



ABSTRACT

Introduction: *Aedes aegypti* is a primary vector of dengue hemorrhagic fever (DHF) in Indonesia. Pyrethroid and its derivatives are commonly used as control measure for this vector. Resistance to this insecticide has been reported as the result of a voltage-gated sodium channel (VGSC) gene mutation, which correlates with the development of knockdown resistance (kdr). The current standard surveillance approach to investigate kdr mutations involves mosquito rearing, DNA isolation, and PCR. This study will directly genotype F1534 mutation in adult *Aedes aegypti* from dried insect specimens.

Objective: To describe the frequency of the F1534C kdr mutation in the adult *Aedes aegypti* population using direct PCR.

Methods: This is a descriptive analysis of the F1534C kdr mutation frequency in adult *Aedes aegypti* reared at the Department of Parasitology, FMPHN UGM. The genotyping approach employed in this study will be allele-specific PCR (AS-PCR). Each dried mosquito sample was prepared by pressing one euthanized adult *Aedes aegypti* mosquito on an in-house genetic filter paper. Two drops of absolute methanol were subsequently applied to the preparation, which was then allowed to air dry. The dried adult insects will then be used for direct PCR, eliminating the necessity for DNA extraction.

Result: Direct allele-specific PCR (AS-PCR) was applied to 38 dried adult *Aedes aegypti* specimens, of which 33 produced interpretable amplification patterns at the F1534C locus and were successfully genotyped. The observed genotype frequencies were 9.09% F/F, 0% F/C, and 90.91% C/C, corresponding to allele frequencies of 9.09% for the wild-type F allele and 90.91% for the mutant C allele.

Conclusion: Direct PCR analysis of dried adult *Aedes aegypti* using in-house filter paper templates proved feasible for characterizing the F1534C kdr locus and describing the prevalence of susceptible (F) and resistant (C) alleles in this colony, supporting its potential application in local insecticide resistance surveillance.

Keywords: Direct PCR, F1534C, *Aedes aegypti*, kdr mutation, insecticide resistance



ABSTRAK

Pendahuluan: *Aedes aegypti* merupakan vektor utama demam berdarah dengue (DBD) di Indonesia. Insektisida golongan piretroid dan turunannya banyak digunakan dalam upaya pengendalian vektor ini. Namun, penggunaan yang berkelanjutan telah memicu terjadinya resistensi insektisida, yang salah satunya disebabkan oleh mutasi pada gen *voltage-gated sodium channel* (VGSC) yang berhubungan dengan mekanisme *knockdown resistance* (*kdr*). Pendekatan surveilans standar untuk mendeteksi mutasi *kdr* umumnya melibatkan pemeliharaan nyamuk, isolasi DNA, dan reaksi *polymerase chain reaction* (PCR). Penelitian ini menerapkan pendekatan genotiping langsung mutasi F1534C pada nyamuk *Aedes aegypti* dewasa dari spesimen serangga kering.

Tujuan: Mendeskripsikan frekuensi mutasi *kdr* F1534C pada populasi *Aedes aegypti* dewasa menggunakan metode *direct PCR*.

Metode: Penelitian ini merupakan studi deskriptif yang menganalisis frekuensi mutasi *kdr* F1534C pada *Aedes aegypti* dewasa yang dipelihara di Departemen Parasitologi, FK-KMK Universitas Gadjah Mada. Genotiping dilakukan menggunakan metode *allele-specific PCR* (AS-PCR). Setiap sampel nyamuk kering disiapkan dengan menekan satu ekor nyamuk *Aedes aegypti* dewasa yang telah dimatikan pada kertas saring genetik *in-house*. Dua tetes metanol absolut ditambahkan pada preparat dan dibiarkan mengering pada suhu ruang. Spesimen serangga kering tersebut selanjutnya digunakan secara langsung sebagai templat PCR tanpa melalui tahap ekstraksi DNA.

Hasil: Metode *direct* AS-PCR diaplikasikan pada 38 spesimen *Aedes aegypti* dewasa kering, dan sebanyak 33 spesimen menghasilkan pola amplifikasi lokus F1534C yang dapat diinterpretasikan dan berhasil digentotipe. Frekuensi genotipe yang diperoleh adalah 9,09% F/F, 0% F/C, dan 90,91% C/C, dengan frekuensi alel sebesar 9,09% untuk alel F tipe liar dan 90,91% untuk alel C mutan.

Kesimpulan: Analisis *direct PCR* pada *Aedes aegypti* dewasa kering menggunakan templat kertas saring genetik *in-house* terbukti layak untuk karakterisasi lokus *kdr* F1534C serta untuk mendeskripsikan prevalensi alel rentan (F) dan resisten (C) pada koloni yang diteliti. Temuan ini mendukung potensi penerapan metode *direct PCR* sebagai pendekatan yang praktis dalam surveilans lokal resistensi insektisida.

Kata kunci: Direct PCR, F1534C, *Aedes aegypti*, mutasi *kdr*, resistensi insektisida