

MEKANISME MOLEKULER PEMANFAATAN WOLBACHIA TERHADAP VIRUS DENGUE

Gita Rahmania Nugraha, Ally Kafesa

Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medik IKES Rajawali

Email Korespondensi: gitarahmania55@gmail.com

Disubmit: 04 Juli 2024

Diterima: 24 Oktober 2024

Diterbitkan: 01 November 2024

Doi: <https://doi.org/10.33024/mahesa.v4i11.16034>

ABSTRACT

The incidence of dengue fever has increased drastically worldwide in recent decades. The increase in dengue fever shows that disease control programs are ineffective, new alternatives are needed. Wolbachia is used as a new alternative. This research aims to understand how the use of Wolbachia can influence the development of the dengue virus molecularly. This is a type of descriptive research with a qualitative approach. The research design is based on a Literature review study by collecting relevant journals indexed by Sinta and Google Scholar. The research results show that genetic manipulation of mosquitoes using Wolbachia bacteria can cause a decrease in virus copies and RNA copies with the mosquito's ability to block virus replication, all of which is related to cytoplasmic incompatibility. Wolbachia bacteria show potential as DENV biocontrol agents. This endosymbiotic bacteria, if integrated into the Aedes aegypti population, can reduce the ability of mosquitoes to spread the dengue fever virus. A comparison of four dengue fever isolates shows differences in the amount of RNA translated which affects the envelope protein E on the use of Wolbachia bacterial cells. Further studies are needed regarding the ratio of bases in RNA in dengue fever viruses.

Keywords: *Aedes aegypti, Dengue, Wolbachia*

ABSTRAK

Insiden demam berdarah telah meningkat secara drastis di seluruh dunia dalam beberapa dekade terakhir. Meningkatnya penyakit demam berdarah menunjukkan bahwa program pengendalian penyakit tidak efektif, diperlukan alternatif baru. Wolbachia digunakan sebagai alternatif baru. Penelitian ini bertujuan untuk memahami bagaimana pemanfaatan Wolbachia dapat mempengaruhi perkembangan virus dengue secara molekuler. Desain penelitian ini didasarkan pada studi Literature review dengan mengumpulkan jurnal - jurnal yang relevan terindeks Sinta dan Google Scholar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa manipulasi genetik nyamuk menggunakan bakteri Wolbachia dapat menyebabkan penurunan salinan virus dan RNA copy dengan kemampuan nyamuk dalam memblokir replikasi virus yang mana semuanya berkaitan dengan ketidakcocokan sitoplasma. Bakteri Wolbachia menunjukkan potensi sebagai agen biokontrol DENV. Bakteri endosimbiotik ini jika diintegrasikan ke dalam populasi Aedes aegypti dapat menurunkan kemampuan nyamuk dalam menyebarkan virus demam berdarah. Dari perbandingan empat isolat demam

berdarah menunjukkan perbedaan jumlah RNA yang ditranslasikan sehingga mempengaruhi envelope protein E terhadap penggunaan sel bakteri *Wolbachia*. Diperlukan pengkajian lebih lanjut mengenai perbandingan basa di RNA pada virus demam berdarah.

Kata Kunci: *Aedes Aegypt*, *Dengue*, *Wolbachia*

PENDAHULUAN

Demam berdarah dengue (DBD) adalah salah satu masalah kesehatan yang serius di Indonesia. Penyakit demam berdarah ini dapat menimbulkan gejala ringan hingga berat bahkan dapat mengancam nyawa karena banyak pasien yang meninggal akibat penanganannya yang terlambat. Penyakit ini disebabkan oleh infeksi virus dengue yang ditularkan melalui nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* (Rasyada et al., 2014). *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* tersebar luas di Indonesia dan merupakan vektor utama beberapa arbovirus penting, termasuk virus *dengue* (Saputra et al., 2020).

Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), insiden demam berdarah telah mengalami peningkatan yang signifikan di seluruh dunia dalam beberapa dekade terakhir, dengan jumlah kasus yang dilaporkan ke WHO meningkat dari 505.430 kasus pada tahun 2000 hingga 2019. Angka tersebut kemudian melonjak menjadi 5,2 juta kasus secara global. Saat ini, penyakit ini telah menyebar dan menetap lebih dari 100 negara yang mencakup wilayah WHO. Pada tahun 2019, jumlah kasus demam berdarah global mencapai puncaknya dengan laporan tertinggi sepanjang sejarah. Seluruh wilayah terkena dampaknya dan kasus demam berdarah pertama di Afghanistan. Beberapa negara yang mencatat angka kasus tinggi antara lain Bangladesh (101.000), Malaysia (131.000), Filipina (420.000), dan Vietnam (320.000). Semua wilayah

terdampak, dengan kasus demam berdarah pertama di Afghanistan. Di Amerika, tercatat 3,1 juta kasus dan lebih dari 25.000 di antaranya termasuk kategori parah (Organization, 2023).

Pada tahun 2015, penyakit demam berdarah di Indonesia tersebar di seluruh 34 provinsi (100%) dan 436 kabupaten/kota (85%). Angka kejadian (IR) sebesar 49,5 per 100.000 penduduk, tiga provinsi dengan IR tertinggi adalah Bali (208,7), Kalimantan Timur (186,12) dan Kalimantan Utara (120,08) (Ambarita et al., 2020). Menurut (Amelinda et al., 2022) angka kejadian DBD tahun 2016 hingga 2020 di kota Jakarta selatan, angka kejadian tertinggi terjadi pada tahun 2016 dengan jumlah 4.548 kasus dan nilai IR sebesar 206,10 kasus baru per 100.000 penduduk.

Meningkatnya kejadian global penyakit demam berdarah menunjukkan bahwa program pengendalian yang ada saat ini belum optimal dan perlu adanya alternatif yang lebih ramah lingkungan (Fraser et al., 2017). Upaya pencegahan dilakukan dengan cara melepas nyamuk *Aedes aegypti* yang mengandung bakteri *Wolbachia*. Namun bakteri ini tidak terdapat pada nyamuk *Aedes aegypti* yang selama ini dikenal sebagai vektor penularan virus *dengue* (Nisaa, 2018). Terdapat peningkatan minat terhadap program 'rear and release' dimana nyamuk hasil rekayasa genetika dengan sifat - sifat yang diinginkan untuk

dilepaskan ke populasi alami sebagai metode alternatif pengendalian penyakit, yang paling utama dalam program ini adalah penyebaran nyamuk yang terinfeksi *Wolbachia* (Ross et al., 2019).

Wolbachia diwariskan dari pihak ibu dan menginduksi berbagai perubahan reproduksi pada inang untuk meningkatkan penularan ke generasi berikutnya dan merupakan endosymbion alami (Saputra et al., 2020). Diperkirakan sekitar 40 - 75 % dari seluruh spesies arthropoda terinfeksi *Wolbachia*, dan keberhasilan yang luar biasa dari bakteri ini disebabkan oleh kemampuannya dalam penularan vertikal pada populasi inang dengan memanipulasi biologi reproduksi inang. Manipulasi ini termasuk feminisasi, partenogenesis, ketidakcocokan sitoplasma (CI). Mengenai fenotipe reproduksi ini, CI menggambarkan fenomena kematian embrio dini akibat persilangan antara jantan yang terinfeksi dan betina yang tidak terinfeksi atau antara dua jenis strain *Wolbachia* yang berbeda (Joubert et al., 2016).

Penelitian ini bertujuan untuk memahami bagaimana *Wolbachia* dapat mempengaruhi atau menghambat perkembangan virus *dengue* secara molekuler serta ingin melihat bagaimana pemanfaatan *Wolbachia* terhadap penyakit demam berdarah (DBD).

KAJIAN PUSTAKA

Demam berdarah dengue (DBD) merupakan salah satu penyakit yang ditularkan oleh nyamuk dan masih menjadi masalah kesehatan (Ambarita¹ et al., 2020). Pengendalian vektor dan penghindaran nyamuk adalah satu-satunya metode untuk membatasi penularan (Ritchie et al., 2015).

Stoddard (Mains et al., 2019) mengemukakan langkah-langkah tersebut meliputi pengurangan sumber, penyemprotan insektisida, perlindungan diri dari gigitan nyamuk, dan peringatan bagi ibu hamil untuk menghindari daerah yang beresiko. Secara kolektif, upaya pengendalian vektor untuk mengendalikan demam berdarah umumnya tidak berhasil, dan demam berdarah terus menyebar dan meluas secara global (Ritchie et al., 2015).

Urutan reaksi kimia yang terjadi pada tingkat molekuler untuk menjelaskan berbagai proses kimia atau biologis disebut sebagai mekanisme molekuler (Trujillo et al., 2015). Contohnya termasuk proses replikasi DNA, yang melibatkan kerja sama enzim seperti topoisomerase, helikase, dan DNA polimerase untuk menduplikasi DNA beruntai ganda (Ortega-De San Luis & Ryan, 2022). RNA polimerase, yang menghasilkan molekul RNA komplementer, mengarahkan transkripsi, proses pembuatan RNA dari DNA. Fotosintesis: Biologi Molekuler dan Bioenergi oleh Ort & Yocum memberikan informasi tambahan tentang mekanisme rumit dalam kloroplas yang melibatkan siklus Calvin dan transfer energi dari pigmen seperti klorofil.

Wolbachia adalah genus bakteri intraseluler obligat yang seringkali bersimbiosis dengan invertebrata. Bakteri ini terkenal karena kemampuannya memanipulasi sistem reproduksi inangnya, seperti menyebabkan partenogenesis dan manipulasi seksual, serta memberikan perlindungan terhadap infeksi patogen lainnya. Contohnya, *Wolbachia* telah terbukti mengurangi penularan virus seperti Zika, Dengue, dan Chikungunya pada nyamuk *Aedes aegypti* (Werren et

al., 2008; Zug & Hammerstein, 2012; Serbus et al., 2008). Studi lebih lanjut mengenai interaksi genetik dan seluler antara *Wolbachia* dan inangnya telah mendukung pemahaman kita tentang peran bakteri ini dalam evolusi dan aplikasi bioteknologi (Werren et al., 2008; Serbus et al., 2008).

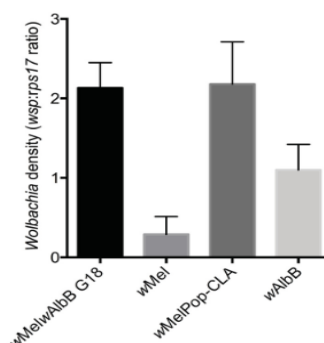
METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan penelitian yang didasarkan pada studi *Literature review* dengan mengumpulkan jurnal-jurnal atau literatur ilmiah yang relevan dengan topik mekanisme molekuler pemanfaatan *Wolbachia* terhadap virus *dengue* yang terindeks sinta dan google scholar. Artikel yang digunakan adalah dari tahun 2014 hingga tahun 2023. Setelah mengumpulkan data literatur ilmiah atau jurnal-jurnal, langkah selanjutnya adalah mengevaluasi, menyaring, dan menganalisis secara sistematis untuk mengumpulkan informasi yang valid dan dapat diandalkan. Desain penelitian ini melibatkan pencarian ekstensif dalam database akademis, jurnal ilmiah, dan sumber informasi lain untuk mengidentifikasi informasi yang relevan dengan topik penelitian tertentu.

HASIL PENELITIAN

Berdasarkan review jurnal yang telah dilakukan pada bulan Desember - Februari dan bertujuan untuk mengetahui pemanfaatan mekanisme *wolbachia* terhadap virus *dengue*. Dengan menggunakan media berbagai database akademis dan jurnal ilmiah yang terindeks, dengan fokus pada atikel yang diterbitkan antara tahun 2014 - 2023. Adapun hasil review jurnal berupa kepadatan *wolbachia*, penghambatan *wolbachia* terhadap virus *dengue*, tingkat penularan nyamuk, ketidakcocokan sitoplasma, dan perbandingan CDS.

Kepadatan keseluruhan *Wolbachia* pada superinfeksi nyamuk *Aedes aegypti* garis diukur menggunakan qPCR dan primer spesifik untuk gen yang mengkode protein permukaan *Wolbachia* (*wsp*) bersama dengan *Aedes aegypti rps17* untuk 'menormalkan' perbedaan ukuran nyamuk. setelah kepadatan infeksi stabil pada generasi ke-18 (G18), kepadatan *Wolbachia* dari galur *wMelwAlbB* lebih tinggi dibandingkan dengan galur induk, tetapi lebih rendah dibandingkan dengan galur *wMelPop-CLA* (Joubert et al., 2016).

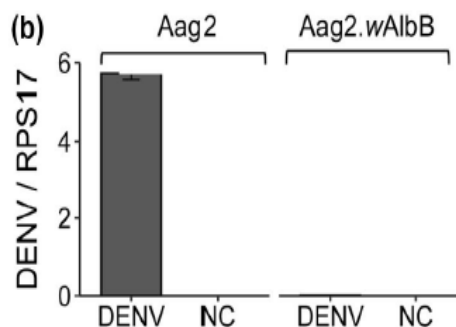


Gambar 1. Kepadatan *Wolbachia* pada nyamuk *Aedes Aegypti*.

Sumber : (Joubert et al., 2016)

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa peningkatan kepadatan *Wolbachia* dapat berkontribusi terhadap

penghambatan virus dengue yang dimediasi oleh *Wolbachia*.



Gambar 2. Penghambatan wAlbB terhadap virus *dengue* (DENV)
Sumber : (Bishop & Asgari, 2021)

Dihasilkan transinfeksi yang stabil pada garis sel *Aedes aegypti* Aag2.wAlbB menggunakan wAlbB *Wolbachia* yang diperoleh dari *Aedes albopictus* Aa23. Pembatasan flavivirus penting dalam menggunakan *Wolbachia* sebagai pengendali vektor. Oleh karena itu, para peneliti menguji model garis sel

ini untuk membatasi DENV dan memastikan bahwa wAlbB kuat menghambat DENV dalam sel Aag2. DENV direplikasi dengan titer tertinggi di sel Aag2.wAlbB. DENV hampir melampaui batas deteksi menggunakan RT-qPCR (Bishop & Asgari, 2021).

Tabel 1. Tingkat penularan nyamuk betina wMel dan AlbB pada superinfeksi wMel wAlbB *Aedes Aegypti*

Generasi # dari garis superinfeksi	# keturunan positif - wAlbB	# keturunan disaring - wAlbB	# keturunan positif - wMel	# keturunan disaring - wMel
G12	88 (100 %)	88	85 (97%)	88
G14	64 (100 %)	64	63 (98 %)	64
G 17	64 (100 %)	64	64 (100 %)	64

Sumber : (Joubert et al., 2016)

Nyamuk betina dari galur superinfeksi pada G12, G14 dan G17 disilangkan dengan jantan tipe liar dan keturunannya disaring untuk mengetahui keberadaanya wAlbB dan wMel oleh qPCR.

Tingkat penularan nyamuk betina (maternal transmission rate) mengacu pada kemampuan

Wolbachia untuk ditularkan dari induk betina ke keturunannya. Menurut (Joubert et al., 2016), infektivitas nyamuk betina pada *Wolbachia* strain wAlbB dan wMelwAlbB dinilai dengan menyilangkan nyamuk betina yang terinfeksi dengan jantan tipe liar yang tidak terinfeksi.

Tabel 2. ketidakcocokan sitoplasma (CI) antara *Wolbachia* nyamuk tipe terinfeksi dan liar.

		Laki - laki			
		WT	Wmel	wAlbB	wMelwAlbB
Betina	WT	95.1 ± 1 %	0 %	0 %	0.1 %
	Wmel	62.3 ± 4 %	77.5 ± 6 %	0 %	3.0 ± 2 %
	WalbB	77.8 ± 4 %	0 %	72.0 ± 4 %	5.1 ± 2 %
	WmelwAlbB	82.4 ± 2 %	58.9 ± 4 %	67.8 ± 5 %	66.8 ± 6 %

Sumber : (Joubert et al., 2016)

CI ditentukan dengan mengukur telur - telur yang layak yang dihasilkan dari serangkaian persilangan *Wolbachia* nyamuk tipe terinfeksi dan liar.

Hoffmann et al (Bishop & Asgari, 2021) mengemukakan bahwa pada serangga, strain *Wolbachia* tertentu memanipulasi reproduksi inang dengan menyerang dan menetap di dalam populasi, sebuah fenotipe yang dikenal sebagai ketidakcocokan sitoplasma.

Persilangan antara wMelwAlbB menginfeksi betina dan jantan tipe liar, dan jantan yang terinfeksi wMel, wAlbB, dan wMelwAlbB menghasilkan keturunan yang layak, sedangkan persilangan timbal balik tidak menghasilkan keturunan yang layak. Dengan adanya dua strain yang berbeda yaitu wMel dan wAlbB pada nyamuk, maka CI nyamuk yang dihasilkan bergantung pada kombinasi strain yang disilangkan (Joubert et al., 2016).

PEMBAHASAN

Demam berdarah dengue (DBD) merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh virus *dengue* (DENV) dan ditularkan melalui gigitan nyamuk vektor (Amelinda et al., 2022). DENV mencangkup empat serotipe berbeda (DENV-1 hingga 4) dan merupakan anggota keluarga Flaviviridae dari virus RNA positif berantai tunggal yang berselubung lipid (Leitner et al., 2021). Masing-masing dari empat serotipe tersebut terdiri dari kelompok virus yang berbeda secara filogenetik yang disebut genotipe, dan setiap genotipe mengandung beberapa strain yang berbeda (Muturi et al., 2017).

Terdapat DENV yang berbeda secara antigenik, yang masing-masing menyebabkan penyakit pada manusia, mulai dari penyakit demam yang sembuh sendiri yang disebut sebagai demam berdarah (DF) hingga

dengue haemorrhagic fever (DHF) dan dengue shock syndrome (DSS) (Jitoboam et al., 2016). Infeksi pada manusia dengan satu serotipe DENV memberikan kekebalan perlindungan seumur hidup terhadap serotipe tersebut, sedangkan infeksi sekunder dengan serotipe lain dapat menyebabkan demam berdarah dengue (DBD) yang mengancam jiwa dan dengue shock syndrome (DSS) (Muturi et al., 2017). Virion DENV mengandung tiga protein struktural (kapsid (C), membran (M) dan protein selubung (E)) dan genom RNA yang mengkode tiga protein struktural (protein C, M, dan E) dan tujuh protein non-struktural (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, dan NS5) (Jitoboam et al., 2016). *Aedes aegypti* merupakan vektor utama penyakit demam berdarah dan tersebar luas di daerah tropis yang

hidup berdekatan dengan manusia (Ross et al., 2019).

Range 1: 271 to 1485 [GenBank](#) [Graphics](#) [▼ Next Match](#) [▲ Previ](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1995 bits(1080)	0.0	1170/1215(96%)	0/1215(0%)	Plus/Plus
Query 1	ATTTGCCGGAGAGATGGGTAGATAGAGGGTGGGCAATGGCTGTGGCTTTGTTGGAAAA	60		
Sbjct 271C.....C.....T.....	330		
Query 61	GGAGGAGTTGTGACATGTGCGAAGTTTTATGCTCGGGGAAGATAACAGGCAATCTGGTC	120		
Sbjct 331CC.....	390		
Query 121	CAAATTGAAAACCTTGAATATACGGTAGTTGTGACAGTCCCAATGGAGACACCCATGCA	180		
Sbjct 391T.....C.....	450		
Query 181	GTAGGAAATGACACATCCAATCATGGAGTGACAGCCACGATAACTCCAGGTCACCATCG	240		
Sbjct 451	510		
Query 241	GTAGAAGTCAAATTGCCGACTATGGAGAACAACACTCGATTGTGAACCCAGGTCGGGA	300		
Sbjct 511G..T.....A.....	570		
Query 301	ATTGACTTCAATGAGATGATCCTGATGAAAATGAAAAAGAAAACGTGGCTTGTGCACAAG	360		
Sbjct 571	630		
Query 361	CAATGGTTTTTGGACCTACCCCTACCATGGACGGCAGGAGCAGACACATCAGAAGTTCAT	420		
Sbjct 631T.....A.....	690		
Query 421	TGGAATTACAAGAGAGAATGGTGACCTTCAAAGTTCCTCACGCCAAGAGACAGGATGTG	480		
Sbjct 691T.....A.....G.....T.....	750		
Query 481	ACAGTGTAGGATCTCAGGAGGGGCTATGCATTCTGCCCTCGCCGAGCCACAGAAGTG	540		
Sbjct 751G.....A.....A.....C.....	810		
Query 541	GATTCTGGTGATGGAAATCACATGTTTGCAGGACATCTCAAGTGCAAAGTCCGTATGGAG	600		
Sbjct 811	870		
Query 601	AAATTGAGAATTAAGGGAATGTCATACAGATGTGTTTCAGGAAAGTTCTCAATTGACAAA	660		
Sbjct 871C.....	930		
Query 661	GAGATGGCAGAAAACACAGCATGGGACAACAGTGGTGAAGTCAAATACGAAGGCGCTGGA	720		
Sbjct 931A.....G.....T.....	990		
Query 721	GCTCCGTGTAAAGTCCCATAGAGATAAGAGATGTAACAAGGAAAAAGTAGTTGGGCGC	780		
Sbjct 991G.....G.....	1050		
Query 781	ATCATCTCATCTACTCCTTTTGTGAGAATACCAACGCTAACCAACATAGAAATGGAA	840		
Sbjct 1051C.....C.....C.....A.....	1110		
Query 841	CCCCCTTTTGGGGACAGCTACATAGTGATAGGTGTTGGAGATAGTGCATTAACACTCCAT	900		
Sbjct 1111T.....G.....	1170		
Query 901	TGGTTCAGGAAAGGGAGCTCCATTGGCAAGATGTTGAGTCCACATACAGAGGTGCAAAA	960		
Sbjct 1171A.....	1230		
Query 961	CGAATGGCCATTTAGGTGAAACAGCTTGGGATTTGGTTCTGTTGGTGGACTGTTTACA	1020		
Sbjct 1231C.....C.....C.....C.....	1290		
Query 1021	TCACTGGGAAAGGCTGTACACCAAGTTTTTGGAAAGTGTATACAACATGTTGGAGGG	1080		
Sbjct 1291	...T.....G.....A.....A.....	1350		
Query 1081	GTCTCATGGATGATTAGAATCCTAATTGGGTTCTTAGTACTGTGGATTGGCAGCAATTCA	1140		
Sbjct 1351G.....A.....A.....C.....C.....	1410		
Query 1141	AGAAATACTTCAATGGCAATGACGTGCATAGCTGTTGGAGGGATCACTTTGTTTCTAGGT	1200		
Sbjct 1411C.....A.....C.....C.....	1470		
Query 1201	TTCACAGTTCAAGCA	1215		
Sbjct 1471	1485		

Gambar 3. Perbandingan antara *dengue* virus 4 isolate 63248(1) polyprotein, envelope protein Eregion, (POLY) gene, partial cds, RNA linear 1.215 bp dengan *dengue* virus 4 isolate WB11130 polyprotein, envelope protein E region, (POLY) gene, partial cds, RNA linear 1.485 bp.

Sumber : NCBI

CDS atau coding sequence meliputi sequence nukleotida yang secara langsung diinterpretasikan sebagai urutan kodon untuk menstranslansikan protein. Dari perbandingan kedua *dengue* virus 4 tersebut terdapat perbedaan jumlah RNA yang ditranslasikan yaitu 1.215

bp dan 1.485 bp tetapi keduanya sama - sama menghasilkan sebuah produk berupa envelope protein E yang terletak di lapisan luar. Protein DENV E adalah glikoprotein yang terdiri dari tiga domain. Domain I, domain N-terminal pusat. Domain II merupakan domain homodimerisasi

yang bertanggung jawab untuk fusi membran endosome. Domain III adalah domain mirip imunoglobulin yang bertanggung jawab untuk pengikatan sel target dan masuknya virus (Jitoboam et al., 2016). Envelope protein E digunakan untuk memediasi masuknya virus ke dalam sel target. Envelope protein E berperan dalam pengenalan dan penempelan virus pada permukaan sel. (Jitoboam et al., 2016) mengatakan meskipun fungsi utama dari protein E yang dikarakterisasi adalah pengikatan reseptor selama masuknya virus dan fusi membran selanjutnya, potensi genetik DENV yang terbatas menunjukkan bahwa protein E virus mungkin memiliki banyak fungsi, termasuk berinteraksi dengan protein seluler inang untuk memfasilitasi siklus replikasi virus.

Cara penularan yang berbeda, tingkat koinfeksi, tekanan seleksi, dan baik di dalam maupun di antara inang merupakan sejumlah teori evolusi lama yang mempertimbangkan tingkat virulensi yang memaksimalkan kebugaran suatu patogen dalam berbagai kondisi (Geoghegan & Holmes, 2018). Perbandingan genetik dari strain dengan tingkat patogenisitas yang berbeda telah mengungkapkan perbedaan dalam urutan nukleotida dan poliprotein, yang menunjukkan bahwa keduanya berperan dalam virulensi (Ahmad & Poh, 2019). Secara sederhana virulensi didefinisikan sebagai kerusakan yang disebabkan oleh infeksi patogen, terutama morbiditas dan mortalitas inang (Geoghegan & Holmes, 2018).

Diperlukan alternatif baru yang lebih efektif untuk memerangi vektor nyamuk. Menurut (Ross et al., 2019), penyebaran nyamuk yang terinfeksi bakteri *Wolbachia* menjadi fokus program ini. Bakteri ini menjanjikan sebagai agen biokontrol terhadap penyakit yang ditularkan oleh nyamuk seperti

demam berdarah (Joubert et al., 2016). Pemanfaatan *Wolbachia* pada nyamuk *Aedes* telah menjadi fokus penelitian dalam upaya pengendalian vektor demam berdarah dengue (DBD) atau dengue hemorrhagic fever (DHF) (Ambarita et al., 2020).

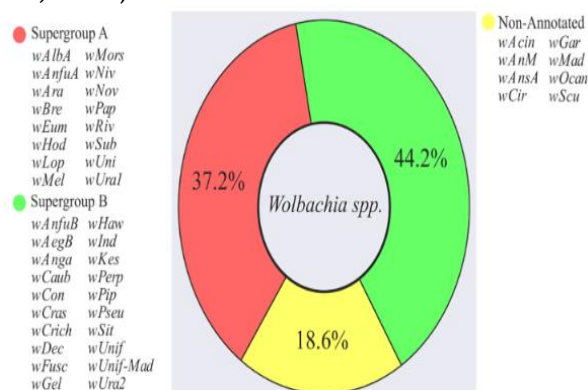
Wolbachia merupakan bakteri endosimbiotik yang bila diintegrasikan ke dalam populasi nyamuk *Aedes aegypti* dapat menurunkan kemampuan nyamuk dalam menyebarkan virus *dengue*. *Wolbachia* mampu menginfeksi berbagai spesies arthropoda, termasuk nyamuk *Aedes aegypti*, dan menyebar melalui garis keturunan inangnya (Ambarita et al., 2020). Hal ini sejalan dengan pendapat (Joubert et al., 2016) bahwa *Wolbachia* juga menghambat patogen tambahan pada manusia yang ditularkan oleh nyamuk termasuk parasit filariasis dan parasit malaria.

Wolbachia adalah pendekatan praktis pengendalian demam berdarah yang berpotensi diterapkan di seluruh wilayah (Saputra et al., 2020). Baru - baru ini, *Wolbachia* terbukti membatasi replikasi patogen, terutama virus RNA untai tunggal positif yang beramplop seperti demam berdarah (DENV), demam kuning (YFV), dan chikungunya (CHIKV) (Joubert et al., 2016). Werren et al (Bishop & Asgari, 2021) mengemukakan bahwa bakteri intraseluler obligat, *Wolbachia pipientis* merupakan salah satu bakteri intraseluler yang paling banyak ditemukan pada arthropoda dan nematoda. Sedangkan menurut (Inacio da Silva et al., 2021) *Wolbachia pipientis* merupakan endosimbiotik dari ordo Rickettsiales yang pertama kali diidentifikasi pada tahun 1923 di *Culex pipiens*.

Meskipun *Wolbachia pipientis* dianggap sebagai satu-satunya spesies dalam genus *Wolbachia*,

supergrup besar dan garis keturunan telah diusulkan untuk mengklasifikasikan keragaman genom yang besar dari strain berbeda yang telah dikarakterisasi sejauh ini. *Wolbachia* supergrup mulai dari A hingga R (tidak termasuk G) sejauh ini telah ditentukan berdasarkan perbedaan genom, terutama analisis filogenetik wilayah ribosom. Supergrup A dan B adalah supergrup yang paling umum ditemukan pada arthropoda, (Joubert et al., 2016).

sedangkan supergrup C dan D umumnya ditemukan pada nematoda filaria. Selain diklasifikasikan ke dalam supergrup/garis keturunan, *Wolbachia* juga dapat diklasifikasikan ke dalam strain yang berbeda berdasarkan perbedaan genom dan perbedaan efek yang ditimbulkannya kepada inangnya (Inacio da Silva et al., 2021). Namun, tidak semua strain *Wolbachia* cocok digunakan dalam strategi pengendalian



Gambar 5. *Wolbachia* strain dan supergrupnya
Sumber : (Inacio da Silva et al., 2021)

Menurut (Saputra et al., 2020) menyatakan bahwa di daerah dengan insiden tinggi, bakteri *Wolbachia* yang dapat menghambat virus *dengue* hampir dua kali lebih banyak tidak terdeteksi di dalam tubuh nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* dibandingkan dengan daerah dengan insiden rendah. Pelepasan nyamuk yang terinfeksi secara terus menerus dalam jangka waktu yang lama akan mengurangi target populasi nyamuk di suatu lokasi tertentu (Inacio da Silva et al., 2021). Perbandingan dengan wilayah dengan insiden *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* menunjukkan adanya pengaruh *Wolbachia* terhadap penularan penyakit. Hal ini sejalan dengan temuan bahwa *Wolbachia* mampu menginvasi masa hidup nyamuk, mengganggu sistem reproduksi nyamuk, dan bahkan

menghambat replikasi virus *dengue* di dalam tubuh nyamuk (Saputra et al., 2020).

Hubungan antara kepadatan dan penghambatan virus dalam hubungan endosimbiotik alami antara inang *Wolbachia* menunjukkan bahwa resistensi terhadap strain *Wolbachia* yang tumbuh pada kepadatan tinggi di dalam inang serangga yang diransinfeksi kemungkinan kecil terjadi. Kepadatan dan tropisme jaringan strain *Wolbachia* terhadap inang serangga tampaknya dianggap sebagai faktor terpenting dalam memperoleh sumber daya inang (Joubert et al., 2016). Kepadatan strain *Wolbachia* yang ditularkan oleh nyamuk *Aedes aegypti* berkorelasi dengan biaya kebugaran nyamuk (Joubert et al., 2016).

Mekanisme *Wolbachia* melibatkan interaksi antara bakteri endosimbiotik *Wolbachia* dan inangnya, seperti nyamuk *Aedes aegypti*. *Wolbachia* mampu memanipulasi gen yang dapat menghambat replikasi virus *dengue* di dalam tubuh (Saputra et al., 2020). Berdasarkan penelitian (Joubert et al., 2016) dilakukan teknik superinfeksi untuk manipulasi gen. Teknik superinfeksi ini dilakukan dengan menyuntikan jentik nyamuk dengan dua strain *Wolbachia* yang berbeda, yaitu wMel dan wAlbB, ke populasi *Aedes aegypti*. Superinfeksi *Wolbachia* ini dapat menghambat replikasi virus *dengue* dengan menekan RNA virus *dengue* (DENV) secara signifikan. Bian et al (Bishop & Asgari, 2021) mengemukakan bahwa *Wolbachia* strain *Aedes aegypti* wAlbB tidak menghambat penularan virus pada inang aslinya, namun wAlbB menyebabkan penghambatan virus yang kuat setelah infeksi transinfeksi *Aedes aegypti*. Hal ini menunjukkan bahwa *Wolbachia* dapat merespon inang baru dan menyesuaikan biologinya agar sesuai dengan kondisi.

Berdasarkan penelitian (Bishop & Asgari, 2021) yang melibatkan analisis variasi genetik intra-host pada *Wolbachia* wAlbB dalam line sel, yang menunjukkan bahwa terdapat mekanisme yang berlawanan, yaitu kompetisi dan penyimpangan genetik, yang diusulkan untuk mengatur keanekaragaman endosimbion intrahost. Berdasarkan hal tersebut, hal ini menunjukkan bahwa *Wolbachia* dapat mempengaruhi cara gen - gen di dalam inangnya diekspresikan, yang merupakan bentuk adanya manipulasi gen.

Penggunaan *Wolbachia* pada *Aedes aegypti* dapat mengurangi salinan virus dan RNA copy pada nyamuk *Aedes aegypti*. Menurut

(Mains et al., 2019) *Wolbachia* dapat mengurangi replikasi virus pada nyamuk melalui berbagai mekanisme, seperti kompetisi sumber daya, aktivasi sistem kekebalan tubuh inang, dan modulasi jalur virus. Infeksi *Wolbachia* pada nyamuk *Aedes aegypti* dapat menurunkan laju replikasi virus Zika dan demam berdarah *dengue* sehingga dapat menurunkan laju penularan virus tersebut ke manusia.

Menurut (Saputra et al., 2020) *Wolbachia* dapat menurunkan kelangsungan hidup nyamuk dan kemampuan menghisap nyamuk, sehingga secara tidak langsung mengurangi penularan virus *dengue*. *Wolbachia* dapat dideteksi dengan berbagai teknik molekuler yang menunjukkan sensitivitas dan spesifisitas yang berbeda, seperti reaksi berantai polimerase (PCR) (dengan primer spesifik dan/atau degenerasi), PCR menggunakan berbagai penanda seperti multilocus sequencing Typing (MLST), PCR kuantitatif (qPCR), Fluorescent In Situ Hybridization (FISH), mikroskop elektron, dan lain-lain (Inacio da Silva et al., 2021). Kehadiran strain *Wolbachia* wMel dan wAlbB yang berbeda pada nyamuk dapat secara signifikan mengurangi jumlah salinan genom virus *dengue* (DENV). Pengurangan signifikan sekitar ~1,5 log pada salinan genom DENV-2 terdeteksi pada nyamuk yang terinfeksi wMel, wAlbB, dan wMelwAlbB dibandingkan dengan nyamuk tipe liar, yang diukur menggunakan qPCR (Joubert et al., 2016).

Mekanisme penghambatan patogen oleh *Wolbachia* masih dalam penyelidikan, meskipun begitu pemblokiran telah dikaitkan dengan peningkatan sistem imun bawaan inang dan persaingan untuk mendapatkan sumber daya yang

terbatas antara patogen dan *Wolbachia* (Joubert et al., 2016).

Penelitian telah menunjukkan bahwa wMelPop memblokir virus *dengue* dengan kuat, Secara signifikan telur *Aedes aegypti* yang terinfeksi wMelPop lebih sering mati dibandingkan telur yang tidak terinfeksi (Ritchie et al., 2015). Infeksi *Aedes aegypti* dengan *Wolbachia* strain wMelPop - CLA menunjukkan kemampuan yang lebih unggul dibandingkan dengan wMel dna wAlbB dalam memblokir total virus *dengue* (DENV) secara tuntas di seluruh tubuh nyamuk *Aedes aegypti*, sedangkan strain wMel menyerang kelompok dengan cepat (Joubert et al., 2016). Peningkatan kepadatan *Wolbachia* dapat berkontribusi terhadap penghambatan virus, seperti penghambatan virus *dengue* yang dimediasi oleh *Wolbachia* (Bishop & Asgari, 2021).

Mengenai infeksi *Wolbachia* pada nyamuk *Aedes aegypti*, terdapat hubungan antara pengurangan virus dan blokade virus. Infeksi *Wolbachia* telah terbukti mengurangi replikasi virus pada nyamuk, yang pada gilirannya dapat mengurangi tingkat penularan virus tersebut kepada manusia. Oleh karena itu, pengurangan virus dalam nyamuk yang terinfeksi *Wolbachia* dapat dianggap sebagai bentuk blokade virus yang mengurangi penularan virus kepada manusia.

Wolbachia memiliki mekanisme genetik yang unik yang memungkinkannya mempengaruhi reproduksi inang. Salah satu mekanisme utama yang dimiliki oleh *Wolbachia* adalah sitoplasma inkompatibilitas (CI) atau ketidakcocokan sitoplasma, yang berarti ketika nyamuk jantan yang terinfeksi *Wolbachia* kawin dengan nyamuk betina yang tidak terinfeksi, maka telur - telur tersebut tidak akan menetas atau memiliki tingkat

keberhasilan penetasan yang rendah (Mains et al., 2019). Hal ini menjelaskan bahwa ketidakcocokan sitoplasma dapat menurunkan tingkat penetasan telur. Menurut (Ross et al., 2019), terdapat hubungan erat antara kepadatan *Wolbachia* dan penetasan telur, dimana kepadatan tinggi pada betina penting untuk memulihkan ketidakcocokan sitoplasma dengan jantan yang terinfeksi.

Ketidakcocokan sitoplasma (CI) ditentukan dengan melakukan serangkaian persilangan timbal balik antara nyamuk yang terinfeksi tipe liar, wMel, wAlbB, dan wMelwAlbB. Keturunan yang layak dari persilangan digunakan untuk menentukan nilai CI yang diinduksi oleh wMelwAlbB. Persentase daya tetas telur untuk berbagai persilangan dirangkum dalam tabel di bawah ini (Joubert et al., 2016). Infeksi *Wolbachia* yang terjadi secara alami pada nyamuk dapat mengganggu pola ketidakcocokan sitoplasma dan membatasi potensi penggantian dan penekanan populasi (Ross et al., 2019). Menurut (Mains et al., 2019) mekanisme ketidakcocokan sitoplasma disebabkan oleh interaksi antara gen *Wolbachia* dengan inangnya sehingga menyebabkan ketidakcocokan dalam pembelahan sel dan perkembangan embrio. Ketidakcocokan sitoplasma juga dapat dipengaruhi oleh suhu lingkungan. Suhu maksimum harian yang lebih tinggi dapat mengurangi kemampuan *Wolbachia* untuk menyebabkan ketidakcocokan sitoplasma, sehingga membatasi potensi *Wolbachia* dalam program pengendalian penyakit dan mungkin bertahan setelah pelepasan (Ross et al., 2019).

Dari pembahasan di atas menunjukkan manipulasi genetik pada nyamuk dapat menyebabkan penurunan salinan virus dan RNA copy, dan hubungannya dengan

kemampuan nyamuk dalam memblokir replikasi virus yang mana semuanya akan terkait dengan ketidakcocokan sitoplasma.

KESIMPULAN

Demam berdarah dengue (DBD) merupakan penyakit yang disebabkan oleh virus *dengue* (DENV) dan ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti*. Dari perbandingan *dengue* 4 isolat terdapat perbedaan jumlah RNA yang ditranslasikan sehingga mempengaruhi envelope protein E terhadap penggunaan sel bakteri *Wolbachia*. Diperlukan pengkajian lebih lanjut mengenai perbandingan basa di RNA pada virus *dengue*. Bakteri *Wolbachia* telah menunjukkan potensinya sebagai agen biokontrol terhadap DENV. Bakteri endosimbiotik ini bila diintegrasikan ke dalam populasi *Aedes aegypti* dapat menurunkan kemampuan nyamuk dalam menyebarkan virus *dengue*.

Penggunaan *Wolbachia* pada *Aedes aegypti* dapat menyebabkan manipulasi genetik, termasuk mempengaruhi ekspresi gen inang, menghambat replikasi virus demam berdarah di dalam tubuh, dan mengurangi salinan virus dan salinan RNA pada nyamuk. *Wolbachia* memiliki mekanisme genetik unik yang memungkinkannya mempengaruhi reproduksi inang, seperti ketidakcocokan sitoplasma (CI).

Saran bagi peneliti yang hendak melakukan penelitian serupa penting untuk melanjutkan penelitian mengenai efektivitas dan keamanan integrasi *Wolbachia* ke dalam populasi nyamuk untuk mengurangi kemampuan nyamuk *Aedes aegypti* dalam menularkan virus *dengue* kepada manusia. Dengan demikian, penelitian ini dapat memberikan wawasan yang

lebih baik dalam pengembangan strategi biokontrol yang potensial untuk mengendalikan penyakit demam berdarah dengue secara global.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, Z., & Poh, C. L. (2019). The conserved molecular determinants of virulence in dengue virus. *International Journal of Medical Sciences*, 16(3), 355.
- Ambarita, L. P., Salim, M., Sitorus, H., & Mayasari, R. (2020). Pengetahuan, Sikap dan Perilaku Masyarakat Tentang Aspek Pencegahan dan Pengendalian Demam Berdarah Dengue di Kota Prabumulih, Sebelum dan Sesudah Intervensi Pemberdayaan Masyarakat. *Jurnal Vektor Penyakit*, 14(1), 9-16. <https://doi.org/https://doi.org/10.22435/vektor.v14i1.1759>
- Amelinda, Y. S., Wulandari, R. A., & Asyary, A. (2022). The effects of climate factors, population density, and vector density on the incidence of dengue hemorrhagic fever in South Jakarta Administrative City 2016-2020: an ecological study. *Acta Bio Medica: Atenei Parmensis*, 93(6). <https://doi.org/https://doi.org/10.23750/abm.v93i6.13503>
- Bishop, C., & Asgari, S. (2021). Altered gene expression profile of *Wolbachia pipientis* w AlbB strain following transinfection from its native host *Aedes albopictus* to *Aedes aegypti* cells. *Molecular Microbiology*, 115(6), 1229-1243. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/mmi.14668>

- Fraser, J. E., De Bruyne, J. T., Iturbe-Ormaetxe, I., Stepnell, J., Burns, R. L., Flores, H. A., & O'Neill, S. L. (2017). Novel Wolbachia-transinfected *Aedes aegypti* mosquitoes possess diverse fitness and vector competence phenotypes. *PLoS Pathogens*, *13*(12), e1006751. <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006751>
- Geoghegan, J. L., & Holmes, E. C. (2018). The phylogenomics of evolving virus virulence. *Nature Reviews Genetics*, *19*(12), 756-769. <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/s41576-018-0055-5>
- Inacio da Silva, L. M., Dezordi, F. Z., Paiva, M. H. S., & Wallau, G. L. (2021). Systematic review of Wolbachia symbiont detection in mosquitoes: an entangled topic about methodological power and true symbiosis. *Pathogens*, *10*(1), 39. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/pathogens10010039>
- Jitoboam, K., Phaonakrop, N., Libsittikul, S., Thepparit, C., Roytrakul, S., & Smith, D. R. (2016). Actin interacts with dengue virus 2 and 4 envelope proteins. *PloS One*, *11*(3), e0151951.
- Joubert, D. A., Walker, T., Carrington, L. B., De Bruyne, J. T., Kien, D. H. T., Hoang, N. L. T., Chau, N. V. V., Iturbe-Ormaetxe, I., Simmons, C. P., & O'Neill, S. L. (2016). Establishment of a Wolbachia superinfection in *Aedes aegypti* mosquitoes as a potential approach for future resistance management. *PLoS Pathogens*, *12*(2), e1005434. <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005434>
- Leitner, M., Bishop, C., & Asgari, S. (2021). Transcriptional response of Wolbachia to dengue virus infection in cells of the mosquito *Aedes aegypti*. *Msphere*, *6*(3), 10-1128. <https://doi.org/https://doi.org/10.1128/mSphere.00433-21>
- Mains, J. W., Kelly, P. H., Dobson, K. L., Petrie, W. D., & Dobson, S. L. (2019). Localized control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Miami, FL, via inundative releases of Wolbachia-infected male mosquitoes. *Journal of Medical Entomology*, *56*(5), 1296-1303. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/jme/tjz051>
- Muturi, E. J., Buckner, E., & Bara, J. (2017). Superinfection interference between dengue-2 and dengue-4 viruses in *Aedes aegypti* mosquitoes. *Tropical Medicine & International Health*, *22*(4), 399-406. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/tmi.12846>
- Nisaa, A. (2018). Studi Time Series Dinamika Lingkungan Terhadap Kejadian DBD Berbasis Geographic Information System. *Jurnal Manajemen Informasi Dan Administrasi Kesehatan*, *1*(1). <https://doi.org/https://doi.org/10.32585/jmiak.v1i1.122>
- Organization, W. H. (2023). Dengue - the Region of the Americas. [Online]. *Diakses Dari Dengue - the Region of the Americas (Who.In)*.
- Ortega-De San Luis, C., & Ryan, T. J. (2022). Understanding the physical basis of memory: Molecular mechanisms of the engram. *Journal of Biological Chemistry*, *298*(5). <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.101866>

- Rasyada, A., Nasrul, E., & Edward, Z. (2014). Hubungan nilai hematokrit terhadap jumlah trombosit pada penderita demam berdarah dengue. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 3(3).
- Ritchie, S. A., Townsend, M., Paton, C. J., Callahan, A. G., & Hoffmann, A. A. (2015). Application of w MelPop Wolbachia strain to crash local populations of *Aedes aegypti*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9(7), e0003930. <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003930>
- Roeder, R.G. (2019). 50+ years of eukaryotic transcription: an expanding universe of factors and mechanisms. *Nat Struct Mol Biol* 26, 783-791. <https://doi.org/10.1038/s41594-019-0287-x>
- Ross, P. A., Ritchie, S. A., Axford, J. K., & Hoffmann, A. A. (2019). Loss of cytoplasmic incompatibility in Wolbachia-infected *Aedes aegypti* under field conditions. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 13(4), e0007357. <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007357>
- Saputra, F. R., Wahid, I., Sjahril, R., Syafruddin, D., Rani, S., & Bahar, B. (2020). Bukti Baru Infeksi Natural Wolbachia sp. pada *Aedes aegypti* dengan *Aedes albopictus* dari Makassar. *Jurnal Vektor Penyakit*, 14(2), 113-118. <https://doi.org/https://doi.org/10.22435/vektor.v14i1.2424>
- Serbus, L.R., Casper-Lindley, C., Landmann, F., & Sullivan, W. (2008). The genetics and cell biology of Wolbachia-host interactions. *Annual Review of Genetics*, 42, 683-707. doi: 10.1146/annurev.genet.41.110306.130354
- Trujillo, C. M., Anderson, T. R., & Pelaez, N. J. (2015). A model of how different biology experts explain molecular and cellular mechanisms. *CBE Life Sciences Education*, 14(2), 1-13. <https://doi.org/10.1187/cbe.14-12-0229>
- Werren, J.H., Baldo, L., & Clark, M.E. (2008). Wolbachia: master manipulators of invertebrate biology. *Nature Reviews Microbiology*, 6(10), 741-751. doi: 10.1038/nrmicro1969
- Zug, R. & Hammerstein, P. (2012). Still a host of hosts for Wolbachia: analysis of recent data suggests that 40% of terrestrial arthropod species are infected. *PLoS ONE*, 7(6), e38544. doi: 10.1371/journal.pone.0038544