total</b>	<b>140</b>	<b>219</b>	<b>44 (31,43%)</b>	<b>30 (13,7%)</b>

## PEMBAHASAN

Semua kasus leptospirosis (68 orang) menyatakan bahwa di lingkungannya dijumpai tikus, baik di tempat tinggal maupun di tempat bekerja. Kasus leptospirosis yang beraktivitas di dalam gedung secara signifikan berbeda bermakna tertular leptospirosis daripada di antara kasus leptospirosis yang beraktivitas di luar rumah di daerah Kota Semarang, Jawa Tengah (uji *Exact Fisher*,  $p < 0,05$ ). Kondisi tersebut menunjukkan bahwa indikasi penularan leptospirosis terjadi di dalam gedung atau sekitar tempat tinggal atau tempat bekerja kasus leptospirosis. Menurut Koizumi dkk. (2009), di Kota Tokyo, semua pasien leptospirosis beraktivitas di dalam gedung, seperti di rumah, gedung tempat bekerja dan toko, sedangkan kasus leptospirosis di luar rumah biasanya berhubungan dengan kegiatan rekreasi di daerah endemik, atau di tempat yang banyak dijumpai tikus.

Serovar *Leptospira* yang virulen bagi manusia dan ditemukan pada tikus dalam penelitian ini adalah *Icterohaemorrhagiae* dan *Autumnalis*. Tikus merupakan inang reservoir bagi kedua serovar tersebut (Brook dkk., 2001). Serovar *Canicola* dan *Bataviae* juga ditemukan dalam penelitian ini. Serovar *Canicola* dilaporkan banyak menginfeksi hewan piaraan. Inang reservoir serovar *Canicola* adalah anjing (WHO, 2011). Di inang reservoir *Leptospira* telah beradaptasi dan tidak menimbulkan kerugian apapun terhadap inangnya tersebut. Inang reservoir terutama tikus merupakan pencemar *Leptospira* di lingkungan dan jadi sumber penular leptospirosis. Oleh karena pada penelitian ini

serovar yang ditemukan pada tikus rumah (*R. tanezumi*) dan tikus got (*R. norvegicus*) relatif sama serovar bakteri *Leptospira interrogans* ditemukan pada manusia.

Hasil penangkapan tikus di Kota Semarang, Jawa Tengah menunjukkan bahwa tikus rumah *R. tanezumi* (219 ekor) lebih banyak daripada tikus got (*R. norvegicus*) (140 ekor). Tikus got (*R. norvegicus*) merupakan kelompok tikus berukuran besar yang cenderung bersifat peridomestik (beraktivitas di luar rumah) dan terestrial, sehingga daya jelajahnya lebih luas daripada tikus rumah (*R. tanezumi*) yang berukuran sedang dan cenderung bersifat domestik, sehingga tikus got (*R. norvegicus*) peluang untuk masuk perangkap yang dipasang di sekitar lingkungan rumah atau di luar rumah relatif lebih kecil dibandingkan tikus rumah (*R. tanezumi*). Menurut Sudarmaji (2012), tikus yang aktivitas kehidupannya (bersarang, berkembangbiak dan mencari pakan) di luar rumah tidak mudah ditangkap dibandingkan tikus yang aktivitas kehidupannya di dalam rumah. Sedangkan menurut Priyambodo (2005), tikus betina lebih mudah tertangkap daripada tikus jantan.

Prevalensi *Leptospira* di tikus got (*R. norvegicus*) dan tikus rumah (*R. tanezumi*) berfluktuasi selama periode sampling, (Gbr. 1). Selama penelitian, prevalensi rata-rata *Leptospira* pada *R. norvegicus* lebih tinggi daripada di (*R. tanezumi*) (uji paired t,  $p = 0,034$ ). Di Kota Semarang, Jawa Tengah. Genangan saluran air dan kubangan air di sekitar pemukiman berpotensi memfasilitasi penyebaran *Leptospira* antar tikus

got (*R. norvegicus*) dan tikus ke manusia. Tingginya tingkat leptospirosis pada penduduk yang kerja bakti membersihkan saluran air atau beraktivitas di air sekitar lingkungan rumahnya, akan mendukung asumsi ini. Menurut Yvon (2008), banyaknya genangan air di sekitar pemukiman berpotensi dalam menyebarkan *Leptospira* antar tikus dan tikus ke manusia, sehingga penduduk yang beraktivitas dengan air berisiko tertular leptospirosis dari genangan air yang terkontaminasi urin tikus infeksi bakteri leptospira. Sedangkan hasil penelitian Mulyono dkk. (2013) di Kota Semarang, Jawa Tengah menunjukkan bahwa tempat tinggal kasus leptospirosis pada umumnya terdapat genangan-genangan air baik, dari limbah rumah tangga maupun air hujan atau saluran air yang menggenang.

Tikus got (*R. norvegicus*) yang tertangkap di habitat dalam rumah dan luar rumah lebih banyak terinfeksi serovar *L. interrogans* daripada tikus rumah (*R. tanezumi*), terutama serovar Autumnalis, Bataviae, Icterohaemorrhagiae dan Djasiman. Kondisi ini kemungkinan berhubungan dengan sifat tikus got (*R. norvegicus*) yang lebih suka di lingkungan berair (lumpur, tanah basah, atau 'becek') dibandingkan tikus rumah (*R. tanezumi*) yang lebih suka di tempat kering. Air merupakan media penular bakteri leptospira yang efektif, baik antar hewan maupun hewan ke manusia (Muliawan, 2008). Hasil penelitian Jean-Francois Cosson dkk (2014) di Thailand, Laos dan Kamboja menunjukkan bahwa prevalensi tikus infeksi leptospirosis 7,1% dari 901 ekor tikus tertangkap dengan jenis bakteri *Leptospira interrogans* dan serovar yang mendominasi adalah Icterohaemorrhagiae.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Tikus got dan tikus rumah memiliki potensi sebagai vektor penularan *Leptospira* patogenik di Kota Semarang. *Leptospira* patogenik yang dideteksi pada tikus got (*R. norvegicus*) adalah serovar Djasiman (40,55% dari 27 ekor), Icterohaemorrhagiae (22,22%), Autumnalis (20,35) dan Bataviae (16,68%), sementara pada tikus rumah (*R. tanezumi*) adalah serovar Autumnalis (66,67% dari 3 ekor) dan Bataviae (33,33%).

### Saran

Pencegahan penularan leptospirosis dilakukan dengan mempertimbangkan pengendalian tikus di sekitar pemukiman penduduk baik, dengan sanitasi, cara mekanis maupun biologi.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Badan Litbangkes yang telah mendanai penelitian ini, Kepala Dinkes Kota Semarang, Jawa Tengah yang telah memberikan bantuan selama proses penelitian berlangsung serta semua pihak yang telah membantu penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bharti, A.R., Nally, J.E., Ricaldi, J.N., Matthias, M.A., Diaz, M.M., Lovett, M.A., Levett, P.N., Gilman, R.H., Willig, M.R., Gotuzzo, E. and Vinetz, J.M. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *The Lancet Infectious Diseases*, 3, Iss.12, 757-771. 2003
- Levett PN, Morey RE, Galloway RL, Steigerwalt AG. *Leptospira broomii* sp. nov., isolated from humans with leptospirosis. *Int J Syst Evol Microbiol* 2006;56(Pt 3):671-673.
- McBride, A. J., Athanazio, D. A., Reis, M. G. & Ko, A. I. Leptospirosis. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 18, 376-386 (2005).
- Faine, S., Adler, B., Bolin, C. & Perolat, P. *Leptospira and Leptospirosis*. MedScience, Melbourne, 1999.
- Fraga, T. R., A. S. Barbosa and L. Isaac. Leptospirosis: Aspects of Innate Immunity, Immunopathogenesis and Immune Evasion From the Complement System. *Scandinavian Journal of Immunology* 73, 408-419. 2010
- Rocha, MTRB Equine Leptospirosis in Portugal; Serological, Immunological and Microbiological Studies. Universidade de Trás-Os-Montes E Alto Douro, Vila Real. Portugal. 2004
- Ashford, D.A. et al. 2000. Asymptomatic infection and risk factors for leptospirosis in Nicaragua, *American Journal Tropical Medicine and Hygiene*, 249-254.
- Widarso HS dan Wilfried. 2002. Kebijakan Kesehatan Departemen Kesehatan dalam Penanggulangan Leptospirosis di Indonesia, Kumpulan Makalah Simposium Leptospirosis, Badan Penerbit Universitas Diponegoro.
- Dinas Kesehatan Kota Semarang. Analisis Situasi Leptospirosis di Kota Semarang, Jawa Tengah. Sosialisasi Pemberantasan Penyakit Menular di Kota Semarang., 2013.
- Johnson, M.A.S., Hannah Smith, Priya Joseph, Robert H. Gilman, Christian T. Bautista, Kalina J. Campos, Michelle Cespedes, Peter Klatsky, Carlos Vidal, Hilja Terry, Maritza M. Calderon, Carlos Coral, Lilia Cabrera, Paminder S. Parmar,

- and Joseph M. Vinetz. Environmental Exposure and Leptospirosis, Peru. *Emerging Infectious Diseases* • www.cdc.gov/eid • 10: 6. 2004.
- Suyanto. Jenis tikus di P. Jawa. LIPI. Bogor, 2001.
- Koizumi, N, Maki Muto, Tsutomu Tanikawa, Hiroshi Mizutani, Yoshiko Sohmura, Eiji Hayashi, Nobuaki Akao, Mayu Hoshino, Hiroki Kawabata and Haruo Watanabe. Human leptospirosis cases and the prevalence of rats harbouring *Leptospira interrogans* in urban areas of Tokyo, Japan. *Journal of Medical Microbiology* 58, 1227–1230. 2009.
- Gasem MH, Dolmans WM, Keuter MM, Djokomoeljanto RR. Poor food hygiene and housing as risk factors for typhoid fever in Semarang, Indonesia. *Trop Med Int Health*. 6(6):484-90. 2001.
- Muliawan, S.Y., 2008. Bakteri Spiral Patogenik (*Treponema*, *Leptospira* dan *Borellia*). Erlangga. Jakarta.
- Ramadhani, Tri And Sholichah, Zumrotus (2010) *Studi Inang Reservoir Dan Kejadian Leptospirosis Di Daerah Endemis Kota Semarang*. Seminar Nasional Mewujudkan Kemandirian Kesehatan Masyarakat Berbasis Preventif Dan Promotif, 13-03-2010, Semarang.
- Dutta, T. K., Christopher, M. 2005. Leptospirosis-An overview. *JAPI*, 53: 545-551.
- Cochran WG, 1977. *Sampling Techniques*. John Wiley & Sons, Inc.
- Brooks, G.F., J.S. Butel dan S.A Morse, 2001. Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan, Mikrobiologi untuk profesi Kesehatan. Penerbit Buku Kedokteran.
- World Health Organization. Report of The Second Meeting of The Leptospirosis Burden Epidemiologic Reference Group. WHO. ISBN 9789241501521. NLM classification: WC 420. Geneva, Switzerland. 2011.
- Esen Saban *et al.*, Impact of clinical and laboratory findings on prognosis in leptospirosis, *Swiss Medical Weekly*, 2004, pp 347-352.
- Setijowati H. 2011. Situasi penyakit bersumber binatang di Jawa Tengah 2007-2011. Seksi P2 Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Tengah. Disampaikan pada Pertemuan Desiminasi Informasi Hasil Penelitian dan Kegiatan Loka Litbang P2B2 Banjarnegara.
- Tucunduva MT., Athanzio DA., Gonçaves Ramos EA. *et al.*, 2007. Morphological alterations in the kidney of rats with natural and experimental *Leptospira* infection. *J Comp Pathol*, 137(4):231–238.
- Faine S, Adler B, Bolin C, Perolat P. 1999. *Leptospira and leptospirosis*. Melbourne, Australia: MediSci.
- Jawetz, J.L., Melnick dan E.A. Adelberg. 1991. Mikrobiologi untuk Profesi Kedokteran Edisi 16. EGC Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta.
- Hadi T.R., Ristiyanto, Ima N.I. dan Nina N. 1991. Jenis-Jenis Ektoparasit pada tikus di Pelabuhan Tanjung Mas Semarang. *Proceeding Seminar Biologi VII, Pandaan Jawa Timur*.
- WHO, FAO, OIE. 2011. *Leptospira Serovar Data Sheet*. <www.health.qld.gov.au/qhcss/lepto.asp. Diunduh pada April 2012>.
- Jean-Francois Cosson, Mathieu Picardeau, Mathilde Mielcarek, Caroline Tatar, Yannick Chaval, Yupin Suputtamongkol, Philippe Buchy, Sathaporn Jittapalpong, Vincent Herbreteau, Epidemiology of *Leptospira* Transmitted by Rodents in Southeast Asia. *Clin Microbiol Rev* 2014; 10 (1): 35- 66.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Jajaran Dewan Redaksi VEKTORA-Jurnal Vektora dan Reservoir Penyakit mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada segenap Mitra Bestari yang terlibat dalam proses penelaahan

### Mitra Bestari

Prof. Yayuk Rahayuningsih Suhardjono (Entomologi/ LIPI)  
Ir. Ferry F. Karwur, MSc, Ph.D (Biologi Molekuler, FIK, UKSW Salatiga)  
Drs. Jubhar C. Mangimbulude, MSc, Ph.D (Kesehatan Lingkungan, FIK, UKSW Salatiga)  
Dr. Tribaskoro Tunggal Satoto, MSc, Ph.D (Parasitologi/UGM)  
Ir. Maharadatunkamsi, MSc (Mammalogi/LIPI)  
Dra. RA. Yayi Suryo Prabandari, M.Si, Ph.D (Promosi Kesehatan/UGM)  
Drs. Ristiyanto, M.Kes (Biologi Lingkungan, B2P2VRP Salatiga)  
Dra. Widiarti, M.Kes (Biologi Lingkungan, B2P2VRP Salatiga)



JURNAL VEKTOR DAN RESERVOIR PENYAKIT

# VEKTORA

Journal of Vector Borne and Reservoir Diseases

## Surat Pernyataan Etik *Ethical Statement*

Judul Artikel : .....  
*Article Title* : .....

Nama Seluruh Penulis : .....  
*Names of All Authors* : .....

Nomor HP/Telp : .....  
*Telephone Number* : .....

Alamat Email : .....  
*Email address* : .....

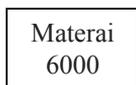
Alamat Kantor : .....  
*Institution address* : .....

Dengan ini kami menyatakan bahwa:

*We here by confirm that:*

1. Artikel yang kami kirimkan adalah asli yang ditulis oleh nama-nama penulis yang tercantum di atas dan belum pernah dipublikasi pada media manapun;  
*The article we have submitted to the journal for review is original, has been written by the stated authors and has not been published elsewhere;*
2. Artikel tidak sedang dalam proses atau pertimbangan publikasi oleh jurnal lain dan tidak akan dikirimkan ke jurnal lain selama proses penelaahan oleh jurnal ini berlangsung;  
*The article is not currently being considered for publication by any other journal and will not be submitted for such review while under review by this journal;*
3. Artikel tidak mengandung pernyataan-pernyataan yang berbahaya, menentang hukum, dan mengancam individu atau hak-hak individu dan kelompok lain;  
*The article contains no libellous or other unlawful statements and does not contain any materials that violate any personal or proprietary rigths of any other person or entity;*
4. Kami telah memperoleh izin tertulis dari pemilik hak cipta setiap pernyataan atau dokumen yang diperoleh dari produk ber-hak cipta, serta telah menyebutkan sumber referensi yang digunakan dalam artikel ini.  
*We have obtained written permission from copyright owners for any excerpts from copyrighted works that are included and have credited the sources in my article.*

Tanda Tangan  
*Author signature(s)*



Tanggal  
*Date*

Nama  
*Name(s)*

Sekretariat Redaksi (*Secretariat*):

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit Salatiga,

Jalan Hasanudin No. 123 Salatiga, Jawa Tengah, Indonesia - Telp. +62 298 327096 Ext. 110 Fax. +62 298 322604

Website: <http://ejournal.litbang.depkes.go.id/index.php/vk> - Email: [jvektora@litbang.depkes.go.id](mailto:jvektora@litbang.depkes.go.id), [jvektora@gmail.com](mailto:jvektora@gmail.com)



JURNAL VEKTOR DAN RESERVOIR PENYAKIT

**VEKTORA**

Journal of Vector Borne and Reservoir Diseases

## COPYRIGHT TRANSFER FORM

### Instructions

Please print your name, sign, and place date on the line provided

Please fax a paper version to +62 298 322604

Please send email version as an attachment to [jvektora@litbang.depkes.go.id](mailto:jvektora@litbang.depkes.go.id), [jvektora@gmail.com](mailto:jvektora@gmail.com)

Under the terms of Indonesian Government Copyright Law, VEKTORA – Journal of Vector Borne and Reservoir Diseases must formally obtain transfer of copyright before an article can be published.

VEKTORA – Journal of Vector Borne and Reservoir Diseases grants to the author (and to all co-authors) the right to present orally in any forum all or part of the work. It is also stipulated that all graphics including figures, tables, and charts may be republished with permission from VEKTORA – Journal of Vector Borne and Reservoir Diseases.

In consideration of the fact that VEKTORA – Journal of Vector Borne and Reservoir Diseases undertakes to publish my article:

1. I affirm that the material has not been previously published and that I (and my co-authors) own and have not transferred elsewhere any rights to the article.
2. I affirm that I (and my co-authors) have obtained written permission to use any previously copyrighted material included in the article and that such documentation will be forwarded VEKTORA – Journal of Vector Borne and Reservoir Diseases simultaneously with the article. I further affirm that I (my co-authors) have stated any possible conflicts of interest within the article.
3. I (and my co-authors) here by assign and transfer to VEKTORA – Journal of Vector Borne and Reservoir Diseases all rights of copyright ownership and permission to the article, including without limitation or restriction, all rights of reproduction, derivation, distribution, sale, reuse, and display of the of the work, in whole or in part, including recompilation and stand-alone publication, in any and all forms of media now or hereafter known, including all electronic and digital media, as protected by the laws of Republic of Indonesia and foreign countries and to authorize others to make such uses of the work. These rights will become the property of VEKTORA – Journal of Vector Borne and Reservoir Diseases from the date of acceptance of the article for publication and extend for the life of copyright. I understand that VEKTORA – Journal of Vector Borne and Reservoir Diseases, as a copyright owner, has authority to grant permission to reproduce the article.

Article title:

I sign for and accept responsibility for transferring copyright of this article to VEKTORA – Journal of Vector Borne and Reservoir Diseases

---

Author

Date

Signature

Sekretariat Redaksi (*Secretariat*):

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit Salatiga,

Jalan Hasanudin No. 123 Salatiga, Jawa Tengah, Indonesia - Telp. +62 298 327096 Ext. 110 Fax. +62 298 322604

Website: <http://ejournal.litbang.depkes.go.id/index.php/vk> - Email: [jvektora@litbang.depkes.go.id](mailto:jvektora@litbang.depkes.go.id), [jvektora@gmail.com](mailto:jvektora@gmail.com)