

PENELITIAN | RESEARCH

Determinasi Strain *Aedes aegypti* (Linn.) yang Rentan Homozigot dengan Metode Seleksi Indukan Tunggal

Determination of Homozygous Strain in Aedes aegypti (Linn.) Using Single Sib-selection Method

Isfanda^{1*}, Upik Kesumawati Hadi², Susi Soviana²

¹ Dosen pada Fakultas Kedokteran Umum Universitas Abulyatama Aceh

² Dosen pada bagian Magister Parasitologi dan Entomologi Kesehatan Institut Pertanian Bogor

Abstract. *Aedes aegypti* is a type of mosquito that can carry dengue virus, yellow fever and chikungunya. The spread of this mosquito is very broad, covering almost all tropical regions worldwide. This study aims to determine the vulnerability status of homozygous *Ae. aegypti*. Sample of *Ae. aegypti* is mosquito strain from Health Entomology Laboratory Bogor Institute of Agriculture and at random sampling. *Ae. aegypti* eggs which comes from the breeders hatched separately. Insecticide-treated paper (impregnated paper) malathion, bendiokarb and deltamethrin are use for insecticides testing using WHO test kit. The analysis showed that the mosquito *Ae. aegypti* tested with a single sib-selection method and were exposed to the insecticide malathion, propoksur, and showed an increasing trend sipermetrin vulnerability homozygous at each generation. As for the fourth generation (F₄) has not shown changes into a strain that is homozygous susceptible to three types of insecticides. The formation of homozygous susceptible strains take over five generations.

Keywords: *Ae. aegypti*, malathion, bendiokarb, deltamethrin, single sib-selection method

Abstrak. *Aedes aegypti* merupakan jenis nyamuk yang dapat membawa virus dengue, demam kuning (yellow fever) dan chikungunya. Penyebaran nyamuk ini sangat luas, meliputi hampir semua daerah tropis di seluruh dunia. Penelitian ini bertujuan mengetahui status kerentanan nyamuk *Ae. aegypti* secara homozigot. Nyamuk *Ae. aegypti* yang dijadikan sampel yaitu nyamuk dewasa strain yang ada di Laboratorium Entomologi Kesehatan Institut Pertanian Bogor dan diambil secara acak. Telur *Ae. aegypti* yang berasal dari satu indukan ditetaskan secara terpisah. Insektisida yang digunakan untuk pengujian menggunakan kertas berinsektisida (impregnated paper) malation, bendiokarb, dan deltametrin dengan menggunakan WHO test kit. Hasil analisis menunjukkan bahwa nyamuk *Ae. aegypti* yang diuji dengan metode seleksi indukan tunggal serta dipaparkan dengan insektisida malation, propoksur, dan sipermetrin memperlihatkan tren peningkatan kerentanan secara homozigot pada setiap generasi. Adapun pada generasi keempat (F₄) belum menunjukkan perubahan menjadi strain yang homozigot rentan terhadap tiga jenis insektisida. Pembentukan strain homozigot rentan memerlukan waktu di atas lima generasi.

Kata Kunci: *Ae. aegypti*, malation, bendiokarb, deltametrin, metode seleksi indukan tunggal.

Naskah masuk: 15 April 2016 | Revisi: 5 Januari 2017 | Layak terbit: 29 Maret 2017

*Korespondensi: isfandaa@gmail.com | Tel: 085277832371

PENDAHULUAN

Pemberantasan penyakit yang ditularkan oleh vektor dilaksanakan dengan cara pemberantasan vektor penyebab penyakit. Nyamuk berperan sebagai vektor penyakit *dengue*, chikungunya, demam kuning (*yellow fever*), *encephalitis*, filariasis, riketsiasis, dan malaria. Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan satu di antara penyakit tular vektor yang masih menjadi masalah kesehatan secara global terutama di negara berkembang termasuk Indonesia¹.

Nyamuk *Aedes aegypti* merupakan vektor penyakit demam berdarah dengue yang sangat berbahaya bagi manusia karena dapat menyebabkan kematian bagi penderitanya. Secara umum pengendalian nyamuk vektor dilakukan dengan tiga cara yakni pengendalian fisik, biologis dan pengendalian kimiawi menggunakan insektisida merupakan cara yang paling umum digunakan^{1,2,3}.

Tingkat terjadinya kasus penyakit Demam Berdarah mempunyai hubungan dengan tingkat status resistensi nyamuk *Ae. aegypti* sebagai vektor. Pada lokasi dengan kasus tinggi DBD sudah mulai adanya populasi vektor resisten dan toleran terhadap insektisida yang digunakan untuk pengendalian⁴.

Penggunaan insektisida hingga saat ini semakin meningkat di negara-negara berkembang. Penggunaan satu jenis insektisida yang berulang-ulang dalam jangka waktu yang lama dapat menimbulkan populasi serangga target yang resisten, resurgensi, ledakan hama sekunder, serta penumpukan residu insektisida di alam yang menimbulkan masalah terhadap manusia, hewan dan hasil pertanian¹.

Mekanisme resistensi dibedakan menjadi dua jenis yaitu, mekanisme biokimiawi, yang berkaitan dengan fungsi enzimatis di dalam tubuh serangga vektor yang mampu mengurai molekul insektisida menjadi molekul-molekul lain yang tidak toksik (detoksifikasi) dan mekanisme resistensi perilaku, yaitu vektor secara alami menghindari kontak dengan insektisida⁵.

Koloni nyamuk *Ae. aegypti* di Laboratorium Entomologi Kesehatan FKH IPB yang telah dikembangkan selama 97 generasi (F_{97}) diduga secara genetik bersifat resisten heterozigot. Hal ini terlihat dari hasil pengujian efikasi terhadap insektisida golongan organofosfat, karbamat, dan piretroid sintetis yang menunjukkan rata-rata kematian nyamuk yang diuji tidak seragam pada setiap ulangan dari generasi dan umur nyamuk yang sama²⁶.

Dibutuhkan upaya untuk memperoleh koloni nyamuk yang rentan secara homozigot yang akan digunakan sebagai nyamuk uji di laboratorium.

Upaya ini dapat dilakukan dengan metode seleksi indukan tunggal yaitu suatu metode yang dilakukan dengan mengisolasi setiap satu pasang indukan dan mengembangbiakkan keturunannya sampai diperoleh koloni yang rentan.

BAHAN DAN METODE

1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Entomologi Kesehatan Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor selama lima bulan.

2. Rancangan Penelitian

Percobaan ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 3 ulangan untuk setiap jenis insektisida. Persamaan regresi antara waktu kontak dengan mortalitas dibuat untuk mengetahui status kerentanan populasi nyamuk yang diuji terhadap insektisida. Analisis kerentanan setiap sampel kandang akan ditentukan berdasarkan pada persentase kematian nyamuk dengan menggunakan uji statistik regresi dan analisis probit dengan menggunakan software SPSS.

3. Penyediaan Larva dan Nyamuk Uji Seleksi Indukan

Sebanyak 10 pasang nyamuk *Aedes aegypti* F_{97} dewasa strain insektorium diambil secara acak. Setiap satu pasang indukan nyamuk jantan dan betina dipisahkan ke dalam kandang berbeda. Nyamuk tersebut diberi makan darah marmut untuk menghasilkan telur dan hasil dari penetasan telur tersebut dinyatakan sebagai F_0 .

Persiapan untuk mendapatkan telur *Aedes aegypti* dilakukan dengan menyediakan ovitrap. Ovitrap untuk *Aedes aegypti* berupa wadah gelas plastik yang dilapisi kertas saring pada bagian dinding dalam sebagai tempat peletakan telur, lalu diisi dengan air setengahnya. Ovitrap dibiarkan sampai nyamuk meletakkan telurnya.

Pemeliharaan Nyamuk

Satu kertas saring telur *Aedes aegypti* yang berasal dari satu indukan nyamuk dipindah dari ovitrap dan dikeringkan pada suhu kamar selama dua hari. Setelah itu ditetaskan dalam nampan plastik berukuran 20x15x10 cm³ yang berisi satu liter air. Telur yang telah menetas menjadi larva diberi makanan berupa tepung hati ayam dan *catfood* (1:1) yang telah dihaluskan. Air di dalam nampan tersebut diganti dengan air baru setiap dua hari sekali sampai menjadi larva instar IV. Pupa dikumpulkan di dalam wadah gelas plastik, kemudian dimasukkan ke dalam kandang hingga eklosi menjadi dewasa. Pemeliharaan ini dilakukan hingga 5 generasi (F_5). Suhu rata-rata ruangan berkisar antara 20°C-28°C dengan kelembaban 88%-90%.

4. Pengujian Status Kerentanan Insektisida

Insektisida (*impregnated paper*) yang digunakan untuk pengujian nyamuk terdiri atas tiga golongan, yaitu Malation 0.8%, Bendiokarb 0.1%, dan Deltametrin 0.025%⁶.

Uji Kerentanan Nyamuk Dewasa

Pengujian dilakukan dengan menggunakan *impregnated paper* yang dimasukkan ke dalam masing-masing tabung WHO *test kit*, sedangkan untuk kontrol hanya menggunakan kertas saring. Pengujian ini diulang 3 kali dengan satu kontrol negatif. Nyamuk betina umur 2-3 hari yang kenyang air gula diambil dari kandang pemeliharaan. Setiap tabung *holding tube* diisi dengan 25 ekor nyamuk uji. Tabung diletakkan dalam posisi tegak selama satu jam dan diamati mortalitasnya mulai dari 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 menit.

Setelah kontak selama 60 menit, nyamuk dipindahkan kembali ke dalam kandang dan beri air gula 10%. Setelah 24 jam, jumlah nyamuk yang mati dihitung dan dicatat.

5. Analisis Data Analisis Status Kerentanan Nyamuk

Status kerentanan ditentukan berdasarkan presentase kematian nyamuk. Apabila kematiannya dibawah 80% maka populasi tersebut dinyatakan resisten, antara 80%-97 % dinyatakan toleran, dan antara 98%-100% dinyatakan rentan⁷.

Analisis Status Resistensi Nyamuk

Status resistensi nyamuk *Ae. aegypti* terhadap masing-masing insektisida diukur dengan perhitungan analisis regresi probit yang dinyatakan dalam LT_{50} , LT_{95} , dan rasio resistensi (RR).

HASIL

Kerentanan Nyamuk *Ae. aegypti* Terhadap 3 Jenis Insektisida

1. Kerentanan *Ae. aegypti* terhadap malation 0,8%

Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu kematian 50% (LT_{50}) nyamuk *Ae. aegypti* pada generasi F₂-F₅ berturut-turut 3.80, 10.61, 13.96,

15.38 sedangkan kematian 95% (LT_{95}) berturut-turut 30.52, 17.89, 21.05, 24.87 menit dengan persentase kematian pada masing-masing generasi yakni F₂ 5.60%, F₃ 25.87%, F₄ 31.07%, F₅ 30.53%. Hasil ini menyatakan bahwa terjadi peningkatan jumlah kematian yang berarti mengalami trend rentan terhadap insektisida malation 0,8%.

Nilai RR_{50} dari generasi F₂ sampai generasi F₄ mulai 0.2-0.9. Artinya perbandingan antara nilai LT_{50} pada setiap generasi dibandingkan nilai LT_{50} pada generasi terakhir semakin mendekati nilai 1.0 dan mencapai sifat yang homozigot pada generasi F₄. Adapun nilai RR_{95} pada generasi F₂ memiliki nilai 1.2. Hal ini berarti waktu kematian 95% pada generasi tersebut lebih lama dibandingkan waktu kematian 95% pada generasi pembanding (F₅). Sifat resisten kemungkinan masih dimiliki oleh generasi F₂ yang merupakan bawaan dari induk sebelumnya.

Nilai RR_{95} pada generasi selanjutnya semakin menurun dan mendekati 1.0 pada generasi F₄. Nilai RR yang belum mendekati 1.0 berarti bahwa nyamuk pada generasi tersebut belum mempunyai genetik yang homozigot dan belum memiliki kerentanan yang sama terhadap insektisida malation. Nyamuk yang homozigot merupakan nyamuk yang mempunyai pasangan gen yang sama dalam satu populasi.

2. Kerentanan *Ae. aegypti* terhadap bendiokarb 0,1%

Pengujian kerentanan nyamuk *Ae. aegypti* terhadap bendiokarb 0,1% didapatkan hasil kematian 50% (LT_{50}) pada F₂-F₅ berturut-turut pada menit 0.7, 11.08, 13.96, 15.36 serta kematian 95% (LT_{95}) 2.67, 21.34, 20.50, 21.44 dengan persentase kematian sesuai tabel 4 berturut-turut F₂ 6.93%, F₃ 25.20%, F₄ 25.87%, dan F₅ 28% (tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa adanya perkembangan tingkat kerentanan yang ditandai dengan peningkatan waktu kematian pada setiap generasi pengujian.

Secara statistik kenaikan angka kematian ini tidak berbeda nyata ($P > 0.05$) antara generasi F₂, F₃, F₄, dan F₅. Hal ini juga menyatakan bahwa nyamuk uji masih bersifat resisten. Nilai LT_{50} nyamuk *Ae. aegypti* terhadap bendiokarb (Tabel 2).

Tabel 1. Nilai LT dan RR Nyamuk *Ae. aegypti* terhadap Malation 0.8%

Generasi	Malathion 0.8%					
	LT_{50}		LT_{95}	Regresi Linear	RR_{50}	RR_{95}
F ₂	3.80	-	30.52	$y=0.2x-1.50$	0.2	1.2
F ₃	10.61	(10.05-11.19)	17.89	$y=0.21x-2.33$	0.7	0.7
F ₄	13.96	(13.42-14.52)	21.05	$y=0.25x-3.50$	0.9	0.8
F ₅	15.38	(14.66-16.14)	24.87	$y=0.21x-3.58$	-	-

Ket: F₂-F₅= generasi nyamuk uji, LT_{50-95} =waktu kematian, RR_{50-95} : rasio resistensi, Linear regresi= pengaruh / hubungan

Nilai RR₅₀ dari generasi F₂ sampai generasi F₄ mulai 0.1-0.9, yang berarti perbandingan antara nilai RR₉₅ pada generasi F₂ 0.1, F₃ 0.9 dan 1.0 yang berarti nilai LT₅₀ pada setiap generasi dibandingkan nilai LT₅₀ pada generasi terakhir semakin mendekati nilai 1.0. Nilai RR₉₅ pada generasi F₂ 0.1, sedangkan pada generasi F₃ dan F₄ sudah mencapai 1.0, yakni sama dengan nilai RR pembanding.

Nyamuk *Ae. aegypti* generasi F₃ dan F₄ sudah mempunyai sifat homozigot yang sama dengan generasi F₅ yang dinyatakan sebagai generasi pembanding. Nilai RR yang belum mendekati 1.0 berarti bahwa nyamuk pada generasi tersebut belum mempunyai gen yang homozigot dan belum memiliki kerentanan yang sama terhadap insektisida bendiokarb.

3. Kerentanan *Ae. aegypti* terhadap deltametrin 0,025%

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa pada generasi F₂ mengalami persentase kematian nyamuk *Ae. aegypti* terhadap 31.07% dengan LT_{50,95} 22.86, 55.03, F₃ 87.33%, LT_{50,95} 65.42, 133.63 menit dan F₄ 93.30%, LT_{50,95} 71.12, 142.30 menit sedangkan F₅ 93.13% dengan LT_{50,95} 73.04, 148.18 menit yang ditampilkan pada Tabel 3 dan 4. Hasil menunjukkan bahwa ada perbedaan kenaikan angka kematian setelah 24 jam yang berarti ada pengaruh yang nyata antara generasi F₂ dengan generasi F₃, F₄, dan F₅ (P < 0.05)

Nilai RR₅₀ dari generasi F₂ sampai generasi F₄ mulai 0.3-1.0, artinya perbandingan antara LT₅₀ pada setiap generasi dibandingkan nilai LT₅₀ pada generasi terakhir mencapai nilai 1.0. Nilai RR₉₅ pada generasi F₂ sampai F₄ mulai 0.4-1.0. Perbandingan antara LT₉₅ setiap generasi dibandingkan LT₉₅ pada generasi terakhir

mencapai 1.0. Nyamuk *Ae. aegypti* generasi F₄ dan generasi F₅ menunjukkan bahwa sudah mempunyai sifat yang homozigot. Nilai RR yang mencapai 1.0 berarti bahwa nyamuk pada generasi tersebut telah mempunyai genetik yang homozigot dan memiliki kerentanan yang sama terhadap insektisida deltametrin.

4. Persentase kematian nyamuk *Ae. aegypti* terhadap insektisida malation 0.8%, Bendiokarb 0.1%, dan deltametrin 0.025%.

Hasil penelitian uji resistensi dapat diambil kesimpulan tentang status resistensinya diamati melalui persentase kematian nyamuk uji. Kematian nyamuk uji yang terbentuk dari ketiga jenis insektisida yang diuji pada penelitian ini berturut-turut pada insektisida malation 0.8% mengalami peningkatan kematian. Total persentase jumlah kematian menunjukkan nyamuk uji masih sangat resisten terhadap malation 0.8% yang ditandai jumlah kematian tertinggi 31.07%.

Hasil pengujian terhadap insektisida juga menunjukkan hasil masih sangat resisten dengan angka kematian tertinggi 28% pada generasi F₅. Hal ini terjadi disebabkan induk nyamuk uji telah mengalami terlalu banyak pemaparan insektisida dibawah dosis mematikan sehingga generasinya mengalami perkembangan resistensi.

Berbeda dengan hasil persentase kematian nyamuk uji pada pengujian terhadap insektisida malation 0.8%, dan bendiokarb 0.1%. Kematian nyamuk uji terhadap insektisida deltametrin 0.025% mencapai 93.20% yang menunjukkan bahwa nyamuk uji masih rentan terhadap insektisida deltametrin.

Tabel 2. Nilai LT dan RR Nyamuk *Ae. aegypti* terhadap Bendiokarb 0,1%

Generasi	Bendiokarb 0.1%						
	LT ₅₀		LT ₉₅		Regresi Linear	RR ₅₀	RR ₉₅
F ₂	0.71	(0.30-1.25)	2.67	(1.85-5.53)	y=1.25x-1.5	0.1	0.1
F ₃	11.08	(9.57-12.81)	21.34	(17.98-28.87)	y=0.21x-2.75	0.9	1.0
F ₄	12.25	(11.62-12.91)	20.50	(18.92-22.86)	y=0.25x-3.00	0.9	1.0
F ₅	12.91	(12.26-13.59)	21.44	(19.80-23.88)	y=0.21x-2.75	-	-

Ket: F₂-F₅= generasi nyamuk uji, LT₅₀₋₉₅=waktu kematian, RR₅₀₋₉₅: rasio resistensi, Linear regresi= pengaruh / hubungan

Tabel 3. Nilai LT dan RR Nyamuk *Ae. aegypti* terhadap Deltametrin 0,025%

Generasi	Deltametrin 0.025%						
	LT ₅₀		LT ₉₅		Regresi Linear	RR ₅₀	RR ₉₅
F ₂	22.86	(17.44-28.74)	55.03	(43.98-82.86)	y=0.063x-1.5	0.3	0.4
F ₃	65.42	(55.05-76.55)	133.63	(111.62-184.03)	y=0.025x-1.5	0.9	0.9
F ₄	71.12	(57.85-85.47)	142.30	(116.20-216.11)	y=0.025x-1.5	1.0	1.0
F ₅	73.04	(67.31-78.96)	148.18	(133.55-170.33)	y=0.025x-1.5	-	-

Ket: F₂-F₅= generasi nyamuk uji, LT₅₀₋₉₅=waktu kematian, RR₅₀₋₉₅: rasio resistensi, Linear regresi= pengaruh / hubungan

Tabel 4. Rata-rata Persentase Kematian Nyamuk *Ae. aegypti* terhadap 3 Jenis Insektisida
 Kematian Nyamuk *Ae. aegypti* setelah 24 jam

Insektisida	Generasi			
	F ₂ (%)	F ₃ (%)	F ₄ (%)	F ₅ (%)
Malation 0.8%	5.60 ^{a,a}	25.87 ^{a,b}	31.07 ^{a,b}	30.53 ^{a,b}
Bendiokarb 0.1%	6.93 ^{a,a}	25.20 ^{a,b}	25.87 ^{a,b}	28.0 ^{a,c}
Deltametrin 0.025%	31.07 ^{b,a}	87.33 ^{b,b}	93.20 ^{b,b}	93.13 ^{b,b}

Ket: a, b, c= Subskrip huruf kecil yang sama antar generasi menunjukkan mortalitas yang tidak berbeda nyata (p>0.05).

PEMBAHASAN

Selama puluhan tahun pengendalian serangga kesehatan dilakukan secara kimiawi dengan menggunakan insektisida. Nyamuk *Ae. aegypti* dan beberapa vektor dengue lainnya di beberapa negara mengalami perkembangan resistensi terhadap insektisida yang meliputi malation, deltametrin dan bendiokarb.

Malation adalah golongan organofosfat, bendiokarb dari golongan karbamat, sedangkan deltametrin adalah piretroid sintetis. Ketiganya memiliki target kerja yang berbeda.

Insektisida golongan organofosfat dan karbamat masuk kedalam tubuh serangga melalui kontak kulit, makanan, dan saluran pernapasan yang merupakan racun sinaptik.

Insektisida terikat pada suatu enzim pada sinaps yang dikenal dengan asetilkolinesterase (AChE) serta menghambat enzim kolinesterase. Enzim ini menjadi terfosforilasi ketika terikat dengan organofosfat dan bersifat tetap (*irreversible*). Tetapi pada karbamat menghambat enzim kolinesterase bersifat tidak tetap (*reversible*)^{21,1}. Piretroid sintetis merupakan racun akson (serabut syaraf) yang terikat pada *voltage-gate sodium channel*, yang mencegah penutupan secara normal dan berakibat terjadinya rangsangan syaraf berkelanjutan²¹ sehingga serangga target mengalami kelumpuhan bahkan kematian^{27,21}. Aktivitas enzim esterase juga berpengaruh terhadap mekanisme resistensi²⁰.

Insektisida lainnya yakni golongan piretroid yang bersifat racun axonik, beracun pada serabut saraf. Insektisida ini terikat pada suatu protein dalam saraf yang dikenal sebagai *voltage-gated sodium channel*. Pada keadaan normal protein ini membuka untuk memberikan rangsangan pada saraf dan menutup untuk menghentikan sinyal saraf. Insektisida terikat pada gerbang ini dan mencegah penutupan secara normal yang menyebabkan rangsangan saraf berkelanjutan, hal ini mengakibatkan tremor dan gerakan inkoordinasi pada serangga^{29, 30}.

Dewasa ini pengendalian nyamuk *Aedes* sp sebagai vektor demam berdarah dengue (DBD) dilakukan dengan pengendalian kimiawi sehingga menimbulkan perkembangan resistensi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat nyamuk *Ae. aegypti* dari laboratorium insektarium FKH IPB sangat resisten terhadap malation 0.8% dengan angka kematian setelah 24 jam pemaparan hanya mencapai 31.7%.

Nyamuk *Ae. aegypti* diketahui toleran terhadap malation, resisten terhadap DDT, dan masih rentan terhadap deltametrin dan bendiokarb⁸. Menurut Widiarti *et al.*, nyamuk *Ae. aegypti* yang berasal dari beberapa kabupaten di Jawa Tengah sebagian besar sangat resisten terhadap insektisida malation 0.8%^{9,10,20}. Sedangkan nyamuk *Ae. aegypti* isolat kota bogor masih rentan terhadap malation 0.8% dengan angka kematian mencapai 100%¹¹. Hal serupa juga terjadi pada nyamuk *Ae. aegypti* isolat Provinsi Sumatera Selatan yang toleran serta resisten terhadap insektisida malation 0.8%. Sedangkan isolat nyamuk dari tempat yang berbeda masih sangat rentan terhadap malation 5%¹².

Rasio resistensi yang diperoleh nyamuk uji pada generasi kelima (F₅) menunjukkan angka 1.0. Hal ini menunjukkan bahwa telah terdapat rasio terendah dari perbandingan nyamuk uji. Selvi *et al.*, menyatakan bahwa larva *Ae. albopictus* mendapatkan kesamaan rasio resistensi terhadap insektisida malation didapatkan pada generasi kesepuluh (F₁₀). Adapun hasil pengujian bioassay pada nyamuk dewasa dengan menggunakan malation 5% belum didapatkan kesamaan rasio resistensi hingga F₁₀. Hal ini menyatakan bahwa belum didapatkan keseragaman serta menunjukkan penurunan tingkat resistensi¹³.

Insektisida golongan karbamat yang digunakan yakni bendiokarb juga bekerja pada sistem saraf yakni memblok AChE²¹. Insektisida bendiokarb termasuk satu diantara banyak jenis insektisida dari golongan karbamat. Nyamuk *Ae. aegypti* isolat laboratorium yang digunakan pada pengujian dan dipaparkan terhadap bendiokarb telah mengalami perkembangan resistensi.

Nyamuk *Ae. aegypti* diketahui telah mengalami perkembangan resistensi dengan didapatkan nyamuk yang telah toleran terhadap insektisida bendiokarb di beberapa tempat di Provinsi Jawa Tengah⁹. Hal berbeda dikemukakan oleh Andriessen *et al.*, bahwa nyamuk *Ae. aegypti* masih rentan terhadap

insektisida bendiokarb 1.25% dengan angka kematian mencapai 100%¹⁵.

Insektisida piretroid masih menjadi insektisida kimiawi pilihan yang digunakan pada pengendalian vektor penyakit. Satu diantara aplikasi piretroid yaitu aplikasi pada kelambu berinsektisida atau ILLN (*Insecticide Long Lasting Net*) yang menggunakan deltameterin. Hal ini dapat menyebabkan perkembangan resistensi seperti yang dinyatakan oleh Ayorinde *et al.*, menyatakan bahwa nyamuk *Ae. aegypti* telah mengalami perkembangan resistensi karena memiliki status yang toleran terhadap deltameterin (0.05%)¹⁶ dan malation 5%¹⁷.

Nyamuk *Ae. aegypti* pada beberapa tempat yang penggunaan insektisidanya masih rendah tidak mengalami perkembangan resistensi atau masih sangat rentan terhadap insektisida deltameterin dan sipermeterin¹⁸. Arslan *et al.*, mengataan bahwa nyamuk *Ae. aegypti* yang diuji telah resisten terhadap DDT, malation, bendiokarb, dan permetrin¹⁹.

Resistensi insektisida terhadap nyamuk *Ae. aegypti* memiliki mekanisme yang sangat kompleks dengan melibatkan enzim. Nyamuk *Ae. aegypti* yang resisten terhadap insektisida piretroid akan mendetoksifikasi enzim monooxygenase yang berlebih²⁸. Dusfour *et al.*, menyatakan bahwa mekanisme resistensi terhadap piretroid bisa saja terjadi karena peningkatan regulasi detoksifikasi gen yang berbeda pada populasi nyamuk uji yakni gen sitokrom P450, mutasi *kdr* yang berbeda, serta perbedaan paparan dan perbedaan genetik menjadi faktor penyebab³¹.

Nyamuk *Ae. aegypti* strain Yogyakarta didapatkan telah mengalami perkembangan resistensi tipe 1 dan 2 terhadap piretroid. Individu nyamuk yang homozigot hampir sama mutasi genetiknya dengan tingkat resistensi individu yang heterozigot yaitu resisten tipe 1. Individu heterozigot resesif tidak kompleks¹⁴. Status kerentanan nyamuk dewasa *Ae. aegypti* terhadap insektisida malation, bediokarb, dan deltameterin hasilnya menunjukkan cenderung mengalami peningkatan status kerentanan, tetapi sampai generasi keempat (F₄) belum menunjukkan adanya angka kematian di atas 97%.

Dari data tersebut belum menunjukkan adanya generasi strain rentan homozigot murni yang ditandai oleh adanya kematian 100%. Nyamuk yang terpapar oleh malation, bendiokarb, dan deltameterin. Hamdan *et al.* melaporkan bahwa larva *Cx. quinquefasciatus* menunjukkan berhasil menjadi strain rentan homozigot pada generasi kelima (F₅)²². Hal ini ditunjukkan oleh adanya kematian 100% pada generasi kelima (F₅). Adapun nilai LT₅₀ nyamuk

Cx. quinquefasciatus dewasa dengan cara yang sama menunjukkan juga penurunan resistensi pada setiap generasi, dan resistensi pada generasi kesepuluh (F₁₀) menurun 1.8 kali bila dibandingkan dengan F₀.

Resistensi secara genetik diturunkan dan tingkat perkembangan resistensi bergantung pada frekuensi gen resisten, kekerapan penggunaan insektisida dan lamanya aplikasi²³. Perkembangan resistensi akan meningkat lebih cepat pada rumah kaca, tempat serangga bereproduksi, tempat yang kecil atau tidak ada imigrasi serangga-serangga rentan²⁴.

Mekanisme fisiologis yang tepat untuk resistensi organofosfat terhadap nyamuk masih harus dieksplorasi untuk mengembangkan cara mengukur resistensi. Pengujian perlu dilakukan untuk mendapatkan pola resistensi silang dan menentukan manajemen pengendalian yang tepat. Penggunaan insektisida secara bergantian untuk menghindari terbentuknya gen yang resisten. Pengendalian harus memperhatikan resiko terjadinya resistensi silang terhadap populasi nyamuk dan hama pertanian. Studi resistensi silang juga akan memberikan informasi penting untuk mengenali mekanisme resistensi²⁵.

Secara biokimia menunjukkan adanya elevasi detoksifikasi aktivitas enzim monooxygenase, carboxylesterase, dan gluthathione S-transferase. Hasil screening molekuler ditemukan adanya mutasi target-site, dan mutasi *kdr* V10161 yang tinggi (87%). Nilai kuantitatif dari hasil RT-PCR juga terbentuk karena adanya detoksifikasi gen pada individu yang resisten³².

KESIMPULAN

Dengan metode seleksi indukan tunggal, kemudian dipaparkan dengan insektisida malation 0.8%, bendiokarb 0.1%, dan deltameterin 0.025%. Nyamuk *Ae. aegypti* belum menunjukkan perubahan menjadi strain rentan homozigot pada kelima generasi terhadap tiga jenis insektisida. Pembentukan strain homozigot rentan memerlukan waktu di atas lima generasi.

Untuk mendapatkan nyamuk *Ae. aegypti* yang rentan secara homozigot terhadap ketiga jenis insektisida perlu dilakukan pemeliharaan dan pengujian nyamuk *Ae. aegypti* secara berkelanjutan untuk mengkonfirmasi ulang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih saya haturkan kepada para dosen Bapak Singgih H Sigit, Ibu Upik Kesumawati Hadi, Ibu Susi Soviana, dan Ibu Dini

Dwi Gunandini serta teman-teman yang telah banyak membantu serta menyemangati selama proses penelitian.

DAFTAR RUJUKAN

1. Hadi UK, Soviana S. Ektoparasit: Pengenalan, Identifikasi dan Pengendaliannya. Bogor (ID): IPB Press; 2010.
2. Sukowati S. Masalah Vektor Demam Berdarah Dengue (DBD) dan Pengendaliannya di Indonesia. Bull. Jend. Epid. 2010;2(26).
3. Supartha IW. Pengendalian Terpadu Vektor Virus Demam Berdarah Dengue, *Aedes aegypti* (Linn.) dan *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae). Pertemuan Ilmiah, 3-6 September 2007, Udayana-Bali: Indonesia. 2008.
4. Suwito. Status Kerentanan Nyamuk *Aedes aegypti* Terhadap Insektisida malathion 5% Di Kota Surabaya. Jur. Dunia Kesmas, 2012;1(4).
5. Kranthi KR. Insecticide Resistance. Washington (AS): Central Institute for Cotton Research. 2005.
6. WHO. Test Procedures for Insecticide Resistance Monitoring in Malaria Vector Mosquitoes. Geneva (CH): WHO Press. 2013.
7. WHO. Instruction for Determining The Susceptibility or Resistance of Adult Mosquitos to Organophosphorus and Carbamate Insecticides. Geneva (CH): WHO Press.1975.
8. Husham AO, Abdalmagid MA, and Brair M. Status Susceptibility of Dengue Vector; *Aedes aegypti* To Different Groups of Insecticides in Port Sudan City-Red Sea State. J. of Pub. Health. 2010;5(4):199-202.
9. Widiarti, Heriyanto B, Boewono Damar T, Widyastuti U, Mujiono, Lasmiati, dan Yuliadi. Peta Resistensi Vektor Demam Berdarah Dengue *Ae. aegypti* Terhadap Insektisida Kelompok Organofosfat, Karbamat, dan Pyrethroid di Provinsi Jawa Tengah dan Daerah Istimewa Yogyakarta. Bul. Pen. Kes. 2011;39(4):176-189.
10. Ikawati Bina, Sunaryo, dan Widiastuti Dyah. 2015. Peta Status Kerentanan *Aedes aegypti* (Linn.) Terhadap Insektisida Cypermethrin dan Malathion di Jawa Tengah. J. Aspi. 2015;7(1):23-28.
11. Shinta, Sukowati S, dan Fauziah Asri. Kerentanan Nyamuk *Aedes aegypti* di DKI Jakarta dan Bogor Terhadap Insektisida Malathion dan Lamdacyhalothrin. J. Eko. Kes. 2008;7(1):722-731
12. Ambarita LP, Taviv Y, Budiyanto A, Sitorus H, Pahlepi RI, dan Febriyanto. Tingkat Kerentanan *Aedes aegypti* (Linn.) Terhadap malation di Provinsi Sumatera selatan. Bul. Pen. Kes. 2015;4(2):97-104.
13. Selvi S, Endah MA, Nazni WA, Lee, HL, Tyagi BK, Azirun Sofyan M, dan Azhari AH. Insecticide Susceptibility and Resistance Development in Malathion Selected *Aedes albopictus* (Skuse). Trop. Biom. 2010;27(3):534-550.
14. Wulandari JR, Lee SF, White VL, Tantowijoyo W, Hoffmann AA, and Harshman NME. Association between Three Mutation, F1565C, V1023G and S996P, In the Voltage-Sensitive Sodium Channel Gene And Knockdown Resistance In *Aedes aegypti* From Yogyakarta, Indonesia. J. Insect. 2015;5:658-685.
15. Andriessen R, Snetselaar J, Suer RA, Osinga AJ, Deschietere J, Mnyone LL, Brooke BD, Ranson H, Knols BGJ, and Farenhorst M. Electrostatic Coating Enhances Bioavailability of Insecticides and Breaks Pyrethroid Resistance in Mosquitoes. PNAS. 2015;112(39):12081-12086.
16. Ayorinde A, Obboh B, Oduola A, and Otubanjo O. The Insecticide Susceptibility Status of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Farm And Nonfarm Sites of Lagos State, Nigeria. J. of Ins. Scie. 2015;15(1):75.
17. Urageyala S, Verma V, Natarajan E, Velamuri PS, dan Kamaraju R. Adulticidal and Larvacidal Efficacy of Three Neonicotinoids Against Insecticide Susceptible and Resistant Mosquito Strains. Indian. J. Med. Res. 2015;142:64-70.
18. Jahan N, and Shahid A. Evaluation of Resistance Against Deltamethrin And Cypermethrin In Dengue Vector From Lahore, Pakistan. The J. Anim. and Plant Scie. 2013;23(5):1321-136.
19. Arslan A, Rathor HR, Mukhtar MU, Mushtaq S, Bhatti A, Asif M, Arshad I, and Ahmad JF. Spatial Distribution and Insecticide Susceptibility Status of *Aedes aegypti* And *Aedes albopictus* In Dengue Affected Urban Areas of Rawalpindi, Pakistan. J. Vect. Born. Dis. 2016;53:136-143.
20. Sunaryo, Ikawati B, dan Widiastuti D. Status Resistensi Vektor Demam Berdarah Dengue (*Aedes aegypti*) Terhadap Malathion 0.8% dan Permetrin 0.25% Di Provinsi Jawa Tengah. J. Ekol. Kes. 2014;13(2):146-152.
21. Wirawan IA. Hama Peremukiman Indonesia: Insektisida Peremukiman. Bogor (ID): Unit Kajian Pengendalian Hama Peremukiman (UKPHP) FKH IPB. 2006.
22. Hamdan H, Ahmad NW, Azirun MS. Determination of Homozygotes Susceptible Strain in *Cx. quinquefasciatus*, Using Single

- Raft Sib-selection Method. Trop. Biom. 2008;25(1):75-79.
23. Brown AWA. Insecticide Resistant in Mosquitoes: a Pragmatic Review. J. of American Mosq. Cont. Asso. 1986;2:123-140.
 24. Finney DJ, Dunley J. Orchard Pest Management, <http://www.wsu.edu/>. 2009.
 25. Scott JG. Cross Resistance to The Biological Insecticide Abamectin in Pyrethroid Resistant House Flies. Pes. Bio. And Phys. 1989;34:27-31.
 26. [UKPHP] Unit Kajian Pengendalian Hama Pemukiman. Laporan Hasil Uji Resistensi Nyamuk *Ae. aegypti* (Strain Liverpool) Terhadap Insektisida Rumah Tangga. UKPHP-FKH Institut Pertanian Bogor. Bogor (ID). 2012.
 27. [NPIC] National Pesticide Information Center. Malathion Technical Fact Sheet. npic.orst.edu/factsheets/archive/malatech.html. 2013.
 28. Kooou SY, Chong CS, Vythilingam I, Lee CY, and Ng LC. Insecticide Resistance and Its Underlying Mechanism in Field Populations of *Aedes aegypti* Adults (Diptera: Culicidae) in Singapore. Par. & Vect. 2014;7(471):1-15.
 29. Dong K, Du Y, Rinkevich F, Nomura Y, Xu P, Wang L, Silver K, and Zhorov BS. Molecular Biology of Insect Sodium Channels and Pyrethroid Resistance. Ins. Bioc. Mol. Biol. 2014;50:1-17.
 30. Kushwah RBS, Dykes CL, Kapoor N, Adak T, and Singh OP. Pyrethroid Resistance and Presence of Two Knockdown Resistance (*kdr*) Mutations, F1534C and a Novel Mutation T15201, in Indian *Aedes aegypti*. PLoS Negl. Trop. Dis. 2015;9(1):1-8.
 31. Dusfour I, Zorrilla P, Gudez A, Issaly J, Girod R, Guillaumot L, Robello C, and Strode C. Deltamethrin Resistance Mechanisms in *Aedes aegypti* Population From Three French Overseas territorial Worldwide. PloS Negl. Trop. Dis. 2015;9(11):e0004226.
 32. Marcombe S, Mathieu RB, Pocquet N, Riaz MA, Poupardin R, Selior S, Darriet F, Reynaud S, Yebakima A, Corbel V, David JP, and Chandre F. Insecticide Resistance in the Dengue Vector *Aedes aegypti* from Martinique: Distribution, Mechanisms and Relations with Environmental Factors. PLoS ONE. 2012.7(2):e30989.