

ANALISIS SPASIAL DAN DETEKSI TRANSMISI TRANSOVARIAL VIRUS DENGUE PADA NYAMUK *Aedes Aegypti* DESA CIKUYA DAN PAREREJA DI WILAYAH KERJA PUSKESMAS BANJARHARJO, KECAMATAN BANJARHARJO, KABUPATEN BREBES, PADA TAHUN 2020

[*Spatial Analysis and Detection of Transovarial Transmission of Dengue Virus in Aedes aegypti Mosquitoes in Cikuya and Parereja Villages in the Work Area of the Banjarharjo Public Health Center, Banjarharjo District, Brebes Regency, in 2020*]

Siti Asiyah Fitria Amin ^{1✉*}, Budi Mulyaningsih ¹, dan Sitti Rahmah Umniyati ¹

¹Program Studi Ilmu Kedokteran Tropis, Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan, Universitas Gadjah Mada, Jalan Farmako, Senolowo, Sekip Utara, Kecamatan Depok, Kabupaten Sleman, DIY

*Email: siti.asiyah.fitria@mail.ugm.ac.id

ABSTRACT

Indonesia is a tropical country and a breeding place for the *Aedes aegypti* mosquitoes, which serve as vectors of dengue virus. Dengue virus transmission can occur since from the mosquitoes are still in the form of eggs, which is called transovarial transmission. Dense populations can make the spread of Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) more intensive as close proximity of houses makes it easier for the mosquitoes to spread the virus. The research was conducted in Parereja and Cikuya villages, which are high endemic areas of DHF. The study was conducted descriptively and observationally using a cross sectional design to analyze the pattern of DHF cases based on the Average Nearest Neighbor (ANN) analysis and to detect the presence of dengue virus transovarial transmission using immunocytochemistry method and real time PCR. The results showed a pattern of clustered DHF cases, especially in densely populated areas with an average distance of 100,616 meters between cases. The Transovarial Transmission Index (TTI) rate in Parereja Village was 13.3%, obtained from the immunocytochemistry detection method, and the Cq (*Cycle quantity*) value was 33.88 < NTC (*Not Template Control*) 35.74 obtained from the real time PCR method. Meanwhile, in Cikuya Village, the TTI value was 0% and the Cq value was 38.78 > NTC 35.74. It can be concluded that the distribution pattern of dengue cases was clustered, especially in densely populated areas, and the transovarial virus transmission was likely to occur.

Keywords: Transovarial transmission, spatial analysis, immunocytochemistry, real time PCR

ABSTRAK

Indonesia termasuk negara tropis sekaligus negara endemis tinggi penyakit Demam Berdarah Dengue. Nyamuk *Ae. aegypti* merupakan salah satu vektor virus dengue. Penularan virus dengue dapat terjadi dimulai dari fase nyamuk masih dalam bentuk telur yang dinamakan penularan secara transmisi transovarial. Kepadatan penduduk yang tinggi dapat membuat penyebaran penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) lebih intensif karena jarak rumah yang berdekatan memudahkan nyamuk menyebarkan virus dengue. Penelitian ini dilakukan di Desa Parereja dan Cikuya yang merupakan daerah endemis tinggi DBD. Pengambilan sampel dilakukan di wilayah yang padat dan jarang penduduknya. Penelitian dilakukan secara *observasional deskriptif* menggunakan desain *cross sectional* untuk menganalisis pola sebaran kasus DBD berdasarkan analisis *Average Nearest Neighbor* (ANN). Pendeteksian transmisi transovarial virus dengue dilakukan dengan metode imunositokimia dan *real time* PCR. Hasil penelitian menunjukkan pola sebaran kasus DBD adalah berkerumun terutama di daerah padat penduduk dengan jarak rata-rata antar kasus adalah 100,616 meter. Angka *Indeks Transmisi Transovarial* (ITT) di Desa Parereja adalah 13,3% yang diperoleh dari metode deteksi imunositokimia dan nilai Cq 33,88 < NTC (*Not Template Control*) 35,74 diperoleh dari metode *real time* PCR. Sedangkan di Desa Cikuya nilai ITT 0% dan Cq 38,78 > NTC 35,74. Sebagai kesimpulan pola sebaran kasus DBD berkerumun terutama dijumpai di daerah yang padat penduduknya dan transmisi transovarial virus berpotensi terjadi.

Kata Kunci: Transmisi transovarial, analisis spasial, imunositokimia, *real time* PCR

PENDAHULUAN

Indonesia termasuk negara tropis sekaligus negara endemis tinggi penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD). Nyamuk *Aedes aegypti* merupakan salah satu vektor virus Dengue penyebab penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD). Demam Berdarah Dengue telah menjadi epidemi selama tiga abad terakhir di wilayah yang mempunyai iklim tropis, termasuk Indonesia (WHO, 2011). Indonesia menjadi negara dengan angka kematian

tertinggi akibat kasus demam berdarah di kawasan sekitar Asia Tenggara. Jumlah kematian DBD di Indonesia pada tahun 2019 adalah 917 orang dengan jumlah penderita sebanyak 137.761 (Kemenkes RI, 2019).

Penularan virus dengue dapat terjadi dimulai dari fase nyamuk masih dalam bentuk telur. Penularan virus dengue dari fase telur dinamakan penularan secara transovarial (Septiani *et al.*, 2015). Penularan transovarial yaitu transmisi vertikal yang

*Kontributor Utama

*Diterima: 23 Oktober 2021 - Diperbaiki: 2 Agustus 2022 - Disetujui: 2 Agustus 2022

merupakan penyebaran patogen dari induk ke anak. Penelitian tentang transmisi transovarial virus dengue pertamakali dilakukan di Indonesia menggunakan metode *Imunositokimia Streptavidin Biotin Peroxidase Complex* (ISBPC) pada sediaan pencet kepala (*head squash*) nyamuk. Nyamuk *Ae. aegypti* didapat dari hasil koloni pupa dan larva yang diperoleh dari sumur di Kelurahan Klitren Yogyakarta. Teknik ini bersifat kualitatif tetapi dikenal sangat sensitif dan dapat dipercaya (Mardihusodo *et al.*, 2007). Begitu juga telah ditemukan adanya transmisi virus dengue secara transovarial di daerah Pantai Kenya, Afrika Timur menggunakan deteksi *real time* PCR. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa daerah pedesaan yang dekat dengan pantai lebih berpotensi untuk terjadinya penularan transovarial virus dengue dibandingkan daerah kota (Heath *et al.*, 2020).

Daerah Brebes merupakan salah satu wilayah endemis di Jawa Tengah. Salah satu kecamatan dengan jumlah DBD tertinggi di Brebes yaitu di Kecamatan Banjarharjo. Data Puskesmas Banjarharjo (2020) menunjukkan ada 46 kasus yang positif DBD di wilayah kerja Puskesmas Banjarharjo dengan tempat tinggal penderita yang tersebar di beberapa desa, termasuk Desa Cikuya dan Parereja. Kepadatan penduduk yang tinggi dapat membuat penyebaran penyakit DBD lebih cepat karena jarak rumah yang berdekatan memudahkan nyamuk menyebarkan virus dengue dari satu orang ke orang lain yang ada di sekitarnya (Lestari, 2017). Parereja termasuk desa yang padat penduduknya di wilayah kerja Puskesmas Banjarharjo dengan tingkat kepadatan 1.637 jiwa/km² dan memiliki angka kasus DBD yang tinggi dibandingkan dengan desa yang padat penduduk lainnya. Sedangkan Cikuya merupakan desa yang jarang penduduknya dengan tingkat kepadatan 9,87 km², namun kasus DBDnya termasuk urutan yang cukup tinggi di wilayah kerja Puskesmas Banjarharjo pada tahun 2020 (BPS, 2019). Pekarangan kosong yang tidak terawat dapat menjadi tempat perkembangbiakan nyamuk dan Cikuya termasuk desa yang banyak pekarangan kosongnya (Dewi *et al.*, 2018)

Faktor-faktor yang ada di area distribusi kasus DBD seperti suhu dan kelembaban berperan dalam terjadinya transmisi virus dengue (Sunardi, 2018). Informasi yang menyeluruh diperlukan untuk pengendalian yang efektif dan efisien. Kemampuan analisis menggunakan Sistem Informasi Geografi (SIG) dapat membantu menggambarkan kondisi kejadian kasus DBD yang sudah terjadi dan dapat mengetahui risiko yang mungkin terjadi karena adanya pola persebaran tertentu. Pemetaan spasial dengan analisis *cluster* adalah salah satu metode yang baik untuk menunjukkan pola persebaran

spasial kasus DBD di tempat dan waktu yang spesifik. SIG dan analisis yang menyertainya adalah alat yang penting dalam epidemiologi (Atique *et al.*, 2018).

Inovasi dalam upaya pengendalian terutama pengamatan vektor terkait kerentanaan nyamuk *Ae. aegypti* terhadap virus dengue termasuk pengamatan transmisi transovarial virus dengue sebagai penyebab penyakit demam berdarah diperlukan (Widiarti *et al.*, 2009). Sampai saat ini penelitian analisis spasial dan deteksi transmisi transovarial virus dengue pada nyamuk *Ae. aegypti* di Desa Cikuya dan Parereja Kecamatan Banjarharjo Brebes belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, penelitian tentang “Analisis Spasial dan Deteksi Transmisi Transovarial Virus Dengue pada Nyamuk *Ae. aegypti* Desa Cikuya dan Parereja di Wilayah Kerja Puskesmas Banjarharjo Brebes Tahun 2020” perlu dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran spasial dan adanya transmisi transovarial virus dengue pada nyamuk *Ae. aegypti* Desa Cikuya dan Parereja di Wilayah Kerja Puskesmas Banjarharjo Brebes Tahun 2020.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan secara deskriptif *observasional* melalui pengolahan data SIG dan pengamatan transmisi transovarial virus dengue menggunakan metode imunositokimia dan *real time* PCR. Rancangan penelitiannya adalah *cross-sectional* yaitu pengambilan data variabel terikat dan variabel bebas dilakukan dalam satu waktu.

Sampel yang diambil dari nyamuk *Ae. aegypti* berasal dari kolonisasi telur yang diambil menggunakan ovitrap untuk diletakkan di rumah penderita berdasarkan teknik *purposive sampling* yaitu pengambilan sampel berdasarkan kriteria tertentu di Desa Cikuya dan Parereja. Ovitrap diletakkan di 54 titik. Masing-masing rumah rata-rata ditempatkan ovitrap sebanyak 3 buah di dalam rumah dan 3 buah di luar rumah dengan jarak sekitar 1 meter selama seminggu. Setelah seminggu pemasangan, adanya keberadaan telur pada kertas saring di ovitrap diperiksa. Kemudian telur yang diperoleh dikolonisasi menjadi nyamuk dewasa hingga berumur ± 7 hari. Setelah itu nyamuk dimatikan dan dideteksi menggunakan metode imunositokimia dan *real time* PCR. Pengambilan data SIG dilakukan ketika pengambilan ovitrap di rumah penderita.

Analisis SIG

Aplikasi GPS *Waypoints* digunakan untuk mengambil titik koordinat rumah penderita, *Accu Weather* untuk mengukur suhu dan kelembaban, software *ArcGIS* versi 10.4 untuk membuat peta,

dan *Base Map* diambil dari Ina Geo Portal Badan Informasi Geospasial (BIG, 2017).

Deteksi imunositokimia

Sebelum melakukan deteksi, nyamuk diidentifikasi terlebih dahulu menggunakan kunci identifikasi nyamuk *Ae. aegypti* di buku panduan "Penuntun Praktis Parasitologi Kedokteran" (Ideham *et al.*, 2009). Nyamuk yang telah dimatikan dalam *freezer* lalu dipisahkan bagian *thorax* dan caputnya menggunakan jarum dan pinset. Bagian caput nyamuk diletakkan pada kaca sediaan yang bersih. Setiap kaca sediaan berisi 10 buah caput nyamuk. Caput nyamuk ditekan-tekan di bawah kaca penutup menggunakan ujung tangkai jarum. Kaca penutup diambil lalu ditetesi metanol dingin (-20°C) sampai semua bagian tergenang dan diinkubasi selama 5 menit. Setelah kering, preparat dicuci dengan akuades. Sediaan ditetesi *Peroxidase Blocking Solution* (PBS) 100 µl/preparat dan diinkubasi pada suhu kamar selama 10 menit, lalu dicuci dengan air mengalir serta dibilas dengan akuades. Sediaan ditiriskan, lalu ditetesi antibodi primer (*antibodi monoclonal DSSE10* 1:5) sebanyak 50 µl/preparat dan diinkubasi pada nampan yang lembab yang ditutup aluminium foil pada suhu kamar selama 60 menit. Sediaan dicuci dengan PBS sebanyak 3 kali masing-masing waktu pencucian selama 2 menit, kemudian ditiriskan. Sediaan ditetesi 100 µl antibodi sekunder (Biotin) dan diinkubasi pada nampan lembab yang ditutup aluminium foil pada suhu kamar selama 20 menit. Sediaan dicuci dengan PBS sebanyak 3 kali masing-masing selama 2 menit lalu ditiriskan. Konjugat *Streptavidin-Peroxidase* ditetaskan sebanyak 100 µl lalu diinkubasi selama 10 menit pada suhu kamar. Preparat dicuci dengan PBS sebanyak 3 kali dengan masing-masing waktu pencucian 2 menit lalu ditiriskan. Larutan substrat kromogen DAB ditetaskan sebanyak 100 µl/preparat, kemudian diinkubasikan selama 10 menit dan preparat dicuci dengan akuades. Cat *mayer hematoxylin* sebanyak 100 µl ditambahkan per preparat, kemudian diinkubasi selama 2 menit, lalu dicuci di bawah air kran, kemudian dibilas dengan PBS 1 kali selama 1 menit. Preparat ditiriskan dan dicuci dengan air kran, kemudian akuades. Preparat didehidrasi dengan alkohol 100%, selanjutnya dikeringkan dan dibersihkan. Kemudian, preparat dicelupkan ke dalam *xylol* lalu dikeringkan dan dibersihkan. Preparat ditetesi *entellan* kemudian ditutup kaca penutup. Setelah kering, preparat siap diperiksa di bawah mikroskop kompaun pada pembesaran 40x, 100x, dan 400x.

Deteksi real time PCR

Uji DEN-1, DEN-2, DEN-3 dan DEN-4 RT-PCR dilakukan dengan campuran 25 µl reagen yang mengandung 5 µl template RNA, *TaqMan*® Fast Virus 1 step *mastermix* (*Applied Biosystems*®), UltraPure™ DNase/RNase-Free Distilled Water (*Invitrogen*™), 0,9 µm dari setiap primer, dan 0,2 µm *probe* dari tabel *primer* dan *probe sequences*. Kemudian *probe* yang dimodifikasi MGB diberi label dengan pewarna FAM *reporter dye* dan *nonfluorescent quencher*. Primer dan *probe* didapat dari *Life Technologies*. Amplifikasi dan deteksi dilakukan dalam sistem *Real Time PCR One Step Plus* (*Applied Biosystems*®) dengan program sebagai berikut: transkripsi balik pada 50°C selama 5 menit, inaktivasi pada 95°C selama 20 detik, diikuti dengan 45 siklus deteksi fluoresensi pada 95°C selama 3 detik dan *annealing* pada 60°C selama 30 detik (BMC, 2016).

Garis dasar (*baseline*) dan ambang batas (*threshold*) ditetapkan menggunakan fitur garis dasar otomatis dan ambang batas (*auto baseline and threshold*) di *One Step Software v2.2.2* (*Applied Biosystems*®). Sampel dianggap positif jika amplifikasi target dicatat dalam 40 siklus (BMC, 2016).

HASIL

Pada peta titik kasus DBD yang diambil menggunakan aplikasi GPS *Waypoints* didapatkan kasus DBD yang tersebar diantara desa yang padat penduduknya, sedang, maupun jarang penduduknya. Desa yang padat adalah desa yang mempunyai jumlah penduduk >1.500 jiwa/km, sedangkan desa yang sedang penduduknya adalah desa yang mempunyai jumlah penduduk 500–1.500 jiwa/km, dan desa yang jarang penduduknya adalah desa yang mempunyai jumlah penduduk <500 jiwa/km (BPS, 2019). Wilayah kerja Puskesmas Banjarharjo memiliki 9 desa; 2 desa termasuk yang jarang penduduknya, yaitu Desa Malahayu dan Cikuya. Dua desa yang sedang penduduknya yaitu Desa Banjarharjo dan Banjarlor, dan 5 desa yang termasuk padat penduduknya yaitu Desa Parereja, Tegalreja, Ciawi, Cibuniwangi dan Cimunding (Gambar 2). Berdasarkan pengukuran suhu di tempat penelitian, suhu udara berkisar antara 30–33°C. Kondisi ini ideal untuk perkembangbiakan *Ae. aegypti*. Sedangkan hasil pengukuran kelembaban udara berkisar antara 53–62% yang menandakan bahwa kelembaban di daerah wilayah kerja Puskesmas Banjarharjo, Brebes, juga cukup mendukung untuk perkembangbiakan nyamuk *Ae. aegypti*.

Berdasarkan analisis statistik spasial *Average Nearest Neighbor* (ANN) pada perangkat lunak *ArcGIS*, diperoleh hasil dengan nilai *Z-score* =

-7,944. Nilai $Z\text{-score} = -7,944 < -2$, berarti H_0 ditolak artinya terdapat pola spasial kasus DBD di wilayah kerja Puskesmas Banjarharjo, Brebes. Hasil dari perhitungan ANN menunjukkan bahwa nilai $ANN = 0,215 < 1$, dapat disimpulkan bahwa pola penyebaran kejadian DBD yang terjadi di wilayah kerja Puskesmas Banjarharjo, Brebes, adalah berkerumun (*clustered*). Berdasarkan perhitungan (*Observed Mean Distance*) tersebut

terlihat bahwa jarak rata-rata antar kasus yang diamati di wilayah kerja Puskesmas Banjarharjo, Brebes, yaitu 100,616 meter. Analisis *buffer* menunjukkan bahwa penularan kasus DBD terjadi pada radius antara 100–300 meter dari titik kasus

Sampel telur yang didapat hanya berasal dari Desa Cikuya dan Parereja sebanyak 83 telur dan yang berhasil hidup menjadi nyamuk *Ae. aegypti* dewasa sebanyak 49 ekor.

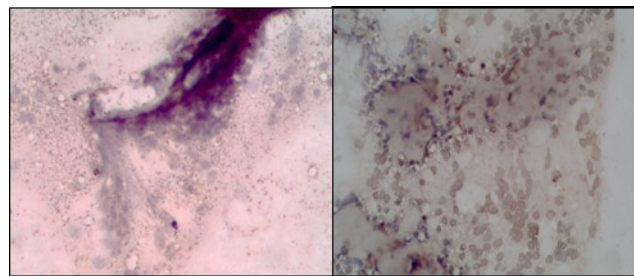
Tabel 1. Hasil kolonisasi nyamuk (*Mosquito colonization results*).

No	Nama Desa	Stadium		(%)
		Telur	Dewasa	
1	Parereja	45	25	55,5
2	Cikuya	38	24	63,2
Total		83	49	
Rata-rata		42	26	59,35

Setelah itu, nyamuk diamati di preparat satu per satu dan dilihat dengan perbesaran 400x untuk diketahui hasilnya apakah positif atau negatif virus dengue. Menurut Umniyati (2004), setelah diketahui jumlah preparat yang positif maka *Indeks Transmisi Transovarial* (ITT) virus dengue dapat dihitung dengan rumus berikut:

$$ITT = \frac{\text{Jumlah nyamuk yang positif}}{\text{Jumlah nyamuk yang diperiksa}} \times 100\%$$

Hasil perhitungan menunjukkan bahwa angka ITT dari Desa Parereja adalah sebesar 13,3% dari total 15 nyamuk yang diperiksa. Sedangkan untuk Desa Cikuya hasilnya semua negatif.



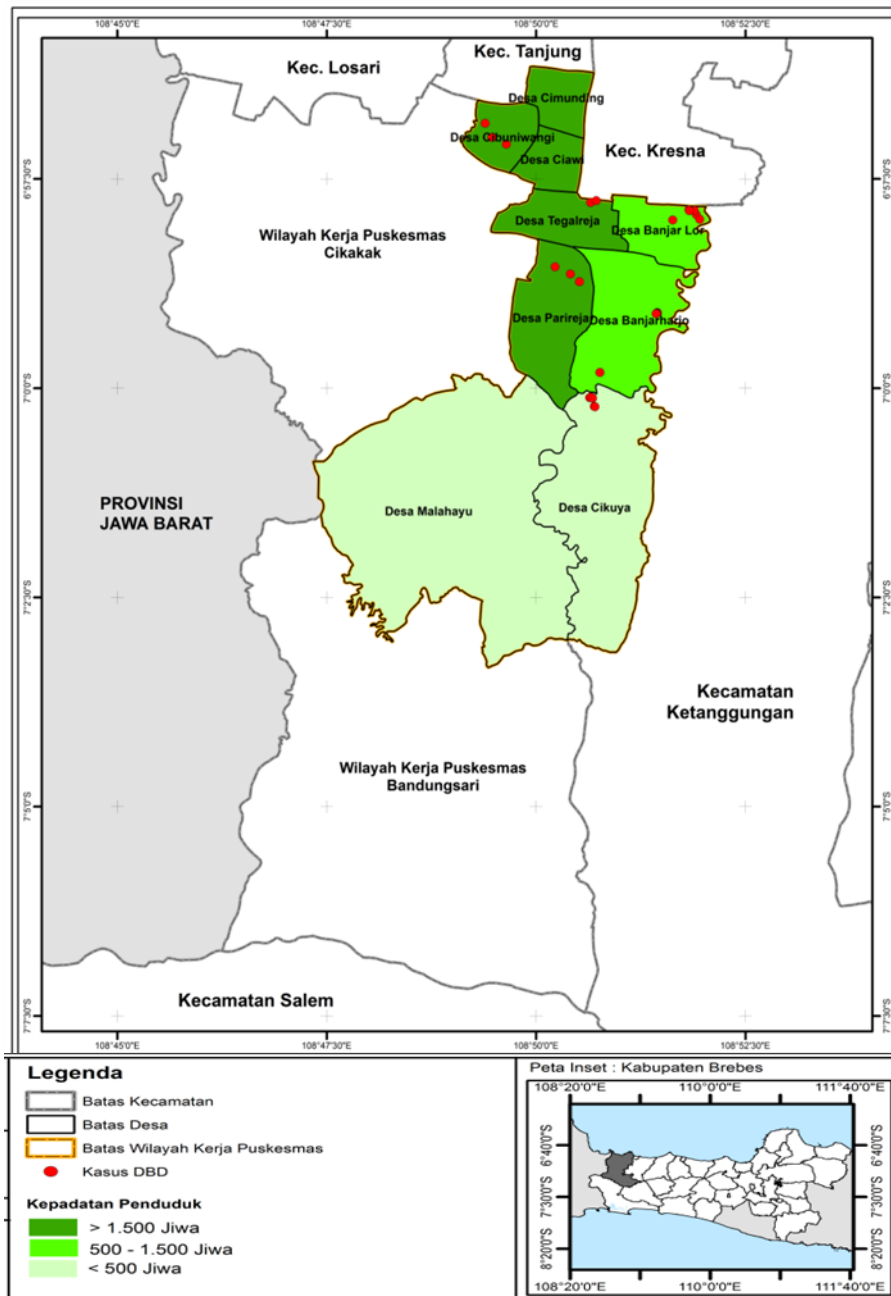
Hasil Positif

Hasil Negatif

Gambar 1. Hasil mikroskopis pemeriksaan nyamuk *Ae. aegypti* menggunakan metode imunositokimia (*Microscopic results of mosquito examination Ae. aegypti using immunocytochemical method*).

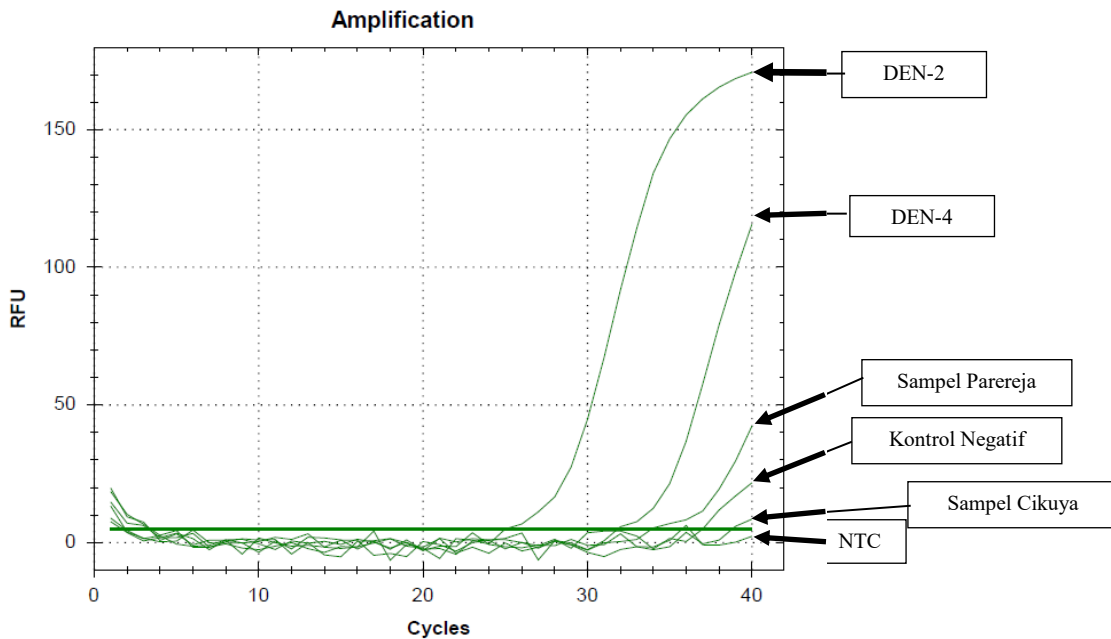
sitoplasma sel yang berwarna cokelat dan tersebar diantara jaringan otak. Sedangkan hasil negatif ditunjukkan dengan sitoplasma sel yang

berwarna biru pucat atau ungu dan tidak ada butiran pasir berwarna cokelat di sekitar sel-sel jaringan otak. (Purnama *et al.*, 2018).



Gambar 2. Peta kasus DBD berdasarkan kepadatan penduduk di wilayah kerja Puskesmas Banjarharjo tahun 2020. (*Map of DHF cases based on population density in the work area of the Banjarharjo Health Center in 2020*).

Hasil Real Time PCR



Gambar 3. Hasil amplifikasi Real Time PCR (*Real Time PCR amplification results*).

Hasil diatas menunjukkan bahwa sampel Desa Parereja positif virus dengue dengan nilai Cq 33,88 lebih kecil dari Cq NTC yaitu 36,98. Sedangkan sampel Desa Cikuya adalah negatif virus dengue dengan nilai Cq 38,78 lebih besar dari Cq NTC yaitu 35,74.

PEMBAHASAN

Berdasarkan perhitungan *ANN* yang menunjukkan hasil $0,215 < 1$, dapat disimpulkan bahwa pola penyebaran kejadian DBD yang terjadi di wilayah kerja Puskesmas Banjarharjo, Brebes, adalah berkerumun (*clustered*) terutama di daerah yang padat penduduknya. Hasil penelitian ini mendukung penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Afira *et al.* (2013) yaitu secara statistik didapatkan nilai $p = 0,000$ di Kecamatan Sawah dan Gambir yang menunjukkan adanya hubungan yang bermakna antara kepadatan penduduk dengan jumlah kasus DBD di kedua kecamatan tersebut. Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Puspitasari *et al.* (2011) yang menunjukkan bahwa pola kejadian DBD di Sukoharjo mempunyai pola *cluster*.

Berdasarkan analisis *buffer* tampak bahwa penularan kasus DBD yang terjadi pada radius antara 100–300 meter dari titik kasus. Hal ini memungkinkan penyebaran ke desa yang memiliki kepadatan penduduk yang rendah. Hubungan

transportasi yang baik antar wilayah semakin memudahkan penyebaran penyakit ini ke daerah-daerah yang lain. Hal tersebut dapat menjadikan potensi penularan kasus DBD. Jadi, masyarakat yang jarang penduduknya harus tetap waspada, meskipun pada sebagian wilayah dari Desa Cikuya yang jarang penduduknya memiliki radius >100 meter dari wilayah yang padat penduduknya (diukur dari radius yang aman dari penularan dilihat dari jarak terbang nyamuk).

Dua wilayah perbatasan antar desa dapat memiliki masalah penyakit yang sama meskipun berbeda tingkat kepadatan penduduknya. Oleh karena itu, diperlukan sinkronisasi program-program yang bertujuan untuk upaya bersama pemberantasan penyakit dengan sumber daya masing-masing yang dimiliki. Tanpa adanya upaya-upaya pencegahan yang memadai, semakin padat penduduk maka menyebabkan semakin kondusif perkembangbiakan virus sehingga dapat mengakibatkan terjadinya peningkatan kasus (Achmadi, 2012).

Penelitian lapangan dilakukan dengan meletakkan ovitrap di rumah selama ± 7 hari. Ovitrap yang telah diambil lalu dilihat ovistripnya untuk mengetahui keberadaan telur. Ovistrip yang positif telur direndam di nampan yang telah terisi air dan ditetaskan di Laboratorium Parasitologi FK-KMK UGM. Ovistrip yang positif telur hanya

ada 2 dan nyamuk yang positif virus dengue hanya ada 2 dari 30 nyamuk sehingga angka rata-rata ITT adalah 6,67% diperoleh dari 13,3% sampel Parereja dan 0% sampel Cikuya. Sedikitnya sampel yang diperoleh kemungkinan dikarenakan peletakan ovitrap dilakukan saat musim kemarau.

Menurut Risma (2015), perbedaan musim berpengaruh terhadap kepadatan nyamuk *Ae. aegypti*. Kepadatan nyamuk *Ae. aegypti* pada musim hujan lebih tinggi daripada musim kemarau. Hal ini disebabkan musim hujan lebih mendukung nyamuk *Ae. aegypti* untuk hidup lebih lama dan bereproduksi lebih banyak. Selain itu ovitrap yang positif telur hanya sedikit karena kurang banyaknya pemasangan ovitrap. Seharusnya jumlah pemasangan ovitrap dilakukan menurut WHO (2009) berdasarkan jumlah bangunan terbaru dibandingkan dengan nilai *House Indeks* (HI). Ternyata ukuran ovitrap juga berpengaruh terhadap jumlah telur yang didapat. Semakin besar ovitrap maka kemungkinan telur yang didapat semakin besar (Hamzah, 2016). Sedangkan ovitrap yang dijadikan sampel dalam penelitian ini hanya menggunakan pot kecil tanpa lubang yang berukuran tinggi 7 cm dan lebar 8 cm.

Suhu udara pada lokasi penelitian ini berkisar antara 30–33°C dan kondisi ini ideal untuk perkembangbiakan *Ae. aegypti* menurut Hendri *et al.* (2014) yang melaporkan bahwa suhu lingkungan perkembangbiakan vektor *Aedes spp.* (*Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus*) berkisar antara 22,9–32,5°C. Keberhasilan penetasan telur cukup tinggi pada suhu air 24–25°C, sedangkan suhu air untuk pembentukan pupa maupun perubahan ke dewasa akan maksimal pada suhu air 30–35°C. Mandalena *et al.* (2015) merekomendasikan suhu ideal untuk lingkungan perkembangbiakan larva adalah sekitar 28°C dan pada suhu yang berkisar antara 30–32°C di lingkungan alam yang terkena sinar matahari dan tidak membahayakan spesies.

Menurut Soegito (2006), kondisi lingkungan merupakan salah satu kondisi yang dapat mempengaruhi perkembangan jentik nyamuk *Ae. aegypti*; kondisi lingkungan yang dimaksudkan salah satunya yaitu kelembaban di suatu daerah. Kelembaban udara yang berkisar antara 70–90% merupakan kelembaban yang sangat optimal untuk proses embriosis dan ketahanan hidup nyamuk. Begitu juga menurut Mohammed *et al.* (2011) yang menjelaskan bahwa penetasan telur *Ae. aegypti* biasanya distimulus oleh tiga faktor yaitu konsentrasi ambien oksigen dalam air, kondisi suhu lingkungan telur (oviposisi) yang berkisar antara 26,6–27,0°C, dan kelembaban relatif yang berkisar antara 50–80%. Pada penelitian ini, hasil pengukuran kelembaban udara berkisar antara 53–62% yang menandakan bahwa kelembaban di daerah wilayah kerja Puskesmas Banjarharjo,

Brebes, mendukung untuk perkembangbiakan nyamuk *Ae. aegypti*.

Pada penelitian ini angka ITT hanya didapat sebesar 6,67%. Nyamuk yang positif virus dengue hanya ada 2 dari 30 nyamuk yang diperiksa. Hal ini karena telur terlalu lama diletakkan. Telur diletakkan di laboratorium bulan November atau tiga bulan setelah pengambilan sampel di bulan September. Menurut Wahono *et al.* (2019), ada kenaikan derajat infeksi transovarial pada sampel yang penyimpanannya dilakukan selama dua bulan dan mengalami penurunan pada lama penyimpanan telur tiga bulan. Tren kenaikan tertinggi terjadi pada sampel umur 8 hari mulai dari 13,33% pada lama penyimpanan telur 0 bulan, menjadi 66,67% pada lama penyimpanan telur 2 bulan kemudian menurun menjadi 56,67% pada lama penyimpanan telur 3 bulan.

Pada penelitian ini *real time* PCR menggunakan *TaqMan*. Pengujian *TaqMan* menggunakan *probe* oligonukleotida berlabel spesifik yang disebut *probe TaqMan* sebagai tambahan pada sekuen primer spesifik. *TaqMan real-time* RT-PCR lebih spesifik pada sekuen spesifik terhibridisasi dari *probe*. Namun, primer dan *probe* dilaporkan tidak dapat mendeteksi semua jenis strain virus dimana sensitivitas primer dan *probe* tergantung pada homology dengan target sekuen gen yang akan dianalisis (Yun *et al.*, 2004).

KESIMPULAN

Desa Cikuya dan Parereja yang merupakan bagian dari wilayah kerja Puskesmas Banjarharjo, Brebes, mempunyai suhu dan kelembaban yang mendukung untuk perkembangbiakan nyamuk *Ae. aegypti* yang merupakan vektor virus dengue. Terdapat pola spasial kasus DBD di wilayah kerja Puskesmas Banjarharjo, Brebes. Hasil dari perhitungan *ANN* menunjukkan nilai $ANN = 0,215 < 1$, yang menunjukkan bahwa pola penyebaran adalah berkerumun (*clustered*) terutama di daerah yang padat penduduknya.

Adanya transmisi transovarial virus dengue di Desa Parereja dengan nilai ITT sebesar 13,3%. Sedangkan di Desa Cikuya tidak ditemukan adanya transmisi transovarial virus dengue karena semua sampelnya negatif virus dengue. Hasil *real time* PCR menunjukkan bahwa sampel Desa Parereja positif virus dengue dengan nilai $Cq\ 33,88 < NTC$ yaitu 35,74. Sedangkan sampel desa Cikuya adalah negatif virus Dengue dengan nilai $Cq\ 38,78 > Cq\ NTC$ (35,74).

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terimakasih kepada petugas lapangan Puskesmas Banjarharjo, Brebes, yang telah membantu dalam pengumpulan sampel. Selain itu, saya juga berterima kasih kepada semua

pihak Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan (FK-KMK) UGM yang telah banyak membantu dalam proses penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmadi, U.F., 2012. *Manajemen Penyakit Berbasis Wilayah*. Jakarta: Rajawali Press.
- Afira, F dan Mansyur M., 2013. Gambaran kejadian demam berdarah Dengue di Kecamatan Gambir dan Kecamatan Sawah Besar Jakarta Pusat Tahun 2005–2009. *Rajagrafindo Persada*. 1(1). hlm: 23–29.
- Atique, S., Chan, T.C., Chen, C.C., Hsu, C.Y., Iqtidar, S., Louis, V.R., Shabbir, S.A and Chuang, T.W., 2018. Investigating spatio-temporal distribution and diffusion patterns of the dengue outbreak in Swat Pakistan. *Journal infect Public Health*. 11: 550–557.
- Badan Informasi Geospasial (BIG)., 2017. *Pusat Pengelolaan dan Penyebarluasan Informasi Geospasial*. <https://tanahair.indonesia.go.id/portal-web>
- Badan Pusat Statistik (BPS)., 2019. *Selayang Pandang Kecamatan Banjarharjo 2019*. Brebes: Badan Pusat Statistik Kabupaten Brebes.
- Dewi, A.A.K dan Sukendra, D.M., 2018. *Maya index* dan karakteristik lingkungan area rumah dengan kejadian demam berdarah Dengue. *Higeia*. 2(4).
- Hamzah, E dan Basri, S., 2016. Perbedaan *Ovitrap* Indeks botol, ember dan *Port Mosquito Trap* sebagai perangkap nyamuk *Aedes* Sp. di area Kantor Kesehatan Pelabuhan Kelas Ii Samarinda Wilayah Kerja Sangatta Kabupaten Kutai Timur. *Higiene* 2(3).
- Heath, C.J., Grossi-Soyster, E.N., Ndenga, B.A., Matuku, F.M., Sahoo, M.K and Ngugi, H.N., et al., 2020. Evidence of transovarial transmission of Chikungunya and Dengue Viruses in Fieldcaught Mosquitoes in Kenya. *PLoS Negl Trop Dis*. 14(6): e0008362.
- Hendri, J., Santya, R.N.R.E dan Prasetyowati, H., 2014. Distribusi dan kepadatan vektor demam berdarah dengue (DBD) berdasarkan ketinggian tempat di Kabupaten Ciamis Jawa Barat. *Jurnal Ekologi Kesehatan*. 14(1): 17–28.
- Ideham, B dan Pusrawati, S., 2009. *Penuntun Praktis Parasitologi Kedokteran*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia., 2019. *Data dan Informasi Profil Kesehatan Indonesia 2019*. Jakarta.
- Lestari, K., 2017. Epidemiologi dan pencegahan demam berdarah Dengue di Indonesia. *Farmaka*. 79–81
- Mandalena V, Suryaningtyas N.H dan Ni'mah T., 2015. Ekologi habitat perkembangbiakan *Anopheles* Spp. di Desa Simpang Empat, Kecamatan Lengkiti, Ogan Komering Ulu, Sumatera Selatan. *Jurnal Ekologi Kesehatan*, 14(4): 342–349
- Mardihusodo, S.J., Satoto T.B.T, Mulyaingsih B, Umniyati S.R dan Ernaningsih., 2007. *Bukti Adanya Penularan Virus Dengue Secara Transovarial Pada Nyamuk Aedes spp. di Kota Yogyakarta.*, Simposium Nasional aspek Biologi molekuler, patogenesis, manajemen dan pencegahan KLB. Pusat Studi Bioteknologi UGM, Yogyakarta. 16 Mei 2007.
- Mohammed, A and Chadee, D.D., 2011. Effects of different temperature regimens on the development of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) mosquitoes. *Acta Trop*, 119(1): 38– 43. doi: 10.1016/j.actatropica.2011.04.004.
- Purnama, S.G., Kardiwinata, P dan Baskoro, T., 2018. *Mendeteksi Penularan Transovarial Virus Dengue Menggunakan Metode Imunositokimia Menggunakan Imunoperoxidase Streptavidin Biotin Kompleks (IISBC) di Kota Denpasar Bali*. Fakultas Kedokteran Udayana dan UGM.
- Puskesmas Banjarharjo., 2020. *Laporan Penderita DBD Tahun 2020*. Pusat Kesehatan Masyarakat Banjarharjo Brebes.
- Risma., 2015. Pengaruh musim (hujan dan kemarau) terhadap kepadatan populasi larva *Aedes Aegypti* sebagai vektor utama demam berdarah dengue di Kelurahan Kedung Cowek (Wilayah Binaan Uht), Surabaya. Makalah dari Simposium, Seminar dan Workshop Nasional IAIFI XXIV, Surabaya.
- Septiani, L., Mulyaningsih, B dan Umniyati, S.R., 2015. *Kajian Nyamuk -Aedes aegypti Sebagai Vektor Dengue dan Status Kerentanannya Terhadap Insektisida di Kecamatan Way Halim Kota Bandar Lampung*. Tesis: Universitas Gadjah Mada (UGM)., Yogyakarta.
- Soegito, S., 2006. *Demam Berdarah Dengue*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Sunardi., 2018. *Prevalensi Transmisi Transovarial dan Tingkat Kasus Demam Berdarah Dengue (DBD) di Kecamatan Grogol Kabupaten Sukoharjo*. Disertasi: Universitas Gadjah Mada (UGM). Yogyakarta.
- Umniyati, S.R., 2004. *Preliminary investigation on the transovarial transmission of dengue virus in the population of aedes aegypti in the well*. Dalam Seminar hari nyamuk IV, 21 Agustus 2004, Surabaya.
- Wahono, T., Umniyati, S.R dan Satoto, T.B.T., 2019. Pengaruh lama penyimpanan telur terhadap transovarial infection rate virus DEN-3 pada nyamuk *Aedes aegypti*. *Balaba*

- 15(2). 2019: 143—150.<https://doi.org/10.22435/blb.v15i2.204>
- WHO., 2009. Comprehensive guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control of dengue and dengue *Haemorrhagic Fever*. [serial online] [cited 2021 10 Jan]. Available from: <http://www.who.int/tdr/publications/documents/dengue-diagnosis.pdf>.
- WHO., 2011. *Comprehensive Guidelines for Prevention and Control of Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever*. Revised and Expanded Edition. India: World Health Organization,
- Widiarti, Tri Boewono, D dan Widyastuti., 2009. Deteksi antigen virus dengue. Pada progeni vektor demam berdarah dengan metode imunohistokimia. *Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit Salatiga*. 37(3): 126–136.
- Yun, S.P and Jyhsiung, H., 2004. Current advances in dengue diagnosis. *American Society for Microbiology*. 11(4): 642–50.