



## Studi Keanekaragaman Spesies Nyamuk *Anopheles* sp. Di Kabupaten Donggala, Provinsi Sulawesi Tengah

(Study On diversity of *Anopheles* sp. of Donggala District, Central Sulawesi Province)

Mohammad Fahmi<sup>1\*</sup>, Fahri<sup>1</sup>, Anis Nurwidayati<sup>2</sup>, I Nengah Suwastika<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Tadulako Kampus Bumi Tadulako Tondo Palu, Sulawesi Tengah 94117

<sup>2</sup>Balai Penelitian dan Pengembangan Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang Donggala

Kecamatan Labuan Kabupaten Donggala, Sulawesi Tengah 94252

### ABSTRACT

The aim of this study is to determine the diversity of morphological and genetic variation of the *Anopheles* sp. This study was conducted in the periode of November 2013 - February 2014 in two (2) malaria endemic areas; Labuan Village, in North Donggala and Lalombi Village, in South Banawa of South Donggala Regency. Sample collection was done around cattle cage throughout the night between 18:00 to 6:00. The capture period was 15 minutes oh each, and it was done in every hour. The collection was done by using an aspirator and the sampel was stored in paper cup prior covered by gauze pads. Morphological identification of samples was performed at Entomology Laboratory, Vector Borne Disease Research and Development Unit Donggala. Identification was done based on O'connor and Soepanto (1981). Analysis of genetic was done by RAPD-PCR method. Morphological identification found that there were three (3) species of mosquitoes from the two (2) sites, namely *An. tesselatus*, *An. subpictus*, and *An. vagus*. The highest spesies diversity index obtained in the Lalombi village with  $H' = 1,07$  and the lowest value in the Labuan village with a value of  $H' = 0,33$ . RAPD analysis showed that there were similarity on DNA amplification band patterns on *An. tesselatus* from the village of Labuan and it from Lalombi. But interestingly, there were different on DNA amplification pattern of *An. vagus* from these two sites. This results indicating that the there was genetic variation on *An. vagus* from these two different villages, even though its have similarity in morphological characters.

**Keywords:** *Anopheles* sp., Morphological Character, RAPD-PCR, Donggala District, Central Sulawesi.

## ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keanekaragaman dari ciri morfologi dan variasi genetik spesies *Anopheles* sp. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2013 – Februari 2014 di dua (2) daerah endemik malaria yaitu desa Labuan kecamatan Labuan dan desa Lalombi kecamatan Banawa Selatan kabupaten Donggala. Koleksi sampel dilakukan setiap jam di sekitar kandang ternak sepanjang malam antara pukul 18.00-06.00 dengan lama penangkapan masing-masing 15 menit. Koleksi dilakukan menggunakan aspirator dan sampel nyamuk disimpan dalam paper glass kemudian ditutup dengan kain kassa. Identifikasi morfologi sampel dilakukan di Laboratorium Entomologi Balai Penelitian dan Pengembangan Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang (Balai Litbang P2B2 Donggala). Identifikasi sampel berdasarkan O'connor dan Soepanto (1981). Analisis variasi genetik dilakukan dengan RAPD-PCR untuk mengamplifikasi fragmen DNA *Anopheles* secara acak tanpa harus mengetahui terlebih dahulu urutan nukleotida DNA target. Hasil identifikasi secara morfologi didapatkan tiga (3) jenis nyamuk yang sama di dua (2) lokasi penelitian, yaitu *An. tessellatus*, *An. subpictus*, dan *An. vagus*. Indeks Keanekaragaman spesies tertinggi diperoleh di desa Lalombi dengan nilai  $H' = 1,07$  dan terendah di desa Labuan dengan nilai  $H' = 0,33$ . Hasil amplifikasi menunjukkan pola pita *An. tessellatus* di desa Labuan mirip dengan *An. tessellatus* di desa Lalombi. Pola pita DNA *An. vagus* di desa Labuan berbeda dengan *An. vagus* di desa Lalombi. Hasil Amplifikasi RAPD-PCR menunjukkan variasi genetik dari *An. vagus* yang desa Labuan dan desa Lalombi, meskipun memiliki kesamaan pada karakter morfologi.

**Kata Kunci :** *Anopheles* sp., Karakter Morfologi, RAPD-PCR, Kabupaten Donggala, Sulawesi Tengah.

## I. LATAR BELAKANG

Nyamuk merupakan salah satu ektoparasit pengganggu yang merugikan kesehatan manusia. Hal tersebut disebabkan kemampuannya sebagai vektor berbagai penyakit. Salah satunya adalah *Anopheles* sp. yang merupakan vektor dari penyakit malaria. *Anopheles* dapat dinyatakan sebagai vektor penyakit malaria di suatu daerah apabila terbukti positif mengandung sporozoit dalam kelenjar ludahnya. Di Indonesia sebanyak 22 spesies nyamuk *Anopheles* yang telah

dikonfirmasi sebagai vektor penyakit malaria dengan tempat perindukan yang berbeda-beda (Departemen Kesehatan, 2007), termasuk 7 spesies di wilayah propinsi Sulawesi Tengah (Departemen Kesehatan, 2003).

Perbedaan kondisi habitat dan sosial masyarakat juga akan mempengaruhi distribusi *Anopheles* di suatu daerah. Dinas Kesehatan Propinsi Sulteng (2010), melaporkan bahwa kabupaten Donggala pada tahun 2008-2010

**Studi Keanekaragaman Spesies Nyamuk *Anopheles* sp.**  
(Fahmi dkk)

masih menjadi daerah dengan tingkat endemisitas yang tinggi dengan data *Annual Malaria Incidence* (AMI) berturut-turut 30,19 %, 30,91 %, 36,15 %. Menurut Chadijah (2006), data malaria dari Puskesmas Lembasada menunjukkan bahwa AMI pada tahun 2001 – 2003 adalah 19,7 %, 28,5%, dan 19,8%. Rosmini dkk (2010), melaporkan bahwa data AMI di Puskesmas Labuan berturut-turut adalah 8,4 %, 5,8 %, dan 11,2 %. Ketiga data tersebut memberikan informasi bahwa di daerah Lembasada merupakan daerah dengan endemisitas malaria sedangkan di daerah Labuan termasuk daerah malaria tingkat endemisitas rendah.

Hingga saat ini, penanganan kasus malaria masih terkendala, salah satunya karena keterbatasan informasi mengenai identifikasi ciri morfologi dan identifikasi secara molekuler pada nyamuk *Anopheles* sebagai vektor baik dari daerah dengan endemisitas tinggi maupun rendah. Oleh karena itu masih diperlukan penelitian mengenai keanekaragaman spesies *Anopheles* di daerah endemik di Kabupaten Donggala.

Identifikasi morfologi yang tepat dapat berguna untuk mengetahui karakter dan jumlah spesies sehingga dapat memberikan gambaran keanekaragaman *Anopheles* di suatu daerah, sehingga diharapkan dapat digunakan sebagai landasan ilmiah dalam penanganan kasus

malaria sesuai dengan daerah/geografi penyebarannya.

## II. BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan pada Bulan November 2013 sampai Februari 2014. Survei nyamuk dilakukan di desa Lalombi kecamatan Banawa Selatan Kabupaten Donggala, dan desa Labuan Toposo kecamatan Labuan kabupaten Donggala. Identifikasi morfologi nyamuk dan analisis molekuler dilakukan di Laboratorium Entomologi dan laboratorium Biomolekuler Balai Litbang Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang (P2B2) Donggala.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode survei dan dilanjutkan dengan metode deskriptif. Metode survei digunakan untuk menentukan lokasi penangkapan nyamuk. Metode deskriptif digunakan untuk menentukan ciri-ciri morfologi nyamuk yang mengacu pada kunci determinasi nyamuk O'Connor dan Soepanto (1981). Teknik RAPD-PCR untuk menentukan variasi genetik.

Penangkapan nyamuk dilakukan dengan metode koleksi bebas yaitu menangkap nyamuk yang berada disekitar kandang ternak dengan menggunakan aspirator. Penangkapan ini dilakukan di kandang ternak untuk mengetahui aktivitas *Anopheles* sp. yang bersifat *zoophilik* menggigit ternak sebagai umpan. Sampel yang tertangkap dimasukkan ke dalam *paper cup* kemudian ditutup dengan kain kasa, di atasnya

**Studi Keanekaragaman Spesies Nyamuk *Anopheles* sp.**  
(Fahmi dkk)

diletakkan kapas yang telah diberi makanan nyamuk agar nyamuk tetap hidup sampai pada proses identifikasi di laboratorium.

Penangkapan nyamuk yang hinggap di kandang ternak dilakukan sepanjang malam (*all night collection*) selama 12 jam yakni pada malam hari antara pukul 18.00 – 06.00 dengan masing-masing lama penangkapan selama 15 menit dan selang waktu 1 jam.

Nyamuk yang berhasil ditangkap kemudian diidentifikasi. Identifikasi dilakukan di laboratorium entomologi Balai Litbang P2B2 Donggala berdasarkan kunci determinasi O'Connor dan Soepanto (1981) dengan dibantu oleh teknisi dan peneliti Balai Penelitian dan Pengembangan Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang (P2B2) Donggala

Ekstraksi DNA dengan menggunakan metode QiAmp, sampel nyamuk dihaluskan ke dalam *eppendorf tube* (1 ekor per tube *eppendorf*) dengan pelarutan PBS  $\pm$  15-20  $\mu$ l. Selanjutnya ditambahkan 180 $\mu$ l *Genomic Digestion Buffer*, dan 20 $\mu$ l Proteinase-K. Sebelum sampel di inkubasi di *waterbath* suhu 55°C, selama 1-4 jam, setiap 30 menit tube dibolak-balik dan divortex selama 5 detik sampai jaringan lisis sempurna. Campuran disentrifuge dengan kecepatan maksimal, suhu ruang, selama 5 menit, hingga diperoleh supernatan. RNA pada supernatan dihilangkan dengan 20 $\mu$ l RNase A. Selanjutnya DNA dipisahkan dengan 25 $\mu$ l

elution buffer menggunakan spin kolom. DNA disimpan di suhu -20°C untuk penyimpanan dalam jangka waktu lama, atau di suhu 4°C untuk penggunaan segera.

Amplifikasi DNA dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dilakukan berdasarkan intruksi manual *Quick Taq HS Dye Mix 1106* dengan beberapa modifikasi. Volume reaksi amplifikasi adalah 20  $\mu$ l yang terdiri dari 8.2  $\mu$ l *Milli-Q*, 0.8  $\mu$ l (10 pico mol) *primer RAPD*, 10  $\mu$ l *Quick Taq® HS DyeMix (Toyobo)* dan 1  $\mu$ l (4 ng) template DNA. Primer *RAPD* yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: OPL12 ; GGGCGGTACT.

Proses PCR dilakukan dengan tahap: *pradenaturation* pada suhu 94°C selama 2 menit, *denaturation* pada suhu 94°C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 50°C selama 30 detik, dan *extention* pada suhu 68°C selama 3 menit. Proses *denaturation* hingga *extention* diulang sebanyak 30 kali putaran.

Produk amplifikasi dipisahkan dengan elektroforesis pada gel agarose menggunakan *TAE buffer* dengan pewarna *Ethidium Bromida* (1%). DNA diamati dengan *transilluminator* UV. Pembacaan hasil amplifikasi pita DNA yang muncul dilakukan dengan teknik pensejajaran tiap pita-pita DNA yang muncul dengan bantuan *DNA ladder*.

Analisa data dalam penelitian keanekaragaman spesies *Anopheles* meliputi :

**Studi Keanekaragaman Spesies Nyamuk *Anopheles* sp.**  
(Fahmi dkk)

**a. Keanekaragaman *Anopheles* sp. (H')**

Menggunakan rumus menurut Shannon-whiener, yaitu :

$$H' = - \sum (\text{Error! Reference source not found.}) \ln (\text{Error! Reference source not found.})$$

Keterangan :

H' = Indeks keanekaragaman jenis

ni = Jumlah individu spesies tertentu

N = Total individu nyamuk *Anopheles*  
Tertangkap

**b. Kelimpahan Nisbi (KN)**

Kelimpahan Nisbi adalah perbandingan jumlah individu spesies nyamuk *Anopheles* tertentu terhadap total jumlah spesies nyamuk yang diperoleh, dan dinyatakan dalam persen (Muhammad, 2013).

$$KN = \text{Error! Reference source not found.}$$

**c. Frekuensi Nyamuk Tertangkap (FN)**

Frekuensi nyamuk tertangkap dihitung berdasarkan perbandingan antara jumlah penangkapan diperolehnya *Anopheles* spesies

tertentu terhadap jumlah total penangkapan (Muhammad, 2013).

$$FN = \frac{\sum \text{Penangkapan diperolehnya } Anopheles \text{ spesies tertentu}}{\sum \text{Total penangkapan}} \times 100\%$$

or! Reference source not found.

**d. Dominansi Spesies (%)**

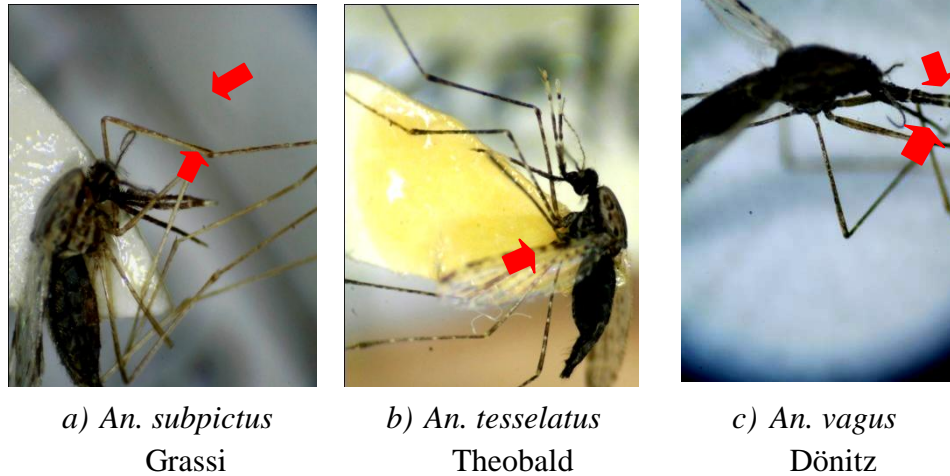
Angka dominansi spesies dihitung berdasarkan hasil perkalian antara kelimpahan nisbi dengan frekuensi nyamuk tertangkap spesies tersebut dalam satu waktu penangkapan (Muhammad, 2013).

$$\text{Dominansi spesies} = \text{Kelimpahan nisbi} \times \text{Frekuensi tertangkap}$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

**A. Deskripsi spesies *Anopheles* sp. berdasarkan karakter morfologi.**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jenis *Anopheles* di desa Lalombi dan Labuan yang ditemukan dengan metode *resting collection* di sekitar kandang sapi, terdiri atas tiga spesies yang sama, yaitu *An. subpictus* Grassi, *An. vagus* Dönitz, dan *An. tessellatus* Theobald.



**Gambar 1 : Keanekaragaman spesies *Anopheles* di desa Lalombi kecamatan Banawa Selatan dan desa Labuan Toposo kecamatan Labuan, kabupaten Donggala. (sumber : Fahmi, 2013)**

Keterangan : tanda panah merah (➔) merupakan ciri khas dari tiap-tiap spesies *Anopheles*

*An. subpictus* Grassi mempunyai ciri seluruh probosis berwarna gelap. Ujung palpi terdapat gelang pucat dengan ukuran panjang sama dengan gelang gelap *sub apical*. *Tarsus* kaki depan terdapat gelang lebar dan *femur* serta *tibia* tidak berbercak (O'Connor, 1981) (Gambar 1a).

*An. tessellatus* Theobald mempunyai ciri sekurang-kurangnya 4 gelang pucat terdapat pada palpi. Sternit abdomen yang ke dua sampai ke tujuh tidak terdapat sikat-sikat yang terdiri dari sisik gelap. *Tarsus* kaki belakang terdapat gelang-gelang pucat kecil (O'Connor, 1981) (Gambar 1b).

*An. vagus* Dönitz mempunyai ciri pada ujung probosis terdapat sedikit bagian yang

pucat. Ujung palpus terdapat gelang pucat yang memiliki panjang tiga kali dari gelang gelap dibawahnya (O'Connor, 1981) (Gambar 1c).

Berdasarkan pengelompokkan Subgenus, *An. vagus* Dönitz, *An. tessellatus* Theobald, *An. subpictus* Grassi yang ditemukan seluruhnya termasuk ke dalam Subgenus *Cellia* (Dharmawan, 1993).

## **B. Kepadatan Nyamuk *Anopheles* sp.**

Nyamuk *Anopheles* yang tertangkap berfluktuasi pada setiap penangkapan. Jumlah dan persentase spesies nyamuk *Anopheles* yang tertangkap disekitar kandang sapi di desa Lalombi maupun di desa Labuan disajikan pada Tabel 1.

**Studi Keanekaragaman Spesies Nyamuk *Anopheles* sp.**  
(Fahmi dkk)

Nyamuk *Anopheles* yang didapat di Desa Lalombi sebanyak 18 individu dengan kelimpahan nisbi *An. subpictus* Grassi (38,89%) sama dengan *An. tesselatus* Theobald (38,89%) dan terrendah *An. vagus* Dönitz (22,22%), sedangkan nyamuk *Anopheles* yang didapatkan di Desa Labuan sebanyak 47 individu dengan kelimpahan nisbi tertinggi *An. vagus* Dönitz (91,49%) dan *An. subpictus* Grassi (6,38%) dan terrendah *An. tesselatus* Theobald (2,13%) (Tabel 1).

Secara keseluruhan terlihat bahwa nyamuk *An. vagus* Dönitz yang ada di Desa Labuan jauh lebih banyak tertangkap dibandingkan nyamuk *An. vagus* Dönitz yang ada di Desa Lalombi. Uraian tersebut memperlihatkan perbedaan kelimpahan nisbi nyamuk *Anopheles* pada dua daerah yang berbeda dikabupaten Donggala.

Kelimpahan nisbi, frekuensi, dan dominansi nyamuk *Anopheles* yang tertangkap di sekitar kandang sapi di Desa Lalombi dan Desa Labuan dapat dilihat pada Tabel 2 dan Tabel 3.

Dominansi *Anopheles* yang tertinggi di Desa Lalombi adalah *An. subpictus* Grassi yaitu 16,33 dengan frekuensi 0,42, kemudian *An. tesselatus* Theobald yaitu 12,83 dengan frekuensi 0,33, dan dominansi terrendah adalah *An. vagus* Dönitz yaitu 5,56 dengan frekuensi 0,25 (Tabel 2). *An. vagus* Dönitz di

Desa Labuan merupakan spesies yang memiliki dominansi tertinggi yaitu 68,62 dengan frekuensi 0,75, kemudian *An. subpictus* Grassi yaitu 1,59 dengan frekuensi 0,25, dan dominansi terrendah adalah *An. tesselatus* Theobald yaitu 0,17 dengan frekuensi 0,08 (Tabel 3).

Tingginya dominansi *An. vagus* Dönitz di Desa Labuan menunjukkan kemampuan spesies tersebut untuk beradaptasi yang spesifik terhadap lingkungan tempatnya untuk berkembangbiak, begitu pula dengan dominansi *An. subpictus* Grassi di Desa Lalombi (*Personal Observation*).

Berdasarkan uraian di atas, jika dikaitkan dengan beberapa penemuan vektor *Anopheles* di daerah lain yang juga merupakan daerah endemis malaria terdapat beberapa spesies *Anopheles* yang sama. Syafruddin dkk (2010) mendapatkan sepuluh spesies *Anopheles* di Lampung Selatan yaitu *An. aconitus*, *An. annularis*, *An. barbirostris*, *An. indefinitus*, *An. kochi*, *An. minimus*, *An. subpictus*, *An. sundaicus*, *An. tesselatus*, dan *An. vagus*, sedangkan dipurworejo ditemukan delapan spesies yaitu *An. flavirostris*, *An. maculatus*, *An. tesselatus*, dan *An. vagus*.

Munif (2007) di Kecamatan Lengkonng Kabupaten Sukabumi menemukan enam spesies *Anopheles* yaitu *An. barbirostris*, *An. aconitus*, *An. maculatus*, *An. vagus*, *An. kochi*,

*An. tessellatus*. Jastal (2005) juga melaporkan di desa Tongoa terdapat delapan spesies nyamuk *Anopheles* yaitu *An. barbirostris*, *An. nigerrimus*, *An. barbumbrosus*, *An. tessellatus*, *An. vagus*, *An. kochi*, *An. punctulatus*, dan *An. maculatus*.

Adanya perbedaan spesies *Anopheles* pada setiap daerah merupakan sifat khas lokal, disamping faktor lingkungan yang menyediakan habitat dengan perbedaan kandungan sumber makanan yang cukup bagi nyamuk *Anopheles* tersebut juga ketinggian dari permukaan laut (Sulaeman, 2004).

Desa Lalombi dan Labuan mempunyai kondisi geografis dan demografis yang menunjang terbentuknya tempat perkembangbiakan nyamuk seperti permukiman penduduk yang berdampingan dengan persawahan, adanya perkebunan dengan tanaman tahunan (coklat, pisang, nangka, mangga, dan lain-lain). irigasi dan anak irigasi, rawa-rawa maupun bekas galian di pinggir sawah dan kebun yang berisi air, sehingga sangat mempengaruhi keragaman dan kemampuan nyamuk *Anopheles* untuk berkembang biak (*Personal Observation*).

### **C. Kepadatan *Anopheles* sp. berdasarkan waktu penangkapan**

Hasil penangkapan yang dilakukan di dua Desa di Kabupaten Donggala, di Desa Lalombi menunjukkan kepadatan nyamuk

*Anopheles* yang tertangkap di tiap jamnya didominasi oleh *An. tessellatus* Theobald sebanyak 4 individu pada pukul 05.00-06.00 (Tabel 4 dan Gambar 2). Sedangkan, di Desa Labuan kepadatan nyamuk tertinggi yang tertangkap di tiap jamnya didominasi *An. vagus* Dönitz pada pukul 02.00-03.00 dan rasio tangkapan paling kecil ditemui pada nyamuk *An. tessellatus* Theobald di setiap jamnya selama penangkapan (Tabel 5 dan Gambar 3).

Nyamuk *An. subpictus* Grassi dan *An. tessellatus* Theobald di desa Lalombi ditemukan pada awal malam sampai pagi di sekitar kandang ternak. Kepadatan tertinggi tertangkapnya nyamuk *An. subpictus* Grassi yaitu pada pukul 21.00-22.00 dan pukul 24.00-01.00 diperoleh 4 individu, sementara *An. tessellatus* Theobald kepadatan tertinggi tertangkap disekitar kandang ditemukan pada akhir penangkapan yaitu pukul 05.00-06.00.

Hal yang sama ditemukan pada penangkapan *An. tessellatus* di desa Tongoa Kecamatan Palolo (Jastal,2005). Kepadatan tertinggi *An. vagus* ditemukan pada pukul 23.00-24.00. Hal ini sesuai dengan penelitian Jastal (2005) yang melaporkan bahwa puncak kepadatan *An. vagus* paling banyak ditemukan menghisap darah hewan pada pukul 22.00-24.00.



Koleksi nyamuk *An. vagus* Dönitz tertinggi pada pukul 02.00-03.00 diperoleh 10 individu, spesies lain yang tertangkap dalam jumlah kecil adalah *An. subpictus* Grassi yang tertangkap dari pukul 22.00 sampai 04.00 diperoleh 3 individu dan *An. tessellatus* Theobald tertangkap pada pukul 23.00-24.00 dengan jumlah 1 individu. Uraian tersebut memperlihatkan perbedaan spesies tertangkap di tiap jamnya di dua desa yang berbeda. Adanya perbedaan ini dapat disebabkan oleh sifat dari hospes itu sendiri, ketertarikan nyamuk pada inangnya, kandungan makanan yang tersedia, serta faktor cuaca pada saat penelitian berlangsung.

#### **D. Keanekaragaman Spesies *Anopheles***

Indeks keanekaragaman spesies *Anopheles* yang ditemukan di dua (2) desa disajikan pada tabel 2 dan 3, dapat diketahui keanekaragaman jenis *Anopheles* tertinggi ditemukan di desa Lalombi (1,07) sedangkan di desa Labuan diperoleh nilai terendah (0,33). Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan keanekaragaman jenis dipengaruhi oleh jumlah spesies dan kemampuan spesies bertahan hidup dalam habitatnya (Sulaeman, 2004). Penelitian ini difokuskan pada nyamuk *Anopheles* yang bersifat *zoofilik* yang tertangkap disekitar kandang ternak, sebagaimana yang dilaporkan oleh Sulaeman (2004) bahwa hewan ternak pada umumnya

lebih banyak menarik spesies *Anopheles* dibandingkan jenis Umpan Orang Dalam (UOD) dan Umpan Orang Luar (UOL). Hal ini dapat lebih mudah dijangkau nyamuk karena dekat dengan habitat nyamuk *Anopheles* maupun faktor berat badan dan bobot dari ternak.

Dari penangkapan yang dilakukan selama 12 jam di dua (2) desa, penangkapan di desa Lalombi dilakukan dalam kondisi hujan turun sehingga jumlah nyamuk yang tertangkap sedikit (*Personal Observation*). Hal ini di dukung oleh penelitian Muhammad (2013) yang menyatakan bahwa penangkapan yang dilakukan dalam kondisi hujan turun pada tengah malam mengakibatkan jumlah nyamuk yang tertangkap sedikit. Suhu dan Kelembaban juga berpengaruh terhadap kepadatan nyamuk di suatu tempat.

#### **E. Hasil Amplifikasi DNA *Anopheles***

Amplifikasi DNA genom menggunakan primer OPL12 (5'GGGCGGTACT3') (kode GenBank NCBI Z68620.1.). Primer ini digunakan untuk semua sampel *Anopheles* sp. Hasil analisa menunjukkan bahwa primer OPL12 yang digunakan bekerja dengan baik karena memperlihatkan pita DNA hasil PCR yang berbeda antara sampel yang satu dengan sampel yang lainnya (Gambar 4).

Perhitungan polimorfisme secara kualitatif dilakukan dengan menganalisis

semua pita DNA yang diperoleh dari hasil amplifikasi. Tingkat polimorfisme diantara tiap individu diberi angka (skor) atas dasar ditemukan atau tidaknya pita DNA yang diamplifikasi. Fragmen yang terdapat pita diberi angka 1 sedangkan yang tidak terdapat pita diberi angka 0 (Tabel 6).

Berdasarkan Hasil analisis urutan DNA yang diamplifikasi dengan menggunakan primer OPL12, memperlihatkan pola pita yang bervariasi dari tiap sampel DNA *Anopheles*. Primer ini berperan menentukan berapa banyak variasi genetik yang dapat diidentifikasi. Untuk memperoleh komposisi dari pola pita DNA pada *Anopheles* dihitung melalui kehadiran pola pitanya. Pita DNA yang selalu muncul pada semua sampel *Anopheles* sp. yang dibandingkan disebut pita DNA yang monomorfik, sebaliknya pita DNA yang hanya hadir pada beberapa sampel yang dibandingkan disebut pita DNA yang polimorfik. *An. tessellatus* Theobald memiliki 3 pita monomorfik dan 2 pitapolimorfik, *An. subpictus* Grassi memiliki 2 pita monomorfik, dan *An. vagus* Dönitz memiliki 7 pita polimorfik dan hanya 1 pita yang monomorfik.

Hasil amplifikasi DNA *Anopheles* menggunakan primer OPL12 terdapat pita DNA antara 350 bp sampai 3000 bp sebanyak 14 pita DNA (Gambar 4 dan Tabel 6).

Pemakaian primer OPL12 terhadap sampel *An. tessellatus* Theobald dari desa Labuan dan desa Lalombi menghasilkan pita yang monomorfik, yaitu yang berukuran 1950 bp, 2200 bp, 2500 bp, sedangkan pita polimorfik berukuran 350 bp dan 500 bp yang muncul pada sampel DNA *An. tessellatus* Theobald desa Labuan. Berdasarkan hasil skoring pita DNA sampel *An. tessellatus* Theobald desa Lalombi dan desa Labuan belum dapat dibedakan dengan primer OPL 12, sebab pita monomorfik yang nampak lebih banyak dibandingkan pita polimorfik kedua sampel. Pita monomorfik ini berguna untuk identitas spesies sebagai penanda genetik (Munif, 2004). Hal ini menandakan *An. tessellatus* Theobald desa Lalombi dan desa Labuan memiliki kemiripan secara genetik.

Pada sampel *An. vagus* Dönitz yang berasal dari desa Labuan dan desa Lalombi ditemukan pita monomorfik yang berukuran 1000 bp, sedangkan pita polimorfik ditemukan pada ukuran 400 bp, 650 bp, 1000 bp, 1500 bp, 2200 bp, 2500 bp, dan 3000 bp. Berdasarkan hasil skoring pita DNA sampel *An. vagus* Dönitz desa Labuan dan desa Lalombi dapat dibedakan secara genetik dengan OPL12, sebab pita polimorfik yang nampak lebih banyak dibandingkan dari pita monomorfik. Terjadinya perbedaan tingkat polimorfisme tersebut karena primer

mengamplifikasi DNA genom yang bervariasi.

Semakin banyak variasi daerah DNA genom yang diamplifikasi oleh primer semakin tinggi juga tingkat polimorfisme suatu organisme (Munif, 2004). Hal ini menandakan bahwa *An. vagus* Dönitz desa Labuan dan desa Lalombi memiliki perbedaan secara genetik dengan adanya pola pita DNA yang bervariasi pada tiap spesies dibandingkan dengan spesies *An. subpictus* Grassi dan *An. tessellatus* Theobald. Sampel *An. subpictus* Grassi desa Lalombi menghasilkan pita DNA yang polimorfik pada ukuran 1950 bp dan 2500 bp.

Perbedaan kondisi geografis dari masing-masing desa kemungkinan dapat menyebabkan variasi terhadap satu atau beberapa urutan pita DNA pada spesies nyamuk *An. vagus* Dönitz, *An. tessellatus* Theobald, dan *An. subpictus* Grassi. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Kambhampati dkk (1992) bahwa isolasi geografis menyebabkan perbedaan DNA itu sendiri bagi spesies yang sama.

Hasil penelitian di desa Lalombi dan desa Labuan Kabupaten Donggala Diperoleh 3 spesies nyamuk *Anopheles* yang sama, yaitu *An. subpictus* Grassi, *An. tessellatus* Theobald, *An. vagus* Dönitz. Keanekaragaman spesies *Anopheles* tertinggi ditemukan di desa

Lalombi (1,07) dan desa Labuan (0,33). Tingkat polimorfisme genetik tertinggi ditemukan pada sampel *An. vagus* dibandingkan *An. subpictus* dan *An. tessellatus*.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Bapak Jastal, S.KM, M.Si. (Kepala Balai Litbang P2B2 Donggala), Bapak Yusran Udin, SKM, M.Kes, Bapak Drh. Gunawan, Ibu Risti, SKM, Pemerintah Desa Lalombi, dan Desa Labuan, atas izin penelitian dan dukungan yang telah diberikan selama penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- Dharmawan, 1993, *Metode Identifikasi Spesies Kembar Nyamuk Anopheles*. Sebelas Maret University Press, Surakarta.
- Departemen Kesehatan, 2007, *Vektor Malaria di Indonesia*. Ditjen PPM dan PL. Jakarta.
- Dinas Kesehatan Propinsi Sulteng, 2010, *Angka Kesakitan Penyakit Malaria Tahun 2008-2010*, Sub. Din Bina PPPL. Dinas Kesehatan Propinsi Sulawesi Tengah, Palu, 27-28.
- Jastal, 2005, *Perilaku Nyamuk Anopheles Menghisap Darah Di Desa Tongoa, Donggala, Sulawesi tengah*, [Thesis] Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Kambhampati, S., Black, W.C., Rai, K., 1992, *Random Amplified Polymorphic DNA Of Mosquito Species And Populations (Diptera: Culicidae): Techniques, Statistical Analysis, And Applications*. J. Med. Entomol. 29(6) : 939-945.

Muhammad, R., 2013, *Keragaman Jenis dan Karakterisasi Habitat Anopheles Di Desa Datar Luas, Krueng Sabee, Aceh Jaya, Provinsi Aceh*. [Thesis] Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Munif, A., Sudomo, M., Soelaksono, S., Maelita, R., Agus, D.P., 2004, *Polimorfisme Genetik dari Anopheles barbirostris Kaitannya Dengan Prevalensi Malaria Di Kecamatan Cineam, Kabupaten Tasikmalaya*, Bul. Penel. Kesehatan, Vol. 32, No. 1, 2004 : 1-16.

Munif, A., Sudomo, M., Soekirno, 2007, *Bionomi Anopheles spp. Di Daerah Endemis Malaria Di Kecamatan Lengkung Kabupaten Sukabumi*. Bul. Penel. Kesehatan, vol. 35, No.2, 2007 : 57-80.

O'Connor CT., Soepanto A., 1981, *Identifikasi Nyamuk Anopheles Betina di Sulawesi*. Ditjen P2MPL, Depkes RI:2000

Rosmini, Jastal, Srikandi. Y., Labatjo, Y., Risti, 2010. *Density And Biting Activity Vector Of Malaria In Labuan And Sindue Subdistrict Donggala District Central Sulawesi*. Jurnal Vektor Penyakit, Vol.4 No.1. April 2010 : 9-16.

Sulaeman, D.S., 2004, *Studi Komunitas Dan Populasi Nyamuk Anopheles Di Desa Bolapapu, Sulawesi Tengah, Kaitannya Dengan Epidemiologi Malaria*. [Thesis] Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Syafruddin, D., Hidayati, A.PN., Asih, P.BS., Hawley, W.A., Sukowati, S., Lobo, N.F., 2010, *Detection of 1014F kdr Mutation In Four Mayor Anophelinae Malaria Vectors In Indonesia*. Malaria Journal 9(315) : 1-8.

## Tabel dan Gambar

**Tabel 1. Jumlah dan persentase nyamuk *Anopheles* yang tertangkap disekitaran kandang sapi di Desa Lalombi dan Desa Labuan.**

Spesies	Desa			
	Lalombi		Labuan	
	Jumlah	Persentase %	Jumlah	Persentase %
<i>An. subpictus</i> Grassi	7	38,89	3	6,38
<i>An. vagus</i> Dönitz	4	22,22	43	91,49
<i>An. tesselatus</i> Theobald	7	38,89	1	2,13
Total	18	100	47	100

**Tabel 2. Kelimpahan nisbi, frekuensi, dan dominansi *Anopheles* yang tertangkap di sekitar kandang sapi di Desa Lalombi.**

Spesies	Kelimpahan Nisbi (%)	Frekuensi	Dominansi	H'
<i>An. subpictus</i> Grassi	38,89	0,42	16,33	0,37
<i>An. vagus</i> Dönitz	22,22	0,25	5,56	0,33
<i>An. tesselatus</i> Theobald	38,89	0,33	12,83	0,37
Total	100	1	34,72	1,07

**Tabel 3. Kelimpahan nisbi, frekuensi, dan dominansi *Anopheles* yang tertangkap di sekitar kandang sapi di Desa Labuan.**

Spesies	Kelimpahan Nisbi (%)	Frekuensi	Dominansi	H'
<i>An. subpictus</i> Grassi	6,38	0,25	1,59	0,17
<i>An. vagus</i> Dönitz	91,49	0,75	68,62	0,08
<i>An. tesselatus</i> Theobald	2,13	0,08	0,17	0,08
Total	100	1,08	70,38	0,33

**Tabel 4. Rata-rata kepadatan *Anopheles* yang tertangkap tiap jam di sekitar kandang sapi, di desa Lalombi, kecamatan Banawa Selatan.**

Jam Penangkapan	<i>An. subpictus</i> Grassi	<i>An. vagus</i> Dönitz	<i>An. tesselatus</i> Theobald	Jumlah
18.00-19.00	1	1	1	3
19.00-20.00	0	0	1	1
20.00-21.00	0	0	0	0
21.00-22.00	2	1	0	3
22.00-23.00	0	0	0	0
23.00-24.00	0	2	0	2
24.00-01.00	2	0	0	2
01.00-02.00	0	0	1	1
02.00-03.00	0	0	0	0
03.00-04.00	0	0	0	0
04.00-05.00	1	0	0	1
05.00-06.00	1	0	4	5
Jumlah	7	4	7	18

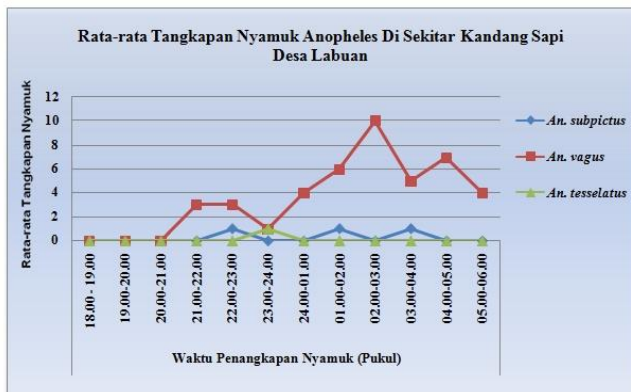
**Studi Keanekaragaman Spesies Nyamuk *Anopheles* sp.**  
(Fahmi dkk)

Tabel 5. Rata-rata kepadatan *Anopheles* yang tertangkap tiap jam di sekitar kandang sapi, di desa Labuan, kecamatan Labuan.

Jam Penangkapan	<i>An. subpictus</i> Grassi	<i>An. vagus</i> Dönitz	<i>An. tessellatus</i> Theobald	Jumlah
18.00-19.00	0	0	0	0
19.00-20.00	0	0	0	0
20.00-21.00	0	0	0	0
21.00-22.00	0	3	0	3
22.00-23.00	1	3	0	4
23.00-24.00	0	1	1	2
24.00-01.00	0	4	0	4
01.00-02.00	1	6	0	7
02.00-03.00	0	10	0	10
03.00-04.00	1	5	0	6
04.00-05.00	0	7	0	7
05.00-06.00	0	4	0	4
Jumlah	3	43	1	47



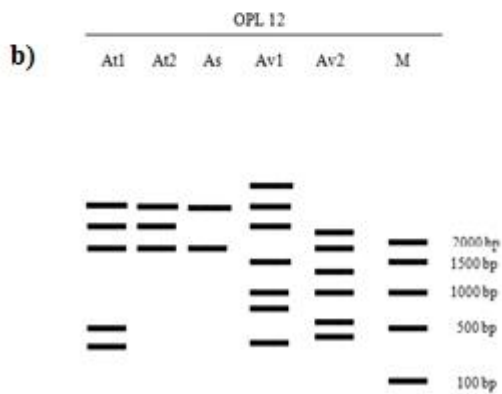
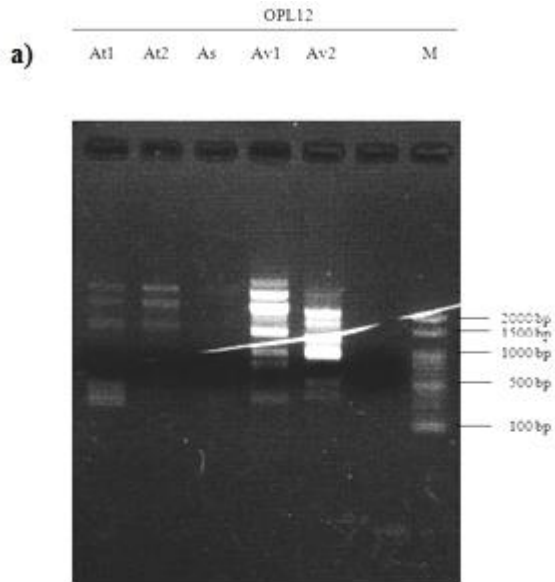
Gambar 2. Fluktuasi kepadatan *Anopheles* yang tertangkap tiap jam di sekitar kandang sapi, di desa Lalombi, kecamatan Banawa Selatan.



Gambar 3. Fluktuasi kepadatan *Anopheles* yang tertangkap tiap jam di sekitar kandang sapi, di desa Labuan, kecamatan Labuan

Tabel 6. Pengamatan Pita DNA spesies *Anopheles* sp. dari Dua Desa Berdasarkan Ada atau Tidaknya Pita yang Diampifikasi dengan Primer OPL12.

Primer OPL12	Sampel <i>Anopheles</i> sp.				
	At1	At2	As	Av1	Av2
3000 bp	0	0	0	1	0
2500 bp	1	1	1	1	0
2200 bp	1	1	0	1	0
2100 bp	0	0	0	0	1
1950 bp	1	1	1	0	1
1500 bp	0	0	0	1	0
1300 bp	0	0	0	0	1
1000 bp	0	0	0	1	1
650 bp	0	0	0	1	0
550 bp	0	0	0	0	1
500 bp	1	0	0	0	0
450 bp	0	0	0	0	1
400 bp	0	0	0	1	0
350 bp	1	0	0	0	0



**Gambar 4a.** Peta penyebaran Pita DNA hasil amplifikasi spesies *Anopheles* Melalui analisis RAPD.

**Gambar 4b.** Peta penyebaran Pita DNA hasil amplifikasi spesies *Anopheles* Melalui analisis RAPD yang telah diperjelas.

Keterangan : *Anopheles tessellatus* Labuan (At1), *Anopheles tessellatus* Lalombi (At2), *Anopheles subpictus* Lalombi (As), *Anopheles vagus* Labuan (Av1), *Anopheles vagus* Lalombi (Av2), DNA Ladder 100 bp (M).