

SUSCEPTIBILITY STATUS OF *Aedes aegypti* (DIPTERA : CULICIDAE) TOWARD ORGANOPHOSPHATE INSEKTICIDES IN KUPANG CITY OF NTT PROVINCE

Tiurmasari E. Saragih¹, Maria Erika Resi, ²Byantarsih Widyaningrum²

ABSTRACT

Background: Organoposphate insecticides had been used in Kupang City of East Nusa Tenggara Province far before Kupang City was established in 1996. Determination of susceptibility status toward organophosphate insecticides i.e. temephos and malathion in Kupang City have never been conducted. This research purpose is to know *Ae. aegypti* larva susceptibility status from several villages in Kupang City of East Nusa Tenggara Province toward organophosphate insecticides, particularly temephos and malathion with biological and biochemical test.

Research Method: This is pure experimental research with *The Posttest Only Control Group Design* for biological test and non-experimental tests with descriptive and analytical designs for biochemical test. Material and method of biological test are referred to test regulation by WHO (1996), whereas biochemical test is referred to Lee's method (1991).

Result: Biological test using diagnostic dosage reveals that *Ae. aegypti* larva from several villages being tested has resistant (RR) status toward temephos with average larva mortality rate of <80% and susceptible (SS) status toward malathion with average larva mortality rate of >99%. Result of qualitative and quantitative biochemical test shows that 3 villages have tolerant (SR) status with average score of 2,0-2,5; and 5 villages susceptible (SS) status with average score of <2. Result of quantitative biochemical test shows that 8 villages has susceptible (SS) status with AV value of <0,700, 5 villages has tolerant (SR) status with AV value of 0,700-0,900 and 2 villages have resistant (RR) status with AV value of >0,900. The statistic analysis with *Oneway* ANOVA significant 5% rejects null hypothesis (H₀) which means that there has been status decrease of *Ae. aegypti* mosquito larva susceptibility to organoposphate insecticides.

Conclusion: Temephos insecticide is not relevant anymore to be used, and it is still relevant to use malathion in the *Ae. aegypti* mosquito control program in several villages in Kupang City of East Nusa Tenggara Province. Research result prove that susceptibility status decrease of tested mosquito larva in biochemical test is known to be not caused by increasing activity nonspecific of esterase and acetylcholinesterase insensitivity, but may be caused by other the factors that have not been known.

Keywords: *Aedes aegypti*, susceptibility, malathion, temephos, nonspecific esterase.

^{*)} Dosen Jurusan Kesehatan Lingkungan Poltekkes Kemenkes Kupang

PENDAHULUAN

Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) hingga saat ini masih merupakan masalah kesehatan masyarakat di Indonesia yang penyebarannya cenderung meningkat, sejalan dengan meningkatnya mobilitas dan kepadatan penduduk (Soegijanto, 2004). Penyakit ini disebabkan oleh virus dengue (Suroso, 2004), ada 4 serotip virus dengue yaitu Den-1, Den-2, Den-3 dan Den-4, yang ditularkan oleh nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* (Sutaryo, 2004). Berdasarkan jenisnya, yang paling berperan dalam penularan DBD adalah nyamuk *Ae. aegypti*, karena hidupnya di dalam dan sekitar rumah, sedangkan *Ae. albopictus* di luar rumah dan di kebun-kebun, sehingga lebih jarang kontak dengan manusia (Depkes RI, 2005).

Upaya pemberantasan nyamuk *Ae. aegypti* dapat dilakukan dengan memberantas nyamuk dewasa dan

memberantas larvanya, salah satu caranya yaitu dengan menggunakan insektisida. Penggunaan insektisida untuk pengendalian vektor akan merupakan cara yang bermanfaat apabila digunakan pada keadaan yang tepat. Insektisida apabila digunakan dalam skala luas dan terus menerus dalam jangka waktu cukup lama dan frekwensi tinggi, dapat menimbulkan penurunan kerentanan pada nyamuk sasaran (Georghiou & Mellon, 1983; WHO, 1995). Keberhasilan dalam pengendalian tergantung status kerentanan vektor terhadap insektisida yang digunakan (WHO, 1996). Pemantauan secara berkala status kerentanan nyamuk terhadap insektisida yang digunakan dalam pengendalian sangat diperlukan. Data tersebut bermanfaat sebagai data dasar dan bahan pertimbangan penggunaan insektisida selanjutnya serta memantau terjadinya resistensi di suatu daerah (Mardihusodo, 1993). Untuk

mengetahui kerentanan nyamuk terhadap insektisida yang digunakan, dapat dilakukan dengan menggunakan uji hayati dan uji biokemis. Uji hayati dilakukan dengan mengacu pada tatacara kerja yang baku oleh WHO. Uji biokemis dilakukan dengan mengacu pada tatacara kerja yang telah dilakukan oleh penelitian sebelumnya (Lee, 1990; Mardihusodo, 1996; Mulyaningsih, 2004).

Organofosfat merupakan bahan kimia yang paling banyak digunakan saat ini untuk membuat insektisida. Organofosfat umumnya mempunyai kemampuan residual yang tidak panjang, sehingga harus sering diulang penggunaannya (Soedarto, 1989). Cara kerja insektisida organofosfat terhadap serangga sasaran dengan cara merusak sistim urat saraf melalui racun kontak, fumigasi, racun perut dan sebagai racun sistemik, hal ini disebabkan organofosfat mempunyai sifat mudah diserap dan

ditranslokasikan sehingga meningkatkan efikasinya. Insektisida organofosfat tidak tertimbun di dalam jaringan lemak tubuh, akan tetapi dapat bekerja dengan cara menghambat (inhibitor) enzim asetilkolinesterase. Enzim ini berfungsi untuk menghidrolisis asetilkolin yang merupakan neurotransmitter pada sambungan saraf kolinergik. Bila asetilkolin terakumulasi maka proses transmisi saraf akan terganggu dan dapat menyebabkan kematian (Georghiou).

Propinsi Nusa Tenggara Timur khususnya Kota Kupang juga menggunakan insektisida organofosfat dalam pemberantasan vektor penyebab DBD. Untuk itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui status kerentanan nyamuk *Ae. aegypti* di Kota Kupang (NTT) terhadap insektisida organofosfat (malation dan temefos).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan rancangan *The Posttest Only Control Group Design* untuk uji hayati dan non-eksperimental dengan rancangan deskriptif dan analitik untuk uji biokemis. Subyek uji adalah larva nyamuk *Ae. aegypti* hasil koleksi dari beberapakelurahan di Kota Kupang (NTT) dan kolonisasi hingga diperoleh larva nyamuk generasi-1 (F1), instar-3 atau instar-4 awal (WHO, 1996). Telur nyamuk diperoleh dari koleksi yang dilakukan di beberapa kelurahan di Kota Kupang (NTT) dengan menggunakan metode survei telur (Depkes RI, 2002). Penetapan lokasi pengumpulan telur dilakukan berdasarkan endemisitas wilayah dan data kejadian kasus penyakit DBD diwilayah terpilih yang dilakukan secara random (Murti, 1997). Obyek penelitian adalah kematian larva nyamuk *Ae. aegypti* yang dinyatakan dalam persentase kematian dan respon

kematian larva terhadap paparan insektisida (LC₅₀, LC₉₀ dan LC₉₉) pada uji hayati dan adanya perubahan warna pada mikroplat pada uji biokemis. Sebagai kontrol digunakan larva nyamuk *Ae. aegypti* yang berasal dari Kaliadem (Kabupaten Sleman) sebagai kontrol negatif dan larva nyamuk *Ae. aegypti* yang berasal dari Klitren (KodyaYogyakarta) sebagai kontrol positif yang dikembangkan di Laboratorium Parasitologi UGM.

Pengumpulan telur nyamuk dilakukan di 80 rumah (Depkes RI, 2002) masing-masing dari semua kelurahan yang akan diuji. Sampel uji untuk uji hayati dengan 3 replikasi masing-masing sebanyak 25 larva dengan 5 variasi dosis untuk tiap kelurahan, sedangkan untuk uji biokemis, sampel uji sebanyak 30 larva untuk tiap kelurahan.

Bahan dan alat yang dipergunakan dalam melakukan koleksi

telur nyamuk *Ae. aegypti* adalah ovitrap. Bahan-bahan yang akan digunakan dalam uji hayati yaitu Etanol, Aseton, larutan sukrose 10%, dan pakan larva. Insektisida uji adalah malation dan temefos (Abate[®]). Bahan-bahan yang akan digunakan dalam uji biokemis yaitu larutan substrat berupa 0,5ml α -*naphthyl acetat* yang dilarutkan dalam aseton, kemudian larutan tersebut dicampur dengan *Phosphate Buffer Saline* (PBS) 0,02M; pH=7,0 sehingga volume akhir menjadi 50ml dan *Coupling reagent*, yaitu berupa 150mg garam *Fast Blue B* yang dilarutkan dalam 15ml akuades dan 35ml *aqueous sodium dodesil sulfat* (SDS) 5% b/v dan larutan asam asetat 10%.

Hasil uji hayati dianalisa dengan menggunakan probit untuk mencari LC₉₉ 24jam dengan mengacu pada penggunaan konsentrasi diagnostik menurut kriteria WHO dan sekaligus

dapat memberikan jawaban tentang status kerentanan dan masih relevan atau tidak insektisida digunakan di daerah uji, sedangkan hasil uji biokemis diperoleh melalui analisa secara kualitatif dan kuantitatif untuk mengetahui bagaimana mekanisme status kerentanan terjadi dengan mengamati perubahan warna yang terjadi pada mikroplat (Nunclon). Hasil uji hayati terhadap hubungan variasi konsentrasi yang diberikan dengan kematian larva nyamuk *Ae. aegypti* dianalisa dengan *Oneway ANOVA*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Uji Hayati

A. Terhadap temefos

Hasil uji pendahuluan untuk memperoleh variasi konsentrasi temefos yang dipakai dalam uji hayati diperoleh dari adanya kematian larva sebesar 10%-95% (WHO, 2005) dan selanjutnya dilakukan perhitungan dengan menggunakan *factor increment*.

Konsentrasi yang digunakan pada uji hayati terhadap temefos ini yaitu konsentrasi 0 ppm, 0,01 ppm, 0,02 ppm, 0,03 ppm, 0,05 ppm dan 0,08 ppm.

Dosis diagnostik temefos menurut USAHEA dan WHO diperoleh dari 2kali dosis mematikan 99% (2kali LC₉₉ 24jam) dari insektisida tertentu (USAHEA, 1992; WHO, 1992). Dosis diagnostik ini diperoleh dengan menggunakan larva nyamuk yang belum pernah terpapar insektisida sehingga dapat dijadikan acuan dalam menentukan status kerentanan larva nyamuk *Ae. aegypti* yang akan diuji. Dosis diagnostik temefos menurut kriteria WHO sebesar 0,02ppm dan dosis diagnostik dengan menggunakan larva nyamuk dari Laboratorium Parasitologi UGM (pembanding atau kontrol negatif) sebesar 0,124ppm. Untuk memperoleh hasil yang lebih baik, maka dalam penelitian ini akan dilakukan dengan menggunakan dosis diagnostik menurut kriteria WHO karena

ternyata dosis diagnostik pembanding (kontrol negatif) konsentrasinya lebih besar dari dosis diagnostik menurut kriteria WHO. Pengamatan terhadap kematian larva *Ae. aegypti* dari Kelurahan Oesapa, Oebobo, Namosain, Maulafa, Fatululi, Airmata, Alak dan Bello dengan menggunakan dosis diagnostik temefos sebesar 0,02ppm menunjukkan telah menurun status kerentanannya dengan rerata persentase kematian untuk masing-masing kelurahan sebesar 38,67%, 33,33%, 36%, 46,67%, 42,67%, 50,67%, 61,33% dan 61,33% dengan nilai LC₉₉ 24jam untuk masing-masing kelurahan sebesar 0,141ppm, 0,168ppm, 0,144ppm, 0,130ppm, 0,144ppm, 0,144ppm, 0,141ppm, dan 0,144ppm. Tabel 1. Nilai LC₅₀, LC₉₉ 24jam dan nilai *fiducial limits* (FL)95% larva nyamuk *Ae. aegypti* dari beberapa kelurahan di Kota Kupang (NTT)

Asal subyek uji	LC ₅₀ & Fl 95%	LC ₉₉ & Fl 95%
Kelurahan Oesapa	0,025 (0,020-0,030)	0,141 (0,078-0,220)
Kelurahan Oebobo	0,027 (0,026-0,033)	0,168 (0,093-0,303)
Kelurahan Namosain	0,026 (0,021-0,031)	0,144 (0,079-0,238)
Kelurahan Maulafa	0,021 (0,013-0,021)	0,130 (0,054-0,151)
Kelurahan Airmata	0,018 (0,016-0,024)	0,144 (0,079-0,235)
Kelurahan Fatululi	0,023 (0,015-0,023)	0,144 (0,086-0,257)
Kelurahan Alak	0,019 (0,013-0,020)	0,141 (0,045-0,107)
Kelurahan Bello	0,019 (0,010-0,021)	0,144 (0,083-0,248)
Lab. Parasitologi UGM (kontrol +)	0,023 (0,019-0,041)	0,168 (0,089-0,299)
Lab. Parasitologi UGM (kontrol -)	0,015 (0,012-0,019)	0,062 (0,042-0,105)

Keterangan :

LC = *lethal concentration*

FL = *fiducial limits 95%*

Berdasarkan pengamatan hasil uji hayati terhadap temefos dengan menggunakan dosis diagnostik temefos sebesar 0,02ppm menunjukkan bahwa kematian larva nyamuk dari beberapa kelurahan di Kota Kupang (NTT) rata-rata <80% dan memiliki status kerentanan resisten (RR), hal ini sesuai dengan kriteria WHO⁽⁷⁾ bahwa dengan persentase kematian <80%=resisten (RR), 80%-89,99%=toleran (SR) dan 99%-100%=rentan (SS) dengan LC₉₉ 24jam rata-rata dari semua kelurahan

yang diuji >0,02ppm. Analisis probit menaksir bahwa LC₅₀ 24jam berkisar antara 0,018–0,027ppm dan LC₉₉ 24jam berkisar antara 0,130–0,168ppm dan *fiducial limits (FL)*95% kisaran atas dan kisaran bawah LC₅₀ 24jam dan LC₉₉ 24jam larva nyamuk *Ae. aegypti* dari beberapa kelurahan di Kota Kupang (NTT) terhadap temefos dengan kontrol negatif dan positif *overlapping* sehingga kematian larva dengan konsentrasi yang diberikan antara kelompok uji tidak bermakna (Tabel 1).

Tabel 2. Nilai *Resistance Ratio* (RR) LC₅₀, LC₉₀ 24 jam dan *Fiducial Limits* (FL)95% larva nyamuk *Ae. aegypti* dari beberapa kelurahan di Kota Kupang (NTT)

Asal subyek uji	LC ₅₀	ERR (LC ₅₀)	LC ₉₀	ERR (LC ₉₀)
Kel. Oesapa	0,025	(3) 1,67	0,062	(1) 1,19
Kel. Oebobo	0,027	(1) 1,80	0,075	(2) 1,44
Kel. Namosain	0,026	(2) 1,73	0,066	(3) 1,27
Kel. Maulafa	0,021	(5) 1,40	0,042	(6) 0,81
Kel. Airmata	0,018	(7) 1,20	0,042	(6) 0,81
Kel. Fatululi	0,023	(4) 1,53	0,049	(5) 0,94
Kel. Alak	0,019	(6) 1,27	0,037	(7) 0,71
Kel. Bello	0,019	(6) 1,27	0,051	(4) 0,98
Lab. Parasitologi UGM (kontrol negatif)	0,015	-	0,052	-

Keterangan :

ERR = *Estimate Resistance Ratio*LC = *lethal concentration*FL = *fiducial limits 95%*

Hasil analisis perkiraan tingkat resistensi dari nilai *Estimate Resistance Ratio* (ERR) yang diperoleh dengan membandingkan nilai LC₅₀ dan LC₉₀ 24jam larva nyamuk daerah uji dengan nilai LC₅₀ dan LC₉₀ 24jam larva nyamuk dari Laboratorium Parasitologi UGM (kontrol negatif) (Depkes RI, 2002; Lee, 1991) menunjukkan ERR pada LC₅₀ 24 jam larva nyamuk *Ae. aegypti* dari beberapa kelurahan di Kota Kupang (NTT) berkisar antara 1,20-1,80 dan nilai ERR pada LC₉₀ 24jam berkisar

antara 0,71-1,44. *Estimate Resistance Ratio* (ERR) dari beberapa kelurahan di Kota Kupang (NTT) pada LC₅₀ 24jam mulaidari yang paling tinggi resistensinya yaitu Kelurahan Oebobo, Namosain, Oesapa, Fatululi, Maulafa, Fatufeto dan Bello serta Kelurahan Airmata, sedangkan pada LC₉₀ 24jam yaitu Kelurahan Oebobo, Namosain, Oesapa, Fatululi, Maulafa dan Airmata, Bello dan terendah Kelurahan Alak (Tabel 2).

Hasil pengujian ini menunjukkan bahwa temefos sudah tidak relevan lagi digunakan pada semua kelurahan uji. Menurunnya status kerentanan larva nyamuk *Ae. aegypti* dari beberapa kelurahan di Kota Kupang (NTT) kemungkinan karena faktor operasional atau penggunaan yang bebas di rumah tangga di masyarakat secara terus menerus dan penggunaan dari sektor kesehatan.

Hasil pengujian statistik dengan menggunakan uji ANOVA terhadap variasi konsentrasi yang diberikan menunjukkan terdapat perbedaan kematian larva uji dengan $P < 0,05$ artinya ada perbedaan kematian larva uji dengan besarnya konsentrasi yang diberikan, sedangkan hubungan besarnya kematian larva uji antara 1 kelurahan dengan yang lain menunjukkan tidak terdapat perbedaan kematian larva uji dengan $P > 0,05$, artinya antara 1 kelurahan

dengan kelurahan lainnya tidak terdapat perbedaan kematian larva uji.

B. Terhadap malation

Pengamatan terhadap hasil uji pendahuluan untuk memperoleh batas bawah dan batas atas dari konsentrasi yang akan digunakan yang menunjukkan kematian larva uji sebesar 10->95% (WHO, 2005) berada pada kisaran 0,01-0,5ppm, sehingga diperoleh variasi konsentrasi malation sebesar 0ppm, 0,01ppm, 0,03ppm, 0,07ppm, 0,2ppm dan 0,5ppm, karena hasil pengujian ini akan mengacu pada dosis diagnostik oleh WHO maka variasi konsentrasi sebesar 1ppm ikut disertakan walaupun telah memberikan kematian larva nyamuk uji sebesar 100%.

Pengamatan terhadap kematian larva nyamuk *Ae. aegypti* dari beberapa kelurahan di Kota Kupang (NTT) dengan menggunakan dosis diagnostik malation sebesar 1ppm menunjukkan kematian larva uji sebesar 100%, kecuali

pada larva nyamuk dari Laboratorium

Parasitologi UGM (kontrol positif)

sebesar 76%.

Analisis probit menaksir LC_{50} 24jam berkisar antara 0,073-0,104ppm dan LC_{99} 24jam berkisar antara 0,664-0,996ppm dan *fiducial limits* (FL) 95% dengan kisaran atas dan kisaran bawah LC_{50} 24jam dan LC_{99} 24jam larva nyamuk *Ae. aegypti* dari beberapa kelurahan di Kota Kupang (NTT) terhadap malation dengan kontrol positif dan negatif *overlapping* sehingga kematian larva nyamuk dengan konsentrasi yang diberikan antara kelompok uji tidak bermakna (Tabel 3). Tabel 3. Nilai LC_{50} , LC_{99} 24 jam dan nilai *Fiducial Limits* (FL)95% larva nyamuk *Ae. aegypti* dari beberapa kelurahan di Kota Kupang (NTT)

Asal subyek uji	LC_{50} & <i>Fl</i> 95%	LC_{99} & <i>Fl</i> 95%
Kelurahan Oesapa	0,104 (0,077-0,142)	0,996 (0,565-1,865)
Kelurahan Oebobo	0,090 (0,063-0,128)	0,987 (0,703-1,256)
Kelurahan Namosain	0,080 (0,054-0,117)	0,889 (0,783-1.854)
Kelurahan Maulafa	0,098 (0,067-0,143)	0,789 (0,729-1,071)
Kelurahan Airmata	0,086 (0,058-0,127)	0,885 (0,590-1,937)
Kelurahan Fatululi	0,091 (0,065-0,128)	0,644 (0,643-1,423)
Kelurahan Alak	0,098 (0,071-0,134)	0,996 (0,568-1,302)
Kelurahan Bello	0,073 (0,051-0,105)	0,889 (0,631-1,490)
Lab. Parasitologi UGM (kontrol +)	0,278 (0,151-0,510)	0,887 (0,263-1,222)
Lab. Parasitologi UGM (kontrol -)	0,084 (0,058-0,134)	0,996 (0,810-1,770)

Keterangan :

LC = *lethal concentration*

FL = *fiducial limits* 95%

Menurut USAEHA dan WHO dosis diagnostik diperoleh dari 2kali dosis mematikan 99% (2kali LC_{99} 24jam) dari insektisida tertentu (USAEHA, 1992; WHO, 1992). Dosis diagnostik malation menurut kriteria

WHO sebesar 1ppm dan dosis diagnostik menggunakan larva nyamuk dari Laboratorium Parasitologi UGM (kontrol negatif) 1,732. Untuk memberikan hasil yang lebih baik maka dalam penelitian akan menggunakan

dosis diagnostik malation menurut kriteria WHO.

Hasil uji hayati terhadap malation menggunakan dosis diagnostik sebesar 1ppm menunjukkan kematian larva nyamuk rata-rata sebesar 100% dengan LC₉₉ 24jam dari masing-masing kelurahan sebesar 0,996ppm, 0,987ppm, 0,889ppm, 0,789ppm, 0,644ppm, 0,885ppm, 0,996ppm, dan 0,889ppm dari Kelurahan Oesapa, Oebobo, Namosain, Maulafa, Fatululi, Airmata, Alak dan Bello. Hasil uji hayati menggunakan dosis diagnostik malation sebesar 1ppm terhadap larva nyamuk *Ae. aegypti* dari beberapa kelurahan di Kota Kupang (NTT) menunjukkan kematian larva nyamuk rata-rata sebesar 100% dan

menurut WHO jika kematian subjek uji >99% termasuk kriteria rentan (SS) (WHO, 1996), sehingga dapat dinyatakan larva nyamuk *Ae. aegypti* dari beberapa kelurahan di Kota Kupang (NTT) memiliki status rentan (SS). Hasil pengujian ini menunjukkan bahwa malation masih relevan digunakan dalam kegiatan pengendalian vektor DBD pada semua kelurahan uji. Mekanisme masih rentannya status kerentanan larva nyamuk uji terhadap malation, kemungkinan karena penggunaan malation yang bersifat operasional, hanya digunakan sewaktu-waktu (ada kasus DBD atau kejadian luar biasa) dalam bidang kesehatan.

2. Uji Biokemis

Hasil uji biokemis yang dinilai secara kualitatif dilakukan melalui pengamatan terhadap perubahan warna (visualisasi) melalui intensitas warna hasil reaksi enzim esterase nonspesifik yang terjadi pada mikroplat (Nunclon) ditetapkan menurut kriteria empiris (Lee, 1990 ; Mardihusodo, 1996) yaitu dengan skor 0=tidak berwarna, 1=biru muda, 2=biru kehijauan dan 3=biru tua, sedangkan yang dinilai secara kuantitatif juga ditetapkan menurut kriteria empiris dengan pembacaan *Absorbance Value* (AV) menggunakan alat *ELISA reader* (BIO-RAD) pada $\lambda=450\text{nm}$ yaitu : nilai AV <0,700=rentan (SS), nilai AV=0,700–0,900 termasuk dalam kriteria toleran (SR), dan nilai AV >0,900=resisten

(RR). Tabel 4. Distribusi status kerentanan larva nyamuk *Ae. aegypti* dari beberapa kelurahan di Kota Kupang (NTT) yang diamati secara kualitatif

Tempat Asal Subyek Uji	Jumlah Larva	Skor Hasil Uji Biokemis (*)			Rerata Skor	Status Kerentanan
		< 2 = SS (Rentan)	2,0-2,5=SR (Toleran)	2,6-3,0=RR (Resisten)		
Kel. Oesapa	30	1,16 (33,33)	2,08 (26,67)	2,97 (40)	2,07	Toleran (SR)
Kel. Oebobo	30	1,33 (20)	2,14 (30)	2,97 (50)	2,15	Toleran (SR)
Kel. Maulafa	30	1,05 (66,67)	2,03 (30)	2,67 (3,33)	1,92	Rentan (SS)
Kel. Namosain	30	1,14 (30)	2,05 (43,33)	2,95 (26,67)	2,04	Toleran (SR)
Kel. Fatululi	30	0,6 (83,33)	2,0 (16,67)	-	1,3	Rentan (SS)
Kel. Airmata	30	0,98 (70)	2,04 (26,67)	2,67 (3,33)	1,90	Rentan (SS)
Kel. Alak	30	0,45 (90)	2,0 (3,33)	3,0 (6,67)	1,82	Rentan (SS)
Kel. Bello	30	0,75 (73,33)	2,0 (26,67)	-	1,37	Rentan (SS)
Lab. Parasitologi UGM/Kontrol (-)	24	0,13 (100)	-	-	0,13	Rentan (SS)
Lab. Parasitologi UGM/Kontrol (+)	24	-	-	3,00 (100)	3,00	Resisten (RR)

(*) Status kerentanan hasil uji biokemis

SS (rentan)

: rerata skor <2 (tidak berwarna)

SR (toleran)

: rerata skor 2,0 – 2,5 (warna biru muda)

RR (resisten tinggi)

: rerata skor 2,6 – 3,0 (biru tua)

Hasil uji biokemis yang diamati menunjukkan ada 8 kelurahan memiliki secara kualitatif menunjukkan ada 3 kelurahan yaitu Kelurahan Oesapa, Oebobo dan Namosain memiliki status toleran (SR) dengan rerata skor sebesar 2,07, 2,15, 2,04, dan 5 kelurahan yaitu Kelurahan Maulafa, Fatululi, Airmata, Alak dan Bello memiliki status rentan (SS) dengan rerata skor 1,92, 0,30, 1,90, 1,82, dan 1,37. Hasil uji juga menunjukkan ada 8 kelurahan memiliki status rentan (SS) dan toleran (SR) dengan skor <2 dan 2,0-2,5 serta ada 6 kelurahan memiliki status resisten (RR) dengan skor 2,6-3,0, sedangkan kontrol negatif 100% rentan (SS) dengan skor sebesar 0,13 dan kontrol positif 100% resisten (RR) dengan skor sebesar 3,0. (Tabel 4).

Tabel 5. Status kerentanan larva nyamuk *Ae. aegypti* dari beberapa kelurahan di Kota Kupang (NTT) yang diamati secara kuantitatif melalui pembacaan nilai AV diukur dengan *ELISA reader* (BIO-RAD) pada $\lambda = 450$ nm

Tempat Asal Subyek Uji	Jumlah Larva	Persentase (%) kerentanan **		
		AV <0,700 SS (Rentan)	AV 0,700-0,900 SR (Toleran)	AV > 0,900 RR (Resisten)
Kel. Oesapa	30	97,39	2,61	-
Kel. Oebobo	30	72,65	21,20	6,15
Kel. Maulafa	30	98,33	1,67	-
Kel. Namosain	30	100	-	-
Kel. Fatululi	30	100	-	-
Kel. Airmata	30	98,37	1,63	-
Kel. Alak	30	100	-	-
Kel. Bello	30	92,26	6,71	1,03
Kontrol (-)	24	100	-	-
Kontrol (+)	24	-	-	100

(**) *Absorbance Value* (AV)

Status kerentanan larva nyamuk *Ae. aegypti* hasil uji biokemis diamati secara kuantitatif :

SS (rentan) : rerata skor <0,700
 SR (toleran) : rerata skor 0,700-0,900
 RR (resisten tinggi) : rerata skor >0,900

Hasil uji biokemis yang diamati dengan menggunakan *ELISA reader* (BIO-RAD) pada $\lambda=450$ nm menunjukkan 2 kelurahan yaitu Bello dan Oebobo memiliki status resisten (RR) sebesar 1,03% dan 6,15% dengan nilai AV>0,900, 5 kelurahan memiliki status toleran (SR) sebesar 2,6%, 21,20%, 1,67%, 1,63% dan 6,67% pada Kelurahan Oesapa, Oebobo, Maulafa, Airmata dan Bello dengan nilai AV 0,700-0,900, dan ada 8 kelurahan memiliki status rentan (SS) dengan nilai AV<0,700, sedangkan kontrol negatif 100% rentan (SS) dan kontrol positif 100% resisten (RR) (Tabel 5).

Hasil uji hayati terhadap temefos dan malation terdapat perbedaan. Hal ini diluar dari perkiraan semula. Hal ini terjadi kemungkinan karena faktor operasional dalam penggunaan. Temefos dapat digunakan bebas oleh masyarakat sedangkan malation hanya digunakan sewaktu-waktu ada kasus DBD maupun saat kejadian luar biasa.

Hasil uji hayati dengan hasil uji biokemis dalam penelitian ini terdapat perbedaan. Ini menunjukkan bahwa menurunnya status kerentanan larva nyamuk *Ae. aegypti* dari beberapa kelurahan di Kota Kupang (NTT) terhadap insektisida organonofosfat diperkirakan terjadi bukan karena adanya peningkatan aktivitas enzim esterase seperti pada hasil penelitian oleh Lee dan Mardihusodo (Mardihusodo, 1993 ; Lee, 1990), tetapi kemungkinan disebabkan oleh faktor resistensi lain (Mardihusodo, 1996).

Hasil uji hayati menunjukkan temefos tidak relevan lagi digunakan tetapi masih relevan menggunakan malation dalam kegiatan pengendalian vektor DBD di beberapa kelurahan di Kota Kupang (NTT).

SIMPULAN

1. Hasil uji hayati membuktikan bahwa larva nyamuk *Ae. aegypti* dari beberapa kelurahan di Kota Kupang (NTT) terhadap insektisida temefos telah resisten (RR), dan masih rentan (SS) terhadap insektisida malation, sedangkan dengan uji biokemis menunjukkan adanya variasi status kerentanan dari resisten (RR), toleran (SR) dan rentan (SS). Mekanisme menurunnya status kerentanan larva nyamuk *Ae. aegypti* dari beberapa kelurahan di Kota Kupang (NTT) terhadap insektisida organofosfat pada uji biokemis kemungkinan bukan karena akibat peningkatan metabolisme dan

aktifitas kerja enzim esterase nonspesifik tetapi kemungkinan karena faktor resistensi yang lain yang belum diketahui.

2. Temefos sudah tidak relevan lagi digunakan tetapi malation masih relevan digunakan dalam kegiatan pengendalian vektor DBD di beberapa kelurahan di Kota Kupang.

SARAN

1. Temefos, disarankan diganti dengan menggunakan insektisida jenis lain seperti karbamat, pyretroit sintetik maupun menggunakan IGR.
2. Melakukan penelitian lebih lanjut terhadap kelurahan yang belum dilakukan penelitian untuk memperoleh gambaran status kerentanan secara menyeluruh.
3. Melakukan monitoring terhadap penggunaan insektisida organofosfat di masyarakat (bidang kesehatan) dengan memantau apakah masih dapat mematikan larva nyamuk

maupun nyamuk dewasa dengan melibatkan peran serta aktif masyarakat.

DAFTAR PUSTAKA

- Soegijanto S., Demam Berdarah Dengue (Tinjauan dan Temuan Baru di Era 2003), Airlangga University Press, hal. 11-13, 99-110, Surabaya, 2004.
- Suroso T, Epidemiologi Program Pemberantasan DBD di Indonesia, Makalah Seminar Kedokteran Tropis, Pusat Kedokteran Tropis UGM Yogyakarta, 1-13, 2004.
- Sutaryo, Dengue, Medika Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, ed. I, hal. 17-23; 43-48, Yogyakarta, 2004.
- Depkes RI, Modul Pencegahan dan Pemberantasan DBD di Indonesia, Jakarta, 2005.
- Georghiou, G.P. and R. B. Mellon, Pesticide Resistance in Time and Space In : *Pest Resistance to Pesticides* (Eds. G. P. Georghiou & T. Saito), Plenum Press, New York, 1-46, 1983.
- WHO Study Group, *Vector Control for Malaria and Other Mosquito-Borne Diseases*, WHO Technical Report Series, WHO Geneva, 857, 62p, 1995,
- WHO, *Evaluation and Testing of Insecticides*, Geneva, 34, 1996,
- Mardihusodo, S. J., Deteksi Dini Resistensi *Aedes aegypti* terhadap *malathion* dan *temefos* di Yogyakarta, Universitas Gadjah Mada, Lembaga Penelitian Universitas Gadjah Mada, Nomor. 14, Yogyakarta, 1993.
- Lee, H.L., *A Rapid and Simple Biochemical for the Detection of*

- Insecticides Resistance Due to Elevated Esterase Activity in Culex quiquefasciatus*. Tropmed 7:21-28, 1990.
- Mardihusodo, S. J., *Application of non-specific esterase enzme microassay to detect potential insecticide resistance of Aedes aegypti adults in Yogyakarta, Indonesia*, Berkala Ilmu Kedokteran, Vol.28, No. 4: 167-171, 1996.
- Mulyaningsih Budi, *Keanekaragaman Genetik Aedes albopictus Skuse (Diptera : Culicidae), Vektor Dengue dan Responnya terhadap malathion dan temefos*, Disertasi, Fakultas Pasca Sarjana, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 2004.
- Soedarto, *Entomologi Kedokteran*, EGC, Jakarta. 1989, hal. 99-101.
- WHO, *Guidelines for Laboratory and Field testing of Mosquito Larvacides*, 2005,11.
- Depkes RI, *Pedoman Survei Entomologi Demam Berdarah Dengue*, Jakarta, 2002.
- Lee, H.L., *Esterase Activity and Temephos Susceptibility in Aedes aegypti (L) Larvae*. Mosquito Borne Disese Bull. 8:91-94, 1991.
- Maria de Lourdes da Graca Marocis, Maria Teresa Marcoris Andrighetti, Karina de Cassia Rodrigues, Vanessa Camargo Garbeloto and Antonio Luiz Caldas Junior, *Standarization of Bioassay for Monitoring Resistance to Insekticides in Aedes aegypti*, Dengue Bulletin, Vol.29:176-182, 2005.
- Maria de Lourdes da Graca Macoris, Maria Teresa Macoris Andrighetti, Vanessa Camargo Garbeloto Otera, Lidia Raquel de Carvalho, Antonio Luiz Caldas Junior, William G. Brogdon, *Association of insekticides use and alteration on Aedes aegypti susceptibility status*, Mem Institut Oswaldo Cruz, Rio de Jainero, Vol.107(8):895-900, 2007.
- Murti Bhisma, *Riset Epidemiologi*, Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Indonesia, Gadjah Mada University Press, 1997.
- USAHEA, 1992, *Procedures for the Diagnostic Dose Resistance Test Kits for Mosquitoes, Body Lice, and Beetle Pests of Stored Products*, Aberdeen Proving Ground, Maryland 2101 0-5422.
- World Health Organization, 1992, *Vector Resistance to Pesticides*, WHO, Geneva, 11-6.