

UJI BIOKIMIA UNTUK IDENTIFIKASI MEKANISME RESISTENSI GANDA VEKTOR MALARIA TERHADAP INSEKTISIDA DI JAWA TIMUR

Widiarti, Damar Tri Boewono, Mujiono
Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit,
Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
Jl. Hasanudin 123, PO Box 200, Salatiga

THE USE OF BIOCHEMICAL ASSAYS TO IDENTIFY MULTIPLE INSECTICIDE RESISTANCE MECHANISMS IN WILD POPULATION OF MALARIA VECTOR IN EAST JAVA

ABSTRACT

Resistance is inherited and has proved to be the biggest single barrier to successful chemical control of insect vectors. The continuity of along time period insecticide usage can produce mosquitoes resistance. Resistance to insecticide as a results from three main mechanism : 1) insecticide penetration is reduce, 2) the insecticides is more efficiently metabolized by esterases, mixed function oxidases, or glutathione transferase enzyme and, 3) the target of the insecticide is modified (*insensitive acetylcholinesterase*). The objectives of this study was to determine the potency of malaria vector from East Java Province to be resistant to organophosphate, carbamate and pyrethroid insecticides. The research methods used were biochemical assays (microplate assays) for elevated esterase and *insensitive acetylcholinesterase*. The esterase activity and *insensitive acetylcholinesterase* were measured at 450 nm and 405 nm with a Dytech *Elisa plate reader*. Biochemical assays indicated that susceptibility (resistant or tolerance), of the malaria vector collected from East Java Province natural population against insecticide were mostly decreased, although there were different level and mechanism occurs. Microplate enzymatic assay on individual *Anopheles sundaicus* collected from Banyuwangi, Pacitan, Jember, Malang Regency revealed that 31,25 %, 12,5 %, 45,2 % and 15,25 % population were resistant respectively due to elevated esterase activity mechanism. Base on the *susceptibility test* which was held using WHO method (*as a cross-check*) *An. sundaicus* from Teleng village, Pacitan Regency was proven to have a double resistance againsts Malathion 0,5 % (cause mortality 28 %) and Bendiocarb 0,1 % (cause mortality 66 %). The percentage resistance of *Anopheles aconitus* population collected from Pacitan and Trenggalek Regency were 35,42 % and 29,17 % population respectively due to elevated esterase activity mechanism. There was no evidence of an *altered acetylcholinesterase* (*insensitive acetylcholinesterase*) mechanism of the malaria vector population in East Java.

Key words : Biochemical Assays, Mosquitoes Resistance Mechanism, Malaria Vectors

ABSTRAK

Resistensi merupakan rintangan tunggal paling besar dalam keberhasilan pengendalian serangga (termasuk nyamuk) secara kimia dan bersifat diwariskan (diturunkan). Seringnya kontak antara serangga dengan insektisida yang digunakan untuk pengendaliannya dapat mengakibatkan terjadinya resistensi fisiologis ini. Secara biokimia proses terjadinya resistensi melalui tiga mekanisme dasar yang berperan antara lain : a. Penurunan penetrasi insektisida pada tempat aktif (saraf dan AChE), b. Peningkatan metabolisme insektisida dengan enzim esterase, *mixed function oxidase*, hidrolase, dan *glutathione-s-transferase* c. Perubahan sensitivitas tempat sasaran dalam tubuh serangga, berupa insensitivitas saraf dan insensitivitas enzim asetilkolin esterase. Tujuan penelitian adalah mengetahui resistensi nyamuk vektor malaria terhadap insektisida organofosfat, karbamat dan pyrethroid. Metode penelitian menggunakan uji biokimia (uji mikroplat/ uji enzimatis) peningkatan aktivitas enzim esterase non spesifik dan insensitivitas asetilkolin esterase (AChE). Peningkatan aktivitas enzim esterase non spesifik dan insensitivitas AChE diukur dengan nilai *absorbance value* (AV) menggunakan *elisa reader* pada panjang gelombang (λ) 450 nm dan 405 nm. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa vektor malaria *An. sundaicus* dan *Anopheles aconitus* dari Jawa Timur telah mengalami penurunan kerentanan meskipun persentase berbeda-beda terhadap insektisida yang berbeda-beda pula. Uji mikroplat secara individu populasi *Anopheles sundaicus* dari Kabupaten Banyuwangi, Pacitan, Trenggalek, Jember dan Malang telah resisten sebesar masing-masing 31,25 %, 12,5 %, 45,25 % dan 15,25 % melalui mekanisme peningkatan enzim esterase. Uji silang menggunakan standart WHO impregnated paper *An. sundaicus* dari Kab Pacitan peningkatan enzim esterase berkaitan erat dengan insektisida Bendiokarb 0,1 % (kematian sebesar 66 %) dan Malathion 0,5 % (kematian sebesar 28 %) dengan demikian ditemukan adanya resistensi ganda. Sedangkan populasi *Anopheles aconitus* dari Kabupaten Pacitan dan Trenggalek telah resisten sebesar 35,42 % dan 29,17 % juga melalui mekanisme peningkatan enzim esterase. Uji silang menggunakan standart WHO impregnated paper *An. aconitus* dari Kabupaten Pacitan peningkatan enzim esterase berkaitan erat dengan insektisida Permethrin (kematian sebesar 73,0 %). Mekanisme resistensi *insensitivitas asetilkolin esterase* (AChE) tidak ditemukan pada populasi vektor malaria di Jawa Timur.

Kata kunci : Uji biokimia, mekanisme resistensi nyamuk, vektor malaria.

PENDAHULUAN

Resistensi insektisida sejati atau resistensi fisiologis adalah kemampuan individu serangga untuk bertahan hidup terhadap suatu dosis insektisida yang dalam keadaan normal dapat membunuh spesies serangga tersebut (WHO, 1992). Resistensi silang adalah perkembangan resistensi terhadap insektisida pada populasi nyamuk karena penekanan selektif insektisida lain dengan persamaan mekanisme, seringkali tidak dalam

katagori insektisida yang sama. Sedangkan resistensi ganda adalah resistensi secara simultan terhadap beberapa insektisida dengan perbedaan katagori insektisida. Resistensi merupakan rintangan tunggal paling besar dalam keberhasilan pengendalian serangga (termasuk nyamuk) secara kimia (Morris, 1978). Penilaian kepekaan vektor terhadap insektisida merupakan langkah dasar dalam perencanaan dan evaluasi epidemiologis dari program pengendalian malaria sehubungan dengan penggunaan

insektisida. Pengujian seyogyanya dilakukan untuk : menentukan atau membuat dasar kepekaan dari vektor yang berbeda dari daerah malaria satu dengan lainnya, memonitor kemungkinan adanya perubahan status kerentanan karena periode aplikasi insektisida, mengidentifikasi mekanisme resistensi dan spektrum resistensi silang serta mengetahui kepekaan vektor untuk menentukan insektisida alternatif apabila terjadi perubahan kepekaan (Najera and Zaim, 2001). Untuk mengukur resistensi ada dua cara yaitu secara konvensional menggunakan uji *susceptibility* standart WHO dan uji biokimia atau uji enzimatis. Uji biokimia adalah teknik mendeteksi resistensi nyamuk terhadap insektisida yang sangat essensial berdasarkan quantifikasi enzim yang bertanggung jawab pada proses resistensi (Lee *et al.*, 1992). Keunggulan uji biokimia selain

mengetahui resistensi vektor terhadap insektisida, juga dapat menggambarkan adanya resistensi silang melalui mekanisme yang berlangsung pada serangga secara individu. Terjadinya resistensi serangga secara biokimia berlangsung melalui 3 mekanisme dasar yaitu : (1) berkurangnya penetrasi insektisida, (2) insektisida dimetabolisasi oleh enzim esterase, *mixed function oxidases* atau *glutathione transferase* dan (3) adanya modifikasi target (sasaran) insektisida. (Fournier *et al.*, 1992). Uji resistensi ini dilakukan untuk mengetahui status kepekaan vektor malaria di Jawa Timur terhadap insektisida yang digunakan program, sehingga dapat menunjang pemberantasan penyakit malaria berbasis wilayah karena informasi kerentanan sangat diperlukan untuk mencapai hasil yang memuaskan.

BAHAN DAN CARA

Tempat dan waktu penelitian

Tempat penelitian daerah endemis malaria di Jawa Timur. Kriteria pemilihan lokasi berdasarkan stratifikasi wilayah dalam Malaria Surveillance Program (MSP) dengan indikator statis yaitu : a). *High Case Incidence* (HCI), tingkat kasus

lebih besar atau sama dengan 5 per seribu penduduk; b.) Melakukan kegiatan pengendalian vektor menggunakan insektisida organofosfat dan karbamat lebih dari 5 tahun. Termasuk kriteria tersebut di Propinsi Jawa Timur adalah : Kabupaten Banyuwangi, Pacitan, Trenggalek, Malang dan Jember. Penelitian dilakukan pada tahun 2005.

CARA PENELITIAN

Uji kerentanan

Uji kerentan terhadap insektisida organofosfat dan karbamat secara biokimia digunakan jentik instar IV. Untuk mengetahui kerentanan sekaligus mekanisme yang berperan setiap jentik diuji menggunakan kedua mekanisme sebagai berikut :

Uji aktivitas enzim esterase nonspesifik berdasarkan metode Lee.

Jentik nyamuk instar IV awal digerus secara individual untuk dibuat homogenat dan dilarutkan dengan 0,5 ml larutan fosfat buffer saline (PBS) 0,02 M, pH = 7. Homogenat kemudian dipindahkan ke dalam sumuran mikrolat menggunakan mikropipet sebanyak 50 μ l. Pada tiap sumuran kemudian ditambahkan sebanyak 50 μ l bahan substrat α -naftil asetat dalam acetone (6 g/l) dicampur dengan 50 ml buffer fosfat (0,02 M; pH=7) dan dibiarkan selama 60 detik. Selanjutnya pada setiap mikrolat ditambahkan 50 μ l bahan *coupling reagen* berupa 150 mg garam Fast blue B (o-dianisidine, tetrazotized; sigma) dalam 15 ml akuades dan 35 ml aqueous (5%;w/v) sodium dodecyl sulfat (Sigma[®]). Segera setelah reaksi berlangsung 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 mikrolat yang berisi homogenat. Intensitas warna khir produk reaksi menggambarkan aktivitas enzim esterase nonspesifik dan tingkatannya dapat dibedakan secara visual. Aktivitas enzim secara kuantitatif kemudian dibaca dengan *ELISA reader* pada panjang gelombang (λ) 450 nm (Lee, 1990).

Uji insensitivitas asetilkholinesterase berdasarkan metode Peiris dan Hemingway (1990) ; Small (1998)

Jentik nyamuk instar IV awal secara individu dibuat homogenat di dalam larutan 1 ml larutan buffer fosfat (PBS) 0,02 M; pH 7,0. Homogenat diambil dengan mikropipet sebanyak 2 x 200 μ l (H1 & H2), kemudian masing-masing dipindahkan ke dalam sumuran mikrolat. Pada sumuran mikrolat yang telah diisi H1 ditambahkan 10 μ l insektisida karbamat atau bendiocarb (52,3 mg bendiocarb dalam 2,5 ml acetone + 7,5 ml PBS). Campuran H1 tersebut dibiarkan selama 10 menit. Selanjutnya ke dalam sumuran yang berisi H1 dan H2, masing-masing ditambahkan 25 μ l larutan asetilkholin-iodida (AsChI) 0,036 M (Sigma[®]) sebagai sustrat enzim asetilkholinesterase dan ditambahkan 20 μ l larutan 5,5-dithio-bis (2-nitrobenzoic acid/DTNB) 0,01 M (Sigma[®]); sebagai

coupling reagent. Reaksi yang terjadi dibiarkan selama 60 menit. Intensitas warna kuning yang muncul kemudian menunjukkan reaksi positif (resisten).

Interpretasi Data

Data uji biokimia berupa intensitas warna hasil reaksi aktivitas enzim esterase nonspesifik bersifat kualitatif (skor warna) ditetapkan menurut kriteria empiris Mardihusodo (1995) yaitu : skor < 2.0 (tidak berwarna) = sangat rentan (SS); 2,0-2,5 (biru muda) = resisten sedang (RS); 2,6-3,0 (biru tua) = resisten tinggi (RR). Data uji biokimia insensitivitas asetilkolinesterase berupa intensitas warna hasil reaksi enzimatis bersifat kualitatif ditetapkan menurut Peiris dan Hemingway (1990). Apabila reaksi berwarna kuning menggambarkan nyamuk sudah resisten, sedangkan tidak berwarna nyamuk masih rentan.

Data uji biokimia intensitas warna aktivitas enzim esterase nonspesifik dan insensitivitas asetilkolinesterase secara kuantitatif diukur dengan pembacaan *absorbance value* (AV) menggunakan *ELISA reader* pada $\lambda = 450$ nm dan $\lambda = 405$ nm. Nilai AV < 0,700 (sangat rentan/SS); AV = 0,700 – 0,900 (resisten sedang/RS); AV > 0,900 (resisten tinggi/RR), (Peiris & Hemingway, 1990).

Densitas warna kemudian dibaca dengan *ELISA reader* pada $\lambda = 405$ nm (Peiris & Hemingway, 1990) dan (Small, 1998).

HASIL

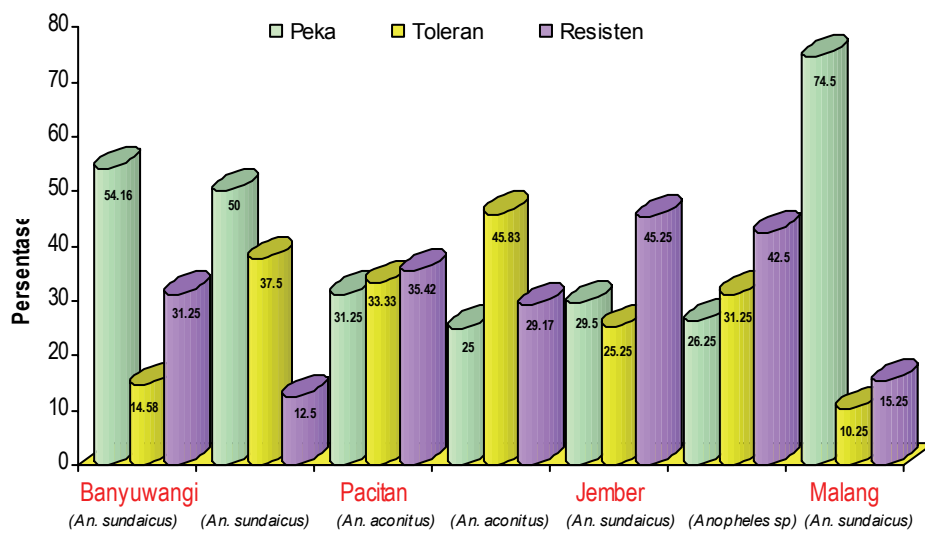
Gambaran kerentanan jentik nyamuk vektor malaria di Jawa Timur menurut wilayah kecamatan menggunakan uji biokimia aktivitas enzim esterase non spesifik.

Hasil uji biokimia kuantitatif berupa intensitas warna hasil reaksi aktivitas enzim esterase non spesifik jentik nyamuk *An. sundaicus* dan *An. aconitus* dari Jawa Timur yang diukur nilai *absorbance valuenya* (AV) dengan *ELISA reader* pada panjang gelombang (λ) = 450 nm, dapat dilihat pada tabel 1. Status kerentanan akibat peningkatan aktivitas enzim esterase non spesifik *An. sundaicus* dari Desa Bangsring Kecamatan Wongsorejo Kabupaten Banyuwangi 31,25 % resisten, 14,58 % toleran dan 54,16 % peka. *Anopheles sundaicus* dari Desa Teleng Kecamatan Pacitan Kabupaten Pacitan 12,5 % resisten, 37,50 % toleran dan 50,0 % peka. Peningkatan aktivitas enzim esterase non spesifik mengakibatkan *An. sundaicus* dari Desa Bandialit Kecamatan Tempurejo Kabupaten Jember 45,25 % resisten, 25,25 % toleran dan 29,5 % peka. Sedangkan *An. sundaicus* dari Desa Srigonco

Kecamatan Bantur Kabupaten Malang 15,25 % resisten, 10,25 % toleran dan 74,5 % peka.

Status kerentanan akibat peningkatan aktivitas enzim esterase non spesifik *An. aconitus* dari Desa Ngrecu Kecamatan Tegalombo Kabupaten Pacitan 35,42 % resisten, 33,33 % toleran dan 31,25 % peka. *Anopheles aconitus* dari Desa Pandean Kecamatan Dongko

Kabupaten Trenggalek 29,27 % resisten, 45,83 % toleran dan 25,0 % peka. Sedangkan *Anopheles sp.* dari Desa Patemon Kecamatan Tanggul Kabupaten Jember 42,5 % resisten, 31,25 % toleran dan 26,25 % peka. Fisualisasi hasil kerentanan vektor malaria berdasarkan peningkatan aktivitas enzim esterase juga dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Persentase Kerentanan Vektor Malaria dari Jawa Timur Berdasarkan Peningkatan Aktivitas Enzim Esterase Non Spesifik Tahun 2005.

Tabel 1. Status Kerentanan Vektor Malaria Di Jawa Timur Terhadap Insektisida Organofosfat dan Karbamat serta Mekanisme Yang Berperan dengan Uji Biokimia.

No.	Kabupaten	Spesies Nyamuk	Peningkatan esterase (%) *			Insensitivitas AchE (%) *		
			Peka	Toleran	Resisten	Peka	Toleran	Resisten
1.	Banyuwangi Kec. Wongsorejo Desa Bangsring	<i>An. sundaicus</i>	54,16	14,58	31,25	0	0	0
2.	Pacitan Kec Pacitan Desa Teleng Kec Tegalombo	<i>An. sundaicus</i>	50,0	37,50	12,5	0	0	0
3.	Trenggalek Kec Dongko Desa Pandean	<i>An. aconitus</i>	31,25	33,33	35,42	0	0	0
4.	Jember Kec. Tempurejo Desa Bandalit	<i>An. aconitus</i>	25,0	45,83	29,17	0	0	0
5.	Malang Kec. Tanggul Desa Patemon	<i>Anopheles sp</i>	26,25	31,25	42,5	0	0	0
	Kec. Bantur Desa Srigonco	<i>An. sundaicus</i>	74,5	10,25	15,25	0	0	0

* Mekanisme yang berperan pada penurunan kerentanan nyamuk terhadap insektisida organofosfat dan karbamat secara biokimia

Tabel 2. Hasil Uji Susceptibility Vektor Malaria Di Jawa Timur Terhadap Insektisida Permethrin 0,75%, Deltamethrin 0,05%, Fenitrothion 1,0% Malathion 0,5 % Dan Bendiocarb 0,1%

LOKASI PENELITIAN MENURUT KECAMATAN	SPESIES VEKTOR	PERSENTASE KEMATIAN NYAMUK VEKTOR (%)					KETERANGAN
		PERMETHRIN	DELTA-METHRIN	FENITROTHION	BENDIOCARB	MALATHION	
Kab. Banyuwangi Kec Wongsorejo Desa Bangsring	<i>An. sundaicus</i>	94,6	97,33	100,0	100,0	-	Kematian nyamuk 99 – 100% = peka 80 – 98% = perlu verifikasi <80% = terdapat individu resisten (Herath, 1997)
Kab. Pacitan Kec Tegalombo Desa Ngreco Kec Pacitan Desa Teleng	<i>An. aconitus</i> <i>An. sundaicus</i>	73,0 82,0	100 100	97,0 94,0	99,0 66,0	- 28,0	
Kab. Trenggalek Kec Dongko Desa Pandean	<i>An. aconitus</i> <i>An. barbirostris</i>	86,0 70,0	100,0 -	98,0 -	99,0 -	70,0 40,0	
Kab. Jember Kec. Tempurejo Desa Bandalit Kec. Tanggul Desa Patemon	<i>An. sundaicus</i> <i>Anopheles sp.</i>	87,5 90,0	100,0 88,0	100,0 100,0	97,5 100,0	57,5 60,0	

Gambaran kerentanan jentik nyamuk vektor malaria di Jawa Timur menurut wilayah kecamatan menggunakan uji biokimia insensitivitas asetilkholinesterase (AChE).

Status kerentanan jentik nyamuk hasil uji biokimia insensitivitas asetilkholinesterase (AChE) secara kuantitatif berupa perubahan warna yang diukur nilai AV dengan

$ELISA$ reader pada panjang gelombang (λ) 405 nm dapat dilihat pada Tabel 1. Status kerentanan vektor malaria *An. sundaicus* dan *An. aconitus* dari Jawa Timur dengan uji biokimia mekanisme insensitivitas asetilkholinesterase AChE semua populasi yang tertangkap belum ditemukan adanya resistensi maupun toleransi melalui mekanisme ini.

PEMBAHASAN

Populasi vektor malaria *An. aconitus* dan *An. sundaicus* di Propinsi Jawa Timur telah mengalami penurunan kerentanan (resisten/toleran). Namun sebagian besar penurunan kerentanan melalui mekanisme peningkatan aktivitas enzim esterase. Peningkatan enzim esterase dapat berkaitan erat dengan penekanan secara selektif insektisida kelompok pyrethroid, organofosfat dan karbamat sedangkan enzim karboksil esterase berkaitan erat dengan insektisida Malathion (Guillet, 1996). Berdasarkan hasil uji silang dengan uji *susceptibility* standart WHO *An. sundaicus* dari Desa Teleng Kecamatan Pacitan Kabupaten Pacitan dan *An. sundaicus* dari Desa Bandalit Kecamatan Tempurejo Kabupaten Jember peningkatan aktivitas enzim esterase berkaitan erat dengan insektisida Malathion 0,5 % dengan

kematian masing-masing sebesar 28,0 % dan 57,5 %. *Anopheles sundaicus* dari Desa Teleng Kecamatan Pacitan Kabupaten Pacitan ternyata juga telah resisten terhadap insektisida Bendiokarb dengan kematian sebesar 66,0 %. Dengan demikian peningkatan enzim disini kemungkinan esterase spesifik (karboksilesterase). Namun demikian pada uji silang terhadap insektisida permethrin juga menunjukkan penurunan kerentanan. Penurunan terhadap insektisida ini terlihat jelas pada *An. aconitus* dari Desa Ngreco Kecamatan Tegalombo Kabupaten Pacitan dengan kematian sebesar 73,0 %. Hal tersebut memberi gambaran bahwa penekanan selektif insektisida pertanian lebih kuat karena sebagian petani sudah menggunakan insektisida kelompok ini untuk pengendalian hama pertanian. Hal ini didukung oleh beberapa pakar dari

luar negeri bahwa *An. aconitus* cenderung mengalami resisten silang dari kelompok insektisida organoklorin ke kelompok insektisida pyrethroid (Najera & Zaim, 2001). Hal ini dapat terjadi karena *An. aconitus* mengalami penekanan secara selektif baik dari bidang pertanian pada saat stadium jentik yang berada di sawah dan dari bidang kesehatan pada saat dilakukan penyemprotan secara *indoor residual spraying* (IRS). Kemungkinan lain dapat terjadi yaitu akibat adanya resistensi silang dari DDT (kelompok organoklorin) ke kelompok pyrethroid. Seperti diketahui bahwa *An. aconitus* dilaporkan telah resisten terhadap DDT dan kecenderungan akan adanya resisten silang (*cross resistance*) terhadap kelompok insektisida pyrethroid (Hemingway, 1997).

Uji *kerentanan* insektisida standart WHO ini digunakan untuk mendeteksi dan memonitor adanya resistensi terhadap insektisida. Apabila ditemukan indikasi adanya vektor dari alam yang resisten, maka diperlukan konfirmasi lebih lanjut adanya potensi resistensi silang. Identifikasi mekanisme resistensi yang terlibat menggunakan metode biokimia dapat membantu meramalkan potensial resisten silang (*cross resistance*) pada tingkat awal dan dapat memberi petunjuk untuk manajemen resistensi. Uji resistensi

secara biokimia dikombinasikan dengan uji *kerentanan* standar WHO sangat efektif digunakan untuk mendeteksi resistensi silang dari beberapa vektor penyakit termasuk vektor malaria. Perkembangan resistensi populasi serangga vektor terhadap insektisida menurut (David & Gilles, 2002), dipengaruhi multipel faktor yaitu genetik (adanya frekuensi gen spesifik), operasional (tipe dan aplikasi insektisida) dan biologis (ukuran dan karakteristik populasi vektor). Munculnya resistensi vektor tidak melalui proses adaptasi secara *gradual* terhadap senyawa kimia toksik, tetapi melalui proses percepatan menurut hukum seleksi Darwin yang terjadi di alam. Seleksi terjadi karena terdapat proporsi kecil serangga yang mengalami mutasi genetik secara individual. Mekanisme protektif ini tergantung faktor genetik baik tunggal, resesif, sebagian dominan atau dominan dalam proses keturunan. Apabila individu serangga *heterozygote*, maka jarang muncul pada proses resistensi awal dalam suatu populasi serangga termasuk nyamuk. Namun *heterozygote* yang *survive* pada uji *kerentanan* apabila kawin dengan *heterozygote* yang lain akan menghasilkan proporsi *homozygote* dengan tingkat resistensi yang tinggi. Apabila gene resisten *homozygote* dominan, resistensi akan menyebar secara

cepat ke seluruh populasi (Small, 1998). Kecepatan munculnya perkembangan resistensi juga berhubungan dengan karakteristik biologi spesies vektor pada masing-masing populasi lokal, tipe serta tingkat penekanan selektif insektisida. Penekanan selektif berhubungan dengan lama efektifitas insektisida (*residual effect/time of action*), juga kebiasaan *resting* nyamuk vektor setelah mencari sumber darah. Seperti juga yang dikatakan Hemingway *et. all*, (1986) bahwa penekanan selektif terjadinya

resistensi dapat berlangsung pada saat nyamuk berada pada stadium jentik maupun dewasa. Berdasarkan hal tersebut sebelumnya apabila ingin memperpanjang efektivitas insektisida yang digunakan untuk pengendalian vektor *An. aconitus*, harus melibatkan pendekatan melalui koordinasi dalam penggunaan insektisida antara bidang pertanian dan bidang kesehatan. Serta memperkenalkan aplikasi insektisida yang mudah dilaksanakan dan masuk akal berdasarkan genetika populasi vektor (Small, 1998).

KESIMPULAN DAN SARAN

Vektor malaria *An. sundaicus* dan *An. aconitus* di beberapa daerah di Jawa Timur telah mengalami penurunan kerentanan (resisten, toleran) meskipun persentase berbeda terhadap insektisida berbeda pula. Proses resistensi pada vektor malaria *An. aconitus* dan *An. sundaicus* dari Propinsi Jawa Timur melalui mekanisme peningkatan aktivitas enzim esterase. Hasil uji silang dengan uji *susceptibility* resistensi *An. sundaicus* melalui peningkatan aktivitas enzim esterase berkaitan erat dengan insektisida Malathion 0,5 % dan Bendiokarb 0,1%. Uji silang dengan uji *susceptibility* standar WHO, resistensi *An. aconitus* melalui mekanisme peningkatan enzim

esterase berkaitan erat dengan insektisida kelompok pyrethroid. Diperoleh gambaran bahwa vektor malaria *An. aconitus* dan *Anopheles sp.* yang berkembangbiak di sawah cenderung mengalami resistensi silang terhadap insektisida pyrethroid karena diketahui bahwa *An. aconitus* telah resisten terhadap insektisida DDT.

Disarankan untuk pengendalian vektor yang berkembangbiak di sawah seperti *An. aconitus*, seyogyanya ada pendekatan koordinasi penggunaan insektisida dengan Dinas Pertanian.

DAFTAR PUSTAKA

- David A.W & Gilles. H. M. 2002. " *Essential Malariology*" International Student Edition. Fourth Edition, London, New York, New Delhi. p. 159-166.
- Fournier, D; J.M. Bride; F. Hoffmann and F. Karch. 1992. Acetylcholinesterase, two types of modifications confer resistance to insecticide. *The Journal of Biological Chemistry*. 267.20. pp 14270-14274.
- Guillet. 1996. Protocol of Determination of Pyrethroid Diagnostic Concentration of *Anopheles gambiae*. Orstom Laboratoire. Montpellier.
- Hemingway J, Jayawardena KGI, Herath PRJ. 1986. Pesticide Resistance Mechanisms Produced by Field Selection Pressure on *Anopheles nigerrimus* and *Anopheles culicifacies* in Sri Lanka. Bulletin World Health Organization. 64 (5) : 753-758.
- Hemingway J. 1997. Insecticide Resistance Mechanisms and Cross Resistance Implications. Intercountry Workshop on Insecticide Resistance of Mosquito Vectors. Salatiga Indonesia. 5-8 Agustus. 7.p
- Lee HL. 1990. A Rapid and Simple Biochemical Method For The Detection of insecticide Resistance Due to Elevate esterase Activity in *Culex quinquefasciatus* *Tropical Biomedicine.*, 7 : 21-26.
- Lee, H.L., O. Abimbola and K.I., Singh. 1992. Determination of Insecticide *Susceptibility* in *Culex quinquefasciatus* Say Adult by Rapid Enzyme Microassays. *Southeast Asean Journal Tropical Medicine of Public Health.* 23 : (3). 458-463.
- Morris R. 1978. Biochemistry of insects Academic Press. New York San Fransisco London. p 572.
- Mardihusodo SJ. Microplate assay analysis of potential for organophosphate Insecticide resistance in *Aedes aegypti* in the Yogyakarta Municipality Indonesia. *Berkala Ilmu Kedokteran*. 1995. 27. 2. 71-79.
- Najera, JA and M. Zaim. 2001. Malaria Vector Control. Insecticide for Indoor Residual Spraying. WHO/CDS/ WHOPES/2001.3. p 36-47.
- Peiris HTR, Hemingway J. 1990. Mechanisms of insecticide resistance in a temephos selected *Culex quinquefasciatus* (Diptera ; Culicidae) strain from Sri Lanka. *Bulletin of Entomological Research*. 80, 453-457.
- Small G. 1998. Biochemical Assay for Insecticide Resistance Mechanism. Paper Molecular Entomology Workshop. Practical Center for Tropical Medicine Gadjah Mada University 9-20 Pebruari Yogyakarta. 24p
- World Health Organisation. 1992. Expert Committee on Vector Biology and Control. Vector Resistance to Pesticide. WHO Technical Series. No. 818. WHO Geneva. 62 p.