

Diferensiasi dan identifikasi *Aedes albopictus* Skuse dari beberapa populasi di Indonesia berdasarkan polimorfisme genetik

Budi Mulyaningsih
Bagian Parasitologi
Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

ABSTRACT

Budi Mulyaningsih – *Differentiation and identification of Aedes albopictus Skuse from several population in Indonesia based on genetic polymorphisms*

Background: *Aedes albopictus* play important role in the spread dengue virus, it is spread widely in Indonesia. Geographical condition of Indonesia which shows varying climatology, biogeography and environmental factors seem to be very possible to cause the difference in the genetic structure of *Ae. albopictus*.

Objective: The aim of this study is to determine the genetic polymorphism of each *Ae. albopictus* population.

Methods: Genomic DNA was extracted from individual mosquitoes from 4 geographic populations of *Ae. albopictus* and amplified in PCR reactions using single primers of arbitrary nucleotide sequence.

Result: The DNA polymorphism level of *Ae. albopictus* population originated from Yogyakarta is 80.77%, followed by population originated from Padang is 57.14%, Banjar is 40.74% and Timika is 37.50%.

Conclusion: The genetic structure of the *Ae. albopictus* populations shows obvious differences, and they shows that they are from different group and separated with the various difference percentage.

Key words: genetic polymorphism - population - *Ae. albopictus* – dengue virus – RAPD-PCR.

ABSTRAK

Budi Mulyaningsih – *Diferensiasi dan identifikasi Aedes albopictus Skuse dari beberapa populasi di Indonesia berdasarkan polimorfisme genetik.*

Latar belakang: *Aedes albopictus* Skuse mempunyai peranan penting dalam penyebaran virus dengue dan keberadaannya tersebar sangat luas di Indonesia. Keadaan geografis Indonesia dengan ragam klimatologis, biogeografis dan faktor lingkungan sangat mungkin menyebabkan terjadinya struktur genetik yang berbeda pada nyamuk *Ae. albopictus*.

Tujuan: Menentukan polimorfisme genetik nyamuk *Ae. albopictus* dari beberapa populasi geografis di Indonesia.

Bahan dan cara penelitian: Nyamuk *Ae. albopictus* yang berasal dari 4 populasi di Indonesia diekstraksi DNA-nya secara individual, dan diampifikasi dengan metode PCR menggunakan primer tunggal dengan susunan nukleotida acak.

Hasil: Tingkat polimorfisme genetik nyamuk *Ae. albopictus* yang berasal dari Yogyakarta sebesar 80,77%, Padang sebesar 57,14%, Banjar sebesar 40,74% dan Timika sebesar 37,50%.

Simpulan: Masing-masing populasi nyamuk *Ae. albopictus* yang diteliti merupakan kelompok sendiri yang terpisah dengan jarak hubungan kekerabatan yang bervariasi.

(B.I.Ked. Vol. 36, No.1: 7-17, 2004)

PENGANTAR

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan salah satu *insect borne diseases* yang penting di Asia Tenggara, dan Indonesia merupakan daerah endemis DBD tertinggi¹. Penyakit ini secara berkala menimbulkan Kejadian Luar Biasa (KLB), dan menjadi masalah kesehatan yang penting bagi masyarakat karena angka kesakitannya yang tinggi, perjalanan penyakitnya yang cepat serta dapat menimbulkan kematian dalam waktu yang singkat².

Penyakit DBD ditularkan oleh nyamuk *Aedes aegypti* Linnaeus, dan *Aedes albopictus* Skuse³. Pencegahan dan pemberantasannya yang dipandang paling efektif sampai saat ini adalah pengendalian vektornya dengan menggunakan insektisida organofosfat, tetapi ternyata tidak ada korelasi antara kepadatan populasi nyamuk *Aedes* dengan jumlah kasus DBD yang terjadi^{4,5}. Hal ini berarti bahwa penurunan angka kepadatan nyamuk *Aedes* tidak menjamin akan diikuti pula oleh penurunan angka kesakitan DBD. Penelitian-penelitian terdahulu menunjukkan adanya perbedaan kemampuan vektorial dan aktivitas menggigit dari nyamuk vektor dengue^{6,7}, oleh sebab itu banyak penelitian yang difokuskan pada variasi genetik nyamuk vektor dengue. Penelitian Anggereini dan Efriwati menunjukkan bahwa perbedaan tingkat keanekaragaman genetik nyamuk *Ae. aegypti* yang berasal dari beberapa daerah seperti Bandung, Yogyakarta dan Padang tidak menunjukkan perbedaan yang nyata^{8,9}.

Pada saat ini peranan nyamuk *Ae. albopictus* dalam menyebarkan virus dengue menjadi lebih penting karena terbukti lebih dominan, yaitu dapat hidup di dataran tinggi, kemampuan reproduksinya lebih besar, lebih tahan pada daerah beriklim dingin dan tingkat kerentanannya terhadap virus dengue lebih besar jika dibandingkan dengan nyamuk *Ae. aegypti*^{10, 11}. Di Indonesia penyebarannya sangat luas, dari wilayah fauna Asia sampai wilayah fauna Australia. Habitatnya di luar rumah dan tempat perindukannya di tempat-tempat yang dapat digenangi air hujan seperti pelepah daun dan bekas pohon bambu yang ditebang (*man made breeding place* dan *natural breeding place*), keberadaannya lebih jauh dengan kehidupan manusia, sehingga lebih dimungkinkan perbedaan tingkat keanekaragaman genetiknya pada beberapa

populasi menunjukkan kelompok atau spesies yang berbeda. Tingkat keanekaragaman nyamuk dapat mempengaruhi kemampuannya untuk menularkan penyakit dan responnya terhadap insektisida yang digunakan dalam pengendaliannya.

Menurut Munstermann dan Collins & Paskewitz dengan berkembangnya teknik amplifikasi DNA secara *in vitro* menggunakan PCR maka akhir-akhir ini penentuan tingkat keanekaragaman genetik banyak dilakukan dengan cara ini^{12,13}. Pada saat ini teknik PCR telah banyak mengalami modifikasi dan penyempurnaan, yang antara lain dengan menggunakan *random* atau *arbitrary primers*, seperti yang telah dikembangkan oleh Williams *et al.*, yaitu dalam bentuk *Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)*¹⁴. Teknik ini merupakan pengembangan teknik PCR yang hanya menggunakan *primer* tunggal untuk melipat gandakan fragmen DNA secara acak. Welsh & Mc Clelland menyatakan bahwa PCR dengan menggunakan *arbitrary primers* dapat untuk menentukan keanekaragaman genetik atas dasar perbedaan lokus DNA yang diamplifikasi¹⁵.

Sehubungan dengan hal-hal tersebut di atas dan perannya sebagai vektor dengue, maka perlu diteliti keanekaragaman genetik nyamuk *Ae. albopictus* yang berasal dari daerah endemis dan non endemis dengue yang terpisah jauh seperti Padang, Yogyakarta, Banjar (endemis dengue) dan Timika (non endemis dengue), sebagai usaha dalam peningkatan perencanaan pengendalian vektor DBD yang telah ada selama ini.

BAHAN DAN CARA PENELITIAN

Bahan yang diperlukan untuk proses isolasi DNA nyamuk adalah HCl, NaOH, EDTA, NaCl, Tris, MgCl₂, CTAB, 2-merkaptotanol, ammonium asetat, etanol absolut, fenol, kloroform, isoamil alkohol, KCl, Triton X-100, Proteinase K dan RNase. Pada proses amplifikasi DNA nyamuk dibutuhkan *PCR-Kit*, *Primer Kit* (Operon), yaitu B₂, B₁₆ dan P₁. Visualisasi produk PCR menggunakan bahan agaros gel, bufer TAE 1X dan etidium bromida

Subyek penelitian adalah nyamuk *Ae. albopictus* betina yang berasal dari beberapa populasi di Indonesia. Pengambilan nyamuk dipilih dari daerah yang kondisinya berbeda (alopatrik) dan

terpisah jauh, yaitu Padang (Sumatera), Yogyakarta (Jawa), Banjar (Kalimantan) dan Timika (Papua). Pengambilan nyamuk juga berdasarkan peta endemisitas DBD dari DEPKES, Yogyakarta, Padang dan Banjar mewakili daerah endemis, dan Timika mewakili daerah non endemis¹⁶. Identifikasi nyamuk *Ae. albopictus* dilakukan pada stadium dewasanya berdasarkan kunci identifikasi nyamuk *Aedes sp* menurut WHO¹⁷.

Analisis polimorfisme genetik nyamuk *Ae. albopictus* dilakukan dengan metoda RAPD-PCR, dan untuk tujuan tersebut dilakukan hal-hal sebagai berikut:

a. Isolasi dan purifikasi DNA

Isolasi dan purifikasi DNA genom dilakukan dengan metoda *Cetyl Trimetil Ammonium Bromide* (CTAB), pada nyamuk utuh secara individual sesuai dengan prosedur yang dilakukan oleh Hoelzel yang telah dimodifikasi^{18,8}. Sebelum DNA digunakan terlebih dahulu diperiksa kemurniannya dengan elektroforesis agaros. Apabila terdapat campuran RNA maka harus dilakukan pemurnian dengan penambahan RNase ke dalam masing-masing sampel, dan untuk pengukuran konsentrasi DNA tiap individu nyamuk dilakukan dengan spektrofotometri absorben ultraviolet, pada λ 260 nm.

b. Amplifikasi DNA dengan PCR

Pada proses PCR digunakan 3 primer (B_2 , B_{16} dan P_1), dan berdasarkan hasil optimasi, proses amplifikasi dilakukan dengan tahapan denaturasi awal pada temperatur 94°C selama 5 menit, denaturasi siklus pada temperatur 94°C selama 1 menit, *annealing* pada temperatur 35°C selama 1 menit, polimerisasi siklus pada temperatur 72°C selama 2 menit, polimerisasi akhir pada temperatur 72°C selama 10 menit untuk menghindari adanya DNA yang belum teramplifikasi secara sempurna.

c. Elektroforesis

Hasil amplifikasi DNA dipisahkan berdasarkan ukuran pasangan basanya dengan teknik elektroforesis, yang menggunakan 1,2% gel agaros menurut cara Sambrook *et al.*¹⁹.

d. Perhitungan pola pita DNA

Semua pita DNA hasil amplifikasi diskor berdasarkan ada dan tidaknya pita yang terbentuk. Pita yang terbentuk diberi nilai 1 dan yang tidak terbentuk diberi nilai 0, dan dianalisis dengan program *NTSYS pc*. Koefisien kesamaan antara pasangan objek yang diperbandingkan ditentukan dengan koefisien kesamaan *Simple Matching*, dan dibuat dendogram dengan metoda UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages*). Besar molekul fragmen DNA dihitung pasangan basanya dengan berpedoman pada migrasi DNA standar (DNA 1 kb ladder).

e. Perhitungan pola pita DNA monomorfisme dan polimorfisme

Pita DNA yang selalu muncul pada semua sampel yang diteliti disebut pita DNA monomorfisme dan pita DNA yang hanya muncul pada sebagian atau beberapa sampel yang diteliti disebut pita DNA polimorfisme. Penghitungan perbandingan pita DNA monomorfisme dan polimorfisme dilakukan dengan 2 jalan, pertama perbandingan nyamuk yang berasal dari setiap populasi dan kedua perbandingan nyamuk dari seluruh populasi yang diperiksa. Penghitungan tersebut dilakukan untuk setiap primer yang digunakan

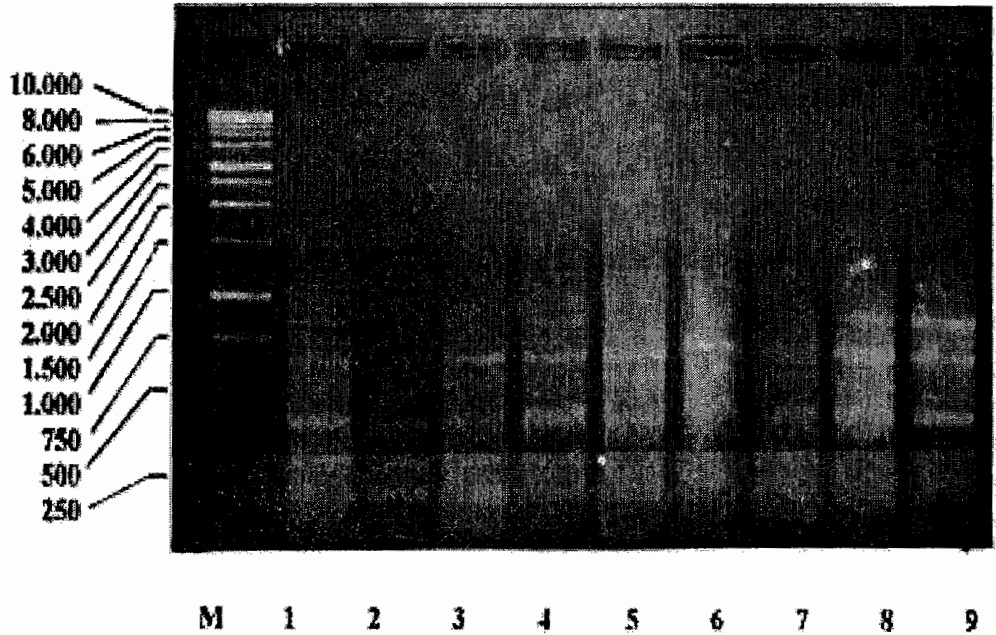
HASIL PENELITIAN

Analisis hasil RAPD-PCR dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif, dan hasilnya dibandingkan dengan spesies nyamuk lain, yaitu nyamuk *Ae. aegypti*.

a. Analisis kualitatif pita DNA hasil amplifikasi

1). Analisis pita monomorfisme

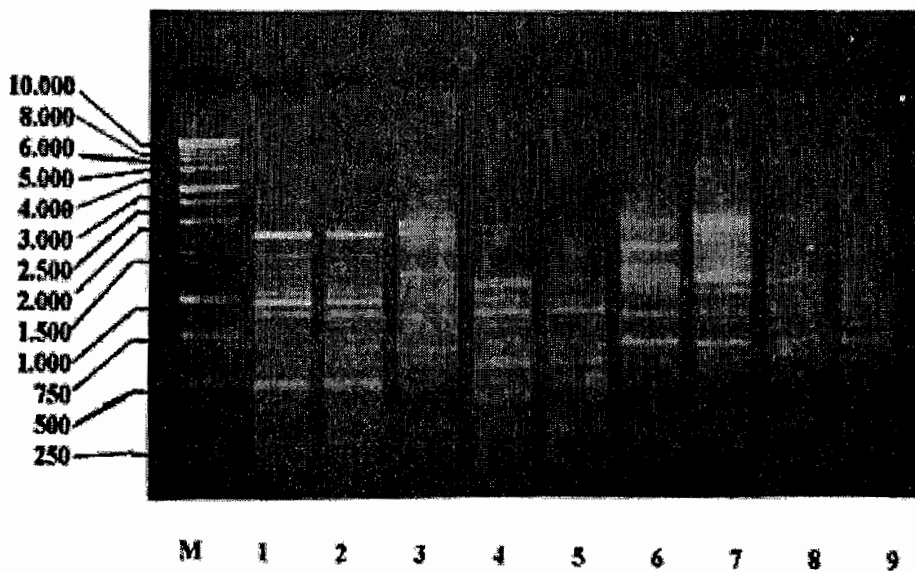
Visualisasi hasil amplifikasi DNA, menunjukkan bahwa dari masing-masing primer yang dipakai (B_2 , B_{16} dan P_1) dihasilkan pita-pita DNA dengan ukuran yang bervariasi. Adanya perbedaan berat molekul pada fragmen DNA inilah yang membedakan pita-pita tersebut satu sama lain. Secara kualitatif primer-primer tersebut dapat menghasilkan pita DNA yang unik (bersifat monomorfisme) untuk nyamuk *Ae. albopictus* yang berasal dari masing-masing populasi di Indonesia.



GAMBAR 1. Hasil elektroforesis amplifikasi DNA genom *Ae. albopictus* dengan primer B₂. Kolom M marker, 1, 2 nyamuk Padang, 3, 4, 5 nyamuk Yogyakarta, 6, 7 nyamuk Banjar, dan 8, 9 nyamuk Timika.

Amplifikasi DNA dengan primer B₂ (GAMBAR 1) menghasilkan 11 macam pita DNA dengan ukuran antara 260 – 2.110 bp dan pita DNA dengan ukuran 1.160 bp bersifat monomorfisme

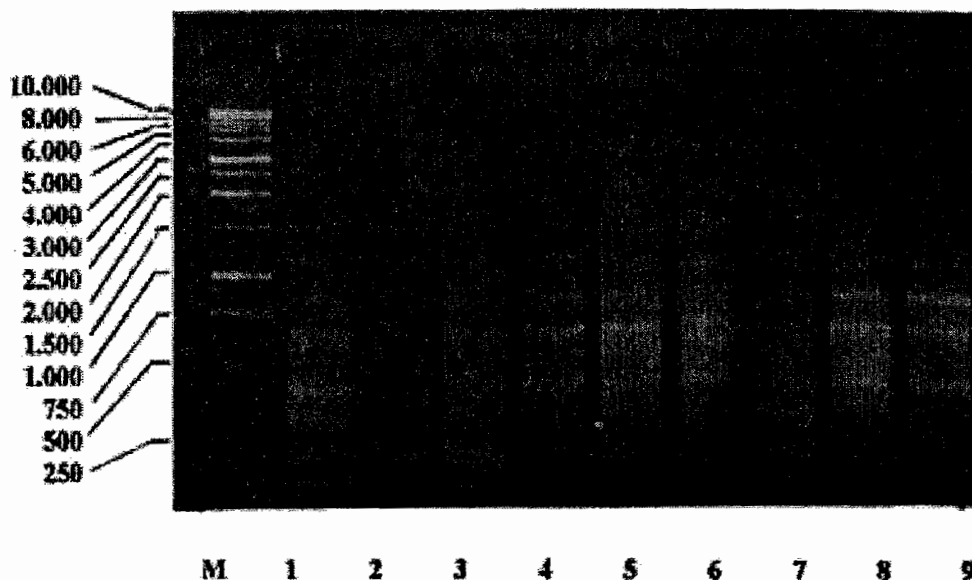
untuk seluruh populasi nyamuk *Ae. albopictus* yang diperiksa. Amplifikasi DNA nyamuk *Ae. aegypti* dengan primer B₂, menghasilkan pita DNA monomorfisme dengan ukuran 350 dan 810 bp.



GAMBAR 2. Hasil elektroforesis amplifikasi DNA genom *Ae. albopictus* dengan primer B₁₆. Kolom M marker, 1, 2 nyamuk Padang, 3, 4, 5 nyamuk Yogyakarta, 6, 7 nyamuk Banjar, dan 8, 9 nyamuk Timika.

Amplifikasi DNA nyamuk *Ae. albopictus* dengan primer B₁₆ (GAMBAR 2.) menghasilkan 19 macam pita DNA dengan ukuran antara 310 – 3.890 bp. Pita DNA dengan ukuran 310 bp bersifat monomorfisme untuk seluruh populasi nyamuk *Ae.*

albopictus yang diperiksa, sedang pita DNA dengan ukuran 680 bp hanya muncul pada populasi Timika saja. Amplifikasi DNA nyamuk *Ae. aegypti* dengan primer B₁₆, menghasilkan pita monomorfisme dengan ukuran 640 bp.



GAMBAR 3. Hasil elektroforesis amplifikasi DNA genom *Ae. albopictus* dengan primer P₁. Kolom M marker, 1, 2 nyamuk Padang, 3, 4, 5 nyamuk Yogyakarta, 6, 7 nyamuk Banjar, dan 8, 9 nyamuk Timika.

Amplifikasi DNA dengan primer P₁ (GAMBAR 3) menghasilkan 8 macam pita DNA dengan ukuran antara 160 - 1.300 bp, dan ternyata primer P₁ menghasilkan pita DNA paling sedikit. Pita DNA dengan ukuran 160 bp bersifat monomorfisme untuk setiap individu dari setiap populasi nyamuk *Ae. albopictus* yang diperiksa. Amplifikasi DNA nyamuk *Ae. aegypti* dengan primer P₁ menghasilkan pita monomorfisme dengan ukuran 400 bp.

Hasil amplifikasi DNA nyamuk *Ae. albopictus* dari beberapa populasi di Indonesia dengan primer B₂, B₁₆ dan P₁ dapat menghasilkan pita DNA monomorfisme pada semua individu nyamuk *Ae. albopictus* dari seluruh populasi yang diperiksa, sehingga potensial sebagai kunci identifikasi spesies nyamuk *Ae. albopictus*. Primer-primer tersebut dapat menunjukkan secara jelas bahwa nyamuk *Ae. albopictus* dan nyamuk *Ae. aegypti* merupakan spesies yang berbeda.

Primer B₁₆ menghasilkan pita-pita dengan ukuran tertentu yang hanya ada pada seluruh individu nyamuk *Ae. albopictus* yang berasal dari Timika saja. Timika adalah daerah non endemis dengue, sedangkan Padang, Yogyakarta, dan Banjar yang merupakan daerah endemis dengan tingkat endemisitas yang berbeda (TABEL 1).

2). Analisis tingkat polimorfisme DNA

Perbandingan pita DNA monomorfisme dan polimorfisme dapat dihitung persentasenya pada tiap populasi dan pada seluruh populasi nyamuk yang diteliti.

a). Analisis pita DNA nyamuk *Ae. albopictus* dari setiap populasi

Perbandingan pita DNA monomorfisme dan polimorfisme dari setiap populasi sangat bervariasi. Terjadinya variasi DNA monomorfisme dan

TABEL 1. Ukuran pita DNA monomorfisme pada beberapa populasi *Ae. albopictus* dengan primer B₂, B₁₆ dan P₁

Nyamuk yang diperiksa	Primer	Ukuran pita DNA monomorfisme (bp)
<i>Ae. albopictus</i> (Padang)	Primer B₂	1.160
<i>Ae. albopictus</i> (Yogyakarta)		1.160
<i>Ae. albopictus</i> (Banjar)		1.160
<i>Ae. albopictus</i> (Timika)		1.160
<i>Ae. albopictus</i> (Padang)	Primer B₁₆	310
<i>Ae. albopictus</i> (Yogyakarta)		310
<i>Ae. albopictus</i> (Banjar)		310
<i>Ae. albopictus</i> (Timika)		310 dan 680
<i>Ae. albopictus</i> (Padang)	Primer P₁	160
<i>Ae. albopictus</i> (Yogyakarta)		160
<i>Ae. albopictus</i> (Banjar)		160
<i>Ae. albopictus</i> (Timika)		160

polimorfisme karena primer mengamplifikasi DNA genom di daerah yang berbeda untuk masing-masing individu nyamuk. Tingkat polimorfisme DNA nyamuk populasi Yogyakarta sebesar 80,77%,

kemudian berturut-turut Padang sebesar 57,14%, Banjar sebesar 40,74% dan yang terendah adalah populasi nyamuk Timika sebesar 37,5% (TABEL 2).

TABEL 2. Perbandingan persentase pita DNA monomorfisme dan polimorfisme setiap populasi nyamuk *Ae. albopictus* yang diperiksa dengan 3 macam primer

Primer	Daerah Penelitian							
	Endemis DBD				Nonendemis DBD			
	Padang		Yogyakarta		Banjar		Timika	
	Mono	Poli	Mono	Poli	Mono	Poli	Mono	Poli
B ₂	2	4	1	9	3	5	5	1
B ₁₆	5	6	3	6	7	3	5	3
P ₁	2	2	1	6	6	3	5	5
Jumlah	9	12	5	21	16	11	15	9
%	42,86	57,14	19,23	80,77	59,26	40,74	62,50	37,50

b). Analisis pita DNA nyamuk *Ae. albopictus* dari seluruh populasi

Hasil analisis DNA nyamuk *Ae. albopictus* dari seluruh populasi yang diperiksa menunjukkan adanya tingkat polimorfisme DNA yang tinggi, yaitu Padang sebesar 86,96%, Yogyakarta sebesar 88,89%, Banjar sebesar 89,28% dan Timika sebesar 88,00% (TABEL 3.).

b. Analisis kuantitatif pita DNA hasil amplifikasi

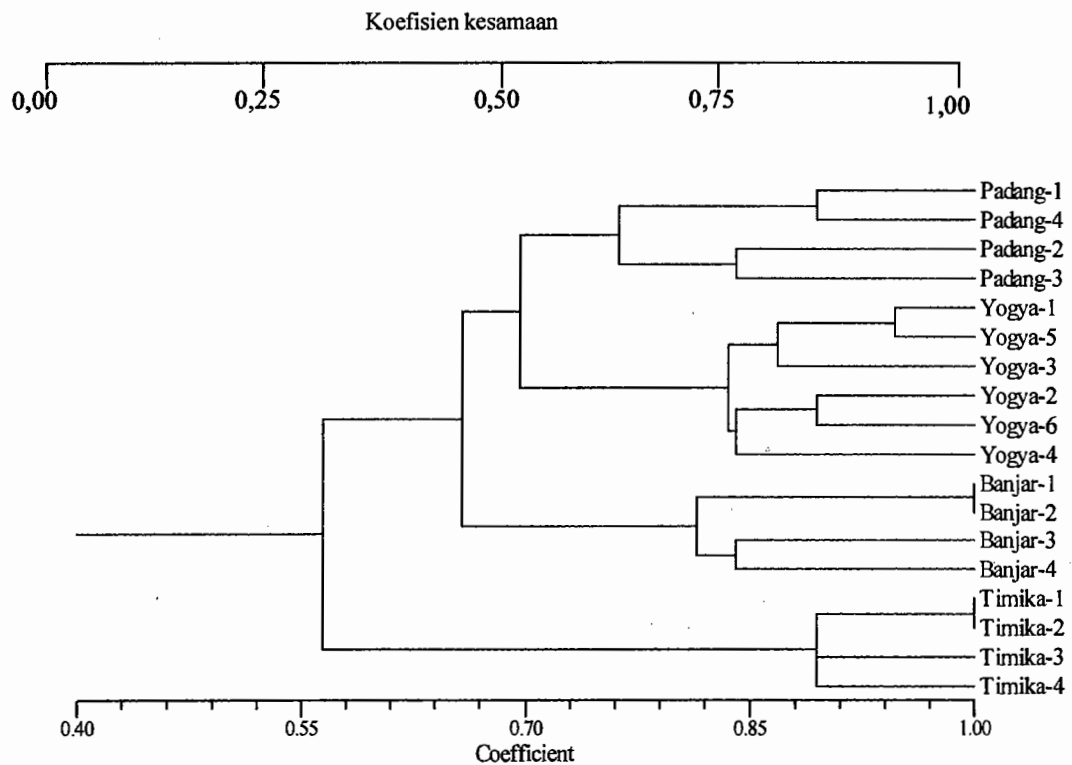
Analisis kuantitatif pita DNA pada semua populasi nyamuk yang diperiksa menghasilkan dendrogram yang menunjukkan bahwa seluruh anggota individu terbagi menjadi 2 kelompok besar, dan masing-masing kelompok terbagi lagi menjadi 2 kelompok yang lebih kecil dalam bentuk klaster dan seterusnya.

TABEL 3. Perbandingan persentase pita DNA monomorfisme dan polimorfisme seluruh populasi nyamuk *Ae. albopictus* yang diperiksa dengan 3 primer

Primer	Daerah Penelitian							
	Endemis DBD						Nonendemis DBD	
	Padang		Yogyakarta		Banjar		Timika	
	Mono	Poli	Mono	Poli	Mono	Poli	Mono	Poli
B_2	1	5	1	9	1	7	1	5
B_{16}	1	10	1	8	1	9	1	7
P_1	1	5	1	7	1	9	1	10
Jumlah	3	20	3	24	3	25	3	22
%	13,04	86,96	11,11	88,89	10,71	89,28	12,00	88,00

Dendogram dari hasil amplifikasi DNA dengan primer B_2 menunjukkan bahwa pada pengelompokan pertama nyamuk Timika terpisah dengan nyamuk Padang, Yogyakarta dan Banjar, dengan persentase perbedaan sebesar 77,0%. Pada pengelompokan kedua, nyamuk

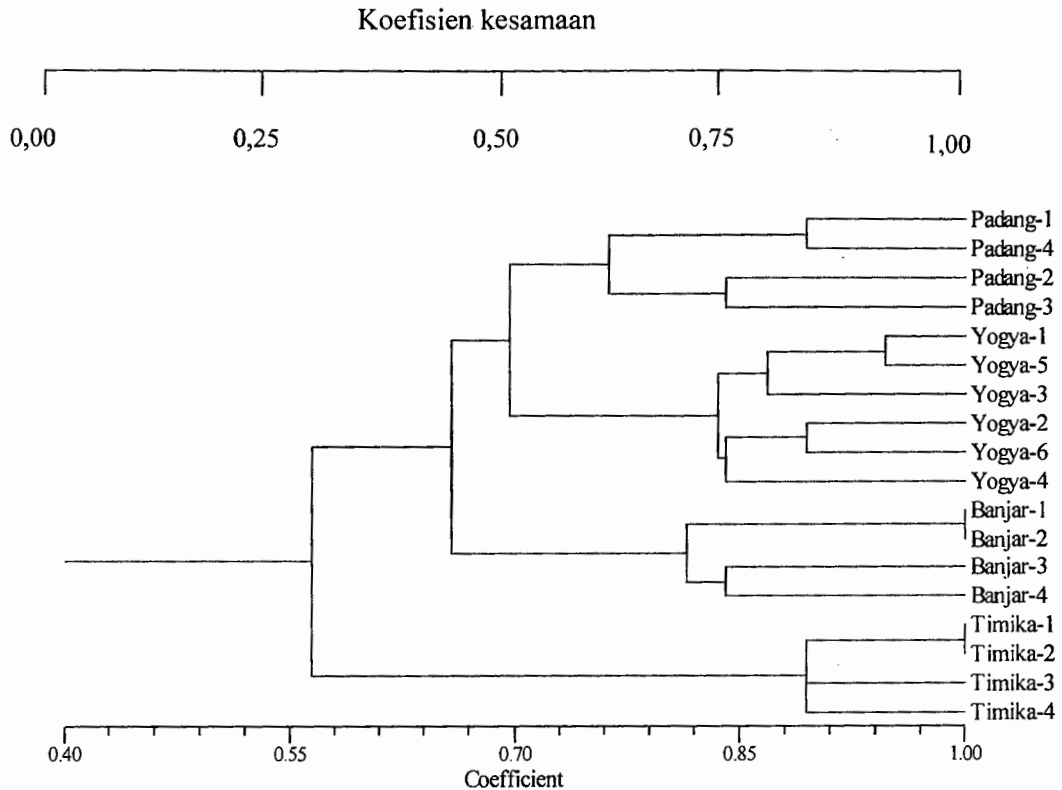
Banjar terpisah dengan kelompok nyamuk dari Yogyakarta dan Padang, dengan persentase perbedaan sebesar 61,0%. Pada pengelompokan ketiga, nyamuk Padang terpisah dengan nyamuk Yogyakarta, dengan persentase perbedaan sebesar 48,0% (GAMBAR 4).



GAMBAR 4. Dendogram hasil amplifikasi DNA nyamuk *Ae. albopictus* menggunakan primer B_2

Dendogram dari hasil amplifikasi DNA dengan primer B₁₆ menunjukkan pada pengelompokan pertama nyamuk Timika terpisah dengan nyamuk Padang, Yogyakarta dan Banjar, dengan persentase perbedaan sebesar 72,5%. Pada pengelompokan kedua, nyamuk Banjar terpisah dengan nyamuk

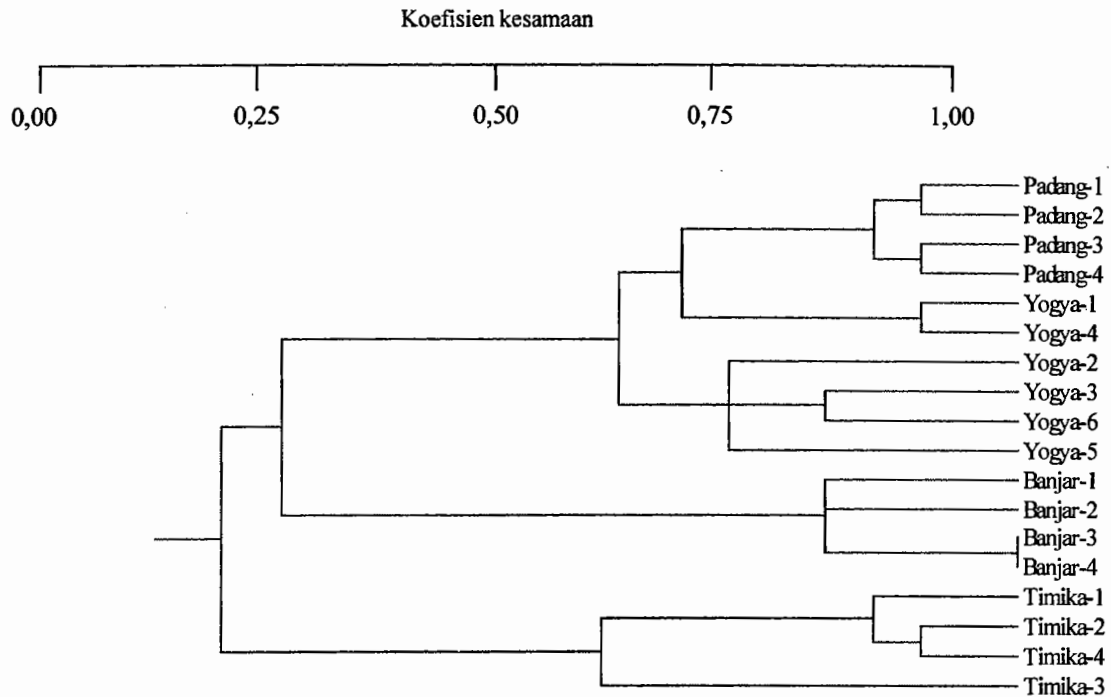
Yogyakarta dan Padang, dengan persentase perbedaan sebesar 57,0%. Pada pengelompokan ketiga, nyamuk Padang terpisah dengan nyamuk Yogyakarta, dengan persentase perbedaan sebesar 51,0% (GAMBAR 5.)



GAMBAR 5. Dendogram hasil amplifikasi DNA nyamuk *Ae. albopictus* menggunakan primer B₁₆

Dendogram dari hasil amplifikasi DNA dengan primer P₁ menunjukkan bahwa pada pengelompokan pertama nyamuk Timika terpisah dengan nyamuk Padang, Yogyakarta dan Banjar, dengan persentase perbedaan yang sangat tinggi yaitu 92,0%. Pada pengelompokan kedua, nyamuk Banjar terpisah dengan nyamuk Yogyakarta dan Padang, dengan persentase perbedaan 85,0%. Pada pengelompokan ketiga, nyamuk Padang terpisah dengan nyamuk Yogyakarta, dengan persentase perbedaan 46,0% (GAMBAR 6.).

Analisis kuantitatif ini dapat digunakan untuk memperkirakan jarak jauh dekatnya hubungan kekerabatan dari populasi nyamuk yang diteliti, dan dendogram yang terbentuk dapat memperjelas bukti terjadinya pemisahan pada kelompok individu nyamuk *Ae. albopictus* yang berasal dari populasi dengan kondisi geografis yang berbeda, yaitu Padang, Yogyakarta, Banjar dan Timika.



GAMBAR 6. Dendrogram hasil amplifikasi DNA nyamuk *Ae. albopictus* menggunakan primer P₁

PEMBAHASAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa populasi nyamuk Yogyakarta mempunyai tingkat polimorfisme DNA tertinggi, dan ditinjau dari fenomena genetik bahwa tingkat polimorfisme yang tinggi mengindikasikan tingkat polimorfisme genetik yang tinggi, maka nyamuk *Ae. albopictus* populasi Yogyakarta tingkat polimorfisme genetiknya paling tinggi dibandingkan populasi lain. Semakin tinggi tingkat polimorfisme genetik suatu organisme maka semakin dapat menyesuaikan diri terhadap perubahan lingkungannya. Menurut Passarge populasi dengan polimorfisme genetik yang lebih tinggi akan mempunyai daya adaptasi yang lebih besar jika dibandingkan dengan populasi yang individunya mempunyai polimorfisme genetik lebih rendah (lebih homogen)²⁰. Tinggi rendahnya tingkat polimorfisme di antara individu dalam suatu populasi dapat dipengaruhi oleh adanya seleksi, di antaranya oleh faktor ekologi²¹.

Analisis polimorfisme genetik nyamuk *Ae. albopictus* dari beberapa populasi di Indonesia baik secara kualitatif maupun kuantitatif menunjukkan bahwa nyamuk *Ae. albopictus* yang berasal dari Padang, Yogyakarta, Banjar dan Timika merupakan populasi yang berbeda. Keadaan ini disebabkan nyamuk *Ae. albopictus* yang diteliti berasal dari daerah yang terpisah jauh (alopatrik) dengan kondisi geografis yang berbeda, dan nyamuk mempunyai jarak terbang yang pendek, yaitu hanya beberapa ratus meter dari tempat perindukannya, bahkan untuk nyamuk *Aedes sp* hanya sekitar 50 m saja, sehingga penyebarannya juga terbatas²². Terbatasnya penyebaran nyamuk memungkinkan terjadinya isolasi spasial antara satu populasi dengan populasi yang lain, sehingga kemungkinan terjadinya perkawinan antar populasi semakin kecil, bahkan mungkin tidak terjadi perkawinan antar populasi (tidak terjadi aliran genetik). Pada masing-masing populasi akan terjadi reorganisasi genetik sendiri-sendiri, sesuai dengan tanggapan terhadap keadaan

lingkungan setempat. Pada akhirnya isolasi reproduksi akan terjadi sebagai akibat adanya perbedaan keanekaragaman genetik.

Populasi nyamuk Timika merupakan kelompok tersendiri dan terpisah dari kelompok populasi nyamuk lain (Padang, Yogyakarta, Banjar), dengan persentase perbedaan yang sangat tinggi, dan fenomena genetik ini menunjukkan bahwa di antara populasi tersebut telah benar-benar mengalami isolasi reproduksi, sehingga dapat dikatakan merupakan populasi tersendiri. Populasi nyamuk Banjar, Padang dan Yogyakarta, juga menunjukkan adanya keterpisahan, meskipun dengan jarak kekerabatan yang lebih dekat. Hasil tersebut menunjukkan perbedaan kondisi geografis lokasi pengambilan sampel mempengaruhi terjadinya perbedaan kelompok nyamuk yang diperiksa, seperti yang dikemukakan oleh Wallis *et al.*, bahwa lokasi geografis dapat mempengaruhi tingkat keanekaragaman genetik suatu populasi²³.

SIMPULAN

1. Populasi nyamuk *Ae. albopictus* dari beberapa daerah di Indonesia yaitu Padang, Yogyakarta, Banjar dan Timika yang secara geografis terpisah jauh menunjukkan variasi tingkat polimorfisme genetik yang nyata, dan masing-masing merupakan kelompok yang terpisah.
2. Populasi nyamuk Timika (daerah non endemis dengue) merupakan kelompok yang terpisah dari populasi Padang, Yogyakarta dan Banjar (daerah endemis dengue) dengan hubungan kekerabatan yang jauh.
3. Populasi nyamuk Padang, Yogyakarta dan Banjar juga masing-masing merupakan kelompok sendiri yang terpisah, walaupun dengan hubungan kekerabatan yang lebih dekat.

SARAN

1. Analisis genetik populasi merupakan suatu masalah yang kompleks, maka analisis dengan menggunakan satu cara dipandang hasilnya belum mencukupi, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan sampel yang lebih banyak dan mungkin juga dengan metode yang lebih beragam (*multiple-technique*).

2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan pada fragmen-fragmen spesifik pada nyamuk yang berasal dari suatu populasi untuk dapat mengetahui sifat apa yang disandi oleh fragmen spesifik tersebut, karena hal ini dapat membantu dalam memahami epidemiologi penyakit DBD di masa yang akan datang.

KEPUSTAKAAN

1. Sutaryo. An overview of dengue haemorrhagic fever in Indonesia. Workshop on molecular entomology. Center for Tropical Medicine Gadjah Mada University Yogyakarta, Februari, 1998.
2. Soegiyanto. Patogenesis demam berdarah dengue. Prosiding simposium demam berdarah dengue. Medan, 1992.
3. Ministry of Health Indonesia. Seminar on the commemoration of mosquito day in Yogyakarta. International seminar on mosquito control, Jogjakarta-Indonesia, August, 2003: 20-21.
4. Sukowati S, Enny WI, Hasyim M & Sukirno M. Studi fluktuasi populasi dan longivitas vektor DBD *Ae. aegypti* di Jakarta. Lokakarya Penelitian, Puslit Ekologi Kesehatan, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta, 1993.
5. Suroso T. A review of dengue hemorrhagic fever and its control in Indonesia. Seminar Recent Advance in Moleculer Diagnostic. Yogyakarta, 1997.
6. Tabachnick WJ, Wallis GP, Aitken THG, Miller BR, Amato BR, Lorenz L, *et al.* Oral infection of *Aedes aegypti* with yellow fever virus : geographic variation and genetic considerations. *Am J Trop Med Hyg*, 1985; 34: 1219-24.
7. Gubler DJ, Nalim S, Tan R, Saipan H, Sulianti Saroso J. Variation in susceptibility to oral infection with dengue viruses among geographic strains of *Aedes aegypti*. *Am J Trop Med Hyg*, 1979; 28: 1045-52.
8. Anggereini, E. Analisis tingkat keanekaragaman genetik nyamuk *Aedes aegypti* dari Kotamadya Bandung dengan menggunakan metoda random amplified polymorphic DNA (RAPD). (Thesis). Bandung: Institut Teknologi Bandung, 1998.
9. Efriwati. Analisis polimorfisme genetik *Aedes aegypti* dari daerah endemis dan non endemis DBD dengan RAPD-PCR. (Thesis). Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada, 1998.
10. Anonim. Mosquitoes and dengue. 2003. (cited 2003 May, 1) Available from URL: <http://www.biohaven.com/dengue.htm>
11. Reekie, A. Dengue and aedes. 2002 (cited 2003 May, 1) Available from URL: <http://www.geocities.com/prevent-dengue/articles/andrew.html>.
12. Munstermann, L.E. Mosquito systematics: Current status, new trends, Associated complications. *J Vector Ecology*, 1994; 20(2):129-38.

13. Collin, FH and Paskewitz SM. A review of the use of ribosomal DNA (rDNA) to differentiate among cryptic *Anopheles* species. *Insect Mol. Biol.* 1996; 5(1): 1-9.
14. Williams JGK, Kubelik AR, Livax KJ, Rafalski JA & Tingey SV. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic marker. *Nucl. Acids Res.* 1990; 18: 6531-5.
15. Welsh J. and McClellan M. Finger printing genomes using PCR with Arbitrary Primers. *Nucl Acids Rse.* 1990; 18: 7213-8.
16. Ministry of Health Indonesia. Guidance book for DHF prevention and control in Indonesia. Package B, Book 1-5. Jakarta: Ministry of Health of Indonesia, 1999.
17. WHO. Vector Control in International Health. Geneva: WHO, 1972.
18. Hoelzel AR. Molecular genetic analysis of populations, a practical approach. Oxford: IRL Press, Oxford University Press. 1994.
19. Sambrook J, Fritsclly EF and Maniatis T. *Molecular Cloning, A Laboratory Manual.* 1,2,3 Second Edition. New York: Cold Sping Harbor Laboratory Press, 1989.
20. Passarge E. *Color Atlas of Genetics.* Thieme. 1994.
21. Mayr E. *Animal species and evolution.* Cambridge: The Belking Press of Harvard University Press, 1973.
22. Fontenille D. and Rodhain F. Biology and distribution of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* in Madagascar. *J. Am. Mosq. Cont. Ass.* 1989; 5(2): 219-25.
23. Wallis P, Tabachnick WJ, Powell JR. Genetic heterogeneity among Caribbean populations of *Aedes aegypti*, *Am. J. Trop. Med Hyg.* 1984; 33(3) : 492-8.