

Deteksi Gen Resisten Insektisida Organofosfat pada *Aedes aegypti* di Banyuwangi, Jawa Timur Menggunakan *Polymerase Chain Reaction*

(DETECTION OF ORGANOPHOSPHATE INSECTICIDES RESISTANT GENES
IN *Aedes aegypti* IN BANYUWANGI DISTRICT, EAST JAVA
USING POLYMERASE CHAIN REACTION)

Aditya Yudhana¹, Ratih Novita Praja²,
Maya Nurwartanti Yunita³

¹Laboratorium Helminologi, Departemen Parasitologi Veteriner,

²Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi, Departemen Mikrobiologi,

³Laboratorium Patologi, Departemen Patologi Veteriner,

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Kampus-C Unair Jln. Mulyorejo, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia, 60115

Telp. (031) 5993016, Fax (031) 5990315; Email: aditvet@gmail.com

ABSTRAK

Kabupaten Banyuwangi masih tercatat sebagai daerah yang belum sepenuhnya bebas dari wabah demam berdarah dengue (DBD). Perubahan genom nyamuk *Aedes aegypti* sebagai vektor utama virus *dengue* diperkirakan menjadi penyebab sulitnya pengendalian penyakit DBD. Ekspresi gen *Voltage Gated Sodium Channel* (VGSC) dapat dijadikan indikasi penting sejauh mana perkembangan nyamuk *Aedes aegypti* resisten terhadap insektisida golongan tertentu. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendeteksi gen penyandi VGSC pada nyamuk *A. aegypti* yang berkaitan dengan mekanisme resistensi terhadap insektisida golongan organofosfat menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Hasil uji resistensi *susceptibility test* menunjukkan sampel nyamuk *A. aegypti* dari tiga kecamatan di Kabupaten Banyuwangi yaitu Kecamatan Tegaldlimo, Purwoharjo, dan Banyuwangi resisten terhadap insektisida malathion 0,8 % (kelompok organofosfat). Hasil deteksi gen melalui PCR didapatkan *band* yang muncul dengan panjang 250 bp. Hal tersebut menunjukkan bahwa gen pembawa resistensi insektisida (VGSC) telah terdeteksi pada sampel yang diuji. Berdasarkan hasil penelitian, disarankan untuk pengendalian vektor DBD di Kabupaten Banyuwangi dengan menggunakan alternatif insektisida selain dari golongan organofosfat.

Kata-kata kunci: resistensi; *Aedes aegypti*; *Voltage Gated Sodium Channel* (VGSC); *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

ABSTRACT

Banyuwangi is still listed as areas not completely free from hemorrhagic dengue fever outbreak. Changes in the genome of *Aedes aegypti* mosquito as the main vector of dengue virus is estimated to be the cause of difficulty in controlling the disease. Expression of *Voltage Gated Sodium Channel* (VGSC) genes can be used as an important indication of *Aedes aegypti* mosquitoes resistancy to certain groups insecticides. The purpose of this study was to detect the *Voltage Gated Sodium Channel* (VGSC) genes coding in *Aedes aegypti* using *Polymerase Chain Reaction* (PCR); as it is related to the mechanism of resistance to organophosphate insecticides groups. Results of resistency by susceptibility test showed that *Aedes aegypti* mosquito samples from three district ie. Tegaldlimo, Purwoharjo, and Banyuwangi were resistant to malathion 0.8% insecticide (organophosphates group). PCR results detected gen band with 250 bp length, which confirmed that insecticide resistance gene has been detected in the tested samples. Based on this study results, it is recommended to use alternative insecticides apart from organophosphate group for dengue vector control in Banyuwangi. .

Key words: resistance; *Aedes aegypti*; *Voltage Gated Sodium Channel* (VGSC); *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

PENDAHULUAN

Demam Berdarah *Dengue* (DBD) atau *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF) menjadi penyakit yang pola kejadiannya sulit dikendalikan. Wabah sporadis DBD tercatat dengan angka morbiditas 83% dan mortalitas mencapai 11% sehingga penyakit ini ditetapkan sebagai kejadian luar biasa. Manifestasi yang ditimbulkan oleh penyakit DBD berupa gejala sedang hingga berat bahkan menyebabkan kematian (WHO, 2014).

Penyakit DBD disebabkan oleh agen infeksi virus *dengue* yang terdiri dari berbagai serotipe DENV-1, -2, -3, dan -4. Virus *dengue* menginfeksi inang melalui vektor nyamuk *Aedes aegypti* yang juga merupakan vektor penyakit virus demam kuning (*yellow fever*) dan *chikungunya*. Infeksi virus *dengue* dapat berlangsung sangat cepat dan memungkinkan lebih dari satu serotipe agen infeksi. Masa inkubasi yang sangat singkat dan angka penularan yang tinggi dapat meningkatkan risiko pendaurulangan virus apabila nyamuk lain menghisap darah penderita sehingga menjadi vektor baru (Prasetyowati, 2012).

Berbagai macam upaya telah dilakukan untuk mencegah dan menanggulangi wabah DBD. Partisipasi aktif masyarakat untuk mengendalikan wabah DBD berupa perbaikan dan modifikasi kebersihan lingkungan, pengendalian fisik dengan raket elektrik dan *insect net*, pengendalian biologi berupa budidaya ikan pemakan jentik nyamuk, serta pengendalian kimiawi berupa *fogging* dan insektisida. Upaya pengendalian dengan metode abatisasi, penyuluhan, dan *surveillance* telah dilakukan secara berkala namun kejadian DBD masih terulang (Komalamisra, 2011).

Nyamuk *A. aegypti* dilaporkan telah mengalami resistensi terhadap insektisida *cypermethrin* 0,05% di beberapa wilayah di Jawa Tengah yaitu di Jepara, Blora, Kota Semarang, Kota Salatiga, Kota Surakarta, Kota Tegal, Kota Magelang, dan Kota Purwokerto (Widiarti, 2011). Hasil tersebut juga didukung dengan penelitian selanjutnya yang dilakukan di daerah Semarang oleh Sayono (2012) dan menyatakan bahwa resistensi insektisida *cypermethrin* yang terjadi pada *A. aegypti* ini juga berpengaruh terhadap status resistensi nyamuk *Culex quinquefasciatus* karena jumlahnya yang banyak dan terdapat pada target gen yang sama. Hasil penelitian terbaru pada tahun 2015 juga menunjukkan bahwa vektor DBD, *A. aegypti* di

Kota Semarang telah 100% resisten terhadap insektisida golongan organofosfat yaitu *malathion* 0,8% dan *permethrin* 0,25%.

Kabupaten Banyuwangi masih tercatat sebagai daerah yang belum sepenuhnya bebas dari wabah DBD. Laporan Dinas Kesehatan bahwa pada tahun 2014 telah terjadi 14% kasus yang menderita DBD dari total presentase kejadian di Jawa Timur. Segala macam upaya telah dilakukan termasuk dengan melakukan pengendalian secara kimiawi dan abatisasi berkala sepanjang musim yang diperkirakan angka insidensi sangat tinggi sehingga dapat meredam wabah DBD (Dinkes Banyuwangi, 2015).

Perubahan genom nyamuk *A. aegypti* sebagai mayor vektor virus *dengue* diperkirakan menjadi penyebab sulitnya pengendalian penyakit DBD. Resistensi terhadap insektisida juga berpotensi masih tingginya siklus nyamuk vektor DBD tidak bisa ditanggulangi secara tuntas. Ekspresi gen spesifik dan autosom diindikasikan memengaruhi lokus pada genom terlebih lagi apabila timbul efek resistensi dari paparan insektisida. *Voltage Gated Sodium Channel* (VGSC) dapat dijadikan indikasi penting sejauh mana perkembangan nyamuk *A. aegypti* resisten terhadap insektisida golongan tertentu sehingga penggunaannya bisa dievaluasi dan diperbaiki untuk meningkatkan tindakan preventif (Sinkins, 2010). Tujuan penelitian ini adalah untuk mendeteksi gen penyandi VGSC pada nyamuk *A. aegypti* yang berkaitan dengan mekanisme resistensi terhadap insektisida golongan organofosfat menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli-November 2015. Penelitian bersifat kualitatif yang menggunakan kombinasi kajian epidemiologi dengan pendekatan *cross sectional study*. Penentuan tempat berdasarkan pada kriteria khusus *sampling* stratifikasi pada penelitian yang dapat merepresentasi sampel yang dibutuhkan sebagai data penelitian. Sampel penelitian diambil berdasarkan wilayah yang mengalami kasus penyakit demam berdarah tertinggi di Kabupaten Banyuwangi yaitu dari Kecamatan Banyuwangi, Tegaldlimo, dan Purwoharjo. Sampel diperoleh dengan menggunakan *ovitrap* yang telah dipasang

secara acak pada wilayah tersebut. Sampel yang telah berhasil dikoleksi selanjutnya dipelihara untuk dilakukan uji kerentanan insektisida di Laboratorium Instrumen PDD Banyuwangi dan deteksi gen penyandi resistensi insektisida di *Institute of Tropical Diseases (ITD)*, Universitas Airlangga, Surabaya.

Uji Resistensi vektor demam berdarah terhadap insektisida dilakukan dengan metode *Standard WHO impregnated paper* yang kemudian dilanjutkan dengan deteksi pada gen penyandi VGSC menggunakan teknik *Semi nested PCR*. Visualisasi hasil PCR gen penyandi VGSC dilakukan dengan menggunakan metode elektroforesis pada gel agarose 2%.

Ovitrap dipasang secara acak pada tiga wilayah endemis demam berdarah di Kabupaten Banyuwangi yaitu Kecamatan Tegaldlimo, Purwoharjo, dan Banyuwangi. *Ovitrap* diamati setiap hari. Koleksi sampel dari *ovitrap* dilakukan satu minggu kemudian dan didapatkan sampel berupa larva instar-1. Larva nyamuk yang berhasil dikoleksi selanjutnya dilakukan identifikasi dan dipelihara sampai menjadi nyamuk dewasa di laboratorium. Setiap hari larva diberi pakan serbuk campuran bekatul dan daging dengan perbandingan 10:4 sebanyak 75-200 mg, disesuaikan besarnya instar larva. Setelah larva menjadi nyamuk dewasa, selanjutnya dilakukan uji resistensi menurut standar WHO, menggunakan *impregnated papers* atau uji secara konvensional. Kondisi nyamuk dewasa yang digunakan untuk uji *susceptibility* adalah hasil dari pemeliharaan larva pertama (F1) dan berumur sekitar 2-3 hari.

Uji kerentanan insektisida standar WHO dilakukan dengan mempersiapkan 4-5 tabung dan pada setiap tabung uji dipasang kertas berinsektisida secara melingkar. Nyamuk sebanyak 20-25 ekor dimasukkan ke dalam tabung uji. Nyamuk dikontakan dengan insektisida selama satu jam. Sebagai kontrol digunakan dua tabung yang diberi tanda dan dilengkapi kertas tanpa insektisida. Nyamuk diuji kontak dengan kertas berinsektisida selama satu jam, kemudian dipindahkan ke dalam tabung *holding* (penyimpanan) yang diberi tanda dengan label. Kematian nyamuk diamati dan dihitung setelah 24 jam penyimpanan. Selama penyimpanan kelembapan dijaga dan pada tabung *holding* dilengkapi handuk basah. Kriteria kerentanan ditentukan menurut Herath (2012): (i) kematian sebesar 99-100% = (peka); (ii) 80-98% = (diperlukan

verifikasi/toleran); (iii) <80% = (resisten).

Nyamuk dewasa sebanyak 5-10 ekor dimasukkan dalam tabung *microtube* untuk dilakukan isolasi DNA dengan metode *Chelex-100 Ion-Exchanger*. Satu ekor nyamuk dewasa dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifuge 1,5 mL dan ditambahkan PBS sebanyak 50 μ L ke dalam tabung kemudian nyamuk dihancurkan secara mekanik dengan menggunakan *Teflon pestle*. Homogenat yang diperoleh ditambahkan 1 μ L 0,5 % saponin dingin dan diaduk pelan-pelan. Tabung kemudian diinkubasi pada *refrigerator* suhu 4^E%C selama 24 jam. Homogenat nyamuk selanjutnya disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama lima menit, supernatan dibuang untuk menghilangkan saponin. Setelah supernatan dibuang ke dalam tabung ditambahkan 1 mL PBS dan disentrifugasi selama lima menit dengan kecepatan 3000 rpm. Setelah selesai disentrifus ditambahkan air steril sebanyak 150 μ L dan 20% suspensi chelex sebanyak 50 μ L. Kemudian dipanaskan/didihkan hingga suhu mencapai di atas 90^E%C selama 10 menit. Selesai dipanaskan selama 10 menit, dan dilanjutkan dengan di-*vortex* beberapa detik. Untuk memisahkan chelex tabung dicentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 12.000 rpm. Supernatan (cairan yang di atas) diambil dan dipisahkan dari *pellet* (endapan). Supernatan tersebut yang digunakan untuk melakukan PCR. Supernatan yang terbentuk dipindahkan ke dalam tabung 1,5 mL yang baru. Campuran (supernatan) dibagi ke dalam dua tabung, satu tabung langsung digunakan dan tabung yang lain disimpan (Wooden *et al.*, 1993).

Polymerase chain reaction adalah suatu metode melipatgandakan (amplifikasi) secara eksponensial suatu sekuen nukleotida tertentu secara *in vitro*. *Seminested PCR* merupakan metode amplifikasi DNA target dengan dua kali *running PCR*. *Running PCR* pertama menggunakan satu pasang primer (*forward* dan *reverse*), sedangkan pada *running PCR* kedua salah satu primernya (*forward* atau *reverse*) adalah primer yang digunakan pada PCR pertama. Primer adalah suatu sekuen oligonukleotida pendek yang berfungsi mengawali sintesis rantai DNA dalam reaksi berantai *polymerase*. Sebelum dilakukan PCR, komponen-komponen pereaksi, yaitu 10x dapar PCR; MgCl₂ 50mM; dNTP 10 mM; primer *kdr* F; Primer *kdr* R, enzim DNA polimerase *Taq*; ddH₂O; dan sampel DNA dicampur terlebih dahulu dalam tabung mikrosentrifus 0,2 ml.

Setelah pembuatan campuran pereaksi PCR selesai, tabung dimasukan ke dalam mesin *thermal cycler*. Primer-primer yang digunakan adalah primer *forward* AgF_kdr; primer *reverse* An_kdr_R2; dan primer *reverse* AgR_kdr. Sekuen primer yang digunakan dalam strategi amplifikasi gen VGSC pada nyamuk *Anopheles* menurut Kazanidou *et al.* (2009) adalah sebagai berikut:

AgF_kdr : 5'GACCATGATCTGCCAAGATGGAAT3'
 An_kdr_R2 : 5'GAGGATGAACCGAAAATTGGACA3'
 AgR_kdr : 5'GCAAGGCTAAGAAAAGGTTAAGCA3'

Data yang didapat dari setiap variabel dependen, diakumulasi dan dilihat sebagai data kualitatif ada tidaknya perubahan mutasi genom yang disebabkan oleh resistensi insektisida akan dipaparkan secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji kerentanan pada Tabel 1 menunjukkan bahwa populasi nyamuk *A. aegypti* yang berasal dari tiga kecamatan di Banyuwangi yaitu Tegaldlimo, Purwoharjo, dan Banyuwangi telah resisten terhadap insektisida malathion 0,8% dengan presentase kematian nyamuk sebesar 0% pada Kecamatan Tegaldlimo dan Purwoharjo (resisten 100%) serta 1% pada kecamatan Banyuwangi (resisten 99%).

Tabel 1. Jumlah dan persentase (%) nyamuk *Aedes aegypti* yang mati pada uji kerentanan terhadap insektisida malathion 0,8%.

Lokasi Nyamuk (kecamatan)	Jumlah nyamuk uji *)	Jumlah mati (%)
Tegaldlimo	100	0 (0)
Purwoharjo	100	0 (0)
Banyuwangi	100	1 (1)
Kontrol	100	0 (0)

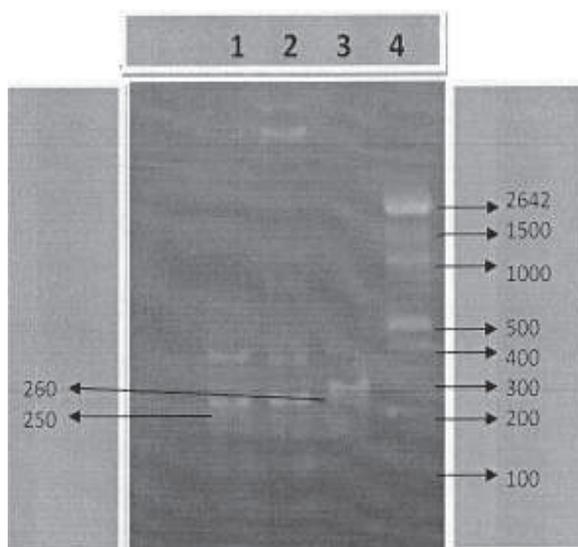
Keterangan: *) Empat kali ulangan, masing-masing 25 ekor nyamuk; **) Kontrol (-) menggunakan nyamuk sampel menggunakan kertas tanpa insektisida

Hasil uji resistensi beberapa sampel nyamuk menggunakan metode standart WHO menghasilkan *A. aegypti* dari tiga kecamatan

di Kabupaten Banyuwangi yaitu Tegaldlimo, Purwoharjo, dan Banyuwangi resisten terhadap insektisida malathion 0,8 % (kelompok organofosfat). Isolasi DNA nyamuk menggunakan metode Chelex-100, diperoleh DNA dari nyamuk cukup banyak. Fragmen gen penyandi VGSC diidentifikasi menggunakan metode *Semi-Nested* PCR. Berdasarkan hasil amplifikasi fragmen target gen VGSC yaitu sepanjang 250 *base pairs* (bp) pada tiga sampel nyamuk yang diuji (Gambar 1).

Pada Gambar 1 ditunjukkan hasil uji resistensi menggunakan teknik *Semi-Nested* PCR di tiga kecamatan. Kecamatan Tegaldlimo ditandai angka 1, Purwoharjo ditandai angka 2, Banyuwangi ditandai angka 3, dan 4 adalah *marker*. Hasil dari Kecamatan Tegaldlimo dan Purwoharjo terdeteksi *band* dengan angka 250 bp (*basepair*), sedangkan pada Kecamatan Banyuwangi terdeteksi *band* dengan angka 260 bp.

Uji coba resistensi pada sampel nyamuk menggunakan standar WHO, *susceptibility test impregnated paper* sangat membantu dalam mendapatkan bukti adanya mutasi gen VGSC yang berperan pada mekanisme resistensi. Hasil *susceptibility test* tersebut dapat digunakan sebagai indikator terjadinya resistensi insektisida karena memberikan gambaran sangat spesifik pada kejadian resistensi secara fenotip dan didukung dengan adanya *band* yang terlihat pada elektroforesis PCR gen penyandi VGSC nyamuk *A. aegypti*. Hasil yang didapat menunjukkan *A. aegypti* dari Kabupaten



Gambar 1. Hasil deteksi gen VGSC menggunakan metode *Semi-Nested* PCR.

Banyuwangi resisten terhadap insektisida malathion 0,8% (golongan organofosfat).

Hasil penelitian tersebut berkaitan dengan spesies *A. aegypti* yang telah mengalami penekanan secara selektif terhadap insektisida dari golongan organofosfat. Diketahui bahwa insektisida golongan organofosfat telah banyak digunakan masyarakat atau rumah tangga sehingga nyamuk *A. aegypti* sering terpapar dengan insektisida tersebut dan ditambah dengan insektisida dari golongan lain. Dinas Kesehatan Kabupaten Banyuwangi menginformasikan bahwa insektisida malathion telah digunakan di beberapa kecamatan di Banyuwangi untuk pengendalian *A. aegypti* secara *fogging*. Berdasarkan hasil *susceptibility test* nyamuk *A. aegypti* dari Kabupaten Banyuwangi juga sudah resisten terhadap insektisida malathion. dengan demikian kemungkinan mekanisme resistensi lain dapat berlangsung pada spesies nyamuk tersebut. Mekanisme resistensi yang dapat terjadi akibat insektisida golongan organofosfat adalah metabolik resisten, yaitu adanya enzim-enzim yang dapat mendegradasi insektisida sebelum mencapai sasaran atau *target site* (Brogdon, 1998). Contoh nyamuk yang digunakan dalam penelitian, semuanya resisten terhadap malathion (golongan organofosfat), kemungkinan tidak ditemukannya *type kdr-e*. *Type kdr-e* adalah *type* mutasi kedua yang menghasilkan perubahan asam amino *leucine* menjadi *serine* (TTA menjadi TCA) (Soderlund, 2008; Kazanidou *et al.*, 2009).

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, kemungkinan adanya *type kdr-e* terjadi pada individu serangga yang telah mengalami *cross resisten* dari DDT ke organofosfat (Soderlund, 2008). Pada penelitian ini dapat diketahui indikasi adanya mutasi dari *leusine* menjadi *phenilalanin* pada gen penyandi VGSC nyamuk *A. aegypti* dari Kabupaten Banyuwangi yang telah resisten terhadap Malathion 0,8 %. Berdasarkan Ranson *et al.* (2000) perubahan *leusin* menjadi *phenilalanin* menggambarkan tingginya resistensi *A. aegypti* terhadap insektisida golongan organofosfat. Apabila mutasi pada gen penyandi VGSC terjadi perubahan dari *leusin* menjadi *serine*, berkaitan erat dengan resistensi terhadap insektisida kelompok organochlorin (DDT), perubahan tersebut bisa terjadi pada *Anopheles gambiae* dan *Culex pipiens* (Martinez *et al.*, 1998). Dalam skala rumah tangga, vektor demam berdarah

dan malaria telah dikendalikan dengan insektisida karbamat dengan cara pemberian kelambu berinsektisida. Faktanya, vektor demam berdarah dari tiga kecamatan di Kabupaten Banyuwangi yaitu Tegaldlimo, Purwoharjo, dan Banyuwangi, juga telah mengalami resistensi terhadap insektisida golongan organofosfat (malathion). Pengendalian dengan metode *fogging* menggunakan insektisida organofosfat yang sebagian besar mempunyai bahan aktif malathion telah terbukti menyebabkan terjadinya resistensi dengan didukung hasil uji secara molekuler. Bukti bahwa telah terdeteksi gen penyandi VGSC insektisida golongan organofosfat pada nyamuk *A. aegypti* dari tiga kecamatan di Kabupaten Banyuwangi yaitu Tegaldlimo, Purwoharjo, dan Banyuwangi dapat memberikan manfaat bahwa program pengendalian vektor DBD *A. aegypti* seharusnya menggunakan insektisida yang tepat yaitu golongan insektisida yang belum menimbulkan resistensi.

Penelitian ini juga telah membuktikan bahwa populasi nyamuk *A. aegypti* dari tiga Kecamatan di Kabupaten Banyuwangi yaitu Tegaldlimo, Purwoharjo, dan Banyuwangi telah resisten terhadap insektisida malathion dari golongan organofosfat, padahal beberapa insektisida rumah tangga juga berbahan aktif karbamat. Penting untuk dilakukan studi lanjut tentang mekanisme resistensi lain yaitu mutasi *glisin* menjadi *serine* pada *codon* posisi 119 gen AchE 1 yang bisa menyebabkan terjadinya resistensi terhadap insektisida kelompok organofosfat dan karbamat (Mylene *et al.*, 2010).

Konsep resistensi menyatakan bahwa penggunaan insektisida sintetik yang dilakukan secara terus menerus dalam waktu lama, tidak membunuh 100% serangga yang terpapar insektisida, dan selalu ada serangga yang tetap hidup. Pada awalnya jumlahnya amat sedikit, tetapi dalam periode tertentu akan mengalami peningkatan populasi, karena terjadi proses memperbanyak diri sekaligus mewariskan kemampuan untuk resisten terhadap insektisida kepada keturunan selanjutnya (Uthai, 2011). Khusus di tiga kecamatan di Kabupaten Banyuwangi yaitu Tegaldlimo, Purwoharjo, dan Banyuwangi, penggunaan insektisida dari golongan organofosfat perlu diawasi secara ketat karena mulai menimbulkan status resisten. Hasil ini dapat menjadi bahan pertimbangan pemerintah dan penduduk di Kabupaten Banyuwangi, apabila tetap menggunakan

malathion untuk mengendalikan nyamuk *A. aegypti*, mengingat status resisten telah mencapai 100% berdasarkan hasil uji kerentanan insektisida. Salah satu upaya yang bisa dilakukan untuk mencegah terjadinya resistensi *A. aegypti* terhadap insektisida golongan organofosfat di tiga kecamatan di Kabupaten Banyuwangi adalah dengan menerapkan manajemen rotasi insektisida. Walaupun banyak peneliti yang menilai bahwa manajemen ini hanya sebatas memperlambat terjadinya resistensi, bukan mencegah terjadinya resistensi. Akan tetapi sebelum ditemukannya rekayasa genetik nyamuk yang tepat sasaran, manajemen rotasi insektisida merupakan langkah efektif yang dapat dilakukan. Hal ini dijelaskan lebih lanjut oleh Shetty *et al.* (2013) yang menyatakan bahwa pada nyamuk spesies *A. aegypti* yang memiliki tiga gen resisten terhadap insektisida malathion, karbamat, dan cypermethrin, tidak berkembang menjadi nyamuk resisten bila diterapkan manajemen rotasi insektisida secara tepat.

SIMPULAN

Nyamuk *A. aegypti* di tiga kecamatan di Kabupaten Banyuwangi mempunyai gen penyandi resistensi insektisida VGSC yang terdeteksi dengan menggunakan teknik PCR.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian, disarankan untuk pengendalian vektor DBD di Kabupaten Banyuwangi dengan menggunakan alternatif insektisida selain dari golongan organofosfat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak dan lembaga yang terlibat dalam penelitian deteksi resistensi insektisida di wilayah Kabupaten Banyuwangi, tim peneliti, dan keluarga yang selalu mendukung sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Brogdon WG, Janet McAllister C. 1998. Insecticide Resistance and Vector Control. *Journal of Emerging Infectious Diseases* 4(4):605-613.
- Dinas Kesehatan Banyuwangi. 2015. *Profil Kesehatan Kabupaten Banyuwangi*. Banyuwangi. Dikes Banyuwangi.
- Herath PRJ. 2012. Insecticide Resistance Status in Disease Vectors and its Practical Implications. Intercontry Workshop on Insecticide Resistance of Mosquito. *Proceeding National Acad Science USA* 109(47):63-70.
- Kazanidou A, D. Nikou, M. Gregoriou, J. Vontas, and G. Skavdis. 2009. A multiplex PCR assay for simultaneous genotyping of *kdr* and *ace-1* Loci in *Anopheles gambiae*. *American Journal Tropical Medicine Hygiene* 80(2): 236-238.
- Komalamisra N, Srisawat R, Phanbhuwong T, Oatwaree S. 2011. Insecticide susceptibility of the dengue vector, *Aedes aegypti* (L.) in Metropolitan Bangkok, Southeast Asian. *J Trop Med Public Health* 42(4): 814-823.
- Martinez-Torres D, Chandre F, Williamson MS, Darriet F, Berge JB, Devonshire AL, Guillet P, Pasteur N, Pauron D. 1998. Molecular characterization of pyrethroid knockdown resistance (*kdr*) in the major malaria vector *Anopheles gambiae* s.s. *J Insect Mol Biol* 7: 179-184.
- Mylene W, Berthomieu A, Berticat C, Lutfalla G, Negre V, Pasteur N, Philips A, Leonetti JP, Fort P, Raymond M. 2010. Insecticide Resistance: a Silent Base Prediction. *Biology Journal* 14(14): 552-553.
- Prasetyowati H, Rohmansyah, Nusa R. 2012. Peta upaya pencegahan DBD Kota Sukabumi tahun 2012. *Jurnal Ekologi Kesehatan* 11(4): 333-341.
- Ranson H, Jensen B, Vulule JM, Wang X, Hemingway J, Collins FH. 2000. Identification of a point mutation in the voltage gated sodium channel gene of Kenyan *Anopheles gambiae* associated with resistance to DDT and pyrethroids. *Insect Molecular Biology* 9(5): 491-497.

- Sayono, Syafruddin D, Sumanto D. 2012. Distribusi Resistensi Nyamuk *Aedes aegypti* Terhadap Insektisida Sipermetrin di Semarang. *Jurnal Ekologi Kesehatan* 3(2): 73-82.
- Shetty V, Sanil D, Shetty NJ. 2013. Insecticide susceptibility status in three medically important species of mosquitoes, *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*, from Bruhat Bengaluru Mahanagara Palike, Karnataka, India. *Pest Manag Sci* 69:257-267.
- Sinkins S. 2010. Genome sequence of *Aedes aegypti*, a major arbovirus vector. *J Sci* 3(16): 1718-1723.
- Soderlund DM. 2008. Pyrethroid, knockdown resistance and sodium channels. *Pest Manag Sci* 64: 610-616.
- Uthai UL, Rattanapreechachai P, Chohanadisai L. 2011. Bioassay and Effective Concentration of Temephos Against *Aedes aegypti* Larvae and the Adverse Effect Upon Indigenous Predators :*Toxorhynchites splendens* and *Micronecta* sp. *Asia Journal of Public Health* 2(2): 67-77.
- Widiarti, Heriyanti B, Boewono Dt. 2011. Peta Resistensi Vektor Demam Berdarah Dengue *Aedes aegypti* Terhadap Insektisida Kelompok Organofosfat, Karbamat, dan Pyretroid di Provinsi Jawa Tengah dan Daerah Istimewa Yogyakarta. *Jurnal Ekologi Kesehatan* 3(2): 93-111.
- Wooden J, Kyes S, Sibley CH. 1993. PCR and strain identification in *Plasmodium falciparum*. *Parasitology Journal* 9: 303-305.
- World Health Organization (WHO). 2014. *Dengue Hemorrhagic Fever by Mosquito as Mayor Vector*. Geneva, Switzerland. World Health Organization 130.