

SKRIPSI

**PERBANDINGAN TITER ANTIGEN VIRUS DENGUE
PADA JENTIK NYAMUK *Aedes aegypti* DI DALAM
DAN DI LUAR RUMAH MENGGUNAKAN UJI *Indirect*
ELISA (*Enzym Linked Immunosorbent Assay*)**



Oleh :

RIRIN HARI SETIANI
TRENGGALEK - JAWA TIMUR

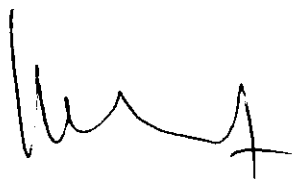
**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2003**

**PERBANDINGAN TITER ANTIGEN VIRUS
DENGUE PADA JENTIK NYAMUK *Aedes aegypti*
DI DALAM DAN DI LUAR RUMAH MENGGUNAKAN UJI
*Indirect ELISA (Enzym Linked Immunosorbent Assay)***

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
Pada
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh
RIRIN HARI SETIANI
069812523

Menyetujui
Komisi Pembimbing



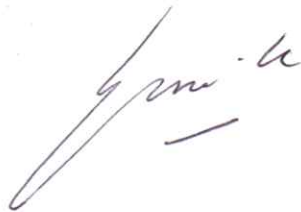
(Dr. Fedik Abdul Rantam, Drh)
Pembimbing Pertama



(Ir. Yudi Cahyoko, Msi)
Pembimbing Kedua

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar **Sarjana Kedokteran Hewan**

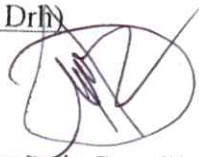
Menyetujui,
Panitia Penguji,



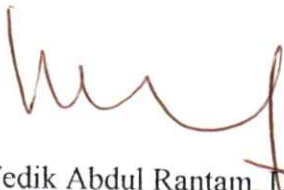
(Erni Rosilawati, M.S, Drh)
Ketua



(Jola Rahmahani, Drh)
Sekretaris



(Suryanie Sarudji, Mkes, Drh)
Anggota



(Dr. Fedik Abdul Rantam, Drh)
Anggota



(Ir. Yudi Cahyoko, Msi)
Anggota



Surabaya, 10 Maret 2003
Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga
Dekan,



(Prof. Dr. Ismudiono, M.S, Drh)
NIP 13068797

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah puji syukur kehadiran Allah SWT, atas segala rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penelitian dan penulisan skripsi ini dapat selesai dengan baik. Penyusunan makalah skripsi ini didasarkan pada hasil penelitian mengenai **Perbandingan Titer Antigen Virus Dengue pada Jentik Nyamuk *Aedes aegypti* di Dalam dan di Luar Rumah Menggunakan uji *Indirect ELISA (Enzym Linked Immunosorbent Assay)*.**

Penulis menyadari bahwa keberhasilan penelitian sampai penulisan makalah skripsi ini tidak terlepas dari bantuan dan dukungan dari semua pihak. Dengan rasa hormat, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Dr. Ismudiono, MS, drh. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya, Bapak Dr. Fedik Abdul Rantam, drh. Sebagai pembimbing pertama, Bapak Ir. Yudi Cahyoko, Msi sebagai pembimbing kedua, Bapak Kusnoto, drh yang selalu memberikan bimbingan, saran, masukan dan nasehat yang sangat berguna dalam penyusunan makalah skripsi ini.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan pula kepada Bapak Direktur Tropical Disease Center, Universitas Airlangga yang telah mengizinkan penulis melakukan penelitian di laboratorium Dengue, Bapak dan Ibu Dosen dan karyawan laboratorium virologi dan imunologi Fakultas Kedokteran Hewan dan laboratorium Dengue TDC Universitas Airlangga yang telah membantu dalam penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada Bapak, Ibu, Kakak-kakakku dan adikku serta keponakan-keponakanku

tercinta atas dorongan semangat dan doa yang selalu dipanjatkan sehingga terselesaikannya penyusunan makalah skripsi ini.

Teman-temanku, Wulan, Fatma, Susan, Sinta, Anjung, Didik, Irlan, Priyadi, juga teman-teman angkatan 98. Teman-teman kostku mbak Dika, mbak Triffit, mbak Ami, mbak Sukis mbak Eni dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, namun telah banyak memberikan bantuan secara langsung maupun tidak langsung juga penulis sampaikan terima kasih.

Akhirnya penulis berharap semoga tulisan ilmiah ini dapat bermanfaat bagi perkembangan dunia Kedokteran Hewan khususnya dan ilmu pengetahuan pada umumnya. Dan penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna, maka kritik dan saran yang berguna untuk penyempurnaan makalah skripsi ini sangat penulis harapkan.

Surabaya, Maret 2003

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Landasan Teori	3
1.5. Hipotesa Penelitian.....	4
1.6. Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Demam Berdarah Dengue (DBD)	6
2.1.1. Demam Berdarah Dengue (DBD) di dunia	6
2.1.2. Demam Berdarah Dengue (DBD) di Indonesia	7
2.2. Virus Dengue	8
2.2.1. Sifat dan Morfologi Virus	8
2.2.2. Daya Ikat dan Saat Infeksi Awal Virus Dengue	9
2.3. Patogenesis.....	9
2.4. Manifestasi Klinis	11
2.5. Diagnosa Laboratorium	12
2.5.1. Identifikasi.....	12

2.5.2. Isolasi Virus Dengue	13
2.6. Tinjauan Nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	13
2.7. Ekologi dan Habitat Nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	18
BAB III MATERI DAN METODE	20
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	20
3.2. Materi dan Penelitian	20
3.2.1. Nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	20
3.2.2. Bahan Penelitian	20
3.2.3. Alat Penelitian	20
3.3. Metode Penelitian	21
3.3.1. Pengambilan Sampel	21
3.3.2. Pembuatan Suspensi Antigen	21
3.3.3. Uji <i>Indirect</i> ELISA	21
3.4. Parameter yang Dipakai	22
3.5. Analisis Data	23
BAB IV HASIL PENELITIAN	24
BAB V PEMBAHASAN	25
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	28
RINGKASAN	29
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN	35

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Siklus hidup nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	15

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Analisis chi square dari titer antigen virus Dengue pada jentik nyamuk <i>Aedes aegypti</i> di dalam dan di luar rumah	24

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bagan alur Penelitian Uji <i>Indirect</i> ELISA.....	35
2. Komposisi bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian	36
3. Skema model deteksi antigen.....	38
4. Foto beberapa peralatan untuk penelitian	39
5. Hasil Elisa <i>reader</i>	42
6. Analisis chi square dari titer antigen virus dengue pada jentik nyamuk <i>Aedes aegypti</i> di dalam dan di luar rumah	43
7. Titer antigen virus dengue pada jentik nyamuk <i>Aedes aegypti</i> di dalam rumah.....	44
8. Titer antigen virus dengue pada jentik nyamuk <i>Aedes aegypti</i> di luar rumah.....	46
9. Kontrol positif antigen virus dengue pada jentik nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	48

BAB I PENDAHULUAN

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) adalah penyakit viral akut yang disebabkan oleh virus Dengue. Penyakit ini terutama ditularkan lewat gigitan nyamuk *Aedes aegypti*, yang mana sangat patogen pada manusia dan terutama terjadi di daerah tropis (WHO, 1997).

Epidemi Dengue dilaporkan pertama kali di Batavia oleh David Bylon pada tahun 1779, sedangkan mula-mula Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) dikemukakan oleh Quintos dkk di Manila pada anak-anak pada tahun 1954. Penyakit Dengue merupakan penyakit endemik di Indonesia, tetapi dalam jarak lima tahun sampai dengan sepuluh tahun dapat timbul letusan epidemi (Hendarwanto, 1996).

Wabah penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) mulai berjangkit di Indonesia pada tahun 1968 di Surabaya dan Jakarta, sejak itu penyakit ini merupakan salah satu penyakit endemis di Indonesia. Penyakit ini dapat menyebabkan terjadinya gejala *shock* (renjatan), perdarahan (*groos bleeding*) dan kematian (Muchlastriningsih dkk. 1997).

Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) disebabkan oleh virus Dengue yang disebarkan oleh nyamuk *Aedes aegypti* sebagai vektor utama, disamping *Aedes albopictus* (Hasyimi dan Adisasmito, 1997). Nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* ini yang biasanya hidup, tinggal dan berkembang di dalam rumah (Achmad, 1998). Vektor ini bersarang di bejana-bejana yang berisi air

jernih dan tawar seperti bak mandi, drum penampung air, kaleng bekas dan lain-lain. Kasus Demam Berdarah Dengue (DBD) cenderung meningkat pada musim hujan karena perubahan musim mempengaruhi frekuensi gigitan nyamuk dan perubahan musim mempengaruhi manusia sendiri dalam sikap terhadap gigitan nyamuk misalnya dengan lebih banyak berdiam di dalam rumah selama musim hujan (Hendarwanto, 1996).

Morbiditas dan mortalitas Demam Berdarah Dengue (DBD) bervariasi dan dipengaruhi berbagai faktor antara lain status imunologi seseorang, kepadatan vektor nyamuk, transmisi virus Dengue, virulensi virus dan kondisi geografis setempat (Soegeng dkk. 2002).

Aspek ekologi yang mempengaruhi perkembangan penyebaran nyamuk penular Demam Berdarah Dengue (DBD) berupa lingkungan biologik, yang meliputi banyaknya tanaman hias dan tanaman pekarangan, kondisi ini akan mempengaruhi kelembaban dan pencahayaan di dalam dan luar rumah. Lingkungan fisik meliputi : curah hujan, kecepatan angin, suhu udara, dan kelembaban (Putra, 1995).

Usaha-usaha untuk mengatasi masalah penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) melalui penelitian-penelitian baik mencari data diagnosis yang cepat dan tepat, cara terapi yang spesifik dan pengembangan vaksin untuk pencegahan sudah banyak dilakukan. Namun sampai saat ini hasilnya belum memuaskan sehingga pemberantasan penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) hanya dapat dilakukan melalui pemutusan rantai penularan yaitu dengan membasmi vektor nyamuk *Aedes aegypti* (Sumarmo dkk. 1994).

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut maka timbul suatu permasalahan yang dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Apakah titer antigen virus Dengue pada jentik nyamuk *Aedes aegypti* di dalam rumah lebih besar dibanding di luar rumah ?
2. Apakah terdapat perbedaan nyata titer antigen virus Dengue pada jentik nyamuk *Aedes aegypti* antara di dalam dengan di luar rumah ?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan titer antigen virus Dengue pada jentik nyamuk *Aedes aegypti* antara di dalam dengan di luar rumah.

1.4 Landasan Teori

Ada empat serotipe virus Dengue yang diketahui menjadi penyebab penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) di Indonesia, yaitu virus Dengue serotipe 1, 2, 3, dan 4 (DEN-1, DEN-2, DEN-3, DEN-4). Serotipe yang paling banyak di Indonesia adalah DEN-3. Hal ini terbukti dengan adanya penelitian beberapa kasus Demam Berdarah Dengue (DBD) di wilayah Indonesia seperti di Jakarta, Bantul, maupun Pontianak, dimana dari sebagian besar penderita Demam Berdarah Dengue (DBD) tipe berat maupun yang mati berhasil diisolasi virus DEN-3. Virus DEN-3 tidak hanya merupakan serotipe virus yang utama di Indonesia, tetapi juga merupakan tipe yang paling virulen (Sumarmo, 1987).

Virus Dengue masuk ke dalam tubuh manusia melalui gigitan nyamuk dan infeksi pertama kali kadangkala tidak menampilkan gejala klinis. Penyakit yang

berbeda akan tampak bila seseorang mendapat infeksi yang berulang dengan tipe virus berbeda. Masa inkubasi (mulai digigit sampai timbul gejala) penyakit ini berlangsung selama dua minggu. Pada saat itu penderita menjadi sumber penularan. Bila penderita digigit nyamuk, virus akan masuk ke dalam lambung nyamuk. Virus ini memperbanyak diri dalam tubuh nyamuk dan tersebar keseluruh jaringan tubuh nyamuk dan masuk dalam kelenjar air liurnya. Bila nyamuk yang mengandung virus ini menggigit orang sehat, maka akan mengeluarkan air liurnya agar darah tidak beku. Bersama air liur ini ikut ditularkan virus ke dalam pembuluh kapiler. Selepas masa inkubasi baru timbul manifestasi klinik dan penderita mulai sakit (Hendarwanto, 1996).

Dengue menjadi masalah yang penting karena kenaikan jumlah penderita yang terus meningkat, meluasnya daerah epidemik dan semakin gawatnya kasus Demam Berdarah Dengue (DBD) atau *Dengue Shock Syndrome (DSS)*. Ada korelasi kuat antara peningkatan keganasan infeksi dengan tingginya titer viremia, infeksi sekunder dan tipe dari virus.

1.5 Hipotesa Penelitian

Hipotesa yang dapat diambil adalah sebagai berikut ;

1. Titer antigen virus Dengue pada jentik nyamuk *Aedes aegypti* di dalam rumah lebih besar dibanding dengan di luar rumah.
2. Adanya perbedaan nyata titer antigen virus Dengue antara jentik nyamuk *Aedes aegypti* di dalam dengan di luar rumah.

1.6 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan memperjelas adanya antigen virus Dengue pada jentik nyamuk *Aedes aegypti* di dalam rumah lebih tinggi sehingga dapat dilakukan pencegahan dan pemberantasan penyebaran nyamuk *Aedes aegypti* terutama di dalam rumah.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Demam Berdarah Dengue

Virus Dengue masuk kedalam tubuh melalui gigitan nyamuk dan infeksi pertama kali mungkin memberi gejala sebagai *Dengue Fever* (DF) (Suroso, 1990). Demam Berdarah Dengue (DBD) dapat terjadi bila seseorang setelah terinfeksi virus dengue pertama kali mendapat infeksi berulang dengan Dengue lainnya (Sumarmo, 1997).

Setelah virus Dengue masuk dalam tubuh, pasien akan mengalami keluhan dan gejala karena viremia seperti demam, sakit kepala, mual, nyeri otot, pegal seluruh badan, hiperemia di tenggorokan, timbul ruam, dan kelainan-kelainan yang mungkin terjadi pada sistem retikuloendotelial seperti pembesaran kelenjar-kelenjar getah bening, hati dan limpa. Ruam pada *Dengue Fever* disebabkan oleh kongesti pembuluh darah di bawah kulit (Suroso, 1990).

2.1.1. Demam Berdarah Dengue di Dunia

Berbagai ragam demam berdarah yang timbul dalam bentuk epidemi dilaporkan di beberapa negara. Sebagian diantaranya terbukti disebabkan oleh virus tetapi ada pula yang tidak dapat dibuktikan penyebabnya walaupun terdapat dugaan kuat disebabkan oleh virus. Laporan pertama terdapat sekitar tahun 1930. Prajurit Jepang dan Uni Sovyet dari Manchuria, sebelah timur perbatasan Siberia, menderita demam disertai perdarahan dengan mortalitas tinggi. Daerah Afrika dan

Mediterrania Timur dari Eropa juga merupakan daerah yang beresiko tinggi terjangkit Demam Berdarah Dengue (DBD) (Hendarwanto, 1996).

Pola aktivitas epidemik dari Demam Berdarah Dengue (DBD) biasanya mengalami peningkatan jumlah kasus setiap dua sampai lima tahun sekali. Selain itu banyaknya serotipe virus Dengue disuatu daerah urban dapat menyebabkan peningkatan jumlah kasus (Sumarmo, 1997).

Di Philipina sampai tahun 1956 baru dikenal virus DEN-1 dan DEN-2 kemudian pada tahun 1960 berhasil menemukan virus Dengue sebagai penyebab penyakit *Philiphine Haemorrhagic Fever* yang akhirnya dinamakan virus DEN-3 dan DEN-4 (Sumarmo, 1987).

2.1.2. Demam Berdarah Dengue (DBD) di Indonesia

Di Indonesia Demam Berdarah Dengue (DBD) pertama kali dicurigai di Surabaya tahun 1968 (Partana *et al.*, 1970) tetapi konfirmasi virologis baru diperoleh tahun 1970. Demam Berdarah Dengue (DBD) berturut-turut dilaporkan di Jakarta (Pelenkahu *et al.*, 1972), Bandung (Abdul Rivai *et al.*, 1972) dan Yogyakarta (Ismangun *et al.*, 1972). Dari tahun 1968 sampai tahun 1972 wabah hanya dilaporkan di pulau Jawa.

Epidemi pertama diluar Jawa dilaporkan pada tahun 1972 di Sumatra Barat dan Lampung, disusul tahun 1973 oleh epidemi dari Riau, Sulawesi Utara dan Bali. Pada tahun 1974 epidemi dilaporkan di Kalimantan Selatan dan NTB. Pada tahun 1975, duapuluh propinsi telah melaporkan berjangkitnya epidemi Demam Berdarah Dengue (DBD) (Departemen Kesehatan RI, 1981).

Insidensi tertinggi kasus Demam Berdarah Dengue (DBD) pada tahun 1973 sebanyak 10.189 kasus dan selanjutnya kasus menurun sampai tahun 1982, kemudian meningkat lagi pada tahun 1983 dan mencapai puncaknya pada tahun 1988 dengan jumlah kasus 47.573. Setelah itu kasus Demam Berdarah Dengue (DBD) menurun walaupun angka kesakitan masih tinggi. Tahun 1998 kasus Demam Berdarah Dengue (DBD) kembali meledak dengan jumlah kasus relatif besar dibanding dengan lima tahun sebelumnya (Rantam, 1998 a).

Demam Berdarah Dengue (DBD) umumnya menyerang anak-anak sehingga sering disebut atau digolongkan penyakit anak akan tetapi kalau diamati ternyata orang dewasa pun dapat terserang penyakit ini (Soewando, 1997).

Pengaruh musim ternyata memberi kontribusi cukup besar pada peningkatan jumlah kasus (Soedarmo, 1998).

2.2. Virus Dengue

2.2.1. Sifat dan Morfologi Virus

Virus Dengue mempunyai empat serotipe yang serupa yaitu DEN-1, DEN-2, DEN-3, DEN-4 tetapi sifat antigeniknya tidak sama (Soedarto, 1998).

Keempat serotipe telah ditemukan pada pasien-pasien di Indonesia. DEN-3 merupakan serotipe yang paling banyak beredar (Hendarwanto, 1996). Virus Dengue termasuk virus RNA tipe kecil, mempunyai amplop dan merupakan anggota kelompok *anthropoda borne virus* grup B, pada taksonomi baru ditemukan dalam kelompok *Flavivirus* (Wibisono, 1992 ; Fenner *et al.*, 1995).

Nama ini berasal dari bahasa latin (*flavus=yellow*) yang beranggotakan antara lain *Yellow fever*, *Japanese encephalitis*, *West Nile*, *Tickborn encephalitis*.

(Rantam, 1998 b). Nukleotid mempunyai berat molekul 10 sampai 11 kilodalton serta berdiameter kira-kira 50 nanometer (nm) (Fenner *et al.*, 1995). Berstruktur serikel dan nukleokapsidnya helikal. Komposisi virion terdiri dari : 6% RNA, 66 % protein, 9 % karbohidrat dan 17 % lemak (Rice, 1996; Rantam, 1998 b).

Virus dengue berbentuk batang, bersifat termolabil dan sensitif terhadap inaktivasi *natrium dioksilat* dan *dietil eter*, stabil pada suhu -70°C dan berdaya mengaglutinasi butir darah merah angsa (Internasional Catalogue of Arbovirus, 1980). Darah manusia yang mengandung virus dengue tetap infeksiif selama beberapa minggu jika disimpan pada suhu 5°C (Soedarto, 1998).

2.2.2 Daya Ikat dan Saat Infeksi Awal Virus Dengue.

Proses daya ikat dan proses awal infeksi virus dengue pada sel adalah tergantung adanya *Antibody Dependent Enhancement* (ADE). Setelah terjadi pengikatan virion diambil oleh *Receptor Mediated Endocytosis* (RME), akhirnya terjadi fusi secara langsung pada membran plasma. Selanjutnya terjadi pelepasan selubung dari nukleokapsid dan translasi genom RNA (Rice, 1996). Proses diatas yang berfungsi adalah protein E yang terjadi pada pH rendah karena dapat mendorong fusi virion dengan membran plasma (Rantam, 1998 a).

2.3. Patogenesis

Virus dengue masuk ke dalam tubuh melalui gigitan nyamuk dan infeksi pertama kali mungkin memberi gejala sebagai *Dengue Fever* (DF). Demam Berdarah Dengue (DBD) dapat terjadi bila seseorang setelah terinfeksi dengue pertama kali mendapat infeksi berulang virus Dengue lainnya. Re-infeksi ini akan

menyebabkan suatu reaksi *anamnestik antibody*, sehingga menimbulkan konsentrasi *kompleks antigen antibody* yang tinggi (Hendarwanto, 1996).

Patogenesis terjadi renjatan berdasarkan *the secondary heterologous infection hypothesis* yang dirumuskan Suvatte (1977). Akibat infeksi kedua oleh tipe virus dengue yang berlainan pada seseorang penderita dengan kadar antibodi anti dengue yang rendah, respon antibodi anamnestic yang akan terjadi dalam beberapa hari mengakibatkan proliferasi dan transformasi limfosit imun dengan menghasilkan titer tinggi antibodi IgG anti dengue. Disamping itu replikasi virus dengue terjadi juga dalam limfosit yang mentransformasi dengan akibat terdapatnya virus dalam jumlah banyak. Hal ini akan mengakibatkan terbentuknya kompleks antigen-antibodi (*virus antibody complex*) yang selanjutnya akan mengaktivasi sistem komplemen pelepasan C_{3a} dan C_{5a} akibat aktifitas C_3 dan C_5 menyebabkan meningginya permeabilitas dinding pembuluh darah dan menghilangkan plasma melalui endotel dinding itu (Sumarmo, 1987).

Dari patogenesis diatas faktor komplemen dianggap penting dalam kejadian renjatan hipovolemik. Selain itu status imunologik dalam tubuh manusia diperkirakan mempunyai peranan penting dalam menentukan arah perjalanan penyakit dengue dan terjadinya Demam Berdarah Dengue (DBD) (Panglila, 1998).

Akibat adanya infeksi dari virus ini maka timbul adanya respon imun baik itu humoral maupun seluler antara lain: antinetralisasi, antihemaglutinin, antikomplemen. Antibodi ini pada umumnya adalah IgG disamping itu juga IgM. Antibodi IgM ini muncul setelah beberapa hari terinfeksi dengue dan bertahan

sampai beberapa bulan. Jika terinfeksi ulang oleh virus dengue dengan tipe yang berbeda maka antibodi yang timbul tidak hanya tertuju pada infeksi yang kedua tetapi juga tertuju pada infeksi yang pertama, sehingga memberikan efek booster (*boosting effect*) tetapi hanya pada antibodi kelas IgG. Respon imun sebenarnya mempunyai arti penting dalam menetralsasi infeksi virus ke dalam tubuh tetapi lain halnya dengan virus dengue, dimana respon imun mempunyai respon yang bertentangan, yang berarti pertama sebagai pencegahan infeksi dengue dan melindungi dari infeksi, kedua berfungsi sebagai imunopatologi dari Demam Berdarah Dengue (DBD) atau *Dengue Shock Syndrome* (DSS) (Rantam, 1998 a).

2.4. Manifestasi Klinis

Infeksi virus dengue pada manusia mengakibatkan suatu spektrum manifestasi klinis yang bervariasi antara penyakit paling ringan (*mild undifferentiated febrile illness*), *dengue haemorrhagic fever* dan *dengue shock syndrome*, yang terakhir dengan mortalitas tinggi yang disebabkan renjatan dan perdarahan hebat (Suvatte, 1977).

Manifestasi klinik Demam Berdarah Dengue (DBD) sangat bervariasi dari yang paling ringan sampai yang paling berat, sehingga untuk memudahkan diagnosa WHO (1997) membagi derajat beratnya penyakit dalam empat derajat. Derajat pertama, demam disertai gejala umum yang tidak khas dengan uji Torniquite positif. Derajat kedua: demam disertai perdarahan kulit atau perdarahan yang lebih berat. Derajat ketiga: kegagalan sirkulasi ditandai dengan nadi yang cepat dan lemah, tekanan nadi menurun (<20 mmHg) atau hipotensi

disertai kulit yang dingin, lembab dan gelisah. Derajat keempat: renjatan hebat dimana nadi tidak dapat diraba dan tekanan darah yang tidak teratur (Soewando, 1997).

Patokan diagnosa klinis menurut laboratorium meliputi trombositopenia (trombosit < 100.000/ml dan peningkatan hematokrit(HI>20%)) dibanding fase konvalen (masa penyembuhan) menurut WHO 1986 (yang dikutip dari Soewando, 1997; Soegiyanto, 1998).

2.5. Diagnosa Laboratorium

2.5.1. Identifikasi

Deteksi terhadap antigen virus didasarkan pada interaksi langsung antara virion atau antigen virus, *insitu* pada jaringan dan pada ekskresi atau sekresi, antibodi spesifik yang telah diberi tanda sebelumnya dengan cara tertentu untuk memungkinkan pengenalan interaksi uji yang menggunakan metode ini adalah uji ELISA (*Enzym Linked Immunosorbent Assay*), uji immonoflouresensi atau uji immonoperoksidase. Antigen virus juga dapat dideteksi melalui prosedur serologis lain yang cepat yaitu uji pengikatan komplemen (*CF test*), uji hambatan aglutinasi (*HI test*), uji netralisasi (*N test*) serta uji Reaksi Rantai Polimerase (PCR) (Fenner *et al.*, 1995). Uji Reaksi Rantai Polimerase (PCR) ini sudah mulai banyak digunakan laboratorium untuk mendeteksi virus dengue karena meskipun biayanya mahal tetapi metode ini mempunyai sensitibilitas yang tinggi sehingga diagnosa Demam Berdarah Dengue (DBD) lebih dapat ditegakkan (Morita, 1999).

2.5.2. Isolasi Virus Dengue

Isolasi virus dengue pada Pusat Penelitian dan Pengembangan Departemen Kesehatan RI dilakukan dengan teknik penyuntikan pada nyamuk *Aedes aegypti* jantan tetapi sejak tahun 1983 dipakai nyamuk *Toxorhynchites amboinensis*, sedangkan identifikasi virus dilakukan dengan teknik fluoresen. Bahan pemeriksaan adalah darah penderita, jaringan baik melalui biopsi maupun otopsi. Suharyono melaporkan selama tahun 1988 telah mengisolasi keempat serotipe dengue dimana DEN-3 merupakan serotipe yang dominan (40%), DEN-2 (38%), DEN-1 (10%) dan DEN-4 (4%). DEN-3 merupakan serotipe yang paling banyak berhubungan dengan kasus yang berat dan kematian sedangkan DEN-4 merupakan serotipe yang paling sedikit diisolasi dan hanya terdapat pada derajat yang rendah, yaitu derajat I dan II. Pada derajat yang lebih berat yaitu derajat IV dengan manifestasi klinik syok semuanya DEN-3, dimana semua kasus dari derajat IV ini mematikan (Wibisono, 1992).

Virus DEN-1 dan DEN-2 berhasil diisolasi dengan menyuntikan darah penderita secara intracutan pada anak tikus putih umur satu hari. Virus DEN-3 dan DEN-4 diisolasi langsung dengan menggunakan anak tikus putih umur satu hari yaitu disuntik intracerebral dengan darah penderita (Sumarmo, 1987). Virus juga telah berhasil diisolasi dari sumsum tulang, otak, jantung, ginjal serta saluran pencernaan (WHO, 1997).

2.6. Tinjauan Nyamuk *Aedes aegypti*

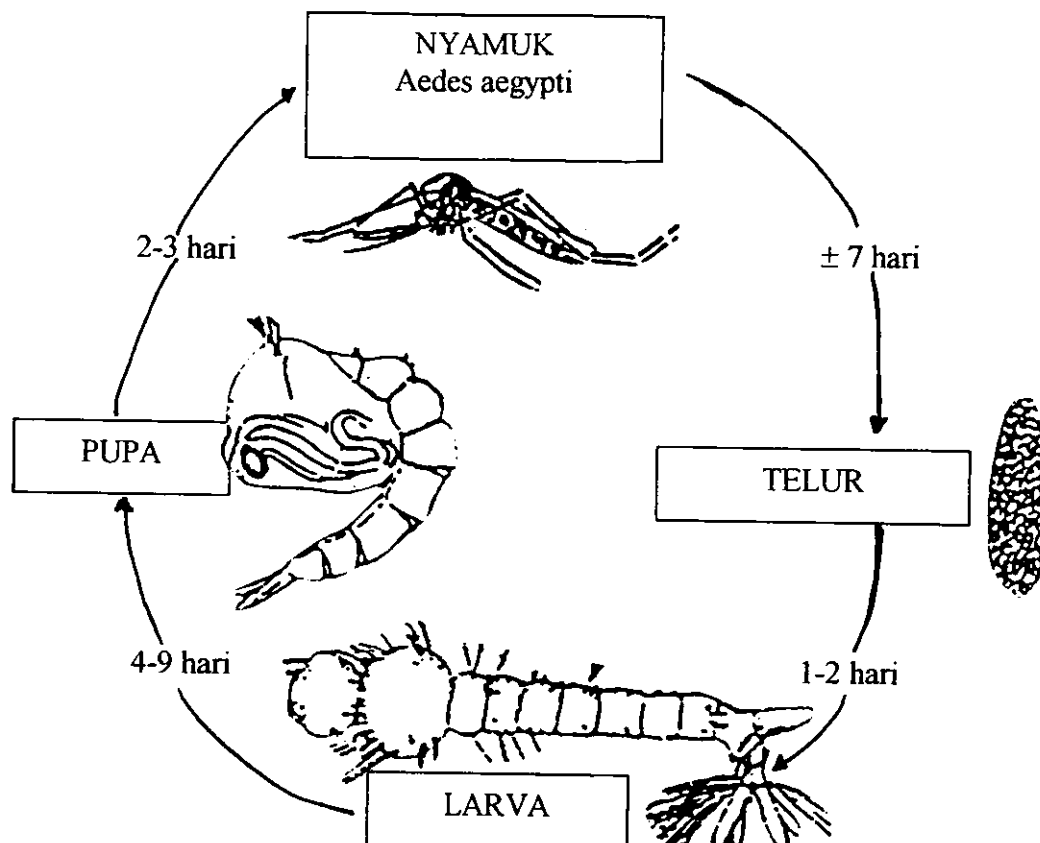
Nyamuk *Aedes aegypti* tersebar luas di daerah tropis dan subtropis. Di Indonesia nyamuk ini tersebar luas baik di rumah-rumah penduduk maupun

ditempat umum. Nyamuk ini dapat hidup dan berkembangbiak sampai ketinggian ± 1000 m dari permukaan laut, diatas ketinggian ± 1000 m tidak dapat berkembangbiak karena pada ketinggian tersebut udara terlalu rendah sehingga tidak memungkinkan bagi kehidupan nyamuk (Departemen Kesehatan RI, 1987)

Menurut Borror dkk (1992) nyamuk *Aedes aegypti* dalam klasifikasi hewan, tersebut:

Phylum	: Arthropoda
Classis	: Insecta
Subclassis	: Pterygota
Ordo	: Diptera
Family	: Culicidae
Genus	: Aedes
Spesies	: <i>Aedes aegypti</i>

Masa pertumbuhan dan perkembangan nyamuk *Aedes aegypti* dapat dibagi menjadi 4 tahap, yaitu telur, larva, pupa, dan dewasa sehingga termasuk metamorfosis sempurna (Borror dkk.1992). Selama siklus hidupnya *Aedes aegypti* (Gambar 1) berkembang biak di dua lingkungan kehidupan, yaitu air pada stadium pra-dewasa (telur, larva, dan pupa) dan di luar air pada stadium dewasa (Putra, 1995).



Gambar 2.1 : Siklus hidup nyamuk *Aedes aegypti* L.
(Sumber : Salamun, 1998)

Telur *Aedes aegypti* berbentuk elips, mempunyai permukaan poligonal, panjang telur kira-kira 0,7 mm, dibungkus dalam kulit yang berlapis tiga, yaitu: *vitelin membran* di bagian dalam, *endochorion*, *exochorion*. Telur ini berwarna putih ketika baru dikeluarkan kemudian menjadi gelap setelah satu atau dua jam. Telur diletakkan satu persatu pada benda-benda yang terapung atau pada dinding bagian dalam tempat penampungan air yang berbatasan langsung dengan permukaan air. Telur akan menetas menjadi larva dalam waktu 1-3 hari pada suhu 30° C. Jumlah telur yang diletakkan antara 100-400 butir (Putra, 1995; Bates, 1994).

Larva *Aedes aegypti* berbentuk vermiform, tubuhnya panjang tanpa kaki, dengan bulu-bulu sederhana yang tersusun bilateral simetri. Panjang larva ± 10 mm. Kepala terdapat mata majemuk, antena berbulu dan bagian mulut dipergunakan untuk menggigit. Abdomen sebanyak delapan ruas, masing-masing mempunyai dua lubang udara (*spiracle*).

Di dalam air larva menggantung secara diagonal terhadap permukaan air dengan maksud untuk pernafasan siphon. Larva biasanya mengumpul di daerah pinggir atau di sekitar benda-benda yang terapung di air. Makanan larva berupa alga, bakteri, dan bahan-bahan kecil sebesar 20-100 mikron (WHO,1972; Putra,1995). Periode larva mengalami 4 perkembangan instar yang memerlukan waktu berkisar antara 4-10 hari. Larva dapat tumbuh dan berkembang biak dengan baik pada tempat yang sesuai dengan kehidupannya, yaitu suatu tempat yang lembab atau berair, gelap, tidak disinari oleh cahaya matahari langsung dan tidak ada predator yang memakannya.

Pupa nyamuk *Aedes aegypti* berbentuk bengkok, dengan kepala besar dan berbentuk tanda tanya. Pupa mempunyai alat bernafas seperti terompet yang terdapat pada *thorax*, dan suatu kantong udara yang terletak diantara bakal sayap, sepasang penguyah yang saling menutupi dengan bulu-bulu pada ujung abdomen terakhir. Stadium pupa tanpa makan berlangsung 2-5 hari, tetapi dapat mencapai 10 hari pada suhu rendah (Brown, 1982; Putra, 1995).

Stadia dewasa nyamuk *Aedes aegypti* adalah tubuhnya berukuran lebih kecil jika dibandingkan dengan nyamuk lain, mempunyai warna dasar hitam

dengan bintik-bintik putih pada bagian badan, kaki dan sayapnya (Departemen Kesehatan RI, 1992).

Tubuh nyamuk *Aedes aegypti* terdiri atas 3 bagian, yaitu: *caput* (kepala), *thorax* (dada), *abdomen* (perut). Kepala agak membulat, hampir seluruhnya diliputi oleh sepasang mata majemuk yang hampir bersentuhan (**holoptic**), antena panjang terdiri atas 15 ruas dan berbulu. Tipe antena nyamuk jantan adalah *plumose*, sedangkan nyamuk betina adalah *pilose* (Borror dkk. 1992).

Mulut nyamuk betina bertipe penusuk-penghisap dan lebih menyukai darah manusia (**anthropophagus**) terdiri dari labium, bagian bawah mempunyai saluran dan bagian atas memiliki sepasang mandibula serupa pisau dan maxilla yang bergerigi, palpus maxilla berbentuk langsing dan berbulu. Nyamuk jantan palpusnya panjang dan dihiasi jumbai-jumbai seperti antena yang terlihat seperti bulu ayam. Nyamuk jantan mempunyai bagian mulut yang lemah sehingga tidak mampu menembus kulit manusia, tergolong lebih menyukai cairan tumbuhan (**phytophagus**) (Brown, 1982; Putra, 1995).

Thorax terdiri atas tiga ruas, yaitu *prothorax*, *mesothorax*, dan *metothorax*. Pada tiap ruas terdapat sepasang kaki yang terdiri atas *femur* (paha), *tibia* (betis), dan *tarsus* (tapak). Pada ruas-ruas kaki ada gelang-gelang putih, tetapi pada bagian kaki belakang tidak ada gelang-gelang kaki putih. Sepasang sayap yang kuat terdapat pada *mesothorax*, dan sepasang sayap yang rudimenter pada *metathorax*. Bagian punggung (*mesonotum*) ada gambaran garis-garis putih yang dapat dipakai untuk membedakan dengan jenis lain (Brown, 1982; putra, 1995).

Abdomen terdiri atas delapan ruas, terdapat gelang-gelang putih, berbentuk ramping, sepanjang daerah terdapat adanya *spiracle* (lubang pernafasan) berjumlah 6-8 pasang yang berhubungan dengan *trachea*. Pada nyamuk betina segmen terakhir abdomen mereduksi menjadi *ovipositor* dengan *cerci* yang menonjol (Litle, 1974; Borror, 1992).

Umur nyamuk betina berkisar dua minggu sampai tiga bulan atau rata-rata 1,5 bulan, tergantung suhu dan kelembaban udara di sekelilingnya. Sedangkan nyamuk jantan biasanya mampu hidup selama 6-7 hari.

Pergerakan nyamuk dari tempat berkembang biak ke tempat istirahat, lalu ke tempat hospes dan sebaliknya ditentukan oleh kemampuan terbang nyamuk (Departemen Kesehatan RI, 1987). Kemampuan terbang berkisar antara 40-100 m dari tempat perkembangbiakannya (James and Harwood, 1969; Suroso dan Umar, 1999)

2.7. Ekologi dan Habitat Nyamuk *Aedes aegypti*

Habitat nyamuk adalah suatu daerah dimana tersedia tempat beristirahat, dan tempat untuk berkembangbiak. Tempat perindukan nyamuk *Aedes aegypti* dapat dibedakan atas tempat perindukan sementara, permanen, dan tempat perindukan alami. Tempat perindukan sementara terdiri atas berbagai macam tempat penampungan air (TPA) termasuk: kaleng bekas, ban mobil bekas, pecahan botol, pecahan gelas, talang air, vas bunga, dan tempat yang dapat menampung genangan air bersih. Tempat perindukan permanen adalah TPA untuk keperluan rumah tangga seperti: bak penampungan air, bak mandi, gentong, bak

WC dan ember. Tempat perindukan alami berupa lubang pohon, lubang batu, pelepah daun, tempurung kelapa, kulit kerang, pangkal pohon pisang, potongan bambu. *Aedes aegypti* betina tertarik meletakkan telurnya pada TPA berair yang berwarna gelap, terbuka lebar dan terutama yang terletak di tempat-tempat terlindung dari sinar matahari (Sukana, 1994).

Nyamuk betina mengigit dan menghisap darah lebih banyak di siang hari antara pukul 08.00-12.00 dan pukul 15.00-17.00 dan banyak banyak mengigit di dalam rumah daripada di luar rumah. Nyamuk betina mempunyai kesenangan mengigit beberapa orang secara bergantian dalam waktu yang singkat. Hal ini disebabkan nyamuk ini sangat sensitif dan mudah terganggu, keadaan ini sangat membantu dalam memindahkan virus ke beberapa orang sekaligus (Putra, 1995).

BAB III
MATERI DAN METODE PENELITIAN

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama satu bulan mulai tanggal 5 Agustus 2002 sampai tanggal 26 Agustus 2002 bertempat Tropical Disease Centre Surabaya. Sedangkan pengambilan sampel dilaksanakan pada bulan Maret sampai Mei 2001 di Kupang Surabaya.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Nyamuk *Aedes aegypti*

Bahan penelitian adalah jentik nyamuk *Aedes aegypti*. Nyamuk ini dikoleksi dari daerah Kupang Surabaya.

3.2.2. Bahan Penelitian

Bahan-bahan untuk uji ELISA indirect adalah *Minimum Essential Medium* (MEM), *buffer coating*, antigen virus dengue pada jentik nyamuk *Aedes aegypti*, *buffer blocking*, *buffer washing*, *Phosphat Buffer Saline* (PBS), substrat, *Conjugate HRPO* (*Horseradish peroxidase*), aquadest dan *Sodium sulfat* (SDS).
10%

3.2.3. Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan adalah tabung sentrifus, sentrifus, lemari es, cawan, gelas *erlenmeyer*, gelas ukur, *microplate* ELISA, rak, *aluminium foil*, pipet

eppendorf, eppendorf tube, ELISA reader, pencatat waktu, multpipet eppendorf, sonicator.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Pengambilan Sampel

Sampel jentik nyamuk dikoleksi dari daerah Kupang Surabaya dengan cara menyediakan pot di dalam dan di luar rumah. Adapun jenis penempatan pot di dalam rumah adalah kamar tidur, dapur, ruang tamu dan ruang keluarga sedangkan penempatan di luar rumah meliputi halaman depan, teras, dan halaman belakang. Kemudian untuk beberapa hari diambil untuk diidentifikasi. Setiap sampel diambil 100 jentik nyamuk dilakukan ultrasonikasi untuk homogenisasi. Dilakukan pengulangan 100 kali untuk masing-masing kelompok.

3.3.2. Pembuatan Suspensi Antigen

Pembuatan suspensi antigen virus dengue dari jentik nyamuk menggunakan ultrasonikasi. Sekitar 100 jentik nyamuk ditambah Phosphat Buffer Saline (PBS) 200 microliter dilakukan ultrasonikasi selama 3 menit dengan temperatur 4⁰ C. Kemudian disentrifugasi 5000 rpm selama 15 menit. Supernatan dipisahkan sebagai antigen virus pada jentik nyamuk. Dilakukan 100 kali ulangan pada masing-masing kelompok.

3.3.3. Uji *Indirect* ELISA

Prosedur uji *Indirect* Elisa adalah sebagai berikut: coating *antibodi* dilakukan dengan cara mengisikan *buffer coating* pada setiap lubang microplet

sebanyak 100 microliter, microplet ditutup dengan *aluminium foil*, inkubasi pada lemari es pada suhu 4⁰ C selama 24 jam. Selanjutnya microplet dicuci dengan buffer pencuci sebanyak enam kali. Ditambahkan *milk blocking* 4% sebanyak 100 microliter pada tiap lubang microplet, ditutup dengan *aluminium foil* dan inkubasi pada suhu 37⁰ C selama satu jam. Setelah itu microplet dicuci dengan buffer pencuci sebanyak enam kali. Selanjutnya sampel antigen virus dengue dari jentik nyamuk diisikan pada semua lubang microplet sebanyak 100 microliter, tutup dengan *aluminium foil* dan diinkubasi selama satu jam pada suhu 37⁰ C. Microplet kemudian dicuci sebanyak enam kali dengan buffer pencuci setelah itu konjugate dimasukkan ke dalam lubang sebanyak 100 microliter ditutup dengan *aluminium foil* dan diinkubasi selama satu jam pada suhu 37⁰ C kemudian dicuci enam kali. Ditambahkan substrat sebanyak 100 microliter pada semua lubang, tutup dengan *aluminium foil* kemudian didiamkan selama 20 menit di ruang gelap, segera tambahkan *Sodium Sulfat* (SDS) 10% sebanyak 100 microliter pada tiap lubang untuk menghentikan reaksi. Hasilnya dibaca dengan *ELISA reader*, dengan panjang gelombang 450 nanometer (Igarashi dan Antonio, 1987).

3.4. Parameter yang Dipakai

Dengan melihat titer antigen virus dengue tersebut, ditentukan menggunakan metode ratio untuk menentukan titer > 0,2 dan titer < 0,2 dari antigen virus dengue pada jentik nyamuk *Aedes aegypti*.

3.5. Analisis Data

Data yang didapat dianalisis dengan chi square untuk mengetahui adanya perbedaan yang nyata antara titer antigen virus dengue pada jentik nyamuk *Aedes aegypti* antara di dalam dengan di luar rumah.

**PERBANDINGAN TITER ANTIGEN VIRUS
DENGUE PADA JENTIK NYAMUK *Aedes aegypti*
DI DALAM DAN DI LUAR RUMAH MENGGUNAKAN UJI
*Indirect ELISA (Enzym Linked Immunosorbent Assay)***

Ririn Hari Setiani

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan titer antigen virus Dengue pada jentik nyamuk *Aedes aegypti* antara di dalam dan di luar rumah dengan uji *Indirect ELISA (Enzym Linked Immunosorbent Assay)*.

Penelitian ini terdiri dari dua kelompok yaitu kelompok satu, jentik nyamuk dari dalam rumah dan kelompok dua, jentik nyamuk dari luar rumah.

Pengambilan sampel dengan cara menyediakan pot baik di dalam maupun di luar rumah untuk beberapa hari, kemudian pot tersebut diambil untuk diidentifikasi.

Masing-masing kelompok dilakukan pengulangan 100 kali dimana setiap sampel terdiri dari 100 jentik nyamuk. Jentik nyamuk tersebut dilakukan ultrasonikasi selama 3 menit pada temperatur 4^o C kemudian disentrifugasi 5000 rpm selama 15 menit. Supernatan dipisahkan, digunakan untuk uji *Indirect ELISA*. Selanjutnya dilakukan uji *Indirect ELISA* dan untuk mengukur konsentrasi antigen di dalam jentik nyamuk, menggunakan *Elisa reader* dengan panjang gelombang 450 nm. Dari hasil titer yang telah diketahui kemudian ditentukan titer > 0,2 dan < 0,2 dengan metode ratio. Data dapat dianalisis menggunakan chi square.

Hasil penelitian menunjukkan, bahwa kandungan antigen virus Dengue pada jentik nyamuk *Aedes aegypti* di dalam rumah lebih tinggi dibanding di luar rumah. Dari analisis chi square menunjukkan perbedaan yang nyata antara titer antigen virus Dengue pada jentik nyamuk *Aedes aegypti* di dalam dan di luar rumah ($p > 0,05$).

BAB IV HASIL PENELITIAN

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Titer antigen virus dengue pada jentik nyamuk *Aedes aegypti* di dalam dan di luar rumah dapat dilihat dalam lampiran 7 dan 8. Dari penghitungan menggunakan metode ratio diperoleh hasil bahwa baik di dalam maupun di luar rumah, jentik nyamuk *Aedes aegypti* positif mengandung antigen virus dengue dan titer antigen virus dengue pada jentik nyamuk di dalam rumah lebih tinggi dibanding dengan di luar rumah (lampiran 9).

Tabel 1. Analisis chi square dari titer antigen virus dengue pada jentik nyamuk *Aedes aegypti* di dalam dan di luar rumah.

	Titer > 0,2	Titer < 0,2	Jumlah
Jentik di dalam rumah	61	39	100
Jentik di luar rumah	45	55	100
Total	106	94	200

Setelah dianalisis dengan chi square diperoleh hasil yang menunjukkan perbedaan nyata antara titer antigen virus dengue pada jentik nyamuk *Aedes aegypti* di dalam dengan di luar rumah ($p > 0.05$).

BAB V
PEMBAHASAN

BAB V

PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian ini diperoleh hasil bahwa jentik nyamuk *Aedes aegypti* baik di dalam maupun di luar rumah positif adanya antigen virus dengue dan titer antigen virus dengue pada jentik nyamuk di dalam rumah lebih tinggi dibanding dengan di luar rumah. Setelah dianalisis dengan chi square diperoleh hasil yang menunjukkan perbedaan nyata antara titer antigen virus dengue pada jentik nyamuk *Aedes aegypti* di dalam dengan di luar rumah ($p < 0.05$).

Virus dengue adalah virus yang infeksius terhadap manusia yang menyebar di daerah tropis dan subtropis yang setiap tahun 100 juta kasus baik pada anak maupun orang dewasa. Virus dengue masuk ke dalam tubuh manusia melalui gigitan nyamuk yang bertindak sebagai vektor adalah nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus*. Di dalam tubuh manusia virus berkembangbiak di dalam retikuloendotelial sebagai akibat invasi virus, 7 hari terjadi viremia yang diikuti dengan tanggap kebal terhadap virus dengue baik humoral maupun seluler (Rantam, 1998 b).

Virus dengue masuk ke dalam tubuh manusia melalui gigitan nyamuk dan infeksi pertama kali kadangkala tidak menampakkan gejala klinis. Penyakit yang berbeda akan tampak bila seseorang mendapat infeksi berulang dengan tipe virus yang berbeda. Pada saat itu penderita menjadi sumber penularan. Bila penderita digigit nyamuk, virus akan masuk ke dalam lambung nyamuk tersebar keseluruhan jaringan tubuh nyamuk dan masuk dalam kelenjar air liurnya. Bila nyamuk yang mengandung virus ini mengigit orang sehat maka akan mengeluarkan air liurnya

agar darah tidak beku. Bersama air liur ini ikut ditularkan virus ke dalam pembuluh darah kapiler. Selepas masa inkubasi baru timbul manifestasi klinis dan penderita mulai sakit (Hendarwanto, 1996).

Virus dengue mempunyai empat serotipe yang serupa yaitu DEN-1, DEN-2, DEN-3, DEN-4 tetapi sifat antigennya tidak sama yang dapat dibedakan satu dengan lainnya melalui pemeriksaan antigenik dengan tes netralisasi dan fiksasi komplemen (Soedarto, 1998). Keempat serotipe ini terdapat di Indonesia dan dilaporkan bahwa tipe virus DEN3 lebih sering menimbulkan wabah (Sumarmo, 1987).

Untuk beberapa tahun kelompok dari subgenus *Stegomyia* khususnya *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* (skure) telah terkenal sebagai vektor primer dari dengue virus (Rohani *et al.*, 1997).

Flavivirus efektif pada manusia dan ditularkan oleh nyamuk penyebab Demam Berdarah Dengue (DHF) dan sejumlah penyakit *encephalitis* yang menimbulkan inflamasi dari otak, ini terjadi dalam kasus klinis. Masing-masing flavivirus menempati nyamuk sebagai host, seringkali *Aedes Stegomyia* spesies *Aedes aegypti* untuk dengue dan sering spesies *Culex* untuk *encephalitis* (Gallan and Cranston, 1994).

Selama ini sudah dikenal bahwa *Aedes aegypti* mempunyai tempat istirahat dan aktivitas *indoor*, sedangkan *Aedes albopictus* *outdoor* (Hasyimi dan Adisasmito, 1997). Tempat istirahat yang disukai oleh nyamuk *Aedes aegypti* adalah benda-benda yang bergantung yang terdapat di dalam rumah seperti gorden, kelambu, baju / pakaian di dalam kamar yang gelap dan lembab dan

tempat-tempat lain yang terlindungi, juga dalam sepatu (Suroso dan Umar, 1999; Departement Kesehatan RI, 1992).

Nyamuk *Aedes aegypti* hidup domestik, lebih menyukai tinggal di dalam rumah daripada di luar rumah (Margatan, 1996).

Temperatur yang optimum bagi kehidupan larva *Aedes aegypti* adalah berkisar antara 25⁰- 35⁰ C dan di dalam ruangan yang kondisi udaranya lembab dan memenuhi syarat bagi pertumbuhan dan perkembangan nyamuk (Brown, 1982).

Prinsip hidup vektor nyamuk *Aedes aegypti*, tinggal di dalam rumah dengan kebiasaan berkembangbiak di air yang digunakan rumah tangga (Kittayapong and Stricman, 1993)

Siklus dasar dari epidemic dengue dan bagaimana virus terpelihara selama antar periode epidemic dalam daerah dimana terjadi epidemic sebelumnya merupakan pertanyaan yang mana sebagai petunjuk untuk mempelajari evaluasi penting dari *Transovarial Transmision* dalam memelihara virus dengue. *Transovarial Transmision* dari keempat serotipe dengue dalam nyamuk dapat ditunjukkan dalam penelitian. Spesies nyamuk yang mana virus denguenya mempunyai transovarial transmision adalah *Aedes aegypti* (Lee *et al.*, 1997).

Transovarial Transmision virus dengue dalam strain *Aedes aegypti* menunjukkan kesan bahwa *Aedes aegypti* adalah vektor terpenting dalam daerah perkotaan yang mempunyai peran penting memelihara sifat virus dengue dalam kurangnya kekebalan host atau ketika kondisi iklim yang tidak baik untuk aktivitas nyamuk (Rohani *et al.*, 1997).

BAB VI
KESIMPULAN DAN SARAN

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Titer antigen virus dengue pada jentik nyamuk *Aedes aegypti* di dalam rumah lebih besar dibanding dengan di luar rumah.
2. Adanya perbedaan nyata titer antigen virus dengue antara jentik nyamuk *Aedes aegypti* di dalam dengan di luar rumah.

SARAN

Perlu adanya pengendalian dan pemberantasan jentik nyamuk dan nyamuk *Aedes aegypti* terutama di dalam rumah untuk menekan penyebaran penyakit Demam Berdarah Dengue.

RINGKASAN

RINGKASAN

Ririn Hari Setiani. Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) adalah penyakit viral akut yang disebabkan oleh virus dengue. Penyakit ini terutama ditularkan lewat gigitan nyamuk *Aedes aegypti* sebagai vektor utama disamping *Aedes albopictus* dan ini sangat patogen pada manusia. Aspek ekologi yang dapat mempengaruhi perkembangan penyebaran nyamuk penular Demam Berdarah Dengue (DBD) berupa lingkungan biologik, yang meliputi banyaknya tanaman hias dan tanaman pekarangan, kondisi ini akan mempengaruhi kelembaban dan pencahayaan di dalam rumah dan di luar rumah. Lingkungan fisik meliputi : curah hujan, kecepatan angin, suhu udara, dan kelembaban (Putra, 1995).

Ada empat serotipe virus Dengue yang diketahui menjadi penyebab penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) di Indonesia yaitu DEN-1, DEN-2, DEN-3, dan DEN-4 dimana yang paling berat adalah DEN-3.

Virus Dengue masuk ke dalam tubuh manusia melalui gigitan nyamuk dan infeksi pertama kali kadangkala tidak menampakkan gejala klinis. Penyakit yang berbeda akan tampak bila seseorang mendapat infeksi berulang dengan tipe virus berbeda.

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan titer antigen virus Dengue pada jentik nyamuk *Aedes aegypti* antara di dalam dengan di luar rumah. Jentik nyamuk dikoleksi dari daerah Kupang Surabaya dengan perbedaan tempat pengambilan yaitu di dalam dan di luar rumah. Setiap sampel terdiri dari 100 jentik nyamuk untuk dilakukan ultrasonikasi ditambah *Phosphat Buffer Saline*

(PBS) 200 microliter selama 3 menit dengan temperatur es (dingin). Kemudian disentrifugasi 5000 rpm selama 15 menit. Dilakukan 100 kali ulangan pada masing-masing kelompok. Supernatan dipisahkan digunakan untuk uji *Indirect* ELISA. Selanjutnya dilakukan uji *Indirect* ELISA dan untuk mengetahui konsentrasi antigen di dalam jentik nyamuk menggunakan ELISA *reader* dengan panjang gelombang 450 nm kemudian ditentukan titer $> 0,2$ dan titer $< 0,2$ dari antigen virus dengue dengan *metode ratio*. Dari data yang diperoleh ini dianalisis menggunakan *chi square*.

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa titer antigen virus Dengue di dalam rumah lebih tinggi dibanding di luar rumah. Dari analisis *chi square* menunjukkan adanya perbedaan nyata antara titer antigen virus Dengue di dalam dengan di luar rumah ($p > 0,05$).

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

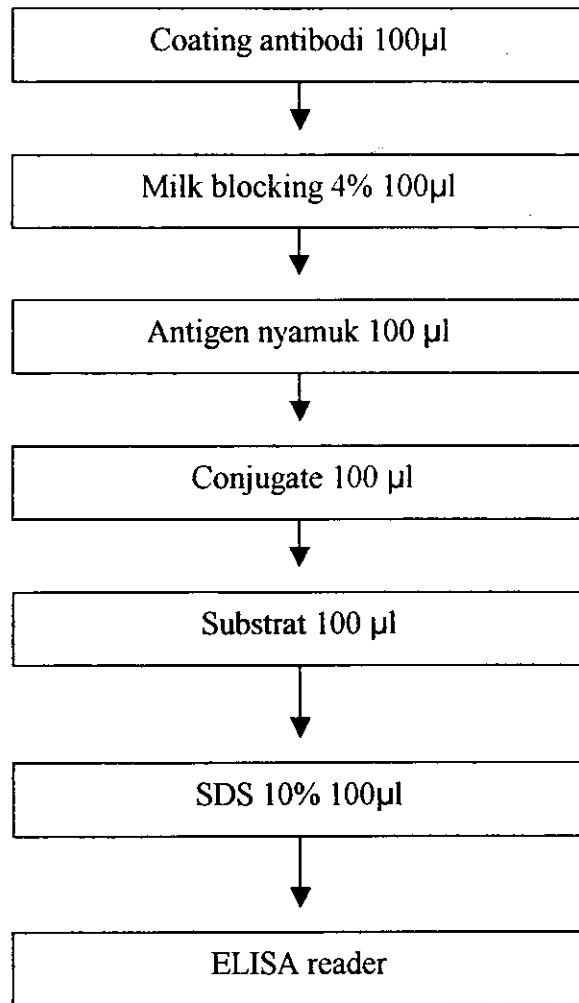
- Abdul Rivai, Suroto Hamzah, E. Oscar Rahman and Soeprapti. 1972. Dengue and Dengue Haemorrhagic fever in Bandung. Paedrat. Indon. 12:40
- Achmad, H. 1998. Mengapa kasus demam berdarah dengue di Indonesia, khususnya di wilayah DKI Jakarta pada tahun 1998 meningkat ? Warta demam berdarah dengue. No. 8. Th. 2.4-6
- Bates.1994. The Natural history of Mosquitoes. The Macmilan Company. New York.
- Borror, D. J., Triplehorn, C.A. and Johnson, N.F. 1992. Pengenalan pelajaran serangga (terjemahan Partosoedjono, S). Edisi keenam. Gajah Mada University Press. Yogyakarta
- Brown, H.W. 1982. Dasar Parasitologi Klinik (terjemahan Rukmono, B., dkk). Edisi ketiga. PT Gramedia Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI, Direktorat Jenderal P3M. 1981. Pedoman pelaksanaan program pemberantasan demam berdarah. Hlm.3
- Departement Kesehatan RI. 1987. Ekologi Vektor dan Beberapa Aspek Perilaku. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI, 1992. Petunjuk Teknis Pemberantasan nyamuk Penular Penyakit DBD. Jakarta.
- Fenner, F.J.,E. J. Gibbs, F.A. Murphy, R.Rott, M.J studert and D.O. White.1995. Virologi Veteriner. Edisi kedua. Academic press, inc. USA.
- Gallan, P. J and P. S . Cranston. 1994. The Insect An Outline of Entomology. Great Britain by Alden press Osney Mead, Oxford.
- Hasyimi .M dan W.B.B. Adisasmito.1997. Dampak peran serta masyarakat dalam pencegahan demam berdarah dengue terhadap kepadatan vektor di kecamatan Pulo Gadung Jakarta Timur. Cermin Dunia Kedokteran No.119.September 13-16
- Hendarwanto. 1996. Demam berdarah dengue, gambaran klinis, diagnosis dan prognosis. Dalam Daldiyono (ED). Forum Diskusi Ilmiah Ilmu Penyakit Dalam 1. Pendidikan Berkesinambungan Ilmu Penyakit Dalam FKUI.105. FKUI Jakarta.

- Igarashi, A and M.T.A. Antonio. 1987. Positive case detection of anti dengue IgM antibodies by IgM-capture ELISA using monovalent and tetravalent dengue antigens prepared as infected C6/36 cell culture fluid. Trop Med 39. 81-87.
- International catalogue of arboviruses. 1980. U.S. Department of health, education and welfare, public health service. Center for disease control, Atlanta, Georgia, 30333 USA
- Ismangun, A. Samik, Rachmad Sutrisno and Achmad Surjono. 1972. Dengue haemorrhagic fever in Yogyakarta, Central Java. Puadrat. Indon. 12 : 49
- James, M.T. and R.F. Harwood. 1969. Nern's Medical Entomologi. Sixth edition. The Macmillan Company. USA.
- Kittayapong P and D. Stricman. 1993. Distribution of Container inhabiting aedes larvae (Diptera : Culicidae) at a dengue focus in Thailand. J. Med. Entomologi 30 :601-605.
- Litle, V.A. 1974. General and Applied entomology, Third edition, professor Emeritus of Entomology Texas A & M University, Oxford & IBIT Publishing Co.
- Lee, H. L., I. Mastafakamal and A. Rohani. 1997. Does Transovarial Transmission of Dengue Virus Occur in Malaysian *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. Institute for Medical Research. Pahang. Kuala Lumpur. Malaysia.
- Margatan, A. 1996. Mewaspadai Demam Berdarah Dengue dan berbagai macam demam lainnya. C.V. Aneka. Solo.
- Morita, k. 1999. Use of recombinant Virus technique in studying dengue virus pathogenesis. Departemen of Virologi, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University, Nagasaki, Japan.
- Muchlastriningsih, E., S. Susilowati, D.S. Hutauruk dan J.M. Saragih. 1997. Analisis hasil tes hemaglutinasi penderita demam berdarah dengue di Jakarta, 1992. Cermin dunia kedokteran no 119. september 5-8.
- Panglila, P. E. A. 1998. Dengue haemorrhagic fever pada remaja dan dewasa (Demam berdarah). Antibody news. No. 6. tahun 1. Januari 5.
- Partana, L., J. S. Partana and S. Tharer. 1970. Haemorrhagic shock syndrome in Surabaya, Indonesia. Kobe J. Med. Sci. 16, 189-201.

- Pelenkahu, T. B. S., Pudjiadi, S. H, Samsudin and Matodang Siahaan, C. 1972. Dengue haemorrhagic fever (Literature review and report of 14 cases). *Pedrat. Indon.* 12-21
- Putra, S.E. 1995. Nyamuk *Aedes aegypti*, bahaya dan pengendaliannya,. Pidato Pengukuhan Guru Besar Tetap Biologi FMIPA. Universitas Andalas Padang.
- Rantam, F. A. 1998 (a) Aspek virologi demam berdarah dengue. Seminar Demam Berdarah Dengue, 19 September 1998, 23-30
- Rantam, F. A. 1998 (b). Pendekatan molekuler virologi dalam upaya membuat vaksin virus dengue. Seminar pemberantasan penyakit demam berdarah dengue masa kini. TDC Universitas airlangga. 23 Juni 1998. 1-13.
- Rice, C. M. 1996. Flaviviridae: The Viruses and Their Replication. *Fieldy Virology* Third edition. 931-942.
- Rohani; Asmaliza, I., Zainah, S.and Lee Han Lim. 1997. Detection of dengue virus from field *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* Adult and Larvae. Pahang . Kuala Lumpur. Malaysia.
- Salamun. 1998. Pengenalan nyamuk penyebar penyakit DBD. *Jurnal. FMIPA. No III. HLM 77-82. Jakarta.*
- Soedarmo, S. P. 1998. Demam berdarah dengue di Indonesia dan di dunia situasi sekarang dan harapan di masa mendatang. *Antibiotic new. Januari No 6 tahun 1.2*
- Soedarto. 1998. Dasar-dasar virology kedokteran penerbit CV AGC penerbit buku kedokteran. Jakarta. 53-54.
- Soegeng S, A. Rohim dan D. Suharso. 2002. Ilmu Penyakit Anak Diagnosa dan Penatalaksanaan. Edisi Pertama Salemba Medika. Jakarta.
- Soegiyanto, S. 1998. Penyakit infeksi virus dengue di era tahun 2000 dan permasalahan. *Antibiotic news Januari No 6 tahun 1. 3-4.*
- Soewando, E.S. 1997. Demam berdarah dengue pada orang dewasa, gejala klinik dan penatalaksanaannya. *Folia Medica Indonesiana. Vol 33. 38-42.*
- Sukana,B.. 1994. Pemberantasan vektor DBD di DKI Jakarta *Sanitas. Vol II No 4. hlm 224-227.*
- Sumarmo. 1987. Dengue Haemorrhagic Fever in Indonesia. *South east asia. J. Trop. Med. Public Health, 18. 13. 45-51. Jakarta.*

- Sumarmo, T. Sutrisno, A. Abdul Kadir and I. Lubis. 1994. The epidemiology, control and prevention of DHF in Indonesia. *Cermin dunia kedokteran*. No. 92. 5-10.
- Sumarmo. 1997. *Demam Berdarah Dengue pada anak*. UI. Press. Jakarta
- Suroso, T. 1990. *Limfosit Plasma Biru pada Infeksi Dengue*, Thesis FK Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Suroso, T dan A. L. Umar. 1999. *Epidemiologi dan penanggulangan penyakit DBD di Indonesia saat ini*. DBD. Naskah lengkap. Balai penerbit FKUI.
- Suvatte, V. 1977. *Dengue haemorrhagic fever. Hematological abnormalities and pathogenesis*. In Ghai, O.P. *New development in Pediatric research*. Vol. 1. hlm.447 (Interprint, New Delhi).
- Suwarno, S. Sugijanto dan F. A. Rantam. 2002. *Produksi Antibodi Monoklonal Terhadap Virus Dengue Isolat Surabaya*. *Media Kedokteran Hewan universitas Airlangga Surabaya*. Vol 18 No 2 Agustus.
- Wibisono, B. H. 1992. *Aspek klinis demam berdarah dengue pada orang dewasa*. *Medika*. No.11 tahun 18. 61-70.
- WHO.1972. *Vector Control In International Health*. Geneva.
- WHO. 1997. *Dengue Haemorrhagic Fever Diagnosis, treatment, prevention and control*. Geneva.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Bagan Alur Penelitian Uji *Indirect* ELISA

Lampiran 2. Komposisi bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian

1. Komposisi minimum Esensial Medium (MEM)

Metabolik Substrat	m mol dm ⁻³
Arginin	0.6
Cystin	0.1
Glutamin	2.0
Histidin	0.2
Isoleusin	0.4
Leusin	0.4
Methyonin	0.1
Lysin	0.4
Phenyalanin	0.2
Threonin	0.4
Tryptofan	0.05
Tyrosin	0.2
Valin	0.4
Glukosa	5.5
Vitamin	
Choline	8.3
Folic Acid	2.3
Inosital	11.0
Nikotinamid	8.2
Panthotenat	4.6
Pyridoxal	6.0
Riboflavin	0.27
Thiamin	3.0
Garam-garam anorganik	
NaCl	116
KCl	5.4

2. Komposisi *Buffer coating* (pH 9,6)

Na ₂ CO ₃	1.59	g
NaHC O ₃	2.93	g
NaN ₃	0.2	g
Aquadest	ad 1000	ml

3. Komposisi Phosphat Buffer Saline (PBS)

NaCl	137	mM (8.0 g)
KCl	2.70	mM (0.2 g)
Na ₂ HPO ₄ x 2H ₂ O	8.0	mM (1.42 g)
KH ₂ PO ₄	1.8	mM (0.24 g)
Aquadest	ad 1000	ml

4. Komposisi *buffer washing*

PBS	100 ml
Aquadest	900 ml
Tween ₂₀	0.5 ml

5. Komposisi *blocking milk* 4%
Untuk membuat 100 ml diperlukan :

Milk creamer	4 g
PBS	ad 100 ml

6. Komposisi substrat ABTS
Peroxidase Substrate (A)
Peroxidase Solution B (H₂O₂)

7. Komposisi penghenti reaksi

<i>Sodium Dodecyl Sulfate (SDS)</i> (Natriumlauryl-sulfat)	100 µl
---	--------

Lampiran 3. Skema Model Deteksi Antigen

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Empty										Empty	
B	SPC											
C												
D					WPC							
E												
F							NC					
G									WPC			
H	Empty										Empty	

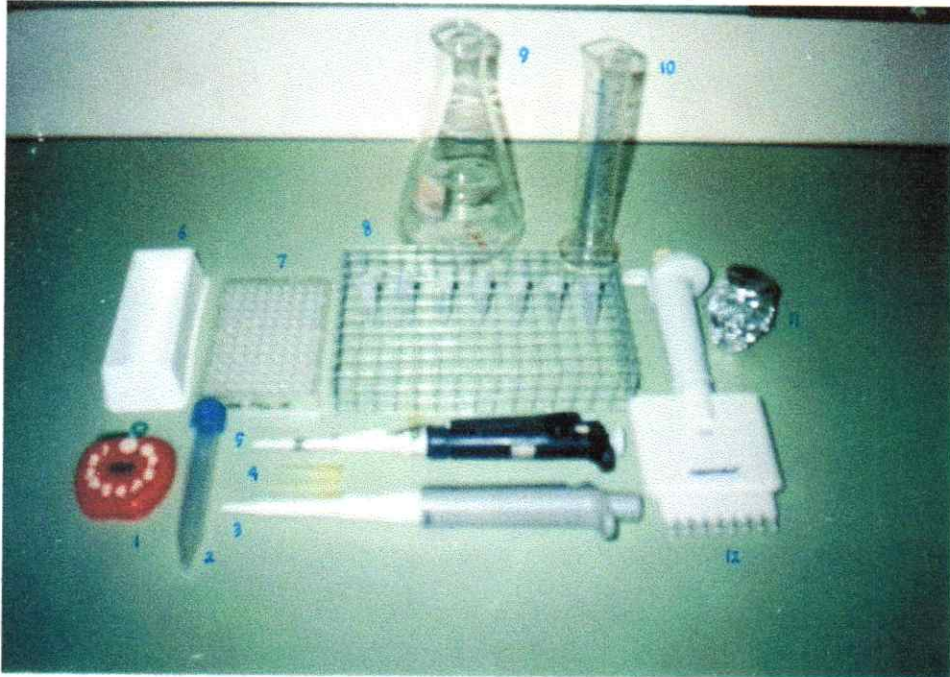
Keterangan :

SPC = *strong positive control*

WPC = *weak positive control*

NC = *negative control*

Lampiran 4. Foto Beberapa Alat Penelitian

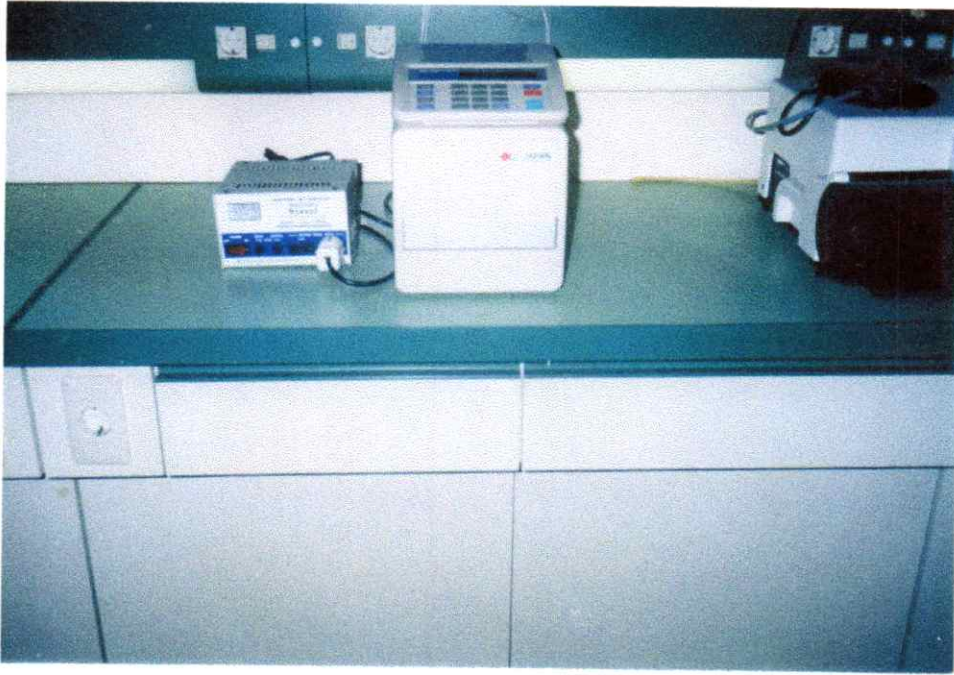


Keterangan :

1. Pencatat waktu (*timer*)
2. Tabung sentrifuse
3. Pipet *ependorf* 100 μ l
4. *Eppendorf tube* 10 μ l
5. Pipet *ependorf*
6. Cawan
7. *Microplate* ELISA
8. Rak
9. Gelas *erlenmeyer*
10. Gelas ukur
11. *Aluminium foil*
12. Multipipet *ependorf*



Sonicator : untuk homogenisasi nyamuk yang dideteksi antigennya



ELISA reader

Lampiran 5. Hasil ELISA *reader*

ABSORBANCE (S) MODE

DATE: 08/21/02

TIME: 14:16

FILTER: 450nm

PLATE No. 194

BLANK AVE. 0.046

1A 0.007*	2A 0.003*
1B 0.002*	2B 0.000*
1C 1.291	2C 1.327
1D 1.358	2D 1.454
1E 1.298	2E 1.390
1F 1.390	2F 1.398
1G 1.252	2G 1.337
1H-0.003*	2H-0.010*

3A 1.311	4A 1.319
3B 1.433	4B 1.412
3C 1.278	4C 1.309
3D 1.409	4D 1.411
3E 1.401	4E 1.454
3F 1.311	4F 1.465
3G 1.317	4G 1.343
3H 1.290	4H 1.277

5A 1.291	6A 1.322
5B 1.465	6B 1.456
5C 1.354	6C 1.264
5D 0.012	6D 0.000
5E 1.398	6E 1.399
5F 1.370	6F 1.392
5G 1.337	6G 1.297
5H 1.044	6H 0.615

END

Lampiran 6. Analisis chi square dari jumlah jentik nyamuk *Aedes aegypti* yang mengandung antigen virus dengue di dalam dan di luar rumah.

	Titer > 0,2	Titer < 0,2	Jumlah
Jentik di dalam rumah	61	39	100
Jentik di luar rumah	45	55	100
Total	106	94	200

$$X^2 = \frac{200 \left\{ |61 \times 55 - 45 \times 39| - \frac{1}{2}(200) \right\}^2}{100 \times 100 \times 106 \times 94}$$

$$X^2 = 4,52$$

Untuk taraf 0,05 dan dk = 1 maka

$$X^2_{0,95(1)} = 3,84.$$

$$P < 0,05$$

Lampiran 7. Titer antigen virus dengue pada jentik nyamuk *Aedes aegypti* di dalam rumah

No	Titer > 0,2	Titer < 0,2
1.	0.240	0.160
2.	0.370	0.179
3.	0.301	0.109
4.	0.233	0.190
5.	0.205	0.070
6.	0.367	0.182
7.	0.240	0.170
8.	1.401	0.120
9.	1.291	0.106
10.	1.398	0.180
11.	1.465	0.177
12.	1.465	0.170
13.	0.772	0.170
14.	0.430	0.130
15.	0.350	0.078
16.	0.650	0.192
17.	0.880	0.098
18.	0.430	0.058
19.	0.431	0.099
20.	0.761	0.142
21.	0.230	0.120
22.	0.265	0.140
23.	0.560	0.140
24.	0.210	0.170
25.	1.456	0.098
26.	1.392	0.050
27.	1.454	0.101
28.	1.337	0.130
29.	1.322	0.099
30.	0.293	0.120
31.	0.348	0.080
32.	0.570	0.130
33.	0.667	0.126
34.	0.225	0.070
35.	0.265	0.130
36.	0.281	0.120
37.	0.665	0.072
38.	0.271	0.130
39.	0.205	0.068
40.	1.297	
41.	0.615	

42.	1.398	
43.	1.044	
44.	1.390	
45.	0.670	
46.	0.321	
47.	0.205	
48.	0.305	
49.	0.770	
50.	0.340	
51.	0.650	
52.	0.550	
53.	0.451	
54.	0.760	
55.	0.670	
56.	0.560	
57.	1.433	
58.	1.278	
59.	1.029	
60.	1.309	
61.	1.411	

Lampiran 8. Titer antigen virus dengue pada jentik nyamuk *Aedes aegypti* di luar rumah.

No	Titer > 0,2	Titer < 0,2
1.	0.970	0.098
2.	0.670	0.180
3.	0.590	0.079
4.	1.010	0.080
5.	1.354	0.079
6.	1.370	0.088
7.	1.399	0.098
8.	1.358	0.077
9.	1.298	0.069
10.	0.670	0.059
11.	0.300	0.070
12.	0.750	0.080
13.	0.679	0.045
14.	0.808	0.070
15.	0.978	0.077
16.	1.390	0.082
17.	1.311	0.150
18.	1.317	0.180
19.	1.343	0.065
20.	1.291	0.057
21.	0.205	0.070
22.	0.890	0.069
23.	0.550	0.080
24.	0.670	0.057
25.	0.872	0.060
26.	0.565	0.079
27.	0.762	0.065
28.	0.873	0.070
29.	0.772	0.080
30.	1.264	0.057
31.	1.252	0.090
32.	1.409	0.101
33.	1.412	0.089
34.	1.327	0.071
35.	0.675	0.071
36.	0.750	0.090
37.	0.479	0.079
38.	0.560	0.062
39.	0.502	0.059
40.	0.680	0.078
41.	1.454	0.062

42.	1.337	0.092
43.	1.311	0.089
44.	1.319	0.090
45.	1.277	0.190
46.		0.068
47.		0.072
48.		0.027
49.		0.082
50.		0.047
51.		0.090
52.		0.065
53.		0.057
54.		0.068
55.		0.072

Lampiran 9. Kontrol positif antigen virus dengue pada jentik nyamuk *Aedes aegypti*

1. 0.670	6. 0.550
2. 0.475	7. 0.650
3. 0.550	8. 0.490
4. 0.475	9. 0.500
5. 0.500	10. 0.510

Kontrol negatif antigen virus dengue pada jentik nyamuk *Aedes aegypti*

1. 0.070	6. 0.075
2. 0.099	7. 0.088
3. 0.084	8. 0.020
4. 0.101	9. 0.025
5. 0.097	10. 0.050

Akan dikatakan positif apabila mempunyai nilai lebih besar dari 0,2.