

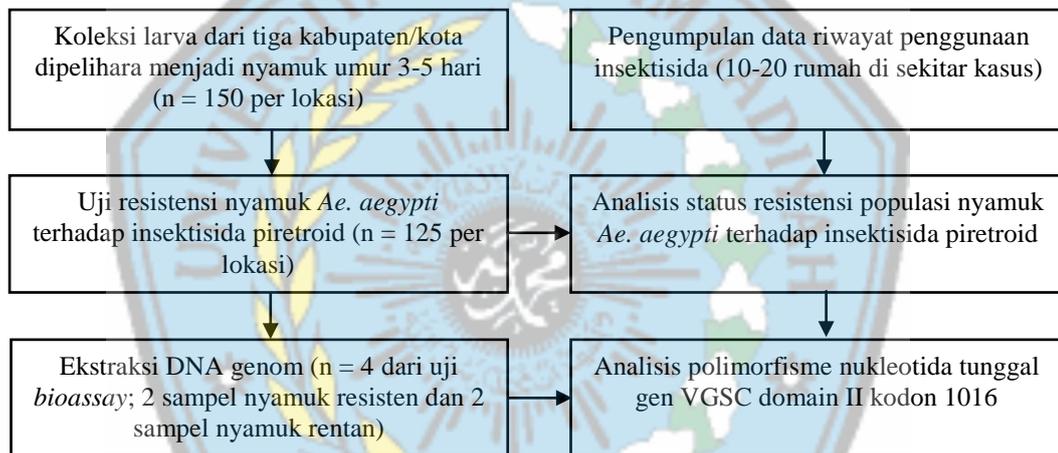
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Gambaran Umum

Deskripsi hasil penelitian mencakup tentang lokasi penelitian, survai larva dan *rearing* nyamuk *Ae. aegypti*, survai penggunaan insektisida, penentuan status resistensi populasi nyamuk *Ae. aegypti* terhadap insektisida piretroid serta distribusi alel kdr kodon 1016 yang terdeteksi. Bagan laporan tercantum pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Bagan Laporan Penelitian

2. Analisis Hasil Survai Vektor *Aedes aegypti*

a. Daerah Asal Habitat *Ae. aegypti*

Nyamuk *Ae. aegypti* yang digunakan sebagai subjek penelitian dikumpulkan melalui survai vektor berupa stadium larva dan pupa kemudian dipelihara hingga menjadi nyamuk dewasa. Survai vektor dilakukan di tiga kabupaten/kota endemis DBD di dataran tinggi Provinsi Jawa Tengah yaitu Kabupaten Semarang (Desa Bandungan, Kelurahan Gebugan, Kelurahan Karangjati), Kabupaten Pemalang (Desa Gombang) dan Kota Semarang (Kelurahan Tembalang). Diketahui diantara kelima lokasi survai vektor, Kelurahan Tembalang memiliki elevasi kurang dari 300 meter di atas permukaan laut, namun daerah tersebut tetap menjadi lokasi survai sebab

merupakan dataran tertinggi di Kota Semarang yang endemis DBD. Survei dilakukan dalam periode bulan Juni-Agustus 2016 pada tempat penampungan air di dalam rumah warga yang berada dalam radius 50 meter dari rumah penderita DBD berdasarkan data Puskesmas setempat tahun 2015-2016.

Tabel 4.1 Koordinat Lokasi Penelitian

| Kabupaten/Kota | Lokasi | Koordinat | Elevasi (m) |
|--------------------|----------------------|-------------------------------------|-------------|
| Kabupaten Semarang | Desa Bandungan | 07°13'31.13" LS 110°21'58.39" BT | 910 |
| | Kelurahan Gebugan | 07°10'34.71" LS 110°23'54.59" BT | 524 |
| | Kelurahan Karangjati | 07°10'56.79" LS 110°25'41.32" BT | 486 |
| Kabupaten Pemalang | Desa Gombang | 07°11'48.68" LS 109°18'01.46" BT | 1111 |
| Kota Semarang | Kelurahan Tembalang | 07°03'28.59" LS | 216 |
| | | 110°26'11.34" BT | |

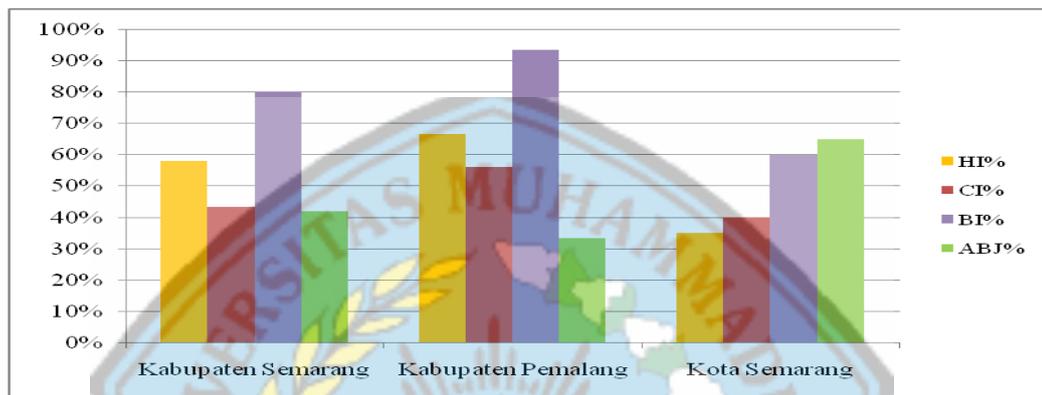


Gambar 4.2 Peta Lokasi Penelitian di Dataran Tinggi Provinsi Jawa Tengah Berdasarkan Kabupaten/Kota

b. Karakteristik Tempat Penampungan Air Sumber Larva

Pengukuran kepadatan populasi *Aedes* berdasarkan *House Index* (HI), *Container Index* (CI) dan *Breteau Index* (BI) dari tiga kabupaten/kota endemis DBD di dataran tinggi Provinsi Jawa Tengah adalah HI berkisar antara 35% (Kota Semarang) hingga 66,7% (Kabupaten Pemalang), CI berkisar antara 40% (Kota Semarang) hingga 56% (Kabupaten Pemalang) dan

BI berkisar antara 60% (Kota Semarang) hingga 93,3% (Kabupaten Pemalang). Hal ini menunjukkan bahwa densitas populasi *Aedes* sebagai vektor di daerah endemis DBD di dataran tinggi Provinsi Jawa Tengah bervariasi dan masih melebihi ambang batas aman penularan yang ditetapkan bahwa HI tidak boleh lebih dari 5% dan angka bebas jentik 95% atau lebih (60).



Gambar 4.3 Distribusi Indeks Larva *Aedes* Menurut Kabupaten/Kota di Dataran Tinggi Provinsi Jawa Tengah

Tabel 4.2 Karakteristik TPA di Dalam Rumah

| Karakteristik Tempat Penampungan Air | Keberadaan Larva <i>Aedes</i> | | | | Total N | p |
|--------------------------------------|-------------------------------|-------------|-----------|-------------|------------|-------|
| | Positif | | Negatif | | | |
| | n | % | n | % | | |
| Jenis TPA | | | | | | |
| Kulah | 20 | 30,3 | 46 | 69,7 | 66 | 0,614 |
| Drum | 4 | 100,0 | 0 | 0,0 | 4 | |
| Gentong/Tempayan | 9 | 50,0 | 9 | 50,0 | 18 | |
| Tandon Air Besar | 1 | 100,0 | 0 | 0,0 | 1 | |
| Ember | 9 | 29,0 | 22 | 71,0 | 31 | |
| Tampungan Air Dispenser | 1 | 50,0 | 1 | 50,0 | 2 | |
| Tampungan Air Kulkas | 0 | 0,0 | 1 | 100,0 | 1 | |
| Total | 44 | 35,8 | 79 | 64,2 | 123 | |
| Bahan TPA | | | | | | |
| Semen | 11 | 26,8 | 30 | 73,2 | 41 | 0,547 |
| Besi | 3 | 100,0 | 0 | 0,0 | 3 | |
| Tanah Liat/Gerabah | 1 | 100,0 | 0 | 0,0 | 1 | |
| Keramik | 8 | 40,0 | 12 | 60,0 | 20 | |
| Plastik | 21 | 36,2 | 37 | 63,8 | 58 | |
| Total | 44 | 35,8 | 79 | 64,2 | 123 | |
| Warna Dinding | | | | | | |
| Gelap | 20 | 33,9 | 39 | 66,1 | 59 | 0,820 |
| Terang | 24 | 37,5 | 40 | 62,5 | 64 | |
| Total | 44 | 35,8 | 79 | 64,2 | 123 | |

Berdasarkan survai vektor yang dilakukan pada 85 rumah di tiga kabupaten/kota endemis DBD di dataran tinggi Provinsi Jawa Tengah ditemukan sebanyak 147 buah tempat penampungan air (TPA) diantaranya 123 buah TPA di dalam rumah dan 24 buah TPA di luar rumah. Jenis TPA di dalam rumah yang paling banyak ditemukan positif larva adalah kulah di kamar mandi, gentong/tempayan dan ember. Hasil analisis TPA tercantum pada Tabel 4.2 dan menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antara jenis TPA, bahan TPA dan warna dinding TPA terhadap peluang keberadaan larva *Ae. aegypti* ($p>0,05$).

3. Analisis Data Penggunaan Insektisida

a. Insektisida Program Kesehatan

Berdasarkan data Puskesmas tahun 2015-2016, Kabupaten Semarang dan Kabupaten Pemalang pernah dilakukan kegiatan *fogging* dalam 1 tahun terakhir, sedangkan Kota Semarang dalam satu tahun terakhir insektisida program kesehatan belum pernah diadakan namun pada tahun-tahun sebelumnya insektisida berbahan aktif sipermetrin pernah digunakan dalam kegiatan *fogging* di wilayah ini.

Tabel 4.3 Riwayat Pajanan Insektisida Program Kesehatan di Daerah Endemis DBD di Dataran Tinggi Provinsi Jawa Tengah

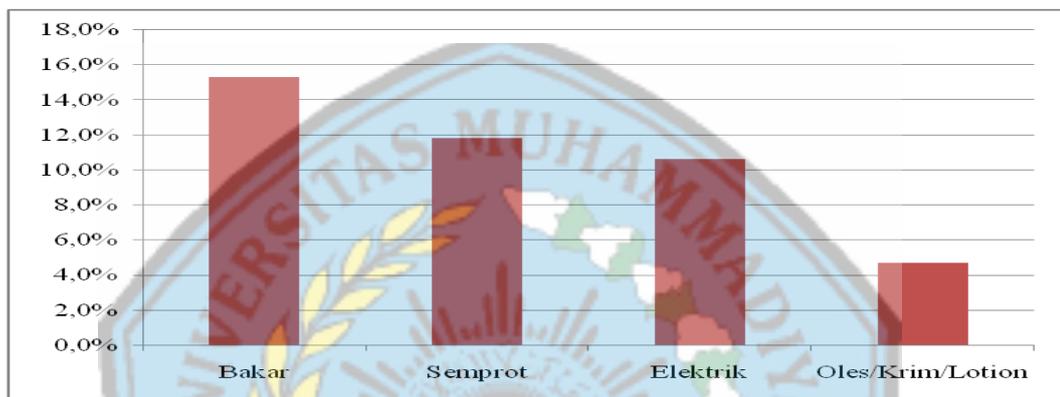
| Kabupaten/Kota | Kegiatan Insektisida | Bahan Aktif |
|--------------------|----------------------|-----------------------|
| Kabupaten Semarang | <= 1 tahun | Sipermetrin, Paration |
| Kabupaten Pemalang | <= 1 tahun | Sipermetrin, Malation |
| Kota Semarang | >1 tahun | Sipermetrin |

b. Insektisida Rumah Tangga

Tabel 4.4 Perbedaan Penggunaan Insektisida Rumah Tangga di Daerah Endemis DBD di Dataran Tinggi Provinsi Jawa Tengah

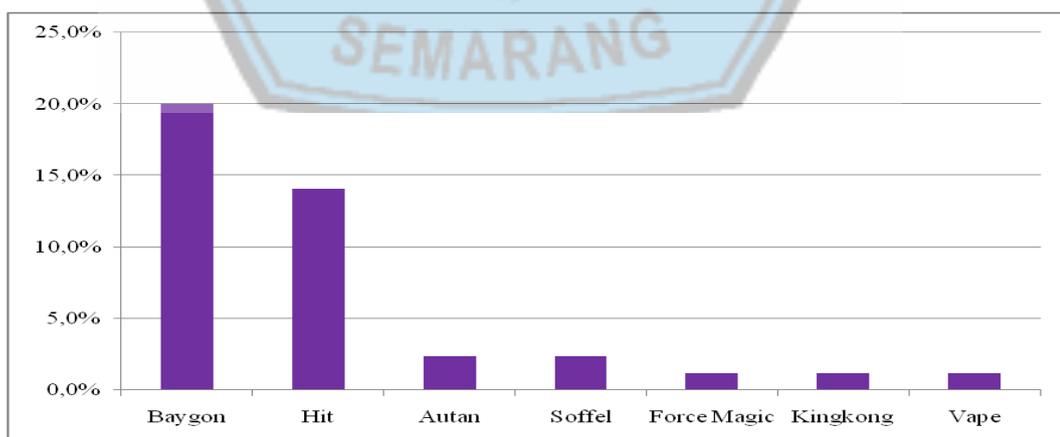
| Kabupaten/ Kota | Penggunaan IRT | | | | Total N | p |
|--------------------|----------------|-------------|-----------|-------------|------------|-------|
| | Tidak | | Ya | | | |
| | n | % | n | % | | |
| Kabupaten Semarang | 24 | 48,0 | 26 | 52,0 | 50 | 0,097 |
| Kabupaten Pemalang | 11 | 73,3 | 4 | 26,7 | 15 | |
| Kota Semarang | 14 | 70,0 | 6 | 30,0 | 20 | |
| Total | 49 | 57,6 | 36 | 42,4 | 85 | |

Masyarakat di daerah endemis DBD di dataran tinggi Provinsi Jawa Tengah yang menggunakan insektisida rumah tangga secara umum 42,4%. Analisis statistik *Chi Square* menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ($p=0,097$) dalam penggunaan insektisida rumah tangga. Masyarakat di daerah endemis DBD di dataran tinggi Provinsi Jawa Tengah memiliki kebiasaan yang relatif sama dalam penggunaan insektisida rumah tangga.



Gambar 4.4 Jenis Insektisida yang Digunakan Masyarakat di Daerah Endemis DBD di Dataran Tinggi Provinsi Jawa Tengah

Berdasarkan hasil survai, insektisida jenis bakar paling dominan digunakan sebesar 15,3% (Gambar 4.4) dan insektisida merek baygon yang paling banyak digunakan masyarakat untuk pengendali vektor pada tingkat rumah tangga sebesar 20% (Gambar 4.5).



Gambar 4.5 Merek Insektisida Rumah Tangga yang Digunakan Masyarakat di Daerah Endemis DBD di Dataran Tinggi Provinsi Jawa Tengah

4. Analisis Resistensi Nyamuk *Aedes aegypti* terhadap Insektisida Piretroid

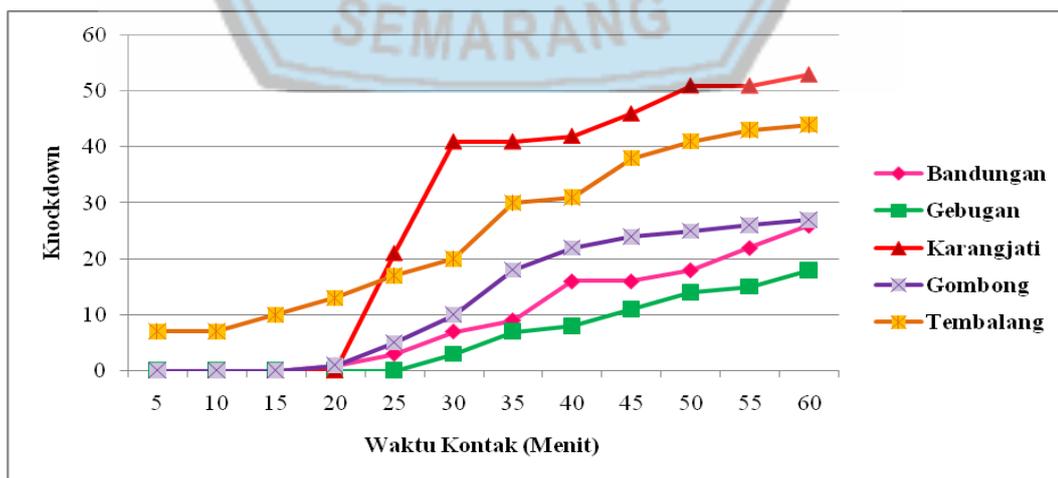
Pengujian resistensi nyamuk *Ae. aegypti* dilakukan dengan metode *susceptibility test* sesuai standar WHO menggunakan *impregnated paper* yang mengandung bahan aktif insektisida piretroid yakni sipermetrin 0,05%. Insektisida golongan ini telah digunakan lebih dari 10 tahun dalam program pengendalian vektor DBD di Provinsi Jawa Tengah.

Berdasarkan pengamatan selama 1 jam paparan insektisida, nyamuk *Ae. aegypti* yang berasal dari Kelurahan Tembalang mengalami *knockdown* lebih cepat dibandingkan dengan yang berasal dari daerah lain (Gambar 4.6). Hasil analisis probit menunjukkan bahwa lama waktu kontak terhadap insektisida untuk mencapai nyamuk pingsan (*knockdown time*) 50% bagi nyamuk *Ae. aegypti* dari daerah endemis DBD di Provinsi Jawa Tengah berkisar antara 48,20 hingga 102,66 menit, sedangkan KDT95% berkisar antara 143,83 hingga 838,34 menit.

Tabel 4.5 Data *Knockdown Time* Nyamuk *Ae. aegypti* terhadap Insektisida Piretroid Berdasarkan Persentase Nyamuk Pingsan 50% dan 95%

| Lokasi Habitat Asal | <i>Knockdown Time</i> * | | | | | |
|------------------------|-------------------------|------------------|-----------------|-------------------|------------------|-----------------|
| | KDT ₅₀ | Kisaran Bawah | Kisaran Atas | KDT ₉₅ | Kisaran Bawah | Kisaran Atas |
| Desa Bandungan | 91,87 | 77,95 | 119,21 | 294,05 | 200,37 | 550,78 |
| Kel. Gebugan | 102,66 | 84,09 | 146,75 | 293,44 | 190,34 | 649,02 |
| Kel. Karangjati | 48,20 | 41,95 | 59,13 | 143,83 | 99,92 | 301,46 |
| Desa Gombong | 82,19 | 71,44 | 101,23 | 280,93 | 198,13 | 482,22 |
| Kel. Tembalang | 78,82 | 65,73 | 101,64 | 838,34 | 484,36 | 1894,13 |

*Dihitung dalam satuan menit



Gambar 4.6 Jumlah Nyamuk *Knockdown* Selama 1 Jam Paparan Insektisida Sipermetrin 0,05%

Hasil uji resistensi setelah *holding* 24 jam menunjukkan persentase mortalitas berkisar 16% hingga 80% dengan rerata 41,4% dan simpangan baku 26,68. Jumlah kematian nyamuk *Ae. aegypti* terendah berasal dari Desa Bandungan, sedangkan kematian tertinggi berasal dari Kelurahan Tembalang. Hal ini menunjukkan bahwa nyamuk *Ae. aegypti* yang berasal dari Kelurahan Tembalang masih toleran terhadap insektisida berbahan aktif sipermetrin 0,05%.

Tabel 4.6 Data Hasil Uji Resistensi Nyamuk *Ae. aegypti* terhadap Insektisida Sipermetrin 0,05%

| Habitat Asal | | Jumlah Nyamuk | | Mortalitas* | Kategori |
|----------------|-----------------|---------------|------|-------------|----------|
| Kabupaten/Kota | Lokasi | Diuji | Mati | | |
| Kab. Semarang | Desa Bandungan | 100 | 16 | 16% | Resisten |
| | Kel. Gebugan | 100 | 20 | 20% | Resisten |
| | Kel. Karangjati | 100 | 56 | 56% | Resisten |
| Kab. Pemalang | Desa Gombang | 100 | 35 | 35% | Resisten |
| Kota Semarang | Kel. Tembalang | 100 | 80 | 80% | Toleran |

*Kriteria uji resistensi standar WHO: mortalitas <80% resisten, 80%-98% toleran dan >98% rentan

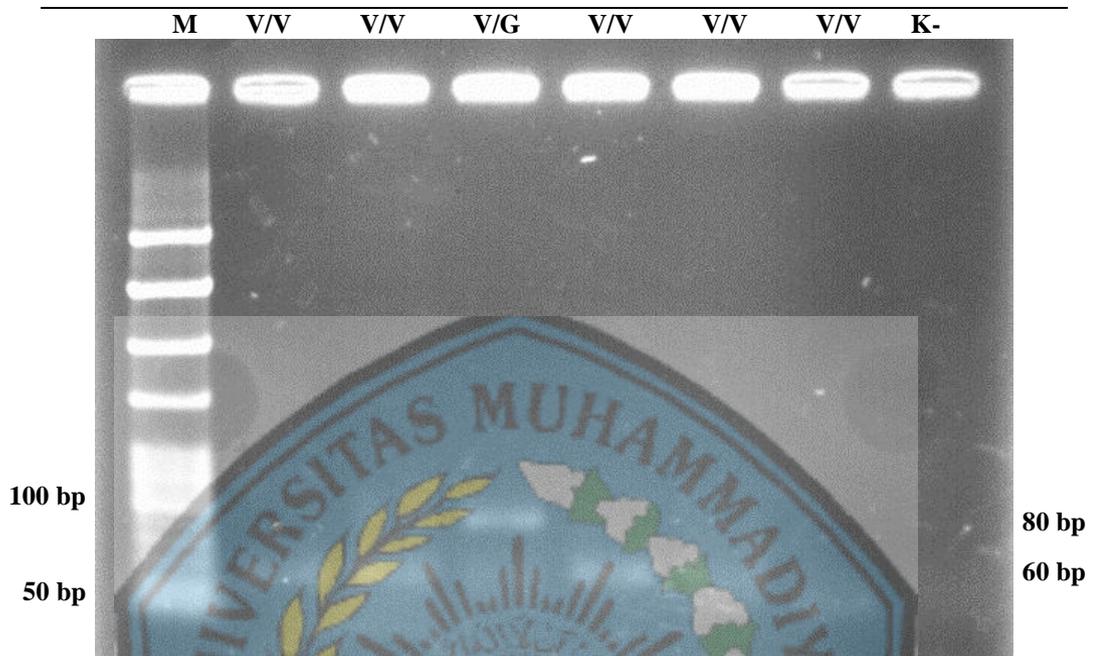
5. Analisis Molekuler *Allele-Specific Polymerase Chain Reaction*

Deteksi polimorfisme yang berkaitan dengan kejadian *knockdown resistance* (kdr) pada nyamuk *Ae. aegypti* terhadap insektisida piretroid difokuskan pada domain II kodon 1016. Deteksi ini dilakukan dengan berbasis DNA genom nyamuk *Ae. aegypti* resisten maupun rentan secara individual. DNA genom (gDNA) diperoleh dari hasil isolasi/ekstraksi nyamuk *Ae. aegypti* yang telah diukur kemurniannya dengan Nanodrop 2000 Spektrofotometer.

DNA genom hasil ekstraksi selanjutnya diamplifikasi dalam proses *Allele-Specific PCR* dengan menggunakan *forward primer* dan *reverse primer* (Gly dan Val) yang dirancang untuk membatasi fragmen atau urutan DNA tersebut sepanjang 60 pasangan basa untuk Valin dan 80 pasangan basa untuk Glisin.

Hasil amplifikasi AS-PCR selanjutnya dianalisis melalui proses gelelektroforesis guna mengetahui ukuran DNA produk PCR dan divisualisasikan melalui *gel-documentation*. Produk PCR yang teramplifikasi akan nampak berupa pita DNA (*bands*) sesuai ukuran basa apabila terkena sinar ultraviolet (Gambar 4.7). Pita DNA muncul pada posisi antara 50-100 bp karena ampikon memiliki ukuran 60 pasangan basa dan 80 pasangan basa. Hasil analisis kodon 1016 gen

VGSC menunjukkan bahwa polimorfisme terjadi pada seluruh populasi nyamuk *Ae. aegypti* strain dataran tinggi di Provinsi Jawa Tengah.



Gambar 4.7 Produk PCR berupa amplicon gen VGSC kodon 1016 dengan ukuran 60 dan 80 pasangan basa. Urutan sampel dari kiri ke kanan marker berbasis 50 bp, sampel Karangjati, Bandungan, Tembalang, Gombang, Gebugan, Gombang dan kontrol negatif (K-)

Tabel 4.7 Data Hasil Identifikasi Genotip dan Alel Kdr Kodon 1016 Nyamuk *Ae. aegypti* Strain Dataran Tinggi di Provinsi Jawa Tengah

| Lokasi Habitat Asal | Status* | Jumlah Sampel Uji | Genotip** | | | Frekuensi Alel G | p |
|------------------------|---------|----------------------|-----------|-----|-----|---------------------|-------|
| | | | V/V | V/G | G/G | | |
| Desa Bandungan | R | 2 | 1 | 0 | 1 | 0,50 | 0,035 |
| | S | 2 | 2 | 0 | 0 | 0,00 | |
| Kel. Gebugan | R | 3 | 1 | 1 | 1 | 0,50 | 0,00 |
| | S | 1 | 1 | 0 | 0 | 0,00 | |
| Kel. Karangjati | R | 2 | 1 | 0 | 1 | 0,50 | 0,00 |
| | S | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,00 | |
| Desa Gombang | R | 2 | 1 | 0 | 1 | 0,50 | 0,00 |
| | S | 1 | 1 | 0 | 0 | 0,00 | |
| Kel. Tembalang | R | 2 | 0 | 1 | 1 | 0,75 | 0,00 |
| | S | 2 | 2 | 0 | 0 | 0,00 | |
| Total | R | 11 | 4 | 2 | 5 | 0,55 | 0,00 |
| | S | 6 | 6 | 0 | 0 | 0,00 | |

*Status nyamuk *Ae. aegypti* hasil uji *bioassay*: resisten (R), *susceptible* (S)

**Genotip yang terdeteksi: V/V *wild-type*, V/G mutan heterozigot, G/G mutan homozigot

Analisis genotip pada kodon 1016 yang terdeteksi tercantum pada Tabel 4.7 dan menunjukkan ada perbedaan yang bermakna antara sampel nyamuk resisten dan *susceptible* terhadap frekuensi alel kdr yang terdeteksi ($p < 0,05$). Genotip

kodon 1016 terdeteksi dalam beberapa tipe antara lain V/V homozigot yang bersifat normal (*wild-type*), G/G mutan homozigot dan V/G mutan heterozigot. Munculnya alel mutan 1016G dalam penelitian ini menunjukkan bahwa nyamuk *Ae. aegypti* telah mengalami perubahan struktur genetik dan susbtitusi asam amino Valin menjadi Glisin pada kodon 1016 sehingga nyamuk *Ae. aegypti* mampu mempertahankan diri terhadap paparan insektisida golongan piretroid.



B. Pembahasan

Penyakit *dengue* dan Zika tengah menjadi perhatian dunia sebab kedua penyakit tersebut terus mengalami peningkatan kasus dan menjadi beban masalah kesehatan masyarakat. Secara umum penyakit tersebut ditularkan oleh nyamuk *Ae. aegypti* yang banyak dijumpai di daerah perkotaan namun penelitian ini mengungkapkan bahwa kasus DBD dan nyamuk *Ae. aegypti* juga dapat dijumpai di daerah dataran tinggi.

Survai vektor dilakukan di tiga kabupaten/kota endemis DBD di dataran tinggi Provinsi Jawa Tengah yakni Kabupaten Semarang, Kabupaten Pemalang dan Kota Semarang dengan ketinggian daerah berkisar 216-1111 meter di atas permukaan laut. Hasil survai menunjukkan kepadatan larva yang ditemukan di dalam rumah dari ketiga daerah tersebut termasuk dalam kategori tinggi sehingga rawan terhadap transmisi penularan virus *dengue* dan berpotensi menimbulkan kasus DBD.

House Index (HI) menggambarkan masih banyaknya rumah yang positif larva sehingga risiko penularan virus *dengue* melalui nyamuk *Ae. aegypti* perlu diwaspadai terlebih lokasi penelitian berada di sekitar rumah kasus DBD. *Container Index* (CI) sebagai gambaran dari banyaknya TPA yang ditemukan positif larva menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada tiap-tiap jenis TPA, bahan TPA dan warna dinding TPA terhadap peluang keberadaan larva *Ae. aegypti* meskipun demikian masyarakat tetap perlu mengantisipasi tempat-tempat penampungan air yang berpeluang digunakan nyamuk *Ae. aegypti* untuk berkembang biak. *Breteau Index* (BI) menggambarkan hubungan antara TPA positif larva dengan banyaknya rumah yang diperiksa, semakin tinggi BI maka dapat disimpulkan bahwa masih banyak rumah yang dijumpai memiliki tempat penampung air yang positif larva.

Penelitian mengenai kepadatan larva ini cukup berbeda dengan penelitian sebelumnya di Kabupaten Temanggung, sebagai daerah dengan ketinggian lebih dari 500 meter di atas permukaan laut ditemukan HI sebesar 27,3%, CI 19,1% dan BI 40,9% ⁽²⁴⁾ sedangkan di Kelurahan Tembalang, Kota Semarang ditemukan HI sebesar 13%, CI 5,42% dan BI 16% ⁽⁷⁶⁾. Densitas vektor di kedua lokasi penelitian

tersebut lebih rendah dari temuan penelitian yang dilakukan. Diantara ketiga kabupaten/kota endemis DBD di dataran tinggi Provinsi Jawa Tengah, densitas vektor yang terdapat di Kabupaten Pemalang selama ini belum banyak dilaporkan, terutama di daerah dengan ketinggian lebih dari 1000 meter di atas permukaan laut. Hasil penelitian ini memberikan informasi sekaligus sebagai bukti bahwa *Ae. aegypti* saat ini telah memperluas wilayah habitatnya hingga dataran tinggi.

Tingginya densitas populasi vektor *dengue* di Provinsi Jawa Tengah berbanding lurus dengan kejadian resistensi *Ae. aegypti* dampak dari penggunaan insektisida program kesehatan maupun sektor rumah tangga dalam pengendalian vektor *dengue*. Hal ini ditunjukkan dengan hasil pengujian *bioassay* yang mengungkapkan bahwa bahan aktif sipermetrin 0,05% masih memberikan efek yang cukup baik hanya pada nyamuk *Ae. aegypti* yang berasal dari Kelurahan Tembalang, Kota Semarang sebab mortalitas nyamuk sebesar 80%. Kriteria mortalitas nyamuk disesuaikan dengan ketentuan WHO bahwa rentan terhadap insektisida apabila kematian nyamuk uji 98% atau lebih, toleran apabila kematian nyamuk uji antara 80% hingga 98% dan resisten apabila kematian nyamuk uji kurang dari 80% ⁽⁷⁵⁾.

Secara umum menurut penelitian sebelumnya status resistensi nyamuk *Ae. aegypti* terhadap insektisida golongan piretroid di Provinsi Jawa Tengah telah dilaporkan dengan berbagai bahan aktif antara lain sipermetrin 0,05% ^(21, 23), permetrin 0,25% ⁽²²⁾, permetrin 0,75% ^(23, 24), deltametrin 0,05% ⁽²⁴⁾ dan lamdasihalotrin 0,05% ⁽²³⁾. Namun hasil analisis penelitian ini secara terbatas menunjukkan bahwa status resistensi nyamuk *Ae. aegypti* di Kabupaten Semarang terhadap insektisida berbahan aktif sipermetrin 0,05% berbeda dengan laporan sebelumnya ⁽⁷⁷⁾. Nyamuk *Ae. aegypti* yang berasal dari Kabupaten Semarang dan Kabupaten Pemalang dalam penelitian ini tidak lagi sensitif terhadap paparan insektisida berbahan aktif sipermetrin 0,05%. Hal ini tidak jauh berbeda dengan temuan di Kabupaten Temanggung yang melaporkan bahwa nyamuk *Ae. aegypti* di dataran tinggi tersebut juga telah resisten terhadap insektisida berbahan aktif deltametrin 0,05% ⁽²⁴⁾.

Timbulnya resistensi nyamuk *Ae. aegypti* tidak terlepas dari riwayat penggunaan insektisida yang digunakan dalam pengendalian vektor di lokasi penelitian. Kabupaten Semarang, Kabupaten Pemalang dan Kota Semarang diketahui merupakan daerah endemis DBD berdasarkan data Puskesmas setempat pada tahun 2015-2016. Tingginya status resistensi nyamuk *Ae. aegypti* di Kabupaten Semarang dan Kabupaten Pemalang dapat dipengaruhi salah satunya dari riwayat penggunaan insektisida program kesehatan. Kedua daerah tersebut dalam satu tahun terakhir kegiatan pengendalian vektor cukup aktif dilakukan dengan menggunakan insektisida berbahan aktif sipermetrin yang merupakan turunan dari insektisida golongan piretroid. Berbeda dengan Kota Semarang, intensitas penggunaan insektisida program kesehatan justru telah dibatasi dalam satu tahun terakhir namun tidak dipungkiri bahwa nyamuk *Ae. aegypti* di daerah tersebut menunjukkan status toleran terhadap paparan bahan aktif sipermetrin 0,05% sebab insektisida tersebut telah digunakan dalam jangka waktu yang lama pada tahun-tahun sebelumnya.

Riwayat penggunaan insektisida rumah tangga juga turut mempengaruhi risiko timbulnya resistensi pada nyamuk *Ae. aegypti* di lokasi penelitian. Berdasarkan hasil survai, insektisida jenis bakar dan semprot paling dominan digunakan dan merek baygon yang paling banyak dipilih oleh masyarakat. Baygon sebagai insektisida rumah tangga yang terdiri dari jenis bakar dan semprot diketahui mengandung bahan aktif sipermetrin, imiprotrin, transflutrin dan d-alletrin yang termasuk dalam insektisida golongan piretroid ⁽⁴⁷⁾. Hal ini memperkuat analisis sebelumnya mengenai penyebab nyamuk *Ae. aegypti* di lokasi penelitian tidak lagi peka terhadap insektisida piretroid.

Guna mengetahui mekanisme terjadinya resistensi akibat paparan insektisida piretroid pada populasi nyamuk *Ae. aegypti* di lokasi penelitian maka dilakukan pengujian lebih lanjut secara molekuler menggunakan teknik AS-PCR. Deteksi mutasi kdr kodon 1016 sebelumnya telah banyak dilakukan di beberapa negara di Amerika Latin ^(33, 34, 38-40) dan Asia Tenggara ^(30-32, 35-37) dengan berbagai macam teknik PCR. Namun perubahan genetik pada kodon 1016 yang ditandai dengan perubahan substitusi asam amino Valin menjadi Glisin lebih banyak ditemukan di

wilayah Asia Tenggara sedang di Amerika Latin terjadi perubahan substitusi asam amino Valin menjadi Isoleusin.

Insektisida piretroid diketahui merupakan golongan insektisida yang menekan gen VGSC sehingga mengganggu sistem saraf dan menyebabkan perubahan genetik karena ditemukannya polimorfisme alel *knockdown resistance*. Penelitian ini berhasil mendeteksi alel kdr gen VGSC pada nyamuk *Ae. aegypti* strain dataran tinggi di Provinsi Jawa Tengah dengan teknik AS-PCR. Hal ini ditunjukkan dengan terdeteksinya tiga variasi genotip pada seluruh kelompok sampel yakni V/V (58,8%) *wild-type* homozigot yang bersifat normal, V/G (11,8%) mutan heterozigot dan G/G (29,4%) mutan homozigot dengan frekuensi alel untuk *wild-type* sebesar 45% dan mutan sebesar 55%. Terdeteksi variasi genotip pada penelitian ini mengindikasikan bahwa bahan aktif sipermetrin diyakini berkontribusi menimbulkan perubahan genetik pada nyamuk *Ae. aegypti* strain dataran tinggi di Provinsi Jawa Tengah.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya di Thailand yang mendeteksi V1016G dengan teknik dan primer yang sama⁽⁴³⁾. Penelitian ini menunjukkan bahwa nyamuk *Ae. aegypti* yang secara fenotip dinyatakan telah resisten terhadap insektisida berbahan aktif sipermetrin sebagian besar mengalami mutasi genetik dibandingkan dengan yang rentan meski secara keseluruhan jumlah sampel yang diuji banyak ditemukan alel *wild-type* homozigot yang menandakan bahwa mutasi belum terjadi. Frekuensi masing-masing genotip pada kelompok resisten diketahui sebesar 36,4% (V/V), 18,2% (V/G) dan 45,5% (G/G) sedangkan pada kelompok rentan dalam penelitian ini alel mutan tidak terdeteksi.

Penelitian lain di Provinsi Jawa Tengah yang menggunakan teknik PCR dan primer berbeda juga mengungkapkan bahwa secara genotip mutasi banyak terdeteksi pada nyamuk *Ae. aegypti* resisten dan pada penelitian tersebut alel 1016G yang terdeteksi termasuk dari nyamuk *Ae. aegypti* yang rentan⁽³²⁾. Hal ini berbeda dengan laporan penelitian lain di Kabupaten Klaten, Provinsi Jawa Tengah dimana mutasi heterozigot terdeteksi sebesar 59,1%⁽³⁷⁾ namun penelitian tersebut tidak menjelaskan mutasi yang terdeteksi secara genotip berasal dari nyamuk *Ae. aegypti* yang telah resisten atau rentan.

Berdasarkan status kerentanan nyamuk *Ae. aegypti*, frekuensi keberadaan alel 1016G lebih banyak ditemukan pada kelompok resisten dari pada kelompok rentan. Tidak terdeteksinya alel mutan pada nyamuk *Ae. aegypti* yang rentan terhadap insektisida dalam penelitian ini diduga karena alel 1016G bersifat resesif sebagai alel kdr^(39, 78), sehingga polimorfisme V1016G mungkin bukan satu-satunya noktah yang berhubungan dengan kejadian *knockdown resistance* pada gen VGSC nyamuk *Ae. aegypti* di lokasi penelitian. Paparan insektisida lain dan faktor lingkungan sekitar juga dapat mempengaruhi mekanisme resistensi yang mungkin berkembang dalam tubuh serangga.

Hasil penelitian ini dapat menambah referensi data terbaru perkembangan resistensi vektor khususnya *Aedes aegypti* di Indonesia. Penelitian ini menunjukkan bahwa perubahan genetik telah terjadi pada gen VGSC nyamuk *Ae. aegypti* strain dataran tinggi di Provinsi Jawa Tengah akibat paparan insektisida yang digunakan dalam kegiatan pengendalian vektor. Hal ini diperkuat dengan riwayat penggunaan insektisida golongan piretroid dalam program pengendalian vektor dan intensitas penggunaan insektisida rumah tangga yang cukup sering oleh masyarakat di lokasi penelitian. Maka penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengetahui mekanisme yang paling mempengaruhi terjadinya mutasi pada nyamuk *Ae. aegypti* strain dataran tinggi di Provinsi Jawa Tengah.

C. Keterbatasan Penelitian

1. Penelitian ini belum menjangkau seluruh daerah endemis DBD di dataran tinggi Provinsi Jawa Tengah dikarenakan kendala proses pengangkutan sampel agar tetap stabil kondisinya hingga di laboratorium,
2. Penelitian ini tidak menggunakan nyamuk dewasa yang diambil langsung di lokasi penelitian dalam pengujian kerentanan nyamuk terhadap insektisida dikarenakan pengambilan nyamuk dewasa tidak mudah dan penggunaan umpan tubuh manusia dalam proses penangkapan nyamuk sangat berisiko jika dilakukan di daerah endemis DBD,
3. Penelitian ini hanya mendeteksi mekanisme resistensi nyamuk *Aedes aegypti* strain dataran tinggi di Provinsi Jawa Tengah melalui perubahan gen VGSC,

penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui mekanisme resistensi lain yang mungkin terjadi pada nyamuk *Aedes aegypti* strain dataran tinggi,

4. Proses penyimpanan sampel penelitian yang terlalu lama baik yang berupa nyamuk utuh maupun hasil isolasi DNA genom dan sering mengalami perubahan suhu terus menerus dapat mempengaruhi kualitas DNA dan kualitas amplikon yang dihasilkan,
5. Teknik *Allele-Specific Polymerase Chain Reaction* (AS-PCR) diketahui dapat menggambarkan karakteristik hasil amplifikasi secara langsung, namun proses *sequencing* mungkin masih diperlukan guna mengetahui perubahan transisi basa yang terjadi pada produk hasil pengujian molekuler.

