

DETEKSI DINI RESISTENSI NYAMUK *Aedes albopictus*
TERHADAP INSEKTISIDA ORGANOFOSFAT DI DAERAH ENDEMIS
DEMAM BERDARAH DENGUE DI PALU (SULAWESI TENGAH)

Kartini Lidia¹, Elisabeth Levina Sari Setianingrum²

Abstract: Organophosphate insecticide always used in controlling dengue haemorrhagic fever (DHF) national program in Indonesia including Palu which is one of DHF endemic area. Insecticide that used in years with high frequency gradually would cause the mosquito vector become tolerant or resistant to insecticide. Therefore, early detection of resistance status to insecticide is needed. This study was designed to know the resistance status of *Ae. Albopictus* to organophosphate in Palu (Central Sulawesi) as an endemic area using biochemical assay. Resistance test was done by using biochemical assay to show the activity of esterase that related with resistance mechanism. The result of this method was the colour's intensity (absorbance value/AV) that measured quantitatively using ELISA reader at $\lambda = 450\text{nm}$. Absorbance value of *Ae. Albopictus* mosquitoes from Palu was between 0,375-1,314. AV analysis showed that the sensitive mosquito ($AV < 0,102$) was 0%, the mild resistance mosquito ($0,102 \leq AV \leq 1,254$) was 99,58% and the high resistance mosquito ($AV > 1,254$) was 0,92%. This study showed that all of the *Ae. Albopictus* mosquitoes from Palu had been resistant to organophosphate insecticide.

Keywords: *Aedes albopictus*, dengue haemorrhagic fever, insecticide organo phosphate, resistance status, biochemical assay.

LATAR BELAKANG

Penyakit demam berdarah dengue (DBD) berjangkit di Indonesia sejak tahun 1968 dan hingga sekarang masih merupakan salah satu masalah kesehatan di Indonesia dengan jumlah penderita yang terus meningkat dan daerah penyebaran yang terus meluas, disamping itu penyakit ini juga dapat menimbulkan kejadian luar biasa (KLB). Penyakit DBD menempati urutan kedua dalam jumlah (frekuensi) KLB yang terjadi di Indonesia selama tahun 1995 yaitu dengan 212 kejadian yang meliputi 2.156 kasus dengan jumlah kematian 123 orang dan angka kematiannya (*Crude Death Rate* = CDR) sebesar 5,70%. Pada periode November 1997-April 1998 telah terjadi KLB DBD yang meliputi 11 propinsi di Indonesia yaitu: Jambi, Sumatera Barat, DKI Jakarta, Lampung, Sulawesi Tengah, Sulawesi Tenggara, Nusa Tenggara Barat, Maluku, Timor-Timur, Sulawesi Selatan, dan Sulawesi Utara, dengan

jumlah seluruh penderita 7.595 orang dan jumlah kematian 207 orang.

Palu merupakan salah satu daerah endemis DBD di Propinsi Sulawesi Tengah.. Berdasarkan data dari Dinas Kesehatan Dati I Propinsi Sulawesi Tengah mengenai situasi demam berdarah pada bulan Januari sampai dengan Desember 2000 untuk Kodya Palu terdapat 166 kasus dengan CFR (*Case Fatality Rate*) 5,73%, tahun 1999 terdapat 22 kasus, tahun 1997 terdapat 21 kasus sedangkan pada tahun 1996 terdapat 17 kasus DBD. Hal ini menunjukkan adanya peningkatan jumlah kasus DBD di Kodya Palu dari tahun ke tahun pada tahun 1998 terjadi KLB dengan 488 kasus DBD.

Rantai penularan penyakit DBD terjadi dengan didukung oleh beberapa faktor komponen yaitu virus, vektor, lingkungan dan manusia. Nyamuk *Aedes albopictus* (*Ae. Albopictus*) merupakan salah satu vektor penyakit DBD di Indonesia

¹ Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Undana

² Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Undana

disamping nyamuk *Aedes aegypti* (*Ae. Aegypti*) tergantung daerah yang diamati. *Ae. Aegypti* menggigit di dalam rumah sementara *Ae. Albopictus* menggigit di luar rumah dan pada umumnya ditemukan dalam hutan, daerah pertanian dan di kebun atau di taman sekitar rumah. Pemutusan rantai penularan oleh vektor nyamuk dapat dilakukan dengan menghindari atau mengurangi kontak/gigitan nyamuk, membunuh jentik nyamuk dan menghilangkan tempat perindukan (*breeding place*) nyamuk.

Di Indonesia, pengendalian penularan penyakit DBD terutama dilakukan dengan menggunakan insektisida golongan organofosfat (malation dan temefos) untuk menurunkan kepadatan vektornya. Malation dan temefos selalu digunakan dalam program nasional pengendalian DBD di Indonesia sejak tahun 1970-an. Dari banyak pengalaman di banyak tempat di dunia, diketahui bahwa efektivitas aplikasi kedua insektisida ini ditentukan oleh banyak faktor, diantaranya adalah tingkat kerentanan nyamuk vektor (stadium larva dan dewasa) yang menjadi sasaran utamanya. Penggunaan insektisida kimia dalam jangka lama dengan frekuensi per tahun yang tinggi telah menjadi pengalaman umum, yaitu secara bertahap insektisida itu akan menekan dan menyeleksi serangga (nyamuk vektor) sasaran untuk menjadi toleran (heterozigot resisten;RS) sampai resisten (homozigot resisten;RR) terhadapnya. Oleh karena itu, diperlukan adanya deteksi dini dan pemantauan secara berkala mengenai status kerentanan nyamuk terhadap insektisida yang digunakan dalam program pengendalian vektor penyakit DBD di suatu daerah demi efektivitas dan keberhasilan dari program itu sendiri.

Pada penelitian ini akan dilakukan uji resistensi secara biokemis untuk mengetahui aktivitas

enzim esterase yang terkait dengan mekanisme timbulnya resistensi nyamuk vektor terhadap insektisida organofosfat. Peningkatan aktivitas enzim esterase akan menurunkan dosis letal menjadi subletalnya, yang tidak lagi mematikan insekta yang menjadi sasaran.

Dibandingkan dengan cara bioassay, uji resistensi secara biokemis, hasilnya dapat diperoleh lebih cepat sehingga dapat mendeteksi terjadinya resistensi secara lebih dini, dan dapat untuk mengetahui kemungkinan reaksi silang dengan insektisida lain.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menetapkan status kerentanan nyamuk *Ae.albopictus* di daerah Palu (Sulawesi Tengah) terhadap insektisida organofosfat dengan uji biokemis, serta mengetahui hubungan status kerentanan dengan lama dan frekuensi penggunaan insektisida organofosfat secara operasional dalam pengendalian vektor.

BAHAN DAN CARA

Sampel berupa nyamuk dewasa yang diperoleh dengan cara mengumpulkan telur nyamuk dengan menggunakan ovitrap, yang diletakan didalam dan diluar rumah penduduk di daerah Palu. Telur yang diperoleh kemudian ditetaskan dan dipelihara di Laboratorium Parasitologi FK UGM. Jumlah nyamuk subyek penelitian sebanyak 54 ekor dengan 108 replikat sedangkan nyamuk kontrol positif (nyamuk yang berasal dari Lab Parasitologi FK UGM) sebanyak 18 ekor dengan 36 replikat. Pada percobaan ini juga digunakan kontrol reagen untuk menjamin bahwa reagen yang digunakan masih baik.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah substrat (α naftill asetat, aseton, fosfat buffer saline);asam asetat 10%;*coupling reagent (fast blue*, sodium duodecyl sulfat 5 %)

Cara

Nyamuk secara individual digerus dan dibuat homogenat, kemudian dilarutkan dengan 0,5 ml larutan buffer fosfat. Homogenat dipindahkan dalam mikroplate menggunakan mikropipet sebanyak 50 μ l. Pada setiap mikroplate yang berisi homogenat ditambah 50 μ l substrat kemudian dibiarkan selama 60 detik . Pada setiap mikroplate ditambahkan 50 μ l bahan coupling reagent. Segera setelah reaksi berlangsung selama 10 menit, warna merah yang mula-mula timbul berangsur-angsur berubah menjadi biru. Reaksi dihentikan dengan penambahan 50 μ l asam asetat 10 % ke dalam tiap-tiap sumuran mikroplate yang berisi homogenat. Intesitas warna akhir produksi reaksi biokemis menggambarkan aktivitas enzim esterase nonspesifik dan tingkatannya dapat dibedakan secara visual. Intensitas warna dapat dibaca dengan ELISA reader pada panjang gelombang (λ) 450 nm. Percobaan ini dilakukan di laboratorium Parasitologi FK UGM dan pengukuran nilai AV dengan $\lambda = 450$ nm dengan alat ELISA reader dari tiap replikat (sumuran) dilakukan di laboratorium Ilmu Hayati UGM.

ANALISIS DATA

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif observasional dengan menggunakan patokan mean ± 3 SD (678 \pm 576) yang penentuannya berdasarkan pendekatan dengan rerata kontrol positif. Nilai AV nyamuk kontrol positif berkisar antara 1,081 sampai 1,785 dengan rerata (mean) sebesar 1,296.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Data kuantitatif yang diperoleh yaitu berupa nilai AV yang digunakan untuk memperkirakan status kerentanan nyamuk *Ae. Albopictus* dari daerah Palu. Nilai AV menunjukkan aktivitas enzim esterase

nyamuk *Ae. Albopictus* yang menghidrolisis substrat α naftill asetat. Dengan patokan 678 \pm 576 (mean \pm 3 SD) yang penentuannya berdasarkan rerata kontrol positif (1,296), diperoleh kriteria status kerentanan sebagai berikut : sangat sensitif (SS) dengan nilai AV <0,102, resisten sedang (RS) dengan nilai AV berkisar antara 0,102 sampai 1,254 dan resisten tinggi (RR) dengan nilai AV >1,254.

Tabel 1. Distribusi dan frekuensi AV nyamuk *Ae.albopictus* dari daerah Palu

Nilai AV (X 10 ⁻³)	Replikat	%
301 - 500	20	18,62
501 - 700	49	45,37
701 - 900	24	22,22
901 - 1100	12	11,11
1101 - 1300	2	1,85
1301 - 1500	1	0,93
301 - 1500	108	100
Jumlah nyamuk	54	

Nilai AV dari nyamuk yang berasal dari daerah Palu berkisar antara 0,375 sampai dengan 1,314 dan frekuensi paling tinggi pada kisaran AV 0,501 sampai 0,700 yaitu sebesar 45,37 % dapat dilihat pada Tabel 1

Tabel 2. Frekuensi status kerentanan nyamuk *Ae. albopictus* yang berasal dari daerah Palu terhadap insektisida organofosfat dengan uji biokemis

Status Kerentanan Nyamuk	AV	%
Sangat Sensitif (SS)	<0,102	0
Resisten Sedang (RS)	0,102-1,254	99,58
Resisten Tinggi (RR)	>1,254	0,92

Dari Tabel 2 dapat dilihat bahwa berdasarkan intensitas warna hasil reaksi enzim esterase yang diamati secara kuantitatif dengan alat ELISA reader pada $\lambda = 45$ nm, nyamuk *Ae. Albopictus* yang berasal dari daerah Palu semuanya telah resisten yaitu 99,58% resisten sedang dan 0,92% resisten tinggi.

Tabel 3. Frekuensi status kerentanan nyamuk *Ae. Albopictus* yang berasal dari Palu terhadap insektisida organofosfat dengan uji biokemis berdasarkan kriteria empiris Mardihoesodo

Status Kerentanan Nyamuk	Nilai AV	%
Sangat Sensitif (SS)	<0,700	63,89
Resisten Sedang (RS)	0,700-0,900	22,22
Resisten Tinggi (RR)	>0,900	13,88

Data kuantitatif berupa nilai AV yang dibaca dengan alat ELISA dengan panjang gelombang yang sama, juga digunakan untuk patokan penetapan status kerentanan oleh Lee (1990) dan Mardihoesodo (1995) dengan menggunakan kriteria empiris sebagai berikut : sangat sensitif (SS) $AV < 0,700$, resisten sedang (RS) $0,700 \leq AV \leq 0,900$ dan resisten tinggi (RR) $AV > 0,900$. Data kuantitatif (nilai AV) pada penelitian ini bila dinilai berdasarkan kriteria empiris tersebut akan diperoleh hasil seperti pada Tabel 3.

Dari Tabel 3 dapat dilihat bahwa nyamuk *Ae. Albopictus* dari daerah Palu dengan status kerentanan sangat sensitif ($AV < 0,700$) sebanyak 63,89%, resisten sedang ($0,700 \leq AV \leq 0,900$) sebanyak 22,22% dan resisten tinggi ($AV > 0,900$) sebanyak 13,88%. Penetapan status kerentanan dengan kriteria empiris ini menunjukkan hasil yang sangat berbeda dengan penetapan status kerentanan berdasarkan penilaian $\text{mean} \pm 3SD$ yang digunakan pada penelitian ini. Kriteria empiris Mardihoesodo tidak sepenuhnya dapat menjadi patokan dalam penetapan status kerentanan nyamuk. Hal ini disebabkan karena adanya faktor-faktor yang mungkin dapat mempengaruhi hasil pengukuran seperti adanya perbedaan alat ELISA reader yang digunakan, umur reagen, teknis pelaksanaan dan faktor-faktor lain yang tidak dapat dikendalikan. Oleh

karena itu pada penelitian ini penetapan status kerentanan tidak berdasarkan kriteria empiris tersebut.

Timbulnya resistensi biokemis insekta terhadap insektisida disebabkan karena perubahan yang terjadi pada target kerja insektisida (mutasi gen) sehingga menyebabkan peningkatan aktivitas enzim detoksifikasi seperti esterase, oksidase atau glutathion-S-transferase (GST) yang mencegah aksi dari insektisida tersebut.

Enzim yang berhubungan dengan penelitian ini adalah enzim esterase (Est II dan III) yang merupakan produk dari gen Est II dan III. Enzim asetilkolinesterase mampu menghidrolisis asetilkolin menjadi kolin dan asam asetat. Insektisida organofosfat menghambat kerja enzim asetilkolinesterase pada *neuromuscular junction* dari saraf nyamuk sehingga terjadi penumpukan asetilkolin yang menyebabkan nyamuk menjadi hiperaktif, menggelepar, lumpuh dan akhirnya mati. Mutasi pada gen esterase menyebabkan peningkatan aktivitas enzim esterase yang akan menurunkan dosis letal insektisida menjadi subletal yang tidak lagi mematikan insekta yang menjadi sasaran. Pada penelitian ini dilakukan uji resistensi secara biokemis untuk mengetahui aktivitas enzim esterase dalam menghidrolisis substrat α naftil asetat.

Data dari dinas kesehatan propinsi Sulawesi Tengah menunjukkan bahwa pemakaian insektisida organofosfat di daerah Palu dimulai sejak ditemukannya penderita DBD di daerah Palu pada tahun 1975 hingga tahun 2001 saat penelitian ini dilakukan. Insektisida yang digunakan yaitu malation untuk membunuh nyamuk dewasa dan abate untuk membunuh stadium larva. Penyemprotan malation dilakukan setiap ditemukannya penderita DBD. Padahal data dari dinas kesehatan propinsi Sulawesi Tengah mengenai

situasi demam berdarah pada bulan Januari sampai dengan Desember 2000 menunjukkan bahwa kasus DBD ditemukan pada setiap bulannya dari Januari sampai dengan Desember 2000, berarti frekuensi penyemprotan malation per tahun sangat tinggi. Abatisasi dengan dosis 1 ppm (*part per million*) atau 1 gram per 10 liter air dilaksanakan setelah survei jentik dilakukan.

Hal di atas menunjukkan bahwa resistensi yang terjadi pada nyamuk *Ae. albopictus* dari daerah Palu dimungkinkan karena lama pemakaian insektisida yaitu kurang lebih selama 3 dekade, secara bertahap insektisida tersebut akan menekan dan menyeleksi nyamuk vektor untuk menjadi toleran (resisten sedang/heterozigot resisten) sampai dengan resisten (resisten tinggi/homozigot resisten) terhadapnya.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian uji biokemis terhadap nyamuk *Ae. albopictus* dari daerah Palu disimpulkan bahwa nyamuk tersebut sebagian besar (99,58%) telah toleran (resisten sedang) sedangkan 0,92% telah resisten (resisten tinggi) terhadap insektisida organofosfat (malation dan temefos) yang digunakan dalam program pengendalian vektor penyakit DBD di Indonesia pada umumnya dan di daerah Palu pada khususnya.

SARAN

Diperlukan penelitian sejenis dengan teknis pelaksanaan yang lebih teliti dengan mempertimbangkan faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil penelitian. Selain itu diperlukan juga pemantauan secara berkala mengenai status kerentanan nyamuk terhadap insektisida yang digunakan dalam program pengendalian vektor penyakit DBD di Indonesia demi efektivitas dan keberhasilan program itu sendiri.

Kemudian diperlukan juga adanya penyesuaian dosis insektisida yang digunakan dalam program pengendalian vektor DBD dengan status kerentanan nyamuk vektor DBD.

DAFTAR PUSTAKA

Anonimous. 1996. Data Surveilans Penyakit DBD tahun 1995. Ditjen PPM-PLP Sub Dit Surveilans, Jakarta.

Anonimous. 1998. Profil Kesehatan Indonesia tahun 1997. Depkes RI, Jakarta.

Anonimous. 2000. Situasi Demam Berdarah Dengue Propinsi Sulawesi Tengah, Palu.

Anonimous. 1993. Monogram on Dengue Haemorrhagic Fever. WHO, New Delhi.

Anonimous. 1985. Arthropod borne and rodent borne viral disease. WHO, Geneva

Lee HL. 1990. A rapid biochemical method for detection of insecticide resistance due to elevated esterase activity in *Culex quinquefasciatus*. Trop Biomed,

Lee HL, Abimbola O, Inder Singh K. 1992. Determination of Insecticide susceptibility in *Culex quinquefasciatus* say adults by rapid micro assay. South East Asian J. Trop Med Pub Hlth.

Mardihoesodo SJ. 2000. Deteksi dan pemantauan resistensi insektisida karena peningkatan aktivitas enzim esterase pada nyamuk *Aedes aegypti* di Kulonprogo. Media Gama, Yogyakarta.

Mulyaningsih B. 1999. Insektisida dan resistensi serangga terhadap insektisida. Parasitologi II FK UGM, Yogyakarta

Pasteur N, Georghiou GP. 1989. Improved filter paper test for detecting and quantifying increase activity in organophosphate resistant mosquitoes. J. Econ Ento

Patil NS, Lole KS, Deobgkar DN. 1996. Adaptive larval thermotolerance and induced cross tolerance to propoxur insecticide in mosquitoes *Anopheles Stephensi* and *Aedes aegypti*

Rai KS. 1986. Genetics of *Aedes albopictus*. J Mosq Cont, US

Soemarmo SSP.1990. Demam Berdarah Dengue di Indonesia Situasi sekarang dan harapan masa mendatang. Laporan Semiloka, Depok Soemarmo SSP. 1988. Demam Berdarah Dengue pada anak. FK UI, Jakarta.

Soeroso T. 1996. Dengue Haemorrhagic Fever in Indonesia. Epidemiological trend and development of control strategy. Dengue Bull. Jakarta.