

Resistensi *Aedes aegypti* terhadap Insektisida Golongan Organofosfat

Suri Dwi Lesmana

ABSTRACT

Dengue haemorrhagic fever (DHF) is one of Indonesian public health problems because of its high incidence rate. DHF control is emphasized on vector control *Aedes aegypti* by using insecticide. Organophosphate has been used as insecticides to control the dengue vectors for more than 25 years ago. The using of insecticide in long time and sublethal dose can induce insecticide resistance. *Aedes aegypti* resistance of organophosphate have occurred based on fisiologic and genetical mechanisms. The major mechanism of resistance to organophosphate insecticides in *Aedes aegypti* is genetical mechanism. The two major forms of genetical resistance are target site resistance which occurs when the insecticide no longer binds to its target and detoxification enzyme based resistance through highly active non specific esterase enzyme.

Keywords: *Aedes aegypti*, organophosphate resistance, genetical resistance, esterase

Demam berdarah dengue (DBD) merupakan masalah kesehatan masyarakat di Indonesia karena *incidence rate* nya yang tinggi. DBD disebabkan oleh virus *Dengue* dan ditularkan oleh nyamuk *Aedes aegypti* (*Ae.aegypti*) sebagai vektor aktual dan *Ae.albopictus* sebagai vektor potensial.¹

Sampai saat ini belum ditemukan obat khusus untuk pemberantasan DBD, demikian pula vaksin untuk mencegah penyakit ini. Oleh karena itu pemberantasan hanya dapat dilakukan dengan pengendalian vektornya. Saat ini upaya pengendalian vektor dapat dilakukan dengan berbagai cara antara lain pemberantasan sarang nyamuk (PSN) dan penggunaan insektisida.²

Insektisida telah digunakan secara masal di Indonesia sejak tahun 1969. Selain itu insektisida juga banyak dijual di pasaran dan digunakan oleh masyarakat luas. Kebanyakan insektisida tersebut mengandung bahan aktif organofosfat. Selain itu juga digunakan temefos sebagai larvisida yang juga mengandung bahan aktif organofosfat. Penggunaan insektisida tersebut dalam waktu lama dan dosis sub

letal seperti yang digunakan masyarakat sehari-hari dapat menimbulkan resistensi *Ae.aegypti* terhadap bahan aktifnya.³

Insektisida

Insektisida adalah bahan yang mengandung senyawa kimia yang digunakan untuk membunuh serangga. Pada keadaan kejadian luar biasa pengendalian vektor untuk memutus rantai penularan adalah pengasapan dengan insektisida. Insektisida yang ideal mempunyai sifat sebagai berikut: mempunyai daya bunuh yang besar dan cepat serta tidak berbahaya bagi binatang vertebrata termasuk manusia dan ternak, murah harganya dan mudah didapat dalam jumlah yang besar, mempunyai susunan kimia yang stabil dan tidak mudah terbakar, mudah dipergunakan dan dapat dicampur dengan berbagai macam bahan pelarut, tidak berwarna dan tidak berbau yang tidak menyenangkan.

Menurut macam bahan kimia, insektisida dibagi dalam: 1)insektisida organik 2)insektisida organik berasal dari alam dan 3) insektisida organik sintetik. Insektisida organik sintetik terdiri atas golongan organik klorin (DDT,dieldrin, klorden, BHC, linden), golongan organik fosfor (malation,

¹ Penulis untuk korespondensi: Bagian Parasitologi FK Universitas Riau, Jl.Diponegoro No.1, Pekanbaru.

parathion, diazinon, fenitrothion, temefos, DDVP, diptereks), golongan organik nitrogen (dinitrofenol), golongan sulfur (karbamat) dan golongan tiosianat (letena, tanit).^{4,5}

Mekanisme Terbentuknya Resistensi Vektor terhadap Insektisida

Resistensi adalah kemampuan suatu populasi serangga untuk bertahan terhadap dosis insektisida yang biasanya dapat membunuh spesies serangga tersebut. Resistensi serangga dapat dibagi menjadi resistensi bawaan dan resistensi yang didapat. Resistensi bawaan adalah sifat resisten yang turun temurun sehingga dalam suatu populasi dapat terjadi populasi yang resisten seluruhnya.⁴

Secara garis besar ada dua hal yang mendasari terjadinya resistensi yaitu dasar fisiologik dan dasar genetik. Pada dasar fisiologik segala proses terjadi karena adaptasi fisiologis serangga yang biasanya disebabkan oleh daya absorpsi insektisida yang sangat lambat, daya penyimpanan insektisida dalam jaringan yang tidak vital seperti jaringan lemak sehingga alat-alat vital terhindar dan serangga tidak mati, daya ekskresi insektisida yang cepat sehingga tidak membunuh serangga serta detoksikasi insektisida oleh enzim. Hal ini dapat dilihat pada resistensi *Musca domestica* dan *Drosophila* terhadap DDT, dimana terjadi peningkatan enzim DDT dehidrokinase.^{4,5}

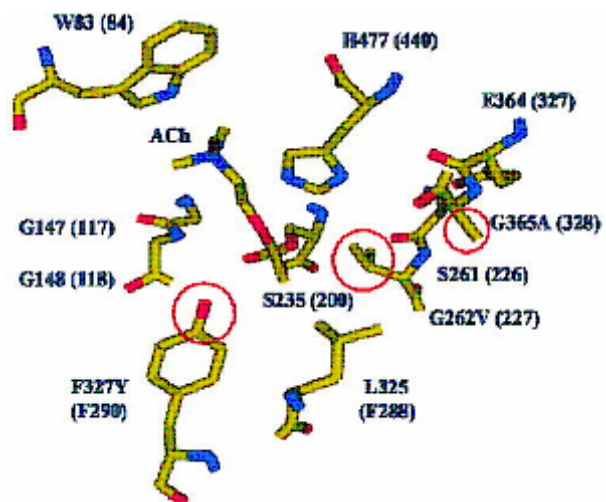
Resistensi terhadap insektisida merupakan proses evolusi sebagai upaya adaptasi terhadap perubahan lingkungan. Dari penelitian di Rose Institute London, ditemukan bahwa resistensi *Anopheles Sp* terhadap insektisida terikat dalam satu gen. nyamuk dewasa yang resisten akan memberikan keturunan yang resisten. Dasar genetika ini mendasari terbentuknya resistensi bawaan. Mekanisme genetika dalam proses resistensi dapat terlihat pada proses resistensi karena proses metabolik dan perubahan sisi target.⁶

Secara umum mekanisme terjadinya resistensi serangga terhadap insektisida diklasifikasikan pada tiga kelompok yaitu: resistensi kutikular (penurunan penetrasi), resistensi metabolik dan perubahan sisi target.⁷

Dalam resistensi metabolik terjadi perubahan enzim baik secara kualitatif maupun kuantitatif yang memetabolisme insektisida sebelum mencapai sisi target. Enzim-enzim tersebut bertanggung jawab

mendetoksikasi xenobiotik. Ada 3 enzim yang termasuk dalam kelompok ini yaitu: esterase, glutathion S transferase dan oksigenase. Enzim yang paling banyak berperan dalam resistensi serangga terhadap organofosfat adalah esterase. Peningkatan aktivitas enzim dapat dicapai dengan berbagai mekanisme molekular. Koding gen untuk enzim-enzim ini dapat diamplifikasi sehingga menghasilkan *multiple copy* dari gen sehingga terjadi produksi berlebihan dari enzim tersebut. Struktur gen dapat mengandung satu atau lebih mutasi yang dapat meningkatkan aktivitas katalitik enzim terhadap insektisida.^{7,9}

Perubahan sisi target dapat menyebabkan resistensi karena perubahan tersebut dapat mencegah molekul insektisida berinteraksi dengan sisi target tersebut. Perubahan pada sisi target ini disebabkan oleh perubahan asam amino sisi target sehingga menyebabkan insektisida menjadi kurang efektif bahkan tidak efektif. Sisi target organofosfat dan karbamat adalah pada asetilkolinesterase (AChE) di sinaps syaraf. Perubahan sisi aktif asetilkolinesterase mengakibatkan resistensi terhadap organofosfat dan karbamat (gambar 1). Sisi target organoklorin (misalnya DDT) dan piretroid sintetis adalah sodium *channel* pada serabut syaraf, sedangkan sisi target siklodien (dieldrin) adalah reseptor gamma aminobutiric acid (GABA).



Gambar 1. Mutasi pada sisi aktif asetilkolinesterase⁽⁸⁾

Esterase

Insektisida yang memiliki ikatan ester dapat dihidrolisis oleh enzim-enzim yang termasuk esterase. Organofosfat adalah ester dari *fosforic acid*

sehingga mekanisme metabolik dipertimbangkan sebagai mekanisme utama resistensi terhadap organofosfat. Akan tetapi hal ini juga berlaku untuk organofosfat karbamat dan piretroid. Resistensi terjadi jika terjadi peningkatan jumlah enzim.⁹ Secara kualitatif perubahan esterase dapat menghidrolisis insektisida lebih cepat dari pada golongan serangga yang masih rentan.¹⁰ Esterase meliputi 6 famili protein. Perubahan esterase ini bisa terjadi karena perubahan pada satu asam amino atau disebabkan adanya jumlah kopi gen yang teramplifikasi. Berdasarkan penelitian memperlihatkan terjadi peningkatan aktivitas esterase 25 kali lebih tinggi pada serangga yang resisten dibanding serangga yang rentan. Esterase terdiri atas esterase α yang merupakan suatu monomer dan esterase β yang merupakan suatu dimer dengan masing-masing sub unit 60 kDa.

Berdasarkan mekanisme amplifikasi esterase, *non elevated esterase* juga dapat menyebabkan resistensi organofosfat. Mutasi pada koding gen untuk esterase dapat mengubah sifat katalitik enzim sehingga dapat mendetoksikasi insektisida lebih cepat.⁷

Esterase yang berfungsi untuk menetralkan organofosfat terutama adalah esterase yang dihasilkan dari kelenjer saliva dan *midgut Ae.aegypti*. Esterase yang dipurifikasi dari kelenjer saliva *Ae.aegypti* memiliki berat molekul 65 kDa. Esterase merupakan enzim hidrolase dengan spesifisitas rendah oleh karena hanya mampu mengolah rantai kimia saja dan tidak membedakan berbagai senyawa kimia satu dengan yang lainnya.¹¹

Resistensi *Aedes aegypti* terhadap Insektisida Organofosfat

Insektisida yang mengandung bahan aktif organofosfat merupakan insektisida golongan organik sintetik. Jenis insektisida organofosfat merupakan 30% dari keseluruhan insektisida. Mekanisme kerja utama insektisida organofosfat adalah bekerja terhadap asetilkolinesterase (AChE). AChE mengendalikan hidrolisis dari asetilkolin (Ach), yaitu neurotransmitter yang dihasilkan dalam vesikel-vesikel pada akson dekat celah sinap. Setelah impuls diteruskan, Ach dan AChE dihidrolisis menjadi kolin. Pada keadaan tidak terdapat AChE, Ach yang dihasilkan berakumulasi sehingga terjadi gangguan transmisi impuls yang

menyebabkan menurunnya koordinasi otot-otot, konvulsi dan kematian. Secara elektrofilik struktur organofosfat meniru struktur Ach sebagai substrat dari enzim AChE akibatnya akumulasi Ach sangat banyak yang menyebabkan penurunan koordinasi otot, konvulsi dan kematian nyamuk.

Struktur organofosfat yang menentukan kerentanan vektor terhadap insektisida tersebut adalah struktur rantai samping ester. Esterase adalah enzim hidrolase yang menguraikan ester pada rantai samping organofosfat. Reaksi hidrolisis tersebut membutuhkan molekul air sehingga rantai ester pada organofosfat putus dan terurai menjadi gugus asalnya yaitu alkohol dan asam sehingga organofosfat menjadi tidak toksik lagi. Secara kualitatif perubahan esterase dapat menghidrolisis insektisida lebih cepat dari pada golongan *Ae.aegypti* yang masih rentan. Ada 2 mekanisme sehingga menimbulkan resistensi yaitu: produksi yang berlebihan dan perubahan sifat katalitik enzim menjadi hiperkatalitik terhadap insektisida. Esterase selain menghidrolisis ikatan ester juga mengikat organofosfat yang sulit terhidrolisis misalnya organofosfat yang mengandung gugus fosfat sehingga mekanisme resistensi yang berperan adalah sekuesterasi bukan hidrolisis ester.^{12,13}

Kadang-kadang resistensi terhadap organofosfat hanya berhubungan dengan peningkatan satu enzim esterase misalnya esterase beta (β). Pada nyamuk dengan mekanisme ini *coding gen* untuk esterase yang teramplifikasi hanya satu. Akan tetapi banyak ditemukan peningkatan 2 esterase sekaligus (β), *coding gen* untuk esterase ini ditemukan pada *amplicon* yang sama. Setelah para ahli biokimia membandingkan antara esterase-esterase ini, secara umum ikatan terhadap insektisida tersebut mirip. Tidak dapat dijelaskan mengapa pada nyamuk ada yang dapat mengalami koamplifikasi ada yang tidak.^{7,9,14,15}

Uji Resistensi Vektor terhadap Insektisida Golongan Organofosfat

Deteksi gejala resistensi pada nyamuk *Ae.aegypti* terhadap insektisida organofosfat dapat dilakukan dengan berbagai cara antara lain:^{14,16,17}

1. Uji kerentanan *bioassay* menurut prosedur WHO
2. Uji biokimia untuk melihat peningkatan enzim esterase

3. Deteksi imunologi menggunakan antiserum anti esterase α dan β
4. Uji biomolekuler menggunakan PCR

PENUTUP

Penggunaan insektisida organofosfat dalam jangka waktu lama dan dengan dosis subletal akan menginduksi terjadinya resistensi terhadap bahan aktifnya. Secara umum mekanisme terjadinya resistensi adalah atas dasar fisiologi dan genetik melalui penebalan kutikula, mekanisme metabolik dan perubahan sisi target. Dari keseluruhan mekanisme tersebut mekanisme metabolik merupakan mekanisme utama resistensi *Aedes aegypti* terhadap organofosfat. Dimana terjadi peningkatan aktivitas enzim esterase yang akan menghidrolisis organofosfat sebelum mencapai sisi target pada asetilkolinesterase.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sungkar S. Demam Berdarah Dengue. Jakarta: Yayasan Penerbitan Ikatan Dokter Indonesia; 2002.p 1-30
2. Depkes RI. Perilaku dan Siklus Hidup Nyamuk *Ae.aegypti* Sangat Penting Diketahui Dalam Melakukan Kegiatan PSN Termasuk Pemantauan Jentik Secara Berkala. Buletin Harian; 2004
3. Sukirno M, Sukowati S, Gandahusada S. Status Kerentanan dan Perkembangan Resistensi Larva *Ae.aegypti* dari Beberapa Daerah di Jakarta Terhadap Temefos di Laboratorium. Jakarta: Laporan Penelitian Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Pusat Penelitian Ekologi Kesehatan; 1986
4. Hoedojo R, Zulhasril. Insektisida dan Resistensi. Dalam: Gandahusada S, Ilahude HD, Pribadi W. Parasitologi Kedokteran. Edisi Ketiga. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 1998:249-51
5. Tarumingkeng RC. Insektisida: Sifat, Mekanisme Kerja dan Dampak Penggunaannya. Jakarta: Universitas Kristen Krida Wacana; 1991.p 6-9
6. Brogdon WG, Mc Allister JC. Insecticide Resistance and Vector Control. Emerging Infectious Disease 1998; 4: 1-12
7. Tikar N, Kumar A, Prasad G, Prakass S. Temephos Induced Resistance in *Aedes Aegypti* and Its cross resistance in Studies to Certain Insecticide From India. Parasitology Research 2009;105: 57-63
8. Walsh SB, Dolden TA, Moones GD, Kristen M< Lewis T et al. Identification and Characterization of Mutation in Housfly (*Musca domestica*) Acetylcholinesterase Involved in Insecticide Resistance. Biochemical Journal 2001; 359: 175-81
9. Oakeshott JG. Home I. Sutherland TD, Russel RJ. The Genomics of Insecticide Resistance. Genome Biology 2003. Diunduh dari <http://genomebiology.Com/2003/4/1/202>
10. Yan G, Chadee DD, Severson DW. Evidence for Genetic Hitchhiking Effect Associated with Insecticide Resistance in *Aedes aegypti* Genetics. 1998; 148: 793 – 800
11. Rodriguez MM, Bisset JA, Mila LH, Calvo E, Diaz c, Alain Sl. Levels of Insecticide Resistance and its Mechanisms in A strain of *Aedes aegypti* of Santiago de Cuba. Cubana Trop Med. 1999
12. Bisset JA, Rodriguez MM, Molina D, Diaz C, Soca L. High Esterases as Mechanisms of Organophosphate Insecticides in *Aedes aegypti* Strains. Cubana Med Trop 2001
13. Mazzari MB, Georghiou GP. Characterization of Resistance to Organophosphate, Carbamate and Pyrethroid insecticides in Field Population from Venezuela. Rev Cubana Med Trop 1999
14. WHO. Instruction for Determining the Susceptibility or Resistance of Adult Mosquitos to Organochlorine, Organophosphate, and Carbamate Insecticides Establishment of the Base Line. WHO Tecn. Rep. Ser 1970; 443
15. Montella IR, Martins AJ, Medeiros PF, Lima JBP, Braga IA, Valle AD. Insecticide Resistance Mechanisms of Brazillians *Aedes aegypti* population From 2001 to 2004. Am J.Trop. Med. Hyg 2007; 77: 467-72
16. Sahgal A, Kumar S, Pillai MKK. Microplate Assay of Elevated Esterase Activity ini Individual Pyrethroid Resistant Mosquitoes. J. Biosci 1994; 19: 193-9
17. Saelim V, Brogdon WG, Rojanapremsuk J, Suvannadabba S. Bottle and Biochemical Assays on Temephos Resistance in *Aedes Aegypti* in Thailand. Shothest Asian Journal Trop Med Public Health 2005; 36(2): 417-25