



Deteksi dan Identifikasi Strain *Wolbachia sp.* secara Molekular pada Vektor Dengue Nyamuk *Aedes sp.*

Febby Aulia¹, Hasmiwati², Avit Suchitra³, Mohamad Reza², Husnil Kadri⁴, Zuraya Fadila⁵

¹ S1 Profesi Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang, 25163, Indonesia

² Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, 25163, Indonesia

³ Departemen Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, RS M. Djamil, Padang, 25163, Indonesia

⁴ Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, 25163, Indonesia

⁵ Departemen Ilmu Kesehatan Masyarakat Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, 25163, Indonesia

ABSTRACT

Abstrak

Latar Belakang: *Wolbachia sp.* merupakan bakteri endosimbion yang diketahui dapat menginfeksi berbagai serangga, termasuk vektor utama virus dengue, nyamuk *Aedes sp.* Infeksi *Wolbachia* telah terbukti menghambat replikasi virus dengue dalam tubuh nyamuk, sehingga memiliki potensi besar dalam strategi pengendalian penyakit berbasis bioteknologi

Objektif: Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi dan mengidentifikasi keberadaan *Wolbachia sp.* pada nyamuk *Aedes sp.* secara molekular menggunakan metode Polymerase Chain Reaction (PCR).

Metode: Penelitian ini adalah penelitian eksperimental deskriptif untuk mengidentifikasi keberadaan *Wolbachia sp.* pada nyamuk *Aedes sp.* Penelitian ini telah dilakukan di laboratorium Parasitologi dan Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Total jumlah sampel penelitian sebanyak 100 sampel nyamuk *Aedes sp.* dengan masing-masing 50 nyamuk dewasa *Ae. aegypti* dan 50 *Ae. albopictus* dari 2 wilayah yang berbeda, yaitu Koto Panjang, Nagari Muaro Paneh, Kecamatan Bukit Sundi, Kabupaten Solok dan Pasia, Kelurahan Kapalo Koto, Kecamatan Pauh, Kota Padang.

Hasil: Identifikasi DNA *Wolbachia sp.* Menggunakan PCR menemukan bahwa sebanyak 76 DNA sampel positif, dan sisanya sebanyak 24 sampel negative *Wolbachia*. Identifikasi jenis strain dari hasil sekuensing dan analisis melalui website NCBI, ditemukannya *Wolbachia* strain wAlbb pada nyamuk *Ae. albopictus* dan *Wolbachia* strain wMel pada nyamuk *Ae. Aegypti*. *Wolbachia* strain wAlbb dan wMel yang teridentifikasi memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan virus dengue pada penyakit DBD dan menyebabkan inkompabilitas sitoplasma pada inang.

Kesimpulan: Telah ditemukan berbagai jenis strain *Wolbachia sp.* Pada sampel nyamuk *Aedes sp.* yang didapatkan dari Koto Panjang, Nagari Muaro Paneh, Kecamatan Bukit Sundi,

Abstract

Background: *Wolbachia sp.* is an endosymbiont bacterium known to infect various insects, including the main vector of dengue virus, *Aedes sp.* *Wolbachia* infection has been shown to inhibit dengue virus replication in mosquitoes, *Aedes sp.* thus it has great potential in biotechnology-based disease control strategies.

Objective: This study aimed to detect and identify the presence of *Wolbachia sp.* in *Aedes sp.* molecularly using Polymerase Chain Reaction (PCR) method.

Methods: This study was an experimental descriptive to determine the detection and identification of *Wolbachia sp.* in *Aedes sp.* This study was conducted in the laboratory of Parasitology and Biomedical, Faculty of Medicine, Andalas University. The total number of samples were 100 samples of *Aedes sp.* with a distribution of 50 samples of *Ae. albopictus* and 50 *Ae. aegypti* from 2 areas with different climatic conditions, namely Koto Panjang, Muaro Paneh village, Bukit Sundi Sub-district, Solok Regency and Pauh, Kapalo Koto Village, Pauh Sub-district, Padang City.

Results: Identification of *Wolbachia sp.* DNA using PCR revealed that 76 DNA samples were positive, while the remaining 24 samples were negative for *Wolbachia*. Identification of strain type from the results of sequencing and analysis through the NCBI website, *Wolbachia* strain wAlbb was found in *Ae. albopictus* and *Wolbachia* strain wMel in *Ae. Aegypti*. *Wolbachia* strains wAlbb and wMel were identified as having the potential to inhibit dengue virus growth in dengue disease and cause cytoplasmic incompatibility in the host.

Conclusion: Various strains of *Wolbachia sp.* were identified in *Aedes sp.* mosquito samples collected from Koto Panjang Muaro Paneh village, Bukit Sundi District, Solok Regency, and

Kabupaten Solok dan Pasia, Kelurahan Kapalo Koto, Kecamatan Pauh, Kota Padang

Kata kunci: *Aedes sp.*, dengue, deteksi molekular, PCR, *Wolbachia sp.*

from Pasia, Kapalo Koto Subdistrict, Pauh District, Padang City.

Keyword: *Aedes sp.*, dengue, molecular detection, PCR, *Wolbachia sp.*

Apa yang sudah diketahui tentang topik ini?

Wolbachia merupakan bakteri endosymbiont yang banyak menginfeksi artropoda.

Apa yang ditambahkan pada studi ini?

Pengembangan lanjutan untuk melihat dan mengetahui interaksi *Wolbachia sp.* dengan vektor lokal sebagai strategi pengendalian biologi DBD di Indonesia.

CORRESPONDING AUTHOR

Phone: +6281267738922

E-mail: hasmiwati65@med.unand.ac.id

ARTICLE INFORMATION

Received: June 9th, 2025

Revised: January 28th, 2026

Available online: March 30th, 2026

Pendahuluan

Demam Berdarah Dengue (DBD) masih menjadi isu kesehatan global dengan kasus yang terus meningkat. Dalam beberapa dekade terakhir, sekitar 50 juta infeksi dengue telah terjadi mengakibatkan tingkat kesakitan dan kematian yang signifikan di berbagai negara.¹ Saat ini, sebanyak 3,9 miliar orang di dunia memiliki resiko terinfeksi virus dengue yang dapat berkembang menjadi DBD. Pada tahun 2023, Wilayah WHO Region of the Americas melaporkan kasus DBD tertinggi secara global, dengan sekitar 4,5 juta kasus dan lebih dari 2.300 kematian. Penyakit ini sekarang menyebar ke lebih dari 100 negara, dengan Asia menyumbang sekitar 70% dari total kasus, tercatat Vietnam dan Indonesia sebagai kontributor utama kasus di kawasan Asia Tenggara. Di Indonesia sendiri, pada tahun 2023 tercatat sekitar 114.720 kasus DBD dengan 894 kematian, menegaskan bahwa dengue masih menjadi masalah kesehatan masyarakat yang signifikan di tingkat global, regional, dan nasional.²

DBD merupakan salah satu bentuk infeksi dengue dengan variasi gejala klinis, dari yang paling ringan, demam dengue (DD), demam berdarah dengue (DBD) dan berakhir demam dengue yang disertai renjatan atau dengue shock syndrome (DSS). Manusia berperan sebagai host alaminya, dengan virus dengue sebagai agent yang termasuk ke dalam genus *Flavivirus* dari *Famili Flaviviridae*, terdiri dari 4 serotipe yaitu DENV-1, DENV-2, DENV-3 dan DENV-4.³ Penularan penyakit terjadi melalui gigitan nyamuk betina yang terinfeksi virus dengue, khususnya nyamuk *Aedes sp.*, yaitu *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus*.⁴ Nyamuk ini tersebar luas di hampir seluruh pelosok Indonesia, kecuali daerah dengan ketinggian lebih dari 1000 meter di atas permukaan laut.⁵

Di Indonesia/ kasus DBD terjadi berimbang pada perempuan (49%) dan laki-laki (51%) dengan mayoritas kasus dialami oleh usia 15-44 tahun. Namun, angka kematian lebih banyak pada perempuan dengan usia 5-14 tahun.⁶ Pada tahun 2022 kasus DBD mencapai 143.000 kasus dengan persentase kasus kematian (*Case Fatality Rate*) dan persentase kasus baru (*Incidence Rate*) mencapai 0,86% dan 52/100.000 penduduk. Lima provinsi dengan kasus DBD tertinggi di Indonesia pada tahun 2022 yaitu Jawa Barat, Jawa Timur, Jawa Tengah, Sumatera Utara, dan DKI Jakarta dengan kasus berjumlah 36.594, 13.189, 12.467, 8.541, dan 8.138 kasus.⁶ Di daerah Sumatera Barat pada tahun 2023, tercatat 1.932 kasus DBD dengan Kota Padang menempati peringkat pertama sebagai daerah di Sumatera Barat dengan Kasus DBD tertinggi (479 kasus) diikuti Kota Pariaman (158 kasus), Kabupaten Pesisir Selatan dan Kabupaten Tanah Datar (masing – masing 149 kasus) dan Kabupaten Solok (120 kasus).⁷

Perbedaan jumlah kasus DBD dipengaruhi oleh faktor iklim, suhu dan kelembapan udara. Peningkatan kelembapan udara berhubungan dengan meningkatnya aktivitas makan nyamuk *Ae. aegypti* yang berdampak pada pertumbuhan populasi nyamuk. Selain itu, kelembapan juga memengaruhi siklus hidup, usia kawin dan penyebaran nyamuk. Suhu secara tidak langsung berkontribusi terhadap jumlah kasus DBD melalui curah hujan, yang berperan sebagai factor perantara dan sulit diukur secara langsung.⁸ Selain faktor lingkungan, peningkatan kasus DBD dipengaruhi oleh perilaku masyarakat serta tingkat kebersihan lingkungan.⁹

Pengendalian penyakit infeksi dengue bergantung pada upaya pengurangan populasi vektor nyamuk *Aedes sp.* yang memerlukan partisipasi aktif masyarakat. Sejak tahun 1980-an,

berbagai upaya nasional telah diterapkan, mulai dari larvasida, *fogging*, penggunaan kelambu, program juru pemantau jentik (JUMANTIK), *communication for behavioral impact* (COMBI), kemudian pemberantasan sarang nyamuk (PSN) sampai dengan gerakan 1 rumah 1 jemantik (G1R1J).⁹ Berbagai penelitian tentang pemberdayaan masyarakat dalam pengendalian vektor nyamuk telah dilakukan, menunjukkan adanya beragam persepsi masyarakat mengenai metode yang dianggap lebih efektif dan disukai dalam pengendalian nyamuk.¹⁰

Pendekatan lain dalam pengendalian vektor adalah metode biologis, yang memanfaatkan organisme sebagai predator alami, seperti ikan, capung atau laba-laba dan organisme yang mampu menghasilkan toksin bakteri, seperti *Bacillus thuringiensis*, *Mesocyclops*.¹¹ Metode biologis lainnya mencakup penggunaan agen patogen seperti protozoa *Ascogregarina culicis*, dan bakteri *Wolbachia sp.*¹²

Bakteri *Wolbachia sp.* merupakan bakteri gram negatif endosimbiotik yang secara alami ditemukan pada sekitar 60% spesies serangga, termasuk nyamuk.¹³ *Wolbachia sp.* dapat memengaruhi siklus hidup, merusak jalur reproduksi, serta menghambat replikasi virus dalam tubuh nyamuk. *Wolbachia sp.* diwariskan secara maternal dan mampu mengubah fenotip reproduksi serangga yang terinfeksi. Fenotip yang dihasilkan bergantung pada spesies serangga dan strain *Wolbachia sp.* yang dapat menyebabkan feminisasi, pembunuhan jantan, partenogenesis serta ketidakcocokan sitoplasma. Ketidakcocokan sitoplasma ini dimanfaatkan dalam penelitian untuk mentransfer *Wolbachia sp.* ke nyamuk *Aedes sp.*, sehingga telur yang dihasilkan dari persilangan betina yang tidak terinfeksi dengan jantan terinfeksi menjadi tidak dapat bertahan, sedangkan betina yang terinfeksi *Wolbachia sp.* tetap dapat bertelur.¹⁴

Di Indonesia, nyamuk *Ae. aegypti* yang mengandung *Wolbachia* strain *wMel* pertama kali dilepaskan di Daerah Istimewa Yogyakarta, khususnya di Kabupaten Bantul dan Sleman. Hal ini diprakasai oleh *Eliminate Dengue Project* (EDP) Global yang berkerjasama dengan sebuah Universitas di Australia. Nyamuk *Ae. Aegypti*. yang dilepaskan merupakan hasil pengembangbiakan di laboratorium dan diharapkan dapat kawin dengan nyamuk *Aedes sp.* lokal, sehingga bakteri *Wolbachia sp.* dapat ditularkan ke generasi

berikutnya. Keturunan dari nyamuk hasil perkawinan ini akan membawa *Wolbachia sp.* dalam tubuhnya, yang berperan dalam menghambat transmisi virus dengue.¹⁵

Penggunaan *Wolbachia wMel* dalam transfeksi *Ae. aegypti* sebagai metode pengendalian vektor terbukti efektif dalam mengurangi bahkan meniadakan keberadaan DENV pada saliva nyamuk.¹³ Penelitian *Aplikasi Wolbachia untuk Eliminasi Dengue* (AWED) yang dilakukan di Yogyakarta membuahkan hasil bahwa nyamuk *Ae. aegypti* yang mengandung *Wolbachia* mampu meminimalkan kasus dengue hingga 77.1% dan menurunkan angka rawat inap akibat dengue sebesar 86%. Berdasarkan hasil penelitian, temuan serupa diberbagai negara lain menerapkan teknologi *World Mosquito Program* (WMP) sebagai pengendalian Dengue yang direkomendasikan oleh WHO *Vector Control Advisory Group* sejak tahun 2021.¹⁶

Penelitian ini akan difokuskan pada deteksi dan identifikasi *Wolbachia sp.* pada nyamuk *Aedes sp.* di dua wilayah dengan iklim yang berbeda di Provinsi Sumatera Barat. Secara umum, wilayah ini memiliki iklim tropik basah yang berdasarkan sistem *Schmidt-Fergusson* dibagi menjadi tiga tipe iklim, yaitu tipe A, B dan C. Penelitian ini akan berfokus pada wilayah dengan tipe iklim A dan C. Tipe iklim A mewakili daerah dengan curah hujan tinggi di wilayah pantai barat, sedangkan tipe iklim C mewakili daerah dengan curah hujan lebih rendah di wilayah lereng timur. Adapun tipe iklim B merupakan tipe peralihan antara tipe A dan C, sehingga tidak dipilih dalam penelitian ini. Pemilihan dua tipe iklim yang kontras tersebut bertujuan untuk melihat variasi keberadaan *Wolbachia sp.* pada nyamuk *Aedes sp.* Sampel pada penelitian ini diambil dari daerah Koto Panjang, Nagari Muaro Paneh, Kecamatan Bukit Sundi, Kabupaten Solok dan Pasia, Kelurahan Kapalo Koto, Kecamatan Pauh, Kota Padang.¹⁷

Metode

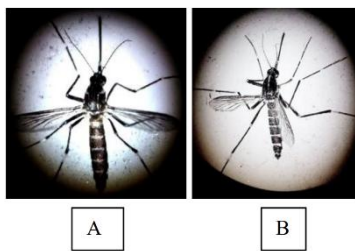
Penelitian ini bersifat eksperimental. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian Hasmiwati. Sampel penelitian diambil dari daerah Koto Panjang, Nagari Muaro Paneh, Kecamatan Bukit Sundi, Kabupaten Solok dan Pasia, Kelurahan Kapalo Koto, Kecamatan Pauh, Kota Padang. Penelitian ini dilakukan dengan penangkapan jentik-jentik atau telur nyamuk *Ae. Aegypti* dan *Ae. albopictus* di daerah penelitian serta dilanjutkan

dengan penelitian di Laboratorium Parasitologi dan Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas yang dilaksanakan pada April tahun 2024 hingga Februari tahun 2025.

Sampel penelitian berupa nyamuk dewasa *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus* yang dipelihara dari telur dan larva nyamuk *Aedes sp.* Jumlah yang digunakan sebanyak 100 nyamuk dewasa *Aedes sp.* (dengan masing-masing 50 nyamuk dewasa *Ae. aegypti* dan 50 *Ae. albopictus* dari 2 wilayah yang berbeda). Minimal sampel 25-30 dipilih karena diversitas frekuensi alel dan heterozigoditas meningkat dengan berkurangnya jumlah sampel.¹⁸

Pengumpulan dan Identifikasi Sampel

Telur, larva dan pupa nyamuk *Aedes sp.* Dikumpulkan menggunakan ovitrap. Jentik nyamuk yang didapatkan dari lapangan tersebut akan dibawa ke laboratorium parasitologi untuk pembiakan. Pembiakan jentik nyamuk tersebut akan ditunggu beberapa hari hingga 1 minggu untuk menjadi nyamuk dewasa. Nyamuk dewasa akan dilakukan identifikasi morfologi.



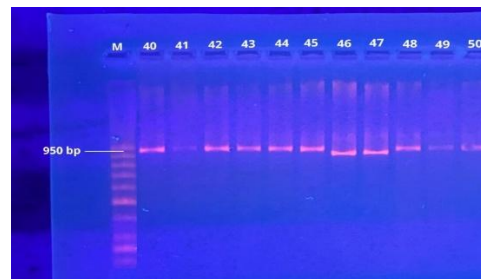
Gambar 1. Perbedaan nyamuk dewasa *Ae. aegypti* (A) dan *Ae. albopictus* (B)¹⁹

Isolasi dan Pengukuran Kemurnian DNA

Nyamuk dewasa *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus* yang telah teridentifikasi diawetkan untuk dijadikan bahan untuk isolasi DNA dengan menyimpannya di freezer pada suhu -20°C. Setiap tabung berisi satu nyamuk dewasa *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus*. Proses isolasi DNA akan dilakukan berdasarkan yang telah ditetapkan dalam protokol kit isolasi GeneJet.²⁰ Hasil isolasi DNA ini akan diukur kemurnian dan konsentrasi dengan nanodrop spektrofotometer 2000. Hasil pengujian kemurniaan DNA yang didapatkan antara 1.2-5.94 ng/µl dengan rerata 1.9 ng/µl dan konsentrasi DNA berkisar antara 1-88.4 ng/µl dengan rerata 12.02 ng/µl. Sampel yang tidak memenuhi kriteria dilihat dari parameter absorbansi 260/280 nm dengan kemurnian nilai dibawah 1.80 dan diatas 2.1 tidak dipilih untuk dilakukan amplifikasi dan sekuensing DNA.²¹

Amplifikasi dan Elektroforesis

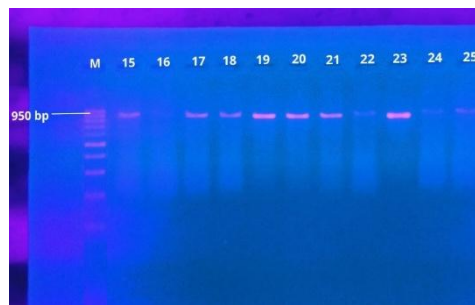
Proses amplifikasi dilakukan untuk memperbanyak DNA suatu sekuens metode PCR konvensional. Desain primer yang telah ditetapkan yaitu WolbF (5'-GAAGATAATGACGGTACTCAC-3') dan WspecR (5'- AGCTTCGAGTGAAACCAATTC-3').²² PCR dijalankan sebanyak 35 siklus. (denaturasi pada 94 °C selama 60 detik, annealing pada 55 °C selama 60 detik, elongation pada 72 °C selama 60 detik dengan final elongation pada 72 °C selama 10 menit).²³ Hasil amplifikasi DNA divisualisasikan dalam bentuk elektroforegram fragmen DNA.²³ Fragmen yang diperoleh berkisar 968 bp dari 100 sampel nyamuk. Hasil keseluruhan visualisasi elektroforegram dari 100 sampel fragmen DNA, didapatkan 40 pita tebal, 36 pita tipis dan 24 sampel tidak ditemukan adanya pita.



Gambar 2.1 Elektroforegram DNA SLK40-SLK50

Keterangan:

M:Marker,	43: SLK43,	47: SLK47,
40: SLK40,	44: SLK44,	48: SLK48,
41: SLK41,	45: SLK45,	49: SLK49,
42: SLK42,	46: SLK46,	50: SLK50



Gambar 2.2 Elektroforegram DNA PDG15-PDG25

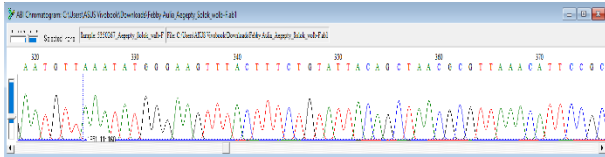
Keterangan:

M:Marker,	18: PDG18,	22: PDG22,
15: PDG15,	19: PDG19,	23: PDG23,
16: PDG16,	20: PDG20,	24: PDG24,
17: PDG17,	21: PDG21,	25: PDG25

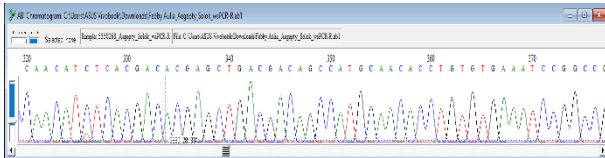
Analisis Data Sekuensing

Sekuensing fragmen DNA dilakukan menggunakan metode PCR di 1st base, Malaysia. Proses ini dilakukan dengan mengirimkan

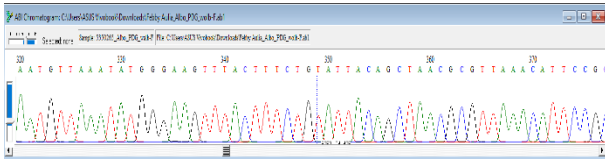
produk PCR dari lokasi penelitian sebanyak 20 µl dengan konsentrasi 25ng/µl dari kode sampel SLK46 dan PDG23. Sekuensing dijalankan secara *one read direction* menggunakan primer WolbF dan WespcR. Hasil sekuensing kemudian diedit dan disusun menjadi kontig menggunakan program *BioEdit*. *Chromatogram* menunjukkan jarak puncak yang konsisten, tanpa adanya puncak heterozigot yang ditandai dengan huruf H. Hal ini menunjukkan hasil sekuensing yang diperoleh adalah berkualitas baik.



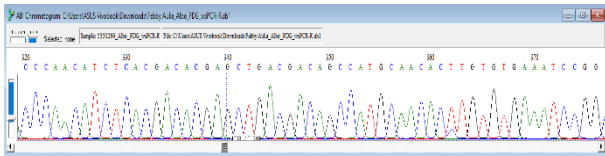
A = SLK46 (*forward*)



B = SLK46 (*reverse*)



C = PDG23 (*forward*)

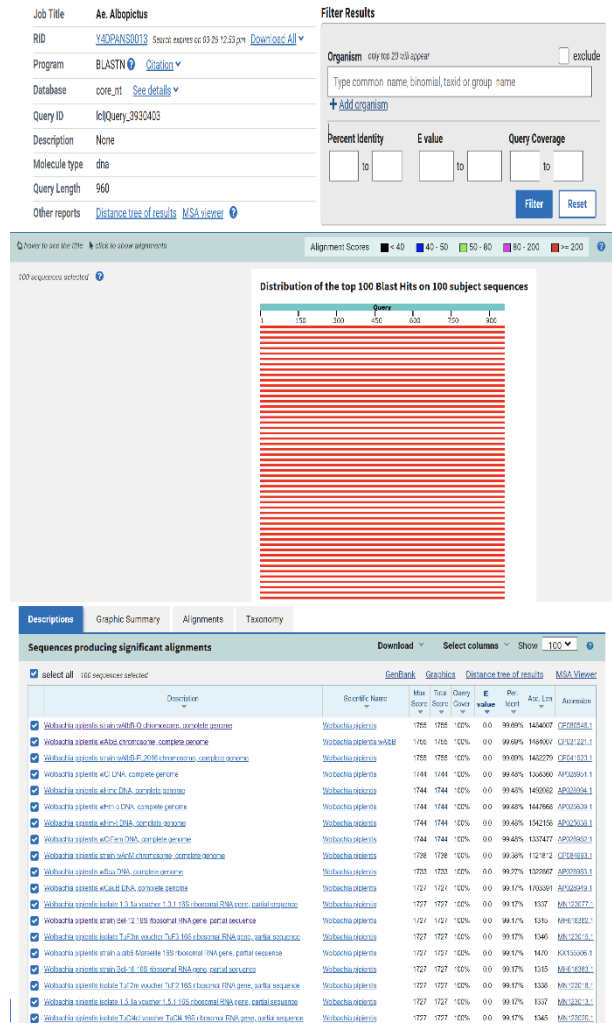


D = PDG23 (*reverse*)

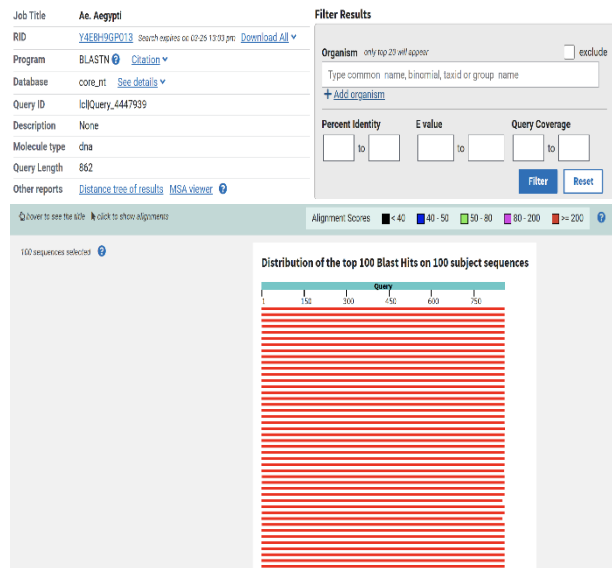
Gambar 3.1 *Chromatogram* hasil sekuensing SLK46 dan PDG23 (sumber: Program BioEdit)

Identifikasi Spesies (Hasil BLAST)

Identifikasi spesies dilakukan dengan menganalisis data menggunakan program *Nucleotide BLAST* (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) yang terdapat di NCBI. Rerata cakupan *query cover* untuk setiap sampel adalah 100% dan *percent identity* mencapai 98.38-99.69% per individu. Hasil analisis menunjukkan bahwa semua sampel yang diuji merupakan nyamuk *Ae. albopictus* dan *Ae. aegypti* yang terdeteksi positif mengandung *Wolbachia sp.* dengan jenis strain yang berbeda.



Gambar 3.1 Hasil BLAST *Ae. Albopictus* PDG23 pada program NCBI



Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E-value	Percent Ident	Accession
Wolbachia sp. strain 'ES_054', partial cytochrome oxidase subunit I, DNA	Wolbachia sp. strain 'ES_054'	1568	1568	100%	0.0	99.94%	EF075124.1
Wolbachia sp. strain 'Wolbachia', chromosome	Wolbachia sp. strain 'Wolbachia'	1534	1534	100%	0.0	99.91%	U95944 (CP026301.1)
Wolbachia sp. strain 'Wolbachia', chromosome	Wolbachia sp. strain 'Wolbachia'	1524	1524	100%	0.0	99.91%	U95944 (CP026301.1)
Wolbachia sp. strain '195', chromosome 204, partial sequence	Wolbachia sp. strain '195'	1520	1520	100%	0.0	99.93%	AY049219.1
Wolbachia sp. strain '195', chromosome 204, partial sequence	Wolbachia sp. strain '195'	1520	1520	100%	0.0	99.93%	AY049219.1
Wolbachia sp. strain 'Wolbachia', complete genome	Wolbachia sp. strain 'Wolbachia'	1519	1519	100%	0.0	99.89%	U95944 (CP026301.1)
Wolbachia sp. strain 'Wolbachia', complete genome	Wolbachia sp. strain 'Wolbachia'	1519	1519	100%	0.0	99.89%	U95944 (CP026301.1)
Wolbachia sp. strain '195', chromosome 204, partial sequence	Wolbachia sp. strain '195'	1519	1519	100%	0.0	99.89%	U95944 (CP026301.1)
Wolbachia sp. strain '195', chromosome 204, partial sequence	Wolbachia sp. strain '195'	1519	1519	100%	0.0	99.89%	U95944 (CP026301.1)
Wolbachia sp. strain 'Wolbachia', complete genome	Wolbachia sp. strain 'Wolbachia'	1519	1519	100%	0.0	99.89%	U95944 (CP026301.1)
Wolbachia sp. strain 'Wolbachia', complete genome	Wolbachia sp. strain 'Wolbachia'	1519	1519	100%	0.0	99.89%	U95944 (CP026301.1)
Wolbachia sp. strain '195', chromosome 204, partial sequence	Wolbachia sp. strain '195'	1515	1515	100%	0.0	99.98%	U95944 (CP026301.1)
Wolbachia sp. strain '195', chromosome 204, partial sequence	Wolbachia sp. strain '195'	1515	1515	100%	0.0	99.98%	U95944 (CP026301.1)
Wolbachia sp. strain '195', chromosome 204, partial sequence	Wolbachia sp. strain '195'	1515	1515	100%	0.0	99.98%	U95944 (CP026301.1)
Wolbachia sp. strain '195', chromosome 204, partial sequence	Wolbachia sp. strain '195'	1515	1515	100%	0.0	99.98%	U95944 (CP026301.1)
Wolbachia sp. strain '195', chromosome 204, partial sequence	Wolbachia sp. strain '195'	1515	1515	100%	0.0	99.98%	U95944 (CP026301.1)
Wolbachia sp. strain '195', chromosome 204, partial sequence	Wolbachia sp. strain '195'	1515	1515	100%	0.0	99.98%	U95944 (CP026301.1)
Wolbachia sp. strain '195', chromosome 204, partial sequence	Wolbachia sp. strain '195'	1515	1515	100%	0.0	99.98%	U95944 (CP026301.1)
Wolbachia sp. strain '195', chromosome 204, partial sequence	Wolbachia sp. strain '195'	1515	1515	100%	0.0	99.98%	U95944 (CP026301.1)
Wolbachia sp. strain '195', chromosome 204, partial sequence	Wolbachia sp. strain '195'	1515	1515	100%	0.0	99.98%	U95944 (CP026301.1)
Wolbachia sp. strain '195', chromosome 204, partial sequence	Wolbachia sp. strain '195'	1515	1515	100%	0.0	99.98%	U95944 (CP026301.1)
Wolbachia sp. strain '195', chromosome 204, partial sequence	Wolbachia sp. strain '195'	1515	1515	100%	0.0	99.98%	U95944 (CP026301.1)
Wolbachia sp. strain '195', chromosome 204, partial sequence	Wolbachia sp. strain '195'	1515	1515	100%	0.0	99.98%	U95944 (CP026301.1)
Wolbachia sp. strain '195', chromosome 204, partial sequence	Wolbachia sp. strain '195'	1515	1515	100%	0.0	99.98%	U95944 (CP026301.1)

Gambar 3.2 Hasil BLAST *Ae. Albopictus* PDG23 pada program NCBI

Pembahasan

Pengumpulan dan Identifikasi Sampel

Pengumpulan sampel dilakukan dengan menggunakan ovitrap pada daerah rumah, kebun, masjid. Sampel yang telah dikumpulkan dibawa ke laboratorium Parasitologi untuk pemantauan dan identifikasi morfologi.

Identifikasi sampel nyamuk dilakukan menggunakan metode pengamatan morfologi secara mikroskopis pada larva dan nyamuk dewasa *Aedes sp.* Hasil Identifikasi didapatkan sampel yang telah dikumpulkan merupakan larva dan nyamuk *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus*. Pada segmen ke-8 larva *Ae. aegypti* akan ditemukan *comb teeth* dengan geligi yang berkembang baik, sedangkan pada larva *Ae. albopictus* akan ditemukan *comb teeth* dengan ujung runcing dan tajam tanpa geligi basal yang berkembang dengan baik.²⁴ Nyamuk dewasa *Ae. aegypti* memiliki dua garis putih yang melingkari sisi belakang toraks, sedangkan *Ae. albopictus* terdapat pola putih di sisi dorsal yang berbentuk garis lurus tunggal.²⁵

Isolasi dan Kemurnian DNA

Pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA hasil isolasi dilakukan dengan menggunakan *Nanodrop Spektrofotometer*. Hasil pengujian kemurnian DNA sampel yang didapatkan antara 1.2-5.94 ng/μl dengan rerata 1.9 ng/μl dan konsentrasi DNA berkisar antara 1-88.4 ng/μl dengan rerata 12.02 ng/μl. Purin dan pirimidin dari DNA murni dapat menyerap cahaya ultraviolet (UV) pada 260 nm, sedangkan protein dan kontaminan lainnya menyerap cahaya UV dapat menyerap pada 280 nm. Hasil uji kuantitatif dilihat

dari parameter absorbansi 260/280 nm dan dapat berkisar antara 1,8-2,1. Nilai 2,1 menandakan DNA semakin murni sedangkan nilai kurang dari 1,8 menandakan terdapat protein lain atau kontaminan.²¹

Ampifikasi dan Elektroforesis

DNA yang sudah diisolasi dan diukur konsentrasi serta kemurnian dilakukan amplifikasi PCR, dengan tahapan denaturasi untuk memisahkan kedua ikatan hydrogen, *annealing* untuk penempelan pada untai DNA spesifik dan Ekstensi untuk memperpanjang primer dan mensintesis DNA baru sesuai dengan urutan target.²⁶ Hasil amplifikasi DNA divisualisasikan menggunakan elektroforesis gel agarose dalam bentuk elektroforegram fragmen DNA. DNA bermuatan negatif karena gugus fosfatnya, saat diberikan medan listrik, DNA akan bergerak menuju elektroda positif (*anoda*). Fragmen DNA yang lebih kecil bergerak lebih cepat, sedangkan fragmen yang lebih besar bergerak lebih lambat melalui pori-pori gel agarosa. Hasil elektroforesis diamati dibawah UV Transilluminator untuk melihat pita DNA.²⁷

Hasil keseluruhan visualisasi elektroforegram dari 100 sampel fragmen DNA, didapatkan sebanyak 40 sampel dengan hasil visualisasi pita tebal, 36 sampel pita tipis dan 24 sampel tidak ditemukan adanya pita. Pita tebal menandakan konsentrasi DNA tinggi, amplifikasi berhasil optimal, DNA target berlimpah, PCR berjalan efisien, *Wolbachia sp.* yang diteliti terkandung positif. Sedangkan pita tipis kemungkinan menandakan konsentrasi DNA yang rendah, amplifikasi kurang optimal, DNA target sedikit, efisiensi PCR rendah, enzim *Taq polymerase* lemah, jumlah siklus kurang, atau telah terjadi degradasi DNA. Serta tidak adanya pita menginterpretasikan kemungkinan amplifikasi gagal, kesalahan dalam reaksi PCR, konsentrasi DNA terlalu rendah, *Wolbachia sp.* yang diteliti terkandung negatif²⁸

Hasil Sekuensing

DNA yang diambil untuk dilakukan sekuensing merupakan hasil terbaik dari amplifikasi yang sudah divisualisasi. Sekuensing dilakukan pada sampel DNA dengan kode SLK46 dari sampel *Ae. aegypti* dan PDG23 dari sampel *Ae. Albopictus*. Semua sampel kemudian dikirim ke *1st Base, Malaysia*.

Hasil Analisis Blast

Analisis BLAST yang dilakukan pada *website* NCBI, dengan melihat *graphic summary*

description table dan *alignment detail* Berdasarkan hasil analisis, terkonfirmasi adanya *Wolbachia sp.* pada nyamuk *Aedes* dari dua wilayah penelitian. Nyamuk *Ae. albopictus* yang berasal dari Kota Padang teridentifikasi mengandung *Wolbachia pipientis* strain *wAlbB*, sedangkan *Ae. aegypti* dari Kabupaten Solok teridentifikasi mengandung strain *wMel*. Ditemukannya strain *Wolbachia* yang berbeda pada wilayah dengan kondisi iklim yang berbeda sejalan dengan penelitian sebelumnya, yang menyatakan bahwa distribusi strain *Wolbachia* dipengaruhi oleh faktor lingkungan serta proses evolusi inang.²⁹

Hasil BLAST menunjukkan *Wolbachia pipientis wAlbB* pada *Ae. albopictus* mengandung *genetic identities* sebesar 99.38% dengan e-value 0.0, sedangkan *Wolbachia pipientis wMel* pada *Ae. aegypti* mengandung *genetic identities* 98.38% dengan e-value 0.0. Dimana percentage *genetic identities* menginterpretasikan berapa persen tingkat kecocokan dan nilai e-value yang semakin rendah menginterpretasikan semakin signifikan.

Penelitian yang dilakukan oleh Iqra *et al.*, menjelaskan mekanisme *Wolbachia sp.* dalam menghambat replikasi virus dalam tubuh nyamuk, yaitu dengan bersaing dengan virus dalam mengambil nutrisi sumber daya sel inang, sehingga virus dengue akan lebih sulit berkembang, kemudian *Wolbachia sp.* mampu meningkatkan aktivitas sistem imun bawaan nyamuk, dengan mengaktifkan dari jalur *Toll* dan *IMD* (Immune Deficiency), yang membuat nyamuk lebih resisten terhadap infeksi virus. Studi ini juga menemukan bahwa *Wolbachia sp.* dapat mengubah metabolisme lipid dan kolesterol dalam sel nyamuk, yang berdampak pada penghambatan replikasi virus. *Wolbachia sp.* dapat memengaruhi ekspresi enzim metiltransferase inang, yang mengubah pola metilasi RNA virus dan menghambat replikasinya.³⁰

Keberadaan *Wolbachia sp.* diketahui dapat menginfeksi berbagai spesies nyamuk dan memiliki potensi untuk menghambat replikasi virus dengue dalam tubuh nyamuk vektor dengue, sehingga mengurangi kemampuan nyamuk dalam menularkan virus tersebut.³¹ Penelitian yang dilakukan oleh Jernigan *et al.* di Negara Malaysia, pelepasan nyamuk *Ae. albopictus* yang mengandung *Wolbachia sp.* strain *wAlbB*, menunjukkan terjadinya

penurunan insiden demam berdarah sebesar 40% diamati di lokasi pelepasan dibandingkan dengan 19 lokasi kontrol yang sesuai (95% CI 5-65).³² Dengan demikian, keberadaan strain ini di alam dapat berkontribusi dalam pengendalian populasi nyamuk vektor secara alami dan pengendalian dengue.

Pada populasi nyamuk *Ae. albopictus* secara alamiah membawa dua jenis bakteri *Wolbachia sp.* yaitu strain *wAlbA* dan *wAlbB*. Hasil Penelitian ditemukan *Ae. albopictus* dari wilayah Padang dengan kode sampel PDG23 mengandung *Wolbachia pipientis* strain *wAlbB*. Strain ini mampu menyebabkan Inkompatibilitas Sitoplasmik, yaitu menyebabkan telur tidak menetas jika jantan terinfeksi kawin dengan betina yang tidak terinfeksi, dapat menghambat pertumbuhan nyamuk, sehingga memiliki umur lebih singkat dari normalnya, serta dapat menghambat replikasi virus dengue dalam tubuh nyamuk, sehingga mengurangi kemampuan nyamuk untuk menularkan virus.³³ Strain *wAlbB* lebih banyak digunakan dalam proyek pelepasan nyamuk untuk menghambat penularan virus pada *Ae. albopictus*, dibandingkan strain *wAlbA*. Strain *wAlbB* juga lebih tahan terhadap suhu tinggi dibandingkan *wMel*, lebih stabil dalam kondisi tropis.

Pada sampel nyamuk *Ae. aegypti* dari Solok dengan kode sampel SLK46, ditemukan adanya *Wolbachia pipientis* strain *wMel*. Infeksi alami *Wolbachia sp.* pada *Ae. aegypti* jarang terjadi. Strain *wMel* memiliki karakteristik unik, yang biasanya ditemukan pada inang alami dari *Drosophila melanogaster*. *Wolbachia* strain *wMel* juga telah diintroduksi ke dalam populasi *Ae. aegypti* sebagai strategi untuk mengurangi penyebaran penyakit yang ditularkan oleh nyamuk, seperti demam berdarah dengue. Beberapa studi menunjukkan bahwa nyamuk *Ae. aegypti* yang terinfeksi *wMel* mengalami penurunan tingkat infeksi dan transmisi virus dengue secara signifikan dibandingkan dengan nyamuk yang tidak terinfeksi.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Utarini *et al.* menunjukkan *Wolbachia* strain *wMel* yang telah ditransformasikan pada nyamuk mampu beradaptasi secara stabil dalam jaringan *Ae. aegypti*, termasuk ovarium, usus, dan kelenjar ludah. Hal ini berpengaruh pada pola penurunan *Wolbachia* yaitu secara vertikal (dari induk ke keturunan) yang harus ditemukan pada kalenjer

ludah nyamuk agar dapat memblokir virus sebelum ditularkan pada manusia. Strain *wMel* juga mengganggu lingkungan seluler nyamuk melalui Peningkatan reaktif oksigen (*ROS*), Gangguan metabolisme lipid dan kolesterol dan Aktivasi jalur imun nyamuk yang dapat menciptakan lingkungan yang tidak ramah bagi virus dengue, sehingga menghambat replikasinya.³⁴

Faktor lingkungan seperti suhu, kelembaban, dan tekanan juga dapat memengaruhi stabilitas infeksi *Wolbachia sp.* dalam populasi nyamuk. Penelitian sebelumnya menemukan bahwa suhu yang lebih tinggi dapat menurunkan densitas *Wolbachia sp.*, yang berpotensi memengaruhi efektivitasnya dalam menekan virus.³⁵ Implikasi dari temuan ini sangat penting dalam strategi pengendalian vektor berbasis agent biologi.

Simpulan

Kesimpulan dari penelitian ini ialah hasil Deteksi molekular dengan metode PCR berhasil mengidentifikasi keberadaan *Wolbachia sp.* pada nyamuk *Aedes sp.* yang diperoleh dari daerah Kota Padang dan Kab. Solok. Dan Hasil analisis BLAST terhadap sekuens DNA sampel menunjukkan terdeteksi dan teridentifikasi *Wolbachia sp.* pada vektor dengue nyamuk *Aedes sp.* dengan jenis strain yang berbeda, *Ae. albopictus* dari sampel Kota Padang teridentifikasi dengan *Wolbachia pipiens* strain *wAlbB*, sementara *Ae. aegypti* dari daerah Kabupaten Solok teridentifikasi dengan *Wolbachia pipiens* strain *wMel*.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada semua pihak yang telah turut membantu dalam menyelesaikan dan menyempurnakan penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Sutriyawan A, Herdianti H, Cakranegara PA, Lolan YP, Sinaga Y. Predictive index using receiver operating characteristic and trend analysis of dengue hemorrhagic fever incidence. *Open Access Maced J Med Sci*. 2022;10(E):681-7. doi:10.3889/oamjms.2022.8975.
- World Health Organization. Dengue and severe dengue [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2025 [cited 2024 Apr 21]. Available from: WHO Newsroom.
- Wardhani P, Yohan B, Tanzilia M, Sunari EP, Wrahatnala BJ, Hakim FKN, et al. Genetic characterization of dengue virus 4 complete genomes from East Java, Indonesia. *Virus Genes*. 2023;59(1):36-44. doi:10.1007/s11262-022-01942-4.
- Supardan D. Pemetaan distribusi vektor virus dengue di Kota Mataram berbasis geographic information systems (GIS). *Celebes Biodiversitas*. 2019:32-41.
- Harahap RS, Pratama MR, Siregar PA, Purba FA. Analisis pengetahuan masyarakat sekitar tentang penyakit demam berdarah dengue (DBD). *J Kesehat*. 2023;1(1):25-35.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Laporan tahunan 2022 demam berdarah dengue [Internet]. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI; 2022 [cited 2024 Apr 21]. 37 p. Available from: Direktorat P2P Kemenkes RI.
- Badan Pusat Statistik Provinsi Sumatera Barat. Kasus penyakit menurut kabupaten/kota dan jenis penyakit di Provinsi Sumatera Barat, 2023 [Internet]. Padang: BPS Provinsi Sumatera Barat; 2023 [cited 2024 Apr 21]. Available from: Tabel Statistik BPS Sumatera Barat.
- Yanto NP. Hubungan iklim terhadap peningkatan kasus demam berdarah dengue (DBD) di Kota Denpasar. *J Kesehat Lingkung*. 2022;12(2):114-24. doi:10.33992/jkl.v12i2.2291.
- Sulistyawati. Dengue prevention and control in Indonesia: a case study in Yogyakarta City [thesis on the Internet]. Umeå: Umeå University; 2020 [cited 2024 Apr 21]. Available from: DiVA Portal.
- Faizah A, Suryawati C, Fatmasari EY. Evaluasi pelaksanaan program pengendalian penyakit demam berdarah dengue (P2DBD) di Puskesmas Mojosongo Kabupaten Boyolali tahun 2018. *J Kesehat Masy*. 2018;6(5):13-25. doi:10.14710/jkm.v6i5.21969.
- Sulistiawati, Mas'ulun MJ, Ramadhany AK, Hanafie AN, Alfiani RF, Husnah SE, et al. Effectiveness of the *Aedes aegypti* mosquito vector control program in Southeast Asia - a systematic review. *Pharmacogn J*. 2023;15(5):969-75. doi:10.5530/pj.2023.15.180.
- Sucahyo N. UGM rintis pemberantasan demam berdarah dengan *Wolbachia* [Internet]. VOA Indonesia. 2016 [cited 2024 Apr 21]. Available from: VOA Indonesia.
- Ye YH, Carrasco AM, Frentiu FD, Chenoweth SF, Beebe NW, van den Hurk AF, et al. *Wolbachia* reduces the transmission potential of dengue-infected *Aedes aegypti*. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9(6):e0003894. doi:10.1371/journal.pntd.0003894.
- Chen H, Zhang M, Hochstrasser M. The biochemistry of cytoplasmic incompatibility caused by endosymbiotic bacteria. *Genes (Basel)*. 2020;11(8):852. doi:10.3390/genes11080852.
- Irfandi A. Kajian pemanfaatan *Wolbachia* terhadap pengendalian DBD (studi literatur dan studi kasus pemanfaatan *Wolbachia* di Yogyakarta). *Forum Ilm*. 2018;15(2):276-89.
- Grehenson G. Pakar UGM: nyamuk *Wolbachia* aman bagi manusia dan mampu menurunkan kasus DBD [Internet]. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada; 2023 [cited 2024 Apr 21]. Available from: Inovasi Teknologi UGM.
- Bappeda Kota Padang. Gambaran umum kondisi daerah Sumatera Barat [Internet]. Padang: Bappeda Kota Padang; 2022 [cited 2024 Apr 21]. Available from: Bappeda Kota Padang.
- Hale ML, Burg TM, Steeves TE. Sampling for microsatellite-based population genetic studies: 25 to 30 individuals per population is enough to accurately estimate allele frequencies. *PLoS One*. 2012;7(9):e45170.

- doi:10.1371/journal.pone.0045170.
19. Zen S, Sutanto A. Identifikasi jenis kontainer dan morfologi nyamuk *Aedes* sp di lingkungan SD Aisyiah Kecamatan Metro Selatan Kota Metro. In: Prosiding Seminar Nasional Pendidikan FKIP; 2017. p. 476.
 20. Thermo Fisher Scientific. GeneJET PCR Purification Kit user guide [Internet]. Vilnius: Thermo Fisher Scientific; 2015 [cited 2022 Nov]. Available from: Thermo Fisher Scientific.
 21. Fatchiyah, Arumingtyas EL, Widyarti S, Rahayu S. Biologi molekular: prinsip dasar analisis. Jakarta: Erlangga; 2011.
 22. Zhou W, Rousset F, O'Neill SL. Phylogeny and PCR-based classification of *Wolbachia* strains using wsp gene sequences. *Proc Biol Sci.* 1998;265(1395):509-15. doi:10.1098/rspb.1998.0324.
 23. Hasmiwati, Supargiyono. Short communication: genotyping of kdr allele in insecticide resistant-*Aedes aegypti* populations from West Sumatra, Indonesia. *Biodiversitas.* 2018;19(2):552-8. doi:10.13057/biodiv/d190225.
 24. Muhammad S, Apriyanto, Hardiyanti S. Identifikasi larva nyamuk sebagai vektor penyakit di tempat penampungan air Rumah Sakit Umum Daerah Abunawas Kota Kendari. *J Analis Kesehat Kendari.* 2022;5(1):11-16. doi:10.46356/jakk.v5i1.216.
 25. Service MW. Introduction to mosquitoes (Culicidae). In: *Medical entomology for students.* 4th ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2008. p. 1-32.
 26. Wilson K, Walker J, editors. *Principles and techniques of biochemistry and molecular biology.* 8th ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2018.
 27. Green MR, Sambrook J. The basic polymerase chain reaction (PCR). *Cold Spring Harb Protoc.* 2018;2018(5):pdb.prot095117. doi:10.1101/pdb.prot095117.
 28. Buckner CA, Lafrenie RM, Dénomée JA, Caswell JM, Want DA, Gan GG, et al. Polymerase chain reaction [Internet]. London: IntechOpen; 2016 [cited 2025 Feb 18]. Available from: IntechOpen.
 29. Mondal S, Somani J, Roy S, Babu A, Pandey AK. Insect microbial symbionts: ecology, interactions, and biological significance. *Microorganisms.* 2023;11(11):2665. doi:10.3390/microorganisms11112665.
 30. Mushtaq I, Sarwar MS, Munzoor I. A comprehensive review of *Wolbachia*-mediated mechanisms to control dengue virus transmission in *Aedes aegypti* through innate immune pathways. *Front Immunol.* 2024;15:1434003. doi:10.3389/fimmu.2024.1434003.
 31. Mousson L, Zouache K, Arias-Goeta C, Raquin V, Mavingui P, Failloux AB. The native *Wolbachia* symbionts limit transmission of dengue virus in *Aedes albopictus*. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012;6(12):e1989. doi:10.1371/journal.pntd.0001989.
 32. Paz-Bailey G, Jernigan DB, Laserson K, Zielinski-Gutierrez E, Petersen L. New solutions against the dengue global threat: opportunities for *Wolbachia* interventions. *Int J Infect Dis.* 2025;157:107923. doi:10.1016/j.ijid.2025.107923.
 33. Ahmad NA, Vythilingam I, Lim YAL, Zabari NZAM, Lee HL. Detection of *Wolbachia* in *Aedes albopictus* and their effects on chikungunya virus. *Am J Trop Med Hyg.* 2017;96(1):148-56. doi:10.4269/ajtmh.16-0516.
 34. Utarini A, Indriani C, Ahmad RA, Tantowijoyo W, Arguni E, Ansari MR, et al. Efficacy of *Wolbachia*-infected mosquito deployments for the control of dengue. *N Engl J Med.* 2021;384(23):2177-86. doi:10.1056/NEJMoa2030243.
 35. Febrianti ITD. Faktor yang mempengaruhi efektivitas nyamuk *Aedes aegypti* terinfeksi *Wolbachia* dalam pengendalian demam berdarah dengue di negara tropis: studi literatur [preprint on the Internet]. 2022 [cited 2024 Apr 21]