

**PERBEDAAN INDEKS TRANSMISI TRANSOVARIAL VIRUS DENGUE**

**PADA TELUR DAN IMAGO *Aedes aegypti***

**Studi di Daerah Endemis Demam Berdarah Dengue Di Kecamatan Genuk**

**Kota Semarang Periode April – Mei 2011**

**Karya Tulis Ilmiah**

Untuk memenuhi sebagian persyaratan

mencapai gelar Sarjana Kedokteran



oleh

**Ryandika Aulia Oktorizal**

**01.207.5421**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG**

**SEMARANG**

**2011**

**KARYA TULIS ILMIAH**  
**PERBEDAAN INDEKS TRANSMISI TRANSOVARIAL VIRUS DENGUE**  
**PADA TELUR DAN IMAGO *Aedes aegypti***

**Studi di Daerah Endemis Demam Berdarah Dengue Di Kecamatan Genuk**  
**Kota Semarang Periode April – Mei 2011**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh  
**Ryandika Aulia Oktorizal**

**01.207.5421**

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji  
pada tanggal 11 Agustus 2011  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

**Susunan Tim Penguji**

**Pembimbing I**

Anggota tim penguji

**dr. Menik Sahariyani**

**dr. H. Imam D. Mashoedi, M.Kes.Epid**

**Pembimbing II**

**Dra. Endang Lestari, M.Pd**

**Dr.dr.H.Taufiq R. Nasihun, M.Kes., Sp. And**

Semarang, September 2011

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,

**Dr. dr. H. Taufiq R. Nasihun, M.Kes, Sp. And**

## SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ryandika Aulia Oktorizal

Nim : 01.207.5421

Dengan ini menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah yang berjudul :

**“PERBEDAAN INDEKS TRANSMISI TRANSOVARIAL VIRUS DENGUE  
PADA TELUR DAN IMAGO *Aedes aegypti*”**

Studi di Daerah Endemis Demam Berdarah Dengue Di Kecamatan Genuk Kota  
Semarang Periode April – Mei

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian besar karya tulis orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku.

Semarang, 19 September 2011

METERAI  
TEMPEL  
PAJAK KEHANGUN BANGSA  
TOL



F84D8AAF729128203

ENAM RIBU RUPIAH

6000

DJP

Ryandika Aulia Oktorizal

## **PRAKATA**

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat, karunia dan ridhonya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini dengan judul “PERBEDAAN INDEKS TRANSMISI TRANSOVARIAL VIRUS DENGUE PADA TELUR DAN IMAGO AEDES AEGYPTI” dalam rangka memenuhi syarat menempuh Program Pendidikan Sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Sholawat dan salam tetap tercurahkan kepada Nabi Besar Muhammad SAW, beserta keluarga, sahabat dan para pengikutnya.

Dengan terselesaikannya Karya Tulis Ilmiah ini, terbuka kesempatan bagi penulis untuk menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada mereka yang telah membantu tersusunnya Karya Tulis Ilmiah ini. Ucapan terima kasih penulis haturkan kepada:

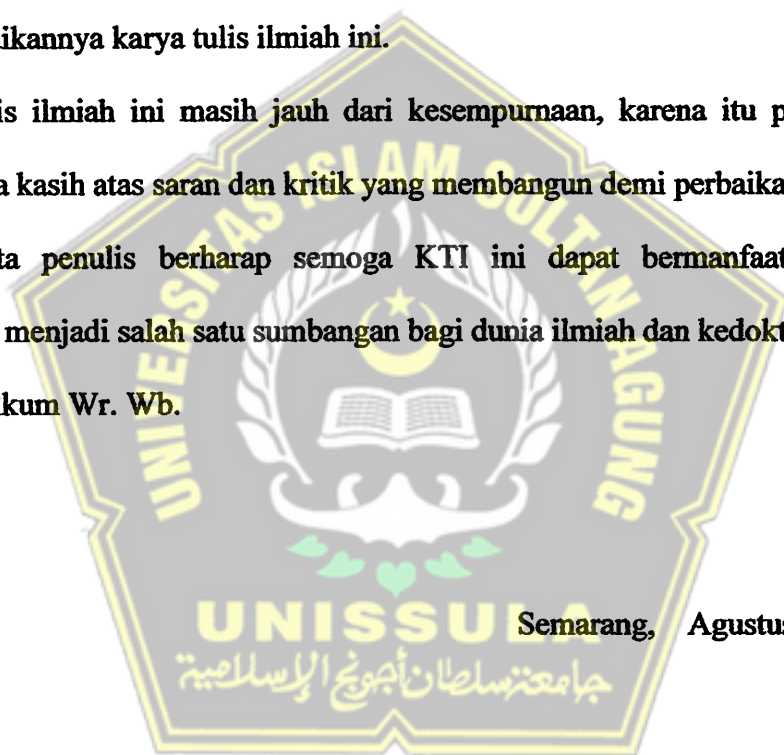
1. Dr. dr. H. Taufiq R. Nasihun, M.Kes, Sp.And selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang dan selaku penguji yang telah memberikan banyak masukan dalam penyelesaian karya tulis ilmiah ini dan mengizinkan penyusunan karya tulis ilmiah ini.
2. dr. Menik Sahariyani dan Dra. Endang Lestari M.Pd selaku pembimbing, yang senantiasa memberikan bimbingan dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini.

3. dr. H. Imam Djamaluddin Mashoedi, M.Kes. Epid selaku penguji, yang telah memberikan banyak masukan dalam penyelesaian karya tulis ilmiah ini.
4. Seluruh keluarga, sahabat dan orang terdekat yang telah memberikan do'a dan dorongan sehingga terlaksana penelitian ini.
5. Semua pihak yang belum tertulis di atas, yang telah membantu hingga terselesaikannya karya tulis ilmiah ini.

Karya tulis ilmiah ini masih jauh dari kesempurnaan, karena itu penulis sangat berterima kasih atas saran dan kritik yang membangun demi perbaikan.

Akhir kata penulis berharap semoga KTI ini dapat bermanfaat bagi masyarakat dan menjadi salah satu sumbangan bagi dunia ilmiah dan kedokteran.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.



Semarang, Agustus 2011

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
INTISARI.....	xi
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
<b>2.1 Demam Berdarah Dengue (DBD)</b>	
2.1.1 Definisi DBD.....	6
2.1.2 Epidemiologi DBD.....	6
<b>2.2 Transmisi Virus Dengue</b>	
2.2.1 Penularan Secara Horisontal.....	8
2.2.2 Penularan Secara Vertikal.....	9

2.3	Vektor Demam Berdarah Dengue	
2.3.1	Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> .....	11
2.3.2	Taksonomi .....	12
2.3.3	Morfologi .....	12
2.2.4	Daur Hidup .....	13
2.4	Hubungan Endemisitas Terhadap Indeks Transmisi Transovarial Virus Dengue .....	16
2.5	Kerangka Teori .....	18
2.6	Kerangka Konsep .....	19
2.7	Hipotesis .....	19
<b>BAB III</b>	<b>METODOLOGI PENELITIAN</b>	
3.1.	Jenis Penelitian .....	20
3.2.	Variabel dan Definisi Operasional .....	20
3.3.	Populasi dan Sampel .....	22
3.4.	Instrumen dan Bahan Penelitian .....	24
3.5.	Cara Penelitian .....	26
3.6.	Tempat dan Waktu Penelitian .....	34
3.7.	Analisa Hasil .....	35
<b>BAB IV</b>	<b>HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1.	Hasil Penelitian .....	36
4.2.	Pembahasan .....	39
4.3.	Keterbatasan Penelitian .....	42

**BAB V SIMPULAN DAN SARAN**

5.1. Kesimpulan.....	44
5.2. Saran.....	44
DAFTAR PUSTAKA .....	46
LAMPIRAN.....	48





## DAFTAR TABEL

Tabel 3.1. Kriteria tingkatan infeksi virus Dengue pada sediaan <i>headsquash</i> dan <i>eggsquash Aedes spp</i> .....	34
Tabel 4.1. Hasil ITT pemeriksaan virus Dengue metode imunositokimia SBPC menggunakan antibodi monoklonal DSSE10 sebagai antibodi primer pada sediaan <i>eggsquash</i> stadium telur dan <i>headsquash imago Aedes aegypti</i> .....	37



## DAFTAR GAMBAR

- Gambar 2.1. Gambaran skematis metode imunositokimia SBPC untuk deteksi dan lokalisasi antigen dalam jaringan atau sel ..... 11
- Gambar 4.2. Rata-rata ITT(%) virus Dengue pada stadium telur dan imago nyamuk *Aedes aegypti* ..... 38



## INTISARI

Hingga saat ini pemberantasan nyamuk *Aedes aegypti* vektor penyebab penyakit DBD (Demam Berdarah Dengue) sudah sering dilakukan, tetapi hasilnya kurang optimal. Nyamuk betina *Aedes aegypti* mampu untuk menularkan virus Dengue ke keturunan selanjutnya (*Transovarial*). Sehingga regenerasi dari nyamuk yaitu telur, larva, pupa, dan imago dapat terinfeksi virus Dengue. Sampai saat ini belum diketahui perbedaan ITT (Indeks Transmisi Transovarial) stadium imago dan telur di daerah endemis. Pada daerah tersebut suhu dan kelembaban mempengaruhi nyamuk dan virus Dengue. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan indeks transmisi transovarial virus Dengue pada nyamuk *Aedes aegypti* stadium telur dan imago di daerah endemis DBD di Kecamatan Genuk Kota Semarang Periode April – Mei 2011.

Penelitian ini menggunakan penelitian observasional analitik dengan rancangan penelitian *cross sectional*. Sampel telur dan imago *Aedes aegypti* didapatkan dengan memasang ovitrap di daerah endemis tinggi DBD. Infeksi virus Dengue dideteksi dengan metode imunositokimia DSSE10.

Hasil penelitian menunjukkan dari masing-masing 80 ekor sampel, rata-rata ITT virus Dengue pada *Aedes aegypti* stadium telur sebesar 40% (32 telur positif) dan imago sebesar 66,25% (53 ekor positif). Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara ITT virus Dengue pada stadium telur dengan stadium imago nyamuk *Aedes aegypti* dengan  $p\text{ value}=0,009$  ( $p<0,05$ ).

Kesimpulan terdapat perbedaan indeks transmisi transovarial virus Dengue antara stadium telur dengan imago di daerah endemis DBD di Kecamatan Genuk Kota Semarang Periode April – Mei 2011.

Kata kunci : Indeks Transmisi Transovarial, Stadium Telur, Stadium Imago, *Aedes aegypti*.

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Hingga saat ini pemberantasan nyamuk *Aedes aegypti* merupakan cara utama yang dilakukan untuk memberantas DBD (Demam Berdarah Dengue), karena vaksin untuk mencegah dan obat untuk membasmi virusnya belum tersedia. Berbagai cara yang dilakukan seperti fogging, 3M, dan pemberian bubuk abate sudah sering dilakukan, tetapi hasilnya kurang optimal (Mardiatno, 2010). Hal ini salah satunya disebabkan oleh kemampuan nyamuk untuk terbang, sehingga ada nyamuk yang hidup dan mati. Nyamuk yang hidup dan diduga terinfeksi virus Dengue, mampu untuk menularkan virus tersebut ke keturunan selanjutnya (*Transovarial*). Sehingga regenerasi dari nyamuk yaitu telur, larva, pupa, dan imago dapat terinfeksi virus Dengue. Penelitian Magdalena (2010), yang sengaja menginfeksi virus Dengue ke induk nyamuk menunjukkan Indeks Transmisi Transovarial (ITT) terbesar pada stadium imago dan telur. Namun sampai saat ini belum diketahui perbedaan ITT stadium imago dan telur di daerah endemis. Dimana di daerah tersebut suhu dan kelembaban udara mempengaruhi nyamuk dan virus Dengue.

Kajian transmisi transovarial virus Dengue semula dianggap tidak berperan bagi epidemiologi penularan Dengue. Namun informasi terakhir menunjukkan bahwa transmisi transovarial virus Dengue pada nyamuk *Ae.*

*Aegypti* berperan dalam meningkatkan dan mempertahankan epidemik Dengue (Joshi et al, 2008). Ini terbukti dari semakin luasnya daerah yang endemis DBD. Hal ini diperjelas lagi dalam penelitian Sucipto (2009), membuktikan adanya hubungan indeks transmisi transovarial dengan *incidence rate* (IR) di kota Pontianak.

Daerah Kota Semarang termasuk dalam lima besar Kota/Kabupaten di Jawa Tengah yang mempunyai jumlah penduduk terbesar sekaligus sebagai peringkat pertama dalam jumlah kasus DBD dari seluruh Kota dan Kabupaten yang ada di Jawa Tengah (Din Kes Prop Jateng, 2004). Data sekunder DKK Semarang tahun 2009 menunjukkan kasus DBD di Kecamatan Genuk mengalami peningkatan dalam 3 tahun terakhir dimana dalam 13 kelurahan yang ada dalam Kecamatan Genuk terdapat 7 kelurahan yang merupakan endemis tinggi, 4 kelurahan merupakan daerah endemis sedang, 1 kelurahan merupakan daerah endemis rendah dan 1 kelurahan merupakan daerah non endemis.

Respon resistensi tubuh nyamuk tiap stadium ikut mempengaruhi tingkat infeksi virus Dengue, seperti faktor S-phase pada pembelahan sel nyamuk, protein yang berperan dalam replikasi virus, serta kondisi lingkungan pada saat pertumbuhan (Gunther dkk, 2007). Untuk S-phase terdapat perbedaan antara stadium telur dan imago. Pada stadium telur S-phase pada pembelahan sel nyamuk masih sedikit, sedangkan pada imago sudah banyak. Sehingga tingkat infeksi pada stadium imago lebih besar dari pada stadium telur (Helt dkk, 2005). Hal ini dapat dilihat dari penelitian Magdalena (2010)

di laboratorium, diketahui bahwa terdapat perbedaan bermakna ITT pada stadium imago dan telur. Namun penelitian tersebut menggunakan indukan yang dengan sengaja diinfeksi virus Dengue. Sedangkan ITT tiap stadium terutama stadium telur dan imago di lapangan atau lingkungan masih belum diketahui hasilnya. Sebagaimana telah diketahui bahwa kondisi lingkungan seperti temperatur dan kelembaban udara mempengaruhi perkembangbiakan nyamuk. Dimana semakin rendah suhu lingkungan ( $<30^{\circ}\text{C}$ ) dan rendahnya kelembaban udara ( $<60\%$ ) maka akan menurunkan proses perkembangan sel nyamuk (G1-phase, S-phase, G2-phase, M-phase). Pengaruh terbesar terutama pada proses M-phase, dimana mengakibatkan sel terhambat pertumbuhannya. Hal ini tentu saja berpengaruh terhadap tingkat infeksi virus Dengue di dalam tubuh nyamuk.

Berdasarkan penelitian Magdalena (2010) yang hanya meneliti nyamuk dari hasil laboratorium, sedangkan telah diketahui bahwa temperatur, dan kelembaban udara mempengaruhi terhadap perkembangbiakan sel nyamuk, juga terdapat faktor S-phase yang berpengaruh terhadap tingkat infeksi virus Dengue baik dalam stadium telur maupun imago. Maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai perbedaan ITT virus Dengue pada stadium telur dan stadium imago nyamuk *Aedes aegypti* di lapangan terutama di daerah endemis Demam Berdarah Dengue.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat perbedaan indeks transmisi transovarial virus Dengue pada nyamuk *Aedes aegypti* antara stadium telur dan imago di daerah endemis Demam Berdarah Dengue di Kecamatan Genuk Kota Semarang Periode April – Mei 2011?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui perbedaan indeks transmisi transovarial virus Dengue pada nyamuk *Aedes aegypti* stadium telur dan imago di daerah endemis Demam Berdarah Dengue di Kecamatan Genuk Kota Semarang Periode April – Mei 2011

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui indeks transmisi transovarial virus Dengue pada nyamuk *Aedes aegypti* stadium telur di daerah endemis Demam Berdarah Dengue di Kecamatan Genuk Kota Semarang Periode April – Mei 2011.
2. Mengetahui indeks transmisi transovarial virus Dengue pada nyamuk *Aedes aegypti* stadium imago di daerah endemis Demam Berdarah Dengue di Kecamatan Genuk Kota Semarang Periode April – Mei 2011.

## 1.4 Manfaat Penelitian

### 1.4.1 Teoritis

1. Memberikan sumbangan perkembangan ilmu pengetahuan dan penelitian lebih lanjut di bidang epidemiologi.
2. Sebagai tambahan informasi bagi petugas kesehatan mengenai indeks transmisi transovarial virus Dengue pada nyamuk *Aedes aegypti* stadium telur dan imago di daerah endemis Demam Berdarah Dengue di Kecamatan Genuk Kota Semarang Periode April – Mei 2011.
3. Bagi pengelola dan pelaksana program untuk melengkapi informasi surveilans vektor dan sistem kewaspadaan dini penularan penyakit DBD dengan membuat model program pengendalian yang tepat.

### 1.4.2 Praktis

1. Bagi masyarakat dapat menambah pengetahuan dan pemahaman terhadap penularan dan penyebaran penyakit DBD sehingga dapat melakukan upaya pencegahan lebih dini.



## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Demam Berdarah Dengue (DBD)**

##### **2.1.1 Definisi DBD**

Penyakit *Dengue Haemorrhagic Fever* (DHF) yang biasa disebut Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan satu dari beberapa penyakit menular yang menjadi masalah kesehatan di dunia terutama negara berkembang. Penyakit Demam Berdarah Dengue adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh virus Dengue dan ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes species* (Depkes RI, 2005).

##### **2.1.2 Epidemiologi DBD**

Demam Berdarah Dengue (DBD) di Asia Tenggara pertama kali dilaporkan tahun 1953 oleh Quintos dan kawan-kawan di Filipina. Saat ini DBD sudah menyebar ke berbagai bagian dunia terutama di daerah tropis dan subtropis, khususnya dunia belahan Selatan dan Asia Tenggara. DBD di Indonesia dikenal pertama kali di Rumah Sakit Dr. Soetomo Surabaya dan Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo (RSCM) Jakarta sejak tahun 1968 (Suroso, 2005).

Penyakit DBD merupakan penyakit endemis di Indonesia. Jumlah kasus terus meningkat baik dalam jumlah maupun luas wilayah yang terjangkit dan secara sporadik selalu terjadi KLB setiap tahun. Pada tahun 2007, jumlah penderita DBD dilaporkan sebanyak

158.115 kasus dengan angka kematian (CFR) sebesar 1,6% dan angka insiden sebesar 71,78 kasus per 100.000 penduduk. (Depkes, 2008).

Sejumlah 230 penderita DBD di Jawa Tengah selama Januari-Mei 2007 meninggal dunia, sehingga masyarakat diminta mewaspadaai penyakit ini. Jumlah tersebut lebih banyak dibandingkan Januari-Mei 2006 yang hanya 217 orang. Kasus penderita penyakit DBD di Jateng setiap bulan cenderung fluktuatif, yakni Januari 2007 sebanyak 2.063 kasus, Februari 2007 sebanyak 3.514 kasus, Maret 2007 sebanyak 2.241 kasus, April 2007 sebanyak 1.936 kasus, dan Mei 2007 sebanyak 962 kasus (Dinkes, 2007).

Kota Semarang menjadi daerah endemis tinggi DBD. Tahun 2006 terjadi 1.845 kasus (IR 13,0 per 10.000 penduduk), meningkat menjadi 2.924 kasus (IR 20,6 per 10.000 penduduk) pada tahun 2007 (Dinkes, 2007). Kota Semarang mengalami kejadian KLB pada bulan Januari 2009, Juni, Juli, Agustus, September, dan Desember 2009. Sampai dengan berakhirnya Tahun 2009 masih terjadi KLB di 50 kelurahan, 14 Puskesmas dan 7 Kecamatan di Kota Semarang. Selama Tahun 2009 terjadi 165 Kali KLB di tingkat Kelurahan, 35 Kali KLB di tingkat Puskesmas dan 15 kali KLB di tingkat kecamatan (Dinkes Kota Semarang, 2009).

Berdasarkan data sekunder dari Dinas Kesehatan Kota Semarang (2009), kejadian kasus DBD di Kecamatan Genuk terus meningkat

dalam 3 tahun. Ini bisa dilihat dari 13 kelurahan yang dimiliki Kecamatan Genuk, 7 diantaranya merupakan daerah endemis tinggi. Jadi hampir 50% Kecamatan Genuk endemis tinggi dalam kasus Demam Berdarah Dengue.

## 2.2 Transmisi Virus Dengue

Penyakit Demam Berdarah Dengue disebabkan oleh virus dari famili Flaviridae yang ditularkan oleh serangga (*arthropod borne virus* = *arbovirus*). Virus tersebut mempunyai 4 serotipe yaitu DEN-1, DEN-2, DEN-3 dan DEN-4. Mekanisme transmisi virus Dengue berlangsung secara horizontal dan vertikal yang ditularkan kepada manusia melalui gigitan nyamuk *Ae. aegypti* (Supartha, 2008).

### 2.2.1 Penularan Secara Horizontal

Transmisi virus Dengue secara horizontal berlangsung dari nyamuk vektor ke dalam tubuh vertebrata dan sebaliknya dari vertebrata ke dalam tubuh vektor. Darah yang diambil dari inang yang menderita sakit mengandung virus DBD, kemudian berkembang biak di dalam tubuh nyamuk sekitar 8-10 atau sekitar 9 hari. Virus yang sampai ke dalam lambung nyamuk akan migrasi, yang akhirnya akan sampai di kelenjar liurnya. Setelah itu nyamuk sudah terinfeksi virus DBD dan efektif menularkan virus. Apabila nyamuk terinfeksi itu mencucuk inang (manusia) untuk mengisap cairan darah, maka virus yang berada di dalam air liurnya masuk ke dalam sistem aliran darah manusia. Setelah mengalami masa

inkubasi sekitar 4-6 hari, penderita akan mulai mendapat demam yang tinggi (Supartha, 2008; Depkes RI, 2005).

### 2.2.2 Penularan Secara Vertikal

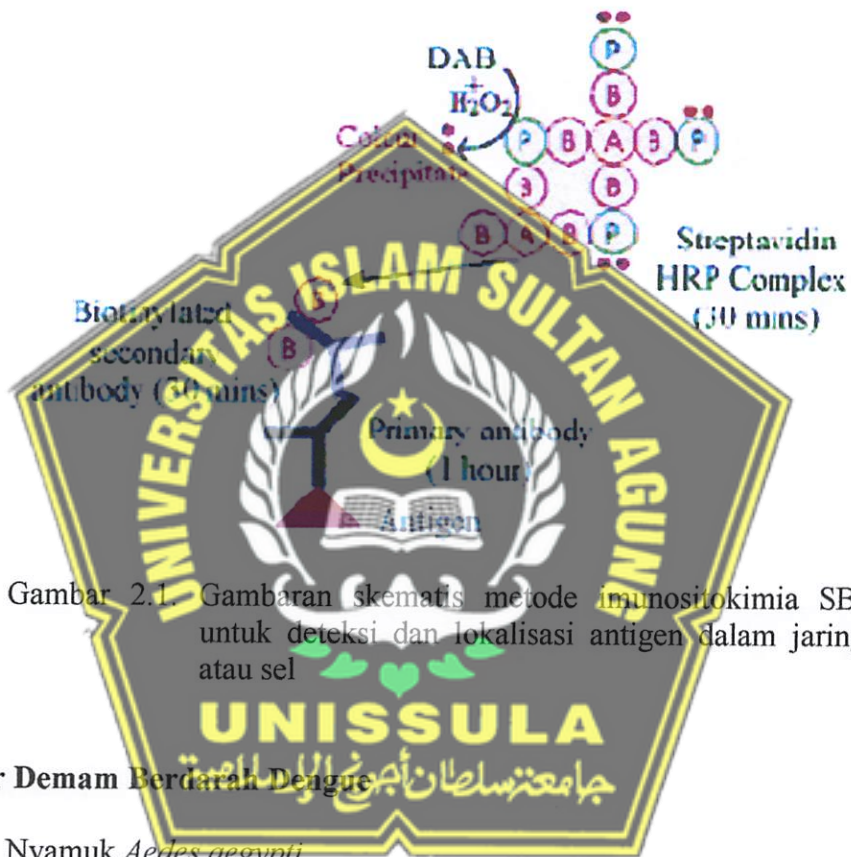
Nyamuk *Aedes aegypti* mempunyai kemampuan untuk melakukan transmisi secara vertikal, yaitu dimulai dari virus Dengue ditularkan oleh nyamuk betina infeksi ke telurnya (transovarial) yang nantinya akan menjadi nyamuk dewasa. Namun Roche dalam Supartha (2008) melaporkan bahwa hanya *Ae. albopictus* yang mampu menularkan virus melalui keturunannya sementara *Aedes aegypti* tidak. Sementara Maurya *et al.*, Joshi *et al.*, Rohani *et al.* dan Yulfi, dalam Supartha (2008), menegaskan bahwa kedua spesies itu dapat menularkan virus pada keturunannya. Rohani *et al.* dalam Supartha (2008) menemukan larva terinfeksi virus DBD tersebut di 16 lokasi penelitiannya di Malaysia dengan laju infeksi virusnya lebih tinggi pada *Aedes aegypti* (13,7%) dibandingkan pada *Ae. albopictus* (4,2%). Keturunan nyamuk yang menetas dari telur nyamuk terinfeksi virus DBD secara otomatis menjadi nyamuk terinfeksi yang dapat menularkan virus DBD kepada inangnya yaitu manusia (Supartha, 2008).

Menurut Beaty di dalam Sucipto (2009), mekanisme transmisi virus Dengue secara vertikal dalam tubuh nyamuk dimulai pada saat nyamuk terinfeksi virus melalui penularan secara horizontal. Darah vertebrata yang mengandung virus Dengue, dihisap oleh nyamuk

sehingga virus terbawa sampai ke dalam lambung dan usus. Di dalam lambung dan usus nyamuk, virus Dengue akan masuk ke dalam peredaran darah dan akan ditangkap oleh sel nyamuk yang mempunyai reseptor di permukaannya. Selanjutnya virus melakukan replikasi (memecah diri atau berkembang biak) selama 3 hari. Selanjutnya pada hari ke 3-6 virus menyebar ke haemocoel, hari ke 6-9 menyebar ke jaringan saraf, badan lemak, jantung, sel perikardium, dan ovarium. Kemudian virus tersebut siap ditularkan oleh nyamuk betina kepada telurnya (transovarial), yang nantinya akan menjadi nyamuk dewasa.

Cara pemeriksaan untuk mendiagnose virus Dengue yang mudah, murah, cepat tapi handal yaitu dengan memeriksa antigen virus DEN yang ada dipermukaan monosit dengan cara immunositokimia metode SBPC. Metode immunositokimia SBPC merupakan metode yang menggunakan antibodi sekunder yang dilabel biotin dimana dapat mengenal antibodi primer (antibodi monoklonal atau antibodi poliklonal) dan menggunakan konjugat streptavidin yang dilabel enzim *horseradish peroxidase* serta campuran substrat kromogen untuk mendeteksi antigen pada sel atau jaringan dengan sensitifitas tinggi, sehingga antigen dengan kadar rendah pun dapat terdeteksi. Dasar utama reaksi immunositokimia SBPC adalah ikatan yang sangat kuat antara streptavidin dengan biotin. Sehingga ikatan tersebut dapat menimbulkan warna coklat. Dengan cara tersebut dapat

memudahkan dalam mendapatkan gambaran penularan secara vertikal (transovarial) virus Dengue pada nyamuk *Ae. Aegypti*. Sehingga dapat menghitung Indeks Transmisi Transovarial (ITT) pada nyamuk *Ae. Aegypti* (Wuryaningsih,2007;Anonim,2005).



Gambar 2.1. Gambaran skematis metode imunositokimia SBPC untuk deteksi dan lokalisasi antigen dalam jaringan atau sel

## 2.3 Vektor Demam Berdarah Dengue

### 2.3.1 Nyamuk *Aedes aegypti*

Serangga yang diketahui menjadi vektor utama infeksi virus Dengue adalah nyamuk *Aedes spp (species)*, yaitu *Aedes aegypti* dan nyamuk kebun *Aedes albopictus*. Nyamuk *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus* tersebar luas di seluruh dunia mencakup lebih dari dua pertiga luas wilayah dunia. Kedua spesies nyamuk itu ditemukan di seluruh wilayah Indonesia kecuali pada ketinggian di atas 1000 meter di atas permukaan laut (Supartha, 2008). Sejalan dengan

perkembangan zaman, perubahan faktor lingkungan memberikan pengaruh besar dalam penyebaran vektor penyebab DBD. Walaupun vektor dari virus Dengue adalah nyamuk *Aedes spp*, namun hasil penelitian Bennet Angel (2008) menunjukkan bahwa *Ae. aegypti* merupakan vektor paling berperan dalam penyebaran virus Dengue dari pada nyamuk *Ae. albopictus*. Hasmiwati *et al*, (2009) juga membuktikan bahwa nyamuk *Ae. agypti* mempunyai potensi dalam menularkan virus dengue daripada nyamuk *Ae. albopictus*.

### 2.3.2 Taksonomi

Golongan	: <i>artropoda</i>
Filum	: <i>hexapoda</i>
Kelas	: <i>insect</i>
Ordo	: <i>dipteral</i>
Famili	: <i>culicidae</i>
Sub famili	: <i>culicinae</i>
Tribus	: <i>culicini</i>
Genus	: <i>aedes</i>
Spesies	: <i>Aedes aegypti</i>

(Gandahusada *et al.*, 1998).

### 2.3.3 Morfologi

Bentuk tubuh nyamuk *Aedes aegypti* berukuran relative kecil jika dibandingkan dengan nyamuk rumah (*Culex quinquefasciatus*) yaitu sekitar 5 mm, berwarna hitam, dihiasi garis-garis hitam putih

keperakan/kekuningan pada tubuh dan kaki. Sayap berukuran 2,5-3,0 mm bersisik hitam. Apabila dilihat secara sepintas, nyamuk *Ae. aegypti* hampir sama dengan nyamuk *Ae. albopictus*, namun terdapat perbedaan yang khas dimana pada bagian dorsal thorax terdapat bentuk bercak yang khas berupa dua garis sejajar di bagian tengah dan dua garis lengkung di tepinya, sedang *Ae. albopictus* ada gambaran garis tebal putih dibagian tengah memanjang. Selain itu masing-masing dari spesies itu mempunyai kebiasaan hidup yang berbeda yaitu imago *Ae. aegypti* lebih menyukai tempat di dalam rumah penduduk sementara *Ae. albopictus* lebih menyukai tempat di luar rumah yaitu hidup di pohon atau kebun atau kawasan pinggir hutan. Oleh karena itu, *Ae. albopictus* sering disebut nyamuk kebun (Sutanto, 2008; Supartha, 2008).

#### 2.3.4 Daur Hidup

Nyamuk *Ae. aegypti* seperti nyamuk lainnya mengalami metamorfosis sempurna, yaitu: telur-larva-pupa-nyamuk dewasa. Stadium pradewasa (telur-larva-pupa) hidup di habitat *aquatic* (perairan), sedangkan stadium nyamuk dewasa berhabitat di darat dan udara (Depkes RI, 2005).

##### 2.2.4.1 Telur

Telur nyamuk *Ae. aegypti* berwarna hitam dengan ukuran 0,5-0,8 mm, berbentuk elips atau oval yang diletakkan satu persatu pada benda-benda yang terapung



atau menempel pada dinding tempat penampungan air. Telur *Ae. aegypti* mempunyai dinding yang bergaris-garis dan mempunyai gambaran kain kasa. Setiap kali bertelur nyamuk betina dapat mengeluarkan telur sebanyak 30-300 butir dan akan menetas dalam 2-3 hari bila menemukan habitat yang cocok (perairan). Telur bila telah mengalami embrionisasi secara sempurna dapat bertahan berbulan-bulan di tempat yang kering (Waneroor, 2010; Depkes RI, 2005; Sutanto, 2008).

#### 2.2.4.2 Larva

Telur menetas akan menjadi larva. Larva ini dalam pertumbuhan dan perkembangannya mengalami 4 kali pergantian kulit (ecdysis), dan larva yang terbentuk berturut-turut disebut larva instar 1,2,3, dan 4. Larva *Ae. aegypti* terdiri atas kepala, toraks, dan abdomen. larva ini tubuhnya langsing, bergerak sangat lincah, dan waktu istirahat membentuk sudut hampir tegak lurus dengan bidang permukaan air. Stadium larva biasanya berlangsung selama 6-8 hari, kemudian berubah menjadi bentuk pupa (Depkes RI, 2005).

#### 2.2.4.3 Pupa

Pupa (kepompong) nyamuk *Ae. aegypti* merupakan stadium perkembangan lebih lanjut dari larva instar 4,

bentuk tubuhnya bengkok sehingga tampak seperti tanda koma. Pupa merupakan stadium tidak makan dan sebagian besar waktunya dihabiskan dipermukaan air untuk mengambil udara melalui terompot respirasinya. Waktu istirahat posisi pupa sejajar dengan bidang permukaan air. Periode pupa di daerah tropik selama 2-3 hari, sedangkan di daerah subtropik dapat mencapai 9-12 hari. Setelah itu akan mengalami fase nyamuk dewasa (Waneroor, 2010).

#### 2.2.4.4 Nyamuk dewasa (Imago)

Pertumbuhan dari telur menjadi nyamuk dewasa (imago) berlangsung selama 9-10 hari dan beberapa hari kemudian akan mencari pasangan untuk melakukan perkawinan. Umur nyamuk betina berkisar antara 8-15 minggu sedangkan umur jantan 3-6 minggu. Nyamuk *Ae. aegypti* tubuhnya tersusun dari tiga bagian, yaitu kepala, dada, dan perut. Pada bagian kepala terdapat sepasang mata majemuk dan antenna yang berbulu. Nyamuk betina menghisap darah manusia dan karbohidrat tumbuh-tumbuhan, sedangkan nyamuk jantan hanya menghisap sari tumbuh-tumbuhan saja (Waneroor, 2010).

#### 2.4. Perbedaan Indeks Transmisi Transovarial virus Dengue pada stadium telur dan imago nyamuk *Aedes aegypti*

Perbedaan *Transovarial Infection Rate* (TIR) pada sediaan nyamuk *Aedes aegypti* mulai stadium telur sampai imago yang induknya dengan sengaja diinfeksi virus DEN 2 menunjukkan TIR telur: 56%, larva: 22%, pupa: 36 %, imago: 96% (Magdalena, 2010). Hasil tersebut menunjukkan TIR yang berbeda-beda di setiap stadium. Menurut Gunther dkk (2007), infeksi virus Dengue pada tiap-tiap stadium nyamuk berbeda-beda disebabkan oleh 3 hal:

1. S-phase pembelahan sel pada sel nyamuk
2. Protein yang terlibat dalam replikasi virus
3. Kondisi tiap-tiap stadium pada saat fase pertumbuhan atau perkembangan

S-phase pada pembelahan sel pada nyamuk *Ae. aegypti* menurut Helt dkk (2005), sangat mempengaruhi terjadinya peningkatan replikasi virus Dengue dalam tubuh nyamuk tersebut, baik dari mulai stadium telur ke stadium imago. Proses replikasi virus saat S-phase pada pembelahan sel tergantung pada berapa banyak sel yang sedang melakukan pembelahan. Pada saat fase telur proses pembelahan sel masih sedikit sehingga proses replikasi virus menjadi terhambat. Sedangkan pada fase imago proses pembelahan sel banyak terjadi di fase ini, sehingga proses replikasi virus sangat cepat.

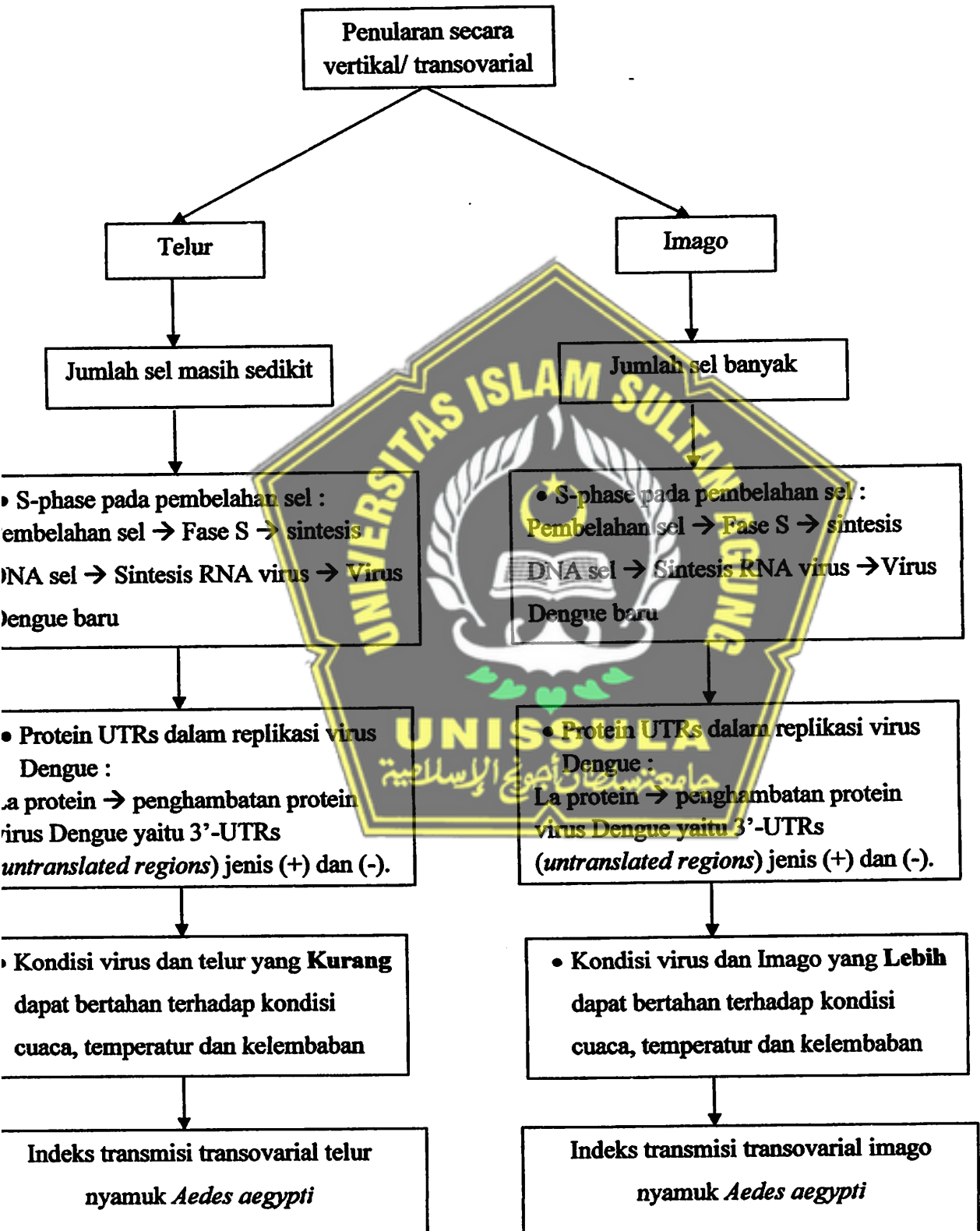
Proses replikasi RNA (*Ribonucleic Acid*) virus Dengue di dalam tubuh nyamuk sangat dipengaruhi oleh protein. Menurut Yocupicio dkk (2007),

protein dalam tubuh nyamuk yaitu La protein mempunyai peran penting terhadap penghambatan protein virus Dengue yaitu 3'-UTRs (*untranslated regions*) jenis (+) dan (-). Protein UTRs pada virus RNA berperan dalam proses replikasi virus.

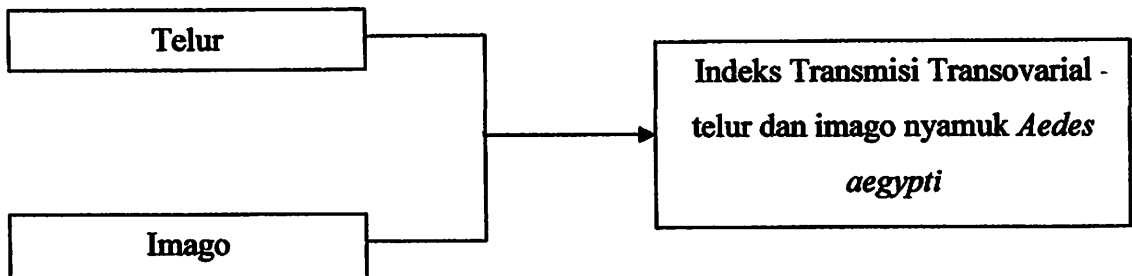
Kondisi lingkungan tempat nyamuk berkembang biak juga ikut berpengaruh. Menurut Sumanochitrapon dkk (1998), kondisi cuaca, dan keberadaan manusia mempengaruhi larva dan pupa untuk berkembang biak. Sucipto (2009), juga menyimpulkan adanya korelasi nilai ITT dengan kejadian DBD diperkirakan berhubungan dengan beberapa faktor lingkungan, seperti letak geografis yang beriklim tropis, temperatur dan kelembaban yang ideal. Letak geografis yang beriklim tropis berpengaruh terhadap adanya musim. Pada musim hujan populasi *Aedes aegypti* meningkat. Temperatur mempengaruhi replikasi pathogen, maturasi, dan periode infeksi pada saat pembelahan sel. Sedangkan kelembaban udara yang kurang dari 60% mengakibatkan umur nyamuk menjadi pendek, sehingga tidak cukup untuk siklus perkembangan biakan virus Dengue dalam tubuh nyamuk.

Jadi dari 3 faktor di atas, stadium imago memiliki kemampuan lebih besar dalam proses replikasi virus Dengue dibandingkan dengan stadium telur. Sehingga keberadaan virus Dengue pada stadium imago lebih besar dari pada stadium telur.

## 2.5 Kerangka Teori



## 2.6 Kerangka Konsep



## 2.7 Hipotesis

Terdapat perbedaan indeks transmisi transovarial virus Dengue pada nyamuk *Aedes aegypti* antara stadium telur dan imago di daerah endemis Demam Berdarah Dengue di Kecamatan Genuk Kota Semarang Periode April – Mei 2011



## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian pada masalah yang akan diteliti menggunakan jenis penelitian observasional analitik dengan rancangan penelitian *cross sectional*.

#### 3.2. Variabel dan Definisi Operasional

##### 3.2.1. Variabel penelitian

###### 3.2.1.1. Variabel Bebas

3.2.1.1.1. Nyamuk *Aedes aegypti* stadium telur

3.2.1.1.2. Nyamuk *Aedes aegypti* stadium imago

###### 3.2.1.2. Variabel Terikat : Indeks transmisi transovarial virus

Dengue pada telur dan imago nyamuk *Aedes aegypti*.

##### 3.2.2. Definisi Operasional

###### 3.2.2.1. Nyamuk *Aedes aegypti* stadium telur

Telur nyamuk *Aedes aegypti* yang didapatkan dengan menempatkan ovitrap di rumah penderita DBD dan beberapa rumah di sekitarnya pada daerah endemis Demam Berdarah Dengue di Kecamatan Genuk Kota Semarang periode April – Mei 2011.

Skala pengukuran : nominal

### 3.2.2.2. Nyamuk *Aedes aegypti* stadium imago

Imago atau nyamuk dewasa *Aedes aegypti* yang diperoleh dari perkembangbiakan telur nyamuk di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (FK-UNISSULA) Semarang, dimana telur tersebut didapatkan dengan menempatkan ovitrap di rumah penderita DBD dan beberapa rumah di sekitarnya pada daerah endemis Demam Berdarah Dengue di Kecamatan Genuk Kota Semarang periode April – Mei 2011. Nyamuk imago tersebut belum menghisap darah, dan umur rerata 7 hari.

Skala pengukuran : nominal

### 3.2.2.3. Indeks transmisi transovarial virus Dengue pada telur dan imago nyamuk *Aedes aegypti*.

Indeks transmisi transovarial virus Dengue pada nyamuk *Aedes aegypti* adalah jumlah sampel telur nyamuk *Ae. aegypti* yang terperangkap dalam ovitrap di lapangan, yang bereaksi positif (+) dengan antigen Dengue pada sediaan *egg squash* dengan metode imunositokimia, atau nyamuk *Ae. aegypti* dari tetasan telur yang terperangkap dalam ovitrap di lapangan, yang belum mengisap darah, bereaksi positif (+) antigen Dengue pada sediaan *head squash* dengan metode imunositokimia, dibagi jumlah



sampel nyamuk *Ae. aegypti* diperiksa dalam prosentase (%).

$$\frac{X}{Y} = \text{ITT}$$

X = jumlah sampel telur nyamuk *Ae. aegypti* yang terperangkap dalam ovitrap di lapangan, yang bereaksi positif (+) dengan antigen Dengue pada sediaan *egg squash*, atau jumlah sampel nyamuk dewasa *Ae. aegypti* dari tetasan telur nyamuk yang terperangkap dalam ovitrap di lapangan, yang belum mengisap darah, bereaksi (+) dengan antigen Dengue pada sediaan *head squash*

Y = jumlah sampel telur atau nyamuk dewasa yang diperiksa

ITT = Indeks Transmisi Transovarial dalam prosentase (%)

Skala pengukuran : rasio

### 3.3. Populasi dan Sampel

#### 3.3.1. Populasi penelitian

Subyek penelitian ini adalah nyamuk *Ae. aegypti* stadium telur dan stadium dewasa (imago) dari tetasan telur nyamuk *Aedes aegypti* yang dijumpai di wilayah endemis DBD di Kecamatan Genuk Kota Semarang periode April – Mei 2011. Stadium dewasa (imago)

nyamuk *Ae. aegypti* didapatkan dari telur yang didapat kemudian ditetaskan dan dipelihara di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (FK-UNISSULA) Semarang sampai menjadi nyamuk dewasa.

### 3.3.2. Sampel

Pengambilan sampel telur nyamuk dengan cara di lokasi kasus DBD dipasang 60 buah ovitrap pada 20 rumah dalam radius 100 meter di sekitar titik utama dimana pernah terdapat kasus DBD, ditambah 3 buah ovitrap pada rumah penderita. Ovitrap ditempatkan dua di dalam rumah dan satu lagi di luar rumah. Sampel didapatkan dari daerah domisili pasien kasus DBD di daerah endemis di Kecamatan Genuk Kota Semarang. Kemudian di Laboratorium, telur yang dikumpulkan diambil 30 subyek untuk sampel telur dan 80 telur lagi dikembangkan untuk mendapatkan sampel kepala imago nyamuk *Ae. Aegypti*. Dari jumlah sampel tersebut, kemudian masing-masing jenis sampel (telur dan imago) dibagi menjadi 16 preparat yang setiap preparatnya berisi 5 sampel. Dinas Kesehatan Propinsi Daerah Istimewa Yogyakarta menyatakan bahwa untuk penelitian uji virulensi virus Dengue, sampel yang paling minimum adalah 30 ekor nyamuk (Dinkes-DIY, 2007).

Kriteria inklusi sampel:

- Telur nyamuk *Ae. aegypti* yang mempunyai dinding bergaris-garis dan menyerupai gambaran kain kasa

- Nyamuk imago *Ae. aegypti* berumur 7 hari.
- Nyamuk imago *Ae. aegypti* belum menghisap darah.

Kriteria eksklusi sampel:

- Telur nyamuk *Ae. aegypti* yang bentuknya sudah tidak utuh (kisut).
- Nyamuk imago *Ae. aegypti* berumur 7 hari tetapi sudah mati.

### 3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian

Bahan dan alat yang digunakan pada penelitian lapangan yaitu untuk mengumpulkan atau koleksi telur nyamuk *Aedes aegypti*. Bahan dan alat tersebut meliputi:

- Gelas plastik atau gelas kaca isi 250 ml dicat hitam pada bagian luarnya sebagai perangkap telur (ovitrap)
- Kertas saring dipotong ukuran 5 cm x 20 cm sebagai ovistrip,
- Kertas label penanda ovitrap.

Bahan dan alat penelitian laboratorium yang digunakan untuk kolonisasi nyamuk *Ae. aegypti* meliputi :

- Sangkar nyamuk dari gelas plastik isi 250 ml
- Kertas label
- Gelas plastik
- Pipet
- Pakan hati ayam/ pakan ayam
- Larutan gula 10%
- Kain kasa

- Kapas
- Karet
- Label penanda

Bahan dan alat penelitian laboratorium untuk mendeteksi antigen Dengue pada telur dan imago nyamuk *Ae. aegypti* dengan metode imunositokimia SBPC. Bahan dan alat tersebut meliputi:

- Telur nyamuk *Ae. aegypti* yang berasal dari daerah endemis di Kecamatan Genuk Kota Semarang periode April – Mei 2011
- Kepala nyamuk *Ae. aegypti* dari sampel telur nyamuk yang berasal dari lokasi penelitian yang telah ditetaskan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (FK-UNISSULA) Semarang
- Kaca preparat
- Kaca penutup preparat ukuran 24 mm x 50 mm, pipet 200  $\mu\text{m}$  dan 10  $\mu\text{m}$
- Mikroskop
- Kertas label
- *Methanol absolute*
- $\text{H}_2\text{O}_2$  (hidrogen peroksida),
- Trekkie Universal Link
- Background sniper (protein blocker)
- Antibodi primer (antibodi monoklonal DSSE10)
- TrekAvidin-HRP

- Betazoid DAB chromogen
- Betazoid DAB buffer
- Meyer hematoxilin (counterstain)
- Alcohol
- Xylol
- Mounting media

Preparasi bahan yang dibutuhkan yaitu :

- 1). *Peroxydase blocking solution* : satu bagian hidrogen peroksida 30% ditambah sembilan bagian metanol absolut
- 2). *Phosphat buffer saline (PBS) BA 0,5%* (segar) atau PBS yang mengandung 5% *dilute blocking serum (NCL-H-Serum)* untuk mengencerkan antibodi primer
- 3). Antibodi monoklonal anti Dengue komersial 1:200

### 3.5. Cara Penelitian

#### 3.5.1. Lokasi Penelitian

Lokasi penelitian ditetapkan berdasarkan atas penghitungan endemisitas dan penderita DBD. Data endemisitas diambil dari data sekunder Dinas Kesehatan Kota Semarang, kemudian ditentukan wilayah endemis DBD. Data penderita DBD diambil dari data sekunder Dinas Kesehatan Kota Semarang dan data penderita sesuai kriteria penelitian di beberapa puskesmas di wilayah Genuk. Nama dan alamat penderita dicatat sebagai pedoman pengambilan sampel telur nyamuk *Aedes aegypti*. Lokasi titik utama pemasangan *ovitrap*

diambil dari kasus positif DBD dan Sindrom Syok Dengue (SSD). Penderita DBD dan SSD diutamakan masih anak (umur di bawah 5 tahun) dengan tujuan untuk menghindari kasus impor karena mobilitas tinggi pada penderita dewasa.

### 3.5.2. Penelitian Lapangan

Kegiatan mengumpulkan telur nyamuk *Aedes aegypti* menggunakan perangkat telur (*ovitrap*). Ovitrap yang berasal dari gelas plastik ukuran 250 ml, di dalamnya diisi air dan di dinding dalamnya dipasang kertas saring (*ovistrip*). Bagian dinding luarnya dipasang label untuk memudahkan pencatatan. Setiap rumah yang ditentukan ditempatkan *ovitrap* masing-masing tiga buah, dua di dalam rumah dan satu lagi di teras depan rumah. Penempatan *ovitrap* di dalam rumah dilakukan di tempat-tempat yang diperkirakan berpotensi menjadi tempat bertelurnya nyamuk *Ae. aegypti*, seperti di bawah tempat tidur, kamar mandi atau wc, dan dapur. *Ovitrap* di teras depan rumah ditempatkan di tempat-tempat yang tidak terkena langsung cahaya matahari dan air hujan. Lama penempatan *ovitrap* adalah seminggu dan dilakukan hanya satu kali selama penelitian di lokasi penelitian. Telur nyamuk selanjutnya dibawa ke Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (FK-UNISSULA) Semarang.

### 3.5.3. Perlakuan sampel telur

#### 3.5.3.1. Identifikasi Telur

Setelah satu minggu, kertas saring (*ovistrip*) diambil dari *ovitrap*. Kertas saring yang masih basah, dikeringkan terlebih dahulu lalu diberi label di pinggir *ovistrip*. 5 telur diambil dari masing-masing *ovistrip*, kemudian dimasukkan ke dalam wadah yang berbeda dan diletakkan sampai berkembang menjadi dewasa. Untuk identifikasi nyamuk *Aedes aegypti*, dilihat mana kelompok yang nyamuknya semuanya jenis *Aedes aegypti*. Karena biasanya satu *ovistrip* hanya ditempati bertelur oleh satu nyamuk, maka *ovistrip* yang telah diidentifikasi mempunyai telur *Aedes aegypti*, selanjutnya siap untuk dilakukan *Egg Squash*.

#### 3.5.3.2. Pembuatan Preparat *Egg Squash*

Telur yang telah diidentifikasi merupakan telur *Ae. aegypti*, kemudian dilepaskan dari *ovistrip*. Dari 16 kelompok yang masing-masing berisi 5 butir telur, selanjutnya diletakkan di atas kaca preparat. Setiap kaca preparat berisi 6 kelompok telur, di atasnya ditutup dengan kaca penutup. Tekan-tekan kaca penutup dengan menggunakan pensil yang ada penghapusnya. Kaca penutup diambil kemudian dimasukkan ke dalam botol yang berisi alkohol 70%. Jaringan kasar pada kaca preparat

diambil kemudian dimasukkan ke dalam botol yang berisi alkohol 70%. Sediaan dibiarkan mengering pada suhu kamar kurang lebih selama 30 menit. Preparat difiksasi dengan metanol dingin (-20°C) selama 3 – 5 menit kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan di *laminar flow hood*. Sediaan yang telah siap diidentifikasi diberi pewarnaan, sedangkan yang belum siap diidentifikasi dibungkus dalam aluminium foil dan disimpan dalam *freezer* paling lama selama 1 minggu.

#### 3.5.4. Perlakuan sampel nyamuk imago

##### 3.5.4.1. Kolonisasi Nyamuk

*Ovistrip* kering yang didapatkan dari lapangan direndam dalam gelas plastik yang berisi air sumur dan diberi label berdasarkan lokasi pengambilan telur, kemudian dibiarkan selama 1 – 2 hari sampai menetas menjadi larva. Pemeliharaan larva agar bertahan hidup sampai menjadi pupa memerlukan pakan hati ayam/ pakan ayam sebagai makanan larva nyamuk tersebut. Hari ke-0 larva diberi makan 0,5 gr pakan ayam, kemudian hari pertama sampai hari ke-5 atau sebelum sempurna menjadi pupa diberi 1 gr pakan ayam. Sekam yang sering terdapat pada permukaan air harus segera dibersihkan sebelum larva diberi pakan. Penggantian air dalam gelas plastik sebanyak



2 – 3 kali seminggu. Larva akan menjadi pupa kira-kira dalam 4 – 5 hari. Gelas plastik selanjutnya ditutup dengan kasa, setelah seluruh pupa menjadi nyamuk dewasa, air dalam gelas langsung dibuang. Nyamuk dibiarkan hidup selama seminggu dan sebagai pertahanan hidup diberi larutan air gula 10% dengan metode sumbu terbuat dari kapas ke dalam gelas plastik. Identifikasi spesies dapat dilakukan pada stadium imago.

#### 3.5.4.2. Identifikasi Spesies Nyamuk *Aedes*

Identifikasi berdasarkan perbedaan imago. Bagian mesonotum stadium imago *Ae. aegypti* terdapat gambaran hitam putih menyerupai bentuk harpa (*lyre shape*), sedangkan *Ae. albopictus* berupa gambaran pita longitudinal berwarna putih.

#### 3.5.4.3. Pembuatan Preparat *Head Squash*

Nyamuk yang telah menetas dari telur dan telah dipelihara sampai stadium imago diberi pakan gula 10% tanpa diberi kesempatan untuk mengisap darah sampai umur seminggu, kemudian nyamuk dibunuh dengan *chloroform* untuk pembuatan sediaan *head squash*. Caput nyamuk dipisahkan dari cervix dengan menggunakan jarum bedah nyamuk. Dari 16 kelompok yang masing-masing berisi 5 caput nyamuk, selanjutnya diletakkan diatas kaca

preparat. Setiap kaca preparat berisi 6 kelompok imago, di atasnya di tutup dengan kaca penutup. Tekan-tekan kaca penutup dengan menggunakan pensil yang ada penghapusnya. Kaca penutup diambil kemudian dimasukkan ke dalam botol yang berisi alkohol 70%. Jaringan kasar pada kaca preparat diambil kemudian dimasukkan ke dalam botol yang berisi alkohol 70%. Sediaan dibiarkan mengering pada suhu kamar kurang lebih selama 30 menit. Preparat difiksasi dengan methanol dingin ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) selama 3 – 5 menit kemudian dikeringkan di *laminar flow hood*. Sediaan yang telah siap diidentifikasi diberi pewarnaan, sedangkan yang belum siap diidentifikasi dibungkus dalam aluminium foil dan disimpan dalam *freezer* paling lama selama 1 minggu.

### 3.5.5. Pewarnaan

Pada saat pewarnaan masing-masing sampel yaitu *egg squash* dan *head squash* mendapatkan perlakuan yang sama, yaitu pewarnaan dengan metode imunositokimia SBPC yang dibakukan Umniyati:

1. Sediaan *egg squash* dan *head squash* diletakkan di atas rak pewarnaan.
2. Preparat difiksasi dengan metanol dingin ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) selama 3 sampai 5 menit

3. Preparat dicuci di bawah kran sebentar, kemudian dengan PBS. Untuk menghilangkan aktivitas peroksidase endogen, preparat direndam dalam peroxidase blocking solution pada temperatur kamar selama 5 menit atau di bawah air kran, kemudian dicuci dengan PBS selama 2 menit.
4. Preparat diinkubasikan dalam background sniper (protein blocker) selama 10 menit pada suhu kamar.
5. Antibodi primer (antibodi monoklonal DSSE10) yang diencerkan 1 : 5 untuk sampel. Antibodi monoklonal komersial untuk kontrol positif yang telah disiapkan ditambahkan sebanyak 100  $\mu$ l per preparat (disesuaikan sampai semua bagian tergenang), kemudian diinkubasikan pada nampan yang lembab pada suhu kamar (25°C) selama 1 malam.
6. Preparat selanjutnya dicuci dengan PBS (segar) sebanyak 2 kali masing-masing selama 2 menit.
7. Trekkie Universal Link sebanyak 4 tetes per preparat ditambahkan, kemudian preparat diinkubasikan pada temperatur kamar (25°C) selama 20 menit.
8. Preparat dicuci dengan PBS (segar) sebanyak 2 kali masing-masing selama 2 menit.
9. Preparat diinkubasikan dengan TrekAvidin-HRP pada temperatur kamar selama 10 menit.

10. Preparat dicuci dengan PBS (segar) sebanyak 2 kali masing-masing selama 2 menit.
11. Betazoid DAB chromogen sebanyak 1 tetes diencerkan dengan 1,0 ml betazoid DAB buffer .
12. Preparat diinkubasikan dalam campuran DAB tersebut sebanyak 4 tetes per preparat selama 2 sampai 10 menit (semakin tebal preparat, waktu inkubasinya semakin lama).
13. Preparat dicuci dengan air kran.
14. Meyer hematoxilin (counterstain) sebanyak 4 tetes ditambahkan, diinkubasikan selama 30 sampai 60 detik, kemudian dicuci di bawah air kran.
15. Preparat selanjutnya dicelupkan ke dalam alkohol, dibersihkan, dicelupkan ke dalam xylol.
16. Preparat selanjutnya ditetesi dengan mounting media kemudian ditutup dengan kaca penutup preparat.

#### 3.5.6. Pemeriksaan

Setelah kering preparat siap diperiksa di bawah mikroskop cahaya (binokuler) pada perbesaran 40x, 100x, 400x, dan 1000x. Adanya antigen ditunjukkan dengan adanya warna coklat pada granula dan sitoplasma pada hemosit dari sediaan *egg squash* dan *head squash*, sebaliknya hasil dinyatakan negatif bila tidak ada gambaran warna coklat atau terlihat warna biru. Status kerentanan

diketahui dengan cara menghitung presentase nyamuk yang positif antigen pada sediaan dibagi dengan jumlah nyamuk diperiksa.

Tabel 3.1. Kriteria tingkatan infeksi virus Dengue pada sediaan *headsquash* dan *eggsquash Aedes spp*

Tingkatan Infeksi	Deskripsi	Interpretasi
-	Tidak ada gambaran coklat kecuali sisik dan jaringan sitinous nyamuk lainnya yang dapat dibedakan dengan sel infeksiosa	Negatif
±	Tidak ada gambaran kecoklatan kecuali latar belakang dan sel-sel yang mati yang dapat dibedakan dengan sel infeksiosa	Negatif
+	Butiran-butiran pasir berwarna kecoklatan tersebar di antara jaringan otak, namun hampir tak ada sel yang memperlihatkan warna coklat di bagian sitoplasmanya pada perbesaran 400x	Positif
++	Butiran-butiran pasir semakin menyebar dan ditemukan 1 – 10 sel yang memperlihatkan warna coklat di bagian sitoplasmanya per bidang pandangan pada perbesaran 400x	Positif
+++	Distribusi granul semakin meluas dan ditemukan 10 – 100 sel yang memperlihatkan warna coklat di bagian sitoplasmanya sehingga infeksi dapat dilihat pada perbesaran 100x	Positif
++++	Preparat berwarna kecoklatan seluruhnya dan ditemukan lebih dari 100 sel yang memperlihatkan warna coklat di bagian sitoplasmanya, sehingga dengan mudah dapat dilihat pada perbesaran 100x	Positif

### 3.6. Tempat dan Waktu

- a. Waktu : April 2011 – Juni 2011.
- b. Tempat : Laboratorium Parasitologi FK UNISSULA Semarang  
Laboratorium Parasitologi FK UGM Yogyakarta

### 3.7. Analisa Hasil

Berdasarkan skala variabel bebas (nominal) dan skala variabel tergantung (rasio) maka uji untuk jenis hipotesis komparatif 2 kelompok tidak berpasangan dan distribusi data tidak normal menggunakan uji *Mann-Whitney*.



## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Hasil Penelitian

Pemeriksaan virus Dengue pada sediaan nyamuk *Aedes aegypti* yang berasal dari daerah endemis dalam stadium telur dan imago umur rerata 7 hari kenyang larutan gula 10%, dilakukan dengan metode imunositokimia SBPC menggunakan antibodi monoklonal DSSE10 (1:5) sebagai antibodi primer. Jumlah sampel yang diperiksa dari setiap stadium masing-masing sebanyak 80 sampel kemudian dibagi ke dalam 16 preparat, dimana tiap-tiap preparat berisi 5 sampel. Hasil pemeriksaan disajikan pada Tabel 4.1:



Tabel 4.1. Hasil ITT pemeriksaan virus Dengue metode imunositokimia SBPC menggunakan antibodi monoklonal DSSE10 sebagai antibodi primer pada sediaan *egg squash* stadium telur dan *headsquash* imago *Aedes aegypti*

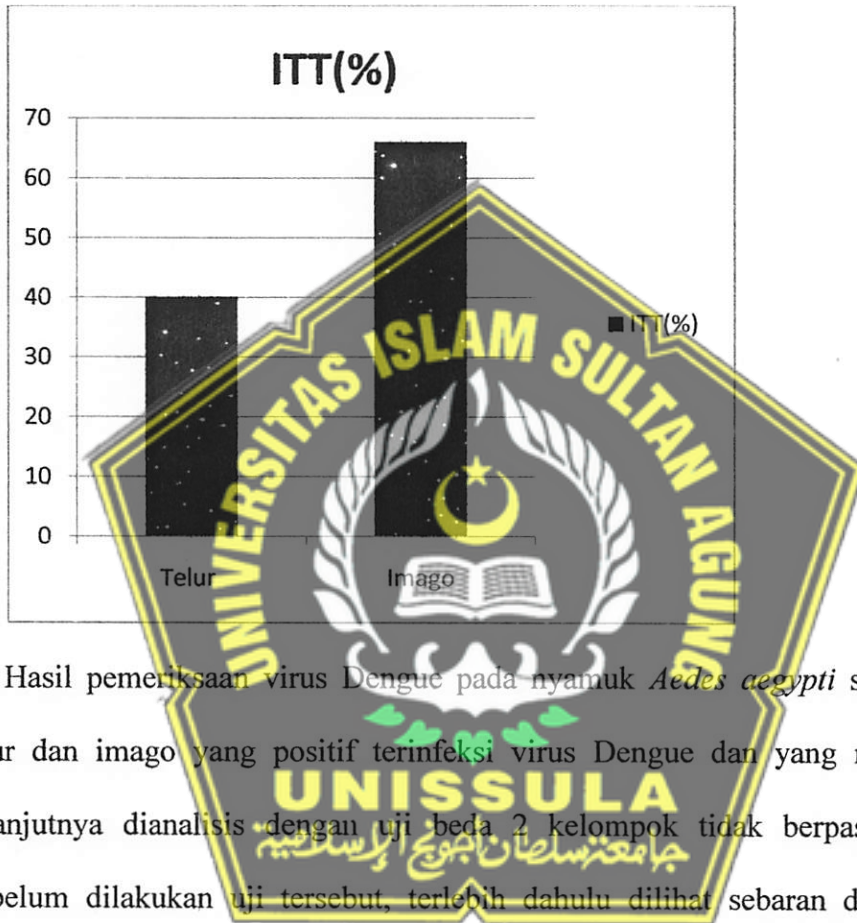
Stadium	Preparat	ITT (%)	Stadium	Preparat	ITT (%)
Telur	1	40	Imago	1	20
Telur	2	40	Imago	2	80
Telur	3	60	Imago	3	80
Telur	4	40	Imago	4	20
Telur	5	60	Imago	5	40
Telur	6	20	Imago	6	20
Telur	7	40	Imago	7	80
Telur	8	20	Imago	8	80
Telur	9	40	Imago	9	80
Telur	10	40	Imago	10	100
Telur	11	40	Imago	11	40
Telur	12	20	Imago	12	60
Telur	13	60	Imago	13	100
Telur	14	40	Imago	14	100
Telur	15	40	Imago	15	80
Telur	16	40	Imago	16	80
Rata-Rata ITT (%)		40	Rata-Rata ITT (%)		66,25
Median		40	Median		80
Maksimum		60	Maksimum		100
Minimum		20	Minimum		20

Tabel 4.1 menunjukkan rata-rata ITT virus Dengue pada stadium Imago nyamuk *Aedes aegypti* lebih besar dibandingkan dengan stadium telur.



Perbedaan rata-rata ITT virus Dengue pada telur dan imago nyamuk *Aedes aegypti* dapat digambarkan pada gambar 4.1:

Gambar 4.1. Rata-rata ITT(%) virus Dengue pada stadium telur dan imago nyamuk *Aedes aegypti*



Hasil pemeriksaan virus Dengue pada nyamuk *Aedes aegypti* stadium telur dan imago yang positif terinfeksi virus Dengue dan yang negatif, selanjutnya dianalisis dengan uji beda 2 kelompok tidak berpasangan. Sebelum dilakukan uji tersebut, terlebih dahulu dilihat sebaran datanya, apakah normal atau tidak.

Berdasarkan hasil uji normalitas pada lampiran 3, dapat diketahui bahwa nilai probabilitas (p) untuk telur= 0,002 dan p imago= 0,008, sehingga distribusi keduanya tidak normal. Oleh karena syarat data harus memiliki distribusi normal tidak terpenuhi, maka uji hipotesis yang dipakai adalah uji alternatif beda 2 kelompok tidak berpasangan, yaitu uji *Mann-Whitney* (lampiran 3).

Berdasarkan hasil uji *Mann-Whitney* pada lampiran 3, dapat diketahui bahwa nilai probabilitasnya adalah 0.009. Karena  $p < 0,05$ , maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara ITT virus Dengue pada stadium telur dengan stadium imago nyamuk *Aedes aegypti* di daerah endemis.

## 4.2. Pembahasan

### 4.2.1. Pembahasan hasil penelitian

Pengamatan terhadap kemampuan nyamuk *Aedes aegypti* dalam melakukan penularan secara vertikal (transovarial) ke generasi selanjutnya pada stadium telur dan imago pada penelitian ini dilakukan melalui pendeteksian keberadaan virus Dengue pada sediaan *egg squash* stadium telur dan *head squash* stadium imago, menggunakan metode imunositokimia SBPC. Hasil *egg squash* stadium telur terdeteksi berupa granula kecoklatan pada jaringan embrio dan hemosit, sedangkan pada *head squash* stadium imago terdeteksi berupa granula kecoklatan yang tersebar di jaringan otak nyamuk.

Rata-rata ITT virus Dengue pada stadium imago menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan dengan stadium telur. Hasil uji statistik *Mann-Whitney* menunjukkan ada perbedaan bermakna pada ITT virus Dengue pada stadium telur dengan stadium imago nyamuk *Aedes aegypti* di daerah endemis. Pada stadium imago rata-rata ITT nya sebesar 66,25%, sedangkan stadium telur rata-rata ITT nya sebesar 40%.

Tingginya ITT virus Dengue pada stadium imago dengan rata-rata ITT 66,25% pada penelitian ini kemungkinan disebabkan oleh durasi waktu yang dibutuhkan untuk menjadi stadium dewasa yang merupakan stadium akhir dari siklus hidup nyamuk. Pada penelitian ini stadium imago dibiarkan hidup selama 7 hari, sehingga memberikan kesempatan terhadap virus untuk bereplikasi. Ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Helt dkk (2005), bahwa proses replikasi virus terjadi pada saat S-phase proses pembelahan sel. Fase pembelahan sel dimulai dari fase G1, S, dan G2, pada fase S inilah virus mulai bereplikasi. Karena pada fase S inilah sel mulai melakukan sintesis DNA-nya, pada saat itulah virus mulai mereplikasikan RNA-nya. Pada stadium imago, virus memiliki kesempatan untuk bereplikasi selama embrionisasi sampai tahap akhir dalam siklus hidup nyamuk *Ae. aegypti*. Dalam proses perkembangannya sel-sel nyamuk terus membelah. Begitu juga dengan virus yang melakukan replikasi sejalan dengan proses pembelahan sel.

ITT virus Dengue pada stadium telur lebih rendah (40%) dibandingkan dengan stadium imago kemungkinan disebabkan proses pembelahan sel pada telur hanya sebatas selama proses embrionisasi saja. Sehingga organ yang terlibat belum maksimal. Banyaknya replikasi virus Dengue tergantung dari banyaknya sel-sel yang membelah. Karena pada saat pembelahan sel terutama saat S-phase, virus mulai mereplikasikan RNA-nya (Helt dkk,2005).

Menurut Sucipto (2009), temperatur udara dan kelembaban nisbi udara berpengaruh bagi viabilitas nyamuk *Aedes* maupun virus Dengue. Temperatur yang relatif rendah dan relatif tinggi, serta kelembababan udara yang rendah dapat mengurangi viabilitas virus Dengue maupun juga mengurangi viabilitas nyamuk itu sendiri. Terutama pada saat terjadinya proses pembelahan sel. Pada stadium imago nyamuk memiliki kemampuan tinggi untuk beradaptasi dengan lingkungan, karena pada saat lingkungan berubah, nyamuk imago mampu untuk berpindah dari tempat satu ke tempat yang lain. Sedangkan pada stadium praimago terutama stadium telur, kondisi air, kelembaban, temperatur sangat berpengaruh terhadap keberadaan virus dan nyamuk itu sendiri.

#### 4.2.2. Penelitian terdahulu

Hasil penelitian ini pada stadium imago rata-rata ITT nya sebesar 66,25%, sedangkan stadium telur rata-rata ITT nya sebesar 40%. Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Magdalena (2010), yang sengaja menginfeksi virus Dengue ke induk nyamuk menunjukkan rata-rata ITT pada stadium imago lebih tinggi (96%) dibandingkan dengan stadium telur (56%).

Perbedaan prosentase banyaknya jumlah nyamuk stadium telur dan imago yang terinfeksi virus Dengue hasil Magdalena dibandingkan dengan hasil dari peneliti, kemungkinan pertama dikarenakan sampel induk nyamuk yang digunakan Magdalena sudah 100% terinfeksi virus Dengue, sedangkan sampel induk peneliti didapatkan dari alam, sehingga tidak dapat dipastikan

bahwa induk nyamuk tersebut terinfeksi virus Dengue atau tidak. Kemungkinan yang kedua, sampel Magdalena diperoleh dari hasil perkembangbiakan nyamuk dari laboratorium, sedangkan sampel peneliti diperoleh dari lingkungan yang endemis DBD.

#### 4.2.3. Makna hasil penelitian

Penelitian ini menegaskan lebih lanjut kepada semua pihak akan pentingnya pemantauan infektifitas alami nyamuk *Ae. aegypti* stadium telur dan imago yang dibawa melalui jalan transovarial dapat menjadi alat pengawasan dini untuk memprediksi resiko serta upaya pencegahan berjangkitnya Demam Berdarah Dengue. Karena ITT virus Dengue pada telur tidak berbeda jauh dengan stadium imago, maka pemberantasan nyamuk pada stadium sedini mungkin dapat efektif memutus rantai perkembangbiakan nyamuk sebelum berkembang menjadi imago.

#### 4.2.4. Kendala dalam penelitian

Pemasangan *ovitrap* pada penelitian ini terkendala pada wilayah sekitar tempat tinggal penderita DBD yang masyarakatnya memberikan kesempatan kepada peneliti untuk mengambil sampel di daerah tersebut.

### 4.3. Keterbatasan Penelitian

1. Penelitian ini menggunakan sampel telur nyamuk dari domisili penderita DBD yang berumur kurang dari 5 tahun di daerah endemis DBD, tidak semua penderita atau wilayah endemis DBD bisa digunakan untuk pengambilan sampel.

2. Penelitian ini terbatas pada waktu pengambilan sampel yang hanya pada bulan April – Mei 2011. Dimana pada bulan tersebut masih masuk musim penghujan dan faktor lingkungan sangat mempengaruhi perolehan sampel.
3. Pada penelitian ini, peneliti hanya meneliti di daerah endemis saja, tidak meneliti di daerah non endemis.



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1. Kesimpulan

1. Terdapat perbedaan bermakna secara statistik indeks transmisi transovarial (ITT) virus Dengue pada stadium telur dan imago yang berasal dari nyamuk *Aedes aegypti* di daerah endemis Demam Berdarah Dengue di Kecamatan Genuk Kota Semarang.
2. Indeks transmisi transovarial virus Dengue pada stadium telur nyamuk *Aedes aegypti* di daerah endemis Demam Berdarah Dengue di Kecamatan Genuk Kota Semarang adalah 40,0% positif terinfeksi virus Dengue dan 60,0% tidak terinfeksi virus Dengue.
3. Indeks transmisi transovarial virus Dengue pada stadium imago nyamuk *Aedes aegypti* di daerah endemis Demam Berdarah Dengue di Kecamatan Genuk Kota Semarang adalah 66,25% positif terinfeksi virus Dengue dan 33,75% tidak terinfeksi virus Dengue.

#### 5.2. Saran

1. Dalam pengambilan sampel di wilayah tempat penderita tinggal, sebaiknya selain menggunakan surat resmi juga didampingi dengan tokoh masyarakat atau kader kesehatan di wilayah tersebut.
2. Perlu penelitian lebih lanjut terhadap adanya penularan transovarial virus Dengue stadium telur dan imago pada nyamuk *Aedes aegypti* di alam dengan pengambilan sampel di waktu musim kemarau.

3. Perlu penelitian lebih lanjut terhadap adanya penularan transovarial virus Dengue stadium telur dan imago pada nyamuk *Aedes aegypti* di alam, di daerah non endemis.





## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2005, *Histology and Immunocytochemistry*. Available at website: (URL [www.hmids.org.uk/histology.html](http://www.hmids.org.uk/histology.html)) Dikutip tanggal 26 november 2010
- Bennet, dkk, 2008, *Association of Ovarian Proteins with Transovarial Transmission of Dengue Viruses by Aedes Mosquitoes in Rajasthan, India*. *Indian J Med Res* 128 pp 320-323
- Depkes RI, 2005, *Pencegahan dan Pemberantasan Demam Berdarah Dengue*, Jakarta
- Depkes RI, 2008. *Profil Kesehatan Indonesia 2008*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta
- Dinkes Kota Semarang, 2009, *Profil Kesehatan Kota Semarang 2009*. Dinas Kesehatan Kota Semarang: Semarang
- Dinkes Provinsi Jawa Tengah, 2004. *Profil Kesehatan Propinsi Jawa Tengah Tahun 2004*. Semarang
- Dinkes, 2007, Data Endemisitas DBD Kota Semarang 2007, Dinas Kesehatan Kota Semarang. Dalam [http://www.dinkes-kotasemarang.go.id/Website Resmi Dinas Kesehatan Kota Semarang.htm](http://www.dinkes-kotasemarang.go.id/WebsiteResmiDinasKesehatanKotaSemarang.htm), Dikutip tanggal 28 September 2010
- Dinkes-DIY, 2007, Uji Virulensi Virus Dengue, Dinas Kesehatan Propinsi Daerah Istimewa Yogyakarta, Dalam [http://dinkes-diy.org/e-knowledge management-DINAS KESEHATAN PROPINSI DIY.htm](http://dinkes-diy.org/e-knowledge-management-DINAS%20KESEHATAN%20PROPINSI%20DIY.htm). Dikutip tanggal 16 Juni 2010
- Gandahusada, S., Ilahude, H.D., Pribadi, W., 1998, *Parasitologi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia*, Jakarta, 7-25
- Gunther, J., Munoz, J.P.M., Ishiwara, D.G.P., Benito, J.S., 2007, *Evidence of Vertical Transmission of Dengue Virus in Two Endemic Localities in the State of Oaxaca, Mexico*, S. Karger AG, Basel
- Hasmiwati, Dahelmi, Nurhayati, 2009, Deteksi Virus Dengue dari Nyamuk Vektor *Aedes aegypti* di Daerah Endemik Demam Berdarah Dengue (DBD) di Kota Padang dengan Metode Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR), Dalam [http://repository.unand.ac.id/739/1/ARTIKEL\\_HIBER\\_HASMIWATI\\_2009.doc](http://repository.unand.ac.id/739/1/ARTIKEL_HIBER_HASMIWATI_2009.doc), Dikutip tanggal 22 November 2010
- Helt, A.M., Harris, E., 2005, *S-phase-dependent enhancement of dengue virus replication in mosquito cells, but not in human cells*. *J Virology*

- Joshi, V., Bennet, A., 2008, *Distribution of dengue vims types in Aedes aegypti in dengue endemic districts of Rajasthan, India*, Desert Medicine Research Centre (ICMR), Jodhpur, India
- Magdalena, D.S., 2010, *Uji Laboratorium Penularan Trans-Stadial Virus Dengue pada Stadium Telur, Larva, Pupa, dan Imago dari Nyamuk Aedes aegypti (Diptera: Culicidae)*. UGM. Yogyakarta
- Mardiatmo, 2010. *Update Demam Berdarah Dengue Pada Anak*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang
- Sucipto, C.D., 2009, *Deteksi Transmisi Transovarial Virus Dengue pada Nyamuk Ae. aegypti (Diptera: Culicidae) Jantan dan Betina serta Hubungannya dengan Kejadian Demam Berdarah Dengue di Kota Pontianak*, Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta
- Sumanochitrapon, W., Strickman, D., Sithiprasasna, R., Kittayapong, P., Innis, B.L., 1998, *Effect of size and geographic origin of Aedes aegypti on oral infection with dengue-2 virus*, Am J Trop Med Hyg
- Supartha, I.W., 2008, *Pengendalian Terpadu Vektor Virus Demam Berdarah Dengue, Aedes aegypti (Linn.) Dan Aedes albopictus (Skuse)(Dipteral: Culicidae)*, Denpasar, 1-15
- Suroso, Torry, C., 2005, *Panbio Dengue Fever*, Pacific Biotekindo Intralab, Jakarta
- Sutanto dkk, 2008, *Parasitologi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia*, Jakarta
- Umniyati, S.R., 2008, *Diagnosis Infeksi Transovarial Virus Dengue Pada Nyamuk Aedes aegypti Linn. Berbasis Metode Imunositokimia Menggunakan Antibodi Monoklonal 1C7 Produksi Universitas Gadjah Mada*, Tesis, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 65-69
- Waneroor, 2010, *Nyamuk Aedes aegypti*, Dalam: [http://id.shvoong.com/medicine-and-health/epidemiology-public-health/Nyamuk Aedes aegypti.htm](http://id.shvoong.com/medicine-and-health/epidemiology-public-health/Nyamuk_Aedes_aegypti.htm), Dikutip tanggal 25 Oktober 2010.
- Wuryaningsih, Y.N.S., 2007, *Deteksi Virus DEN pada Monosit dengan Uji Streptavidin Biotin untuk Diagnosis Dini Penyakit Demam Berdarah Dengue*, D080302Nining\_deteksvirusdengue.pdf, Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta, 175
- Yocupicio-Monroy, M., Padmanabhan, R., Medina, F., del Angel, R.M., 2007, *Mosquito La protein binds to the 3\_untranslated region of the positive and negative polarity dengue virus RNAs and relocates to the cytoplasm of infected cells*, Virology