

PENGARUH PENULARAN TRANSVENEREAL VIRUS DENGUE SEROTIPE-3 TERHADAP VIABILITAS TELUR AEDES AEGYPTI BERDASARKAN VARIASI LAMA PENYIMPANAN

The Effect of Transvenereal Transmission of Dengue Serotype-3 Virus on The Viability of Aedes Aegypti Eggs Based on Variation of Storage Time

Tusy Triwahyuni, Sri Maria Puji Lestari, Devita Febriani Putri.

Fakultas Kedokteran, Universitas Malahayati

Email: devita@malahayati.ac.id

Abstract Infectious male *Aedes aegypti* mosquitoes can transmit dengue virus (DENV) to transvenereal non-infectious female mosquitoes. Infectious female mosquitoes will reduce DENV to the egg stage and propagate to the adult mosquito stage. Egg stage is a stage of viability / resistance of Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) vector. The study aims to determine the effect of transvenereal transmission on egg viability resulting from parental *Ae. aegypti* female mosquito with DENV-3 infection, with variations in egg storage time. This type of experimental research with purposive sampling. Egg samples were obtained from the *Ae. aegypti* female parental mosquito detected positive DENV-3 by PCR testing. Egg samples were stored for 14, 30, 60 and 120 days. Analysis to determine differences in viability in eggs derived from infectious female mosquitoes compared to controls using an independent T-test. Analysis to determine the viability of eggs derived from parental infectious female mosquitoes based on variations in storage time using ANOVA. The results of the study stated that there was no significant difference ($P = 0.794$) between the average eggs that succeeded in becoming imago (viable eggs) derived from parental infectious female mosquitoes compared to controls. The analysis also stated that there was no significant difference ($P = 0.18$) between the average viable eggs derived from parental infectious female mosquitoes both storage duration for 14, 30, 60, or 90 days.
Keywords: *Aedes aegypti*, dengue serotype 3, storage time, transvenereal transmission, egg viability.

Abstrak Nyamuk *Aedes aegypti* jantan infeksius dapat menularkan virus dengue (DENV) ke nyamuk betina non infeksius secara transvenereal. Nyamuk betina yang infeksius akan menurunkan DENV ke stadium telur dan berpropagasi sampai stadium nyamuk dewasa. Stadium telur merupakan stadium viabilitas/ketahanan dari vektor Demam Berdarah Dengue (DBD). Penelitian bertujuan mengetahui pengaruh penularan transvenereal pada viabilitas telur yang dihasilkan dari parental nyamuk *Ae. aegypti* betina yang infeksius DENV-3, dengan variasi waktu penyimpanan telur. Jenis penelitian eksperimental dengan pengambilan sampel purposive sampling. Sampel telur didapatkan dari parental nyamuk *Ae. aegypti* betina yang terdeteksi positif DENV-3 dengan pengujian PCR. Sampel telur disimpan dengan lama penyimpanan selama 14, 30, 60 dan 120 hari. Analisis untuk menentukan perbedaan viabilitas pada telur yang berasal dari parental nyamuk betina infeksius dibandingkan kontrol, menggunakan T-test independent. Analisis untuk menentukan viabilitas telur yang berasal dari parental nyamuk betina infeksius berdasarkan variasi waktu penyimpanan menggunakan ANOVA. Hasil penelitian menyatakan tidak ada perbedaan bermakna ($P = 0,794$) antara rerata telur yang berhasil menjadi imago (telur yang viabel) yang berasal dari parental nyamuk betina infeksius dibandingkan kontrol. Analisis juga menyatakan tidak ada perbedaan bermakna ($P = 0,18$) antara rerata telur viabel yang berasal dari parental nyamuk betina infeksius baik lama penyimpanan selama 14, 30, 60, ataupun 90 hari
Kata kunci : *Aedes aegypti*, dengue serotipe 3, lama penyimpanan, penularan transvenereal, viabilitas telur.

PENDAHULUAN

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan penyakit tular vektor yang disebabkan oleh virus dengue (DENV) genus Flavivirus, dan ditularkan melalui nyamuk *Aedes* (*Ae*) subgenus *Stegomyia*, terutama *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Kraemer et al., 2015). Agen penyebab demam dengue, DENV mempunyai empat serotipe yaitu DENV-1, DENV-2, DENV-3, dan DENV-4. Keempat tipe virus bersirkulasi di wilayah endemik dengue Asia Tenggara yaitu Malaysia, Thailand, dan Indonesia, namun kasus-kasus *Dengue Shock Syndrom* (DSS) di Asia Tenggara lebih sering disebabkan DENV-2 dan DENV-3 dibandingkan virus DENV-1 dan DENV-4, pada negara Indonesia khususnya manifestasi klinis dengue yang berat sebagian besar disebabkan oleh DENV-3 (Andriyoko, Parwati, Tjandrawati, & Lismayanti, 2011; Cucunawangsih & Lugito, 2017). Program pencegahan dan pemberantasan DBD telah berlangsung lebih kurang 43 tahun dan berhasil menurunkan angka kematian dari 41,3% pada tahun 1968 menjadi 0,87 % pada tahun 2010, tetapi belum berhasil menurunkan angka kejadian DBD (Ditjen PPPL, 2015). Pengendalian DBD dari segi vektor khususnya nyamuk *Ae. aegypti* merupakan salah satu metode efektif menghentikan penularan DBD dan mencegah perluasan daerah endemis DBD (Mardihusodo, 2011; Ditjen PPPL, 2015).

Penularan vertikal secara transovarial pada nyamuk *Ae. aegypti* adalah salah satu cara DENV mempertahankan keberadaannya di alam ketika kondisi iklim yang tidak kondusif (Angel & Joshi, 2009; Arunachalam et al., 2008; Günther, Martínez-Muñoz, Pérez-Ishiwara, & Salas-Benito, 2007; Lee & Rohani, 2005; Thenmozhi, Tewari, Manavalan, Balasubramanian, & Gajanana, 2000). Penularan transovarial DENV juga menurun langsung ke progeni (F1) nyamuk *Ae. aegypti* jantan di alam, yang membuktikan bahwa nyamuk *Ae. aegypti* jantan juga dapat terinfeksi DENV walaupun tidak menghisap darah langsung dari manusia yang viremia (Arunachalam et al., 2008; Kow et al., 2001; Mulyatno, Yamanaka, Yotopranoto, & Konishi, 2012; Thavara, U., Siriyasatien, P., Tawatsin, A., Asavadachanukorn, P., Anantapreecha, S., Wongwanich, R., Mulla., 2006; Vilela et al., 2010). Nyamuk *Ae. aegypti*

jantan yang infeksius DENV berpotensi menularkan ke nyamuk *Ae. aegypti* betina yang non infeksius secara transvenereal (perilaku seksual). Hasil penelitian Putri (2018), membuktikan nyamuk *Aedes aegypti* jantan infeksius dapat menularkan DENV-3 ke nyamuk betina non infeksius secara transvenereal. Nyamuk jantan infeksius DENV dapat mengawini nyamuk betina non infeksius dan sebagai akibatnya nyamuk betina infeksius DENV akan menghasilkan F1 infeksius DENV 3. Tetapi dampak dari penularan transvenereal terhadap F1nya belum diketahui.

Stadium telur merupakan stadium ketahanan nyamuk dalam kondisi iklim yang tidak memungkinkan untuk berkembang biak. Penelitian pertama kali tentang viabilitas telur *Ae. aegypti* dilakukan pada tahun 1900an, yang membuktikan telur *Ae. aegypti* dapat bertahan dalam kondisi kering selama 262 hari (Fay and Eliason, 1966). Penelitian terbaru oleh Soares-Pinheiro, Dasso-Pinheiro, Trindade-Bezerra, & Tadei (2017), mengindikasikan bahwa telur yang berasal dari nyamuk *Ae. aegypti* betina yang dipelihara di laboratorium memiliki viabilitas tinggi (lebih dari 50%) apabila telur disimpan dalam waktu maksimal 4 bulan. Namun penelitian tentang viabilitas telur yang berasal dari nyamuk *Ae. aegypti* betina yang infeksius DENV-3 secara transvenereal, belum pernah dilakukan. Berdasarkan pemaparan latar belakang ini, maka tujuan penelitian mengetahui pengaruh penularan transvenereal pada viabilitas telur yang dihasilkan dari parental nyamuk *Ae. aegypti* betina yang infeksius DENV-3, dengan variasi waktu penyimpanan telur.

METODE

Jenis penelitian merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan studi *post test only control grup* desain. Pengambilan sampel dengan cara *purposive sampling* yaitu pengambilan/pemilihan berdasarkan keperluan dan ketentuan penelitian.

TELUR *Aedes aegypti*

Parental nyamuk *Ae. aegypti* didapatkan dari hasil kolonisasi laboratorium yang terbebas dari infeksi penyakit di Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Virus didapatkan

dari supernatan kultur sel C6/36 yang diinfeksi DENV-3, dan merupakan prototipe DENV-3 strain H87 yang berasal dari laboratorium Namru 2 di Jakarta. Nyamuk *Ae. aegypti* jantan berumur 1 hari disuntikkan secara intratorakal dengan 1,5 - 2 μ l suspensi DENV-3 (Rosen and Gubler, 1974). Selanjutnya nyamuk jantan yang terinfeksi dimasukkan dalam sangkar silindris (dibiarkan selama masa inkubasi 14 hari) dan dipelihara dengan memberikan larutan gula 10%.

Nyamuk *Ae. aegypti* jantan infeksius (nyamuk jantan yang terinfeksi DENV 3 secara intratorakal) dimasukkan ke kandang dengan nyamuk *Ae. aegypti* betina non infeksius (nyamuk betina yang tidak terinfeksi DENV-3) berumur 1 hari dan dipelihara dalam satu kandang selama 7 hari dengan tujuan terjadi penularan transvenereal melalui perkawinan semi alami. Nyamuk diberikan larutan gula 10 %, sebagai pakannya, dengan cara meresapkan gula pada kapas dan diganti setiap hari. Pada hari ke 7, nyamuk jantan dikoleksi, lalu disimpan di freezer -80°C , sedangkan nyamuk betina diberikan *blood feeding* dengan menggunakan darah mencit. Selanjutnya nyamuk – nyamuk betina tersebut dikurung secara terpisah di gelas kertas (paper cup) yang ditutupi kasa untuk proses bertelur (individual rearing), kapas yang dibasahi larutan gula 10% diletakkan diatas kassa, diganti setiap hari. Gelas kertas berisi kertas saring dengan ukuran diameter 5 cm dan dibasahi dengan air. Gelas kertas untuk proses individual rearing dimasukkan ke dalam kotak stereofoam yang tertutup. Pergantian kertas saring dilakukan setiap hari setelah oviposisi. Kertas saring dikeringkan selama 2 jam, lalu disimpan. Nyamuk betina dipelihara selama 7 hari untuk bertelur dan telurnya diberi label.

Nyamuk jantan yang telah dikoleksi, dideteksi dengan menggunakan metode *One-Step* RT-PCR (Lanciotti *et. al.*, 1992) untuk membuktikan bahwa DENV-3 yang disuntikkan berkembang selama masa inkubasi yang ditentukan, sehingga berpotensi untuk menularkan DENV 3 ke nyamuk betina non infeksius melalui transmisi seksual (penularan transvenereal). Nyamuk jantan yang terdeteksi positif DENV-3 ditelusuri nyamuk betinanya, lalu nyamuk betina dideteksi dengan metode *One-Step* RT-PCR. Telur yang berasal dari

nyamuk betina yang positif DENV-3, akan diuji viabilitasnya.

UJI VIABILITAS TELUR

Kertas saring (yang berisi telur) diletakkan pada gelas kertas dan disimpan selama 14 hari, 30 hari, 60 hari, dan 120 hari di insektarium. Sebagai kontrol, telur *Ae. aegypti* yang berasal dari parental nyamuk *Ae. aegypti* betina non infeksius, disimpan selama 14 hari, 30 hari, 60 hari, dan 120 hari. Rearing telur nyamuk sampai stadium dewasa dilakukan di Laboratorium Parasitologi Universitas Malahayati. Telur diletakkan dalam nampan plastik ukuran 24x36x6 cm yang berisi air. Pemeliharaan larva untuk bertahan hidup diberi pakan hati ayam kering dan air diganti 2-3 kali dalam 1 minggu, dipelihara sampai nyamuk dewasa sesuai dengan masa penyimpanannya. Semua perlakuan dilakukan diinsektarium dengan kondisi suhu $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$; kelembaban $88 \pm 6\%$ dan 12 jam cahaya: 12 jam gelap (Umniyati *et al.*, 2008).

ANALISIS DATA

Analisis untuk menentukan perbedaan viabilitas pada telur yang berasal dari parental nyamuk betina infeksius dengan kontrol, menggunakan analisis T- test independent. Analisis untuk menentukan viabilitas telur yang berasal dari parental nyamuk betina infeksius berdasarkan variasi waktu penyimpanan menggunakan analisis ANOVA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian PCR pada parental nyamuk, nyamuk jantan yang terinfeksi DENV-3 secara intratorakal dengan masa inkubasi 14 hari menunjukkan hasil positif DENV-3 dan hal yang sama terbukti dengan pasangan nyamuk betinanya. Telur yang berasal dari nyamuk betina yang positif DENV-3 disimpan dengan variasi lama penyimpanan 14 hari, 30 hari, 60 hari, dan 90 hari. Langkah selanjutnya adalah pengujian viabilitas telur nyamuk hasil transvenereal DENV-3 dengan metode rearing. Telur perlakuan beserta kontrol diletakkan sesuai dengan lama penyimpanannya, dipelihara sampai menjadi nyamuk dewasa. Viabilitas telur nyamuk *Ae. aegypti* dilihat dari telur yang berhasil menetas dan telur yang berhasil menjadi imago (nyamuk dewasa). Tabel berikut ini (Tabel 1) adalah viabilitas

PENGARUH PENULARAN TRANSVENEREAL VIRUS DENGUE SEROTIPE-3 TERHADAP VIABILITAS TELUR AEADES AEGYPTI BERDASARKAN VARIASI LAMA PENYIMPANAN

telur hasil penularan transvenereal DENV-3 parental nyamuk *Ae. aegypti* telur pada perlakuan dan kontrol, berdasarkan variasi

lama penyimpanan (14 hari, 30 hari, 60 hari, dan 90 hari).

Tabel 1. Viabilitas telur hasil penularan transvenereal DENV-3 pada parental nyamuk *Ae. aegypti* pada perlakuan dan kontrol, berdasarkan variasi lama penyimpanan telur.

Variasi lama penyimpanan	Perlakuan			Kontrol		
	Masa Inkubasi 14 hari			Masa Inkubasi 14 hari		
	Telur menetas	Imago	Kegagalan (%)	Telur menetas	Imago	Kegagalan (%)
14 hari	39	23	41,03	63	35	44,44
30 hari	25	11	66,00	45	20	55,55
60 hari	5	5	0,00	44	19	56,82
90 hari	22	7	68,19	31	12	61,29

Hasil analisis univariat (Tabel 1) menyatakan kegagalan telur menjadi imago tertinggi pada perlakuan telur hasil penularan transvenereal DENV-3 dengan variasi lama penyimpanan 90 hari, yaitu 68,19 %. kegagalan telur menjadi imago terendah yaitu 0 % terdapat pada perlakuan telur hasil penularan transvenereal DENV-3 dengan penyimpanan selama 60 hari. Pada kontrol, kegagalan telur menjadi imago tertinggi dengan penyimpanan selama 90 hari (61,29 %), dan kegagalan telur menjadi imago terendah dengan penyimpanan selama 30 hari (44,44 %).

Tahap selanjutnya untuk melihat perbedaan rata – rata jumlah yang berhasil

menjadi imago (telur viabel) pada perlakuan dan kontrol, dilakukan analisis bivariat T-test independent. Variabel numerik yang dianalisis adalah jumlah telur yang berhasil menjadi nyamuk dewasa (imago) yang dihasilkan nyamuk *Ae. aegypti* betina *Ae. aegypti* positif DENV-3 hasil kawin dengan nyamuk jantan infeksius DENV-3 dengan inkubasi 14 hari (perlakuan) dibandingkan dengan nyamuk betina *Ae. aegypti* non infeksius (kontrol). Berikut ini (Tabel 3) adalah perbedaan antara rerata telur viabel yang berasal dari parental nyamuk *Ae. aegypti* betina infeksius (perlakuan) ataupun kontrol.

Tabel 2. Perbedaan antara rerata telur viabel yang berasal dari parental nyamuk *Ae. aegypti* betina infeksius (perlakuan) ataupun kontrol.

	Rerata telur viabel nyamuk betina (Mean + SD)	P
Perlakuan	11,50 + 8,06	0,794
Kontrol	21,50 + 9,68	

Hasil analisis T-test independent pada Tabel. 2 menyatakan bahwa tidak ada perbedaan bermakna (P = 0,794) rerata jumlah telur yang berhasil menjadi imago, yang dihasilkan dari parental nyamuk betina

infeksius (perlakuan) ataupun kontrol. Hal ini mengindikasikan penularan transvenereal nyamuk *Ae. aegypti* jantan yang infeksius DENV-3 memiliki potensi yang sama dengan nyamuk *Ae. aegypti* jantan yang non infeksius

dalam menghasilkan telur yang viabel. Fakta ini menyebabkan, jika nyamuk jantan infeksius DENV-3 mengawini nyamuk betina yang non infeksius, sebagai akibatnya nyamuk betina akan menjadi infeksius dan menghasilkan telur yang kemungkinan juga infeksius. Viabilitas telur infeksius sama dengan telur hasil perkawinan nyamuk jantan dan betina alami dalam menghasilkan vektor DBD.

Tahap selanjutnya menentukan perbedaan telur yang berhasil berkembang

Tabel 3. Perbedaan rerata telur viabel yang berasal dari parental nyamuk *Ae. aegypti* betina infeksius berdasarkan variasi lama penyimpanan telur.

	Variasi lama penyimpanan	Rerata telur viabel nyamuk betina (Mean + SD)	P
Masa inkubasi 14 hari	14 hari	29,00 + 8,49	0,18
	30 hari	15,50 + 6,36	
	60 hari	12,00 + 9,90	
	90 hari	9,50 + 3,53	

Hasil analisis ANOVA pada Tabel 3. diperoleh nilai $P = 0,18$, dengan demikian dapat disimpulkan tidak ada perbedaan bermakna antara rerata telur yang berhasil menjadi imago, yang berasal dari parental nyamuk *Ae. aegypti* betina infeksius berdasarkan lama penyimpanan telur. Hasil penelitian sesuai dengan penelitian Brown, Smith, Lashway, & Lysyk (2018) yang menyatakan hubungan negatif yang kuat antara umur telur dengan waktu penetasan telur, artinya walaupun telur tidak menetas dalam kurun waktu yang lama, viabilitas telur untuk menjadi nyamuk dewasa tetap tinggi.

Stadium telur mempertahankan viabilitasnya dengan diapause (terhentinya masa perkembangan embrio) atau dalam kondisi kering. Telur akan mengalami diapause jika dalam kondisi lingkungan parah seperti kekurangan air, suhu yang sangat rendah bahkan pemanasan yang cukup tinggi (Forattini, 2002). Mourya (2001) berasumsi bahwa stadium telur nyamuk *Ae. aegypti* yang diapause atau telur yang kering, dapat berpotensi mempertahankan DENV selama kepadatan nyamuk rendah. Hasil penelitiannya membuktikan bahwa *Vertical Transmission Rate* (VTR) DENV-2 tinggi ketika telur disimpan dalam kondisi kering selama 2 bulan. Hasil penelitian menyatakan tidak ada

sampai tahap imago (telur viabel), yang dihasilkan nyamuk *Ae. aegypti* betina positif DENV-3 hasil kawin dengan nyamuk jantan infeksius DENV-3 dengan inkubasi 14 hari dengan variasi masa penyimpanan, dilakukan analisis bivariat ANOVA karena sebaran data normal. Perbedaan rerata telur viabel yang berasal dari parental nyamuk *Ae. aegypti* betina infeksius berdasarkan variasi lama penyimpanan telur dapat dilihat di Tabel 3.

perbedaan viabilitas telur yang berasal dari nyamuk betina infeksius ataupun nyamuk betina non infeksius. Perlu dilakukan uji lanjut dengan metode PCR dari imago yang dihasilkan nyamuk betina infeksius, untuk melihat sejauh mana DENV-3 hasil venereal nyamuk jantan infeksius menyebar.

Pada kondisi alam, lama penyimpanan telur diasumsikan sebagai lama waktu telur bertahan dalam lingkungan ekstrim yang tidak memungkinkan untuk telur menetas. Menurut Christophers (1960), telur *Ae. aegypti* dalam kondisi kering dapat bertahan hidup selama beberapa bulan bahkan hingga satu tahun. Fay R.W., (1966) meneliti viabilitas telur *Ae. aegypti* dengan variasi lama penyimpanan, dan berhasil membuktikan telur dapat bertahan dalam kondisi kering maksimal 262 hari (sekitar hampir 9 bulan). Penelitian terbaru oleh Soares-Pinheiro et al. (2017), mengindikasikan bahwa telur yang berasal dari nyamuk *Ae. aegypti* betina yang dipelihara di laboratorium memiliki viabilitas tinggi (lebih dari 50%) apabila telur disimpan dalam waktu maksimal 4 bulan. Hasil penelitian, juga membuktikan bahwa telur kering dapat bertahan sampai waktu maksimal 3 bulan, dan tidak ada perbedaan bermakna antara viabilitas telur yang disimpan dalam kurun waktu 14, 30, 60, dan 90 hari. Hal ini mengindikasikan bahwa telur

PENGARUH PENULARAN TRANSVENEREAL VIRUS DENGUE SEROTIPE-3 TERHADAP VIABILITAS TELUR AEADES AEGYPTI BERDASARKAN VARIASI LAMA PENYIMPANAN

nyamuk *Ae. aegypti* tetap berpotensi sama menjadi vektor DBD walaupun telur tidak menetas dalam kurun waktu sampai 3 bulan.

Nyamuk *Ae. aegypti* betina oviposisi diatas permukaan air di tempat perindukan nyamuk alami maupun buatan. Telur menempel dengan kuat di bagian dinding bak kamar mandi, botol, kaleng dan tempat perindukan lainnya yang dapat menampung air hingga tergenang pada saat musim hujan. Pada musim kemarau, wadah mengering dan telur nyamuk dalam kondisi kering atau diapause sehingga dapat bertahan selama kurang lebih 6 bulan hingga memasuki musim hujan. Saat awal musim hujan tempat perindukan nyamuk akan tergenang dengan air dan telur nyamuk segera menetas serta berkembang biak menjadi dewasa. Viabilitas telur pada kondisi kering dalam jangka waktu yang lama menjadi faktor utama yang memungkinkan telur nyamuk menyebar dengan mudah ke lokasi-lokasi baru, yang menyebabkan perluasan kasus DBD (Buchori D., Aryati, Hadi U.K., 2017). Hal ini menjadi perhatian khusus dalam hal pengendalian vektor DBD untuk memberantas sampai ke stadium telur *Ae. aegypti*.

KESIMPULAN

Tidak ada perbedaan bermakna antara rerata telur yang berhasil menjadi imago (telur yang viabel) yang berasal dari parental nyamuk betina infeksius dibandingkan kontrol. Analisis juga menyatakan tidak ada perbedaan bermakna antara rerata telur viabel yang berasal dari parental nyamuk betina infeksius baik lama penyimpanan selama 14, 30, 60, ataupun 90 hari. Hasil penelitian mengindikasikan telur kering dapat bertahan sampai maksimal 3 bulan dalam kondisi lingkungan ekstrim baik telur infeksius virus dengue atau tidak. Perlu dilakukan pemberantasan sampai stadium telur dalam pengendalian vektor DBD.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Laboratorium Parasitologi FKMK UGM atas kebaikannya memberikan izin penelitian di laboratorium. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Staf Laboratorium, laboran dan teknisi, Pak Pur, Mbak Atin, dan Mbak Rumbi atas dukungan dan bantuannya selama berjalannya proses penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Andriyoko, B., Parwati, I., Tjandrawati, A., & Lismayanti, L. (2011). Penentuan Serotipe Virus Dengue dan Gambaran Manifestasi Klinis serta Hematologi Rutin pada Infeksi Virus Dengue Dengue Virus Serotyping and Its Clinical Manifestation and Routine Haematology in Dengue Infections. *Mkb*, 44(4), 253–260.
- Angel, B., & Joshi, V. (2009). Distribution of dengue virus types in *Aedes aegypti* in dengue endemic districts of Rajasthan, India. *Indian Journal of Medical Research*, 129(6), 665–668.
- Arunachalam, N., Tewari, S. C., Thenmozhi, V., Rajendran, R., Paramasivan, R., Manavalan, R., ... Tyagi, B. K. (2008). Natural vertical transmission of dengue viruses by *Aedes aegypti* in Chennai, Tamil Nadu, India. *Indian J Med Res*, 127(4), 395–397. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/quer y.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt =Citation&list_uids=18577796
- Brown, H. E., Smith, C., Lashway, S., & Lysyk, T. (2018). Influence of the Length of Storage on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Egg Viability. *Journal of Medical Entomology*, 54(2), 489–491. <https://doi.org/10.1093/jme/tjw186>
- Buchori D., Aryati, Hadi U.K., J. H. K. 2017. (2017). Kajian Resiko Terhadap Pelepasan Nyamuk Ber-Wolbachia. Kementrian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi. Jakarta.
- Cucunawangsih, & Lugito, N. P. H. (2017). Trends of dengue disease epidemiology. *Virology: Research and Treatment*, 8. <https://doi.org/10.1177/1178122X17695836>
- Christophers R.S., 1960. *Aedes aegypti* (L.) the yellow fever mosquito. London: Cambridge University Press. 739. Dalam: Soares-Pinheiro V.C., Dasso-Pinheiro W., Trindade-Bezerra J.M., Tadei P. 2017. Eggs viability of *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera, Culicidae) under different environmental and storage conditions in Manaus, Amazonas, Brazil. *Braz.J.Biol.*
- Fay R.W., Eliason D.A. (1966). A Preferred

- Oviposition Site as a Surveillance Method For *Aedes aegypti*. *Mosquito News*. 26(4): 531-35.
- Forattini O.P., 2002. *Culicidologia médica*. São Paulo: EDUSP. 2: 548. Dalam: Soares-Pinheiro V.C., Dasso-Pinheiro W., Trindade-Bezerra J.M., Tadei P. 2017. Eggs viability of *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera, Culicidae) under different environmental and storage conditions in Manaus, Amazonas, Brazil. *Braz.J.Biol*
- Günther, J., Martínez-Muñoz, J. P., Pérez-Ishiwara, D. G., & Salas-Benito, J. (2007). Evidence of vertical transmission of dengue virus in two endemic localities in the state of Oaxaca, Mexico. *Intervirology*, 50(5), 347–352. <https://doi.org/10.1159/000107272>
- Kementrian Republik Indonesia, 2016. Direktorat Jendral Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan (Ditjen, PP dan PL). *Informasi Umum Demam Berdarah Dengue 2016*. Jakarta.
- Kow, C. Y., Koon, L. L., Yin, P. F., Bosio, C. F., Thomas, R. E., Grimstad, P. R., ... Hou, R. F. (2001). Detection of dengue viruses in field caught male *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Singapore by type-specific PCR. *Journal of Medical Entomology*, 38(4), 475–479. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-38.4.475>
- Kraemer, M. U. G., Sinka, M. E., Duda, K. A., Mylne, A. Q. N., Shearer, F. M., Barker, C. M., ... Hay, S. I. (2015). The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. Albopictus*. *ELife*, 4(JUNE2015), 1–18. <https://doi.org/10.7554/eLife.08347>
- Lee, H., & Rohani, A. (2005). Transovarial Transmission of Dengue Virus in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Relation to Dengue Outbreak in an Urban Area in Malaysia Transovarial Transmission of Dengue Virus in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Relation to Dengue Outbreak in a. *Dengue Bulletin*, 29(DECEMBER 2005), 106–111.
- Mardihusodo, S.J. 2011. Dengue Virus Transovarial Transmission in *Aedes aegypti* L: Potential To DHF epidemics. *Seminar Nasional Penyakit-Penyakit Infeksi dan Vektor*. Universitas Malahayati, Lampung. 15-17 Desember 2011.
- Mulyatno, K. C., Yamanaka, A., Yotopranoto, S., & Konishi, E. (2012). Vertical transmission of dengue virus in *Aedes aegypti* collected in Surabaya, Indonesia, during 2008-2011. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 65(3), 274–276. <https://doi.org/10.7883/yoken.65.274>
- Soares-Pinheiro, V. C., Dasso-Pinheiro, W., Trindade-Bezerra, J. M., & Tadei, W. P. (2017). Eggs viability of *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera, Culicidae) under different environmental and storage conditions in Manaus, Amazonas, Brazil. *Braz. J. Biol. Braz. J. Biol*, 77(2), 396–401. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.19815>
- Thavara, U., Siriyasatien, P., Tawatsin, A., Asavadachanukorn, P., Anantapreecha, S., Wongwanich, R., Mulla, M. . (2006). Double infection of heteroserotypes of dengue viruses in field populations of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) and serological features of dengue viruses found in patients in southern Thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 37(3), 468–476. Retrieved from <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed10&NEWS=N&AN=46003619>
- Thenmozhi, V., Tewari, S. C., Manavalan, R., Balasubramanian, A., & Gajanana, A. (2000). Natural vertical transmission of dengue viruses in *Aedes aegypti* in southern India. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 94(5), 507. [https://doi.org/10.1016/S0035-9203\(00\)90067-1](https://doi.org/10.1016/S0035-9203(00)90067-1)
- Umniyati, S. R., Sutaryo, Wahyono, D., Artama, W. T., Mardihusodo, S. J., Soeyoko, ... Utoro, T. (2008). Application of monoclonal antibody DSSC7 for detecting dengue infection in *Aedes aegypti* based on immunocytochemical streptavidin biotin peroxidase complex assay (ISBPC).

PENGARUH PENULARAN TRANSVENEREAL VIRUS DENGUE SEROTIPE-3 TERHADAP VIABILITAS TELUR AEDES AEGYPTI BERDASARKAN VARIASI LAMA PENYIMPANAN

Dengue Bulletin, 32(2008), 83–98.

Vilela, A. P. P., Figueiredo, L. B., dos Santos, J. R., Eiras, Á. E., Bonjardim, C. A., Ferreira, P. C. P., & Kroon, E. G. (2010). Dengue virus 3 genotype I in *Aedes aegypti* mosquitoes and eggs, Brazil, 2005-2006. *Emerging Infectious Diseases*, 16(6), 989–992. <https://doi.org/10.3201/eid1606.091000>