

Keanekaragaman Genetik Nyamuk Vektor Filariasis *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae) di Kota dan Kabupaten Pekalongan Dengan Metode PCR-RAPD

by Anindita Riesti Retno Dosen

Submission date: 28-Nov-2018 06:22PM (UTC+0700)

Submission ID: 1046322677

File name: vol_1_no_2_anindita.pdf (1.04M)

Word count: 5367

Character count: 32773



Keanekaragaman Genetik Nyamuk Vektor Filariasis *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae) di Kota dan Kabupaten Pekalongan Dengan Metode PCR-RAPD

Anindita Riesti Retno Arimurti¹

Prodi D3 Teknologi Laboratorium Medik, FIK, Universitas Muhammadiyah Surabaya
¹aninditariesti@fik.um-surabaya.ac.id

ABSTRACT

Tanggal Submit:
2 Mei 2018

Tanggal Review:
18 Mei 2018

Tanggal Publish
Online:
23 Mei 2018

Mosquito *Culex quinquefasciatus* is a vector of nematode worms, namely *Wuchereria bancrofti* which is the cause of filariasis in tropical and subtropical countries. Distributed of *Cx. quinquefasciatus* is widely in Indonesia with differences the geographical, resulting in the adaptation to the environment and may results in a high variation, both phenotypic (morphology) and genotypic (genetic) variation. This study aims was to determine the genetic diversity of mosquitoes *Cx. quinquefasciatus* as vector filariasis in Pekalongan City and Regent. Genetic characterization performed by PCR-RAPD using three primers, ie OPA-11, OPA-12, and OPA-15. Data were analyzed by using UPGMA algorithm and Simple Matching Coefficient and presented as dendrogram. The results showed a high genetic diversity with the polymorphisms up to 100%.

Keywords: *Culex quinquefasciatus*, vector, filariasis, PCR-RAPD

PENDAHULUAN

Nyamuk *Culex quinquefasciatus* merupakan vektor cacing nematoda *Wuchereria bancrofti* yang merupakan penyebab penyakit filariasis di negara tropis dan subtropis (Barbosa *et al.*, 2007). Nyamuk ini memiliki aktivitas pada malam hari. Pada malam hari, mikrofilaria cacing *W. bancrofti* aktif berada di darah tepi tubuh penderita. Saat nyamuk *Cx. quinquefasciatus* menggigit, maka mikrofilaria dari penderita tersebut akan pindah dari

tubuh manusia ke nyamuk. Di tubuh nyamuk, mikrofilaria akan memendek, menjadi L-1. Kemudian menembus mukosa usus menuju thoraks dan berkembang menjadi L-2. Selanjutnya akan menuju ke kelenjar ludah (di bagian kepala) dan menjadi L-3. Jika nyamuk tersebut menggigit manusia lagi, maka nyamuk memindahkan larva (L-3) *W. bancrofti* sehingga manusia sehat akan terinfeksi *W. bancrofti*. Menurut data WHO di tahun 1984,



lebih dari 90 juta orang diseluruh dunia terinfeksi penyakit filariasis (Maheswaran *et al.*, 2008). Habitat nyamuk *Cx. quinquefasciatus* adalah genangan air hujan, drainase yang terhambat, dan tempat – tempat dengan genangan air yang kotor.

Filariasis merupakan masalah kesehatan masyarakat di Indonesia, khususnya didaerah endemik seperti Pekalongan, Jawa Tengah. Berdasarkan data Depkes RI, jumlah penderita filariasis kronis hingga Oktober 2009 mencapai 11.699 kasus, tersebar di 386 kabupaten atau kota di Indonesia (DEPKES, 2009). Oleh karena itu harus dicegah terjadinya penularan hingga munculnya kecacatan akibat filariasis melalui pengobatan massal di wilayah endemik, menghindarkan diri dari gigitan nyamuk, juga membersihkan lingkungan yang menjadi tempat perindukan nyamuk.

Distribusi *Cx. quinquefasciatus* yang luas di wilayah Indonesia dengan perbedaan letak geografis, mengakibatkan adanya adaptasi terhadap lingkungan sehingga menyebabkan terjadinya variasi yang tinggi, baik variasi fenotip (morfologi) maupun genotip

(genetik) (Ellegren, 2009). Variasi ini dapat disebabkan oleh seleksi, rekombinasi, dan mutasi (Frankham *et al.*, 2002).

Penanda molekuler merupakan suatu analisis dengan teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*) yang efektif untuk mengetahui variasi genetik. Penanda RAPD merupakan pengembangan teknik PCR dan banyak digunakan untuk analisis variasi genetik pada serangga. Penanda RAPD telah digunakan dalam analisis variasi genetik nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dari India (Sharma *et al.*, 2009). Hasil penelitian tersebut menunjukkan penanda RAPD dapat mendeteksi variasi antara individu dalam suatu populasi dan variasi antar populasi yang berbeda letak geografisnya.

Sejauh ini masih sangat terbatas informasi mengenai penelitian yang mengungkap variasi genetik nyamuk *Cx. quinquefasciatus* di Indonesia, khususnya di Kota dan Kabupaten Pekalongan, sehingga perlu dilakukan penelitian ini.

METODE PENELITIAN

A. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah nyamuk *Cx. quinquefasciatus* betina dari wilayah Kota dan Kabupaten Pekalongan, Jawa Tengah (Tabel 1).

Bahan yang digunakan saat sampling nyamuk *Cx. quinquefasciatus* antara lain kloroform untuk membius nyamuk dan kertas label.

Sedangkan bahan yang digunakan untuk analisis variasi genetik meliputi: Kit isolasi DNA ®Fermentas : *GeneJET Genomic DNA Purification Kit*, gel agarosa 1,75 %, *buffer* TBE IX, dan etidium bromide (EtBr), *primer* RAPD, yaitu OPA-11, OPA-12, OPA-15, PCR Kit ®Fermentas (*DreamTaq™ Green PCR Master Mix (2x)*), ethanol 70%, PBS, akuabides (water nukleasefree), akuades steril, aluminium foil, dan *ladder DNA* (marker) 100 – 3000 bp ®Vivantis.

Tabel 1. Sampel nyamuk *Cx. quinquefasciatus* yang digunakan dalam penelitian

Kode Sampel	Lokasi Sampling
KT/BB/IN/3/003	Kota Pekalongan
KT/BR/IN/3/001	
KT/CR/IN/3/003	
KT/AB/IN/6/002	
KT/AR/IN/2/001	
KT/CB/IN/6/002	
KT/AR/OUT/3/001	
KT/AB/OUT/3/001	
KT/BB/OUT/4/001	
KT/BR/OUT/4/001	
KT/CR/OUT/4/001	
KT/CB/OUT/4/001	
KB/AB/IN/3/001	
KB/AR/IN/3/001	
KB/BB/IN/3/001	
KB/BR/IN/3/001	
KB/AB/IN/4/001	
KB/AR/IN/2/001	
KB/AR/IN/6/001	
KB/BB/IN/4/003	
KB/BR/IN/2/001	
KB/CB/OUT/1/001	
KB/CR/OUT/3/003	
KB/BB/OUT/4/001	
KB/BR/OUT/2/004	
KB/CB/OUT/6/001	
KB/CR/OUT/2/001	
KB/CR/OUT/5/002	

B. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini dibedakan menjadi dua macam, yaitu :

1. Alat untuk sampling nyamuk *Cx. quinquefasciatus* antara lain *sweep net* untuk menjaring nyamuk, aspirator, *paper cup* yang ditutup kain kasa, mikroskop dan buku identifikasi untuk mengidentifikasi jenis nyamuk yang didapatkan.

2. Sedangkan untuk analisis polimorfisme DNA digunakan mortar dan pestel, *ultracentrifuge* (Gyrozen Co., Ltd.), *vortex mixer*, *refrigerator*, pipet mikro (*ependorf pipet*) P2, P100, dan P1000, *Thermal cycler PCR Machine* (Boeco), elektroforator (*Mini Run Gel Electrophoresis System GE-100*), *UV transilluminator* (BioRad), *ice box*, *microwave*, inkubator, *autoclave* dan kamera digital untuk memfoto hasil elektroforesis.

C. Cara Kerja

1. Sampling Nyamuk *Cx. quinquefasciatus*

Penangkapan dilakukan tiap dua jam sekali, dimulai pukul 18.00 – 06.00. Selama 40 menit pertama dilakukan penangkapan nyamuk saat nyamuk sedang menggigit manusia (*biting*) dengan aspirator. Kemudian 10 menit berikutnya dilakukan penangkapan nyamuk saat istirahat (*resting*) disekitar lokasi dengan menggunakan *sweep net*. Penangkapan nyamuk dilakukan di dalam dan di luar rumah secara bersamaan. Nyamuk – nyamuk yang tertangkap dikumpulkan dalam *paper cup* dan diberi label sesuai dengan

tempat dan waktu penangkapan. Lalu dibawa ke Laboratorium Parasitologi UGM untuk diidentifikasi.

Identifikasi nyamuk menggunakan mikroskop dan buku identifikasi yaitu Borror (1992) dan Stojanovich *et al.*, (1965), berdasarkan karakter morfologi tiap nyamuk. Identifikasi dilakukan dengan mengamati persamaan antara bentuk antena, panjang *proboscis* dan palpus, dan warna abdomen. Nyamuk yang digunakan sebagai sampel penelitian adalah nyamuk *Cx. quinquefasciatus* betina.

2. Analisis Variasi Genetik

a. Isolasi DNA

Isolasi DNA nyamuk *Cx. quinquefasciatus* menggunakan Kit isolasi *GeneJET Genomic DNA Purification Kit* ®Fermentas dengan prosedur kerja sesuai dengan prosedur dari *GeneJET Genomic DNA Purification Kit* ®Fermentas. Seluruh tubuh nyamuk digerus. Setelah itu, ditambahkan 200µl PBS kemudian dimasukkan ke *microcentrifuge tube*. Selanjutnya ditambah 180 µl *Digestion solution* dan 20 µl proteinase-K lalu di-*vortex*, di-*spindown*, dan diinkubasi pada 56°C dengan menggunakan

inkubator selama 3 jam. Kemudian sampel dikeluarkan dan ditambahkan 20 µl *RNase A*, lalu di-*vortex* dan diinkubasi pada suhu ruang selama 10 menit. Kemudian ditambahkan 200 µl *Lysis solution* dan di-*vortex* selama 15 detik, lalu ditambahkan 400 µl 50% ethanol dan di-*vortex*.

Selanjutnya suspensi dipindahkan ke *column*, disentrifuge 6600 rpm selama 1 menit. Supernatant diluar *column* dibuang. Kemudian ditambahkan 500 µl *wash buffer I*, lalu disentrifuge 8800 rpm selama 1 menit. Supernatant diluar *column* dibuang lagi. Kemudian ditambahkan 500 µl *wash buffer II* lalu disentrifuge 13200 rpm selama 3 menit. *Column* dipindahkan ke *microcentrifuge tube* dan ditambahkan 200µl *Elution buffer*. Kemudian diinkubasi selama 2 menit pada suhu ruang, lalu disentrifuge selama 1 menit dengan kecepatan 8800 rpm. DNA dalam *Elution buffer* pada *microcentrifuge tube* diluar *column* disimpan pada suhu -20°C. DNA yang diperoleh digunakan dalam proses PCR-RAPD selanjutnya.

b. PCR dengan Metode RAPD

DNA nyamuk *Cx. quinquefasciatus* yang telah diisolasi dikeluarkan dari freezer -20°C lalu di-*thawing* menggunakan tangan lalu di-*vortex* dan *spindown*. DNA nyamuk *Cx. quinquefasciatus* akan digunakan sebagai *template* DNA. Tahap selanjutnya dibuat *mix* ramuan untuk PCR dengan komposisi seperti pada Tabel 2 .

Tabel 2. Komposisi Reaksi PCR

Komposisi dalam Reaksi PCR	Volume yang Digunakan
<i>Master Mix dream Taq</i>	12,5 µl
<i>Primer</i> RAPD (10 pmol/µl)	1,5 µl
DNA <i>template</i> (0,2 pg – 20 ng/µl)	1 µl
dH ₂ O	10 µl
Volume total	25 µl

Semua komponen tersebut disiapkan dalam PCR *tube*. Setelah tercampur semua, PCR *tube* tersebut di-*vortex* dan di-*spindown* dengan kecepatan 3000 rpm. Kemudian PCR *tube* dimasukkan ke *Thermal cycler PCR Machine*. Tahapan PCR yang dilakukan sesuai pada Tabel 3.

Tabel 3. Tahapan PCR

Tahap	Suhu (°C)	Waktu
Pre denaturation	94°C	3 menit
Denaturation	94°C	30 detik
Annealing	36°C	1 menit
Elongasi	72°C	2 menit
Post Elongasi	72°C	5 menit
Endless	4°C	∞

(Tiwari *et al.*, 2004).

Total siklus PCR diatas adalah 45 siklus. Setelah proses PCR selesai, dilanjutkan dengan proses elektroforesis menggunakan agarosa 1,75% dalam buffer TBE 1x dan digunakan *DNA ladder* sebagai acuan pita-pita DNA yang tervisualisasi.

c. Pembuatan buffer TBE 1x

Sebanyak 50 ml *buffer* TBE 10x diambil dan dimasukkan dalam labu ukur 500 ml. Kemudian ditambahkan akuades sampai batas tanda, lalu digojog sampai tercampur homogen.

d. Pembuatan gel agarosa

Agarosa sebanyak 1,75 gram dilarutkan kedalam 100 ml TBE 1X. Setelah itu dipanaskan dengan *microwave* dengan suhu 120°C selama 2 menit dan sampai larut. Lalu didinginkan sampai kurang lebih 60°C. Setelah itu, larutan gel agarosa dituangkan secara perlahan ke cetakan dan dijaga agar tidak terdapat gelembung udara. Lalu diletakkan sisir sumuran di bagian atas cetakan. Ditunggu hingga menjendal. Setelah menjendal, gel agarosa disimpan dalam larutan TBE 1x.

e. Visualisasi hasil PCR dengan elektroforesis

TBE 1x dituangkan ke elektroforesis kit sampai batas pertama. Kemudian gel agarosa yang telah menjendal ditaruh di bagian tengah kit. Lalu hasil PCR sebanyak 5µl dimasukkan ke sumuran gel agarosa. Sumuran pertama diisi dengan *ladder DNA* sebagai penanda dan sumuran selanjutnya diisi hasil PCR. TBE 1x dituangkan sampai batas kedua elektroforator. Selanjutnya gel di-*running* dengan voltase 50V, selama 60 menit. Kemudian elektroforator dimatikan dan gel agarosa direndam dalam etidium bromide (EtBr) selama 30 menit. Setelah 30 menit, gel agarosa kemudian dipindahkan pada *UV transiluminator* untuk dilihat hasilnya dan difoto dengan kamera digital.

Etidium bromide (EtBr) yang digunakan dalam proses *staining* mempunyai konsentrasi 0,5 µg/ml dalam TBE 1x.



HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Identifikasi *Cx. quinquefasciatus*

Lokasi pengambilan sampel nyamuk baik di Kota maupun Kabupaten Pekalongan cenderung sama, dicirikan dengan banyaknya saluran air menggenang, sangat kotor, dan penuh sampah. Setelah diamati menunjukkan populasi larva nyamuk yang banyak. Pada penelitian ini, hanya dikoleksi nyamuk dewasa yang diambil pada tiga titik sampling, yaitu titik A, B, dan C di rumah warga penderita filariasis dan sekitarnya. Pengambilan sampel nyamuk dilakukan saat nyamuk menggigit atau *biting* (B) maupun terbang bebas atau *resting* (R). Selain itu dibedakan juga antara didalam ruangan (*indoor*) maupun diluar ruang (*outdoor*). Hasil sampling kemudian diidentifikasi. Beberapa sampel nyamuk *Cx. quinquefasciatus* betina kemudian dianalisis genotipnya.

b. Seleksi *Primer* dan Optimasi Suhu *Annealing*

Tahap terpenting dari penelitian ini adalah seleksi *primer* yang akan digunakan dalam proses PCR-RAPD dan penentuan suhu

optimum *annealing*. Seleksi *primer* RAPD dilakukan karena tidak semua *primer* RAPD memiliki sekuens yang homolog dengan sekuens tertentu pada utas DNA sampel. Pada penelitian ini diseleksi sembilan *primer* yaitu OPA 1, OPA 2, OPA 8, OPA 9, OPA 11, OPA 12, OPA 15, OPA 16, dan OPA 20. *Primer* yang dipilih adalah *primer* yang dapat menghasilkan pita yang jelas (Wilkerson *et al.*, 1993) serta banyaknya perbedaan dan variasi genetik yang dapat dianalisis (Haymer, 1994). Dari kesembilan *primer* tersebut diperoleh tiga *primer*, yaitu OPA 11, OPA 12, dan OPA 15.

Suhu optimum untuk *annealing* pada penelitian ini adalah 37°C untuk semua *primer*. Nilai T_m (*Temperatur melting*) (Tabel 4.) pada masing-masing *primer* digunakan sebagai landasan optimasi suhu *annealing*. Suhu optimum dapat diperoleh dengan cara nilai T_m dikurangi 5. Namun, optimasi ini dapat diperoleh antara suhu yang sama dengan nilai T_m hingga T_m-5 tergantung masing – masing organisme.

Seleksi *primer* perlu dilakukan untuk menentukan profil DNA yang dihasilkan. Sedangkan optimasi suhu *annealing* sangat diperlukan karena jika suhu *annealing* terlalu tinggi atau terlalu rendah menyebabkan daerah yang teramplifikasi tidak spesifik (Harini *et al.*, 2008).

Reaksi PCR-RAPD dilakukan selama 45 siklus yaitu siklus maksimal untuk metode PCR-RAPD. Pemilihan siklus ini diharapkan dapat memaksimalkan jumlah ampikon yang dihasilkan, sehingga sekuens nukleotida yang diamplifikasi dapat lebih banyak. Semakin banyak sekuens nukleotida yang diamplifikasi, semakin mudah menganalisis hasil amplifikasi.

Tabel 4. Nilai T_m masing – masing *primer* yang digunakan

Jenis <i>Primer</i>	Urutan Basa Nitrogen (3- 5-)	T_m (°C)
OPA-11	CAA TCG CCGT	39,5
OPA-12	TCG GCG ATAG	39,5
OPA-15	TTC CGA ACCC	39,5

c. Analisis Hasil Amplifikasi dengan PCR-RAPD

Penelitian keanekaragaman genetik ini dengan metode PCR-RAPD dilakukan berdasarkan ada dan tidaknya pita (*fragmen*) DNA

pada gel elektroforesis. Pita DNA yang muncul pada semua individu sampel disebut pita monomorfik, sedangkan pita yang muncul pada beberapa individu tetapi tidak muncul pada individu lainnya disebut pita polimorfik (Grosberg *et al.*, 1996).

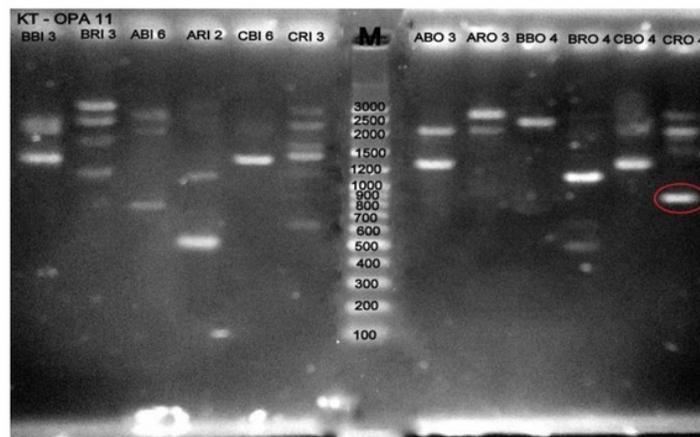
Menurut Grosberg *et al.* (1996), jumlah pita yang teramplifikasi oleh *primer* tergantung pada genom individu. Perbedaan ini dapat terjadi karena tiap – tiap individu memiliki urutan nukleotida yang berbeda – beda, sehingga beberapa pita DNA pada suatu individu teramplifikasi dan pada individu lainnya tidak. Pita DNA dengan ukuran yang berbeda dari satu *primer* diasumsikan dari lokus yang berbeda, sehingga variasi munculnya pita DNA dapat digunakan sebagai dasar analisis keanekaragaman genetik (Williams *et al.*, 1990).

Pita – pita DNA yang diamplifikasi berulang kali akan terlihat jelas dan tebal, sedangkan pita DNA yang hanya diamplifikasi beberapa kali saja akan terlihat tipis. Akan tetapi tebal tipisnya pita DNA tidak berpengaruh pada hasil

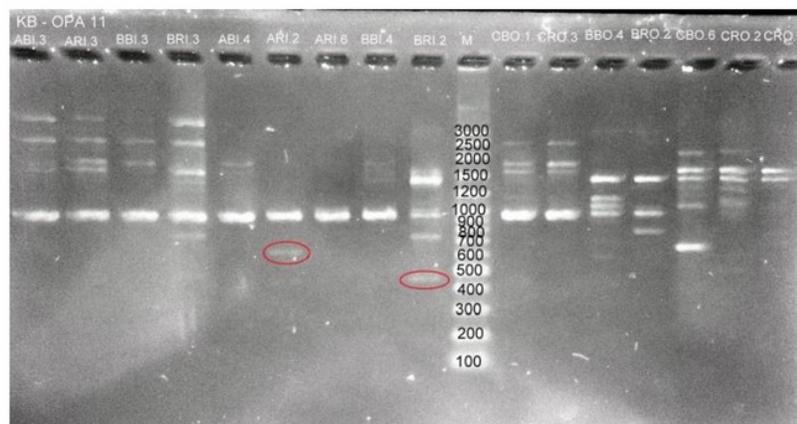
amplifikasi, karena hasil metode PCR-RAPD dipengaruhi ada atau tidaknya pita DNA. Pemisahan pita – pita DNA mengguakan gel agarose dengan prinsip dasar perbedaan berat molekul. Pita DNA dengan berat molekul terbesar terletak paling dekat dengan sumuran gel. Sedangkan pita DNA dengan berat molekul terkecil berada paling jauh

dari sumuran gel. Hal ini dapat terjadi karena, molekul yang lebih besar bergerak lebih lambat dalam gel elektroforesis (Grosberg *et al.*, 1996).

Hasil amplifikasi pita DNA semua sampel ditunjukkan pada Gambar 4 – 6.



(a)

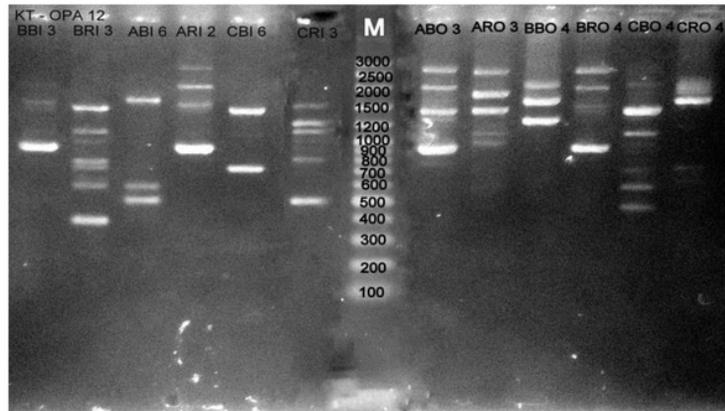


(b)

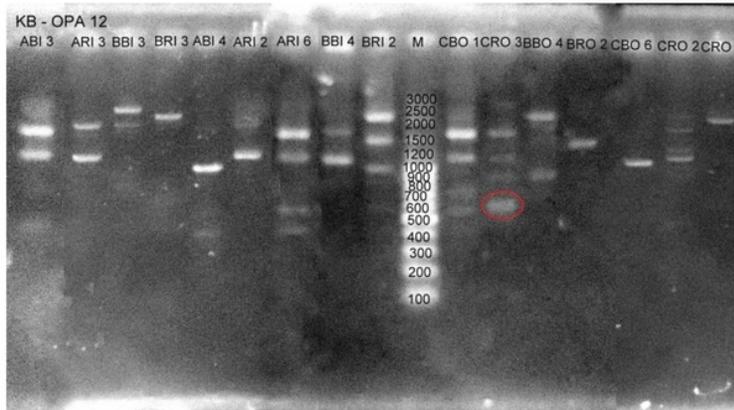
Gambar 4. Hasil amplifikasi DNA Nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dengan primer OPA-11. (a) DNA nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dari Kota Pekalongan dan (b) DNA nyamuk dari Kabupaten Pekalongan

Dari Gambar 4. diatas, hasil amplifikasi nyamuk *Cx. quinquefasciatus* pada kedua lokasi dengan *primer* OPA-11 diperoleh 132 pita DNA polimorfik. Pita DNA pada ukuran 900 bp merupakan pita DNA spesifik karena hanya muncul pada sampel CRO 4 dari Kota

Pekalongan. Selain itu ada juga pita DNA spesifik pada ukuran 600 bp pada sampel ARI 2 dan 450 bp pada sampel BRI 2 dari Kabupaten Pekalongan.



(a)

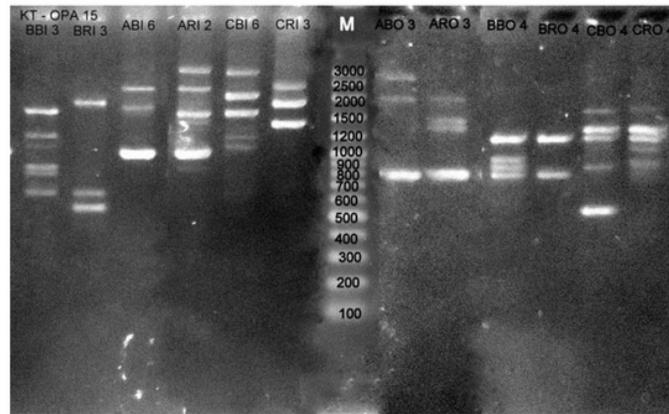


(b)

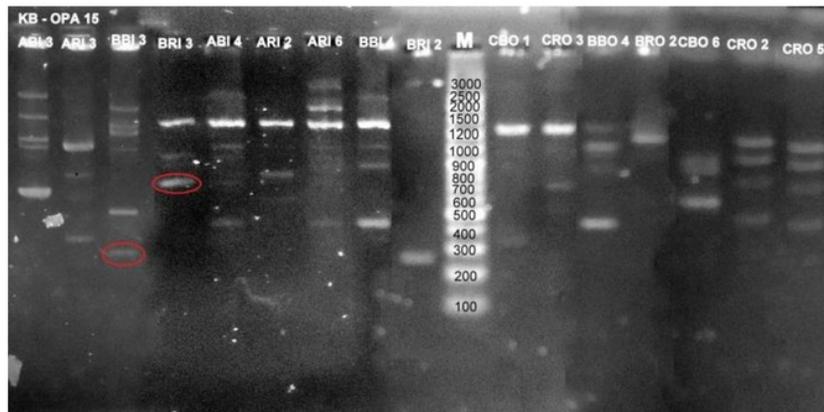
Gambar 5. Hasil amplifikasi DNA Nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dengan *primer* OPA-12. (a) DNA nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dari Kota Pekalongan dan (b) DNA nyamuk dari Kabupaten Pekalongan

Dari Gambar 5. diatas, hasil amplifikasi nyamuk *Cx. quinquefasciatus* pada kedua lokasi dengan primer OPA-12 diperoleh 139 pita DNA polimorfik. Pita DNA

pada ukuran 650 bp merupakan pita DNA spesifik karena hanya muncul pada sampel CRO 3 dari Kabupaten Pekalongan.



(a)



(b)

Gambar 6. Hasil amplifikasi DNA Nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dengan primer OPA-15. (a) DNA nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dari Kota Pekalongan dan (b) DNA nyamuk dari Kabupaten Pekalongan

Dari Gambar 6. diatas, hasil amplifikasi nyamuk *Cx. quinquefasciatus* pada kedua lokasi dengan primer OPA-15 diperoleh 163 pita DNA polimorfik. Pita DNA

pada ukuran 750 bp merupakan pita DNA spesifik karena hanya muncul pada sampel BRI 3 dan pita ukuran 350 bp pada sampel BBI 3 dari Kabupaten Pekalongan.

Berdasarkan Gambar 4 – 6. diatas, ketiga primer yang digunakan, yaitu OPA-11, OPA-12, dan OPA-15 menghasilkan pita spesifik, sehingga primer tersebut optimal untuk spesies *Cx. quinquefasciatus*. Pita spesifik adalah pita yang muncul pada sampel tertentu dengan primer tertentu juga. Dengan adanya pita DNA spesifik pada individu tertentu, kemungkinan merupakan variasi genetik individu tersebut.

Variasi genetik dalam suatu spesies seringkali dipengaruhi oleh perilaku reproduksi individu – individu dalam populasi tersebut (Indrawan *dkk.*, 2007). Hal ini berkaitan dengan pemilihan individu yang akan dijadikan pasangannya dan pemilihan ini berlangsung secara acak sehingga terjadi perkawinan acak (*random mating*). Menurut Frankham *et al.* (2002), populasi – populasi besar yang secara alami melakukan perkawinan acak, dapat memiliki variasi genetik yang tinggi karena keturunan akan menerima kombinasi gen – gen dari parentalnya. Adanya aliran gen (*gen flow*) disebabkan individu pada suatu lokasi tertentu dapat melakukan perkawinan dengan individu yang

datang pada lokasi tersebut, sehingga terjadi perbedaan induk dan dapat menimbulkan variasi genetik.

Selain itu faktor seleksi alam, yaitu adanya perubahan kondisi lingkungan juga mendukung terjadinya variasi genetik, karena dengan adanya perubahan lingkungan maka nyamuk akan melakukan adaptasi lingkungan, kemudian menyebabkan perubahan fenotip dan kelamaan akan mempengaruhi genotipnya. Menurut Frankham *et al.* (2002), individu dengan genotip yang sama dapat memiliki fenotip berbeda, dan sebaliknya individu dengan fenotip sama dapat memiliki genotip yang berbeda. Hal ini disebabkan adanya interaksi antara genotip dengan faktor lingkungan sehingga menyebabkan perbedaan ekspresi genotip menjadi fenotip akibat pengaruh lingkungan. Faktor – faktor yang mempengaruhi kemampuan nyamuk (serangga) beradaptasi dengan lingkungannya (Rismayadi, 2005) :

1. Ukuran tubuh dan habitat yang efektif
Sebagian besar serangga vektor penyakit berukuran

- kecil, sehingga mempunyai relung ekologis luas, sebab mampu mengeksploitasi berbagai jenis habitat. Kemampuan mengeksploitasi habitat inilah yang menyebabkan serangga dijumpai dimana – mana (cosmopolitan)
2. Kemelimpahan dan laju reproduksi
Kemelimpahan serangga dapat dikatakan tinggi pada suatu luasan tertentu dan mampu mencapai usia dewasa dengan cepat untuk bereproduksi. Kedua faktor ini mendukung serangga untuk beradaptasi dengan lingkungannya
 3. Kemampuan adaptasi
Serangga merupakan hewan yang sangat toleran terhadap perubahan lingkungan. Kemampuan beradaptasi dengan lingkungan dapat menyebabkan terjadinya variasi pada serangga tersebut
 4. Hewan penutup tubuh
Penutup tubuh serangga tersusun dari kitin yang memiliki fleksibilitas namun secara periodik terkelupas dan digantikan jaringan baru seiring pertumbuhan serangga
 5. Kemampuan untuk terbang
Serangga merupakan hewan pertama yang mengembangkan kemampuan untuk terbang dan kemampuan ini sangat berperan dalam kesuksesan berkompetisi dengan predator (salah satunya adalah manusia)
- d. Analisis Polimorfisme DNA**
Polimorfisme pita DNA dengan ketiga primer pada kedua lokasi sampling nyamuk *Cx. quinquefasciatus* disajikan pada Tabel 5 dan 6.

Tabel 5. Primer dan Karakteristik Produk Amplifikasi DNA Nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dari Kota Pekalongan

Primer	Jumlah Fragmen Teramplifikasi	Fragmen Poli morfik	Fragmen Mono morfik	Persentase Poli morfisme (%)
OPA 11	56	56	0	100
OPA 12	78	78	0	100
OPA 15	63	63	0	100
Jumlah	197	197	0	100

Tabel 6. Primer dan Karakteristik Produk Amplifikasi DNA Nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dari Kabupaten Pekalongan

Primer	Jumlah Fragmen Teramplifikasi	Fragmen Poli morfik	Fragmen Mono morfik	Persentase Poli morfisme (%)
OPA 11	76	76	0	100
OPA 12	61	61	0	100
OPA 15	100	100	0	100
Jumlah	237	237	0	100

Hasil amplifikasi DNA populasi nyamuk *Cx. quinquefasciatus* baik dari Kota dan Kabupaten Pekalongan, menunjukkan tingkat polimorfisme DNA yang sama, yaitu 100%. Hal ini menunjukkan bahwa tingkat keanekaragaman genetik keduanya tinggi, sejalan dengan hal tersebut disampaikan bahwa menurut Qun-Liu *et al.* (2010), persentase polimorfik diatas 50% menunjukkan keanekaragaman genetik yang tinggi. Adanya keanekaragaman genetik ini mempengaruhi tingkat kemampuan individu tersebut beradaptasi dengan perubahan lingkungan (Frankham *et al.*, 2002).

Perbedaan letak pengambilan sampel nyamuk secara geografis, dapat mempengaruhi siklus hidup nyamuk tersebut, yaitu dengan melakukan penyesuaian perkembangan tanpa mengubah urutan rangkaian dalam siklus hidup (Gullan and Craston, 2000). Perubahan lama siklus hidup pada serangga merupakan salah satu fenomena plastisitas fenotip yang diatur melalui regulasi gen (Braendle *et al.*, 2005; Whitman and Agrawal, 2009) dan kemungkinan dipengaruhi oleh aktivitas transposon. Menurut Yuwono (2005), transposon merupakan elemen genetik yang dapat berpindah dari satu lokus kromosom ke bagian lain kromosom maupun ke lokus kromosom lain. Adanya transposon ini dapat mengubah urutan nukleotida pada genom individu, sehingga memungkinkan terjadinya variasi genetik.

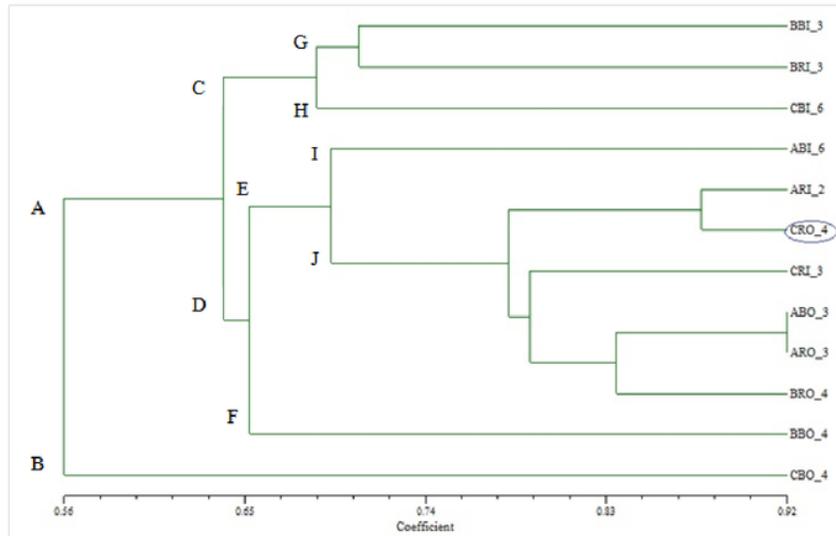
c. Analisis Similaritas *Cx. quinquefasciatus*

Hasil amplifikasi semua sampel DNA nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dianalisis menggunakan software NTSYSpc. 21 dan disajikan dalam bentuk dendrogram berdasarkan koefisien

similaritas, yaitu nilai yang menunjukkan kesamaan genetik sehingga dapat dikelompokkan menggunakan UPGMA.

Berdasarkan analisis similaritas karakter genetik dengan

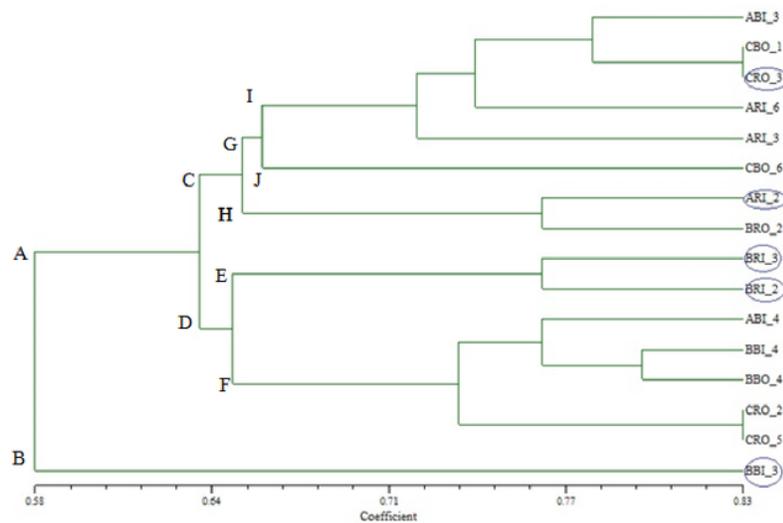
koefisien *Simple Matching* (SM) terhadap sampel DNA nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dari Kota dan Kabupaten Pekalongan, maka dapat disajikan seperti pada Gambar 7 - 9.



Gambar 7. Dendrogram Similaritas (Fenetik) Karakter Genetik Nyamuk dari Kota Pekalongan dengan Koefisien SM. Keterangan : = sampel dengan pita DNA spesifik.

Dari Gambar 7. dapat diketahui sampel nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dari Kota Pekalongan dibagi menjadi dua kluster besar, yaitu A dan B dengan koefisien similaritas 0,56. Pada kluster A tampak hampir semua sampel nyamuk *Cx. quinquefasciatus* mengelompok, sedangkan pada kluster B hanya terdiri dari satu sampel saja, yaitu CBO 4. Hal ini

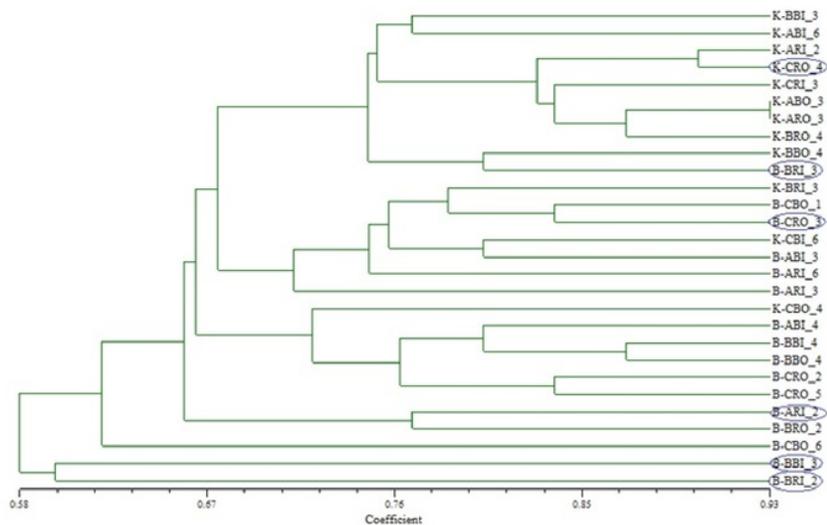
kemungkinan terjadi karena sampel CBO 4 tersebut mempunyai variasi genetik yang sangat tinggi. Sedangkan individu dengan pita spesifik, yaitu CRO 4, mengelompok dengan sampel ARI 2 dengan koefisien similaritas 0,87. Individu dengan koefisien similaritas tertinggi adalah ABO 3 dan ARO 3, yaitu sebesar 0,92.



Gambar 8. Dendrogram Similaritas (Fenetik) Karakter Genetis Nyamuk dari Kabupaten Pekalongan dengan Koefisien SM. . Keterangan : = sampel dengan pita DNA spesifik.

Dari Gambar 8. dapat diketahui sampel nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dari Kabupaten Pekalongan dibagi menjadi dua kluster besar, yaitu A dan B dengan koefisien similaritas 0,58. Pada kluster A tampak hampir semua sampel nyamuk *Cx. quinquefasciatus* mengelompok, sedangkan pada kluster B hanya terdiri dari satu sampel saja, BBI 3. Hal ini kemungkinan terjadi karena sampel BBI 3 tersebut mempunyai variasi genetik yang sangat tinggi atau ada kemungkinan bukan nyamuk

nyamuk *Cx. quinquefasciatus*, karena sampel ini juga mempunyai pita spesifik. Sedangkan individu dengan pita spesifik, yaitu CRO 3, mengelompok dengan sampel CBO 1 dengan koefisien similaritas 0,83. Sampel lain yang mempunyai pita spesifik, yaitu BRI 3 mengelompok dengan BRI 2, ARI 2 mengelompok dengan BRO 2 dan kedua kelompok tersebut mengelompok dengan koefisien similaritas 0,75. Individu dengan koefisien similaritas tertinggi adalah CRO 2 dan CRO 5, yaitu sebesar 0,83.



Gambar 9. Dendrogram Similaritas (Fenetik) Karakter Genetik Nyamuk dari Kota dan Kabupaten Pekalongan dengan Koefisien SM. Keterangan : ○ = sampel dengan pita DNA spesifik

Keanekaragaman genetik nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dari Kota dan Kabupaten Pekalongan hampir sama, terbukti dari Gambar 9., ada 11 sampel dari kota dan kabupaten yang mengelompok menjadi satu. Hal ini dapat terjadi karena jarak antara Kota dan Kabupaten Pekalongan sangat dekat dan tidak ada batas khusus, sehingga dimungkinkan adanya mobilitas nyamuk dari Kota ke Kabupaten Pekalongan dan sebaliknya. Adanya mobilitas ini, menyebabkan adanya interaksi dan *breeding* antara nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dari Kota dan Kabupaten Pekalongan. *Breeding* yang terjadi adalah

outbreeding. Terjadinya *outbreeding* dapat meningkatkan nilai heterozigositas, sehingga variasi genetiknya semakin tinggi.

Hasil penelitian keanekaragaman genetik nyamuk *Cx. quinquefasciatus* di Kota dan Kabupaten Pekalongan ini dapat dijadikan *database* ataupun acuan Dinas Kesehatan sebagai informasi mengenai kondisi nyamuk *Cx. quinquefasciatus* di Kota dan Kabupaten Pekalongan. Penelitian ini harus dilakukan secara berkala. Jika pada penelitian selanjutnya terdapat perbedaan hasil, kemungkinan populasi nyamuk telah mengalami mutasi. Sehingga perlu dilakukan

perbaruan atau inovasi baik cara pencegahan maupun pengobatan. Karena dengan adanya mutasi tersebut, menandakan nyamuk telah resisten dengan cara pencegahan dan pengobatan yang ada.

Berdasarkan hasil diatas, maka hipotesis "keanekaragaman sampel nyamuk *Cx. quinquefasciatus* sebagai vektor filariasis dari Kota dan Kabupaten Pekalongan tinggi yang mencapai 100% polimorfisme" dapat diterima.

KESIMPULAN DAN SARAN

a. Kesimpulan

Keanekaragaman genetik nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dari Kota dan Kabupaten Pekalongan tinggi. Genotip nyamuk *Cx. quinquefasciatus* kota dan kabupaten hampir sama.

b. Saran

Perlu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dalam bidang genetika molekuler mengenai genotip nyamuk yang membawa larva cacing *W. bancrofti* dan yang tidak. Selain itu perlu juga diteliti mengenai deteksi larva cacing penyebab filariasis dalam nyamuk

Cx. quinquefasciatus dan di sampel darah penderita filariasis.

DAFTAR PUSTAKA

- Barbosa, R. M. R., Antonio S., Alvaro E. E., and Leda R. 2007. Laboratory and Field Evaluation of An Oviposition Trap for *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 102(5): 523 - 529
- Borrer, D. J., L. A. Triplehorn, dan N. F. Johnson. 1995. *Pengenalan Pelajaran Serangga*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Braendle, C., Friebe I., Caillaud M. C., Strein D. L. 2005. Genetic Variation for An Aphid Wing Polyphenism is Genetically Linked to a Naturally Occurring Wing Polymorphism. *Proceedings of The Royal Society B*. 272 : 657 – 664
- DEPKES. 2009. Penderita Filariasis Tersebar di 386 Kabupaten/Kota. <http://www.depkes.go.id/index.php/berita/press-release/453-penderita-filariasis-tersebar-di-386-kabupatenkota.html>. Diakses tanggal 29 September 2011
- Ellegren, H. 2009. Is Genetic Diversity Really Higher in Large Populations? *Journal of Biology*, 8:41



- 3 Frankham, R., J. D. Ballou, and D. A. Briscoe. 2002. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge : Cambridge University Press
- Grosberg, R. K., Levitan, D. R., and Cameron, B. B. 1996. Characterization of Genetic Structure and Genealogies Using RAPD-PCR Marker : A Random Primer for the Novice and Nervous. In Ferraris, J. D., Palumbi, S. R. (EDs) *Molecular Biology : Advances, Strategies, and Protocols*. John Wiley&Sons, Inc. Publication, New York. Pp : 67 – 132
- Harini, S. S., Leelambika, M., Kameshwari, M. N. S., and Sathyanarayana, N. 2008. Optimization of DNA Isolation and PCR-RAPD Method for Molecular Analysis of *Urginea indica* Kunth. *International Journal of Integrative Biology*. 2(2) : 138 – 144
- Indrawan, M., Primack, R. B., Supriatna, J. 2007. *Biologi Konservasi*. Edisi Revisi. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta. Hal : 23 – 25
- Maheswaran, R., S. Sathish, and S. Ignacimuthu. 2008. Larvicidal Activity of *Leucas aspera* (Willd.) Against The Larvae of *Culex quinquefasciatus* Say and *Aedes aegypti* L. *International Journal of Integrative Biology*. 2(3) : 214 - 217
- Qun-Liu, Y., Li Qini, Ping Li, Y., Wang, H., Run-XiXi, Hong Qi, Y., Sheng Li, X. 2010. Comparative Genetic Diversity and Genetic Structure of Three Chinese Silkworm Species *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae), *Antheraea pernyi* Guerin-Meneville and *Samia Cynthia ricini* Donovan (Lepidoptera: Saturniidae). *Neotropical Entomology*. 39(6) : 967 – 976
- Rismayadi, Y. 2005. *Ekosistem Pemukiman dan Keberadaan vektor penyakit*. Diakses tanggal 22 Juni, pukul 16.53
- Sharman, A. K., M.J. Mendki, S.N. Tikar, K. Chandell, D. Sukumaran, B.D. Parashar, Vijay Veer, O.P. Agarwal, and Shri Prakash. 2009. Genetic Variability in Geographical Populations of *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera : Culicidae) from India Based on Random Amplified Polymorphic DNA Analysis. *Acta Tropica, Science Direct*. 112(1): 71-76
- Tiwari, P., R. Arya, L. M. Tripathi, S. M. Bhattacharya, and V. M. L. Srivastava. 2004. Genetic Variation among Filarial Species as Detected by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). *Journal of Parasitic Diseases*. 28(2) : 73-77



Whitman, D. W. and Agrawal, A.
2009. *Phenotype Plasticity of Insect : What is Phenotype Plasticity and Why is it important?* Science Publishers, Inc. Enfield, NH.
www.insect.htm. Diakses tanggal 22 Juni 2012 pukul 19.31

Williams, J.G.K, A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski, S.V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18 : 6531-6535

Yuwono, T. 2005. *Bilogi Molekuler.* Erlangga. Jakarta. Pp : 245

Keanekaragaman Genetik Nyamuk Vektor Filariasis *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae) di Kota dan Kabupaten Pekalongan Dengan Metode PCR-RAPD

ORIGINALITY REPORT

1 %	%	1 %	1 %
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

- 1 Furdui, E. M., L. A. M rghita , D. S. Dezmirean, I. Pa ca, I. F. Pop, S. Erler, and E. A. Schluns. "Genetic Characterization of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) Breeding and Hybrid Lines With Different Geographic Origins", *Journal of Insect Science*, 2014.
Publication 1 %
- 2 Submitted to Higher Education Commission Pakistan
Student Paper <1 %
- 3 Luis M. Enríquez-Paredes. "Genetic diversity and population structure of wintering Western Sandpipers from the Sinaloa coast, Mexico : Western Sandpiper Genetic Analyses", *Journal of Field Ornithology*, 02/2012
Publication <1 %

Exclude quotes On

Exclude bibliography On

Exclude matches < 20 words