DETEKSI MUTASI GEN *VGSC* (*Voltage-Gated Sodium Channel*) KODON 989-1016 DAN 1534 PADA NYAMUK *Aedes* spp. KECAMATAN PONTIANAK TENGGARA

RHIZNA JUNIARTI
H1041201096

SKRIPSI

PROGAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
PONTIANAK
2025

DETEKSI MUTASI GEN *VGSC* (*Voltage-Gated Sodium Channel*) KODON 989-1016 DAN 1534 PADA NYAMUK *Aedes* spp. KECAMATAN PONTIANA K TENGGARA

RHIZNA JUNIARTI
H1041201096

SKRIPSI
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains pada Progam Studi Biologi

PROGAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
PONTIANAK
2025

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Tugas Akhir	:	Deteksi Mutasi Gen *VGSC* (*Voltage-Gated Sodium Channel*) Kodon 989-1016 dan 1534 pada Nyamuk *Aedes* spp. Kecamatan Pontianak Tenggara
Nama Mahasiswa	:	Rhizna Juniarti
NIM	:	H1041201096
Jurusan/Program Studi	:	Biologi/Biologi
Tanggal Lulus	:	28 Juli 2025
SK Pembimbing	:	No. 3681/UN22.8/TD.06/2023/ Tanggal 25/09/2023
SK Penguji	:	No. 2270/UN22.8/TD.06/2025/ Tanggal 17/07/2025

Dosen Pembimbing

Pembimbing I	Pembimbing II
Firman Saputra, S.Si., M.Sc	Dr. Kustiati, S.Si., M.Si
NIP 198302112008121003	NIP 197212102000032001

Dosen Penguji

Ketua Penguji	Anggota Penguji
Diah Wulandary Rousdy, S.Si., M.Sc	Siti Ifadatin, S.Si, M.Si
NIP 198510212008122003	NIP 197103272000032001

Pimpinan Sidang (merangkap anggota penguji)	Sekretaris Sidang (merangkap anggota penguji)
Firman Saputra, S.Si., M.Sc	Dr. Kustiati, S.Si., M.Si
NIP 198302112008121003	NIP 197212102000032001

Mengesahkan
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Tanjungpura

Prof. Dr. Gusrizal, S.Si., M.Si.
NIP 197108022000031001

PERNYATAAN INTEGITAS AKADEMIK

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:
Nama : Rhizna Juniarti
NIM : H1041201096
Progam Studi/ Jurusan : Biologi/Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
dengan ini menyatakan bahwa dokumen ilmiah Tugas Akhir yang disajikan ini tidak mengandung unsur pelanggaran integitas akademik sesuai Peraturan Menteri Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi Republik Indonesia Nomor 39 Tahun 2021. Apabila di kemudian hari dokumen ilmiah Tugas Akhir ini mengandung unsur pelanggaran integitas akademik sesuai ketentuan perundangan tersebut maka saya bersedia menerima sanksi akademik dan/atau sanksi hukum yang berlaku.
Demikian pernyatan ini untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Pontianak, 16 Juli 2025

Rhizna Juniarti
H1041201096

Deteksi Mutasi Gen *VGSC* (*Voltage-Gated Sodium Channel*) Kodon 989-1016 dan 1534 Pada Nyamuk *Aedes spp.* Kecamatan Pontianak Tenggara

Abstrak

Kasus DBD di Pontianak Tenggara tergolong tinggi dan diduga berkaitan dengan resistensi nyamuk terhadap insektisida. Salah satu penyebab resistensi adalah mutasi pada gen *VGSC*. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi jenis-jenis mutasi pada gen *Voltage-Gated Sodium Channel* (*VGSC*) yang merupakan target dari piretroid. Sebanyak 88 individu nyamuk *Aedes* spp. digunakan, terdiri atas 84 individu *Aedes albopictus* dan 4 individu *Aedes aegypti*. DNA nyamuk diamplifikasi menggunakan primer AegSCF3–AegSCR22 (Domain II) dan AegSCF7–AegSCR8 (Domain III). Hasil menunjukkan adanya mutasi pada domain II dan III gen *VGSC*. Pada *Aedes albopictus* ditemukan mutasi transisi sinonim (C→T) di kodon 993, 1007, 1528, 1540, dan 1541. Sementara itu, pada *Aedes aegypti* terdeteksi mutasi transversi (G→T) pada kodon 1534. Mutasi ini mengubah asam amino fenilalanin menjadi sistein (F1534C) dan tergolong sebagai mutasi *knockdown resistance* (kdr).

Kata kunci : D-allethrin, Sipermetrin, Mutasi kdr, VGSC (*Voltage-Gated Sodium Channel*), *Aedes* spp.

Mutation Detection of VGSC (Voltage-Gated Sodium Channel) Gene Codon 989-1016 and 1534 in Aedes spp. Mosquitoes of Southeast Pontianak District

Abstract

Dengue cases in Southeast Pontianak are relatively high and are suspected to be associated with mosquito resistance to insecticides. One of the main causes of resistance is mutation in the voltage-gated sodium channel (VGSC) gene. This study aimed to identify mutations in the VGSC gene targeted by pyrethroids. A total of 88 Aedes spp. individuals were analyzed, consisting of 84 Aedes albopictus and 4 Aedes aegypti. Mosquito DNA was amplified using primers AegSCF3–AegSCR22 (Domain II) and AegSCF7–AegSCR8 (Domain III). The results revealed mutations in both Domain II and III of the VGSC gene. In Aedes albopictus, synonymous transition mutations (C→T) were identified at codons 993, 1007, 1528, 1540, and 1541. Meanwhile, in Aedes aegypti, a transversion mutation (G→T) was detected at codon 1534, resulting in an amino acid substitution from phenylalanine to cysteine (F1534C), which is classified as a knockdown resistance (kdr) mutation.

Keywords : *D-allethrin, Cypermethrin, kdr mutation, VGSC (Voltage-Gated Sodium Channel), Aedes spp*.

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala berkat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir skripsi dengan judul Deteksi Mutasi Gen *VGSC* (*Voltage-Gated Sodium Channel*) Kodon 989,1016 dan 1534 pada Nyamuk *Aedes Spp*. di Kecamatan Pontianak Tenggara. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains di Jurusan Biologi Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura Pontianak.

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada kedua orang tua yang sudah memberikan motivasi, pendidikan dan doa serta dukungan materil. Penulis berterima kasih kepada Firman Saputra, S.Si., M.Sc selaku Pembimbing Pertama dan Dr. Kustiati, S.Si., M.Si selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Tanjungpura dan Pembimbing Kedua saya yang telah membimbing, memberikan motivasi serta materil dalam penelitian maupun penulisan skripsi saya. Penulis juga turut mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Gusrizal, S.Si., M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak,
2. Hibah penelitian DIPA FMIPA tahun 2023 yang telah mendanai kegiatan penelitian,
3. dr. Rifka, MM. selaku Kepala Dinas Kesehatan Kota Pontianak yang telah memberikan izin dan memfasilitasi kegiatan penelitian,
4. Masnur Turnip, S.Si., M.Sc. selaku pembimbing akademik penulis selama masa studi,
5. Diah Wulandary Rousdy, S.Si, M.Sc dan Siti Ifadatin, S.Si, M.Si., selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan dalam penyusunan skripsi,
6. Laboran yang telah banyak membantu selama proses penelitian,
7. Dr. Junardi, S.Si., M.Si selaku Kepala Laboratorium Zoologi yang telah memberikan izin melakukan penelitian di Laboratorium Zoologi,
8. Angkatan 2020 (Biofollan) khususnya kepada Barudak Well (Annisa, Febri, Kesha, Khalda, Deva, Nurul dan Rizka) atas dukungan, bantuan serta solidaritasnya selama masa perkuliahan dan penelitian.
9. Esy Rahmaniar dan Muhammad Arya Verindaziansyah selaku teman satu proyek yang telah membantu penelitian serta menemani masa sulit penulis.

Penulis menyadari skripsi ini jauh dari sempurna. Penyusun harap semoga skripsi ini bisa bermanfaat bagi pembaca sebagai bahan referensi dalam pembelajaran.

Pontianak, 16 Juli 2025

Rhizna Juniarti

DAFTAR ISI

Halaman

PRAKATA ..... **vi**
DAFTAR ISI ..... **vii**
DAFTAR TABEL ..... **viii**
DAFTAR GAMBAR ..... **viii**
DAFTAR LAMPIRAN ..... **viii**
BAB I PENDAHULUAN **1**
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 3
1.3 Tujuan 4
1.4 Manfaat 4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA **5**
2.1 Resistensi Insektisida pada Nyamuk 5
2.2 Mutasi Gen 8
2.3 *Voltage Gated Sodium Channel* (VGSC) 11
BAB III METODE PENELITIAN **14**
3.1 Waktu dan Tempat 14
3.2 Alat dan Bahan 14
3.3 Deskripsi Lokasi Penelitian 14
3.4 Metode Penelitian 15
3.4.1 Pengelompokkan Sampel 15
3.4.2 Isolasi DNA 16
3.4.3 Amplifikasi DNA 17
3.4.4 Elektroforesis dan Visualisasi DNA 18
3.4.5 Sekuensing DNA 18
3.4.6 Analisis Data 19
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN **20**
4.1 Hasil 20
4.1.1 Hasil Amplifikasi Gen *VGSC* Nyamuk *Aedes* spp. Domain II & III 20
4.1.2 Hasil Penjajaran dan Translasi Sekuens Gen *VGSC* Domain II Nyamuk *A. albopictus* 21
4.1.3 Hasil Penjajaran Sekuens *VGSC* Domain II Nyamuk *A. aegypti* 22
4.1.4 Hasil Penjajaran dan Translasi Sekuens *VGSC* Domain III Nyamuk *A. albopictus* 23
4.1.5 Hasil Penjajaran dan Translasi Sekuens *VGSC* Domain III Nyamuk *A. aegypti* 24
4.1.6 Hasil Deteksi Mutasi Sekuens DNA *VGSC* Nyamuk *Aedes* spp. 25
4.2 Pembahasan 26
4.2.1 Perbandingan Susunan Nukleotida Berdasarkan Jenis Insektisida 27
4.2.2 Hubungan Mutasi dan Fenotip 28
4.2.3 Mutasi Sinonim dan Non sinonim 30
4.2.4 Mutasi *knockdown resistance* (kdr) pada *Aedes* spp. 31
BAB V SIMPULAN DAN SARAN **32**
5.1 Simpulan 32
5.2 Saran 32
DAFTAR PUSTAKA **33**
LAMPIRAN **41**

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 3. 1 Status Resistensi Insektisida Piretroid pada Nyamuk *Aedes* spp. di Pontianak Tenggara 16
Tabel 3. 2 Kode Sampel Nyamuk *Aedes* spp.....16
Tabel 4. 1 Hasil Deteksi Mutasi pada Nyamuk *Aedes* spp. di Pontianak Tenggara.....26

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2. 1 Faktor Penyebab Resistensi pada Nyamuk 5
Gambar 2. 2 Skema Mutasi Transisi dan Transversi 9
Gambar 2. 3 Skema Frameshift Mutation 10
Gambar 2. 4 Struktur Umum VGSC (Voltage Gated Sodium Channel).....12
Gambar 2. 5 Topologi reseptor VGSC yang terintegrasi dengan mutasi Kdr. 13
Gambar 3. 1 Peta Kecamatan Pontianak Tenggara.....15
Gambar 4. 1 Amplifikasi DNA Nyamuk *Aedes* spp. dengan Dua Primer Berbeda. 20
Gambar 4. 2 Sekuens DNA Gen *VGSC* II S6 Nyamuk *A. albopictus* dengan Uji Insektisida D-Allethrin dan Sipermetrin. 21
Gambar 4. 3 Urutan Asam Amino Gen *VGSC* II S6 Nyamuk *A. albopictus* dengan Uji Insektisida D-Allethrin dan Sipermetrin. 22
Gambar 4. 4 Sekuens DNA Gen *VGSC* II S6 Nyamuk *A. aegypti* dengan Uji Insektisida D-Allethrin.....23
Gambar 4. 5 Sekuens DNA Gen *VGSC* III S6 Nyamuk *A. albopictus* dengan Uji Insektisida D-Allethrin dan Sipermetrin. 23
Gambar 4. 6 Urutan Asam Amino Gen *VGSC* III S6 Nyamuk *A. albopictus* dengan Uji Insektisida D-Allethrin dan Sipermetrin. 24
Gambar 4. 7 Sekuens DNA Gen *VGSC* III S6 Nyamuk *A. aegypti* dengan Uji Insektisida D-Allethrin dan Sipermetrin. 24
Gambar 4. 8 Urutan Asam Amino Gen *VGSC* III S6 Nyamuk *A. aegypti* dengan Uji Insektisida D-Allethrin dan Sipermetrin. 25

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1.Surat Izin Penelitian.....41
Lampiran 2 Ekstraksi dan Amplifikasi Sampel DNA.....42
Lampiran 3 Hasil BLAST Sekuens DNA Nyamuk *Aedes* spp. Gen *VGSC* Domain II dan Domain III pada Situs NCBI.....43

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nyamuk merupakan serangga vektor yang berkontribusi besar terhadap penyebaran penyakit demam berdarah dengue (DBD) (Bamou *et al*., 2021). Data tahun 2022 menunjukkan sebanyak 143.000 kasus DBD terjadi di Indonesia dan Kalimantan Barat terdaftar ke dalam 10 provinsi dengan angka CFR (*Case Fatality Rate*) dan IR tertinggi (Kemenkes RI, 2023; Pusdatin Kemenkes RI, 2023). Angka CFR dan IR Kalbar melebihi batas standar yang ditetapkan dalam strategi pemberantasan DBD, dengan CFR 1,08 dan angka insidensi mencapai 21,43%. Tingginya angka insidensi (IR) dan CFR secara bersamaan menunjukkan tingginya paparan vektor infektif serta keberhasilan pengendalian vektor yang rendah. Upaya pengendalian berupa pemahaman terhadap bionomik vektor dan penggunaan insektisida telah dilakukan untuk memutus persebaran DBD (Kemenkes, 2023). Namun, hingga tahun 2023 angka IR di Kalimantan Barat masih tergolong tinggi, dengan insidensi mencapai 170 per 100.000 penduduk (Kemenkes RI, 2024).

Kegagalan pengendalian vektor terpadu menunjukkan adanya hambatan dalam strategi yang diterapkan. Salah satu hambatan dalam pengendalian vektor terpadu adalah resistensi. Munculnya fenomena resistensi insektisida dipicu oleh pengunaan insektisida dengan dosis dan frekuensi yang tidak tepat (Colin *et al*., 2020) serta ketergantungan pada metode kimiawi jangka panjang (Horstick *et al*., 2010; Berg *et al.*, 2021). Hal ini turut dibuktikan oleh penggunaan insektisida di Indonesia yang dilaporkan mencapai 171 juta ton pada tahun 2022 (FAO, 2024). Angka ini mencerminkan tingginya ketergantungan penggunaan insektisida dan berpotensi meningkatkan fenomena resistensi.

Resistensi dapat terjadi melalui beberapa mekanisme, yaitu melalui situs target (TSR) dan non situs target (NTSR) yang mencakup resistensi metabolik dan resistensi kutikula. Resistensi melalui pendekatan TSR melibatkan pemantauan mutasi pada gen yang mengkode protein target insektisida, sedangkan pendekatan NTSR umumnya diterapkan pada kasus resistensi yang lebih kompleks dan bersifat

poligenik (Mucheri *et al.*, 2024). Resistensi non situs target turut dipengaruhi oleh faktor di luar penggunaan insektisida. Faktor eksternal seperti polutan dan xenobiotik alami turut mengembangkan jenis resistensi ini (Nkya *et al.,* 2013). Oleh karena itu identifikasi melalui pendekatan TSR lebih efisien dilakukan khususnya pada wilayah yang belum memuat data terkait mekanisme resistensi.

Identifikasi mekanisme resistensi melalui pendekatan situs target disesuaikan dengan profil penggunaan insektisida disuatu daerah. Berdasarkan penelitian Silalahi (2022), tingkat resistensi nyamuk terhadap piretroid di Kalimantan tergolong sangat tinggi. Piretroid adalah salah satu insektisida yang banyak digunakan secara luas sebagai agen repelen skala rumah tangga. Insektisida ini memiliki toksisitas rendah terhadap manusia, tetapi efikasi tinggi terhadap serangga (Chrustek *et al*., 2018). Piretroid banyak digunakan dalam berbagai jenis produk obat nyamuk yang tersebar secara luas di pasaran sehingga meningkatkan probabilitas penggunaan secara masif. Piretroid bekerja dengan mempengaruhi kanal natrium bertegangan (VGSC) pada sel saraf serangga. Penggunaan dan penyebaran yang luas meningkatkan kemungkinan seleksi terhadap VGSC (Field *et al.*, 2017). Oleh karena itu, penelitian ini difokuskan pada identifikasi mekanisme resistensi melalui mutasi Gen *VGSC*.

Kanal natrium bertegangan (VGSC) adalah saluran natrium pada sel saraf yang berperan dalam transmisi ion Na+. Saluran ini dipengaruhi oleh insektisida dari kelas piretroid. Pada kondisi normal VGSC mengatur aliran ion Na+ sesuai dengan perubahan potensial yang diterima di dalam sel (Wang *et al*., 2017). Paparan piretroid menyebabkan kanal tetap terbuka, sehingga menimbulkan stimulasi saraf berlebih, kelumpuhan, hingga kematian pada serangga. Namun, resistensi dapat terjadi dan menyebabkan piretroid tidak dapat berikatan dengan reseptor VGSC (Campbell *et al.,* 2019). Resistensi terhadap piretroid seringkali terjadi melalui perubahan asam amino yang dinisiasi oleh mutasi gen *VGSC*. Perubahan ini dikenal sebagai *knockdown resistance* (kdr) (Campbell *et al*., 2019).

Beberapa kodon yang sering mengalami mutasi kdr pada nyamuk di Asia Tenggara adalah kodon 989, 1016, dan 1534 (Chen *et al*., 2019). Ketiganya terletak pada domain II dan III dari protein VGSC, yaitu wilayah kritis yang berperan dalam

pengikatan molekul insektisida. Oleh karena itu, penelitian ini difokuskan pada dua domain tersebut.

Temuan serupa telah dilaporkan di Indonesia oleh Widiastuti *et al.*, (2015) terhadap nyamuk *Aedes aegypti* di Semarang didapatkan 59,1% nyamuk mengalami mutasi heterozigot dan 18,2% mengalami mutasi homozigot pada Gen *VGSC* kodon 1016. Penelitian serupa juga dilakukan oleh Hasmiwati & Supargiyono (2018) yang melaporkan nyamuk mutasi Kdr S989P dan V1016G*Aedes aegypti* di Sumatra Barat telah resisten terhadap permetrin dan mengalami mutasi gen *VGSC*.

Kecamatan Pontianak Tenggara merupakan wilayah dengan kasus demam berdarah tertinggi di Kalimantan Barat, yaitu sebanyak 15 kasus pada tahun 2023 (BPS Kalimantan Barat, 2023). Tingginya kasus ini mengindikasikan potensi resistensi pada vektor utamanya, yaitu nyamuk *Aedes* spp. Resistensi terhadap insektisida umumnya disebabkan oleh mutasi pada gen *VGSC* (*Voltage-Gated Sodium Channel*), yang mengakibatkan penurunan sensitivitas terhadap senyawa piretroid. Hingga saat ini, belum ada laporan mengenai identifikasi mutasi gen VGSC pada nyamuk *Aedes* spp. di wilayah tersebut. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mendeteksi mutasi pada kodon-kodon gen VGSC yang diketahui berasosiasi dengan resistensi, guna memahami potensi resistensi yang terjadi di Kecamatan Pontianak Tenggara.

1.2 Rumusan Masalah

Pengendalian vektor menggunakan insektisida merupakan salah satu upaya dalam memberantas demam berdarah di suatu daerah. Penggunaan insektisida secara intensif dapat menyebabkan insensitivitas pada nyamuk. Insensitivitas menyebabkan resistensi dan berkaitan erat dengan adanya mutasi gen situs insektisida. Pemeriksaan gen diperlukan sebagai uji konfirmasi dan data pendukung dalam strategi pencegahan penyebaran resistensi. Berdasarkan permasalahan di atas rumusan masalah dari penelitian ini adalah apa saja mutasi yang teridentifikasi pada gen *VGSC* domain II dan III pada nyamuk *Aedes* spp. hasil paparan insektisida piretroid?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah diatas tujuan dari penelitian ini adalah mendapatkan data situs gen *VGSC* yang mengalami mutasi pada nyamuk *Aedes* spp. hasil paparan insektisida piretroid.

1.4 Manfaat

Manfaat dilakukannya penelitian ini bagi peneliti adalah mendapatkan data dan informasi molekuler nyamuk *Aedes* spp. di Pontianak Tenggara. Data yang diperoleh kedepannya dapat menjadi pemahaman endemisitas untuk merencakan jenis insektisida yang digunakan sebagai upaya pencegahan dan pengendalian vektor demam berdarah. Hasilnya dapat digunakan pemerintah setempat untuk pengawasan, pencegahan, dan pengendalian dalam strategi pemutusan penyebaran vektor berkelanjutan.